

**PROFILING AKTIVITAS DAN TOKSISITAS ANTIKANKER EKSTRAK
BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* (L.)) DARI BEBERAPA
LOKASI DI INDONESIA TERHADAP SEL KANKER KOLON WiDr DAN
SEL NORMAL (*VERO CELL LINE*)**

SKRIPSI

Oleh:
FADHILA ISMA HUWAIDA
NIM. 14670036



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

**PROFILING AKTIVITAS DAN TOKSISITAS ANTIKANKER EKSTRAK
BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* (L.)) DARI BEBERAPA
LOKASI DI INDONESIA TERHADAP SEL KANKER KOLON WiDr DAN
SEL NORMAL (*VERO CELL LINE*)**

SKRIPSI

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

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

**PROFILING AKTIVITAS DAN TOKSISITAS ANTIKANKER EKSTRAK
BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* (L.)) DARI BEBERAPA
LOKASI DI INDONESIA TERHADAP SEL KANKER KOLON WiDr DAN
SEL NORMAL (*VERO CELL LINE*)**

SKRIPSI

Oleh:
FADHILA ISMA HUWAIDA
NIM. 14670036

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal 6 Juni 2018

Pembimbing I

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

Pembimbing II

Ria Ramadhani D.A., S.Kep.,Ns.,M.Kep.
NIP. 19850617 200912 2 005

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi**



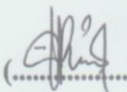
Dr. Roihatul Muti'ah, M. Kes., Apt.
NIP. 19800203 200912 2 003

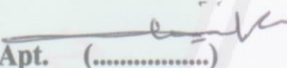
**PROFILING AKTIVITAS DAN TOKSISITAS ANTIKANKER EKSTRAK
BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* (L.)) DARI BEBERAPA
LOKASI DI INDONESIA TERHADAP SEL KANKER KOLON WiDr DAN
SEL NORMAL (*VERO CELL LINE*)**

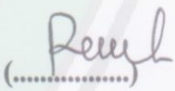
SKRIPSI

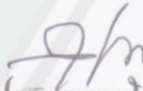
Oleh:
FADHILA ISMA HUWAIDA
NIM. 14670036

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

Ketua Penguji : Ria Ramadhani D.A., S.Kep.,Ns.,M.Kep. (.....) 
NIP. 19850617 200912 2 005

Anggota Penguji 1. Weka sidha Bhagawan, M.Farm., Apt. (.....) 
NIP. 19881124 20160801 1 085

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

3. Abdul Hakim, M.P.I, M. Farm., Apt. (.....) 
NIP. 19761214 200912 1002

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi



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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Fadhila Isma Huwaida

NIM : 14670036

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian : *"Profilling Aktivitas dan Toksisitas Antikanker Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) Dari Beberapa Lokasi Di Indonesia Terhadap Sel Kanker Kolon WiDr dan Sel Normal (*Vero Cell Line*)"*

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

Malang, 6 Juni 2017

Yang membuat pernyataan



Fadhila

Fadhila Isma Huwaida

NIM. 14670036

MOTTO

يَأْتِيهَا الَّذِينَ ءَامَنُوا إِذَا قِيلَ لَكُمْ تَفَسَّحُوا فِي الْمَجَالِسِ فَافْسَحُوا يَفْسَحِ
 اللَّهُ لَكُمْ وَإِذَا قِيلَ أَنْشُرُوا فَأَنْشُرُوا يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ ءَامَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ
 أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ ﴿١١﴾

Artinya; “Hai orang-orang beriman apabila dikatakan kepadamu: "Berlapang-
 lapanglah dalam majlis", maka lapangkanlah niscaya Allah akan memberi
 kelapangan untukmu. Dan apabila dikatakan: "Berdirilah kamu", maka berdirilah,
 niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-
 orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah Maha Mengetahui
 apa yang kamu kerjakan”

“Jika orang lain bisa melakukannya, maka kamu pasti bisa melakukannya juga
 bahkan lebih baik lagi”

(Fadhila Isma Huawaida/14670036)

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'aalamiin

Dengan memanjatkan segala puji syukur kehadiran Allah SWT serta junjungan kita Nabi besar Muhammad SAW sehingga bisa terselesaikannya karya tulisan ini dengan baik dan tepat pada waktunya. Oleh karena itu dengan segala rasa syukur, saya persembahkan karya tulisan ini kepada:

Kedua orang tuaku, Bapak Mokhammad Maksum dan ibu Yoerin Ernawati yang telah memberikan dukungan moril maupun materi serta doa yang tiada henti untuk kesuksesan saya hingga dapat terselesaikannya studi ini. Adikku Hamdalah Safevana Firdhausi Nuzula, yang senantiasa memberikan dukungan, semangat, senyum dan doa'anya untuk keberhasilan ini.

Terimakasih teramat banyak kepada Ibu. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt dan ibu Ria Ramadhani D.A., S.Kep.,Ns.,M.Kep. yang selama ini telah tulus dan ikhlas meluangkan waktunya untuk menuntun dan mengarahkan saya, memberikan bimbingan dan pelajaran yang tiada ternilai harganya agar saya menjadi lebih baik lagi.

Teruntuk semua yang telah mendukung terselesainya karya tulisan ini teman-temanku kos Cantik (Fauzta Norma A. dan Radinda Megawati) sahabat-sahabat seperjuangku (Chorida Muhjatul Hadya, Jauhar Maknun SR, Jauza ulfah, Santia Irawati, Fitrotun Nasikhatul M, Alfiyah Laili Inayatin, Nia Ayu L, M Firman Amrullah, Prasasti Swara N) serta teman-teman Farmasi angkatan 2014. Tak cukup kata untuk menggambarkan persahabatan kita, kecuali rasa syukur kuucapkan kepada Allah Swt karena telah mengenal dan dapat berjuang bersama kalian.

(Fadhila Isma Huwaida/14670036)

KATA PENGANTAR

Penulis mengucapkan puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayahNya, sehingga dapat menyelesaikan skripsi dengan Judul “Profiling Aktivitas Dan Toksisitas Antikanker Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia* (L.) Terhadap Sel Kanker Kolon WiDr Dan Sel Normal (Vero Cell Line)” ini dengan baik. Penulisan skripsi ini merupakan salahsatu persyaratan akademis yang harus dipenuhi untuk meraih gelar Sarjana Farmasi pada Program Sarjana Fakultas Kedokteran Dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Malang.

Penulisan Proposal ini tentunya tidak terlepas dari bantuan moril dan materil baik secara langsung maupun tidak langsung dari berbagai pihak. Oleh karena itu ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman yang berharga.
2. Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp. B., Sp. BP-RE (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran Dan Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Roihatul Muti’ah, M.Kes., Apt selaku ketua program studi Farmasi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Roihatul Muti’ah, M.Kes., Apt selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan serta bantuan meteril maupun moril kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.
5. Ibu Ria Ramadhani D.A., S.Kep., Ns.,M.Kep selaku konsultan yang telah meluangkan waktu untuk membimbing saya demi terselesainya penelitian ini.
6. Bapak Abdul Hakim, M.PI, Apt selaku Pembimbing Agama yang telah memberikan masukan dan nasehat kepada saya.
7. Bapak Weka Sidha Bhagawan, M.Farm, apt selaku penguji Utama yang bersedia menguji dan memberikan arahan kepada saya.
8. Semua keluarga saya yaitu Ayahku Mockhamad Maksum dan Ibuku Yoerin Ernawati yang senantiasa mendoakan dan memberikan dukungan yang tidak mungkin dapat terbalaskan. Kakak serta adikku yang telah memberikan dukungan dan doanya yang sangat membantu dalam kelancaran penyusunan skripsi ini.
9. Para dosen di Bidang Farmasi UIN Malang yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat kepada penulis selama berada di UIN Maliki Malang.
10. Metana Hemas En Ardhabilly yang selalu memberikan motivasi dan dukungan secara langsung kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
11. Teman-teman Farmasi angkatan 2014 khususnya tim penelitian Bawang Dayak dan antikanker yang telah berbagi kebersamaanya dalam senang maupun susah, sehingga tetap terjaga persaudaran kita.
12. Seluruh teman seperjuangan di UIN Malang baik di bidang Farmasi maupun non-Farmasi yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas segala bantuannya kepada penulis.

Penulis menyadari adanya kekurangan dan keterbatasan dalam penelitian ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi penyempurnaan peneliian ini. Akhir kata, penulis berharap semoga penelitian ini memberikan manfaat khususnya bagi penulis dan bagi pihak yang membutuhkan.

Malang, 6 Juni 2018

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PENYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	iv
MOTTO	v
HALAMAN PESEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR GRAFIK	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
ABSTRAK	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan	7
1.4 Manfaat Penelitian	8
1.4.1 Manfaat Teoritis	8
1.4.2 Manfaat Aplikatif	8
1.5 Batasan Masalah	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Tumbuhan Menurut Prespektif Islam.....	10
2.2 Tinjauan Tentang Tanaman	12
2.2.1 Klasifikasi Tanaman Bawang Dayak (<i>Eleutherine Palmifolia L.</i>).....	12
2.2.2 Morfologi Tanaman Bawang Dayak (<i>Eleutherine Palmifolia L.</i>).....	13
2.2.3 Manfaat Tanaman Bawang Dayak (<i>Eleutherine Palmifolia L.</i>).....	14
2.2.4 Bioaktivitas Bawang Dayak (<i>Eleutherine Palmifolia L.</i>)	14
2.3 Faktor Lingkungan	15
2.3.1 Ketinggian Tempat.....	16
2.3.2 Tanah Dan Unsur Hara	16
2.3.3 Iklim	20
2.4 Lokasi Tumbuh Bawang Dayak (<i>Eleutherine Palmifolia L.</i>).....	21
2.4.1 Provinsi Jawa Barat.....	21
2.4.2 Provinsi Jawa Timur	22
2.4.3 Provinsi Jawa Tengah	22

2.4.4 Provinsi Kalimantan Tengah.....	23
2.4.5 Provinsi Kalimantan Selatan.....	24
2.4.6 Provinsi Kalimantan Timur.....	24
2.5 Metode Ekstraksi.....	25
2.6 Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	27
2.7 Deskripsi Kanker.....	28
2.7.1 Proses Siklus Sel.....	29
2.7.2 Jalur Apoptosis Pada Cell Cycle.....	32
2.7.3 Definisi Kanker Kolon.....	32
2.8 Sel Kanker Kolon (<i>WiDr Cell Line</i>).....	35
2.9 Sel Normal (<i>Vero Cell Line</i>)	36
2.10 Agen Kemoterapi Cisplatin	37
2.11 Senyawa Bawang Dayak (<i>Eleutherine Palmifolia (L.)</i>) Sebagai Kemopreventif	39
2.11.1 Flavonoid Sebagai Kemopreventif.....	39
2.11.2 Alkaloid Sebagai Kemopreventif	41
2.12 Metode Mtt Assay.....	42
2.13 Definisi <i>Selectivity Indexs (SI)</i>	43
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL.....	45
3.1 Kerangka Konseptual	45
3.2 Uraian Kerangka Konseptual	46
3.3 Hipotesis Penelitian.....	48
BAB IV METODE PENELITIAN	49
4.1 Jenis Dan Rancangan Penelitian	49
4.2 Waktu Dan Tempat Penelitian	49
4.3 Populasi Dan Sampel	50
4.3.1 Populasi	50
4.3.2 Sampel.....	50
4.4 Variabel Penelitian Dan Definisi Operasional	51
4.4.1 Variabel Penelitian	51
4.4.2 Definisi Operasional.....	51
4.5 Alat Dan Bahan Penelitian	53
4.5.1 Alat.....	53
4.5.2 Bahan.....	53
4.5.3 Skema Kerja Penelitian.....	54
4.6 Prosedur Penelitian.....	55
4.6.1 Determinasi Tanaman	55
4.6.2 Preparasi Sampel	55
4.6.3 Analisis Kadar Air Serbuk Simplisia Umbi Bawang Dayak (<i>Eleutherine Palmifolia (L.)</i>)	55
4.6.4 Ekstraksi <i>Ultrasonic-Asissted Ekstration (UAE)</i> Umbi Bawang Dayak (<i>Eleutherine Palmifolia L.</i>)	56
4.6.5 Proses Pembuatan Ekstrak Menggunakan Rotary Evaporator	56

4.6.6 Identifikasi Golongan Senyawa Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	57
4.6.7 Penyiapan Sel	57
4.6.8 Panen Sel	57
4.6.8.1 Perhitungan Sel Kanker.....	58
4.6.8.2 Peletakan Sel Pada <i>Plate 96-Well</i>	58
4.6.8.3 Pembuatan Larutan Sampel Dan Pemberian Larutan Sampel Pada <i>Plate 96-Well</i>	59
4.6.8.4 Uji Aktivitas Sel Kanker Dan Toksisitas Sel Normal Dengan Metode MTT (<i>Microterazolium</i>)	61
4.7 Analisis Statistika.....	63
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	66
5.1 Determinasi Tanaman Bawang Dayak (<i>Eleutherine Palmifolia L.</i>).....	66
5.2 Preparasi Sampel Umbi Bawang Dayak (<i>Eleutherine Palmifolia L.</i>)	66
5.3 Analisa Kadar Air Simplisia Umbi Bawang Dayak (<i>Eleutherine Palmifolia L.</i>).....	67
5.4 Ekstraksi Menggunakan UAE (<i>Ultrasonication Assisted Extraction</i>).....	68
5.5 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Bawang Dayak	71
5.6 Uji Aktivitas Dan Toksisitas Antikanker Dengan Metode MTT (<i>Microtretrazolium</i>).....	75
5.7 Analisis Data.....	81
5.7.1 Analisis Data Pada Sel WiDr.....	81
5.7.2 Analisis Data Pada Sel Normal (<i>Vero Cell Line</i>)	91
5.8 Analisis Nilai Indeks Selektivitas	98
5.9 Pengaruh Lokasi Tumbuh Terhadap Perbedaan Aktivitas Dan Tosisitas	100
5.10 Kolerasi Hasil Penelitian Dengan Ayat Al-Quran.....	103
BAB VI KESIMPULAN.....	106
6.1 Kasimpulan	106
6.2 Saran	107
DAFTAR PUSTAKA	108

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Jenis-Jenis Tanah Menurut Kalsifikasi	17
Tabel 2.2	Klasifikasi Iklim Menurut Koppen	20
Tabel 4.1	<i>Plate 96 Well</i> Untuk Uji Aktivitas Antikanker Terhadap Sel Kanker	60
Tabel 4.2	<i>Plate 96 Well</i> Untuk Uji Toksisitas Antikanker Terhadap Sel Normal.....	60
Tabel 5.1	Hasil Analisa Kadar Air Simplisia Bawang Dayak (<i>Eleutherine Palmifolia</i> L.)	68
Tabel 5.2	Hasil Rendemen Ekstrak Bawang Dayak (<i>Eleutherine Palmifolia</i> L.)	71
Tabel 5.3	Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Bawang Dayak Jawa Timur Setelah Disemprot Pada Panjang Gelombang 366nm.....	73
Tabel 5.4	Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Bawang Dayak Jawa Tengah Setelah Disemprot Pada Panjang Panjang Gelombang 366nm	73
Tabel 5.5	Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Bawang Dayak Jawa Barat Setelah Disemprot Pada Panjang Gelombang 366nm .	73
Tabel 5.6	Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Bawang Dayak Kalimantan Timur Setelah Disemprot Pada Panjang Gelombang 366nm	73
Tabel 5.7	Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Bawang Dayak Kalimantan Tengah Setelah Disemprot Pada Panjang Gelombang 366nm	74
Tabel 5.8	Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Bawang Dayak Kalimantan Selatan Setelah Disemprot Pada Panjang Gelombang 366nm	74
Tabel 5.9	Prosentase (%) Viabilitas Sel Hidup Pada Tiap Konsentrasi Sel WiDr Dengan Kontrol Perlakuan Pemberian Ekstrak Bawang Dayak Dan Kontrol Positif Cisplatin	82
Tabel 5.10	Analisi Probit Nilai IC_{50} Sampel Terhadap WiDr	84
Tabel 5.11	Uji Normalitas Pada IC_{50}	86
Tabel 5.12	Uji Homogenitas Pada IC_{50}	87
Tabel 5.13	Analisis <i>Kruskal-Wallis</i> Pada IC_{50}	87
Tabel 5.14	Uji <i>Post Hoc</i> Pada Sel Kanker IC_{50}	89
Tabel 5.15	Prosentase (%) Viabilitas Sel Hidup Pada Tiap Konsentrasi Sel Normal Dengan Kontrol Perlakuan Pemberian Ekstrak Bawang Dayak Dan Kontrol Positif Cisplatin	91
Tabel 5.16	Analisi probit nilai CC_{50} sampel terhadap sel normal.....	93
Tabel 5.17	Uji normalitas pada CC_{50}	95
Tabel 5.18	Uji Homogenitas pada CC_{50}	95
Tabel 5.19	Analisis <i>one-way</i> Anova pada CC_{50}	96
Tabel 5.20	Uji post hoc pada sel normal CC_{50}	97

Tabel 5.21 Selektivitas Ekstrak etanolik umbi bawang dayak terhadap sel kanker kolon WiDr dan sel normal	99
Tabel 5.22 Karakteristik dari 6 Lokasi Pengambilan Sampel Bawang Dayak	101



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Dan Umbi Bawang Dayak.....	13
Gambar 2.2 Siklus Sel.....	30
Gambar 2.3 Tahapan Terjadinya Kanker Kolorectal	35
Gambar 2.4 Struktur Cisplatin	39
Gambar 2.5 Struktur Flavonoid	40
Gambar 2.6 Struktur Alkaloid.....	42
Gambar 4.1 Skema Kerja Penelitian	54
Gambar 5.1 Bawang Dayak Yang Telah Dikeringkan.....	67
Gambar 5.2 Proses Ekstraksi Bawang Dayak Menggunakan Metode UAE (<i>Ultrasound Assisted Extraction</i>).....	70
Gambar 5.3 Uji Kromatografi Lapis Tipis	72
Gambar 5.4 Perlakuan Pada Sel WiDr	78
Gambar 5.5 Perlakuan Pada Sel Normal.....	79
Gambar 5.6 Terbentuk Serabut <i>Formazan</i> Pada Sel WiDr Dan Sel Normal...	80
Gambar 5.7 96-Well Plate Setelah Pemberian Reagen Mtt Dan Sds Stopper.	81

DAFTAR GRAFIK

Grafik 5.1 Prosentase (%) Viabilitas Sel Hidup Pada Sel Kanker WiDr Dengan Perlakuan Ekstrak Bawang Dayak.....	82
Grafik 5.2 Prosentase (%) Viabilitas Sel Hidup Pada Sel Kanker WiDr Dengan Perlakuan Kontrol Positif Cisplatin.....	83
Grafik 5.3 Prosentase (%) Viabilitas Sel Hidup Pada Sel Normal Dengan Perlakuan Ekstrak.....	93
Grafik 5.4 Prosentase (%) Viabilitas Sel Hidup Pada Sel Normal Dengan Perlakuan Kontrol Positif Cisplatin	93



DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian
- Lampiran 2. Skema Kerja
- Lampiran 3. Prosedur Pengambilan Sampel Bawang Dayak
- Lampiran 4. Perhitungan Kadar Air Serbuk Umbi Bawang Dayak
- Lampiran 5. Perhitungan Rendemen Hasil Ekstraksi Ultrasonik
- Lampiran 6. Perhitungan Pembuatan Larutan Stok
- Lampiran 7. Perhitungan Data Hasil Uji Aktivitas dan Uji Toksisitas Antikanker Ekstrak Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.).
- Lampiran 8. Uji Analisis Statistik
- Lampiran 9. Gambar Prosedur Kerja
- Lampiran 10. *Hasil Visualizer*
- Lampiran 11. Lembar Determinasi Tanaman.
- Lampiran 12. Lembar Kelaikan Etik (*Ethical Clearance*)
- Lampiran 13. Lembar Surat Ijin Penelitian
- Lampiran 14. Lembar Sertifikat Penelitian
- Lampiran 15. Lembar Persetujuan Revisi

DAFTAR SINGKATAN

AKI	= Acute Kidney Injury
APC	= Adenomatous Polyposis Carcinoma
CHS	= Chalcone Synthase
CHI	= Chalcone Isomerase
CRC	= Pathogenesis Colorectal Cancer
IC ₅₀	= Inhibit Concentration
CC ₅₀	= Cytotoxic Concentration
COX	= Siklooksigenase
CDK	= Cyclin Dependent Kinase
CDKI	= Cyclin Dependent Kinase Inhibitor
DNA	= Deoxiribo Nukleid acid
DCC	= Deleted in cell Colorectal Carsinoma
EMT	= Epithelial Mesenchime Transition
FAP	= Familial Adenomatous polyposis coli
G1	= Gap 1
G2	= Gap 2
GDP	= Guanin Di Phosphate
GTP	= Guanin Tri Phosphate
HNPPC	= Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer
LOX	= Lipooksigenase
MTT	= Microtetrazolium
MMPs	= Matrix Metalloproteinase
M	= Mitosis
NCI	= National Cancer Institute
Rb	= Retinoblastoma
RNA	= Ribo Nukleid Acid
S	= Sintesis
SI	= Selectivity Index
UAE	= Ultrasound-Assisted Extraction
WCRF	= World Cancer Research Fund International
WHO	= World Health Organization

ABSTRAK

Huwaida, Fadhila Isma. 2018. *Profilling* Aktivitas dan Toksisitas Antikanker Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) Dari Beberapa Lokasi Di Indonesia Terhadap Sel Kanker Kolon WiDr dan Sel Normal (*Vero Cell Line*). Skripsi. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I Roihatul Mutiah, M. Kes. Apt, pembimbing II Ria Ramadhani D.A., S.Kep.,Ns.,M.Kep.

Bawang dayak merupakan tanaman endemik kalimantan Timur yang kini telah dibudidayakan pada berbagai lokasi di Indonesia. Bawang dayak memiliki berbagai macam manfaat salah satunya sebagai agen antikanker. Adanya perbedaan lokasi tumbuh mempengaruhi perbedaan kandungan metabolit pada bawang dayak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil aktivitas antikanker terhadap sel kanker kolon (*WiDr cell line*) dan toksisitas terhadap sel normal (*vero cell line*) secara invitro terhadap ekstrak etanol 96% bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) dari beberapa lokasi yang berbeda di Indonesia. Pemisahan senyawa aktif umbi bawang dayak dilakukan dengan metode ultrasonik menggunakan pelarut etanol 96%. Masing- masing ekstrak yang berasal dari 6 provinsi yakni Kalimantan Timur, Kalimantan Tengah, Kalimantan Selatan, Jawa Timur, Jawa Barat, dan Jawa Tengah diuji aktivitas dan toksisitasnya terhadap *WiDr cell line* dan *vero cell line* menggunakan metode *MTT assay*. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan uji aktivitas (IC_{50}), toksisitas (CC_{50}) dan nilai indek selektivitas. Hasil uji aktivitas pada Kalimantan Timur 133,2313 $\mu\text{g/mL}$, Kalimantan Selatan 269,796 $\mu\text{g/mL}$, Kalimantan Tengah 104,5183 $\mu\text{g/mL}$, Jawa Timur 86,981 $\mu\text{g/mL}$, Jawa Barat 159,0733 $\mu\text{g/mL}$, Jawa Tengah 272,5497 $\mu\text{g/mL}$, dan Cisplatin 47,16333. Hasil uji Toksisitas Kalimantan Timur 414,646 $\mu\text{g/mL}$, Kalimantan Selatan 446,4883 $\mu\text{g/mL}$, Kalimantan Tengah 528,768 $\mu\text{g/mL}$, Jawa Timur 476,8757 $\mu\text{g/mL}$, Jawa Barat 519,7043 $\mu\text{g/mL}$, Jawa Tengah 393,1613 $\mu\text{g/mL}$, dan Cisplatin 232,348 $\mu\text{g/mL}$. Dan nilai indeks selektivitas yaitu Kalimantan Timur 3,1, Kalimantan Selatan 1,7, Kalimantan Tengah 5,1, Jawa Timur 5,5, Jawa Barat 3,3, Jawa Tengah 1,4, Cisplatin 4,9.

Kata Kunci: Sel kanker Kolon WiDr, Sel Normal, Aktivitas, Toksisitas, *Eleutherine palmifolia* L.

ABSTRACT

Huwaida, Fadhila Isma. 2018. Profiling the Activity and Toxicity of Dayak Onion Extract (*Eleutherine palmifolia* L.) Anticancer in Some Locations in Indonesia On WiDr Colon Cancer Cell and Normal Cell (*Vero Cell Line*). *Skripsi*. Pharmacy Department, Faculty of Medicine and Health Science, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor I Roihatul Mutiah, M. Kes. Apt, Advisor II Ria Ramadhani D.A., S.Kep.,Ns.,M.Kep.

Dayak Onion is an Endemic plant of East Kalimantan, which is now cultivated in various locations in Indonesia. One of the numerous advantages of Dayak onion is anticancer agent. The difference of locations where it grows affects the difference of metabolite contained in Dayak onion. This study aims to find out the in vitro anticancer activity profile on the colon cancer cell (WiDr cell line) and the in vitro toxicity on the normal cell (vero cell line) on the 96% ethanol extract of Dayak onion (*Eleutherine palmifolia* L.) from various locations in Indonesia. The separation of active compounds in Dayak onion's root is conducted using ultrasonic method helped by 96% of ethanol as the solvent. The activity and toxicity of each extract taken from six provinces namely East Kalimantan, Central Kalimantan, South Kalimantan, East Java, West Java, and Central Java on WiDr cell line and vero cell line has been tested using MTT assay method. The results of the study indicate a difference in activity test (IC_{50}), toxicity (CC_{50}) dan the value of index selectivity. The result of activity test in East Kalimantan is 133,2313 $\mu\text{g/mL}$, South Kalimantan is 269,796 $\mu\text{g/mL}$, Central Kalimantan is 104,5183 $\mu\text{g/mL}$, East Java is 86,981 $\mu\text{g/mL}$, West Java is 159,0733 $\mu\text{g/mL}$, Central Java is 272,5497 $\mu\text{g/mL}$, and Cisplatin is 47,16333. The result of toxicity test in East Kalimantan is 414,646 $\mu\text{g/mL}$, South Kalimantan is 446,4883 $\mu\text{g/mL}$, Central Kalimantan is 528,768 $\mu\text{g/mL}$, East Java is 476,8757 $\mu\text{g/mL}$, West Java is 519,7043 $\mu\text{g/mL}$, Central Java is 393,1613 $\mu\text{g/mL}$, and Cisplatin is 232,348 $\mu\text{g/mL}$. Moreover, the value of index selectivity of East Kalimantan is 3,1, South Kalimantan is 1,7, Central Kalimantan is 5,1, East Java is 5,5, West Java is 3,3, Central Java is 1,4, and Cisplatin is 4,9.

Keywords: WiDr Colon Cancer Cell, Normal Cell, Activity, Toxicity, *Eleutherine palmifolia* L.

مستخلص البحث

هويدة، فضيلة عصمة. صياغة نشاط وسمية مضادة السرطان من مستخرجة البصل السكري داياك (*Eleutherine palmifolia L.*) من بعض الأماكن بإندونيسيا على خلايا سرطان القولون (*WiDr*) والخلايا الطبيعية (*Vero Cell Line*). البحث الجامعي. قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: د. رائحة المطيعة، الماجستير. المشرف الثاني: ريا رمضاني، الماجستير.

البصل السكري داياك من نبات أصيلة كليمانتان الشرقية، وقد تمت زراعتها الآن في أماكن مختلفة في إندونيسيا. ولديها فوائد كثيرة، منها مضادة السرطان. إن مكان نموها يؤثر على محتوى المستقلبات للبصل السكري داياك. يهدف هذا البحث إلى تحديد صياغة نشاط مضادة السرطان على خلايا سرطان القولون (*WiDr*) وسميتها على الخلايا الطبيعية (*Vero Cell Line*) خارج ذاتها مع الإيثانول ٩٦%. كل المستخرجات التي أخذت من بعض الأماكن المختلفة بإندونيسيا. تم تفصيل المركبات الفعال من البصل السكري داياك باستخدام الموجة فوق الصوتية (*Ultrasonic Assisted Extraction*) وبالإيثانول ٩٦%. كل المستخرجات التي أخذت من ست المناطق؛ كليمانتان الشرقية، وكليمانتان الوسطى، وكليمانتان الجنوبية، والجاوى الشرقية والجاوى الغربية والجاوى الوسطى قامت الباحثة باختبار نشاطها وسميتها على خلايا سرطان القولون (*WiDr*) والخلايا الطبيعية (*Vero Cell Line*) باستخدام طريقة MTT. أظهرت نتائج هذا البحث وجود الفرق بين اختبار النشاط (IC_{50}) وسمية (CC_{50}) وقيمة المؤشر الانتقائي. نتائج اختبار النشاط في كليمانتان الشرقية هي ١٣٣،٢٣١٣ ملغ/مل، كليمانتان الجنوبية هي ٢٦٩،٧٩٦ ملغ/مل، كليمانتان الوسطى هي ١٠٤،٥١٨٣ ملغ/مل، الجاوى الشرقية هي ٨٦،٩٨١ ملغ/مل، الجاوى الغربية هي ١٥٩،٧٣٣ ملغ/مل، الجاوى الوسطى ٢٧٢،٥٤٩٧ ملغ/مل، وسيسيلاتين \ ٣٧،١٦٣٣٣. نتائج اختبار سمية في كليمانتان الشرقية هي ٤١٤،٦٤٦ ملغ/مل، كليمانتان الجنوبية هي ٤٤٦،٤٨٨٣ ملغ/مل، كليمانتان الوسطى هي ٥٢٨،٧٦٨ ملغ/مل، الجاوى الشرقية هي ٤٧٦،٨٧٥٧ ملغ/مل، الجاوى الغربية هي ٥١٩،٧٠٤٣ ملغ/مل، الجاوى الوسطى هي ٣٩٣،١٦١٣ ملغ/مل، وسيسيلاتين ٢٣٢،٣٤٨ ملغ/مل. وقيمة المؤشر الانتقائي بالتوالي هي كليمانتان الشرقية ٣،١، وكليمانتان الجنوبية ١،٧، وكليمانتان الوسطى، والجاوى الشرقية ٥،٥، والجاوى الغربية ٣،٣، والجاوى الوسطى ١،٤، وسيسيلاتين ٤،٩.

الكلمة الرئيسية: خلايا سرطان القولون (*WiDr*)، والخلايا الطبيعية، نشاط، سمية، البصل السكري داياك.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker kolon termasuk dalam empat besar kanker penyebab kematian terbanyak di dunia selain kanker paru-paru, lambung dan hati, kanker ini juga menyebabkan kasus kematian sebanyak 608.000 pertahun (WHO, 2013). Di Amerika Serikat pada tahun 2005 terdapat 105.000 kasus yang disebabkan oleh kanker kolon dan 40.000 kasus yang disebabkan oleh kanker *rectal*, adanya komplikasi dari keduanya diperkirakan menjadi penyebab 56.290 kasus kematian (Ruddon, 2007). Di Indonesia sendiri mengalami kecenderungan peningkatan kanker kolon dari tahun ke tahun (Kartawiguna, 2001). Terjadinya kanker kolorektal diakibatkan karena adanya perubahan pada epitel kolon yang telah mengalami metastasis (Nagara *et al.*, 2008). Kanker kolorektal diidentifikasi berdasarkan dua kelompok familial yang terlibat. Sebanyak 80% kanker kolorektal disebabkan karena sporadik yaitu *Adenomatous Polyposis Coli* (APC) dan 20% disebabkan dari hereditas yaitu *Hereditary Non-Polyposis Colon Cancer* (HNPCC) (King dan Robins, 2006).

Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan pembedahan, radioterapi, imunoterapi serta kemoterapi (Maharani, 2009). Pengobatan secara kemoterapi merupakan pengobatan yang paling sering digunakan (Maharani, 2009). Salah satu agen kemoterapi yang sering digunakan dalam penanganan kanker adalah cisplatin (Dipiro *et al.*, 2005). Cisplatin bekerja dengan cara membunuh semua sel dalam siklus sel serta menghambat fungsi dan sintesis DNA (Katzung, 2007). Penggunaan

cisplatin memiliki efek yang tidak hanya membunuh sel kanker, tetapi juga menyerang sel-sel sehat. Cisplatin dapat menimbulkan efek samping berupa toksikologi yang berat pada ginjal dan neurotoksisitas (Florea dan Busselberg, 2011). Oleh karena itu saat ini masyarakat beralih pada pengobatan tradisional dengan menggunakan tumbuhan herbal yang sifatnya lebih aman, minim efek samping serta ekonomis (Herlina, 2009).

Indonesia merupakan negara kepulauan yang terletak di kawasan katulistiwa. Letak geografis tersebut menyebabkan Indonesia menjadi salah satu negara dengan hutan hujan tropis terluas di dunia dan memiliki keanekaragaman yang tinggi. Pambudi *et al* (2014) menyatakan luas hutan hujan tropis sekitar 1,3% dari luas wilayah Indonesia dengan 38.000 spesies tumbuhan yang terdapat di Indonesia dan 55% tumbuhan tersebut merupakan spesies endemik. Tingginya keanekaragaman tersebut menjadikan Indonesia sebagai sumber bahan bioaktif yang potensial dan dapat dimanfaatkan dalam bidang industri, kesehatan, dan farmasi.

Berbagai macam keanekaragaman hayati diciptakan Allah SWT untuk dapat diambil manfaatnya oleh manusia. Hal tersebut merupakan karunia serta rahmat yang diberikan Allah SWT agar manusia dapat mengambil hikmah serta pelajaran guna kemaslahatan umat manusia.

Sebagaimana dijelaskan dalam Al-Quran dalam surah Thahaa ayat 53 sebagai berikut:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Artinya: “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”.

Berdasarkan surah Thahaa ayat 53 tersebut menjelaskan bahwa tumbuhan diciptakan beraneka ragam yang merupakan salah satu bentuk kekuasaan dari Allah SWT dan tidak dapat dipungkiri bahwa keanekaragaman hayati harus dikaji dan dipelajari lebih lanjut untuk dapat dimanfaatkan kandungannya secara maksimal demi kesejahteraan umat manusia (Shihab, 2010).

Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat kanker dan mempunyai banyak manfaat adalah umbi dari tumbuhan bawang dayak. Tumbuhan ini termasuk dalam suku Iridacea. Bawang dayak merupakan tumbuhan endemik yang berasal dari Provinsi Kalimantan Tengah, namun seiring perkembangannya bawang dayak telah dibudidayakan di beberapa daerah di Indonesia yaitu pada pulau Jawa. Masyarakat lokal Kalimantan secara empiris memanfaatkan umbi bawang dayak sebagai obat kanker payudara, obat jantung, meningkatkan daya tahan tubuh, antiinflamasi, antitumor serta menghentikan pendarahan (Kuntorin dan Astuti, 2015). Menurut Hyene (1987) masyarakat Provinsi Jawa barat memanfaatkan bawang dayak sebagai obat batuk, radang poros usus, dan kanker kolon.

Bawang dayak diketahui memiliki kemampuan adaptasi yang baik sehingga dapat tumbuh di berbagai jenis iklim dan tanah (Kuntorin dan Astuti, 2015). Adanya perbedaan lokasi tumbuh pada tumbuhan dapat mempengaruhi perbedaan komponen serta jumlah kandungan senyawa bioaktif yang turut mempengaruhi perbedaan aktivitas serta toksisitas yang ditimbulkan (Verma dan Shukla, 2015). Perbedaan lokasi tumbuh meliputi faktor internal dan faktor eksternal (Kim *et al.*, 2011). Faktor internal meliputi faktor genetik dan variasi fisiologi (Verma dan Shukla, 2015). Sedangkan faktor eksternal (lingkungan) meliputi perubahan iklim, jenis tanah, kandungan unsur hara, penggunaan pupuk, kerusakan yang diakibatkan oleh mikroorganisme, stres yang diinduksi radiasi UV, logam berat dan pestisida (Canas *et al.*, 2015). Sebagaimana telah dijelaskan dalam firman Allah SWT dalam surah Al-A'raaf ayat 58:

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ وَالَّذِي خَبثَ لَا يَخْرُجُ إِلَّا نَكِدًا كَذَلِكَ نُصَرِّفُ الْآيَاتِ
لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ ﴿٥٨﴾

Artinya: "Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah; dan tanah yang tidak subur, tanaman-tanamannya hanya tumbuh merana. Demikianlah Kami mengulangi tanda-tanda kebesaran (Kami) bagi orang-orang yang bersyukur" (QS Al-A,raaf:58).

Berdasarkan ayat "Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah", hal ini menunjukkan bahwa tanah yang baik, tanamannya dapat tumbuh subur dan hidup namun tidak luput atas izin Allah SWT. (Muhammad dan Abdirrahman, 2010). Berdasarkan ayat diatas menunjukkan bahwa tanah dapat mempengaruhi kualitas tanaman yang dihasilkan. Tanah mengandung berbagai jenis unsurhara yang dapat mempengaruhi kandungan bioaktif pada

tanaman. Sehingga tanaman tersebut dapat digunakan sebagai alternatif obat penawar pada berbagai macam penyakit.

Skrining fitokimia pada umbi bawang dayak menunjukkan adanya senyawa berupa alkaloid, glikosia, flavonoid, steroid, tannin, dan fenolik (Kuntorin dan Astuti, 2015). Senyawa alkaloid dan flavonoid pada bawang dayak berpotensi sebagai agen antikanker (Yaffe *et al.*, 2014; Ren *et al.*, 2003). Senyawa flavonoid berfungsi sebagai inhibitor dan modulator pada siklus sel kanker kolon pada G₁ / S dan G₂ / M (Chahar *et al.*, 2011). Senyawa flavonoid turut menunjukkan penghambatan ekspresi enzim topoisomerase I dan topoisomerase II serta menurunkan ekspresi protein-protein antiapoptosis yaitu Bcl-2 dan Bcl-XL (Ren *et al.*, 2003). Sedangkan adanya senyawa alkaloid terbukti dapat menghambat proliferasi pada sel kanker kolon HT-29. Alkaloid menimbulkan aktivitas dengan mengakibatkan terhambat fase G₁ yang selanjutnya menuju fase *cell cycle arrest* dan apoptosis sel (Yaffe *et al.*, 2014). Yusni (2008) menyatakan bahwa ekstrak etanol dari *E. Palmifolia* memiliki efek aktivitas dapat menekan adanya mutasi dari gen p53 pada sel kanker kolon HT29 dengan nilai LC₅₀ sebesar 3.125 mg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas dari bawang dayak terbukti dapat menimbulkan efek terhadap sel kanker kolorektal (Li *et al.*, 2008).

Tanaman bawang dayak memiliki potensi sebagai agen kemopreventif apabila bersifat selektif dalam membunuh sel kanker. Untuk mengetahui tingkat selektivitas suatu ekstrak dalam membunuh sel kanker tanpa membunuh sel normal maka diperlukan perhitungan *Selectivity Index* (SI). Suatu ekstrak dapat dikatakan mempunyai selektivitas yang tinggi apabila nilai dari $SI \geq 3$, dan dikatakan kurang

selektif apabila nilai $SI < 3$ (Sutejo *et al.*, 2016). Selektivitas ekstrak bawang dayak dibuktikan dengan membandingkan data yang diperoleh berdasarkan perhitungan sel normal (*vero cell line*) dengan sel kanker melalui parameter nilai (SI) (Sutejo *et al.*, 2016).

Berdasarkan uraian diatas maka perlunya dilakukan penelitian mengenai profil aktivitas dan toksisitas antikanker ekstrak bawang dayak dari beberapa provinsi di Indonesia, yaitu pada provinsi Jawa Timur , Jawa Barat, Jawa Tengah, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur, dan Kalimantan Tengah. Pengujian aktivitas ekstrak bawang dayak dilakukan menggunakan biakan sel kanker kolon WiDr dan uji toksisitas menggunakan biakan sel normal (*vero cell line*), metode yang digunakan yaitu metode *MTT assay* yang selanjutnya untuk menentukan *efficacy* dan toksisitas terhadap ekstrak bawang dayak yang dinilai menggunakan IC_{50} dan CC_{50} serta untuk melihat adanya nilai selektivitas pada suatu ekstrak menggunakan perhitungan SI.

1.1 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka masalah dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah terdapat perbedaan aktivitas antikanker ekstrak bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) terhadap sel kanker kolon WiDr pada Provinsi Jawa Timur , Jawa Barat, Jawa Tengah, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur , dan Kalimantan Tengah berdasarkan nilai IC_{50} ?

2. Apakah terdapat perbedaan toksisitas antikanker ekstrak bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) terhadap sel normal (*vero cell line*) Provinsi Jawa Timur , Jawa Barat, Jawa Tengah, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur , dan Kalimantan Tengah berdasarkan nilai CC_{50} ?
3. Apakah terdapat perbedaan nilai indeks selektivitas ekstrak bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) terhadap sel kanker kolon WiDr dari Provinsi Jawa Timur , Jawa Barat, Jawa Tengah, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur , dan Kalimantan Tengah ?

1.2 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka didapatkan tujuan sebagai berikut:

1. Mengetahui apakah terdapat perbedaan aktivitas antikanker ekstrak bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) terhadap sel kanker kolon WiDr pada Provinsi Jawa Timur , Jawa Barat, Jawa Tengah, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur , dan Kalimantan Tengah berdasarkan IC_{50} .
2. Mengetahui apakah terdapat perbedaan toksisitas antikanker ekstrak bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) terhadap sel normal (*vero cell line*) pada Provinsi Jawa Timur , Jawa Barat, Jawa Tengah, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur , dan Kalimantan Tengah berdasarkan CC_{50} .
3. Mengetahui perbedaan nilai indeks selektivitas ekstrak bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) terhadap sel kanker kolon WiDr pada Provinsi

Jawa Timur , Jawa Barat, Jawa Tengah, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur , dan Kalimantan Tengah.

1.3 Manfaat Penelitian

1.3.1 Manfaat Teoritis

1. Penelitian ini dapat digunakan sebagai rujukan pengembangan ilmiah pada penyakit kanker kolon oleh sel WiDr.
2. Penelitian ini digunakan sebagai pengetahuan selektivitas indeks, aktivitas (IC_{50}) dan toksisitas (CC_{50}) pada ekstrak bawang dayak pada enam Provinsi yang berbeda di Indonesia yaitu Jawa Timur , Jawa Barat, Tengah, Kalimantan Timur , Kalimantan Selatan dan Kalimantan Tengah.

1.3.2 Manfaat Aplikatif

Penelitian ini diharapkan dapat dilanjutkan untuk menemukan senyawa aktif sehingga dapat digunakan sebagai alternatif kokemoterapi kanker kolon dengan efek samping yang minimal.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Sampel yang digunakan adalah umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) diperoleh dari Provinsi Kalimantan Timur , Kalimantan Tengah, Kalimantan Selatan, Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Jawa Timur .
2. Ekstraksi menggunakan *ultrasonication assested extraction* (UAE) menggunakan pelarut etanol 96%.

3. *Cell line* yang digunakan untuk uji aktivitas antikanker yaitu sel kanker kolon WiDr yang diperoleh dari laboratorium Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
4. *Cell line* yang digunakan untuk uji toksisitas antikanker yaitu sel normal (*vero cell line*) yang diperoleh dari laboratorium Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
5. Metode yang digunakan untuk uji aktivitas dan toksisitas antikanker yaitu *MTT assay*.
6. Tingkat aktivitas dan toksisitas ditunjukkan dengan nilai IC_{50} dan CC_{50} berdasarkan *ELISA reader*.
7. Nilai dikatakan selektif apabila nilai dari *Selectivity indexes* (SI) ≥ 3 , dan dikatakan kurang selektif apabila nilai *Selectivity indexes* (SI) < 3 (Sutejo, Putri, dan Meiyanto, 2016)
8. *National Cancer Institute* (NCI) menyatakan suatu ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas antikanker tinggi apabila memiliki nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/ml}$ dan tidak aktif apabila nilai $IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$ (Roring *et al.*, 2017).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Menurut Perspektif Islam

Hubungan antara manusia dengan tumbuh-tumbuhan sangat berkaitan erat. Banyak sekali manfaat dan nilai yang didapatkan oleh manusia dari tumbuh-tumbuhan tersebut, namun masih banyak pula tumbuhan disekitar kita yang belum diketahui khasiat serta kandungannya. Keberadaan tumbuhan ini merupakan berkah yang diberikan Allah SWT kepada seluruh makhluknya agar dapat lebih dikembangkan lagi sebagai makanan maupun pengobatan yang dapat bermanfaat bagi sesama. Allah befiman dalam surah Abasa ayat 25-28:

أَنَا صَبَبْنَا الْمَاءَ صَبًّا ﴿٢٥﴾ ثُمَّ شَقَقْنَا الْأَرْضَ شَقًّا ﴿٢٦﴾ فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا ﴿٢٧﴾ وَعَيْنَبًا وَقَضْبًا ﴿٢٨﴾

Artinya:” Sesungguhnya Kami benar-benar telah mencurahkan air (dari langit) (25) kemudian Kami belah bumi dengan sebaik-baiknya (26) lalu Kami tumbuhkan biji-bijian di bumi itu (27) anggur dan sayur-sayuran (28)”.

Ayat ini diawali dengan rahmat Allah SWT berupa turunya air hujan yang dapat memunculkan kehidupan, dengan menumbuhkan berbagai macam tumbuhan. Sebagaimana tumbuh-tumbuhan tersebut berguna bagi kelangsungan hidup manusia dan hewan. Ayat tersebut juga menjelaskan bahwa tumbuh-tumbuhan dapat tumbuh dengan subur karena adanya air hujan, sehingga menjadikan tanaman-tanaman tersebut diantara ada yang dimakan manusia dan ternak.

Tumbuh-tumbuhan ini mengandung berbagai gizi yang baik bagi makhluk hidup yang mengkonsumsinya, dalam ayat selanjutnya Allah SWT dalam

menciptakan biji-bijian, sayur-sayuran, buah-buahan serta rumput yang biasa digunakan menjadi bahan makanan bagi manusia dan ternak. Setiap unsur dari tumbuhan ini memiliki khasiat yang bermanfaat bagi tubuh manusia yang dapat kita diteliti dan pelajari untuk mencerahkan dan memberikan pandangan mendalam mengenai keajaiban yang terkandung didalamnya (Imani, 2005).

Pada dasarnya semua penyakit berasal dari Allah, maka yang dapat menyembuhkan Allah pula semata. Akan tetapi untuk mencapai kesembuhan tersebut tentunya diiringi dengan usaha yang maksimal. Sesungguhnya Allah mendatangkan penyakit, maka bersamaan dengan itu Allah juga mendatangkan obat. Sebagaimana dengan firman Allah dalam surah Al-Israa ayat 82:

وَنُنزِّلُ مِنَ الْقُرْآنِ مَا هُوَ شِفَاءٌ وَرَحْمَةٌ لِّلْمُؤْمِنِينَ وَلَا يَزِيدُ الظَّالِمِينَ إِلَّا خَسَارًا ﴿٨٢﴾

Artinya: "Dan Kami turunkan dari Al Quran suatu yang menjadi penawar dan rahmat bagi orang-orang yang beriman dan Al Quran itu tidaklah menambah kepada orang-orang yang zalim selain kerugian"

Berdasarkan surah tersebut Allah menurunkan Al-Quran sebagai suatu rahmat dan obat penawar baik secara jasmani dan rohani. Allah SWT menciptakan suatu penyakit juga pasti menciptakan penawar atau obat untuk penyakit tersebut. Segala sesuatu yang datang dari Allah SWT maka akan kembali padanya, apabila dalam proses suatu penyakit itu menjadi kesembuhan maka Allah-lah yang membuat kesembuhan itu. Hanya saja pengobatan untuk suatu penyakit tersebut ada yang sudah ditemukan dan ada yang belum ditemukan, maka dari itu tugas kita sebagai manusia makhluk yang berakal harus selalu berfikir dan mencari cara untuk menemukan alternatif pengobatan dari suatu penyakit tersebut tanpa menimbulkan adanya efek samping setelahnya. Dalam proses pencarian tersebut kita sebagai

mahluk beriman sejatinya harus mengacu kembali pada Al-Quran dan Hadist nabi. Sebagaimana telah dijelaskan dalam surah tersebut bahwa Al-Quran seluruhnya adalah penyembuh bagi qalbu, penyakit kebodohan, dan kebingungan (As-suyuti, 2008).

2.2 Tinjauan Tentang Tanaman

2.2.1 Klasifikasi Tanaman Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.))

(*Eleutherine palmifolia* (L.)) family Iridaceae dikenal dengan nama lokal bawang dayak adalah tanaman yang berasal dari suku dayak Kalimantan Indonesia (Febrinda, 2014). Bawang dayak merupakan tanaman khas daerah kalimantan Tengah. Tanaman ini sudah digunakan secara turun - temurun sebagai tanaman berkhasiat obat yang dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit (Aryani dan Purwandi, 2016). Klasifikasi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.)) sebagai berikut (Backer dan Brink, 1965):

Kingdom : Plantae.
Divisi : Spermatophyta.
Sub divisi : Angiospermae.
Kelas : Monocotyledonae.
Class : Liliales.
Family : Iridaceae.
Genus : Eleutherine.
Species : *Eleutherine palmifolia* L.



Gambar 2.1 Tanaman dan umbi bawang dayak

2.2.2 Morfologi Tanaman Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.))

Spesies dari genus *Eleutherine palmifolia* L. adalah herba *perennial*, *rhizomatous*, dan bulat yang didominasi dengan warna merah. Umbi bawang dayak mirip dengan bawang merah yang berukuran 20-30 cm. Genus *Eleutherine* memiliki serbuk sari *monosulcado* dengan permukaan proksimal hampir berlubang (Couto *et al.*, 2016). Bawang dayak merupakan terna yang merumpun sangat kuat dengan tinggi 26 hingga 50 cm. Umbi bawang dayak tumbuh di bawah tanah, berbentuk bulat telur memanjang dan mempunyai umbi berlapis menyerupai berwarna merah. Bawang dayak memiliki daun tunggal dengan ujung daun meruncing (*acicular*), tepi daun rata serta tidak bergerigi (*entire*), letak daun berhadapan, pangkal daun berbentuk runcing (*acute*), permukaan daun atas dan daun bawah halus (*glabrous*), tulang daun parallel serta sejajar, daun berwarna hijau muda sampai hijau (Krismawati dan Sabran, 2004). Bawang dayak mempunyai jenis bunga majemuk tumbuh pada ujung batang berwarna putih, serta mempunyai putik berbentuk jarum dengan warna putih kekuningan berukuran sekitar 4mm. Bawang dayak memiliki jenis akar serabut berwarna coklat muda (Firdaus, 2006).

2.2.3 Manfaat Tanaman Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.))

Bawang dayak sebagai salah satu tanaman yang dipercaya memiliki khasiat menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Sampai saat ini tanaman bawang dayak digunakan untuk terapi penyakit kanker usus, kanker payudara, diabetes melitus, hipertensi, menurunkan kolesterol, obat bisul, stroke, sakit perut sesudah melahirkan. Tanaman bawang dayak biasa dianggap sebagai obat dewa bagi penduduk Kalimantan Tengah (Carmelita, 2016).

Secara empiris, umbi dari bawang dayak bersifat diuretik, astringen, pencahar, analgetik, mengobati luka, sakit kuning, batuk, mencret berdarah, sakit perut, disentri, radang poros usus, kanker kolon, kanker payudara, perangsang muntah, dan obat bisul. Daunnya berkhasiat sebagai obat bagi wanita yang nifas (Puspadewi *et al.*, 2013).

2.2.4 Bioaktivitas Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.))

Bawang dayak termasuk salah satu tanaman hias pada umumnya bagian tanaman yang digunakan yaitu umbi dan daun (Mangan, 2009). Tanaman bawang dayak memiliki banyak manfaat di antaranya sebagai antikanker payudara, mencegah penyakit jantung, immunostimulan, antinflamasi, antitumor serta anti *bleeding agent* (Saptowalyono, 2007). Bawang dayak mengandung senyawa metabolit sekunder golongan naftokuinon dan turunannya seperti elecanacin, eleutherin, eleutherol, eleutherinon. Naftokuinon dikenal sebagai antimikroba, antifungal, antiviral, dan antiprasitik. Selain terdapat didalam sel vakuola dalam bentuk glikosida dan kandungan senyawa kimia lain dari tumbuhan umbi bawang dayak adalah flavonoid (Hidayah *et al.*, 2015). Selain itu, naphtoquinones memiliki

bioaktivitas sebagai antikanker dan antioksidan yang biasanya terdapat di dalam sel vakuola dalam bentuk glikosida (Babula *et al.*, 2005).

Penelitian terhadap bawang dayak yang berkaitan dengan aktivitas dan toksisitas antikanker telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Fitri *et al* (2014) telah meneliti uji aktivitas terhadap sel kanker payudara secara invitro dengan nilai IC₅₀ ekstrak etanol bawang dayak 265.023 µg/ml, ekstrak n-heksana bawang dayak 147.124 µg/ml, dan ekstrak etil asetat bawang dayak 3782.29 µg/ml. Ekstrak etanol dari bawang dayak memiliki efek aktivitas terhadap sel kanker kolon HT29 dengan nilai LC₅₀ 3,125 mg/ml dan terbukti dapat menekan mutasi pada gen p53. (Yusni, 2008). Bawang dayak juga dilaporkan memiliki efek aktivitas terhadap sel kanker kolorektal. Elutherine dan senyawa elecanacin menghambat transkripsi TCF/β-catenin pada sel kanker kolorektal SW480 tergantung dari besar dosisnya. Kedua senyawa ini juga menunjukkan aktivitas yang selektif terhadap kanker kolorektal (Fitri *et al.*, 2014).

2.3 Faktor Lingkungan

Faktor lingkungan dapat mengakibatkan keberagaman senyawa metabolit pada tanaman. Diperkirakan dalam satu tanaman memiliki 5000-10.000 metabolit dengan total dimungkinkan mencapai 200.000 struktur yang berbeda dalam kerajaan tanaman (Colquohun, 2007). Perbedaan kandungan kimia pada suatu tanaman disebabkan karena adanya faktor internal dan faktor eksternal (Kim *et al.*, 2011). Faktor internal meliputi faktor genetik dan variasi fisiologi, sedangkan faktor eksternal (lingkungan) meliputi temperatur, kelembapan, intensitas cahaya,

asupan air, mineral kandungan CO₂, seperti suhu, paparan sinar matahari, dan curah hujan (Verma dan Shukla, 2015). Faktor eksternal (lingkungan) lainnya yaitu berupa perubahan iklim, penggunaan pupuk, kerusakan yang diakibatkan oleh mikroorganisme, stres yang diinduksi radiasi UV, logam berat dan pestisida (Canas *et al.*, 2015). Faktor lingkungan pada suatu tanaman menentukan kualitas fitofarmaka dan penting untuk mengukur *safety* dan *efficacy* (Kim *et al.*, 2011).

2.3.1 Ketinggian Tempat

Ketinggian tempat dapat menyebabkan perubahan suhu dan kondisi iklim. Perbedaan elevasi ketinggian akan memacu pembentukan metabolit sekunder sebagai bentuk mekanisme pertahanan secara fisiologis (Nurnasari dan Djumali, 2010). Penelitian pada studi tanaman *C. Pubescens* menunjukkan bahwa kadar vitamin C dan antioksidan meningkat seiring dengan ketinggian lokasi tumbuh (Fatchurrozak *et al.*, 2013). Hal ini menunjukkan bahwa pengaruh ketinggian tempat mempengaruhi proses metabolisme tanaman (Karamoy, 2009).

2.3.2 Tanah dan Unsur Hara

Tanah merupakan lapisan permukaan bumi yang berfungsi sebagai medium alami untuk pertumbuhan tanaman, perkembangan perakaran, penopang tegak tumbuhnya tanaman dan penyuplai kebutuhan air dan udara. Tanah juga berfungsi sebagai penyuplai nutrisi dan sebagai habitat biota yang berperan dalam penyediaan unsur hara bagi tumbuhan (Rosmarkam dan Widya, 2011). Perbedaan jenis tanah dan unsur hara menyebabkan perbedaan kandungan metabolit seperti *sesquiterpenes lactones* dan *phenol* pada tanaman *Tithonia difersifolia* yang tumbuh diberbagai lokasi yang berbeda (Sampaio *et al.*, 2016).

Tabel 2.1 Jenis-Jenis Tanah Menurut Kalsifikasi (Arsyad, S. 1989)

No	Jenis Tanah	Deskripsi
1	Grumusol	Tanah dengan kadar liat >30 %
2	Gleisol	Tanah jenuh air sehingga berwarna kelabu (hidromorfik)
3	Aluvial	Tanah berasal dari endapan baru. Kandungan pasir kurang dari 60 %.
4	Arenosol	Tanah yang terdapat pada kedalaman 50 cm dari permukaan. Tidak mempunyai horison penciri kecuali epipedon ochrik.
5	Andosol	Tanah yang umumnya berwarna hitam > 60 % terdiri dari abu vulkanik vitrik, cinders, atau bahan pyroklastik lain
6	Latosol	Tanah dengan kadar liat >60 %, kejenuhan basa kurang dari 50 %.
7	Brunizem	Seperti Latosol, tetapi kejenuhan basa lebih dari 50 %.
8	Kambisol	Tanah dengan horison kambik, atau epipedon umbrik, atau mollik.
9	Nitosol	Tanah dengan kadar <20 %. Mempunyai sifat ortosik.
10	Podsolik	Tanah dengan horison penimbunan liat dan kejenuhan basa <50 %.
11	Mediteran	Seperti tanah Podsolik tetapi kejenuhan basa >50 %.
12	Planosol	Tanah dengan horison albik yang terletak di atas horison dengan permeabilitas lambat.
13	Podsol	Tanah horison penimbunan besi, Al dan bahan organik
14	Oksisol	Tanah dengan pelapukan lanjut dan mempunyai horison oksik

Selain jenis tanah kandungan unsur hara turut mempengaruhi metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman. Unsur hara merupakan faktor penting yang dibutuhkan oleh tanaman untuk melengkapi daur hidupnya, mulai dari fase vegetatif sampai generatif. Unsur hara yang diperlukan dalam tanaman dibagi menjadi dua golongan, yaitu unsur hara makro dan mikro. Unsur hara makro merupakan unsur hara yang diperlukan oleh tanaman dan dalam jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan unsur hara mikro. Kandungan unsur hara yang terdapat dalam suatu tanaman meliputi C, H, O, N, P, S, K, Ca, Mg, Si, Na, Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, B. Kandungan unsur hara dalam suatu tanaman berbeda-beda tergantung jenis

hara, jenis tanaman, kesuburan tanah atau jenis tanah, dan pengelolaan tanaman (Rosmarkam dan Nasih, 2002).

Adapun Fungsi dari unsur hara tersebut yaitu : (Sudarmono, 1997)

1. Nitrogen (N)

Memperbaiki pertumbuhan vegetasi tanaman dan membantu pembentukan klorofil.

2. Fosfor (P)

Berperan dalam pembelahan sel tanaman, mempercepat proses pembentukan bunga, menguatkan batang, dan membuat tanaman tahan terhadap penyakit.

3. Kalium (K)

Membantu transportasi hasil fotosintesis, merangsang perkembangan akar dan bunga, serta meningkatkan daya tahan terhadap kekeringan.

4. Kalsium (Ca)

Merangsang pertumbuhan batang dan akar, membantu penyerapan kalium dan menetralkan keasaman media tanam.

5. Magnesium (Mg)

Membantu pembentukan klorofil serta penyerapan unsur P. Kekurangan unsur hara Mg akan mengakibatkan klorosis pada daun tua dan tampak bercak- bercak coklat pada daun.

6. Sulfur (S)

Membantu Kelancaran aktivitas unsur P. Apabila kekurangan unsur hara S mengakibatkan biji tanaman yang dihasilkan tidak memiliki kualitas yang baik.

7. Mangan (Mn)

Berperan dalam membantu kelancaran fotosintesis, pembentukan klorofil serta membantu penyerapan unsur N.

8. Besi (Fe)

Membantu pembentukan klorofil, memperkuat batang tanaman, dan mempertahankan vigor tanaman.

9. Boron (B)

Membantu penyerapan unsur N dan merangsang perkembangan akar dan buah.

10. Seng (Zn)

Membantu pertumbuhan daun dan pembentukan klorofil.

11. Tembaga (Cu)

Membantu pembentukan klorofil. Kekurangan unsur hara Cu mengakibatkan daun mengalami gejala klorosis dan ujung daun menjadi layu.

12. Molibdenum (Mo)

Merangsang pertumbuhan tanaman dan membantu proses reduksi unsur N.

13. Klor (Cl)

Membantu dalam proses fotosintesis. Kekurangan unsur hara Cl mengakibatkan proses pemasakan lambat, daun menjadi keriput dan produktivitas tanaman rendah.

2.3.3 Iklim

Iklim dapat diartikan sebagai rata-rata dari pergantian keadaan cuaca pada suatu wilayah yang luas dan dalam jangka waktu yang lama. Perbedaan iklim antar wilayah disebabkan karena adanya rotasi, revolusi bumi serta perbedaan garis lintang dan bujur dari dari setiap wilayah didunia (Hartono , 2007).

Tabel 2.2 Klasifikasi Iklim Menurut Koppen (Hartono, 2007)

Type Iklim	Jenis	Kondisi Iklim
Hujan tropika	Af	Tropika basah, bulan terdingin >18°C, bulan terkering hujan >60mm
	Am	Tropika basah, bulan kering dapat diimbangi oleh bulan basah
	Aw	Tropika basah kering, bulan basah tidak dapat mengimbangi bulan kering
Kering	Bs	Desert, presipitasi <0,5 evaporasi
	Bw	Padang pasir, presipitasi >0,5 evaporasi
Sedang	Cs	Musim panas kering, bulan hangat >50°F, bulan dingin >32°F dan 64, 4°F
	Cw	Musim dingin kering
	Cf	Tidak ada musim kering, semua bulan >1,2 presipitasi
Dingin	Dw	Bersalju, musim dingin kering, bulan hangat >50°F. Bulan dingin <32°F
	Df	Musim dingin tanpa pernah kering
Kutub	Ef	Tundra. Bulan hangat <50°F
	Ef	Es salju abadi

Perbedaan jenis iklim dapat mengakibatkan perbedaan kandungan bioaktif dari suatu tanaman. Lokasi serta iklim yang berbeda pada pemanenan *papaver somniverium* mengakibatkan kandungan alkaloid morfin, kodein, tebanin, narkotin dan papaverin yang berbeda (Verma dan Shukla, 2015).

2.4 Lokasi Tumbuh Bawang Dayak (*Eleuthrine palmifolia* (L.))

Indonesia adalah negara kepulauan di Asia Tenggara yang memiliki 13.487 pulau besar dan kecil, sekitar 6.000 di antaranya tidak berpenghuni dan menyebar disekitar khatulistiwa dimana memiliki cuaca tropis. Posisi Indonesia terletak pada koordinat 6°LU - 11°08'LS dan dari 95°BT - 141°45'BT serta terletak di antara dua benua yaitu benua Asia dan benua Australia (Oseania). Wilayah Indonesia terbentang sepanjang 3.977 mil di antara Samudra Hindia dan Samudra Pasifik. Luas daratan Indonesia adalah 1.922.570 km² dan luas perairannya 3.257.483 km². Pulau Jawa merupakan pulau terpadat di Indonesia, di mana setengah populasi Indonesia bermukim. Indonesia terdiri dari 5 pulau besar yaitu: Jawa dengan luas 132.107 km², Sumatera dengan luas 473.606 km², Kalimantan dengan luas 539.460 km², Sulawesi dengan luas 189.216 km², dan Papua dengan luas 421.981 km²(Kemendagri, 2017).

2.4.1 Provinsi Jawa Barat

Letak geografi Jawa Barat di sebelah Barat berbatasan dengan Selat Sunda, sebelah Utara dengan Laut Jawa, dan daerah Khusus Ibukota Jakarta, sebelah Timur berbatasan dengan Propinsi Jawa Tengah dan sebelah Selatan dibatasi oleh Samudera Indonesia. Letak geografi dengan koordinat 104°8' - 108°41'BT dan 5°50' - 7°50'LS. Keadaan topografi Jawa Barat sangat beragam, yaitu disebelah utara terdiri dari dataran rendah, sebelah tengah dataran tinggi bergunung-gunung, dan disebelah selatan terdiri dari daerah berbukit-bukit dengan sedikit pantai. Daerah Jawa Barat terletak pada jalur Circum Pacific dan mediteran, sehingga daerahnya termasuk daerah labil yang ditandai dengan masih banyaknya gunung

berapi yang masih aktif bekerja dan sering terjadi gempa Bumi (Pemerintah Provinsi Jawa Barat, 2017).

2.4.2 Provinsi Jawa Timur

Provinsi Jawa Timur terletak pada $111^{\circ}0'$ hingga $114^{\circ}4'$ BT, dan $7^{\circ}12'$ hingga $8^{\circ}48'$ LS dengan ketinggian 100 meter diatas permukaan laut. Luas wilayah Provinsi Jawa Timur mencapai 46.428 km², terbagi ke dalam empat badan koordinasi wilayah (Bakorwil), 29 kabupaten, sembilan kota, dan 658 kecamatan dengan 8.457 desa/kelurahan (2.400 kelurahan dan 6.097 desa). Secara umum wilayah Jawa Timur terbagi dalam dua bagian besar, yaitu Jawa Timur daratan hampir mencakup 90% dari seluruh luas wilayah provinsi Jawa Timur, dan wilayah Kepulauan Madura yang sekitar 10% dari luas wilayah Jawa Timur. Secara fisiografis, wilayah provinsi Jawa Timur dapat dikelompokkan dalam tiga zona: zona selatan-barat (plato), merupakan pegunungan yang memiliki potensi tambang cukup besar; zona tengah (gunung berapi), merupakan daerah relatif subur terdiri dari dataran rendah dan dataran tinggi (dari Ngawi, Blitar, Malang, hingga Bondowoso), zona utara, dan Madura (lipatan), merupakan daerah relatif kurang subur (pantai, dataran rendah, dan pegunungan). Di bagian utara (dari Bojonegoro, Tuban, Gresik, hingga Pulau Madura) ini terdapat Pegunungan Kapur Utara dan pegunungan Kendeng yang relatif tandus (Pemerintah Provinsi Jawa Timur , 2017).

2.4.3 Provinsi Jawa Tengah

Luas wilayah Provinsi Jawa Tengah adalah 3.254.412 Ha atau 25,04% dari luas Pulau Jawa. Wilayah Provinsi Jawa Tengah memiliki ketinggian yang beraneka ragam, Sekitar 53% wilayah provinsi Jawa Tengah berada pada

ketinggian 0-99 mdpl. Iklim di Jawa Tengah termasuk dalam kategori iklim tropis basah. Pada tahun 2012, suhu udara di Jawa Tengah berkisar 21,70C–35,80C dengan kelembaban udara berada pada kisaran 63%-99%. Sedangkan di Jawa Tengah wilayah selatan suhu udara berada pada kisaran rata-rata 19,40C-31,30C, dengan kelembaban udara pada kisaran rata-rata 74,6%-99,1%. Untuk Tahun 2012 curah hujan tertinggi Jawa Tengah tercatat yaitu 263 mm (Pemerintah Provinsi Jawa Timur, 2017).

2.4.4 Provinsi Kalimantan Tengah

Provinsi Kalimantan Tengah terletak antara 0°45' LU 3°30' LS dan 111° antara 0°45' LU, 3°30' LS dan 111°116' BT. Wilayah Kalimantan Tengah terdiri atas daerah pantai dan rawa-rawa dengan ketinggian 0-50 m dari permukaan laut dan kemiringan 0%-8%, daerah perbukitan dengan ketinggian 50-100 m dan ketinggian rata-rata 25%. Daerah pantai dan rawa terdapat di wilayah bagian Selatan, sedangkan dataran dan perbukitan berada di wilayah bagian Tengah dan pegunungan berada di bagian Utara dan Barat Daya. Sebagai daerah yang beriklim tropis, wilayah provinsi Kalimantan Tengah rata-rata mendapat sinar matahari sekitar 56,18% per tahun. Karakteristik iklim di Kalimantan Tengah adalah tipe iklim tropis lembab dan panas. Klasifikasi Koppen Afa dan kondisi udara relatif cukup panas yaitu pada siang hari mencapai 33°C dan malam hari 23°C. Curah hujan rata-rata tahunan: 2.732 mm dengan rata-rata hari hujan 120 hari. Klasifikasi curah hujan Schmidt dan Farguson tipe - A (Q=14,3%) dan Type B (Q=33,3%), makin ke Utara curah hujan semakin tinggi (Pemerintah Provinsi Kalimantan Tengah, 2017).

2.4.5 Provinsi Kalimantan Selatan

Provinsi Kalimantan Selatan dengan kota Banjarmasin sebagai ibukotanya terdiri atas 11 Kabupaten dan 2 kota secara geografis terletak diantara $114^{\circ} 19' 13''$ - $116^{\circ} 33' 28''$ BT dan $1^{\circ} 21' 49''$ - $4^{\circ} 10' 14''$ LS. Berdasarkan letak tersebut, luas wilayah Provinsi Kalimantan Selatan hanya 6,98% dari luas Pulau Kalimantan secara keseluruhan, yaitu seluas $37.530,52 \text{ km}^2$ dengan batas wilayah Sebelah barat berbatasan dengan provinsi Kalimantan Tengah sebelah Timur berbatasan dengan Selat Makasar sebelah Selatan berbatasan dengan laut Jawa sebelah Utara berbatasan dengan Provinsi Kalimantan Timur dari segi topografi, wilayah Provinsi Kalimantan Selatan terdiri dari 4 bagian, yaitu dataran aluvial, dataran rawa, perbukitan dan pegunungan. Kemiringan tanah dengan 4 kelas klasifikasi menunjukkan bahwa sebesar 43,31% wilayah Provinsi Kalimantan Selatan mempunyai kemiringan tanah 0-2%. Adapun luas wilayah Provinsi Kalimantan Selatan menurut kelas ketinggian yang dibagi menjadi 6 kelas ketinggian menunjukkan wilayah Provinsi Kalimantan Selatan sebagian besar berada pada kelas ketinggian $> 25-100 \text{ m}$ di atas permukaan laut (Pemerintah Provinsi Kalimantan Selatan, 2017).

2.4.6 Provinsi Kalimantan Timur

Provinsi Kalimantan Timur merupakan salah satu provinsi terluas kedua setelah Papua. Kalimantan Timur memiliki luas wilayah daratan $127.267,52 \text{ km}^2$ dan luas pengelolaan laut 25.656 km^2 terletak antara $113^{\circ}44'$ BT dan $119^{\circ}00'$ BT serta diantara $2^{\circ}33'$ LU dan $2^{\circ}25'$ LS. Provinsi ini mempunyai topografi bergelombang dari kemiringan landai sampai curam, dengan ketinggian berkisar

antara 0-1500 m diatas permukaan laut dengan kemiringan antara 0-60%. Daerah dataran rendah pada umumnya dijumpai pada kawasan sepanjang sungai. Sedangkan daerah perbukitan dan pegunungan memiliki ketinggian rata-rata lebih dari 1000 meter di atas permukaan laut dengan kemiringan 300%, terdapat dibagian barat laut yang berbatasan langsung dengan wilayah Malaysia. Kondisi topografi tersebut sangat berpengaruh terhadap peluang budidaya suatu jenis komoditi, potensi, persediaan air, dinamika hidrologi, dan kerentanan terhadap erosi. Dilihat dari topografi, sebagian besar atau 43,35% wilayah daratan termasuk dalam kemiringan diatas 40% dan 43,22% terletak pada ketinggian 100-1000 m diatas permukaan laut, sehingga pemanfaatan lahan di provinsi Kalimantan Timur harus memperhatikan karakteristik lahan tersebut (Pemerintah Provinsi Kalimantan Timur , 2017).

2.5 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan simplisia. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat pada berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain (Sampurno, 2000). Pemilihan suatu metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu (Mukhriani, 2014). Ekstraksi senyawa bahan alam secara konvensional membutuhkan waktu yang lama dan dapat memicu

kerusakan senyawa sehingga perlu metode yang lebih cepat dan efisien seperti metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) (Sasongko *et al.*, 2017).

UAE merupakan metode ekstraksi berbasis alternatif non-termal yang lebih efisien, lebih cepat, dan memungkinkan pengurangan pelarut, sehingga menghasilkan ekstrak murni dan *yield* yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstraksi konvensional (Manasika dan Widjanarko, 2015). Metode UAE ini telah diterapkan untuk mengekstrak berbagai komponen makanan seperti komponen aroma, pigmen, dan antibakteri (Ardianti dan Kusnadi, 2014). Parameter penting dalam suatu ekstraksi diantaranya adalah jenis dan rasio penggunaan pelarut, pengecilan ukuran bahan, dan waktu ekstraksi (Manasika dan Widjanarko, 2015).

Ultrasonik memiliki efek mekanisme yang dapat menghasilkan getaran ultrasonik sehingga dapat meningkatkan perpindahan massa sel dan penetrasi pelarut didalam matriks ekstrak (Zhou *et al.*, 2017). Proses kavitasi yang terjadi selama proses sonikasi menyebabkan pecahnya dinding sel pada matrik ekstrak. Sehingga meningkatkan kontak pelarut dengan bahan yang diekstrak dan senyawa bioaktif dalam ekstrak dapat keluar secara maksimal (Torres *et al.*, 2017). Semakin lamanya waktu ekstraksi maka semakin lama pula kontak antara pelarut dengan bahan dan menyebabkan terjadinya pengendapan massa secara difusi sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi diluar dan didalam bahan ekstraksi (Wahyuni dan Widjanarko, 2015).

Hasil ekstraksi dan komponen-komponen yang terekstrak sangat tergantung pada sifat bahan dan sifat dari pelarut tersebut (Susanti *et al.*, 2012). Pemilihan pelarut merupakan salah satu faktor penentu terhadap keberhasilan dari

suatu proses ekstraksi. Untuk mengekstrak senyawa aktif dari umbi bawang dayak digunakan pelarut etanol. Pelarut etanol memiliki dua sisi yang terdiri dari gugus -OH yang bersifat polar dan gugus CH_2CH_3 yang bersifat non-polar. Etanol merupakan pelarut yang ekonomis dan baik digunakan untuk ekstraksi. Etanol memiliki polaritas yang tinggi sehingga dapat menghasilkan persen *yield* lebih banyak dibandingkan menggunakan pelarut lainnya. Etanol juga mempunyai titik didih yang rendah, cenderung aman, dan tidak beracun (Azis *et al.*, 2014).

2.6 Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis merupakan suatu cara pemisahan komponen senyawa kimia antara dua fase yaitu fase gerak dan fase diam (Kartasubrata, 1987). Fase gerak yang digunakan dalam KLT harus memiliki kemurnian yang tinggi, dikarenakan KLT merupakan teknik yang sensitif (Gandjar dan Rohman, 2007). Teknik ini memiliki kelebihan diantaranya lebih murah dalam segi biaya, sederhana, serta dapat menganalisis beberapa komponen senyawa secara bersamaan (Hernani, 1999). Teknik standar dalam pemisahan menggunakan KLT yaitu diawali dengan pembuatan lapisan tipis absorben pada permukaan plat kaca. Kemudian terjadi proses sorpsi dan desorpsi pada sistem kromatografi (Handayani dan May, 2005). Sorpsi merupakan proses pemindahan solut dari fase gerak ke fase diam, sementara desorpsi merupakan proses pemindahan solut dari fase diam menuju fase gerak (Ganjadjar dan Rohman, 2007).

2.7 Deskripsi Kanker

Sel yang berproliferasi secara tidak terkendali umumnya diakibatkan karena kerusakan gen utamanya pada regulator daur sel, sehingga menyebabkan tidak seimbang antara proliferasi sel dan kematian sel (Muti'ah, 2014). Pertumbuhan sel abnormal (tidak terkendali) yang diakibatkan karena adanya kerusakan DNA, menyebabkan mutasi gen vital yang mengontrol pembelahan sel. Mutasi gen tersebut mengubah sel normal menjadi sel kanker (Ruddon, 2007). Sel Kanker memiliki kemampuan *invasive* (menyusup dan merusak jaringan di dekatnya serta dapat menjalar ke tempat yang jauh dari asalnya yang disebut metastasis (Haryanti dan Kanto, 2011). Banyak faktor yang menjadi penyebab terjadinya kanker yaitu jenis kelamin, usia, ras dan paparan terhadap zat karsinogen. Zat karsinogen ini dibagi dalam beberapa kelompok baik yang sintetik maupun yang berasal dari alam (Katzung, 2007).

Proses terjadinya suatu karsinogenesis diawali oleh adanya 4 fase yaitu tahap inisiasi, promosi, progresi, dan metastasis. Tahap awal adalah proses inisiasi, yaitu proses yang melibatkan sel target oleh rangsangan karsinogen yang menyebabkan pertumbuhan gen yang ireversibel. Sel yang terinisiasi belum dapat dideteksi sebelum terjadi perubahan pada fenotip (Muliartha *et al.*, 2011). Selanjutnya tahap promosi yaitu proses yang menyebabkan sel terinisiasi berkembang menjadi sel pre-neoplasma oleh stimulus zat lain (promotor). Sel yang telah terinisiasi dapat tetap tenang bila tidak dihidupkan oleh zat yang disebut promotor. Suatu promotor sendiri tidak dapat menginduksi perubahan kearah neoplasma sebelum bekerja pada sel yang telah terinisiasi. Apabila suatu promotor

telah ditambahkan pada sel yang terinisiasi maka sel tersebut dapat berpoliferasi, sehingga dapat dikatakan bahwa promotor merupakan zat proliferasi (Kartawiguna, 2001). Proses progresi yaitu terjadinya pengaktifan mutasi dari onkogen atau inaktivasi mutasi dari tumor suppressor gen. Selanjutnya yaitu fase metastase meliputi beberapa tahap pemisahan, termasuk pemisahan sel kanker dari tumor induk, kemudian masuk menuju sirkulasi sistemik atau kelenjar limfa, sehingga dapat menginvasi jaringan baru (Muti'ah, 2014).

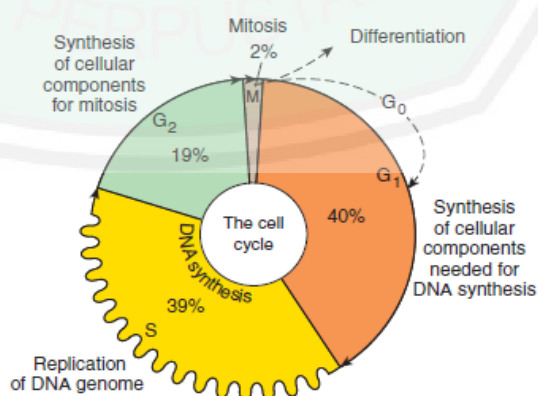
2.7.1 Proses Siklus Sel

Daur sel meliputi 3 keadaan yaitu pertama yang sedang membelah (siklus proliferasi), kedua yang dalam keadaan istirahat (fase G_0), dan ketiga sintesis (S) dan pembagian kromosom pada fase M, diantara fase S dan M tersebut dipisahkan dengan "gap" yang disebut fase G_1 dan G_2 . Proses siklus sel normal tergantung pada sinyal pertumbuhan dari lingkungan. Ketika sinyal pertumbuhan tidak mencukupi, maka sel yang berada pada fase G_1 dapat keluar kemudian memasuki fase *cell cycle arrest* atau fase G_0 (Muti'ah, 2014). Pada tahap G_1 sel terus tumbuh dan melakukan persiapan untuk sintesis DNA. Sel akan melakukan sintesis DNA dimana terjadi proses replikasi kromosom pada saat berada di tahap S (Murti *et al.*, 2007).

Fase G_1 merupakan tahap satu-satunya dimana siklus selnya diatur oleh stimuli ekstra seluler seperti mitogens dan adhesi. Pada fase G_1 ini juga terdapat *Restriction point* dan *checkpoint* (Istindiah dan Auerkari, 2001). Pada tahap S sel melakukan replikasi DNA, sehingga memiliki 2 set DNA lengkap yang selanjutnya

dapat membelah menjadi 2 sel anak dimana setiap sel memiliki satu *copy* DNA. Dengan demikian sel siap memasuki fase G

Tahap G₂ (second gap) merupakan tahap akhir dari sintesis DNA untuk selanjutnya memasuki tahap M (Istindiah dan Auerkari, 2001). Pada G₂ sel yang telah mereplikasi kromosom pada fase G₁ akan menduplikasi keseluruhan komponen seluler lainnya. Selain itu juga terjadi sintesis mRNA dan beberapa protein tertentu (Murti *et al.*, 2007). Selanjutnya memasuki tahap akhir yakni tahap M, selama tahap ini sel membelah menjadi 2 sel anak, sel memiliki 2 pilihan yaitu yang pertama siklus dimulai kembali dengan memasuki tahap G₁ kembali atau yang kedua sel dapat keluar dari siklus sel dan menjadi non-aktif dengan memasuki tahap G₀ (Istindiah dan Auerkari, 2001). Regulasi daur sel biasanya diatur oleh tiga jenis gen, yaitu oncogen, suppressor genes, dan gen yang mengatur replikasi dan repair DNA. Kerusakan pada gen-gen tersebut menjadi pemicu terjadinya proliferasi sel secara tidak terkontrol yang dapat menyebabkan terjadinya kanker (Muti'ah., 2014).



Gambar 2.2 Siklus sel (Katzung *et al.*, 2014)

Perubahan dari fase satu menuju fase lainnya berhubungan dalam setiap tahap siklus sel yang dikontrol oleh beberapa *checkpoint* yang berfungsi untuk memastikan bahwa kromosom siklus sel telah utuh dan sempurna sebelum memasuki tahapan selanjutnya. Pengaturan tersebut melibatkan *cyclin*, aktivasi *Cyclin Dependent Kinase* (CDKs), dan *Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor* (CDKIs) (Ruddon, 2007). Interaksi antara ketiganya dapat mengontrol berbagai tahap siklus sel serta mencegah ke tahap selanjutnya jika terjadi kerusakan DNA melalui mekanisme *checkpoint* dan regulasi proses ini berperan dalam terjadinya kanker (King dan Robins, 2006). Regulasi daur sel melalui gen suppressor biasanya melalui gen *Retinoblastoma* (Rb) dan gen p53. Protein Rb berperan dalam regulasi daur sel secara umum sedangkan p53 berperan dalam perbaikan DNA dan pemacuan apoptosis. Gen p53 mencegah adanya replikasi dari DNA yang rusak pada sel normal dan mendorong program penghancuran sendiri sel yang mengandung DNA yang tidak normal (Muti'ah, 2014). Ketika terjadi kerusakan DNA maka gen p53 akan teraktivasi dan mengaktifkan p21 yakni suatu CDK *inhibitor*. Gen p21 ini akan mengikat dan menginaktivkan kompleks CDK₄ yang akan menyebabkan forforilasi Rb terhambat sehingga pelepasan faktor transkripsi E2F terhenti dan mengakibatkan siklus sel terhenti pada tahap G₁-S. Saat siklus sel terhenti DNA mempunyai kesempatan untuk memperbaiki diri sebelum memasuki tahap pembelahan selanjutnya (Yusni, 2008; Ramos *et al.*, 2008).

2.7.2 Jalur Apoptosis pada Cell Cycle

Apoptosis merupakan proses kematian sel secara terprogram. Apoptosis penting dalam pengaturan homeostatis agar terjadi keseimbangan jumlah sel hal ini dilakukan dengan cara eliminasi sel yang rusak. Ciri-ciri morfologi terjadinya

apoptosis adalah terjadinya pengerutan sel (*cell shrinkage*), pembengkakan dan pecahnya membran (membran blebbing) tanpa hilangnya integritas membran penonjolan membran, kondensasi kromatin, fragmentasi inti sel dan pepadatan organel sitoplasma (Lowe dan Linn, 2000; Azhar, 2008). Apoptosis diperantai akibat adanya aktivasi suatu protease yang mengandung sistein pada sisi aktifnya dan memotong protein targetnya pada titik spesifik asam aspartat, protein ini disebut caspase (Alberts *et al.*, 2004). Caspase memiliki target intraseluler yang spesifik seperti protein dari selaput inti, DNA, dan sitoskeleton. Pemecahan terhadap protein tersebut mengakibatkan terjadinya kematian sel (Lodish *et al.*, 2001). Apoptosis memiliki 2 jalur utama, yaitu jalur instrinsik dan ekstrinsik (Elmore, 2007).

2.7.3 Definisi Kanker Kolon

Kanker kolorektal merupakan salah satu jenis kanker yang terjadi pada mukosa kolon di mana penyakit ini mempunyai angka morbiditas dan mortalitas yang tinggi. Data *World Health Organization* (WHO) tahun 2013, menempatkan kanker kolorektal pada urutan keempat setelah kanker paru, kanker lambung dan kanker hati sebagai penyebab kematian akibat kanker dengan 608.000 kematian. Insidensi puncak untuk kanker kolorektal adalah usia 60 hingga 70 tahun kurang dari 20% kasus terjadi pada usia kurang dari 40 tahun. Sekitar 70–75% kanker kolorektal terletak pada daerah rektosigmoid dan 95% lokasi polip kolitis ulseratif berada di daerah rectum (Tatuhey *et al.*, 2014).

Karsinoma kolorektal merupakan kasus yang terjadi karena adanya kelainan genetik, kelainan genetik ini mengakibatkan pertumbuhan sel yang

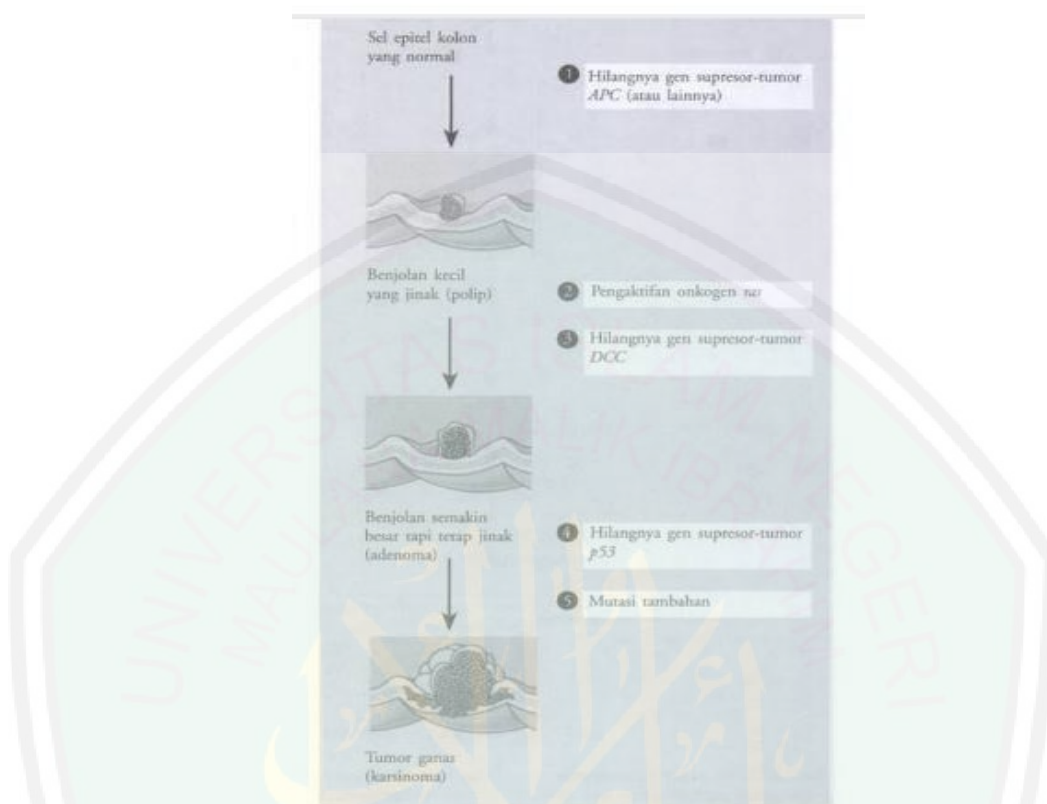
progresif (Adnyana dan Rudiman, 2017). Kanker kolorektal adalah suatu neoplasma ganas yang meliputi kolon, rektum, dan anal (Dipiro *et al.*, 2005). Tanda pertama kanker kolorektal yaitu adanya polip yaitu benjolan kecil dan tidak berbahaya pada epitel kolon selanjutnya sel-sel pada polip menjadi lebih aktif membelah hingga menjadi tumor kemudian semakin bertumbuh dan pada akhirnya menjadi ganas (Campbell *et al.*, 2000). Dalam perkembangan keganasan kanker kolorektal terjadi karena adanya mutasi pada gen p53 (Chang *et al.*, 2003).

Secara genetik kanker kolorektal dibagi menjadi dua kelompok yaitu familia *polyposis* yang disebabkan adanya mutasi gen APC dan HNPCC (Muti'ah, 2014). Gen yang berperan sebagai faktor terjadinya karsinoma kolorektal dikelompokkan menjadi onkogen (*K-ras*), tumor supresor gen *Adenomatous Poliposis Coli (APC)*, p53, dan *Deleted in Colorectal Cancer (DCC)* (Adnyana dan Rudiman, 2017). Proses pathogenesis kanker kolon diawali dengan adanya mutasi gen APC pada jalur Wnt/ β -catenin yang tidak normal, hal ini menimbulkan proliferasi sel yang tidak normal dan menginisiasi tumor pada mukosa untuk membentuk adenoma kecil (Muti'ah, 2014).

Proses pathogenesis kanker selanjutnya adalah terjadinya overeksresi onkogen K-Ras (Reseptor EGF), gen K-ras adalah suatu gen yang mengkode protein ras yang berfungsi untuk memicu pembelahan sel. Familia protein ras adalah protein rac, protein ini dalam keadaan *inactive* dijumpai dalam bentuk ikatan "*ras- Guanin Di phosphate*" (ras-GDP) sedangkan dalam keadaan aktif dijumpai dalam bentuk *ras-Guanin Tri phosphate* (ras-GTP), namun apabila protein ras mengalami abnormal yang disebabkan karena adanya mutasi dari gen ras maka

akan bersifat overaktif GTP-ase akan selalu dalam kondisi “ON” sehingga dapat menyebabkan promosi berbagai tanda-tanda kanker seperti proliferasi yaitu pembelahan sel secara tidak terkendali, penghambatan apoptosis, migrasi sel metastase dan resistensi terhadap sitostatik standar, sehingga sel terus melakukan sintesis DNA yang selanjutnya akan berkembang menjadi *malignan* (Sudiana, 2008). Terbukti bahwa penghambatan reseptor EGF dapat menekan semua tanda ini. Pada tahap ini adenoma akan berkembang menjadi sampai *late adenoma* (Muti'ah, 2014).

Mutasi pada gen Ras ini menyebabkan inaktivasi pada gen DCC yang berfungsi sebagai tumor suppressor gen dengan mengendalikan proses kematian dan menghambat siklus sel pada fase G₂. Inaktivasi ini menyebabkan perkembangan sel yang tidak terkontrol dan terjadilah adenoma lanjut (Amelia *et al.*, 2012). Proses selanjutnya disebabkan oleh mutasi gen p53 yang mencapai 50-70% kematian akibat adanya mutasi pada gen ini. Gen p53 ini berperan dalam merespon adanya kerusakan DNA, *Check point* siklus sel, apoptosis dan *cellular senescence*. Selanjutnya kehilangan fungsi dari gen p53 ini dapat menyebabkan proliferasi sel kanker yang tidak terkendali sehingga menjadi karsinoma (Muti'ah, 2014).



Gambar 2.3 Tahapan Terjadinya Kanker Kolorektal (Campbell *et al.*, 2000)

2.8 Sel Kanker Kolon (WiDr Cell Line)

Sel WiDr merupakan sel kanker kolon manusia yang diisolasi dari kolon seorang wanita berusia 78 tahun pada bulan Mei 1971 (Noguchi *et al.*, 1979). Sel WiDr merupakan turunan dari sel kanker kolon HT-29. Sel WiDr memproduksi antigen karsinoembrionik dan memerlukan rentang waktu sekitar 15 jam untuk dapat menyelesaikan 1 daur sel (Noguchi *et al.*, 1979). Salah satu karakteristik dari sel WiDr adalah proliferasi sel WiDr yang diakibatkan oleh ekspresi dari enzim siklooksigenase-2 (COX-2), pada sel WiDr ditandai dengan terjadinya mutasi pada gen P53 (posisi 273) sehingga terjadi perubahan residu arginin menjadi histidin. Namun P21 pada sel WiDr bersifat masih normal sehingga memungkinkan

untuk terjadinya penghentian daur sel. Apoptosis pada sel WiDr dapat terjadi melalui jalur independen P53, diantaranya melalui aktivasi P73 (Muti'ah, 2014).

Sel WiDr merupakan sel yang sesuai untuk digunakan sebagai mode dalam skrining atau senyawa baru sebagai agen kokemoterapi dengan 5-FU (Muti'ah, 2014). Noguchi *et al* (1979) menggambarkan karakter dari sel WiDr yaitu *cell line* yang berasal dari karsinoma kolon. Sel WiDr berbeda dari sel HeLa, sel WiDr memiliki tiga kromosom penanda yang berbeda dengan penanda kromosom pada sel HeLa. Sel WiDr berguna sebagai model *cell line* untuk penelitian biologi terhadap sel tumor.

2.9 Sel Normal (*Vero Cell Line*)

Sel *vero* merupakan sel normal yang diisolasi dari ginjal monyet hijau pada tanggal 27 Maret 1967 oleh T. Yasamura dan T. Kawalata di Universitas Chiba Jepang (Nurani, 2012). Sel ini akan menempel sangat kuat pada substrat yang berbahan polistirena dengan membentuk ikatan kovalen. Sel *vero* memiliki jumlah interferon yang lebih sedikit dibandingkan dengan sel mamalia normal. Sel ini tidak memiliki kemampuan untuk mensekresikan interferon tipe 1 ketika diinfeksi oleh virus. Kekurangan interferon pada sel *vero* mengakibatkan sel ini sangat sensitif jika terinfeksi oleh berbagai jenis virus (Goncalves *et al.*, 2006). Walaupun jumlah interferon sel *vero* sangat sedikit, sel ini masih memiliki reseptor interferon alfa dan beta sehingga mereka masih mampu merespon secara normal ketika interferon dari sumber lain ditambahkan ke dalam kultur sel.

Sel *vero* biasa digunakan untuk mempelajari pertumbuhan sel, diferensiasi sel, sitotoksitas, dan transformasi sel yang diinduksi oleh berbagai senyawa kimia. Sel ini juga direkomendasikan untuk dijadikan sebagai sel model dalam mempelajari karsinogenesis secara *in vitro*. Adanya sel *vero* memudahkan dalam mempelajari perubahan sel yang meliputi pertumbuhan dan morfologinya akibat induksi berbagai senyawa kimia (Goncalves *et al.*, 2006).

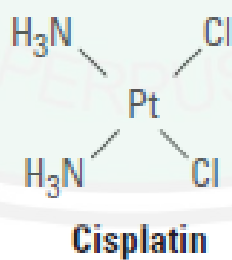
2.10 Agen Kemoterapi Cisplatin

Cisplatin (*Cis-diamminedi chloroplatinum* II), cisplatin adalah obat sitotoksik dengan efektivitas yang tinggi dan telah digunakan secara luas. Cisplatin memiliki efek samping yang berat. Salah satu efek samping penggunaan *cisplatin* adalah nefrotoksitas. Nefrotoksitas *cisplatin* berupa *Acute Kidney Injury* (AKI) yang ditemukan sebanyak 20% sampai 30% pada kasus pemakaian cisplatin (Joy *et al.*, 2008). Beberapa analog platinum kerja seperti cisplatin sebenarnya masih belum jelas, cisplatin dianggap memunculkan efek sitotoksiknya dengan cara yang sama seperti agen pengalkilasi (Katzung, 2007). Terdapat tiga analog platinum yang digunakan dalam praktik klinis yaitu cisplatin, karboplatin, dan oksiplatin (Katzung *et al.*, 2014).

Cisplatin memiliki aktivitas anti tumor yang besar pada sejumlah besar tumor solid, termasuk kanker sel kecil dan non-sel kecil paru, kanker esofagus dan lambung, kanker kepala dan leher, serta kanker genitourinaria, khususnya kanker *testi*, ovarium, dan kandung kemih. Cisplatin dan analog lainnya dibersihkan secara

ekstensif oleh ginjal dan diekskresikan di urin, akibatnya diperlukan modifikasi dosis pada pasien dengan disfungsi ginjal (Katzung, 2007).

Mekanisme kerja cisplatin serupa dengan agen pengalkilasi. Lingkungan plasma yang memasuki sel dan kehilangan kloridanya dalam lingkungan yang rendah klorida. Cisplatin kemudian berikatan dengan N⁷ guanin DNA membentuk ikatan silang inter dan intra untai, tetapi interaksi kovalen dengan adenin dan sitosin juga terjadi. Lesi sitotoksik yang dihasilkan menghambat replikasi DNA dan sintesis RNA. Sitotoksitas dapat terjadi pada tahapan siklus sel manapun, tetapi sel yang paling rentan terhadap kerja obat ini pada fase G1 dan S. Obat ini juga dapat mengikat protein dan senyawa lain yang mengandung gugus thiol (-SH). Secara farmakokinetik, cisplatin diberikan secara IV dalam larutan salin. Obat ini juga dapat diberikan secara intraperitoneal untuk kanker ovarium dan intra-arteri untuk perfusi organ lainnya. Lebih dari 90% cisplatin berikatan secara kovalen dengan protein plasma (Harvey dan Champe, 2010).



Gambar 2.4 Struktur Cisplatin (Katzung *et al.*, 2014)

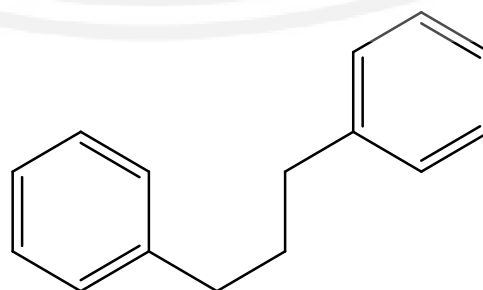
2.11 Senyawa Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Sebagai Kemopreventif

2.11.1 Flavonoid Sebagai Kemopreventif

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh suatu tanaman (Abid *et al.*, 2012). Senyawa ini banyak terdapat didalam berbagai jenis tumbuhan terutama sayur-sayuran dan buah-buahan (Sharon *et al.*, 2013). Flavonoid sering dijumpai pada bagian daun, akar, kayu, tepung sari, umbi, bunga dan biji (Abid *et al.*, 2012). Flavonoid mempunyai kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzen (C_6) terikat pada suatu rantai propana (C_3) sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$ (Abid *et al.*, 2012). Flavonoid merupakan metabolit sekunder turunan dari 2-fenil-benzil- γ -pyrone yang terdapat di seluruh kerajaan tumbuhan. Flavonoid dibagi dalam beberapa kelas yang berbeda, yaitu auronas, dihydrochalcones, flavanonols (*dihydro flavonols*), isoflavon, flavon, flavonol, leucoanthocyanidins, anthocyanin, dan proanthocyanidins (Mierziak *et al.*, 2014).

Flavonoid memiliki sejumlah fungsi penting pada tanaman yaitu berperan aktif dalam perlindungan tanaman terhadap biotik (herbivora, patogen) dan tekanan abiotik (radiasi UV, panas). Sifat antioksidan flavonoid juga menjaga keadaan redoks dalam sel serta sebagai penangkap radikal bebas karena mengandung gugus hidroksil yang bersifat sebagai reduktor dan dapat bertindak sebagai donor hidrogen terhadap radikal bebas. Flavonoid dan derivatnya terbukti memiliki aktivitas biologi yang signifikan sebagai kanker preventif dan kemoterapi yang baik (Mierziak *et al.*, 2014; Suryo, 2010).

Senyawa flavonoid dapat menghambat proliferasi melalui inhibisi proses oksidatif yang dapat menyebabkan inisiasi kanker. Mekanisme ini diperantarai penurunan enzim xanthin oksidase, siklooksigenase (COX) dan lipooksigenase (LOX) yang diperlukan dalam proses prooksidasi sehingga menunda siklus sel (Ren *et al.*, 2003). Aktivitas antikanker juga ditunjukkan flavonoid melalui induksi apoptosis. Flavonoid menghambat ekspresi enzim topoisomerase I dan topoisomerase II yang berperan dalam katalisis pemutaran dan relaksasi DNA. Inhibitor enzim topoisomerase akan menstabilkan kompleks topoisomerase dan menyebabkan DNA terpotong dan mengalami kerusakan. Kerusakan DNA dapat menyebabkan terekspresinya protein proapoptosis seperti Bax dan Bak dan menurunkan ekspresi protein-protein antiapoptosis yaitu Bcl-2 dan Bcl-XL, dengan demikian pertumbuhan sel kanker terhambat. Sebagian besar flavonoid telah terbukti mampu menghambat proliferasi pada berbagai sel kanker pada manusia namun bersifat tidak toksik pada sel normal manusia (Ren *et al.*, 2003). Berdasarkan penelitian senyawa flavonoid dari ekstrak etanol bawang dayak terbukti dapat melawan sel kanker kolon dengan nilai LC_{50} sebesar 3.125 mg/ml serta dapat menekan mutasi gen p53 (Yusni, 2008).



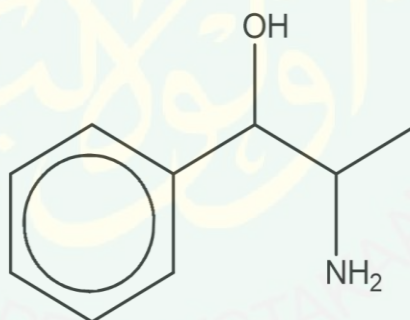
Gambar 2.5 Struktur Flavonoid

2.11.2 Alkaloid Sebagai Kemopreventif

Alkaloid terdapat pada berbagai bagian tanaman seperti akar, batang, daun, dan biji. Alkaloid pada tanaman berfungsi sebagai racun yang dapat melindunginya dari serangga dan herbivora, faktor pengatur pertumbuhan, dan senyawa simpanan yang mampu menyuplai nitrogen dan unsur-unsur lain yang diperlukan tanaman (Wink, 2008). Senyawa alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terbentuk berdasarkan prinsip pembentukan campuran (Wibisana, 2010). Alkaloid adalah golongan senyawa bawa nitrogen heterosiklik yang banyak terdapat pada tumbuhan. Sebagian besar alkaloid tidak dapat larut didalam air, tetapi dapat larut dalam senyawa organik (Wibisana, 2010). Alkaloid mempunyai sifat basa, sehingga dapat mengganti basa mineral dalam mempertahankan kesetimbangan ion dalam tumbuhan (Wink, 2008). Unsur-unsur penyusun alkaloid adalah karbon, hydrogen, nitrogen dan oksigen, namun ada beberapa alkaloid yang tidak mengandung oksigen. Adanya nitrogen dalam lingkaran struktur kimia alkaloid menyebabkan alkaloid menjadi alkali (Sumardjo, 2006).

Alkaloid secara umum sering digunakan dalam bidang pengobatan (Harbone, 1987). Alkaloid dapat berfungsi sebagai zat antioksidan hal ini didukung oleh penelitian uji antioksidan (Hanani *et al.*, 2005). Alkaloid mempunyai 27.000 golongan yang berbeda dan lebih dari 17.000 menunjukkan keragaman sifat farmakologis dalam melawan berbagai jenis kanker (Mohan *et al.*, 2012). Senyawa alkaloid terbukti dapat menghambat proliferasi sel kanker kolon HT-29 dengan mengakibatkan fase G1 terhambat dan menuju fase istirahat. Penghambatan fase G1 terjadi dikarenakan adanya penurunan ekspresi dari CDk 4 dan 6 yang

disebabkan karena meningkatnya ekspresi dari p21 dan p27 serta terhambatnya forforilasi dari protein Rb. Senyawa alkaloid terbukti mampu menghambat siklus sel kanker kolon pada fase G1 dengan nilai IC_{50} berkisar antara 53 dan 126 μ M (Yaffe *et al.*, 2014). Penelitian sebelumnya juga mengungkapkan bahwa senyawa alkaloid dapat meningkatkan kemampuan generasi ROS sebagai sarana untuk menstimulasi apoptosis didalam tumor *solid* dan *liquid* meliputi tumor *gastric*, payudara, glikoma, mengaktifkan sel B *lymphoma*, *renal*, dan kanker kolon (Golovine *et al.*, 2015; Ginzburg *et al.*, 2014; Randhawa *et al.*, 2013; lin *et al.*, 2014). Alkaloid juga terbukti meningkatkan kekuatan cisplatin menuju fase apoptosis atau kematian sel secara terprogram (Roh *et al.*, 2014)



Gambar 2.6 Struktur Alkaloid

2.12 Metode MTT Assay

Salah satu metode yang umum digunakan untuk menetapkan jumlah sel adalah metode MTT (CCRC, 2009). Metode MTT *assay* dapat menghasilkan kurva dosis respon yang reproduibel dengan variabilitas yang rendah, serta metode ini menunjukkan hubungan linier dengan jumlah sel serta informasi yang didapat dari

kurva dosis-respon dan dapat sejalan dengan efek yang muncul pada hasil uji secara *invivo* (CCRC, 2009). *MTT assay* cocok digunakan untuk skrining dalam sejumlah besar senyawa untuk uji aktivitas dan toksisitas atau sebagai tambahan untuk uji langsung dalam pengukuran aktivitas mitogenik (Hughes dan Mehmet, 2003).

MTT assay berdasarkan uji kuantitatif kalorimetri dengan prinsip terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium *MTT* (*3-4,5-dimetiltiazol-2-il*)-2,5-*difeniltetrazolium bromid*) oleh sistem reduktase. Suksinat *tetrazolium* yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal *formazan* berwarna ungu dan tidak larut air. Kristal *formazan* akan terlarut dengan pelarut seperti isopropanol atau reagen stopper (bersifat detergenik) yang akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer (ELISA reader). Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak (Hughes dan Mehmet, 2003).

2.13 Definisi *Selectivity Index* (SI)

Obat antikanker atau sitostatika adalah obat yang dapat menghentikan pertumbuhan sel-sel kanker. Obat antikanker diharapkan memiliki toksisitas selektif (Wahyuningsih *et al.*, 2013). Selektivitas agen kemopreventif artinya hanya sel yang diidentifikasi sebagai sel kanker saja yang diserang, sementara sel normal tidak diserang (Sutejo *et al.*, 2016). Selektivitas indeks dinilai berdasarkan perbandingan sel normal dengan sel kanker. Suatu ekstrak dapat dikatakan

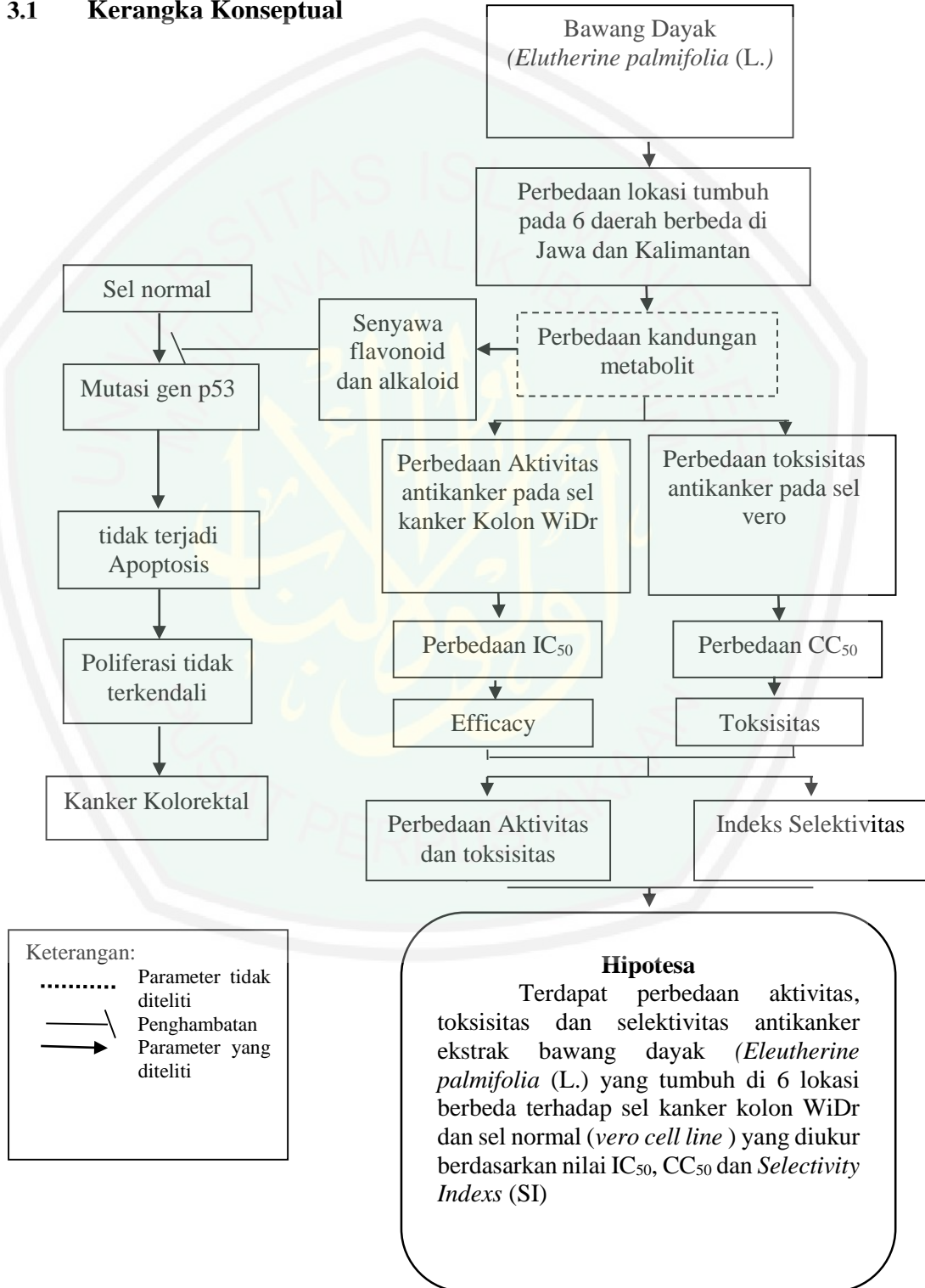
mempunyai selektivitas yang tinggi apabila nilai dari SI (*Selectivity index*) ≥ 3 , dan dikatakan kurang selektif apabila nilai SI (*Selectivity index*) < 3 (Sutejo *et al.*, 2016)

Mekanisme suatu agen kemopreventif dalam membedakan sel kanker dan sel normal secara selektif adalah berdasarkan dari kebutuhan sel akan Adenosine Trifosfate (ATP). Sel kanker dapat bergerak aktif, tumbuh dan berduplikasi lebih cepat jika dibandingkan dengan sel normal, peristiwa ini mengakibatkan sel kanker membutuhkan energi ATP dalam jumlah yang lebih banyak pula. Sehingga sel kanker akan dideteksi oleh agen kokemopreventif, selanjutnya agen kemopreventif masuk ke dalam sel kanker dan menempel pada dinding dalam mitokondria untuk memblok produksi energi ATP. Akibatnya suplai energi untuk sel kanker terputus, sel kanker menjadi lemah dan akhirnya mengalami kematian (apoptosis) (Alali *et al.*, 1999).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESA

3.1 Kerangka Konseptual



3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Bawang dayak dengan nama latin *Eleutherine palmifolia* L merupakan tanaman endemik yang berasal dari Kalimantan. Secara turun-temurun bawang dayak dipercaya sebagai obat dewa oleh masyarakat Kalimantan Tengah. Bawang dayak dimanfaatkan sebagai pengobatan berbagai jenis penyakit seperti hipertensi, diabetes, menurunkan kolesterol, obat bisul, stroke, dan sakit perut sesudah melahirkan serta bawang dayak sudah dikembangkan menjadi terapi untuk penyakit seperti kanker usus dan kanker payudara (Carmelita, 2016). Bawang dayak selain dibudidayakan di daerah Kalimantan, dibudidayakan juga di daerah Jawa yakni Provinsi Jawa barat yang dikenal dengan sebutan bawang beureum (Puspawati *et al.*, 2013).

Provinsi Kalimantan dan Jawa, tepatnya provinsi Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa Tengah, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur, dan Kalimantan Tengah diduga memiliki kandungan profil metabolit yang berbeda. Profil metabolit suatu tanaman bergantung pada kondisi serta tempat tumbuh tanaman tersebut. Perbedaan tempat tumbuh suatu tanaman meliputi faktor internal dan eksternal (lingkungan). Perbedaan tersebut dapat mempengaruhi kandungan senyawa serta pengembangan tanaman obat menjadi fitofarmaka. Faktor internal meliputi genetik dan fisiologi suatu tanaman sedangkan faktor eksternal atau lingkungan meliputi suhu, paparan sinar matahari, curah hujan dan tanah. Kondisi lingkungan tempat tumbuh suatu tanaman dapat memacu pembentukan metabolit sekunder yang digunakan sebagai sistem pertahanan diri secara fisiologis pada tanaman tersebut.

Penentuan kualitas kandungan metabolit sekunder digunakan untuk mengukur keamanan dan toksisitas suatu tanaman obat.

Hasil dari skrining fitokimia yang telah dilakukan pada umbi bawang dayak menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder yakni alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, kuinon, steroid, zat tanin dan minyak atsiri (Puspawati *et al.*, 2013). Sedangkan pada bagian daun dan akar mengandung flavonoida dan polifenol. Senyawa flavonoid dan alkaloid terbukti mampu menekan mutasi pada gen p53 serta menghambat adanya proliferasi dari sel kanker kolon.

P53 berperan penting dalam proses siklus sel dan berfungsi dalam pencegahan terbentuknya tumor, merespon adanya kerusakan DNA, *check point*, dan memicu terjadinya apoptosis. Kehilangan fungsi dari gen p53 dapat menyebabkan proliferasi sel yang tidak terkontrol. Berdasarkan penelitian, ekstrak etanol dari bawang dayak terbukti mampu melawan sel kanker kolon dengan nilai LC₅₀ sebesar 3.125 mg/ml serta dapat menekan mutasi p53. Flavonoid dan alkaloid mempunyai mekanisme kerja dengan meningkatkan ekspresi gen p21. Gen p21 merupakan suatu CDK inhibitor ketika p53 mengalami mutasi. Gen p21 akan mengikat dan menginaktivasi kompleks CDK4 yang akan menyebabkan fosforilasi pRb terhambat. Terhambatnya pRb mengakibatkan siklus sel terhenti pada fase G₁ dan S dan akan memasuki fase apoptosis yang ditunjukkan oleh senyawa flavonoid. Sedangkan senyawa alkaloid mengakibatkan fase G₁ terhenti sehingga proliferasi sel menjadi terhambat. Kandungan flavonoid dan alkaloid pada bawang dayak dapat digunakan sebagai pilihan agen kemoterapi yang bersifat lebih aman dan selektif. Oleh karena itu, diperlukan obat alternatif dari bahan alam yang dapat

menghambat atau menyembuhkan penyakit kanker secara efektif dan selektif membunuh sel kanker dan bersifat nontoksik terhadap sel normal.

3.3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep di atas, dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

Terdapat perbedaan aktivitas, toksisitas, dan indeks selektivitas antikanker ekstrak bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.)) yang tumbuh di Provinsi Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa Tengah, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur, dan Kalimantan Tengah terhadap sel kanker kolon WiDr dan sel normal (*vero cell line*) yang diukur berdasarkan nilai IC_{50} , CC_{50} dan SI.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan *True experimental Design* yaitu penelitian eksperimental murni dengan membandingkan hasil yang didapatkan setelah perlakuan pada kontrol positif dan kontrol negatif. Perlakuan terhadap semua sampel dilakukan secara bersamaan dan pengamatan penelitian dilakukan secara bersama-sama pula dengan menggunakan jenis *Post test Only Kontrol Group Design*. Penelitian ini menggunakan biakan sel kanker kolon WiDr dan sel normal (*vero cell line*).

4.2 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai April 2018, bertempat:

- a. Laboratorium Kimia Farmasi Jurusan Farmasi Fakultas kedokteran dan ilmu-ilmu kesehatan Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- b. Laboratorium Fitokimia Famasi Jurusan Farmasi Fakultas kedokteran dan ilmu-ilmu kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- c. Laboratorium Protho, Parasitologi Jurusan Kedokteran Umum Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

4.3 Populasi dan Sampel

4.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) yang tumbuh di daerah Kalimantan dan Jawa, yaitu Kalimantan Timur , Kalimantan Selatan, Kalimantan Tengah, Jawa Barat, Jawa Timur, dan Jawa Tengah.

4.3.2 Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian kali ini adalah umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) yang tumbuh di Provinsi Kalimantan Timur, Kalimantan Tengah, Kalimantan Selatan, Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Jawa Timur dan cisplatin sebagai perlakuan control positif sehingga diperoleh total 7 perlakuan sebagai uji dalam penelitian.

Teknik pengambilan sampel pada bawang dayak adalah *Convenience sampling* (*Accidental sampling*), dimana pengambilan sampel dipilih berdasarkan kemudahan. Pada penelitian ini sampel diambil berdasarkan 2 pulau besar di Indonesia yaitu pulau Kalimantan dan Jawa . Pemilihan pada pulau Kalimantan dan Jawa dikarenakan pada dua pulau tersebut banyak ditemui bawang dayak yang tumbuh liar maupun hasil dari budidaya. Selanjutnya diperoleh sampel dari masing-masing area secara acak, diperoleh 3 sampel dari pulau Kalimantan (Kalimantan Timur , Kalimantan Tengah, Kalimantan Selatan) dan 3 sampel dari Pulau Jawa (Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur sehingga diperoleh total 6 sampel.

4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Oprasional

4.4.1 Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Variabel Bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) dari Provinsi Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa Tengah, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur, dan Kalimantan Tengah.

b. Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas bawang dayak pada sel kanker kolon dari berbagai daerah dihitung dengan nilai IC_{50} , toksisitas bawang dayak terhadap sel normal (*vero cell line*) dari berbagai daerah dihitung dengan nilai CC_{50} dan Indeks selektivitas pada tiap daerah.

c. Variabel Control

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah lingkungan dan metode yang sama. Lingkungan dari masing-masing sampel dibuat sama, yaitu di lingkungan laboratorium dengan suhu kamar dan kelembaban yang sama. Sedangkan metode yang digunakan sama yaitu *MTT assay* dan dibaca dengan *ELISA reader*, perbedaan uji aktivitas, toksisitas dan nilai SI ditujukan dengan *ANOVA one-way*.

4.4.2 Definisi Operasional Variabel

- a.** Bawang dayak yang digunakan adalah pada bagian umbinya dan diperoleh dari pulau Kalimantan dan Jawa. Bawang dayak diperoleh dari Provinsi Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa Tengah, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur, dan Kalimantan Tengah, pada ketinggian daerah Jawa rata-rata >100 dan daerah kalimantan >1500 meter diatas permukaan laut.

- b. Ekstraksi umbi bawang dayak dengan metode *Ultrasonic- Assisted Ekstration* (UAE) menggunakan pelarut etanol 96 persen kemudian dipekatkan ekstrak menggunakan rotary evapoator.
- c. Sel Kanker kolon WiDr diambil dari koleksi Universitas Gadjah Mada (UGM). Sel WiDr adalah sel kanker kolon manusia yang diisolasi dari kolon seorang wanita berusia 78 tahun (Muti'ah., 2017).
- d. Sel normal (*vero cell line*) diambil dari koleksi Universitas Gadjah Mada (UGM). Sel normal diambil dari ginjal monyet hijau (Goncalves *et al.*, 2006).
- e. Uji aktivitas menggunakan sel kanker kolon WiDr. Uji ini merupakan sistem untuk melihat kematian sel (Doyle dan Griffiths, 1998).
- f. Uji toksisitas menggunakan sel normal (*vero cell line*). Uji ini digunakan untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi (Widiyanti dan Hikmawanti, 2016).
- g. Uji aktivitas menggunakan IC_{50} , nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) menunjukan nilai konsentrasi yang menghambat kematian sebesar 50% populasi sel. Semakin besar nilai IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Meiyanto *et al.*, 2015).
- h. Uji toksisitas menggunakan CC_{50} , nilai CC_{50} (*Cytotoxic Concentration*) adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk mereduksi viabilitas sel 50% (Abid *et al.*, 2012)
- i. Uji aktivitas dan toksisitas menggunakan MTT Assay. Terjadi reduksi garam kuning tetrazolium oleh sistem reduktase sehingga mewarnai

mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal *formazan* berwarna ungu (Hughes dan Mehmet, 2003).

- j. Pengukuran absorbansi menggunakan ELISA *reader*. Prinsip metode ini adalah dengan menghitung presentase viabilitas sel dengan pembentukan kristal *formazan* yang diamati pada λ 595 nm (Hughes dan Mehmet, 2003).
- k. Analisis data menggunakan ANOVA one-way, untuk membandingkan 3 atau lebih variasi (perlakuan) sampel yang disebabkan oleh satu faktor (baik terkontrol maupun random) (Rohman, 2014).

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

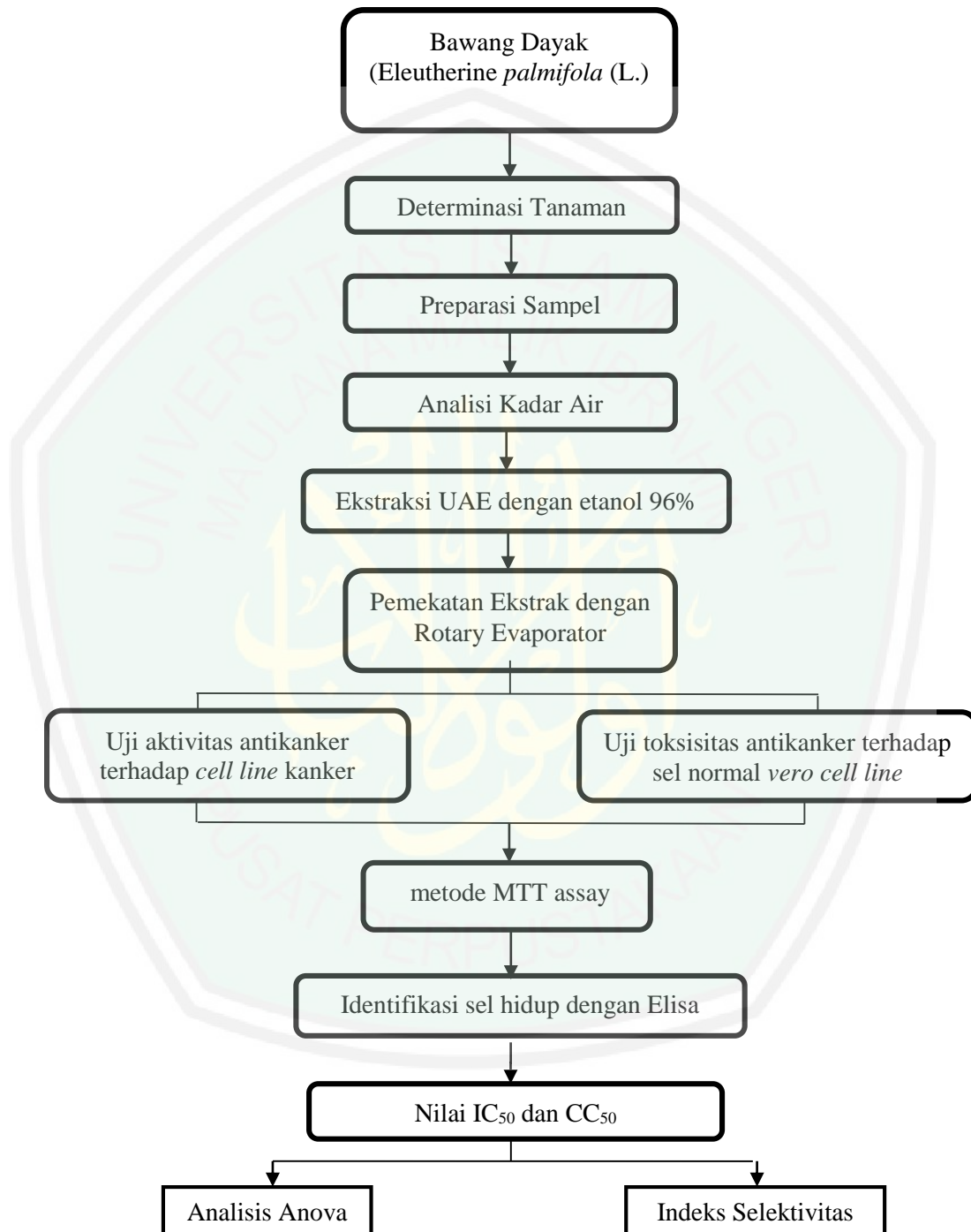
4.5.1 Alat

Alat-alat utama yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya neraca analitik, *moisture analyzer*, *Ultrasonic-Assisted Ekstraktion* (UAE), *rotary evaporator*, oven, *96-well plate*, ELISA *reader*.

4.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi Bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) yang didapatkan dari 6 daerah yang berbeda yaitu Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa Tengah, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur, dan Kalimantan Tengah, sel kanker kolon menggunakan WiDr *cell line*, sel normal (*vero cell line*), cisplatin, media kultur (RPMI 1640-serum) untuk sel kanker, media kultur M₁₉₉ untuk sel normal, etanol 96%, PBS, tripsin EDTA, reagen MTT.

4.5.3 Skema Kerja Penelitian



Gambar 4.1 Skema Kerja Penelitian

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman akan dilakukan di Materia Medika Batu Malang.

4.6.2 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah bagian umbi dari bawang dayak. Umbi bawang dayak dibersihkan terlebih dahulu, kemudian dicuci, dipotong kecil-kecil, dan dikeringkan dengan menggunakan sinar matahari dengan cara dijemur dibawah terik matahari sampai \pm jam 11 dan diberi penutup kain hitam dengan alas alumunium foil, penjemuran dilakukan selama 4-5 hari. Selanjutnya umbi bawang dayak *digrinding* hingga menyerupai serbuk. Serbuk halus yang diperoleh dianalisis kadar air menggunakan *moisture content*, diekstraksi dengan menggunakan *Ultrasonic- Assisted Ekstration* (UAE), selanjutnya dirotav untuk mendapatkan ekstrak umbi bawang dayak.

4.6.3 Analisis Kadar Air Serbuk Simplisia Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.))

Analisis kadar air dalam serbuk simplisia digunakan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam bahan. Serbuk simplisia diukur kadar airnya menggunakan *moisture analyzer*. Setelah alat *moisture analyzer* dinyalakan dan layar menunjukkan tampilan 0,000 g, penutup alat dibuka dan *sample pan* kosong dimasukkan ke dalam *sample pan handler*. Penutup alat diturunkan dan secara otomatis alat akan menara atau menunjukkan tampilan 0,000 pada layar. Kemudian sejumlah \pm 0,500 gram serbuk simplisia

dimasukkan ke dalam *sample pan* dan penutup alat diturunkan. Secara otomatis, alat akan memulai pengukuran hingga terbaca hasil pengukuran % MC pada layar.

Untuk proses reaksi enzimatik dapat dihentikan bila kadar air yang dimiliki dalam simplisia di bawah 10%. Proses diatas dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali agar mendapatkan hasil yang akurat.

4.6.4 Ekstraksi *Ultrasonic-Assisted Ekstration* (UAE) Umbi Bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.))

Ekstraksi golongan senyawa aktif dari umbi bawang dayak dilakukan dengan ekstraksi menggunakan ultrasonik yaitu dengan cara serbuk simplisia umbi bawang dayak sebanyak 250 mg ditambahkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:20 (b:v). Kemudian larutan direndam selama 2 menit dalam sonikator dan replikasi sebanyak 3 kali. Selanjutnya disaring menggunakan kertas saring. Setelah selesai diekstraksi, filtrat ekstrak kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator*.

4.6.5 Proses pembuatan ekstrak menggunakan *Rotary Evaporator*

Filtrat yang dihasilkan dari proses UAE kemudian dimasukkan dalam labu alas sebanyak 1 L selanjutnya dipasang pada mesin evaporator. Suhu diatur 45⁰ dengan kecepatan 75 rpm. Selanjutnya ekstrak ditunggu hingga pelarut yakni etanol 96% dapat menguap sempurna hingga didapatkan ekstrak umbi bawang dayak yang kental. Hasil ekstraksi kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 40⁰C.

4.6.6 Identifikasi Golongan Senyawa Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi menggunakan KLT dimaksudkan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung didalam ekstrak. Dilarutkan 1 mg ekstrak menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 10 ml. Diambil ekstrak cair menggunakan pipa kapiler dengan ukuran 2 mm untuk kemudian ditotolkan pada plat silica GF₂₅₄. Fase gerak yang digunakan yaitu kloroform: metanol (9:1) dan dijenuhkan selama 15 menit. Dimasukan plat *silica* kedalam fase gerak kemudian diamati sampai terelusi sempurna (sampai tanda batas). Plat *silica* selanjutnya diderivatisasi menggunakan larutan H₂SO₄ 10% dan dibakar diatas *hotplate* dengan suhu 105°C selama 5 menit. Diamati spot yang terbentuk dan dibaca nilai Rf menggunakan TLC *sceaner*.

4.6.7 Penyiapan Sel (CCRC, 2009)

Sel kanker kolon WiDr dan sel normal diambil dari koleksi Universitas Gadjah Mada (UGM). Sel kanker dikeluarkan dari *freezer* (-80 °C), dihangatkan dalam penangas air pada suhu 37 °C selama 2-3 menit. Setelah mencair, sel dipindahkan ke dalam *conical tube* yang telah berisi 10 ml media RPMI untuk sel kanker dan media M₁₉₉ untuk sel normal, diinkubasi selama 3-4 jam pada suhu 37°C/ 5% CO₂, kemudian disentrifugasi untuk memisahkan sel kanker dan sel normal dengan media. Diamati menggunakan mikroskop *inverted*, bila sel dalam *culture dish* mencapai 70-85% dilakukan panen sel.

4.6.8 Panen Sel (CCRC, 2009)

Tahapan panen sel yakni, dicuci sel 2 kali dengan PBS (volume PBS adalah ± ½ volume media awal), ditambahkan trispsin-EDTA (tripsin 0,25%) secara

merata dan diinkubasi dalam inkubator selama 3 menit tripsin-EDTA berfungsi untuk memisahkan sel dengan matrik, selanjutnya ditambahkan media RPMI pada biakan sel kanker dan M₁₉₉ pada biakan sel normal, masing-masing sebanyak 5 mL untuk menginaktifkan sel serta dilakukan resuspensi agar sel dapat terlepas dengan matrik secara merata, diamati dibawah mikroskop *inverted* untuk memastikan sel sudah memisah dan tidak bergerombol, kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 24 jam.

4.6.8.1 Penghitungan Sel Kanker (CCRC, 2009)

Sel yang sudah dipanen diambil 10 µL dan dipipetkan ke *hemacytometer*. Syarat dari perhitungan *hemacytometer* yaitu sel harus berdiri sendiri-sendiri atau tidak bergerombol. Diamati dan dihitung dibawah mikroskop *inverted* dengan *counter*. Jumlah sel kanker diketahui dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\sum \text{Sel yang dihitung} = \frac{\sum \text{sel kamar A} + \sum \text{sel kamar B} + \sum \text{sel kamar C} + \sum \text{sel kamar D}}{4} \times 10^4$$

4.6.8.2 Peletakan Sel pada *Plate 96-well* (CCRC, 2009)

Peletakan sel pada *plate* harus diketahui berapa jumlah volume panen sel yang akan diletakkan pada setiap sumuran, dengan menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\sum \text{Panenan sel yang ditransfer} = \frac{\sum \text{Panenan sel yang diperlukan}}{\sum \text{sel terhitung/mL}}$$

Sel ditambahkan media RPMI pada sel kanker dan M₁₉₉ pada sel normal sesuai dengan perhitungan kemudian dimasukkan dalam *plate 96-well* dan diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO₂, akan tetapi 12 sumuran bagian bawah disisakan untuk kontrol sel dan kontrol media yang berfungsi untuk parameter perhitungan.

4.6.8.3 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada *Plate 96-well*

Larutan sampel dibuat dengan melarutkan masing-masing ekstrak bawang dayak dan cisplatin ke dalam DMSO. Ekstrak dan cisplatin sebagai kontrol positif masing- masing ditimbang sebanyak 10 mg. Dilarutkan ekstrak pekat dan cisplatin masing-masing dalam 100 µL DMSO dan diaduk dengan vortex agar lebih cepat dalam melarutkan sampel, diambil sel dari inkubator, kemudian dibuang media sel dengan cara dibalikkan *plate 96-well* 180° dan ditekan secara perlahan diatas tissue untuk meniriskan sisa cairan, dimasukkan 100 µL PBS lagi kedalam *plate 96-well*, kemudian dibuang kembali PBS seperti pada proses sebelumnya, lalu dimasukkan larutan sampel ekstrak bawang dayak sebanyak 100 µL dengan konsentrasi 1000 µl, 500 µl, 250 µl, 125µl, 62,5 µl, 31,25µl, 15,625 µl untuk uji toksisitas dan uji aktivitas dengan konsentrasi 500 µl, 250 µl, 125µl, 62,5 µl, 31,25 µl, 15,625 µl, 7,8125sedangkan cisplatin sebanyak 100 µL dengan konsentrasi yaitu 200µl; 100µl; 50µl; 25µl; 12,5µl; 6,25µl; 3,125µl pada uji aktivitas dan 1000 µl; 500 µl; 250 µl; 125µl; 62,5 µl; 31,25µl; 15,625 µl pada uji toksisitas. Lama inkubasi tergantung pada efek perlakuan terhadap sel, jika dalam waktu 24 jam belum

terlihat efek sitotoksik, maka diinkubasi kembali selama 24 (waktu inkubasi total: 24-48 jam).

Tabel 4.1 *Plate 96 Well* untuk uji aktivitas antikanker terhadap sel kanker kolon WiDr

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	500 μ L			500 μ L			500 μ L			500 μ L		
B	250 μ L			250 μ L			250 μ L			250 μ L		
C	125 μ L			125 μ L			125 μ L			125 μ L		
D	62,5 μ L			62,5 μ L			62,5 μ L			62,5 μ L		
E	31,25 μ L			31,25 μ L			31,25 μ L			31,25 μ L		
F	15,625 μ L			15,625 μ L			15,625 μ L			15,625 μ L		
G	7,625 μ L			7,625 μ L			7,625 μ L			7,625 μ L		
H	KM			KS								




	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	500 μ L			500 μ L			200 μ M					
B	250 μ L			250 μ L			100 μ M					
C	125 μ L			125 μ L			50 μ M					
D	62,5 μ L			62,5 μ L			25 μ M					
E	31,25 μ L			31,25 μ L			12,5 μ M					
F	15,625 μ L			15,625 μ L			6,25 μ M					
G	7,625 μ L			7,625 μ L			3,125 μ M					
H	KM			KS								

Tabel 4.2 *Plate 96 Well* untuk uji toksisitas antikanker terhadap sel normal

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1000 μ L			1000 μ L			1000 μ L			1000 μ L		
B	500 μ L			500 μ L			500 μ L			500 μ L		
C	250 μ L			250 μ L			250 μ L			250 μ L		
D	125 μ L			125 μ L			125 μ L			125 μ L		
E	62,5 μ L			62,5 μ L			62,5 μ L			62,5 μ L		
F	31,25 μ L			31,25 μ L			31,25 μ L			31,25 μ L		
G	15,625 μ L			15,625 μ L			15,625 μ L			15,625 μ L		
H	KM			KS								

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1000 μ L			1000 μ L			1000 μ M					
B	500 μ L			500 μ L			500 μ M					
C	250 μ L			250 μ L			250 μ M					
D	125 μ L			125 μ L			125 μ M					
E	62,5 μ L			62,5 μ L			62,5 μ M					
F	31,25 μ L			31,25 μ L			31,25 μ M					
G	15,625 μ L			15,625 μ L			15,625 μ M					
H	KM			KS								

Keterangan :

	Bawang dayak pada daerah Kalimantan Timur
	Bawang dayak pada daerah Kalimantan Selatan
	Bawang dayak pada daerah Kalimantan Tengah
	Bawang dayak pada daerah Jawa Timur
	Bawang dayak pada daerah Jawa Barat
	Bawang dayak pada daerah Jawa Tengah
	Cisplatin (Kontrol Positif)
	Kontrol media
	Kontrol sel

4.6.8.4 Uji Aktivitas sel kanker dan Toksisitas sel normal dengan Metode MTT

(*Microtetrazolium*) (CCRC, 2009)

Metode ini didasarkan pada reaksi reduksi reagen MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromide) yang dikatalis oleh enzim suksinat dehidrogenase yang dikandung oleh sel hidup membentuk kristal *formazan* berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan *reagen stopper* (bersifat detergenik)

akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan ELISA *reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak (CCRC, 2009).

a. Pemberian Larutan MTT (Mutiah *et al.*, 2018)

Disiapkan reagen MTT untuk perlakuan (0,5 mg/ml) dengan cara diambil 1 ml stok MTT dalam PBS (5mg/ml), selanjutnya encerkan MK ad 5 ml (untuk 1 buah 96 well plate). Pemberian MTT dilakukan dengan cara dibuang terlebih dahulu media sel dan dicuci dengan PBS, ditambahkan larutan MTT 100 μ L ke setiap sumuran kecuali kontrol sel. Inkubasi kembali selama 3-4 jam di dalam inkubator (sampai terbentuk *formazan*). diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted* jika *formazan* telah terbentuk maka tambahkan reagen *stopper* SDS 10% dalam 0,1 N HCl, kemudian *plate 96-well* dibungkus dengan aluminium foil dan diinkubasi kembali di tempat gelap (suhu ruangan) selama semalam.

b. Pembacaan ELISA *reader*

Pembacaan nilai absorbansi dilakukan dengan ELISA *reader* untuk mendapatkan nilai IC₅₀ dari uji aktivitas dan nilsi CC₅₀ dari uji toksisitas pada 6 sampel ekstrak dari provinsi yang berbeda. Tahapan awal yaitu dihidupkan alat ELISA *reader*, dibuka pembungkus kemudian *plate 96-well* dimasukkan ke ELISA *reader*, dibaca absorbansi masing-masing sumuran dengan panjang gelombang 550–600 nm, dimatikan kembali ELISA *reader*. Dengan menggunakan data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran, dibuat grafik absorbansi (setelah dikurangi kontrol media) vs absorbansi. Hitung presentasi sel hidup dan analisis

harga IC_{50} dan CC_{50} dengan menggunakan Ms. Excell (regresi linear dari log konsentrasi) atau SPSS (probit/Logit).

4.7 Analisis Statistika

Hasil data yang diperoleh dari absorbansi dihitung dengan rumus prosentase sel hidup dengan rumus: (Mutiah *et al.*, 2017)

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

Prosentase sel hidup dihitung untuk memperoleh nilai IC_{50} dan CC_{50} . IC_{50} yaitu konsentrasi yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan sebanyak 50% dari populasi sel sehingga dapat diketahui potensi Aktivasinya. Sedangkan CC_{50} adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk mereduksi viabilitas sel sebanyak 50%.

Hasil dari nilai IC_{50} dari sel kanker WiDr dan nilai CC_{50} dari sel normal (*vero cell line*) maka dapat dihitung selektivitas sampel menggunakan SI (*Selectivity Index*), dengan perbandingan IC_{50} sel *vero* dengan IC_{50} sel kanker. Ekstrak dikatakan mempunyai selektivitas yang tinggi apabila nilai $SI \geq 3$, dan dikatakan kurang selektif apabila nilai $SI \leq 3$ (Sutejo *et al.*, 2016).

$$SI = \frac{IC_{50} \text{ sel vero}}{IC_{50} \text{ sel kanker}}$$

Nilai IC_{50} dan CC_{50} selanjutnya digunakan untuk bahan analisis data. Nilai IC_{50} dan CC_{50} dianalisis dengan uji normalitas dikarenakan variasi pelakuan lebih dari tiga. Uji normalitas yaitu untuk mengecek apakah data penelitian kita berasal dari populasi yang memiliki sebaran normal (Rohman, 2014). Kemudian dilanjutkan dengan uji Homogenitas untuk mengetahui apakah populasi dan variasi sampel sejenis (homogen) atau tidak (Rohman, 2014).

Uji normalitas dalam penelitian ini akan diteliti menggunakan tes *Kolmogorov-Sminov* dengan bantuan ditentukan dengan analisis probit (IBM *Statistic Product and Service Solution* (SPSS) 25.0 for windows). Populasi data dikatakan terdistribusi secara normal apabila hasil tes *Kolmogorov-Sminov* (p) > 0,05 (Rojihah *et al.*, 2015). Data dari uji normalitas kemudian diuji homogenitas menggunakan *levene's test* untuk menguji kesamaan varian dari beberapa populasi (Rohman, 2014). Kriteria uji ini apabila signifikansi $P \geq 0,05$ maka data dikatakan homogen dan dilanjutkan dengan uji ANOVA *one-way* dengan taraf kepercayaan 95%. Uji ANOVA *one-way* digunakan untuk membandingkan rata-rata dari 3 perlakuan atau lebih. Apabila nilai signifikansi > 0,05 maka tidak ada perbedaan rata-rata, jika data yang diperoleh menunjukkan signifikansi < 0,05 maka dilakukan uji lanjutan menggunakan uji *Post hoc* yang digunakan untuk evaluasi ulang serta melihat perbedaan nilai yang signifikan. Jika diperoleh signifikansi < 0,05 maka data yang diperoleh dikatakan signifikan (Rohman, 2014). Uji *Post hoc* menggunakan analisis *tukey* untuk mengetahui perbedaan yang di uji bermakna atau tidak.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol 96% bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) dari enam Provinsi yang berbeda terhadap sel kanker WiDr dan sel normal (*vero cell line*). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu umbi bawang dayak yang diperoleh dari Provinsi Kalimantan Timur, Kalimantan Selatan, Kalimantan Tengah, Jawa Timur, Jawa Barat, dan Jawa Tengah. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah perbedaan lokasi atau faktor lingkungan dapat mempengaruhi selektifitas tanaman terhadap sel kanker dan sel normal. Tahapan penelitian yang dilakukan yaitu determinasi tanaman, preparasi sampel, uji kadar air pada enam sampel bawang dayak, ekstraksi dengan menggunakan UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*), kemudian uji aktivitas dan toksisitas dilakukan menggunakan metode MTT assay. Penelitian ini telah disetujui oleh *Ethical Approval* UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

5.1 Determinasi Tanaman Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.)

Penelitian ini menggunakan sampel berupa tanaman umbi bawang dayak. Langkah awal yang dilakukan sebelum melakukan penelitian berbahan alam adalah determinasi tanaman. Determinasi tanaman bawang dayak dilakukan dengan tujuan untuk membuktikan bahwa bahan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan tanaman bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L). Bagian tanaman yang digunakan untuk derterminasi merupakan seluruh bagian tanaman bawang dayak

yaitu daun, batang, umbi, dan akar. Determinasi tanaman dilakukan pada UPTD Materia Medika Batu Malang dengan nomor surat 074/348/ 102.7/2017. Hasil determinasi diketahui bahwa tanaman yang digunakan adalah benar bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.). Spesimen bawang dayak disimpan pada laboratorium Fitokimia jurusan Farmasi. Hasil dari determinasi tanaman bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) terdapat pada lampiran 11).

5.2 Preparasi Sampel Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.)

Preparasi sampel merupakan tahapan awal dalam analisis bahan alam. Penelitian ini menggunakan sampel yaitu umbi bawang dayak dari 6 Provinsi yang berbeda di Indonesia. Proses pengolahan sampel terdiri dari tahapan pemesanan sampel, pencucian, pengeringan dan penyerbukan. Pemesanan dilakukan pada 6 Provinsi yang berbeda yaitu Provinsi Kalimantan Timur, Kalimantan Barat, Kalimantan Tengah, Jawa Timur, Jawa Barat, dan Jawa Tengah. Tahap kedua yaitu pencucian sampel, pencucian ini dimaksudkan untuk menghilangkan kotoran berupa tanah pada umbi bawang dayak. Tahap ketiga yaitu pengeringan yang bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam umbi bawang dayak. Proses selanjutnya yaitu penyerbukan menggunakan *grinding* dan hasil yang didapatkan disebut simplisia umbi bawang dayak.



Gambar 5.1 Bawang dayak yang telah dikeringkan

5.3 Analisa Kadar Air Simplisia Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.)

Simplisia umbi bawang dayak yang telah melewati tahap penyerbukan selanjutnya perlu dilakukan penetapan kadar air simplisia untuk mengetahui kandungan air yang terdapat dalam serbuk simplisia bawang dayak dari 6 Provinsi yang berbeda. Kadar air pada simplisia merupakan parameter penting untuk dievaluasi. Tingginya kadar air simplisia dapat mempengaruhi kualitas dari simplisia tersebut. Simplisia dengan kadar air yang tinggi dapat menjadi media yang baik untuk pertumbuhan mikroba (Barbosa *et al.*, 2008). Pengujian kadar air dilakukan dengan menggunakan alat *moisture content analyzer* (Merk *Mettler Toledo*). Pada *moisture content analyzer* terdapat wadah aluminium yang dapat diisi oleh granula contoh (simplisia), dan pada bagian atasnya terdapat kumparan kumparan pemanas listrik. Kumparan listrik ini akan memanaskan ketika pengukuran kadar air dimulai, secara otomatis berat sampel akan dimonitor sehingga presentase kadar air dapat diketahui (Kenkel, 2003). Analisa kadar dilakukan dengan menggunakan metode gravimetri. Prinsip metode ini yaitu menguapkan air yang ada pada sampel atau ekstrak dengan pemanasan pada suhu 105°C (Pine *et al.*, 2011).

Tabel 5.1 Hasil Analisa Kadar Air Simplisia Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.).

No	Sampel	Hasil (%)
1.	Bawang dayak Kalimantan Timur	8,27 ± 0,362951
2.	Bawang dayak Kalimantan Selatan	7,76 ± 0,390171
3.	Bawang dayak Kalimantan Tengah	8,26 ± 0,835125
4.	Bawang dayak Jawa Timur	8,89 ± 0,783071
5.	Bawang dayak Jawa Barat	8,34 ± 0,363501
6.	Bawang dayak Jawa Tengah	8,77 ± 0,6124

*Rata-rata kadar air ± Simpangan Deviasi dengan replikasi 3 kali.

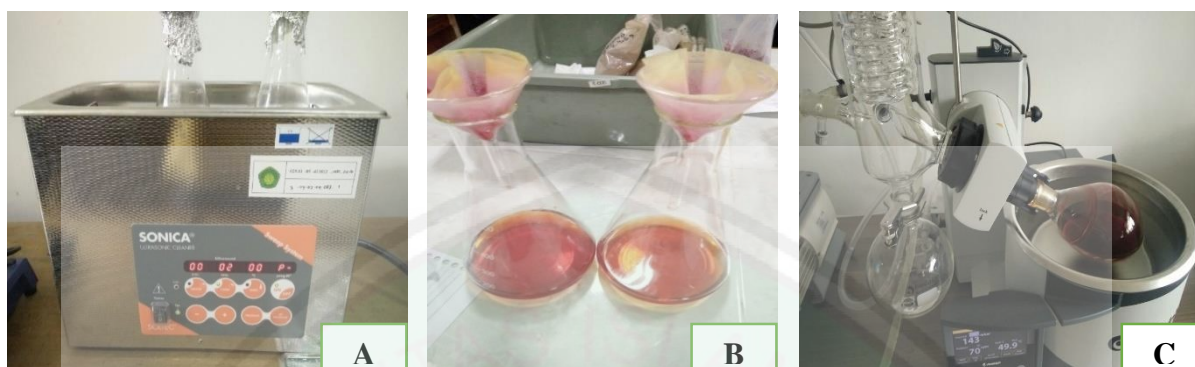
Berdasarkan pengukuran kadar air maka dapat diketahui bahwa kandungan kadar air simplisia bawang dayak telah memenuhi persyaratan yakni standar kadar air simplisia adalah kurang dari 10% yang bertujuan untuk menghindari mudahnya pertumbuhan jamur pada ekstrak (DepKes RI 1985). Pengujian kadar air dimaksudkan juga untuk menghindari adanya aktivitas enzim untuk mengurai senyawa awal pada ekstrak menjadi senyawa yang tidak diinginkan (senyawa artefak) (Sadli dan Sari, 2015). Adanya perbedaan lokasi tumbuh dapat mempengaruhi jumlah kadar air yang terdapat dalam suatu tanaman sehingga dapat berpengaruh terhadap kualitas ekstrak tumbuhan obat (Prastiwi *et al.*, 2017).

5.4 Ekstraksi Menggunakan Metode UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*)

Simplisia bawang dayak yang telah memenuhi standar uji kadar air selanjutnya melalui tahap ekstraksi. Ekstraksi yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan metode ekstraksi ultrasonik UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) (soltec). Metode ekstraksi ini bertujuan untuk menarik kandungan senyawa yang terdapat dalam simplisia bawang dayak. UAE merupakan metode ekstraksi alternatif *non-thermal* yang lebih efisien, lebih cepat, dan memungkinkan

pengurangan pelarut, sehingga menghasilkan ekstrak murni dan *yield* yang lebih tinggi jika dibandingkan ekstraksi konvensional (Manasika dan Simon, 2015). Proses kavitasi yang terjadi selama sonikasi menyebabkan pecahnya dinding sel pada matrik ekstrak yang mengakibatkan meningkatkan kontak pelarut dengan bahan yang diekstrak sehingga senyawa bioaktif dalam ekstrak dapat keluar sehingga proses ekstraksi yang terjadi lebih maksimal (Torres *et al.*, 2017).

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan antara sampel dan pelarut 1:20. Pelarut etanol 96% dipilih karena merupakan pelarut universal. Menurut Sudarmadji (2003) etanol dapat mengekstrak senyawa aktif lebih banyak jika dibandingkan dengan pelarut lainnya. Hasil filtrat ekstrak bawang dayak yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan kecepatan 75 rpm dan suhu 50°C. Prinsip kerja alat ini berdasarkan pemisahan zat terlarut dari pelarutnya dengan pemanasan yang dipercepat oleh putaran dari labu, pelarut dapat menguap disebabkan karena adanya penurunan tekanan. Hal ini menyebabkan pelarut dapat dipisahkan dari zat terlarutnya tanpa pemanasan yang tinggi (Sudjadi, 1986). Hasil ekstrak pekat bawang dayak dimasukkan kedalam oven dengan suhu 40°C agar sisa etanol dalam ekstrak dapat menguap. Ekstrak pekat yang didapatkan kemudian ditimbang dan dihitung nilai rendemennya.



Gambar 5.2 (A) Proses ekstraksi bawang dayak menggunakan UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) (B) Penyaringan ekstraksi bawang dayak untuk memisahkan filtrat dengan residu (C) Pemekatan ekstrak menggunakan alat rotary evaporator.

Tabel 5.2 Hasil Rendemen Ekstrak Bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.)

Sampel	Serbuk + Pelarut yang digunakan	Warna ekstrak pekat	Rendemen
Bawang dayak Kalimantan Timur	200 gr + 500 ml pelarut etanol 96%	Merah tua pekat	4,65%
Bawang dayak Kalimantan Selatan	200 gr + 500 ml pelarut etanol 96%	Merah tua pekat	5,03%
Bawang dayak Kalimantan Tengah	200 gr + 500 ml pelarut etanol 96%	Merah tua pekat	8,4%
Bawang dayak Jawa Timur	200 gr + 500 ml pelarut etanol 96%	Merah tua pekat	6,15%
Bawang dayak Jawa Barat	200 gr + 500 ml pelarut etanol 96%	Merah tua pekat	4,05%
Bawang dayak Jawa Tengah	200 gr + 500 ml pelarut etanol 96%	Merah tua pekat	4,65%

Besar kecilnya nilai suatu rendemen menunjukkan efektifitas dari suatu proses ekstraksi. Efektifitas proses ekstraksi dipengaruhi oleh jenis pelarut, ukuran partikel, metode ekstraksi dan lamanya proses ekstraksi, serta bahan simplisia yang digunakan juga turut mempengaruhi hasil dari prosentase (%) rendemen. Nilai rendemen ekstrak bawang dayak dapat berbeda-beda dikarenakan adanya faktor perbedaan lokasi tumbuh. Menurut Ulfah dan Lucarda (2007) perbedaan nilai

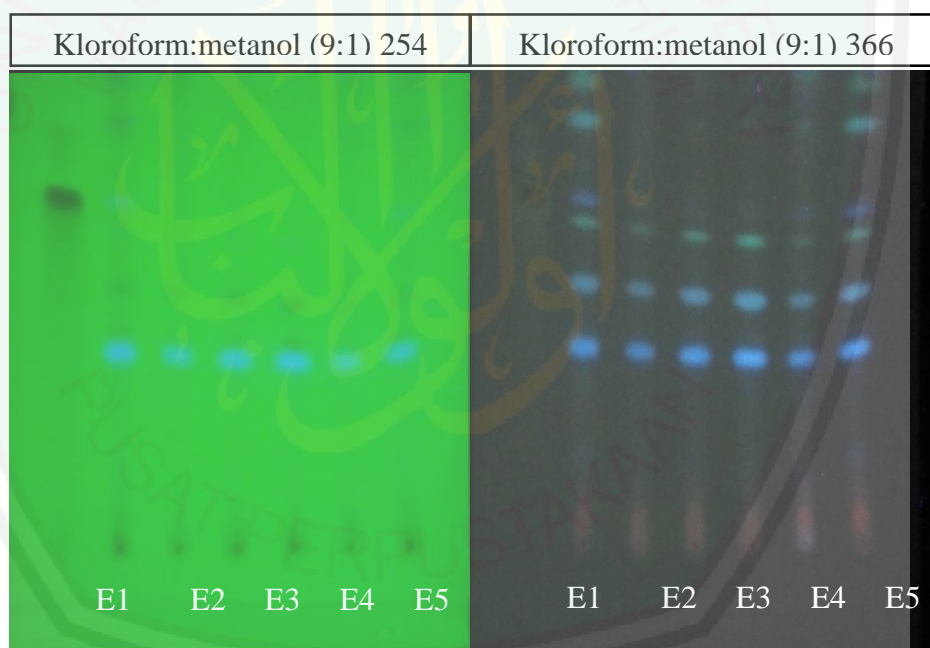
rendemen ditentukan oleh beberapa faktor. Faktor-faktor yang mempengaruhi diantaranya iklim, intensitas cahaya, air, suhu, tempat tanam dan masa panen. Perlakuan serta keadaan sampel turut mempengaruhi perbedaan nilai rendemen. Faktor-faktor tersebut menimbulkan perbedaan nilai rendemen meskipun berasal dari satu spesies tanaman serta dapat mempengaruhi kandungan senyawa aktif dan efek farmakologis yang ditimbulkan (Nugraheni et al., 2016; Angelina et al., 2015).

5.5 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Bawang Dayak

Uji kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan untuk menduga senyawa yang terdapat dalam suatu sampel. Prinsip dari uji kromatografi lapis tipis ini adalah untuk memisahkan komponen-komponen kimia yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen). Komponen kimia yang terdapat pada sampel bergerak naik mengikuti fase gerak dikarenakan kemampuan dari adsorben dalam menyerap komponen-komponen kimia yang tidak sama sehingga komponen-komponen ini bisa bergerak dengan kecepatan yang berbeda tergantung pada tingkat kepolarannya yang menyebabkan terjadinya pemisahan komponen (Faskalia dan Wibowo, 2014).

Metode KLT memiliki keunggulan lebih sederhana, kecepatan tinggi, efektifitas biaya serta tidak terbatas pada stabilitas, dan volatilitas senyawa (Liang *et al.*, 2004). Pengujian ini menggunakan fase diam plat KLT GF 254 dan fase gerak kloroform:metanol dengan perbandingan 9:1 v/v. Fase gerak diujukan terlebih dahulu. Selanjutnya ekstrak bawang dayak dari 6 Provinsi ditotolkan pada fase diam plat KLT GF 254 yang telah dilarutkan dengan etanol 96%, penotolan

dilakukan menggunakan pipa kapiler. Plat KLT diukur dengan panjang 10,5 cm dan lebar 10 cm, batas atas ukuran 0,5 cm sedangkan batas bawah 1,5 cm. Selanjutnya fase diam dimasukkan dalam fase gerak yang telah dijenuhkan selama 10 menit dalam *chamber* merek *camag*. Hasil KLT yang telah tereluen sempurna mencapai batas atas KLT. Diderivatisasi plat KLT menggunakan H_2SO_4 10% v/v. Dipanaskan plat KLT menggunakan *TLC plate heater* (*camag*) dengan suhu $105^\circ C$ selama 5 menit. Kemudian diamati nilai R_f serta warna spot menggunakan *visualizer* (*camag*).



Gambar 5.3 Uji Kromatografi Lapis Tipis

Tabel 5.3 Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak bawang dayak Jawa Timur setelah disemprot pada panjang gelombang 366 nm

No	RF	Noda	Senyawa	Pustaka
1.	0,372	Biru	Steroid	(Islamiyah <i>et al.</i> , 2014)
2.	0,497	Biru	Steroid	(Islamiyah <i>et al.</i> , 2014)
3.	0,613	Hijau	Flavonoid	(Wagner dan Bladt, 1996)
4.	0,654	Biru	Steroid	(Islamiyah <i>et al.</i> , 2014)
5.	0,806	Hijau	Flavonoid	(Wagner dan Bladt, 1996)
6.	0,878	Biru	Steroid	(Islamiyah <i>et al.</i> , 2014)
7.	0,928	Hijau	Flavonoid	(Wagner dan Bladt, 1996)

Tabel 5.4 Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak bawang dayak Jawa Tengah setelah disemprot pada panjang gelombang 366 nm

No	RF	Noda	Senyawa	Pustaka
1	0,366	Biru	Steroid	(Islamiyah <i>et al.</i> , 2014)
2	0,483	Biru	Steroid	(Islamiyah <i>et al.</i> , 2014)
3	0,599	Hijau	Flavonoid	(Wagner dan Bladt, 1996)

Tabel 5.5 Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak bawang dayak Jawa Barat setelah disemprot pada panjang gelombang 366 nm

No	RF	Noda	Senyawa	Pustaka
1	0,355	Biru	Steroid	(Islamiyah <i>et al.</i> , 2014)
2	0,472	Biru	Steroid	(Islamiyah <i>et al.</i> , 2014)
3	0,582	Hijau	Flavonoid	(Wagner dan Bladt, 1996)
4	0,925	Hijau	Flavonoid	(Wagner dan Bladt, 1996)

Tabel 5.6 Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak bawang dayak Kalimantan Timur setelah disemprot pada panjang gelombang 366 nm

No	RF	Noda	Senyawa	Pustaka
1	0,350	Biru	Steroid	(Islamiyah <i>et al.</i> , 2014)
2	0,461	Biru	Steroid	(Islamiyah <i>et al.</i> , 2014)
3	0,574	Hiau	Flavonoid	(Wagner dan Bladt, 1996)
4	0,798	Hijau	Flavonoid	(Wagner dan Bladt, 1996)
5	0,928	Hijau	Flavonoid	(Wagner dan Bladt, 1996)

Tabel 5.7 Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak bawang dayak Kalimantan Tengah setelah disemprot pada panjang gelombang 366 nm

No	RF	Noda	Senyawa	Pustaka
1	0,350	Biru	Steroid	(Islamiyah <i>et al.</i> , 2014)
2	0,405	Biru	Steroid	(Islamiyah <i>et al.</i> , 2014)
3	0,461	Hijau	Flavonoid	(Wagner dan Bladt, 1996)
4	0,571	Hijau	Flavonoid	(Wagner dan Bladt, 1996)
5	0,912	Hijau	Flavonoid	(Wagner dan Bladt, 1996)

Tabel 5.8 Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak bawang dayak Kalimantan Selatan setelah disemprot pada panjang gelombang 366 nm

No	RF	Noda	Senyawa	Pustaka
1	0,366	Biru	Steroid	(Islamiyah <i>et al.</i> , 2014)
2	0,474	Biru	Steroid	(Islamiyah <i>et al.</i> , 2014)
3	0,582	Hijau	Flavonoid	(Wagner dan Bladt, 1996)
4	0,629	Biru	Steroid	(Islamiyah <i>et al.</i> , 2014)
5	0,793	Biru	Steroid	(Islamiyah <i>et al.</i> , 2014)
6	0,920	Hijau	Flavonoid	(Wagner dan Bladt, 1996)

Berdasarkan uji KLT yang telah dilakukan maka didapatkan hasil bahwa pada spot berwarna hijau kebiru-biruan merupakan senyawa steroid, sedangkan spot berwarna hijau merupakan senyawa flavonoid (Islamiyah *et al.*, 2014; Wagner dan Bladt, 1996). Mustika (2011) menyatakan bahwa senyawa bioaktif seperti fenol, flavonoid, tanin, glikosida, steroid dan alkaloid terdapat pada bawang dayak. Pola noda atau spot KLT yang dihasilkan dapat berbeda-beda karena dipengaruhi oleh adanya faktor perbedaan lokasi, iklim, curah hujan, dan intensitas cahaya matahari, hal ini dapat mempengaruhi metabolit sekunder yang dihasilkan suatu tanaman (Soetarno, 1997).

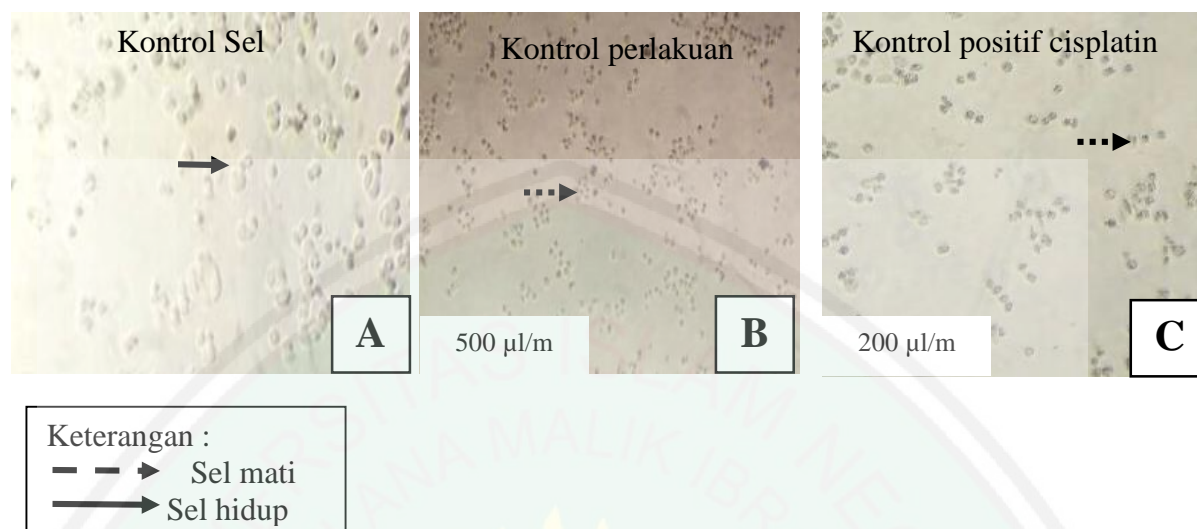
5.6 Uji Aktivitas Dan Toksisitas Antikanker Dengan Metode MTT (*Microtetrazolium*)

Masing- masing ekstrak dilakukan uji aktivitas dan toksisitas secara *in vitro* dengan menggunakan metode MTT. Uji aktivitas dilakukan untuk melihat aktivitas suatu ekstrak dalam menghambat sel kanker dan uji toksisitas digunakan untuk mendeteksi efek toksik suatu ekstrak terhadap sel normal. Metode MTT dipilih dikarenakan metode ini sensitif, relatif cepat, akurat dan dapat digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar. Metode MTT merupakan metode kolorimetri berdasarkan perubahan warna garam tetrazolium MTT (*3-4,5-dimetiltiazol-2-il*)-2,5-difeniltetrazolium bromid). MTT diabsorpsi dan dipecah oleh sistem reduktase suksinat tetrazolium pada respirasi mitokondria sel hidup membentuk kristal *formazan* berwarna ungu (Doyle dan Griffiths, 2000). Sel yang hidup ditandai dengan perubahan warna menjadi ungu dan terdapat serabut *formazan*. Warna ungu yang dihasilkan proporsional dengan jumlah sel yang masih hidup (viabilitas sel).

Pengujian sel terhadap uji aktivitas digunakan sel kanker (*WiDr cell line*) dan uji toksisitas digunakan sel normal (*vero cell line*). Sel *WiDr* adalah sel kanker kolon manusia yang diisolasi dari kolon seorang wanita berusia 78 tahun (Palozza *et al.*, 2005). Sel normal (*vero*) merupakan *cell line* yang berasal dari ginjal monyet hijau afrika. Sel *vero* berbentuk poligonal dan pipih, merupakan sel monolayer yang menempel dengan kuat pada lapisan substrat yang berbahan polistiren dan membentuk ikatan kovalen (Sons, 2008). Sel *WiDr* dan sel normal yang digunakan dalam penelitian ini merupakan biakan subkultur ke-5. Sel dikeluarkan dari tangki

nitrogen -80° kemudian, sel dikultur dalam media RPMI medium 1640 (Gibco) untuk sel WiDr dan M₁₉₉ (Gibco) untuk sel normal. Sel diinkubasi dalam inkubator CO₂ dengan suhu 37°C. Sel kanker (WiDr *cell line*) dan sel normal (*vero cell line*) masing-masing dicuci dengan 3,5 ml PBS sebanyak 2 kali, PBS berfungsi sebagai *buffer* membantu untuk mempertahankan kosntan pH yakni kisaran 7-8. Kemudian ditambahkan dengan Tripsin-EDTA (sigma) 300µl yang berfungsi untuk memisahkan sel agar mudah saat diamati. Diinkubasi kembali sel selama 3 menit dalam inkubator CO₂. Panenan sel diambil 10 µl dan dimasukkan dalam *hemocytometer*. Dihitung jumlah sel pada 4 kamar dalam *hemocytometer* dibawah mikroskop *inverted* menggunakan *counter*. Sel yang hidup ditandai dengan tampak bercahaya sedangkan sel yang mati tampak lebih gelap dan tidak bercahaya. Sel yang berada pada pada batas luar disebelah atas dan kanan tidak dihitung dan sel yang berada pada batas kiri dan batas bawah ikut dihitung. Berdasarkan hasil perhitungan dengan *counter* didapatkan jumlah sel WiDr sebanyak $174,25 \times 10^4$ dan sel normal sebanyak $74,75 \times 10^4$ (perhitungan sel dilihat pada lampiran 7). Berdasarkan jumlah perhitungan sel tersebut diambil sel WiDr sebanyak 0,5738 ml dan ditambahkan media kultur RPMI ad 10 ml kemudian diresuspensi hingga homogen, sedangkan untuk sel normal diambil 1,377 ml dan ditambahkan media kultur M₁₉₉ ad 10 ml serta resuspensi hingga homogen. Pada uji aktivitas dan toksisitas ini digunakan *96- well plate* yang pada masing masing sumuran dimasukkan 100 µl sel kemudian inkubasi dalam inkubator CO₂ selama 24 jam. Hasilnya adalah sel yang tidak terkontaminasi.

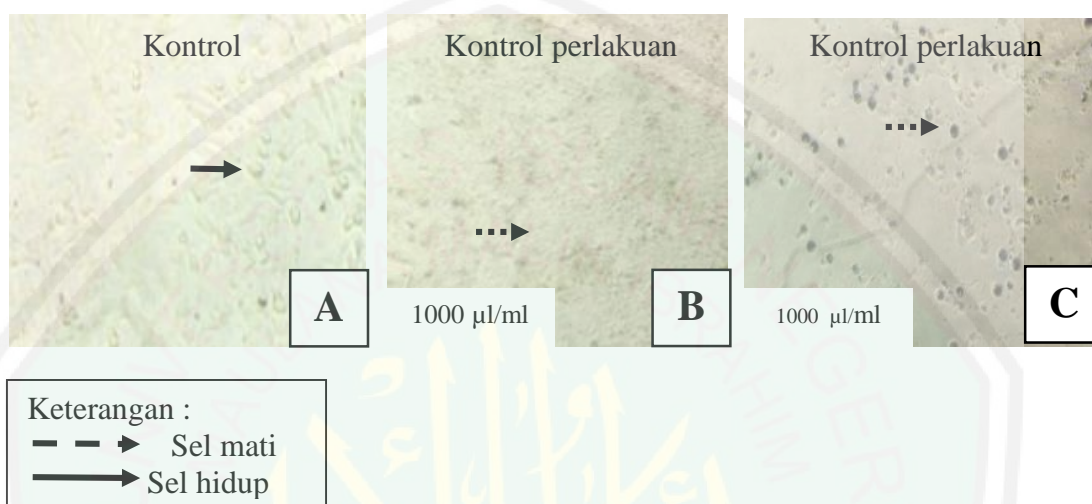
Preparasi ekstrak bawang dayak dari 6 Provinsi diawali dengan membuat larutan stok yaitu menimbang sebanyak 10 mg ekstrak, selanjutnya dilarutkan dengan menggunakan DMSO (Emsure) sebanyak 100 μ l. DMSO digunakan sebagai pelarut dikarenakan dapat melarutkan berbagai molekul polar maupun nonpolar yang sukar larut, serta penggunaan DMSO dalam konsentrasi rendah tidak akan mempengaruhi efek ekstrak sebagai antikanker (Galvao *et al.*, 2014). Kadar DMSO yang digunakan pada penelitian ini yaitu 1% v/v. Dilaporkan bahwa penggunaan DMSO sebagai pelarut dengan konsentrasi dibawah 3% tidak berefek pada sel kanker (Purwaningsih *et al.*,2014). Selanjutnya dibuat seri konsentrasi pada ekstrak untuk uji aktivitas (WiDr *cell line*) dengan konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625, 7,8125, dan Seri konsentrasi untuk uji toksisitas (*vero cell line*) dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5 31,25, 15,625. Kontrol positif untuk uji ini digunakan cisplatin dengan konsentrasi untuk uji aktivitas 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,2 5; 3,125 dan uji toksisitas 1000; 500; 250; 125; 62,5 31,25, 15,625. Seri konsentrasi ekstrak dan cisplatin dimasukkan pada sumuran 96-*well plate* masing-masing sebanyak 100 μ L. Kontrol sel dan kontrol media tidak diberi perlakuan kemudian diinkubasi selama 24 jam.



Gambar 5.4 Sel WiDr (A) Kontrol Sel (B) Kontrol perlakuan ekstrak bawang dayak Kalimantan Selatan konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$ dan (C) Cisplatin konsentrasi 200 $\mu\text{g/mL}$.

Morfologi sel Kanker WiDr berdasarkan gambar diatas terdapat perbedaan antara kontrol sel WiDr dengan kontrol perlakuan sel WiDr yang diberi ekstrak bawang dayak pada konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$ serta kontrol positif cisplatin dengan konsentrasi 200 μM . Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop *inverted* menunjukkan bahwa populasi sel hidup ditandai dengan sel menempel satu dengan lainnya, memiliki bentuk bulat, terlihat lebih cerah dan bercahaya, hal ini dikarenakan pada sel yang hidup mengandung cairan sitoplasma yang dapat meneruskan cahaya dari mikroskop *inverted* (Prayoga, 2015). Morfologi sel WiDr dengan diberi perlakuan konsentrasi ekstrak 500 $\mu\text{g/mL}$ dan pemberian cisplatin dengan konsentrasi 200 μM menunjukkan hasil terdapat sel yang mati ditandai dengan sel terlihat mengambang pada bagian pinggir sel berwarna gelap tidak bercahaya, tampak mengkerut karena kepadatan sel berkurang dan tampak tidak saling menempel. Sel yang mati memiliki warna lebih gelap serta tampak

mengkerut dikarenakan rusaknya membran sel, sehingga sel tidak dapat meneruskan cahaya dari mikroskop (Prayoga., 2015).

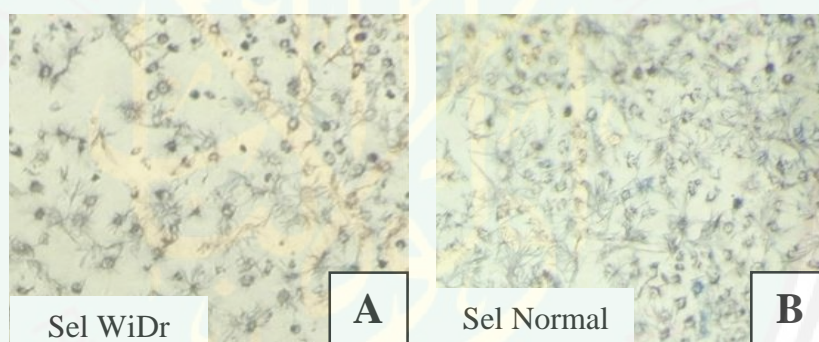


Gambar 5.5 Sel Vero (A) Kontrol Sel (B) Kontrol perlakuan ekstrak bawang dayak Kalimantan Selatan konsentrasi 1000 µg/mL dan (C) Cisplatin konsentrasi 1000 µM

Morfologi sel normal berdasarkan gambar diatas terdapat perbedaan antara kontrol sel normal dengan kontrol perlakuan sel normal yang diberi ekstrak bawang dayak pada konsentrasi 1000 µg/mL serta, kontrol positif cisplatin dengan konsentrasi 1000 µM. Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop *inverted* menunjukkan bahwa populasi sel hidup ditandai dengan sel berbentuk *polygonal* pipih dan terdapat inti sel yang jelas terlihat (Goncalves., 2006). Sel normal dengan pemberian perlakuan konsentrasi ekstrak 1000 µg/mL serta pemberian kontrol positif cisplatin dengan konsentrasi 1000 µM menunjukkan sel mengalami perbedaan bentuk, sel tampak berwarna gelap berbentuk bulat mengkerut dan tidak terdapat inti sel. Perubahan morfologi ini dapat terjadi dalam beberapa tahapan,

yaitu penyusutan densitas sel, kondensasi dan fragmentasi kromatin sel serta frakmentasi inti sel (Wyllie, 2010).

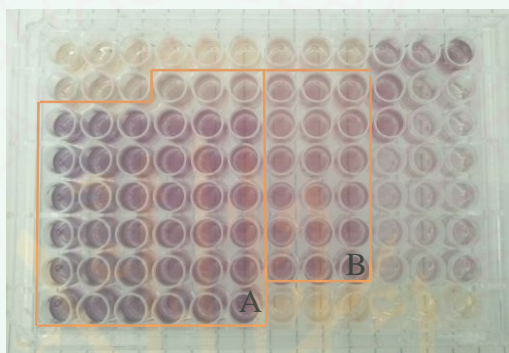
Perlakuan selanjutnya yaitu pemberian reagen MTT yang diproduksi oleh Bio Basic Canada inc. Sebanyak 100 μ l reagen MTT ditambahkan pada tiap sumuran. Selanjutnya, diinkubasi selama 4 jam dalam inkubator. Sel diamati dibawah mikroskop *inverted*. Sel hidup ditandai dengan terbentuknya serabut *formazan* berwarna ungu. Menurut Biranti (2009) Jumlah *formazan* yang terbentuk sebanding dengan jumlah sel yang hidup. Sedangkan Sel mati ditandai dengan bentuk bulat mengkerut dan berwarna gelap.



Gambar 5.6 (A) Terbentuk serabut *formazan* pada sel WiDr (B) Terbentuk serabut *formazan* pada sel normal

Perlakuan selanjutnya yaitu pada tiap sumuran diberi tambahan 100 μ l larutan SDS *stopper* 10% (Merk KgkA). Dibungkus 96-well *plate* yang telah diberi SDS *stopper* menggunakan *aluminium foil* dan diinkubasi dalam tempat yang gelap selama 24 jam dalam suhu ruang. SDS *stopper* berfungsi sebagai detergen yang berfungsi melisikan membran sel serta melarutkan garam *formazan* yang terbentuk (Setiawati *et al.*, 2015). Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup, sehingga semakin besar intensitas warna ungu yang terbentuk

menandakan jumlah sel semakin banyak (CCRC., 2009). Pengukuran absorbansi dianalisis menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang $\lambda = 595$ nm, 96 *well plate* diletakkan dalam *ELISA reader* dan dibaca absorbansi masing-masing sumuran sehingga didapatkan prosentase sel hidup atau viabilitas sel untuk selanjutnya digunakan analisis nilai IC_{50} dan CC_{50} .



Gambar 5.7 96-*well plate* setelah pemberian reagen MTT kemudian SDS *stopper* dan inkubasi 24 jam terbentuk warna ungu. (A) Perlakuan pada ekstrak bawang dayak (B) Perlakuan pada kontrol positif cisplatin.

5.7 Analisis Data

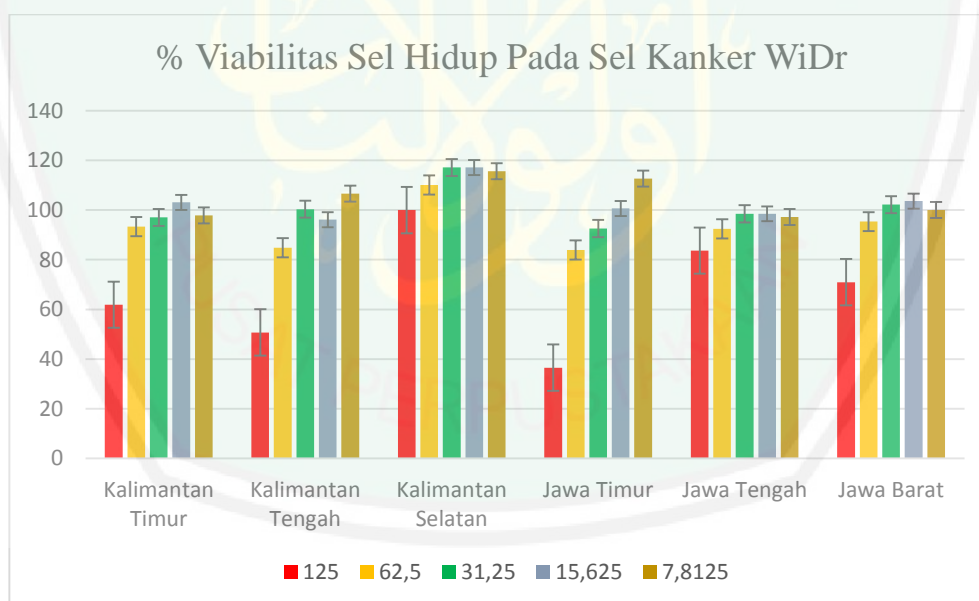
5.7.1 Analisis Data pada Sel WiDr

Berdasarkan hasil analisis absorbansi menggunakan *ELISA reader* didapatkan hasil prosentase (%) viabilitas sel hidup yang selanjutnya dikonversikan menjadi nilai IC_{50} dengan menggunakan analisa probit SPSS sehingga diperoleh aktivitas antikanker.

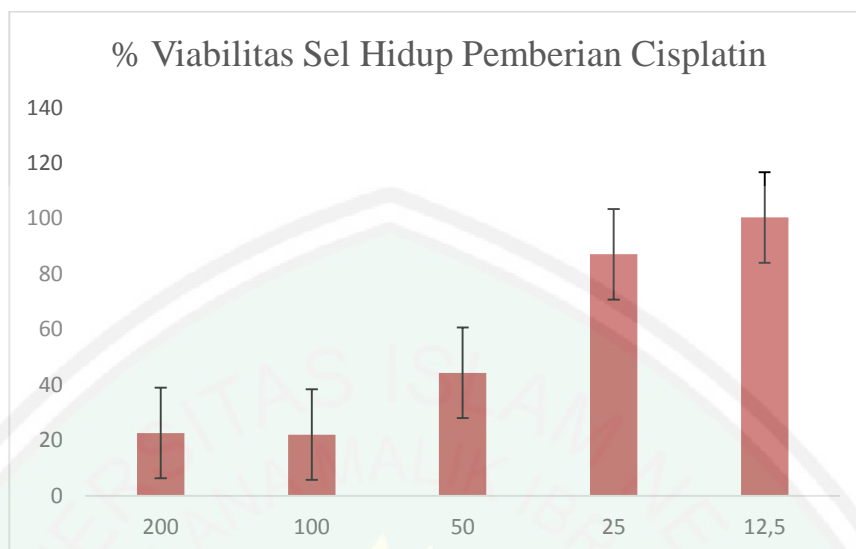
Tabel 5.9 Prosentase (%) Viabilitas sel hidup pada tiap konsentrasi sel WiDr dengan kontrol perlakuan pemberian ekstrak bawang dayak dan kontrol positif cisplatin.

Konsentrasi	Ekstrak Bawang dayak						Cisplatin	
	Persen Viabilitas Sel Hidup (%) \pm SD						Konsentrasi	% viabilitas sel hidup \pm SD
	K. Timur \pm SD	K. Selatan \pm SD	K. Tengah \pm SD	J.Timur \pm SD	J.Tengah \pm SD	J. Barat \pm SD		
125 μ g/mL	61,91 \pm 3,61	100 \pm 3,71	50,71 \pm 4,95	36,56 \pm 2,80	83,68 \pm 3,21	70,97 \pm 3,54	200 μ g/mL	22,68 \pm 1,31
62,5 μ g/mL	93,30 \pm 2,01	110,1 \pm 1,984977	84,85 \pm 11,22	83,98 \pm 3,28	92,41 \pm 1,71	95,35 \pm 3,46	100 μ g/mL	22,11 \pm 0,72
31,25 μ g/mL	97,03 \pm 1,74	117,12 \pm 3,47	100,33 \pm 5,23	92,54 \pm 9,046	98,48 \pm 2,1	102,18 \pm 3,21	50 μ g/mL	44,40 \pm 3,98
15,625 μ g/mL	103,07 \pm 2,34	117,12 \pm 4,61	96,16 \pm 4,73	100,63 \pm 5,35	98,48 \pm 3,98	103,61 \pm 2,43	25 μ g/mL	87,19 \pm 10,28
7,8125 μ g/mL	97,80 \pm 3,33	115,68 \pm 1,33	106,59 \pm 6,92	112,61 \pm 4,64	97,25 \pm 1,15	100,09 \pm 2,301	12,5 μ g/mL	100,47 \pm 4,703

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



Grafik 5.1 Prosentase (%) viabilitas sel hidup pada sel kanker WiDr dengan perlakuan ekstrak bawang dayak



Grafik 5.2 Prosentase (%) viabilitas sel hidup pada sel kanker WiDr dengan perlakuan kontrol positif cisplatin

Berdasarkan grafik 5.1 dapat diketahui bahwa pada perlakuan ekstrak bawang dayak terhadap sel kanker kolon WiDr terjadi fenomena *dose dependent* yaitu adanya korelasi antara konsentrasi dengan % viabilitas sel hidup (Mutiah *et al.*, 2018). Hal ini dibuktikan dengan konsentrasi 125 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan hasil % viabilitas sel hidup yang lebih rendah jika dibandingkan pada perlakuan ekstrak dengan konsentrasi terendah yaitu 7,8125 $\mu\text{g/mL}$ yang menghasilkan % viabilitas lebih tinggi. Hasil presentase (%) viabilitas sel hidup pada kontrol positif cisplatin yang ditunjukkan oleh grafik 5.2 turut menunjukkan adanya fenomena *dose dependent*. Semakin tinggi dosis pada cisplatin maka semakin rendah % viabilitas sel hidup. Hal ini ditunjukkan dengan dosis cisplatin pada konsentrasi 200 $\mu\text{g/mL}$ memiliki % viabilitas sel hidup rendah, sedangkan pada dosis cisplatin dengan konsentrasi 12,5 $\mu\text{g/mL}$ memiliki % viabilitas sel tinggi. Menurut Wardati (2017) kenaikan konsentrasi berbanding terbalik dengan viabilitas sel hidup. (Meerlo *et*

al., 2011) menambahkan penurunan jumlah sel menunjukkan penghambatan pertumbuhan sel dan sensitifitas sel biasanya spesifik terhadap tinggi rendahnya konsentrasi.

Berdasarkan hasil dari perhitungan prosentase (%) viabilitas sel hidup pada masing-masing sampel yang telah diperoleh, dilanjutkan dengan analisis menggunakan probit SPSS. Analisis probit digunakan untuk mendapatkan nilai IC_{50} dari masing-masing sampel.

Tabel 5.10 Analisa Probit Nilai IC_{50} Sampel Terhadap Sel WiDr

Sampel uji	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) \pm SD
Kalimantan Timur	133,23 \pm 12,53
Kalimantan Selatan	269,80 \pm 34,42
Kalimantan Tengah	104,52 \pm 12,07
Jawa Timur	86,98 \pm 4,62
Jawa Barat	159,07 \pm 12,29
Jawa Tengah	272,55 \pm 42,47
Cisplatin	47,16 \pm 2,22

*Rata-rata IC_{50} \pm Simpangan Deviasi dengan replikasi 3 kali.

Berdasarkan analisis probit menggunakan SPSS diperoleh hasil nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi yang menghasilkan hambatan pertumbuhan sel sebesar 50% dari populasi dan menunjukkan potensi aktivitas penghambatan terhadap sel (Melannisa, 2004). Sampel dengan nilai IC_{50} terendah sampai tertinggi ditunjukkan pada sampel ekstrak bawang dayak Jawa Timur (86,98 $\mu\text{g/mL}$), Kalimantan Tengah (104,52 $\mu\text{g/mL}$), Kalimantan Timur (133,23 $\mu\text{g/mL}$), Jawa Barat (159,07 $\mu\text{g/mL}$), Kalimantan Selatan (269,80 $\mu\text{g/mL}$), dan Jawa Tengah (272,55 $\mu\text{g/mL}$). Menurut Melannisa (2004) semakin besar nilai IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik. Nilai IC_{50} terendah dimiliki oleh ekstrak bawang

dayak Provinsi Jawa Timur yaitu 86,98 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan cisplatin sebagai kontrol positif sebesar 47,16 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Nilai IC_{50} pada cisplatin menunjukkan hasil terendah, hal ini dikarenakan cisplatin merupakan isolasi senyawa tunggal yang bekerja secara menyeluruh dalam menghambat sel kanker sedangkan pada ekstrak masih terdapat banyak senyawa yang terkandung didalamnya, sehingga bekerja kurang spesifik. Tussanti (2014) menyatakan bahwa kemampuan dari setiap senyawa fitokimia sebagai agen kemoprevensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker bukan merupakan respon biologis tunggal, namun hasil dari kombinasi beberapa proses *intraseluler*. Oleh karena itu diperlukan isolasi senyawa fitokimia dan uji aktivitas masing-masing komponen senyawa bawang dayak agar dapat lebih optimal dalam penghambatan pertumbuhan sel kanker.

Berdasarkan tabel 5.10 ekstrak bawang dayak Provinsi Jawa Timur tidak memiliki perbedaan nilai IC_{50} yang jauh berbeda dengan cisplatin. Hal ini menandakan bahwa ekstrak dari Provinsi Jawa Timur berpotensi sebagai antikanker. Suatu ekstrak dikatakan menunjukkan aktivitas yang poten sebagai antikanker apabila nilai $\text{IC}_{50} < 100 \mu\text{g}/\text{mL}$ (Prayong *et al.*, 2008). Ekstrak bawang dayak pada Provinsi Kalimantan Tengah, Kalimantan Timur, Jawa Barat, Kalimantan Selatan, dan Jawa Tengah dapat dikategorikan mempunyai aktivitas toksik terhadap sel kanker yakni tergolong dalam aktivitas moderat dikarenakan memiliki IC_{50} berkisar antara 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ -500 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Menurut Prayong *et al* (2008) suatu ekstrak dinyatakan aktif memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki nilai $\text{IC}_{50} < 100 \mu\text{g}/\text{mL}$, aktivitas moderat 100 $\mu\text{g}/\text{mL} < \text{IC}_{50} < 1000 \mu\text{g}/\text{mL}$ dan tidak menimbulkan aktivitas jika $\text{IC}_{50} > 1000 \mu\text{g}/\text{mL}$. Selain itu turut didukung oleh

Machana *et al* (2004) bahwa ekstrak yang berpotensi sebagai antikanker adalah ekstrak yang memiliki nilai $IC_{50} < 500 \mu\text{g/mL}$.

Hasil nilai IC_{50} dilakukan uji lanjutan yakni menggunakan analisis *one-way* Anova untuk melihat signifikansi rata-rata ekstrak, kemudian dilanjutkan dengan uji *post hoc* untuk melihat perbedaan signifikan pada masing-masing varian sampel. Analisis data dimulai dengan menggunakan uji normalitas yakni untuk melihat sebaran data normal.

Tabel 5.11 Uji normalitas pada IC_{50}

<i>Tests of Normality</i>						
sampel	<i>Kolmogorov-Smirnov^a</i>			<i>Shapiro-Wilk</i>		
	<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>	<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>
cisplatin	0,364	3		0,800	3	0,114
Jawa Timur	0,284	3		0,933	3	0,501
Kalimantan Tengah	0,188	3		0,998	3	0,911
Kalimantan Timur	0,317	3		0,888	3	0,347
Jawa Barat	0,176	3		1,000	3	0,978
Kalimantan Selatan	0,210	3		0,991	3	0,820
Jawa Tengah	0,278	3		0,940	3	0,529

Uji Normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* pada IBM SPSS versi 25. Uji normalitas dianggap bermakna apabila nilai ($P > 0,05$), dan dianggap tidak bermakna apabila nilai ($p < 0,05$). Hasil uji normalitas pada tabel 5.11 didapatkan nilai ($P > 0,05$) yang menandakan bahwa sebaran data normal. Kemudian dilakukan uji lanjutan dengan uji homogenitas menggunakan uji *levene*.

Tabel 5.12 Uji Homogenitas pada IC₅₀

Test of Homogeneity of Variances				
	<i>Levene Statistic</i>	df1	df2	<i>Sig.</i>
<i>Based on Mean</i>	3,426	6	14	0,027
<i>Based on Median</i>	1,365	6	14	0,294
<i>Based on Median and with adjusted df</i>	1,365	6	4,735	0,380
<i>Based on trimmed mean</i>	3,257	6	14	0,032

Uji homogenitas dikatakan bersifat homogen pada varian kelompok perlakuan apabila nilai ($P > 0,05$) dan dikatakan tidak homogen apabila nilai ($P < 0,05$). Hasil uji homogenitas dengan metode *levене test* pada tabel 5.12 didapatkan hasil tidak signifikan dengan nilai $P = 0,027$ ($P < 0,05$), sehingga varian kelompok antar perlakuan dinyatakan tidak homogen. Kemudian uji dilanjutkan dengan analisis *Kruskal-Wallis* dikarenakan variabel tidak homogen.

Tabel 5.13 Analisis *Kruskal-Wallis* pada IC₅₀

Test Statistics^{a,b}	
	IC ₅₀
<i>Kruskal-Wallis</i>	19,290
<i>H</i>	
Df	6
<i>Asymp. Sig.</i>	0,004
a. <i>Kruskal Wallis Test</i>	
b. <i>Grouping Variable: sampel</i>	

Analisis *Kruskal-Wallis* dikatakan bermakna apabila nilai ($P < 0,05$) yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan rata-rata antar varian kelompok perlakuan, sedangkan nilai ($P > 0,05$) menunjukkan tidak adanya perbedaan

signifikan rata-rata pada varian kelompok perlakuan. Hasil analisis *Kruskal-Wallis* pada tabel 5.13 menunjukkan adanya perbedaan signifikan rata-rata antara 6 Provinsi yang berbeda terhadap viabilitas IC_{50} dengan signifikansi $P=0,004$. Hasil analisis dilanjutkan dengan uji *post hoc* menggunakan metode uji *Tukey*.



Tabel 5.14 Uji *post hoc* pada sel kanker IC₅₀

Sampel		Nilai Signifikansi	Keterangan
Kalimantan Timur	Kalimantan Selatan	0,000	Signifikan
	Kalimantan Tengah	0,696	Tidak Signifikan
	Jawa Timur	0,251	Tidak Signifikan
	Jawa Barat	0,782	Tidak signifikan
	Jawa Tengah	0,000	Signifikan
	Cisplatin	0,005	Signifikan
Kalimantan Selatan	Kalimantan Timur	0,000	Signifikan
	Kalimantan Tengah	0,000	Signifikan
	Jawa Timur	0,000	Signifikan
	Jawa Barat	0,000	Signifikan
	Jawa Tengah	1,000	Tidak Signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Kalimantan Tengah	Kalimantan Timur	0,696	Tidak Signifikan
	Kalimantan Selatan	0,000	Signifikan
	Jawa Timur	0,954	Tidak signifikan
	Jawa Barat	0,103	Tidak Signifikan
	Jawa Tengah	0,000	Signifikan
	Cisplatin	0,079	Tidak Signifikan
Jawa Timur	Kalimantan Timur	0,215	Tidak Signifikan
	Kalimantan Selatan	0,000	Signifikan
	Kalimantan Tengah	0,954	Tidak signifikan
	Jawa Barat	0,018	Signifikan
	Jawa Tengah	0,000	Signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Jawa barat	Kalimantan Timur	0,782	Tidak signifikan
	Kalimantan Selatan	0,000	Signifikan
	Kalimantan Tengah	0,103	Tidak Signifikan
	Jawa Timur	0,018	Signifikan
	Jawa Tengah	0,000	Signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Jawa Tengah	Kalimantan Timur	0,000	Signifikan
	Kalimantan Selatan	0,100	Tidak Signifikan
	Kalimantan Tengah	0,000	Signifikan
	Jawa Timur	0,000	Signifikan
	Jawa Barat	0,000	Signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Cisplatin	Kalimantan Timur	0,005	Signifikan
	Kalimantan Selatan	0,000	Signifikan
	Kalimantan Tengah	0,079	Tidak Signifikan
	Jawa Timur	0,358	Tidak Signifikan
	Jawa Barat	0,000	Signifikan
	Jawa Tengah	0,000	Signifikan

Uji *post hoc* dikatakan bermakna apabila nilai ($P < 0,05$) hal ini menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar varian terhadap nilai IC_{50} , dan dinyatakan tidak bermakna apabila nilai ($P > 0,05$) yang menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan antar varian terhadap nilai IC_{50} . Berdasarkan uji *post hoc* pada tabel 5.14 hasil ekstrak bawang dayak dari Provinsi Kalimantan Timur, Kalimantan Tengah, Jawa Barat, Jawa Timur, Kalimantan Selatan, dan Jawa Tengah tidak memiliki perbedaan secara signifikan terhadap nilai IC_{50} yang ditandai dengan nilai ($P > 0,05$). Sedangkan kontrol positif cisplatin menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan antara nilai IC_{50} dengan ekstrak bawang dayak Jawa Timur dan Kalimantan Tengah. Namun pada daerah Kalimantan Timur, Kalimantan Selatan, Jawa Barat, Jawa Tengah memiliki perbedaan yang signifikan terhadap cisplatin dengan nilai ($P < 0,05$). Sehingga ekstrak bawang dayak Jawa Timur dan Kalimantan Tengah dinyatakan memiliki aktivitas antikanker seperti cisplatin. Ekstrak bawang dayak yang berasal dari provinsi Kalimantan Tengah ($104,52 \mu\text{g/mL}$) menunjukkan memiliki kategori aktivitas moderat dan berbeda dengan cisplatin ($47,16 \mu\text{g/mL}$) yang menunjukkan memiliki kategori aktivitas poten. Sedangkan pada ekstrak bawang dayak dari provinsi Jawa Timur ($86,981 \mu\text{g/mL}$) memiliki aktivitas antikanker kategori aktivitas poten. Nilai IC_{50} ekstrak bawang dayak Jawa Timur dan cisplatin memiliki kategori yang sama, sehingga ekstrak bawang dayak Jawa Timur digunakan sebagai terapi obat antikanker. Tussanti dan Johan (2014) menambahkan kelompok senyawa dari suatu sampel yang berpotensi menimbulkan efek aktivitas dapat digunakan sebagai agen antikanker, sedangkan moderat dapat

dimanfaatkan sebagai kemoprevensi yang dapat mencegah dan menghambat pertumbuhan sel kanker.

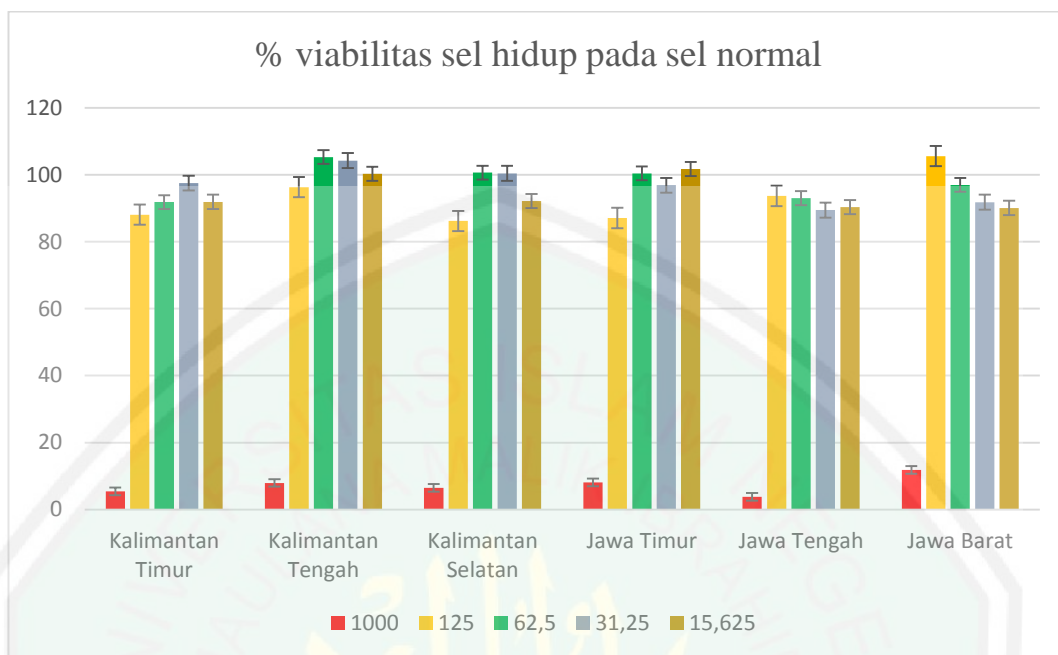
5.7.2 Analisis Data Pada Sel Normal (*Vero cell line*)

Berdasarkan hasil analisis absorbansi menggunakan ELISA reader didapatkan hasil prosentase (%) viabilitas sel hidup yang selanjutnya dikonversikan menjadi nilai CC_{50} dengan menggunakan analisa probit SPSS sehingga diperoleh toksisitas antikanker.

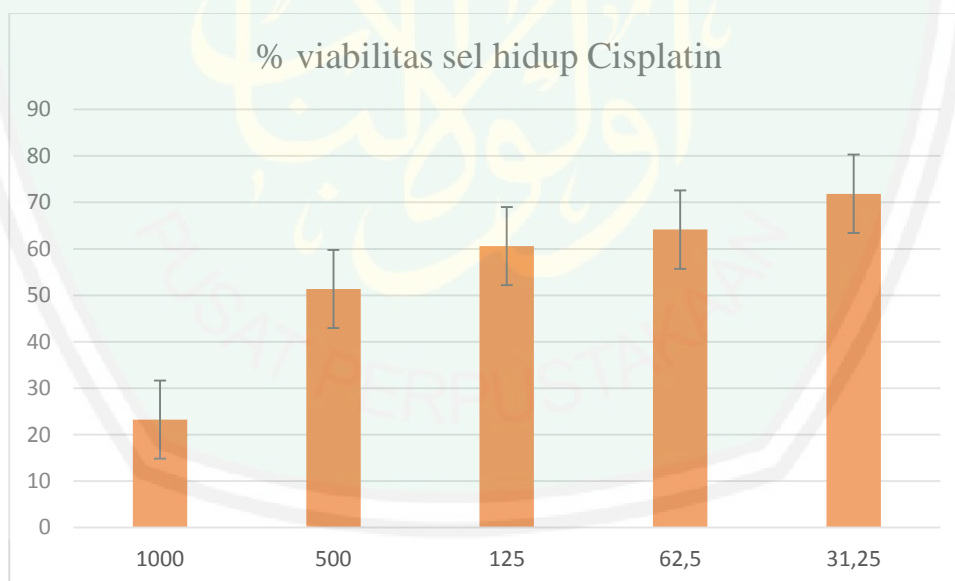
Tabel 5.15 Prosentase (%) Viabilitas sel hidup pada tiap konsentrasi sel normal dengan pemberian kontrol perlakuan berupa ekstrak bawang dayak dan kontrol positif Cisplatin.

Konsentrasi	Ekstrak Bawang Dayak						Cisplatin	
	Persen Viabilitas Sel Hidup (%) \pm SD						Konsentrasi	% viabilitas sel hidup \pm SD
	K. Timur \pm SD	K. Selatan \pm SD	K. Tengah \pm SD	J. Timur \pm SD	J. Tengah \pm SD	J. Barat \pm SD		
1000 μ g/mL	5,43 \pm 0,85	6,49 \pm 0,67	7,95 \pm 0,44	8,09 \pm 0,85	3,79 \pm 0,57	11,82 \pm 2,09	250 μ g/ml	23,26 \pm 6,09
125 μ g/mL	88,07 \pm 5,61	86,19 \pm 6,37	96,30 \pm 8,75	87,1 \pm 8,07	93,69 \pm 3,87	105,56 \pm 1,18	125 μ g/mL	51,34 \pm 7,39
62,5 μ g/mL	91,84 \pm 4,10	100,63 \pm 5,71	105,23 \pm 0,91	100,42 \pm 3,81	93,04 \pm 3,23	96,96 \pm 3,64	62,5 μ g/mL	60,59 \pm 4,75
31,25 μ g/mL	97,49 \pm 7,76	100,41 \pm 2,69	104,25 \pm 4,66	96,86 \pm 3,01	89,44 \pm 4,90	91,82 \pm 0,99	31,25 μ g/mL	64,14 \pm 6,81
15,625 μ g/mL	91,91 \pm 1,79	92,19 \pm 4,84	100,28 \pm 2,91	101,74 \pm 5,24	90,33 \pm 7,11	90,09 \pm 4,16	15,625 μ g/mL	71,85 \pm 6,29

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



Grafik 5.3 Prosentase (%) viabilitas sel hidup pada sel normal dengan perlakuan ekstrak



Grafik 5.4 Prosentase (%) viabilitas sel hidup pada sel normal dengan perlakuan kontrol positif cisplatin

Berdasarkan grafik 5.3 dapat diketahui bahwa pada perlakuan ekstrak terhadap sel normal menunjukkan adanya fenomena *dose dependent* atau semakin tinggi konsentrasi maka semakin rendah % viabilitas sel hidup. Pada kontrol

perlakuan ekstrak bawang dayak dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan hasil % viabilitas sel hidup yang lebih rendah jika dibandingkan dengan konsentrasi terendah pada perlakuan ekstrak dengan konsentrasi 15,625 $\mu\text{g/mL}$ yang menunjukkan % viabilitas sel yang lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa seiring dengan penurunan dosis, maka % viabilitas sel hidup pada sel normal semakin meningkat. Hal ini sesuai dengan hasil pada kontrol positif cisplatin ditunjukkan pada grafik 5.4 yang turut menunjukkan adanya fenomena *dose dependent*. Hal ini ditunjukkan dengan dosis cisplatin pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ memiliki % viabilitas sel hidup rendah, sedangkan pada dosis cisplatin dengan konsentrasi 31,25 $\mu\text{g/mL}$ memiliki % viabilitas sel tinggi.

Hasil prosentase (%) viabilitas masing-masing sampel pada sel Normal yang telah diperoleh kemudian dianalisis lebih lanjut menggunakan analisis probit SPSS. Analisis probit digunakan untuk mendapatkan nilai CC_{50} .

Tabel 5.16 Analisis probit nilai CC_{50} sampel terhadap sel normal

Sampel uji	Nilai CC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) \pm SD
Kalimantan Timur	414,65 \pm 46,41
Kalimantan Selatan	446,49 \pm 5,38
Kalimantan Tengah	528,77 \pm 41,49
Jawa Timur	476,88 \pm 32,44
Jawa Barat	519,70 \pm 2,00
Jawa Tengah	393,16 \pm 24,66
Cisplatin	232,35 \pm 43,00

*Rata-rata CC_{50} \pm Simpangan Deviasi dengan replikasi 3 kali.

Hasil analisis probit menggunakan SPSS menunjukkan bahwa ekstrak bawang dayak Provinsi Jawa Tengah (393,16 $\mu\text{g/mL}$) serta cisplatin (232,35 $\mu\text{g/mL}$) sebagai kontrol positif memiliki nilai CC_{50} terendah, sedangkan nilai CC_{50}

tertinggi berturut-turut dimiliki ekstrak bawang dayak Provinsi Kalimantan Tengah (528,77 $\mu\text{g/mL}$), Jawa Barat (519,70 $\mu\text{g/mL}$), Jawa Timur (476,8757 $\mu\text{g/mL}$), Kalimantan Timur (414,65 $\mu\text{g/mL}$), dan Kalimantan Selatan (476,88 $\mu\text{g/mL}$). Semakin besar nilai CC_{50} menunjukkan semakin bersifat tidak toksik. Hal ini dapat dibandingkan dengan kontrol positif cisplatin yang memiliki nilai CC_{50} sebesar 232,35 $\mu\text{g/mL}$. Cisplatin dibandingkan dengan ekstrak bawang dayak Provinsi Kalimantan tengah, Jawa Timur, serta Jawa barat terbukti memiliki perbedaan nilai CC_{50} yang cukup jauh dengan cisplatin. Sehingga ekstrak bawang dayak Kalimantan tengah, Jawa Timur, serta Jawa barat dapat dikatakan memiliki aktivitas antikanker. Namun bersifat lebih aman atau minim toksisitas pada sel normal jika dibandingkan dengan cisplatin.

Hasil nilai CC_{50} dilakukan uji lanjutan yakni menggunakan analisis *one-way* Anova menggunakan IBM SPSS versi 25 untuk melihat rata-rata signifikansi ekstrak serta dilanjutkan menggunakan uji *post hoc* untuk melihat adanya perbedaan signifikan masing-masing antar varian sampel. Analisis data dimulai dengan menggunakan uji normalitas yang berfungsi untuk melihat sebaran data normal.

Tabel 5.17 Uji normalitas pada CC₅₀

Tests of Normality						
sampel	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kalimantan Timur	0,225	3		0,984	3	0,757
Kalimantan Selatan	0,340	3		0,848	3	0,235
Kalimantan Tengah	0,270	3		0,949	3	0,563
Jawa Timur	0,175	3		1,000	3	0,999
Jawa Barat	0,254	3		0,963	3	0,631
Jawa Tengah	0,364	3		0,800	3	0,113
cisplatin	0,357	3		0,815	3	0,152

Pada uji normalitas digunakan metode *sapiro wilk*. Uji normalitas dianggap bermakna apabila nilai ($P > 0,05$) dan dianggap tidak bermakna apabila nilai ($P < 0,05$). Hasil uji normalitas pada tabel 5.17 menunjukkan nilai ($P > 0,05$) yang menandakan bahwa sebaran data bersifat normal Selanjutnya dilakukan uji lanjutan yaitu uji homogenitas menggunakan uji *levene*.

Tabel 5.18 Uji Homogenitas pada CC₅₀

Test of Homogeneity of Variances				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	2,753	6	14	0,056
Based on Median	0,633	6	14	0,702
Based on Median and with adjusted df	0,633	6	7,301	0,703
Based on trimmed mean	2,521	6	14	0,072

Uji homogenitas dikatakan bersifat homogen pada varian kelompok perlakuan apabila nilai ($P > 0,05$) dan dikatakan tidak homogen apabila nilai ($P < 0,05$). Hasil uji homogensitas dengan metode *levene test* pada tabel 5.18

diperoleh hasil $P=0,056$ sehingga varian antar kelompok adalah homogen ($P>0,05$). Uji kemudian dilanjutkan menggunakan analisis *One-way* Anova.

Tabel 5.19 Analisis *one-way* Anova pada CC_{50}

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	182746,522	6	30457,754	34,207	0,000
Within Groups	12465,368	14	890,383		
Total	195211,8890	20			

Analisis *one-way* Anova dikatakan bermakna apabila nilai ($P < 0,05$) yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan rata-rata antar varian kelompok perlakuan sedangkan apabila nilai ($P > 0,05$) menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan rata-rata pada varian kelompok perlakuan. Hasil *one-way* Anova pada tabel 5.19 menunjukkan $P=0,000$ yang menandakan terdapat signifikansi rata-rata antar varian kelompok perlakuan, kemudian dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

Tabel 5.20 Uji post hoc pada sel normal CC₅₀

Sampel		Nilai Signifikansi	Keterangan
Kalimantan Timur	Kalimantan Selatan	0,838	Tidak signifikan
	Kalimantan Tengah	0,005	Signifikan
	Jawa Timur	0,212	Tidak signifikan
	Jawa Barat	0,010	Signifikan
	Jawa Tengah	0,970	Tidak signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Kalimantan Selatan	Kalimantan Timur	0,838	Tidak signifikan
	Kalimantan Tengah	0,053	Tidak signifikan
	Jawa Timur	0,864	Tidak signifikan
	Jawa Barat	0,102	Tidak signifikan
	Jawa Tengah	0,359	Tidak signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Kalimantan Tengah	Kalimantan Timur	0,005	Signifikan
	Kalimantan Selatan	0,053	Tidak signifikan
	Jawa Timur	0,388	Tidak signifikan
	Jawa Barat	1,000	Tidak signifikan
	Jawa Tengah	0,001	Signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Jawa Timur	Kalimantan Timur	0,212	Tidak signifikan
	Kalimantan Selatan	0,864	Tidak signifikan
	Kalimantan Tengah	0,388	Tidak signifikan
	Jawa Barat	0,593	Tidak signifikan
	Jawa Tengah	0,048	Signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Jawa barat	Kalimantan Timur	0,010	Signifikan
	Kalimantan Selatan	0,102	Tidak signifikan
	Kalimantan Tengah	1,000	Tidak signifikan
	Jawa Timur	0,593	Tidak signifikan
	Jawa Tengah	0,002	Signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Jawa Tengah	Kalimantan Timur	0,970	Tidak signifikan
	Kalimantan Selatan	0,359	Tidak signifikan
	Kalimantan Tengah	0,001	Signifikan
	Jawa Timur	0,048	Signifikan
	Jawa Barat	0,002	Signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Cisplatin	Kalimantan Timur	0,000	Signifikan
	Kalimantan Selatan	0,000	Signifikan
	Kalimantan Tengah	0,000	Signifikan
	Jawa Timur	0,000	Signifikan
	Jawa Barat	0,000	Signifikan
	Jawa Tengah	0,000	Signifikan

Uji *post hoc* dikatakan bermakna apabila nilai ($P < 0,05$) hal ini menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar varian terhadap nilai CC_{50} , dan dinyatakan tidak bermakna apabila ($P > 0,05$) yaitu menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan antar varian terhadap nilai CC_{50} . Berdasarkan uji *post hoc* menggunakan metode *Tukey* pada tabel 5.20 didapatkan hasil tidak adanya perbedaan signifikan ($P > 0,05$) antara ekstrak bawang dayak dari Provinsi Kalimantan Timur, Kalimantan Selatan, Kalimantan Tengah, Jawa Timur, Jawa Tengah dan Jawa Barat terhadap nilai CC_{50} . Sedangkan pada cisplatin menunjukkan adanya perbedaan nilai CC_{50} yang signifikan antar varian sampel ditandai dengan nilai ($P < 0,05$). Sehingga dari masing-masing daerah tidak menimbulkan efek toksisitas terhadap sel normal seperti cisplatin. Hal ini ditandai dengan nilai CC_{50} pada masing-masing daerah berkisar antara $390 \mu\text{g/mL}$ - $530 \mu\text{g/mL}$, yang menunjukkan toksisitas terhadap sel normal namun bersifat lebih minim toksisitas jika dibandingkan dengan cisplatin.

5.8 Analisis Nilai Indeks Selektivitas

Analisis suatu senyawa antikanker tidak terbatas pada uji aktivitas dan toksisitas namun perlunya pengukuran selektivitas pada sel normal. Selektivitas ekstrak etanol 96% umbi bawang dayak dievaluasi dengan menggunakan parameter *SI* (*Selectivity index*). Selektivitas agen kemopreventif dimaksudkan penghambatan terbatas pada sel yang diidentifikasi sebagai sel kanker, sedangkan sel normal tidak diserang. Selektivitas indeks digunakan sebagai tolak ukur keamanan suatu obat antikanker (Dewi *et al.*, 2015). Selektivitas dihitung berdasarkan nilai dari sel normal kemudian dibagi dengan nilai dari sel kanker

(Badisa *et al.*, 2009). Menurut Sutejo (2016) suatu ekstrak dapat dikatakan mempunyai selektivitas tinggi apabila nilai $SI > 3$ dan dikatakan kurang selektif apabila nilai $SI < 3$.

Tabel 5.21 Selektivitas Ekstrak etanolik umbi bawang dayak terhadap sel kanker kolon WiDr dan sel normal

Sampel	Nilai SI	Interprestasi
Kalimantan Timur	3,1	Selektiv
Kalimantan Selatan	1,7	Tidak selektiv
Kalimantan Tengah	5,1	Selektiv
Jawa Timur	5,5	Selektiv
Jawa Barat	3,3	Selektiv
Jawa Tengah	1,4	Tidak selektiv
Cisplatin	4,9	Selektiv

Berdasarkan hasil analisa data diatas menunjukkan bahwa ekstrak etanol bawang dayak pada Provinsi Kalimantan Timur , Kalimantan Tengah, Jawa Timur dan Jawa barat menunjukkan nilai selektivitas yang tinggi dikarenakan memiliki nilai selektivitas lebih dari 3 (prayong *et al.*, 2008). Nilai SI ekstrak bawang dayak berturut-turut dari yang tertinggi sampai yang terendah yaitu pada ekstrak bawang dayak Jawa Timur (5,5), Kalimantan Tengah (5,1), Jawa Barat (3,3), Kalimantan Timur (3,1), Kalimantan Selatan (1,7), dan Jawa Tengah (1,4). Sampel dengan selektivitas paling tinggi ditunjukkan oleh ekstrak bawang dayak pada Provinsi Jawa Timur . Ekstrak bawang dayak Jawa Timur dan Kalimantan Tengah memiliki nilai SI lebih tinggi jika dibandingkan dengan kontrol positif cisplatin dengan nilai SI 4,9. Sehingga bawang dayak yang berasal dari Provinsi Jawa Timur dan Kalimantan tengah terbukti memiliki selektivitas terhadap sel normal lebih tinggi daripada cisplatin, dan dapat digunakan sebagai agen kemoterapi berbahan alam. Semakin tinggi nilai indeks selektivitas suatu ekstrak terhadap sel normal maka

senyawa tersebut semakin baik (Wahyuningsih *et al.*, 2013). Cara suatu agen antikanker dalam membedakan sel kanker dan sel normal adalah berdasarkan dari kebutuhan sel akan ATP (Adenosin Trifosfate). Dikarenakan sel kanker membutuhkan lebih banyak energi ATP jika dibandingkan sel normal. Energi ATP ini akan dideteksi oleh agen antikanker, selanjutnya agen antikanker akan menempel pada mitokondria sel kanker dan memblok produksi ATP. Akibatnya sel kanker tidak mendapatkan suplai energi dan akhirnya mati (Alali *et al.*, 1999).

5.9 Pengaruh lokasi Tumbuh terhadap Perbedaan Aktivitas dan Toksisitas

Perbedaan lokasi penanaman dapat mempengaruhi selektivitas suatu tanaman yang digunakan sebagai agen terapi antikanker. Faktor lingkungan pada suatu tanaman dapat menentukan kualitas fitofarmaka (*safety* dan *efficacy*) (Kim *et al.*, 2011). Penelitian ini dilakukan terhadap 6 Provinsi yang berbeda yaitu Kalimantan Timur, Kalimantan Selatan, Kalimantan Tengah, Jawa Timur, Jawa Tengah, dan Jawa Barat. Berdasarkan hasil uji aktivitas, toksisitas, dan indeks selektivitas didapatkan hasil nilai IC_{50} , CC_{50} , dan SI. Nilai IC_{50} terendah terdapat pada ekstrak bawang dayak Provinsi Jawa Timur ($86,981\mu\text{g/mL}$). Nilai CC_{50} tertinggi dimiliki oleh ekstrak dari Provinsi Kalimantan Tengah ($528,77\mu\text{g/mL}$). Nilai SI tertinggi berasal dari Provinsi Jawa Timur (5,5) dan Kalimantan Tengah (5,1) jika dibandingkan dengan kontrol positif cisplatin (4,9). Nilai indeks selektivitas tersebut membuktikan bahwa ekstrak bawang dayak dari Provinsi Jawa Timur dan Kalimantan Tengah memiliki selektivitas terhadap sel normal lebih tinggi daripada cisplatin.

Perbedaan nilai aktivitas, toksisitas dan indeks selektivitas pada tiap Provinsi pengambilan sampel dimungkinkan karena adanya perbedaan kondisi lingkungan (faktor eksternal) seperti jenis tanah unsur hara, iklim, curah hujan, dan waktu pengambilan sampel. Perbedaan jenis tanah menentukan perbedaan kandungan unsur hara yang terdapat didalamnya, sehingga mengakibatkan perbedaan aktivitas atau toksisitas farmakologi dari suatu tanaman (Verma dan Shukla, 2015). Karakteristik lokasi pengambilan sampel bawang dayak akan dijelaskan pada tabel 5.22.

Tabel 5.22 Karakteristik dari 6 lokasi pengambilan sampel Bawang Dayak

No	Lokasi	Ketinggian (MDPL)	Suhu rata-rata (°C)	Curah hujan (mm)	Iklim	Jenis tanah
1.	Desa Srengat, Kecamatan Srengat, Kabupaten Blitar, Jawa Timur	127	25,0	1819	Aw (Savana)	Regosol, Litosol, grumusol
2.	Kelurahan Kalisoro, Kecamatan Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah	1221	19,1	3299	Am (Monsun tropis)	Aluvial Kelabu, Grumosol Kelabu Tua
3.	Desa Sukaharja, Kecamatan Cijeruk, Kabupaten Bogor, Jawa Barat	668	24,0	3454	Af (Hutan hujan tropis)	Latosol, Aluvial, Regosol, Podsolik, Andosol
4.	Kelurahan Karang Rejo, Kecamatan Balikpapan Tengah, Kota Balikpapan, Kalimantan Timur	29	26,4	2376	Af (Hutan hujan tropis)	Aluvial, Pasir, Podzolik merah kuning
5.	Kelurahan Baru, Kecamatan Arut Selatan, Kabupaten Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah	10	26,8	2765	Af (Hutan hujan tropis)	Latosol, Podsolik Merah Kuning, dan Aluvial
6.	Kecamatan Banjarbaru Kota Banjarmasin, Kalimantan Selatan	31	27,2	2627	Af (Hutan hujan tropis)	Aluvial

(www.elevationmap.net, id.climate-data.org, Dispertan. Kaltimprov. Go. Id, Www.Blitarkab.Go.Id, Bpbd.Karanganyarkab.Go.Id, Bogorkab.Go.Id, Rad-Ppk.Kotawaringinbaratkab.Go.Id, dan www.Getborneo.Com, 2018).

Berdasarkan hasil uji aktivitas dan toksisitas diketahui bahwa ekstrak bawang dayak yang paling berpotensi sebagai antikanker adalah ekstrak yang berasal dari provinsi Jawa Timur dan Kalimantan Tengah. Jika dihubungkan dengan data karakteristik lokasi pada tabel 5.22 maka provinsi Jawa Timur dan Kalimantan Tengah memiliki intensitas curah hujan yang relatif rendah. Provinsi Jawa Timur memiliki intensitas curah hujan tahunan tergolong lebih rendah jika dibandingkan dengan Provinsi lainnya, sedangkan provinsi Kalimantan Tengah memiliki intensitas curah hujan yang tergolong rendah jika dibandingkan dengan 2 Provinsi lainnya. Berdasarkan Haryati *et al* (2009) tanaman bawang dayak tidak membutuhkan banyak air, dikarenakan kandungan air yang berlebih dapat mempengaruhi bobot umbi per tanaman, sehingga dapat berpengaruh terhadap kandungan metabolit yang terkandung dalam umbi bawang dayak.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Rahmandika (2018) menggunakan instrumen UPLC-QTOF-MS/MS tipe ACQUITY UPLC (*waters*) diketahui bahwa ekstrak bawang dayak provinsi Jawa timur dan kalimantan tengah berturut-turut memiliki total 40 dan 38 senyawa. Jumlah senyawa yang dimiliki menunjukkan nilai yang lebih besar jika dibandingkan dengan sampel dari ekstrak lainnya. Jumlah senyawa yang terkandung dapat mempengaruhi aktivitas farmakologis suatu tanaman. Ekstrak bawang dayak Jawa Timur memiliki kandungan senyawa alkaloid serta *isoliquiritigenin* (golongan flavonoid). Sedangkan Ekstrak bawang dayak Kalimantan Tengah menunjukkan adanya senyawa *isoliquiritigenin* serta Oxyresveratrol (golongan polifenol).

Senyawa alkaloid, flavonoid serta polifenol dapat digunakan sebagai agen antikanker. Senyawa alkaloid dapat menghambat proses siklus sel pada kanker kolon HT-29 pada fase G₁ sehingga sel menuju fase istirahat dan dapat meningkatkan ekspresi dari p21 dan p27 sehingga mengakibatkan terhambatnya forforilasi dari protein Rb. Senyawa isoliquiritigenin golongan flavonoid turut menunjukkan aktivitas antikanker ditandai dengan terhambat pertumbuhan kanker payudara dan neoangiogenesis dengan menghambat sinyal VEGF/VEGFR-2 dan ATP *binding* dengan membentuk ikatan hydrogen dan interaksi aromatic sehingga meningkatkan apoptosis (Wang, et al., 2013). *Isoliquiritigenin* juga menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap sel kanker kolon dengan model mencit yang diinduksi dengan AOM (Takahashi *et al.*, 2004). Senyawa *Oxyresveratrol* golongan polifenol memiliki aktivitas antitumor dan antioksidan yang tinggi serta dapat digunakan sebagai antiinflamasi (Xu *et al.*, 2014). Senyawa *Oxyresveratrol* turut menunjukkan penghambatan terhadap sel kanker kolon HT-29 dan terbukti lebih poten jika dibandingkan *resveratrol* (Wu *et al.*, 2010).

5.10 Korelasi Hasil Penelitian Dengan Ayat Al-Quran

Penelitian ini membahas tentang perbedaan lokasi tumbuh pada umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* L.) yang mana dapat mempengaruhi uji aktivitas, uji toksisitas dan indeks selektivitas. Pemanfaatan tanaman telah dijelaskan Allah SWT dalam Al-Quran. Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan hikmah-hikmah tertentu, tidak ada segala sesuatu yang diciptakan-Nya menjadi suatu yang sia-sia. Manusia hendaknya merenungkan dan menganalisis

semua yang telah diciptakan Allah SWT di alam ini sehingga akan tercipta ilmu pengetahuan yang bermanfaat bagi manusia sendiri. Salah satu kebesaran Allah Swt yang dapat dimanfaatkan oleh manusia adalah tumbuh-tumbuhan.

Pemanfaatan tumbuhan juga ditelaskan dalam Al-Quran dalam surah Luqman ayat 10.

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَأَلْقَى فِي الْأَرْضِ رَواسِيَ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا
مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

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

Kata *karim* pada ayat diatas digunakan untuk mensifati segala sesuatu yang baik, sesuai dengan objeknya. Rizqi yang karim adalah yang banyak, halal dan bermanfaat. Sehingga kata karim bermakna tumbuhan yang tumbuh subur dan menghasilkan manfaat bagi penanamannya (Shihab, 2006). Salah satu hal yang diharapkan dari tanaman adalah manfaatnya sebagai tanaman obat. Tumbuhan yang bermacam-macam jenisnya dapat digunakan sebagai obat dalam berbagai penyakit. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat adalah umbi bawang dayak. Kebaikan tanaman bawang dayak dayak dapat dilihat dari hasil penelitian yang telah dilakukan, bawang dayak terbukti berpotensi sebagai agen antikanker dan bersifat selektif terhadap sel normal ditandai dengan nilai indeks selektivitas tinggi ($SI \geq 3$). Penelitian ini menggunakan bawang dayak dari 6 Provinsi yang berbeda di Indonesia. Provinsi tersebut yaitu Kalimantan Timur, Kalimantan Tengah, Kalimantan Selatan, Jawa Timur, Jawa Tengah dan Jawa barat. Ekstrak bawang

dayak pada Provinsi Jawa Timur dan Kalimantan Tengah menunjukkan nilai indeks selektivitas lebih tinggi jika dibandingkan dengan kontrol positif cisplatin. Ekstrak bawang dayak dari Provinsi Jawa Timur dan Kalimantan Tengah terbukti bersifat selektif menyerang sel kanker dan bersifat aman pada sel normal serta dapat digunakan sebagai agen antikanker yang bersifat aman dan tidak toksik.

Sebagaimana telah dijelaskan oleh Allah SWT melalui firmanNya dalam surah al-Qomar (54):49

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ ﴿٤٩﴾

Artinya:” *Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*” (QS surah Al-Qomar:49)

Menurut Shihab (2006) kata qo-da-ro berarti mengukur atau memberi kadar, sehingga pengertian dari ayat ini yaitu memberi kadar, ukuran atau batas-batas tertentu dalam kemampuan maksimalnya. Sebagaimana kadar pada masing-masing umbi bawang dayak pada 6 Provinsi yang berbeda sebagai alternatif penghambatan serta pengobatan kanker yang bersifat selektif memberikan hasil yang berbeda sesuai dengan kadar dan batasnya. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada satupun yang Allah ciptakan sia-sia dan semua diberi potensi yang sesuai dan dengan kadar yang cukup untuk melaksanakan fungsinya.

BAB VI

KESIMPULAN

6.1 Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan aktivitas (nilai IC_{50}) ekstrak etanol 96% bawang dayak pada 6 Provinsi yang berbeda di Indonesian yakni Jawa Tengah 272,55 μ g/mL, Kalimantan Selatan 269,80 μ g/mL, Jawa Barat 159,07 μ g/mL, Kalimantan Timur 133,23 μ g/mL, Kalimantan Tengah 104,52 μ g/mL, Jawa Timur 86,98 μ g/mL. Nilai IC_{50} terendah yakni terdapat pada Provinsi Jawa Timur.
2. Terdapat perbedaan toksisitas (nilai CC_{50}) ekstrak etanol 96% bawang dayak pada 6 Provinsi yang berbeda Kalimantan Tengah 528,77 μ g/mL, Jawa Barat 519,70 μ g/mL, Jawa Timur 476,8757 μ g/mL, Kalimantan Selatan 446,4883 μ g/mL, Kalimantan Timur 414,646 μ g/mL, Jawa Tengah 393,16 μ g/mL. Nilai CC_{50} tertinggi yakni terdapat pada Provinsi Kalimantan Tengah.
3. Terdapat perbedaan indeks selektivitas terhadap 6 Provinsi yang berbeda di Indonesia yakni pada Jawa Timur 5,5, Kalimantan Tengah 5,1, Jawa Barat 3,3, Kalimantan Timur 3,1, Kalimantan Selatan 1,7, dan Jawa Tengah 1,4. Nilai indeks selektivitas tertinggi yakni terdapat pada provinsi Jawa Timur dan Kalimantan Tengah.

6.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan, peneliti menyarankan perlunya dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai ekstrak etanol 96% bawang dayak yang berasal dari Provinsi Jawa Timur untuk mengetahui mekanisme molekuler yang spesifik dalam membunuh sel kanker. Serta perlunya dilanjutkan pengujian secara *in vivo* untuk menjamin safety dan efficacy sehingga dapat digunakan sebagai pilihan terapi dalam pengobatan kanker.



DAFTAR PUSTAKA

- Abid, N. B., Rouis, Z., Lassoued, M. A., Sfar, S., dan Aouni, M. 2012. Assesment of The Cytotoxi Effect and in Vitro Evaluation of The Anti-enteriviral Activities of Plant Rich in Flavonoid. *Journal of Applied Pharmaceutical Care* , 74-78.
- Adnyana, I. B., dan Rudiman, R. 2017. Deleted in Colorectal Cancer (DCC) and p53 Protein Expressions. *MKB* , 49.
- Alali Feras Q., Xiao-Xi Liu, and Jerry L. McLaughlin. 1999. Annonaceous Acetogenins: Recent Progress. *J. Nat. Prod.* 62, 504-540.
- Angelina, Marissa, Puteri Amelia, Muchammad Irsyad, Lia Meilawati Dan Muhammad Hanafi. 2015. Karakterisasi Ekstrak Etanol Herba Katumpangan Air (*Peperomia Pellucida* L. Kunth). *Biopropal Industri* Vol. 6 No.2.
- Amelia, F., Angeline, E., Wibowo, K. W., dan Afnani, G. N. 2012. Tablet Salut Enterik Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai Anti Kanker Kolon yang Potensial. *BIMFI*, 1 (1), 47-56
- Ardianti, A., dan Kusnadi, J. 2014. Extraction of Antibacterial from Berenuk (*Crescentia cujete* Linn.) Leaves Using Ultrasonic Method. *Jurnal pangan dan Agroindustri.* 2, 28-35.
- Aryani, R., dan Purwandi, Y. 2016. Kajian Senyawa Eleutherine dan Isoeleutherine Sebagai Antiinflamasi Terhadap Enzim COX-1 DAN COX-2 Secara In Siliko Dengan Metode Simulasi Docking Molekular. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* , 77-87.
- Arsyad, S. 1989. Konservasi Tanah Dan Air. Penerbit: IPB.
- As. Suyuthi, Jalaludin. 2008. Sebab Turunya azat Al-Quran. Depok: Gema Insani.
- Azis, T., Febrizky, S., dan Mario, A. D. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Persen Yield dan Kaloid Dari Daun Salam India. *Teknik Kimia* , 20 (2).
- Azhar, T.N., 2008. *Dasar-Dasar Biologi Molekuler*. Bandung :Widya Padjadjaran.
- Babula, P., Mikelova, R., Patesil, D., Adam, V., Kizek, R., Havel, L., et al. 2005. Simultaneous Determination of 1,4 Naphtoquinone, Lawsone, Juglone and Plumbgin by Liquid Chromathography with UV Detection. *Biomed paper.* 149 (25).
- Backer, C.A., dan Brink, B.V.D., 1965. *Flora of Java. Vol II*. Netherland: NVP Noordhoff.

- Badisa, R., Selina, F., Darling-Reed, P. J., John, S., Lekan, M., and Goodman, C. 2009. Selective Cytotoxic activities of Two Novel Synthetic Drugs on MCF-7 Cells. *Anticancer Res.* 29, 2993-2996.
- Barbosa, L. C., Pereira, U. A., Martinazzo, A. P., Maltha, C., Teixcira, R. R., and Melo, E. 2008. Evaluation Of The Chemical Evaluation Of The Chemical Composition Of Brazilian Commercial Cymbopogon citrates (D.C.) Stapf Sample. *Molecules*, 13, 1864-1874.
- Campbell, N., Reece, J. B., dan G.Mitchell, L. 2000. *Biologi edisi 5*. Jakarta: Erlangga.
- Canas, R. A., Canales, J., Muñoz-Hernández, C., Granados, J. M., Ávila, C., L, M.,. 2015. Understanding Developmental and Adaptive Cues In Pine Through Metabolite Profiling and Co-Expression Network Analysis. *Journal of Experimental Botany* 66 (66), 311-3127.
- Carmelita, A. B. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) Secara Oral pada Mencit Balb/c Terhadap Pencegahan Penurunan Diameter Germinal Center pada Kelenjar Getah Bening serta Kadar IgG serum. *Biosains*. 18.
- CCRC. 2009. *Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- CCRC. 2009. *Perhitungan Sel*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Chahar, Maheep K., Neelu Sharma Mahabeer P., Dobhal, dan Yogesh C. Joshi. 2011. Flavonoids: A versatile source of anticancer drugs. *Pharmacogn Rev*, 5 (9), 1-12.
- Chang, F.-H., Tzeng, D.-S., Lee, T.-M., Hsu, L.-S., dan Lung, F.-W. 2003. Mutation In The P53 Tumor Suppressor Gene In Colorectal Cancer in Taiwan. *J Med Sci* 19.
- Colquohun, I. J. 2007. Use of NMR for Metabolic Profilling In Plant Syssem. *Pestic Sci* , 32 (3), 200-21.
- Couto, C. L., F.C, D., S, M. M., Cartágenes, Amaral, F. M., dan Guerra, R. N. 2016. *Eleutherine bulbous (Mill.) Urb.: A review study*. *Journal of Medicinal Plants Research* , 10 (21), 286-297.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I), Jilid 2*. Jakarta: Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2009. *Buku Saku Pencegahan Kanker Leher Rahim dan Kanker Payudara*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

- Dewi, N. R., Kuncoro, H., & Rijai, L. 2015. Jurnal Sains dan Kesehatan. 2015. Potensi Sitotoksik Ekstrak Air Daun Sirih Hitam (Piper sp.) . *Jurnal sains dan Kesehatan*, 1 (1)
- Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B. G., dan Posey, L. M. 2005. *Pharmacotherapy: A Phathopphysiologic Approach, Sixth Edition*. America: The McGraw-Hill Companies.
- Doyle, A., dan Griffiths, J. B. 1998. *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures in Biotechnology*. England: John Wiley dan Son.
- Febrinda, A. E. 2014. *Potensi Antioksidan dan Antidiabetik Ekstrak Air Dan Etanol Umbi Bawang Dayak (Eleutherine Palmifolia) Secara In Vitro Dan In Vivo*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Fatchurrozak, Suranto, Dan Sugiyarto. 2013. Pengaruh Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Vitamin C Dan Zat Antioksidan Pada Buah Carica Pubescens Di Dataran Tinggi Dieng. *El-Vivo*. Vol.1, No.1,(24 – 31).
- Firdaus, R. 2006. Telaah Kandungan Kimia Ekstrak Metanol Umbi bawang Tiwai (Eleutherine Americana (Aubl.) Merr.).*Skripsi Diterbitkan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Faskalia, dan Wibowo, M. A. 2014. Skrining Fitokimia, Uji Aktivitas, Antioksidan Dan Uji Sitotoksik Ekstrak Metanol Pada Akar Dan Kulit Batang Soma (Ploiarium Alternifolium). *Jkk*, 3, 1-6.
- Fitri, Y., Rosidah, dan Suwarso, E. 2014. Effects of Inhibition Cell Cycle and Apoptosis of Sabrang Onion extract (Eleutherine bulbosa (Mill.) Urb.) on Breast Cancer Cells. *International Journal of PharmTech Research*. 6 (4), 1392-1396.
- Florea, A., dan Busselberg, D. 2011. Cisplatin as an Anti-Tumor Drug cellular Mechanisms of activity, Drug Resistance and Induced side effect. *Cancers* , 3, 1351-1357.
- Galvao, J. B., Davis M, Tilley E, Normando M.R., Duchen M.F., & Cordeiro, 2014. Unexpected Low-Dose Toxicity of the Universal Solvent DMSO. *The FASEB Journal*, 1317–1330.
- Ganjar, I.G. dan Rohman A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis. Cetakan II*. Yogyakarta: Pustaka pelajar
- Ginzburg, S, Golovine, K.V, Makhov, P.B, Uzzo, R.G, Kutikov, A, dan Kolenko, V.M. 2014. Piperlongumine inhibits NF- κ B activity and attenuates aggressive growth characteristics of prostate cancer cells. *Prostate*, 74,177–186.

- Goncalves, E. C., Ganeri, Ventura, T., Yano, M., dan Macedo, S. 2006. Morphological and growth alterations in *vero* cells transformed by cysplatin. *Cell Bio Int.* 30, 485-494.
- Golovine, K., Makhov, P., Naito, S., Raiyani, H., Tomaszewski, J., Mehrazin, R., Tulin, A., Kutikov, A., Uzzo, R.G., dan Kolenko, V.M. 2015. Piperlongumine and its analogs down-regulate expression of c-Met in renal cell carcinoma. *Cancer Biol. Ther.* 16, 743–749.
- Handayani, Eni dan May S. 2005. Teknik Pemisahan Komponen Ekstrak Purwoceng Secara Kromatografi Lapis Tipis. *Buletin Teknik Pertanian.* 10(2).
- Hanani, Endang, Abdul Mun'im, dan Ryany Sekarin. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan Dalam spons callispongia sp Dari kepulauan seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 2 (3), 127 – 133.
- Hanson, James R. 2008. *The chemistry of fungi* . Brighton: University of Sussex.
- Harvey, R., dan Champe, P. 2010. *Farmakologi "Ulasan Bergambar"*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Terjemahan Kosasih P Dan Soediro L.* Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Hartono. 2007. Geografi Jelajah Bumi dan Alam Semesta. Bandung: Citra Praya.
- Hidayah, A. S., Mulkiya, K., dan Purwanti, L. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Umbi Bawang Dayak (Eleutherine palmifolia Merr.). *Prosiding Penelitian Spesia Unisba* .
- Hughes, D., dan Mehmet, H. 2003. *Cell Proliferation and Apoptosis*. london: Garland Science.
- Herlina, T. 2009. Senyawa Antikanker dari Dadap Ayam (*Erythrina variegata*). *Indonesian Journal of Cancer* 3 (4).
- Hernani. 1999. *Teknik identifikasi bahan aktif pada tumbuhan obat*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
- Ilhamy, Yonny Fajar. 2013. Uji Efek Sitotoksik Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Akar Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) Terhadap sel kanker Payudara T47D dengan Metoda MTT. *Prosiding Seminar Nasional Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III*. ISSN 2339-2592.
- Imani, A. K. 2005. *Tafsir Nurul Qur'an*. Jakarta: Penerbit Al-Huda.

- Ismiyah, F., Fauziah, B., Muti'ag, R., dan Fasya, A. 2014. Identifikasi Golongan Senyawa Dan Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol 95 % Daun, Kulit Batang Dan Akar Pulai (*Alstonia Scholaris* (L.) R. Br.) Terhadap Mencit Balb/C. *ALCHEMY*, 12-17.
- Istindiah, H., dan Auerkari, E. 2001. Mekanisme Kontrol Siklus Sel (Suatu Tinjauan Khusus Peran Protein Regulator Pada Jalur Retinoblastoma (Rb)). *JKGUI*. 8, 39-47.
- Joy, J., Krishnan, C., dan Nair, K. 2008. Amelioration of Cisplatin Induced Nephrotoxicity in Swis Albino Mice by *Rubia cordifolia* extract. *J Cancer Res Ther*, 4 (3).
- Karamoy, L. 2009. Hubungan Antara Iklim Dengan Pertumbuhan Kedelai (*Glicine Max L. Merrill*). *Soil Environment*. 7(1): 65-68.
- Kartawiguna, E. 2001. Faktor-faktor Yang Berperan Pada Karsinogenesis. *J kedokteran Trisakti*. 1 (20).
- Kartasubrata, Y., 1987. Dasar-dasar kromatografi. Makalah pada Kursus Metode Analisis Instrumental. Bandung: Pusat Penelitian dan Pengembangan Kimia Terapan, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Katzung, B. 1992. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Katzung, B. G. 2007. *Basic dan Clinical Pharmacology 10th Edition*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Katzung, B. G., Masters, S. B., dan Trevor, A. J. 2014. *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 12 Volume 2*. Jakarta: Buku kedokteran EGC.
- Kim, E. J., Kown, J., Park, S. H., Park, C., Seo, Y. B., Shin, H.-K.,. 2011. Metabolite Profiling of *Angelica Gigas* From Diferen Geographical Origin Using H-NMR and UPLC-MS Analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 8806-8815.
- King, R. J., dan Robins, M. 2006. *Cancer Biology Third edition*. England: Pearson Education Limited.
- Kenkel J. 2003. *Analytical Chemistry For Technicians*. Boca Raton: Lewis Press.
- Kemendagri, 5 Juni 2017. Basis Data Kemendagri. www.kemendagri.go.id.
- Krismawati, A., dan Sabran, M. 2004. Pengelolaan Sumber Daya Genetik Tanaman Obat Spesifik Kalimantan Tengah. *Buletin plasma nutah*. 16 (1).
- Kuntorin, E. M., dan Astuti, M. D. 2015. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol *Bulbus Bawang Dayak (Eleutherine Americana Merr.)*. *Sains Dan Terapan Kimia*, 4 (1).

- Kumar, V., Abbas, A. K., dan Fausto, N., 2005. *Robbins and Cotran Pathologic Basic of disease, 7th Ed.* Jakarta: EGC Jakarta
- Liang, Y. Z., Xie, P., and Chan, K. 2004. Quality control of herbal medicines. *Journal of Chromatography*, 53–70.
- Li, X, Ohtsuki, T., Koyano, T., Kowithayakorn, T., dan Ishibashi, M. 2008. New Wnt/ β -Catenin Signaling Inhibitors Isolated from *Eleutherine palmifolia*. *Chemistry An Asian Journal*, 4, 540-547.
- Lin, Y., Xu, J., Liao, H., Li, L., dan Lin, Y. 2013. Piperine Induces Apoptosis Of Lung Cancer A549 Cells Via P53-Dependent Mitochondrial Signaling Pathway. *Tumour Biol.* 35, 3305–3310.
- Maharani, Sabrina. 2009. Mengenal 13 jenis Kanker dan Pengobatannya. Jogjakarta: Katahati
- Manasika, A., dan Widjanarko, S. B. 2015. Carotenoid Pigment Extraction Of Kabocha Using Ultrasound Assisted Extraction (Study of Material: Solvent Ratio and Extraction Time). *Jurnal pangan dan Agroindustri.* 3, 928-938.
- Mangan, Y. 2009. *Solusi Mencegah dan Mengtasi Kanker.* Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Meiyanto, E. S., Rahmi, F., dan Handayani, R. A. 2015. Ethanolic Extrack of *Areca catechu* Seed Inhibid Proliferation and Induced Apoptosis on MCF-7 Cell. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 12-19.
- Mierziak, J., Kostyn, K., dan Kulma, A. 2014. Flavonoids as Important Molecules of Plant Interactions with the Environment. *Molecules.* 19(10).
- Muhammad, A.J dan Abdirrahman, A.J. 2010. Tafsir Jalalain. Pustaka ELBA: Surabaya.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan.* 7 (2).
- Mustika N. 2011. *Kapasitas Antioksidan Bawang Dayak (Eleutherine palmifolia) dalam Bentuk Segar, Simplisia dan Keripik, Pada Pelarut Non Polar, Semi Polar dan Polar.* Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Muliartha, Irawan, W., Armenia, F., dan Asnah. 2011. Pengaruh Ekstrak Akar *Taraxacum officinale* (Dandelion) dalam Mengaktifkan Gen Retenoid Acid Reseptor β 2 untuk Menekan Pertumbuhan Acid Reseptor β 2 untuk Menekan Pertumbuhan sehingga Menginduksi Proses Apoptosis. *Indonesian Journal of Cancer.* 5(2).
- Murti, H., Boediono, A., Setiawan, B., dan Sandra, F. 2007. Regulasi Siklus Sel:Kunci Sukses Somatic Cell Nuclear Transfer. *CDK.* 6, 159-312.

- Muti'ah, R. 2014. *Pengembangan Fitofarmaka Anticancer (Panduan dan Teknik Pengembangan Obat Herbal Indonesia Menjadii Fitofarmaka)*. Malang: Uin-Maliki Press.
- Mutiah , Roihatul; Indradmojo, Christyaji; Hardiyanti Helda Dwi; Pramesti Griana, Tias; Listyana, Anik and Ramdhani, Ria. 2017. Induction of Apoptosis and Phase-Cell Cycle Inhibition of G0-G1, S,G2-M of T47D Breast Cancer Cells on Treatment with Ethyl Acetate Fraction of Jackfruit Parasite Leaves (*Macrosolen cochinchensis*). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Volume 7. Nomor 10.
- Mutiah, Roihatul, Aty Widyawaruyanti, Sukardiman Sukardiman (2018). Calotroposid A: a Glycosides Terpenoids from *Calotropis Gigantea* Induce Apoptosis Through Increased G2/M And Caspase-8 Expression. *Journal Of Applied Pharmaceutical Science*, 19(6), 1457-1464.
- Mutiah, Roihatul, Aty Widyawaruyanti, Sukardiman Sukardiman (2018). *Calotropis gigantea* Leaf Extract Increases the Efficacy of 5-Fluorouracil and Decreases the Efficacy of Doxorubicin in Widr Colon Cancer Cell Culture, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* ,8 (04),051-056.
- Mursiti, S. 2013. Isolasi, Identifikasi, Dan Elusidasi Struktur Senyawa Alkaloid Dalam Ekstrak Metanol-Asam Nitrat Dari Biji Mahoni Bebas Minyak (*Swieteniamacrophylla*, King).*Jurnal MIPA* 36 (2): 169-177.
- Meerlo J., Van Kaspers G. J. L., Closs j., . 2011. Cell Sensitivity Assays The Mtt Assay, Cancer Cell Culture: Methods And Protocols. *Surgical Oncologi*, 273-245.
- Mohan, Karthik, R. Jeyachandran, dan Deepa. 2012. Alkaloids As Anticancer Agents. *Annals of Phytomedicine*, 1(1), 46-53
- Nagara, F. S., R.Utomo, A., dan Sandra, F. 2008. Efek Mutas K-Ras Pada Kanker Kolorektal Terhadap Terapi Antibodi Monoklonal Anti EGFR. *Indonesian Journal of Cancer* , 4, 144-148.
- Noguchi, P., Wallace, ' R., Johnson, J., Earley, E. M., O'brien, S., Ferrone, S., et al. (1979). Characterization Of WiDr:A Human Colon Carcinoma Cell Line. *IN VITRO* , 15, 6.
- Nurani, L. H. 2012. Cytotoxicity And Antiproliferative Test On T47d And Vero cell lines . *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* , 2, 17 - 29.
- Nurnasari, E., dan Djumali. 2010. Pengaruh Kondisi Ketinggian Tempat Terhadap Produksi Dan Mutu Tembakau Temanggung. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat Dan Minyak Industri*. 2(2), 45-59.

- Nugraheni, Krisnawati Setyaningrum, Lia Umi Khasanah, Rohula Utami, Baskara Katri Ananditho. 2016. Pengaruh Perlakuan Pendahuluan Dan Variasi Metode Destilasi Terhadap Karakteristik Mutu Minyak Atsiri Daun Kayu Manis (*C. Burmanii*). *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*, 9 (2).
- Pambudi, Arief, Syaefudin, Nita Noriko, Risa Swandari, dan Purwanty Rara Azura. 2014. Identifikasi Bioaktif Golongan Flavonoid Tanaman Anting-Anting (*acalypha indica* l.). *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, 2 (3).
- Pemerintah Provinsi Kalimantan Timur. 2018. Potensi Balikpapan. Dispertan.Kaltimprov.Go.Id (Diakses 17 Mei 2018)
- Pemerintah Kabupaten Blitar. 2018. Gambaran Umum Kabupaten Blitar. www.Blitarkab.Go.Id. (Diakses 17 Mei 2018)
- Pemerintah Provinsi Jawa Barat. 2017. Data Pemerintah Jawa Barat. www.jabarprov.go.id. (Diakses 5 Juni 2017)
- Pemerintah Provinsi Kalimantan Tengah. 2017. Data Pemerintah Kalimantan Tengah. www.kaltengprov.go.id. (Diakses 5 Juni 2017)
- Pemerintah Provinsi Kalimantan Timur . 2017. Data Pemerintah Kalimantan Timur . www.kaltimprov.go.id. (Diakses 5 Juni 2017)
- Pemerintah Provinsi Jawa Tengah. 2017. Data Pemerintah Jawa Tengah. www.jatengprov.go.id. (Diakses 5 Juni 2017)
- Pemerintah Provinsi Jawa Timur. 2017. Data Pemerintah Jawa Timur . www.jatimprov.go.id. (Diakses 5 Juni 2017)
- Pemerintah Kabupaten Bogor. 2018. Gambaran Umum Kabupaten Bogor. [Http://Bogorkab.Go.Id](http://Bogorkab.Go.Id) (Diakses 15 Mei 2018)
- Pemerintah Kabupaten Karanganyar. 2018. Sekilas Pandang Kabupaten Karanganyar. [Http://Bpbd.Karanganyarkab.Go.Id](http://Bpbd.Karanganyarkab.Go.Id). (Diakses 15 Mei 2018)
- Pemerintah Kabupaten kotawaringin Barat. 2018. Peraturan Daerah Kabupaten Kotawaringin Barat Nomor 10 Tahun 2006. [Http://Rad-Ppk.Kotawaringinbaratkab.Go.Id](http://Rad-Ppk.Kotawaringinbaratkab.Go.Id) (Diakses 15 Mei 2018)
- Pemerintah Borneo. 2018. Banjarmasin, Kota Seribu Sungai. [Http://Www.Getborneo.Com](http://Www.Getborneo.Com) (Diakses 15 Mei 2018)
- Pine, A., Alam, G., & Attamin., F. 2011. *Standardisasi Mutu Ekstrak Daun Gedi (Abelmoschus manihot (L.) dan Uji Efek Antioksidan dengan Metode DPPH. JF FIK UINAM*. 3(3).

- Puspadewi, R., Adirestuti, P., dan Menawati, R. 2013. Khasiat Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia* (L.) Merr.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi* , 1, 31-37.
- Prayoga, g. 2015. Skrining Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanolik Daun Sirih (Piper betle L) Terhadap Sel Kanker Kolon WiDr . Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma. *Skripsi*.
- Prayong, P., Barusrux, S., dan Weerapreeyakul, N. 2008. Cytotoxic Activity Screening of Some Indigenous Thai Plants. *Fitoterapia*. 79, 598-601.
- Ramos, S. 2008. Cancer Chemoprevention and Chemotherapy: Dietary Polyphenols and Signalling Pathways. *Mol Nutr Food res*. 52 (5), 507-26.
- Randhawa, H., Kibble, K., Zeng, H., Moyer, M.P., dan Reindl, K.M. 2013. Activation Of ERK Signaling And Induction Of Colon Cancer Cell Death By Piperlongumine. *Toxicol Vitro*. 27, 1626–1633.
- Rahmandika, Jauhar M.S. 2018. *Metabolite Profiling* Umbi Bawang dayak (*Eleutherine palmiolia* L.) Merr.) Dari Beberapa Daerah Di Indonesia Menggunakan UPLC-QTOF-ms/ms. *Skripsi*. Universitas Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rachman, F., Hartati, S., and Simanjuntak, E. S. 2016. Aktivitas Antioksidan Daun Dan Umbi Dari Enam Jenis Singkong (Manihot Utilissima Pohl). *Biopropal Industri*, 7(2), 47-52.
- Rini Prastiwi, Siska, Nila Marlita. 2017. Physico-Chemical Parameters And Quantitative Analysis Of Allyl Disulfide In Allium Sativum L. Ethanol 70% Extract: Plantation Place Comparison. *Pharm Sci* .4(1).
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., dan Zhan, L. 2003. Flavonoids: Promising Anticancer Agents. *Med Res Rev*. 23 (4), 519-534.
- Rohman, A. 2014. *Satistika dan Kemometrika Dasar Dalam Analisis Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rojihah, Akhrani, L. A., dan Hasanah, N. 2015. Perbedaan Political Awareness Dilihat dari Peran Gender. *Jurnal Mediapsi* , 1 (1), 59-66.
- Roring, N., Yudistira, A., dan Lolo, W. A. 2017. Standardisasi Parameter Spesifik Dan Uji Aktivitas Antikanker Terhadap Sel Kanker Payudara T47d Dari Ekstrak Etanol Daun Keji Beling (*Strobilanthes Crispa* (L.) Blume). *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi* , 6.
- Rosmarkam, Afandie dan Nasih Widya Yuwono. 2002. *Ilmu Kesuburan Tanah*. Yogyakarta : Kanisius
- Ruddon, R. W. 2007. *Cancer Biology Fourth Edition*. New York: Oxford University Press.

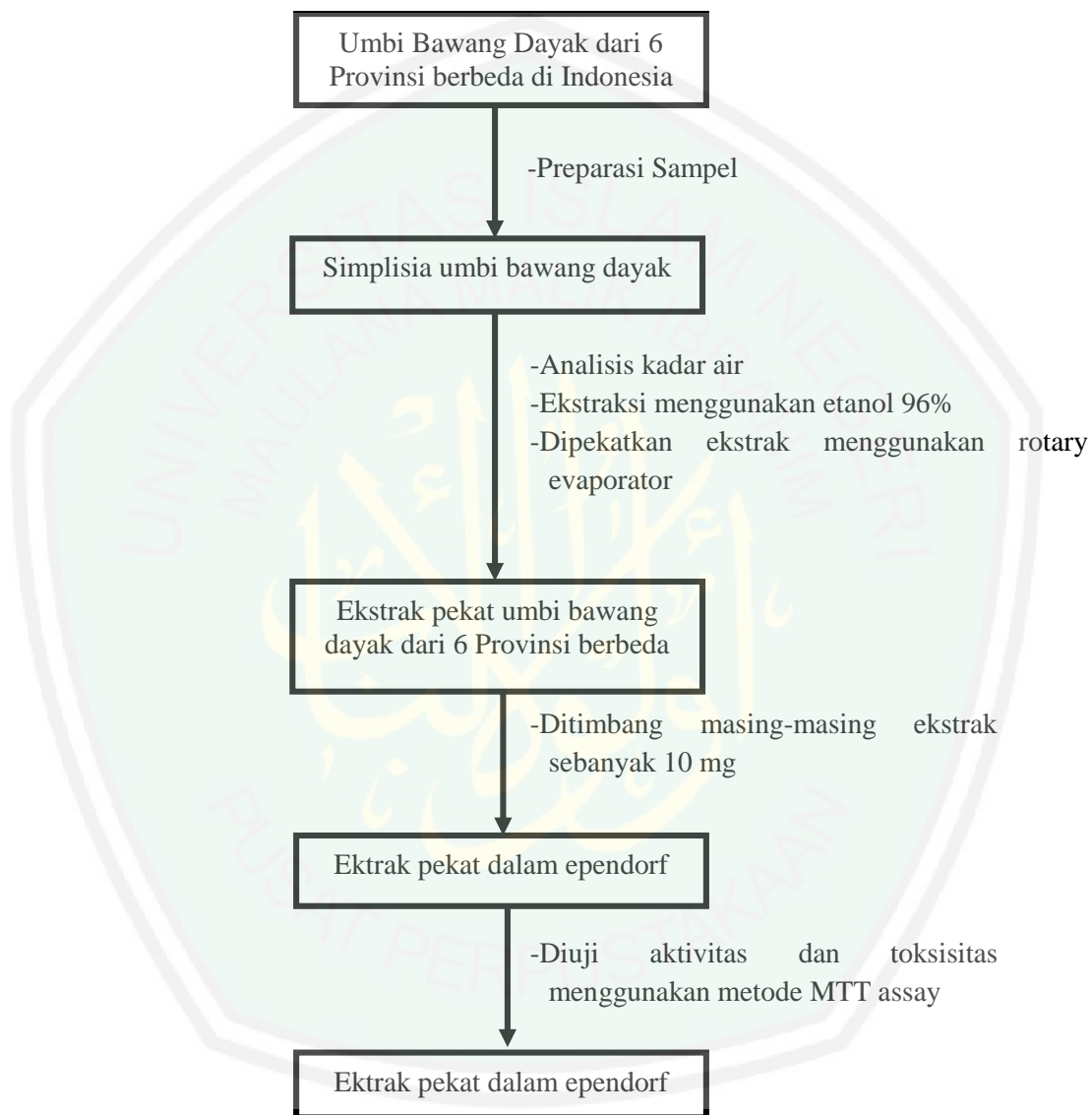
- Sadli, N. W., & Sari, I. 2015. The Cytotoxic Activity Of Ethylacetatefraction Of Kersen (*Muntingia Calabura*) Leaves Against Larvae Shrimp *Artemia Salina* Leach. *Jurnal Natural*, 2.
- Sampurno. 2000. *Parameter Standar Umum ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan.
- Sampaio, Bruno Leite, Ruangelie Edrada-Ebel & Fernando Batista Da Costa. 2016. Effect Of The Environment On The Secondary Metabolic Profile Of *Tithonia Diversifolia*: A Model For Environmental Metabolomics Of Plants. *Scientific* (6) .
- Sasongko, A., Nugroho, R. W., Setiawan, C. E., Utami, I. W., dan Pusfitasari, M. D. 2017. Penentuan Total Fenol Ekstrak Umbi Bawang Dayak Hasil Ekstraksi Dengan Metode Ultrasound Assisted Extraction (UAE) dan Ultrasonic-Microwave Assisted Extraction (UMAE). *Jurnal Sains Terapan*. 3(2).
- Setiawati, A., Susidarti, R., & Meiyanto, E. 2015. Peningkatan Efek Sitotoksik Doxorubicin Oleh Hesperidin Pada Sel T47d. *Bionatura – Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati Dan Fisik*.
- Sudiana, K. 2008. *Patobiologi Molekuler Kanker*. Jakarta: Salemba Medika.
- Sudarmono, 1997. *Mengenal dan Merawat Tanaman Hias Ruangan*. Kanisius : Yogyakarta
- Sharon, N., Anam, S., dan Yuliet. 2013. *Formulasi Krim Antioksidan Ekstrak Etanol Bawang Hutan (Eleutherine palmifolia L. Merr)*. *Jurnal of Natural Science*. 2.
- Shihab, M. (2006). *Tafsir Al-Mishbah* . Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, M. (2010). *Tafsir Al-Mishbah* . Jakarta: Lentera Hati.
- Suryo, J. 2010. *Herbal Penyembuh Wasir dan Kanker Prostat*. Yogyakarta: Benteng Pustaka.
- Susanti, A. D., Ardiana, i., P, G. G., dan Bening, Y. 2012. Polaritas Pelarut Sebagai Pertimbangan Dalam Pemilihan Pelarut Untuk Ekstraksi Minyak Bekatul Dari Bekatul Varietas Ketan (*Oriza sativa glatinosa*). *Simposium Nasional*.
- Sutejo, I. R., Putri, H., dan Meiyanto, E. 2016. The Selectivity of Ethanolic Extract of Buah Makassar (*Brucea javanica*) on In Vitro Study of Metastatic Breast Cancer. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences* , 2.
- Suwarso, Edy. 2015. The Apoptosis Effects of Ethylacetate Extract *EleutherineBulbosa* (Mill.) Urb. Against T47d Cells. *International Journal of PharmTech Research* 7 (3), 535-539.
- Sumardjo, Damin. 2006. *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran Dan Progam Strata 1 Fakultas Bioeksata*. Jakarta: ECG.

- Tatuhey, W. S., Nikijuluv, H., dan Mainase, J. 2014. Karakteristik Kanker Kolorektal di RSUD Dr. Haulussy Ambon Periode Januari 2012- Juni 2013. *Moluska Medika (MM)*.
- Takashi, Tetsuyuki., Nobuo Takasuka, Masaaki Ligo, Masaki Baba, Hoypku Nishino, Hirozuki Studa, Toru Okuyama. 2004. Isoliquiritigenin, a flavonoids from licorice, reduce prostaglandin E₂ and nitric oxide, causes apoptosis, and suppresses aberrant crypt foci development. *Cancer Sci*. Vol. 95 (5) : 448-453
- Tussanti, I., & Johan, A. 2014. Sitotoksitas In Vitro Ekstrak Etanolik Buah Parijoto (*Medinilla Speciosa*, Reinw. Ex Bl.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47d. *Jurnal Gizi Indonesia*, 53-58.
- Torres, N. M., Talavera, T. A., Espinosa Andrews, H., Contreras, A. S., dan Pacheco, N. 2017. Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. *Agronomy* , 47.
- Ulfah, Diana Dan Lucarda Adi Karsa. 2007. Pengaruh Tempat Tumbuh Dan Lama Penyulingan Terhadap Rendemen Minyak Atsiri Rambu Atap (*Baeckea Frustescens* L) Dengan Penyulingan Metode Perebusan. *Jurnal Hutan Tropis Borneo*. 8(21).
- Verma, N., dan Shukla, S. 2015. Impact of Various Factors Responsible for Fluctuation in Plant Secondary Metabolites. *J App on Med Ar Plants* 2 (4), 105-113.
- Wahyuni, D. T., dan Widjanarko, S. B. 2015. The Effect of Different Solvent and Extraction Time of Carotenoids Extract From Pumpkin with Ultrasonic Method. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* , 3, 390-401.
- Wahyuningsih, Mae Sri Hartati, Rul Afiyah Syarif, Sri Suharmi, Tri Murini, Firandi Saputra, dan Adiguno Suryo W. 2013. Selectivity Of Purified Extract From The Leaves Of *Tithonia Diversifolia* (*Hemsley*) *A.Gray* Against Hela Cells Selektivitas Ekstrak Terpurifikasi Daun *Tithonia Diversifolia* (*Hemsley*) *A.Gray* Terhadap Sel Hela. *Trad. Med. J.*, 18(1)
- Wagner, & Bladt. 1996. *Plant Drug Analysis*. German: Springer.
- Wahyuningsih, M. S. 2013. Selectivity Of Purified Extract From The Leaves Of *Tithonia Diversifolia* (*Hemsley*) *A.Gray* Against Hela Cells. *Trad. Med. J*, 18, 22-28.
- Wardati, F. 2017. *Potensi Ekstrak Kulit Pisang Kepok (Musa Balbisiana) Sebagai Kandidat Terapeutik Kanker Kanker Payudara Secara In Vitro Dengan Menggunakan Sel T-47d*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. *Skripsi*.
- WHO, W. H. 2013. *WHO Guidance Note: Comprehensive Colorectal Cancer Prevention and Control*. Geneva: WHO Press.

- Wibisana, A. 2010. Difusi Teknologi Ekstraksi Kinin Dan Sitokinin Dari Produk Samping Industry Kina Dan Sintesis Turunannya. *Tugas Akhir*. Jakarta : Balai pengkajian Bioteknologi.
- Widiyanti, p. B., dan Hikmawanti, N. P. 2016. Cytotoxicity of *Justica gendarusa* Burm F. Laef Extraction on Molt-4 Cell. *Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease*. 6(1).
- Wink, M. 2008. *Ecological Roles of Alkaloids Modern Alkaloids, Structure, Isolation Synthesis and Biology*. Jerman: Wiley-VCH Verlag GmbH dan Co. KgaA,
- Wu, L.S., X.J. Wang, H. Wang, H. W. Yang, A. Q. Jia, 2010. Cytotoxic polyphenols against breast tumor cell in *Smilax* China L.J. *Etnopharmacol.*, 130 : 460-464.
- Wyllie, A. 2010. *Apoptosis Cell Death, And Cell Proliferation 3rd*. Roche Applied Science.
- Xu, Li. Chao Liu, Wei Xiang, Hu Chen, Xiaoli Qin and Xianzhi Huang. 2014. Advances In The Study Of Oxyresveratrol. *International Journal of Pharmacology* 10(1) : 44-54.
- Yaffe, Paul B., Melanie R., Power Coombs, Carolyn D., Doucette, Mark Walsh dan David W. Hoskin. 2014. Piperine, An Alkaloid From Black Pepper, Inhibits Growth Of Human Colon Cancer Cells Via G1 Arrest And Apoptosis Triggered By Endoplasmic Reticulum Stress. *Molecular Carcinogenesis*. 54 (10), 1070-85.
- Yusni, M. A. 2008. *Perbedaan Pengaruh Pemberian Fraksi Etanolik Bawang Dayak (Eleutherine Palmifolia L.Merr) Dengan 5-Fluorouracil Terhadap Penghambatan Pertumbuhan Galur Sel Karsinoma Kolon HT29 Dan Ekspresi Gen p53 Mutan*. Tesis Diterbitkan. Surakarta: Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Zhou, T., Xu, D.-P., Lin, S.-J., Li, Y., Zheng, J., Zhou, Y., et al. 2017. Ultrasound-Assisted Extraction and Identification of Natural Antioxidants from the Fruit of *Melastoma sanguineum* Sims. *Molecules* ,22(2).

LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alir Penelitian

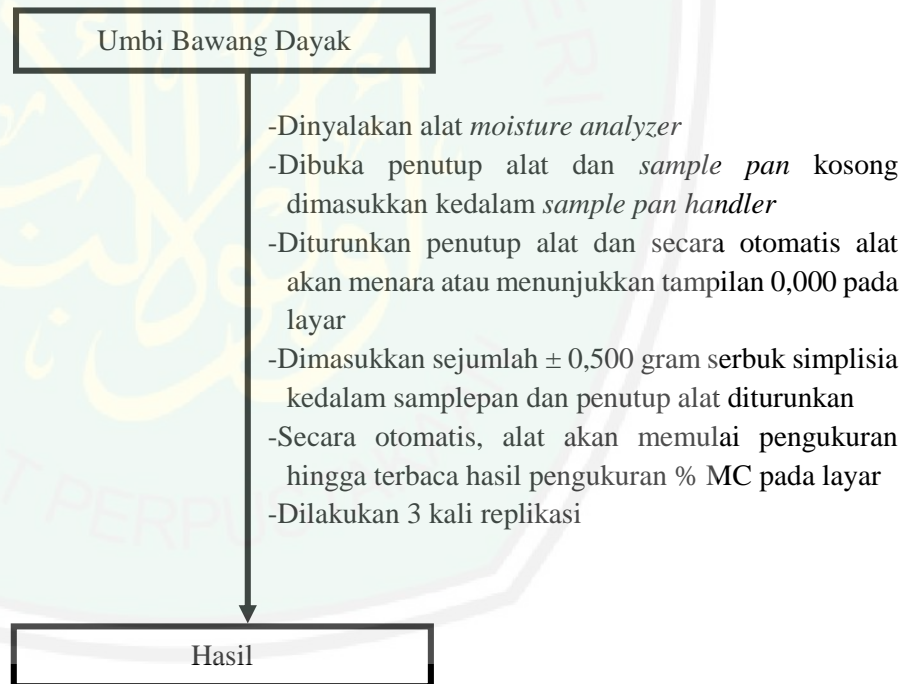


Lampiran 2 Skema Kerja

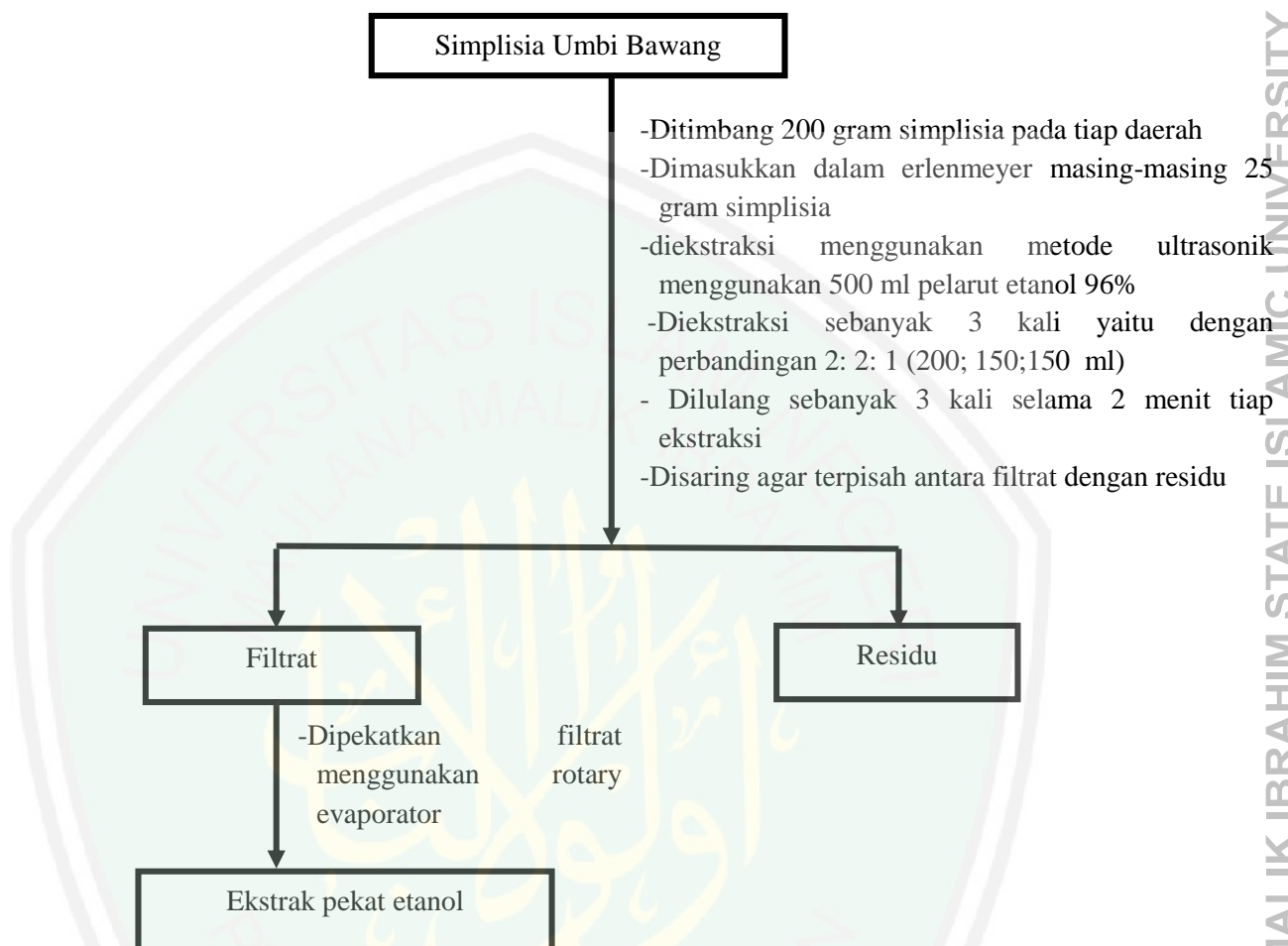
L.2.1 Preparasi Sampel



L.2.2 Analisa Kadar Air

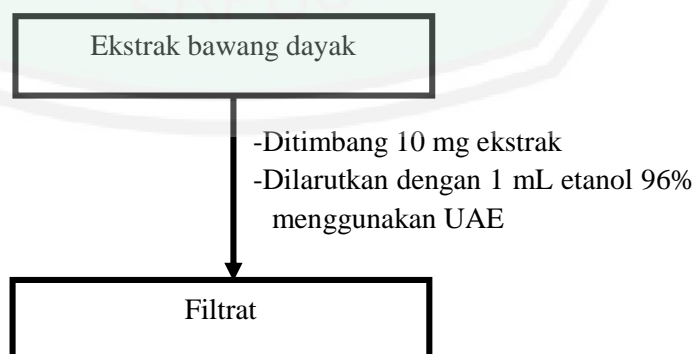


L.2.3 Ekstraksi Komponen Umbi Bawang Dayak

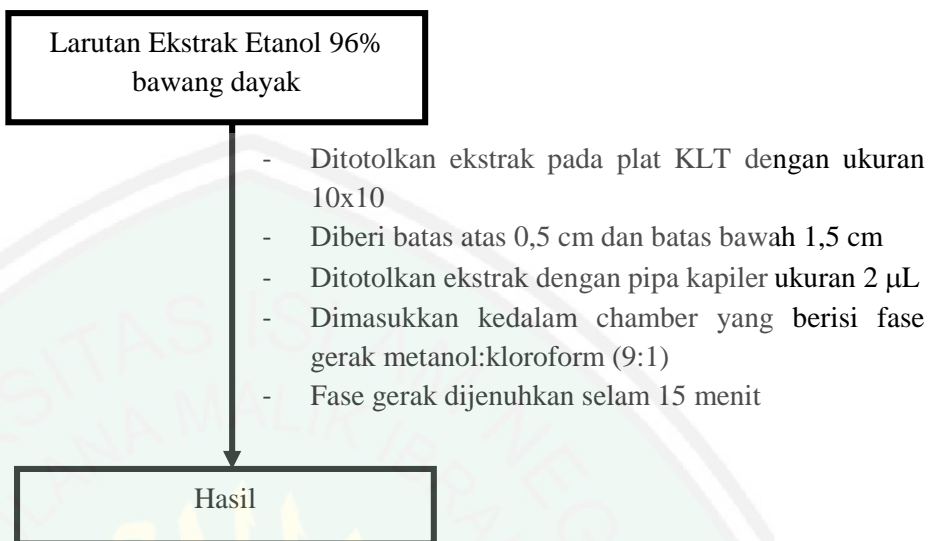


L.2.4 Identifikasi Senyawa Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

L.2.4.1 Preparasi Sampel



L2.4.2 Uji Kromatografi Lapis Tipis KLT

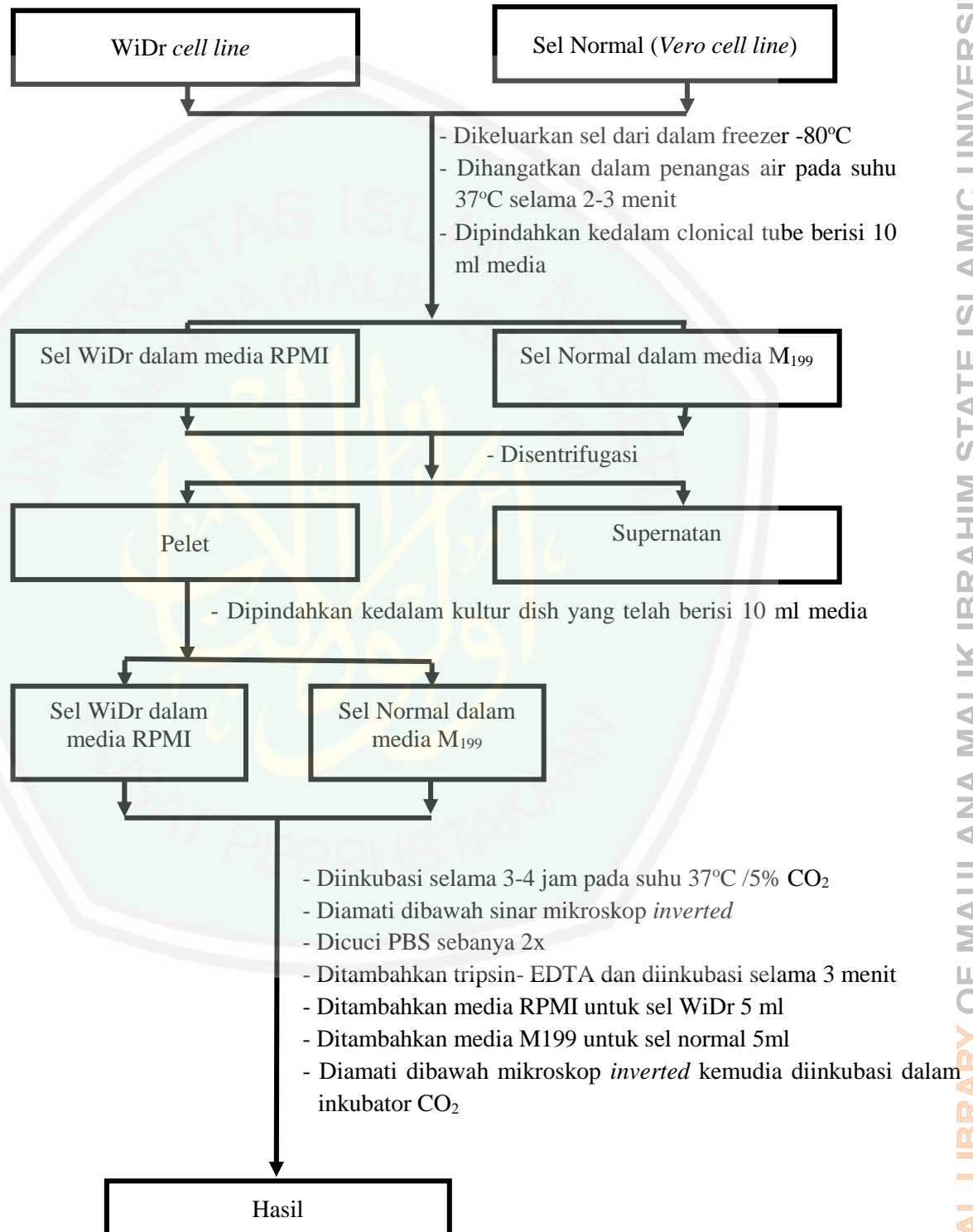


L.2.4.3 Visualizer

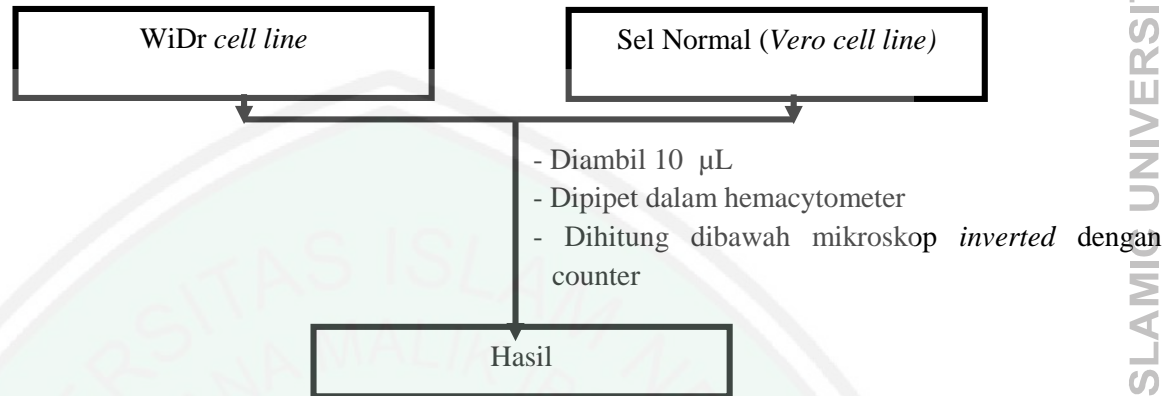


L.2.5 Uji Aktivitas dan Toksisitas dengan metode MTT

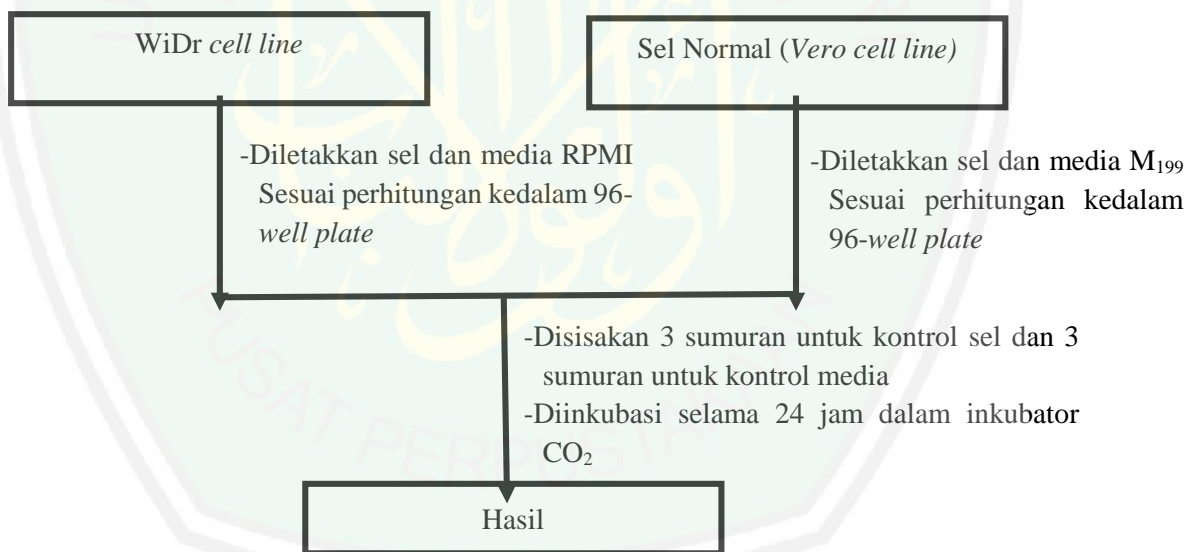
L.2.5.1 Penyiapan Sel



L.2.5.2 Perhitungan Sel Kanker dan Sel normal

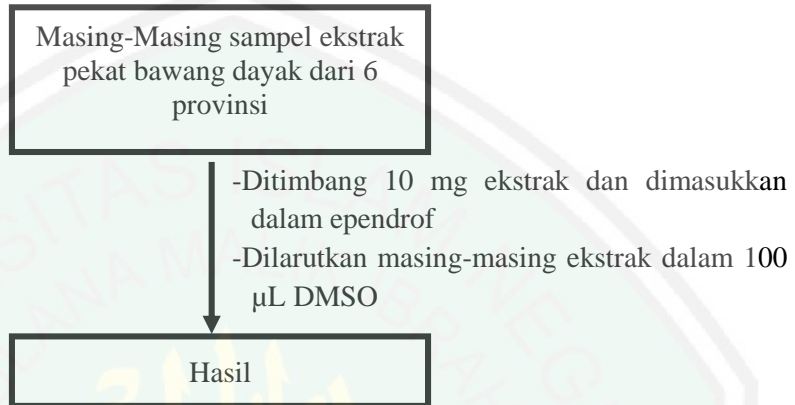


L.2.5.3 Peletakan Sel Pada Plate 96 well



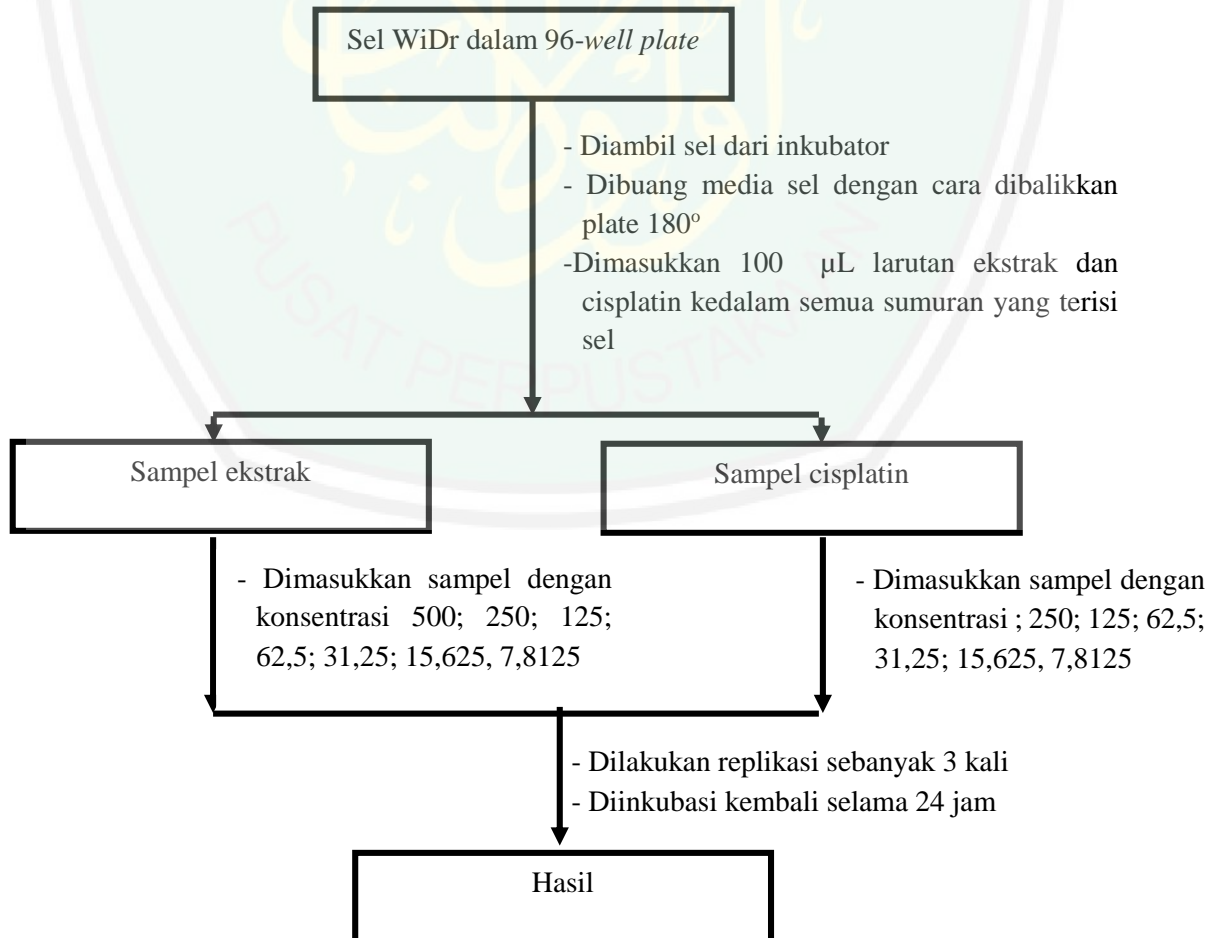
L.2.5.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada Plate

L.2.5.4.1 Pembuatan Larutan Sampel

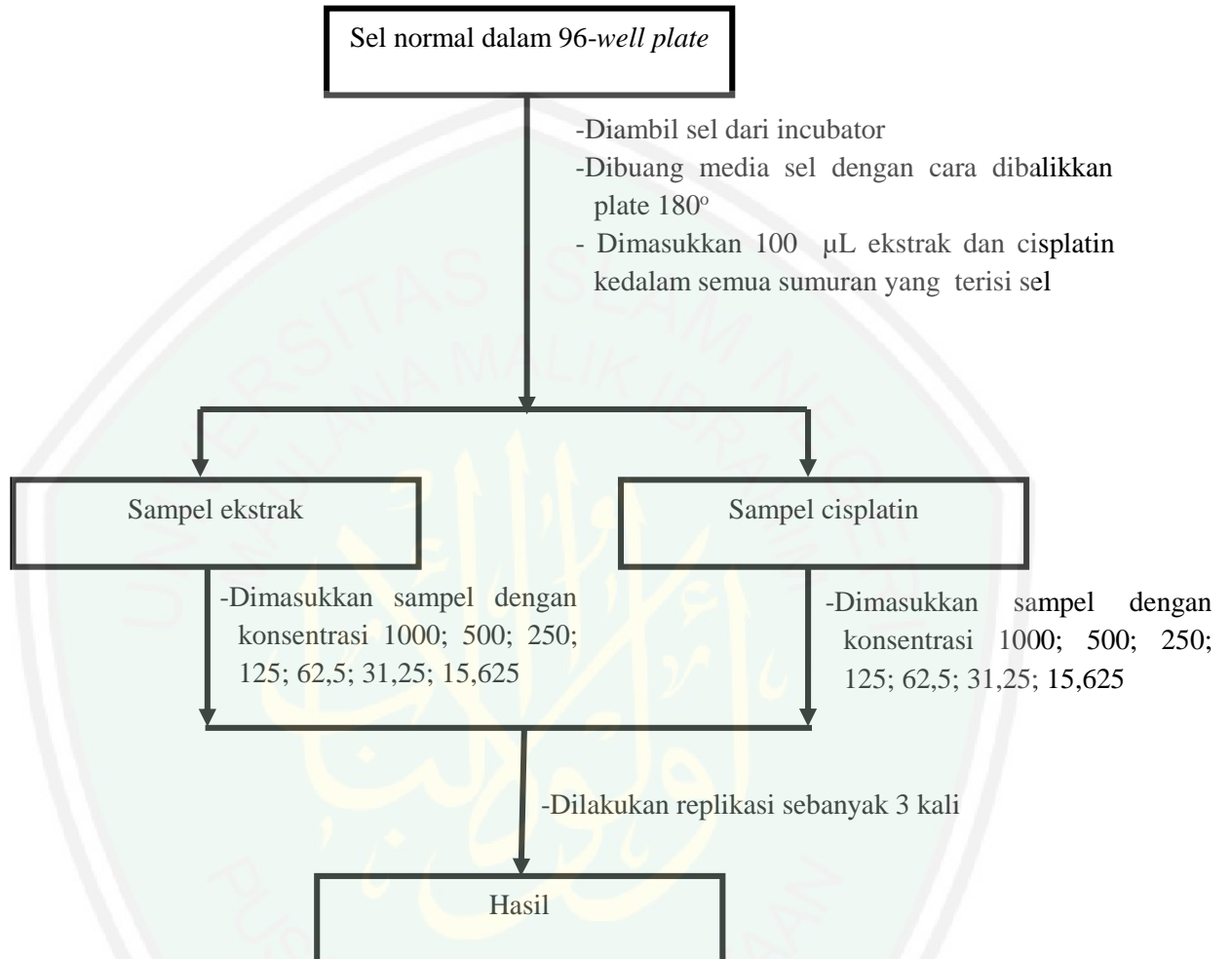


L.2.5.4.2 Pemberian Larutan Sampel pada *plate*

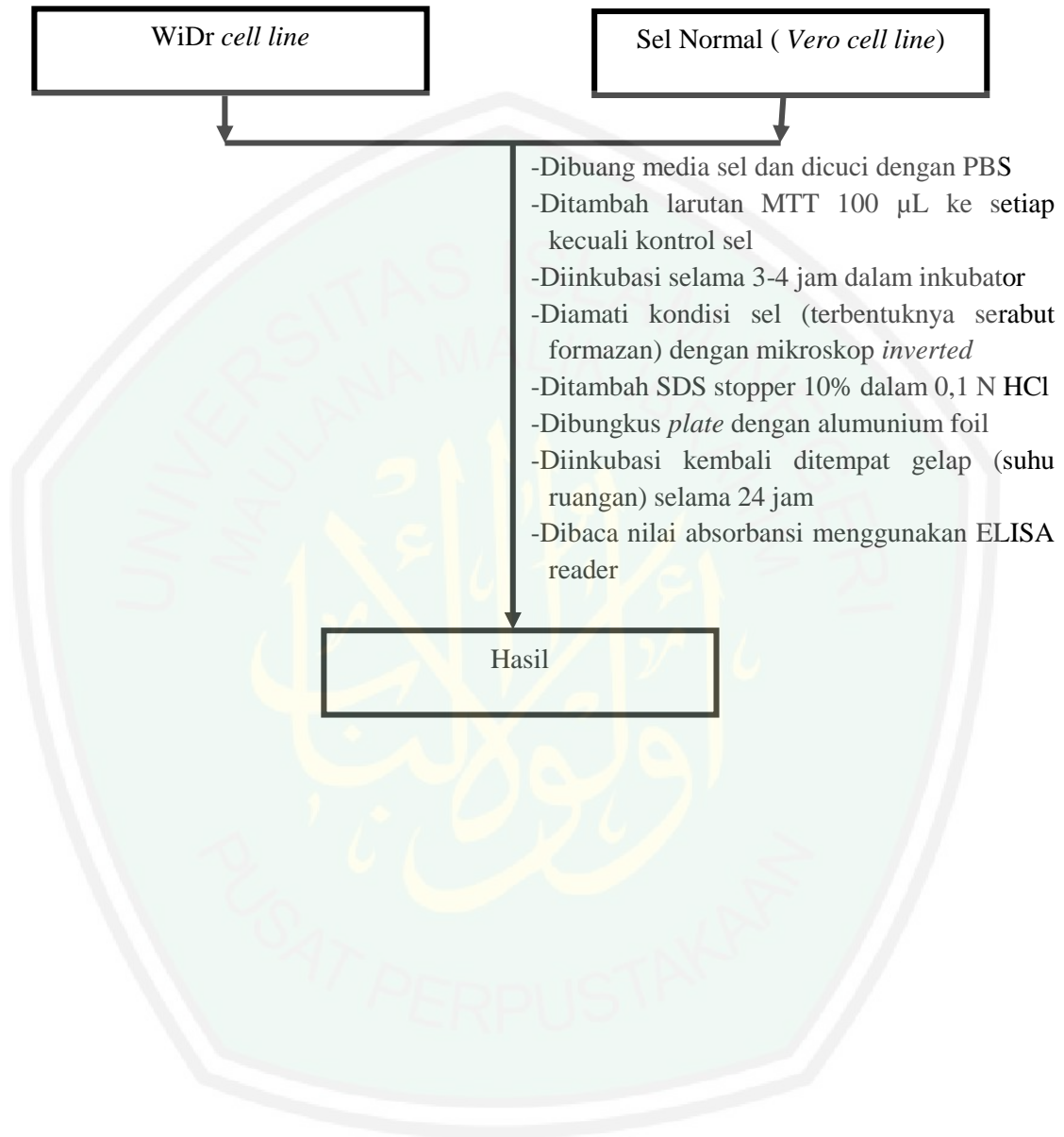
1. Pemberian Larutan Sampel pada Sel WiDr



2. Pemberian Larutan Sampel pada Sel Normal



L.2.5.5 Pemberian Larutan MTT



Lampiran 3. Prosedur Pengambilan Sampel Bawang Dayak

1. Jawa Timur

Uraian	Petunjuk
1. Identitas Sampel	Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.))
2. Lokasi Sampling	Desa Srengat, Kecamatan Srengat, Kabupaten Blitar, Jawa Timur
3. Waktu Sampling	
Bulan	Februari 2018
Musim	Hujan
Pukul	08.00-15-00 WIB
4. Pengiriman	
Kondisi	Segar, baru dipanen
Packing	Rapi dan kedap air
Pengiriman	Kurir jasa pengiriman barang jenis ekspres
Pelabelan	Bawang Dayak Jawa Timur

2. Jawa Tengah

Uraian	Petunjuk
1. Identitas Sampel	Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.))
2. Lokasi Sampling	Kelurahan Kalisoro, Kecamatan Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah
3. Waktu Sampling	
Bulan	Januari 2018
Musim	Hujan
Pukul	08.00-15-00 WIB
4. Pengiriman	
Kondisi	Segar, baru dipanen
Packing	Rapi dan kedap air
Pengiriman	Kurir jasa pengiriman barang jenis ekspres
Pelabelan	Bawang Dayak Jawa Tengah

3. Jawa Barat

Uraian	Petunjuk
1. Identitas Sampel	Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.))
2. Lokasi Sampling	Desa Sukaharja, Kecamatan Cijeruk, Kabupaten Bogor, Jawa Barat
3. Waktu Sampling	
Bulan	Januari 2018
Musim	Hujan
Pukul	08.00-15-00 WIB
4. Pengiriman	
Kondisi	Segar, baru dipanen
Packing	Rapi dan kedap air
Pengiriman	Kurir jasa pengiriman barang jenis ekspres
Pelabelan	Bawang Dayak Jawa Barat

4. Kalimantan Timur

Uraian	Petunjuk
1. Identitas Sampel	Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.))
2. Lokasi Sampling	Kelurahan Karang Rejo, Kecamatan Balikpapan Tengah, Kota Balikpapan, Kalimantan Timur
3. Waktu Sampling	
Bulan	Januari 2018
Musim	Hujan
Pukul	08.00-15-00 WIB
4. Pengiriman	
Kondisi	Segar, baru dipanen
Packing	Rapi dan kedap air
Pengiriman	Kurir jasa pengiriman barang jenis ekspres
Pelabelan	Bawang Dayak Kalimantan Timur

5. Kalimantan Tengah

Uraian	Petunjuk
1. Identitas Sampel	Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.))
2. Lokasi Sampling	Kelurahan Baru, Kecamatan Arut Selatan, Kabupaten Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah
3. Waktu Sampling	
Bulan	Februari 2018
Musim	Hujan
Pukul	08.00-15-00 WIB
4. Pengiriman	
Kondisi	Segar, baru dipanen
Packing	Rapi dan kedap air
Pengiriman	Kurir jasa pengiriman barang jenis ekspres
Pelabelan	Bawang Dayak Kalimantan Tengah

6. Kalimantan Selatan

Uraian	Petunjuk
1. Identitas Sampel	Bawang Dayak (<i>Eleutherine palmifolia</i> (L.))
2. Lokasi Sampling	Kecamatan Banjarbaru, Kota Banjarmasin, Kalimantan Selatan
3. Waktu Sampling	
Bulan	Februari 2018
Musim	Hujan
Pukul	08.00-15-00 WIB
4. Pengiriman	
Kondisi	Segar, baru dipanen
Packing	Rapi dan kedap air
Pengiriman	Kurir jasa pengiriman barang jenis ekspres
Pelabelan	Bawang Dayak Kalimantan Selatan

Lampiran 4 Perhitungan Kadar Air Serbuk Umbi Bawang Dayak

NO	Lokasi	Ulangan 1 (%)	Ulangan 2 (%)	Ulangan 3 (%)	Rata-rata
1	Jawa Timur	7,94	8,22	8,66	8,27
2	Jawa Tengah	7,37	7,78	8,15	7,76
3	Jawa Barat	9,22	7,68	7,89	8,26
4	Kalimantan Timur	8,27	9,77	8,63	8,89
5	Kalimantan Tengah	9,18	8,66	8,48	8,34
6	Kalimantan Selatan	9,04	7,89	8,10	8,77

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{ulangan 1} + \text{ulangan 2} + \text{ulangan 3}}{3} \times 100\%$$

1. Jawa Timur

$$\text{Kadar air} = \frac{7,94 + 8,22 + 8,66}{3} \times 100\% = 8,27\%$$

2. Jawa Tengah

$$\text{Kadar air} = \frac{7,37 + 7,78 + 8,15}{3} \times 100\% = 7,76\%$$

3. Jawa Barat

$$\text{Kadar air} = \frac{9,22 + 7,68 + 7,89}{3} \times 100\% = 8,26\%$$

4. Kalimantan Timur

$$\text{Kadar air} = \frac{8,27 + 9,77 + 8,63}{3} \times 100\% = 8,89\%$$

5. Kalimantan Barat

$$\text{Kadar air} = \frac{9,18 + 8,66 + 8,48}{3} \times 100\% = 8,34\%$$

6. Kalimantan Selatan

$$\text{Kadar air} = \frac{9,04 + 7,89 + 8,10}{3} \times 100\% = 8,77\%$$

Lampiran 5 Perhitungan Rendemen Hasil Ekstraksi Ultrasonik

1. Ekstrak etanol 96% bawang dayak dari Blitar, Jawa Timur

Serbuk + Pelarut	Warna Filtrat	Warna Ekstrak	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%) (b/b)
200,0245 g + 500 mL	Merah marun	Merah tua pekat	8,1034	4,0512%

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{8,1034 \text{ g}}{200,0245 \text{ g}} \times 100\% = 4,0512\%$$

2. Ekstrak etanol 96% bawang dayak dari Karanganyar, Jawa Tengah

Serbuk + Pelarut	Warna Filtrat	Warna Ekstrak	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%) (b/b)
200,1022 g + 500 mL	Merah marun	Merah tua pekat	10,0483	5,0215%

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{10,0483 \text{ g}}{200,1022 \text{ g}} \times 100\% = 5,0215\%$$

3. Ekstrak etanol 96% bawang dayak dari Bogor, Jawa Barat

Serbuk + Pelarut	Warna Filtrat	Warna Ekstrak	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%) (b/b)
200,0093 g + 500 mL	Merah marun	Merah tua pekat	9,3039	4,6517%

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{9,3039 \text{ g}}{200,0093 \text{ g}} \times 100\% = 4,6517\%$$

4. Ekstrak etanol 96% bawang dayak dari Balikpapan, Kalimantan Timur

Serbuk + Pelarut	Warna Filtrat	Warna Ekstrak	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%) (b/b)
200,3127 g + 500 mL	Merah marun	Merah tua pekat	12,3269	6,1538%

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{12,3269 \text{ g}}{200,3127 \text{ g}} \times 100\% = 6,1538\%$$

5. Ekstrak etanol 96% bawang dayak dari Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah

Serbuk + Pelarut	Warna Filtrat	Warna Ekstrak	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%) (b/b)
200,0391 g + 500 mL	Merah marun	Merah tua pekat	16,0893	8,0430%

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{16,0893g}{200,0391g} \times 100\% = 8,0430\%$$

6. Ekstrak etanol 96% bawang dayak dari Banjarmasin, Kalimantan Selatan

Serbuk + Pelarut	Warna Filtrat	Warna Ekstrak	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%) (b/b)
200,2753 g + 500 mL	Merah marun	Merah tua pekat	10,0772	5,0386%

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{10,0772g}{200,2753g} \times 100\% = 5,0386\%$$

Lampiran 6 Perhitungan Pembuatan Larutan Stok

L.6.1 Pembuatan Larutan Stok 500 $\mu\text{L}/\text{mg}$ Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.)

Berat ekstrak = 10 mg

Volume pelarut = 100 μL (DMSO)

$$M = \frac{10 \text{ mg}}{100 \mu\text{l}} = \frac{10000 \mu\text{g}}{100 \mu\text{l}}$$

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

$$V_1 \times 100.000 \mu \frac{\text{g}}{\text{mL}} = 1000 \mu\text{L} \times 500$$

$$V_1 = 5 \mu\text{l}$$

- Jadi larutan stok 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dibuat dengan mengambil 5 μl ekstrak yang telah dilarutkan dengan 100 μl DMSO menggunakan mikropipet, kemudian ditambahkan 995 μl media kultur RPMI dan diresuspensi hingga homogen.

L.6.2 Pembuatan Larutan Stok 200 μM kontrol positif cisplatin

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

$$V_1 \times 3333 \mu\text{M} = 1000 \mu\text{L} \times 200 \mu\text{g}/\text{mL}$$

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

- Jadi larutan stok 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dibuat dengan mengambil 60 μl kontrol positif cisplatin, kemudian ditambahkan 940 μl media kultur RPMI dan diresuspensi hingga homogen.

L.6.3 Pembuatan Larutan Stok 1000 $\mu\text{L}/\text{mg}$ Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.)

Berat ekstrak = 10 mg

Volume pelarut = 100 μL (DMSO)

$$M = \frac{10 \text{ mg}}{100 \mu\text{l}} = \frac{10000 \mu\text{g}}{100 \mu\text{l}}$$

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

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

$$V_1 = 10 \mu\text{l}$$

- Jadi larutan stok 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dibuat dengan mengambil 10 μl ekstrak yang telah dilarutkan dengan 100 μl DMSO menggunakan mikropipet,

kemudian ditambahkan 990 μl media kultur M199 dan diresuspensi hingga homogen.

L.6.4 Pembuatan Larutan Stok 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ kontrol positif cisplatin

➤ **Ketetapan dosis Cisplatin**

$$\begin{aligned} \text{BM} &= 300,01 \text{ g/mol} \\ &= 1 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

$$M = \frac{10^{-3}}{300,01} = \frac{10000}{V}$$

$$\begin{aligned} &= 3,333 \text{ mM} \\ &= 3333 \text{ } \mu\text{M} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 3333 \text{ } \mu\text{g}/\text{mL} &= 1000 \text{ } \mu\text{L} \times 1000 \text{ } \mu\text{g}/\text{mL} \\ V_1 &= 300,03 \text{ } \mu\text{l} \end{aligned}$$

- Jadi larutan stok 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dibuat dengan mengambil 300 μl kontrol positif cisplatin, kemudian ditambahkan 700 μl media kultur M199 dan diresuspensi hingga homogen.

Lampiran 7 Perhitungann data Hasil Uji Aktivitas dan Uji Toksisitas antikanker Ekstrak Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L.)

L.7.1 Perhitungan Konsentrasi Sel

L.7.1.1 Perhitungan Konsentrasi Sel WiDr

Kamar A = 180

Kamar B = 154

Kamar C = 171

Kamar D = 192

- ❖ Jumlah sel yang dihitung (mL-1)

$$\begin{aligned}\sum \text{ sel yang dihitung} &= \frac{\sum \text{ sel kamar A} + \sum \text{ sel kamar B} + \sum \text{ sel kamar C} + \sum \text{ sel kamar D}}{4} \times 10^4 \\ &= \frac{180 + 154 + 171 + 192}{4} \times 10^4 \\ &= 174,25 \times 10^4\end{aligned}$$

- ❖ Jumlah mL panen sel yang ditransfer (konsentrasi Sel)

$$\begin{aligned}\sum \text{ panen sel yang ditransfer} &= \frac{\sum \text{ total sel yang diperlukan}}{\sum \text{ sel terhitung/mL}} \\ &= \frac{100 \times 10^4}{174,25 \times 10^4 / \text{mL}} \\ &= 0,5738 \text{ mL (diambil 0,6 mL)} \\ &= 600 \mu\text{L}\end{aligned}$$

- Volume panen sel yang ditransfer sebanyak 600 μL , ditambahkan hingga 10 mL media kultur RPMI (MK) karena setiap sumuran akan diisi 100 μL berisi sel, sehingga total volume yang diperlukan untuk memanen sel = 100 μL x 100 sumuran = 10000 μL atau 10 mL

L.7.1.2 Perhitungan Konsentrasi Sel Normal

Kamar A = 30

Kamar B = 39

Kamar C = 33

Kamar D = 27

- ❖ Jumlah sel yang dihitung (mL⁻¹)

$$\begin{aligned}\sum \text{ sel yang dihitung} &= \frac{\sum \text{ sel kamar A} + \sum \text{ sel kamar B} + \sum \text{ sel kamar C} + \sum \text{ sel kamar D}}{4} \times 10^4 \\ &= \frac{30 + 39 + 33 + 27}{4} \times 10 \\ &= 32,25 \times 10^4\end{aligned}$$

- ❖ Jumlah mL panen sel yang ditransfer (konsentrasi Sel)

$$\begin{aligned}\sum \text{ panen sel yang ditransfer} &= \frac{\sum \text{ total sel yang diperlukan}}{\sum \text{ sel terhitung/mL}} \\ &= \frac{100 \times 10^4}{32,35 \times 10^4 / m} \\ &= 3,100 \text{ mL (diambil 3,1 mL)} \\ &= 3.100 \mu\text{L}\end{aligned}$$

- Volume panen sel yang ditransfer sebanyak 3.100 μL , ditambahkan hingga 10 mL media kultur RPMI (MK) karena setiap sumuran akan diisi 100 μL berisi sel, sehingga total volume yang diperlukan untuk memanen sel = 100 μL x 100 sumuran = 10000 μL atau 10 mL

L.7.2 Perhitungan Nilai % viabilitas Sel Hidup

L.7.2.1 Perhitungan IC₅₀

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

	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata- rata
Kontrol				
Media	0,071	0,083	0,084	0,079333
KontrolSel	0,381	0,381	0,387	0,383

1. Kalimantan Timur

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata	SD (simpang deviasi)
	1	2	3	1	2	3		
125	0,255	0,276	0,271	57,84852	64,764	63,11745	61,90999	3,6124
62,5	0,356	0,364	0,368	91,10867	93,74314	95,06037	93,30406	2,012108
31,25	0,372	0,37	0,38	96,37761	95,71899	99,01207	97,03622	1,742537
15,625	0,4	0,386	0,391	105,5982	100,9879	102,6345	103,0735	2,336311
7,625	0,388	0,37	0,371	101,6465	95,71899	96,0483	97,80461	3,331282

1. Konsentrasi 125 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,255 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 57,84852\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,276 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 64,764\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,271 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 63,11745\%$$

2. Konsentrasi 62,5 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,356 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 91,74314\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,364 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 93,74314\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,368 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 95,06037\%$$

3. Konsentrasi 31,25 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,372 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 96,37761\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,37 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 95,71899\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,38 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 99,01207\%$$

4. Konsentrasi 15,625 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,4 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 105,5982\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,386 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 100,9879\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,391 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 102,6345\%$$

5. Konsentrasi 7,625 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,388 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 101,6465\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,37 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 95,71899\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,371 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 97,80461\%$$

Ulangan 1

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	378,653	308,243	501,290
,020	348,227	284,256	459,532
,030	328,923	269,028	433,047
,040	314,402	257,566	413,129
,050	302,590	248,238	396,932
,060	292,536	240,295	383,149
,070	283,720	233,327	371,068
,080	275,827	227,086	360,253
,090	268,649	221,407	350,420
,100	262,041	216,177	341,371
,150	234,683	194,496	303,934
,200	212,939	177,220	274,225
,250	194,285	162,354	248,782
,300	177,533	148,954	225,983
,350	162,010	136,476	204,918
,400	147,280	124,559	185,005
,450	133,029	112,925	165,843
,500*	119,004	101,327	147,134
,550	104,978	89,500	128,654
,600	90,727	77,106	110,253
,650	75,997	63,638	91,892
,700	60,474	48,296	73,690
,750	43,723	29,977	55,810
,800	25,069	7,557	37,921
,850	3,325	-20,274	18,767
,900	-24,033	-56,527	-4,098
,910	-30,641	-65,392	-9,511
,920	-37,819	-75,054	-15,362
,930	-45,713	-85,708	-21,764
,940	-54,528	-97,638	-28,883
,950	-64,582	-111,276	-36,971
,960	-76,394	-127,333	-46,438
,970	-90,916	-147,112	-58,039
,980	-110,220	-173,455	-73,409
,990	-140,645	-215,054	-97,556

Ulangan 2

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	503,671	380,079	773,964
,020	461,362	349,202	706,463
,030	434,518	329,603	663,645
,040	414,325	314,853	631,441
,050	397,899	302,851	605,250
,060	383,918	292,631	582,962
,070	371,659	283,667	563,422
,080	360,683	275,639	545,929
,090	350,701	268,334	530,022
,100	341,512	261,608	515,383
,150	303,468	233,731	454,800
,200	273,232	211,530	406,696
,250	247,292	192,437	365,474
,300	223,997	175,238	328,508
,350	202,411	159,235	294,319
,400	181,928	143,966	261,961
,450	162,111	129,074	230,773
,500*	142,607	114,240	200,258
,550	123,104	99,110	170,038
,600	103,286	83,190	139,878
,650	82,803	65,588	109,853
,700	61,217	44,428	80,821
,750	37,922	16,636	54,448
,800	11,982	-19,679	30,448
,850	-18,254	-65,332	5,797
,900	-56,297	-124,564	-23,431
,910	-65,486	-139,004	-30,356
,920	-75,469	-154,727	-37,844
,930	-86,445	-172,050	-46,042
,940	-98,703	-191,432	-55,165
,950	-112,684	-213,570	-65,535
,960	-129,110	-239,617	-77,681
,970	-149,304	-271,680	-92,572
,980	-176,147	-314,353	-112,316
,990	-218,456	-381,693	-143,353

Ulangan 3

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	466,347	360,323	681,531
,020	427,881	331,568	623,194
,030	403,476	313,315	586,190
,040	385,117	299,578	558,359
,050	370,183	288,399	535,726
,060	357,472	278,881	516,465
,070	346,327	270,532	499,579
,080	336,348	263,054	484,463
,090	327,273	256,251	470,718
,100	318,919	249,986	458,069
,150	284,331	224,019	405,723
,200	256,842	203,338	364,164
,250	233,258	185,551	328,555
,300	212,080	169,527	296,627
,350	192,454	154,617	267,102
,400	173,832	140,391	239,164
,450	155,815	126,519	212,242
,500*	138,083	112,708	185,906
,550	120,351	98,641	159,825
,600	102,334	83,895	133,778
,650	83,712	67,760	107,749
,700	64,086	48,872	82,202
,750	42,908	24,971	58,151
,800	19,324	-5,881	35,607
,850	-8,165	-44,910	12,396
,900	-42,753	-95,831	-14,996
,910	-51,107	-108,270	-21,472
,920	-60,182	-121,821	-28,469
,930	-70,161	-136,757	-36,127
,940	-81,306	-153,474	-44,644
,950	-94,017	-172,576	-54,321
,960	-108,951	-195,057	-65,652
,970	-127,310	-222,738	-79,539
,980	-151,715	-259,590	-97,945
,990	-190,181	-317,757	-126,869

Hasil nilai IC ₅₀		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
119,004	142,607	138,083
Hasil	133,231± 12,52715	

Keterangan

* = Nilai probabilitas

2. Kalimantan Selatan

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata	SD (simpang deviasi)
	1	2	3	1	2	3		
125	0,389	0,39	0,37	101,9759	102,3052	95,71899	100	3,711118
62,5	0,42	0,413	0,408	112,1844	109,8793	108,2327	110,0988	1,984977
31,25	0,424	0,436	0,445	113,5016	117,4533	120,4171	117,124	3,46948
15,625	0,451	0,425	0,429	122,393	113,831	115,1482	117,124	4,610318
7,625	0,43	0,435	0,427	115,4775	117,124	114,4896	115,697	1,330884

1. Konsentrasi 125 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,389 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 101,9759\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,39 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 102,3052\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,37 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 95,71899\%$$

2. Konsentrasi Konsentrasi 62,5 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,42 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 112,1844\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,413 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 109,8793\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,408 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 108,2327\%$$

3. Konsentrasi 31,25 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,424 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 113,5016\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,436 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 117,4533\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,445 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 120,4171$$

4. Konsentrasi 15,625 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,451 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 122,393$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,425 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 113,831\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,391 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 115,1482\%$$

5. Konsentrasi 7,625 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,43 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 115,4775\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,435 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 117,124\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,427 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 114,4896\%$$

Ulangan 1

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	660,225	458,865	1264,824
,020	614,913	428,613	1174,013
,030	586,163	409,413	1116,402
,040	564,536	394,966	1073,068
,050	546,944	383,211	1037,822
,060	531,971	373,204	1007,824
,070	518,842	364,428	981,523
,080	507,087	356,568	957,976
,090	496,396	349,418	936,562
,100	486,555	342,836	916,852
,150	445,810	315,568	835,261
,200	413,428	293,875	770,436
,250	385,647	275,245	714,842
,300	360,698	258,495	664,936
,350	337,580	242,952	618,713
,400	315,643	228,180	574,875
,450	294,418	213,859	532,489
,500*	273,530	199,730	490,811
,550	252,642	185,556	449,178
,600	231,418	171,091	406,937
,650	209,481	156,045	363,372
,700	186,362	140,036	317,614
,750	161,414	122,475	268,521
,800	133,633	102,271	214,500
,850	101,250	76,685	153,568
,900	60,506	34,013	87,382
,910	50,665	20,156	74,946
,920	39,974	3,424	63,114
,930	28,218	-16,541	51,673
,940	15,090	-40,151	40,205
,950	0,116	-68,115	28,165
,960	-17,476	-101,791	14,839
,970	-39,103	-143,871	-0,863
,980	-67,852	-200,431	-21,113
,990	-113,164	-290,283	-52,325

Ulangan 2

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	587,518	418,787	1057,721
,020	549,949	393,211	986,470
,030	526,114	376,977	941,269
,040	508,183	364,762	907,271
,050	493,598	354,822	879,618
,060	481,183	346,360	856,084
,070	470,298	338,939	835,451
,080	460,552	332,293	816,978
,090	451,688	326,247	800,179
,100	443,529	320,680	784,716
,150	409,748	297,618	720,712
,200	382,900	279,270	669,863
,250	359,867	263,510	626,257
,300	339,182	249,340	587,116
,350	320,015	236,190	550,864
,400	301,827	223,692	516,485
,450	284,230	211,577	483,247
,500*	266,912	199,625	450,564
,550	249,594	187,637	417,917
,600	231,997	175,408	384,792
,650	213,809	162,701	350,622
,700	194,642	149,206	314,715
,750	173,957	134,468	276,142
,800	150,924	117,706	233,539
,850	124,076	97,281	184,767
,900	90,295	68,124	126,858
,910	82,136	59,849	114,103
,920	73,272	49,970	101,137
,930	63,526	37,843	88,144
,940	52,641	22,669	75,264
,950	40,227	3,533	62,404
,960	25,641	-20,734	49,079
,970	7,711	-52,156	34,287
,980	-16,125	-95,347	16,045
,990	-53,693	-164,910	-11,220

Ulangan 3

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	659,204	441,091	1488,563
,020	616,091	413,803	1384,831
,030	588,737	396,482	1319,023
,040	568,160	383,449	1269,523
,050	551,422	372,843	1229,262
,060	537,175	363,814	1194,995
,070	524,683	355,896	1164,952
,080	513,499	348,804	1138,054
,090	503,327	342,352	1113,593
,100	493,963	336,413	1091,078
,150	455,196	311,804	997,874
,200	424,386	292,223	923,822
,250	397,953	275,404	860,312
,300	374,215	260,279	803,299
,350	352,219	246,242	750,490
,400	331,347	232,898	700,403
,450	311,152	219,960	651,971
,500*	291,278	207,192	604,341
,550	271,404	194,381	556,756
,600	251,210	181,304	508,463
,650	230,337	167,702	458,634
,700	208,341	153,233	406,257
,750	184,604	137,378	349,973
,800	158,171	119,218	287,805
,850	127,360	96,616	216,773
,900	88,593	61,187	134,391
,910	79,230	49,690	117,433
,920	69,058	35,013	101,196
,930	57,873	16,093	86,127
,940	45,381	-7,947	72,205
,950	31,135	-37,893	58,856
,960	14,397	-75,050	45,146
,970	-6,181	-122,254	29,816
,980	-33,535	-186,273	10,707
,990	-76,648	-288,479	-18,108

Hasil nilai IC ₅₀		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
273,53	302,192	233,666
Hasil	269,796 ± 34,41526	

Keterangan

* = Nilai probabilitas

3. Kalimantan Tengah

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata	SD (simpang deviasi)
	1	2	3	1	2	3		
125	0,219	0,249	0,232	45,99341	55,87267	50,27442	50,7135	4,954241
62,5	0,298	0,361	0,352	72,00878	92,75521	89,79144	84,85181	11,22068
31,25	0,402	0,372	0,378	106,2569	96,37761	98,35346	100,3293	5,22761
15,625	0,355	0,377	0,382	90,77936	98,02415	99,67069	96,15807	4,730288
7,8125	0,382	0,403	0,424	99,67069	106,5862	113,5016	106,5862	6,915477

1. Konsentrasi 125 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,219 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 45,99341\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,249 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 55,87267\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,232 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 50,27442\%$$

2. Konsentrasi 62,5 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,298 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 72,00878\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,361 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 92,75521\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,352 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 89,79144\%$$

3. Konsentrasi 31,25 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,402 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 106,2569\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,372 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 96,37761\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,378 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 98,35346\%$$

4. Konsentrasi 15,625 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,355 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 90,77936\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,377 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 98,02415\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,382 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 99,67069\%$$

5. Konsentrasi 7,625 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,382 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 99,67069\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,403 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 106,5862\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,424 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 113,5016\%$$

Ulangan 1

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	316,924	198,939	1205,742
,020	290,582	183,756	1091,615
,030	273,868	174,087	1019,242
,040	261,296	166,789	964,822
,050	251,069	160,836	920,573
,060	242,364	155,754	882,925
,070	234,732	151,285	849,928
,080	227,898	147,273	820,394
,090	221,683	143,613	793,544
,100	215,962	140,235	768,839
,150	192,275	126,126	666,675
,200	173,449	114,716	585,673
,250	157,299	104,718	516,392
,300	142,795	95,489	454,424
,350	129,356	86,618	397,322
,400	116,603	77,760	343,578
,450	104,264	68,533	292,236
,500*	92,121	58,386	242,774
,550	79,978	46,335	195,217
,600	67,639	30,377	150,607
,650	54,886	6,619	111,762
,700	41,446	-29,694	82,101
,750	26,942	-79,827	61,038
,800	10,792	-142,697	44,628
,850	-8,033	-220,005	29,525
,900	-31,720	-319,837	13,083
,910	-37,441	-344,173	9,337
,920	-43,656	-370,677	5,332
,930	-50,490	-399,885	0,993
,940	-58,123	-432,573	-3,785
,950	-66,827	-469,923	-9,165
,960	-77,054	-513,881	-15,410
,970	-89,627	-568,012	-22,996
,980	-106,340	-640,085	-32,966
,990	-132,682	-753,870	-48,490

Ulangan 2

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	371,635	303,587	488,989
,020	341,711	279,910	448,176
,030	322,725	264,878	422,291
,040	308,443	253,563	402,825
,050	296,826	244,356	386,995
,060	286,938	236,515	373,525
,070	278,267	229,636	361,718
,080	270,504	223,475	351,149
,090	263,444	217,869	341,539
,100	256,945	212,706	332,696
,150	230,038	191,302	296,111
,200	208,653	174,245	267,080
,250	190,307	159,567	242,219
,300	173,831	146,333	219,945
,350	158,564	134,009	199,366
,400	144,077	122,235	179,918
,450	130,061	110,738	161,208
,500*	116,267	99,269	142,949
,550	102,473	87,564	124,925
,600	88,457	75,284	106,998
,650	73,970	61,922	89,138
,700	58,703	46,696	71,461
,750	42,227	28,570	54,079
,800	23,881	6,506	36,604
,850	2,496	-20,774	17,796
,900	-24,411	-56,242	-4,725
,910	-30,910	-64,910	-10,063
,920	-37,970	-74,357	-15,832
,930	-45,733	-84,773	-22,146
,940	-54,404	-96,435	-29,169
,950	-64,292	-109,767	-37,149
,960	-75,909	-125,462	-46,491
,970	-90,191	-144,795	-57,938
,980	-109,177	-170,543	-73,107
,990	-139,101	-211,202	-96,939

Ulangan 3

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	308,758	262,412	380,592
,020	284,901	242,752	350,140
,030	269,765	230,269	330,829
,040	258,379	220,873	316,309
,050	249,117	213,225	304,502
,060	241,233	206,712	294,456
,070	234,321	200,998	285,650
,080	228,132	195,879	277,769
,090	222,503	191,221	270,604
,100	217,322	186,931	264,011
,150	195,871	169,141	236,741
,200	178,822	154,959	215,111
,250	164,195	142,748	196,599
,300	151,060	131,735	180,022
,350	138,888	121,472	164,718
,400	127,339	111,664	150,266
,450	116,164	102,082	136,376
,500*	105,167	92,526	122,832
,550	94,170	82,788	109,469
,600	82,995	72,621	96,165
,650	71,446	61,693	82,832
,700	59,274	49,547	69,411
,750	46,139	35,580	55,788
,800	31,512	19,038	41,608
,850	14,463	-1,196	26,029
,900	-6,988	-27,486	7,260
,910	-12,169	-33,919	2,810
,920	-17,798	-40,933	-2,000
,930	-23,987	-48,670	-7,262
,940	-30,899	-57,338	-13,114
,950	-38,783	-67,251	-19,759
,960	-48,045	-78,929	-27,537
,970	-59,431	-93,320	-37,063
,980	-74,567	-112,496	-49,680
,990	-98,424	-142,795	-69,493

Hasil nilai IC ₅₀		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
92,121	116,267	105,167
Hasil	104,5183 ± 12,08606	

Keterangan

* = Nilai probabilitas

4. Jawa Timur

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata	SD (simpang deviasi)
	1	2	3	1	2	3		
125	0,196	0,196	0,185	38,41932	37,91946	33,33333	36,55737	2,803263
62,5	0,34	0,339	0,327	85,83974	85,90604	80,19802	83,98127	3,276555
31,25	0,336	0,388	0,359	84,5225	102,349	90,75908	92,54352	9,046222
15,625	0,4	0,366	0,391	105,5982	94,96644	101,3201	100,6283	5,349561
7,8125	0,43	0,426	0,409	115,4775	115,1007	107,2607	112,613	4,639003

1. Konsentrasi 125 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,196 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 38,41932\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,196 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 37,91946\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,185 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 33,33333\%$$

2. Konsentrasi 62,5 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,34 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 85,83974\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,339 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 85,90604\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,327 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 80,19802\%$$

3. Konsentrasi 31,25 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,336 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 84,5225\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,388 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 102,349\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,359 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 90,75908\%$$

4. Konsentrasi 15,625 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,4 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 105,5982\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,366 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 94,96644\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,391 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 101,3201\%$$

5. Konsentrasi 7,625 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,43 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 115,4775\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,426 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 115,1007\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,409 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 107,2607\%$$

Ulangan 1

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	247,891	165,687	696,356
,020	229,704	154,630	636,244
,030	218,164	147,574	598,146
,040	209,483	142,241	569,512
,050	202,422	137,883	546,239
,060	196,412	134,159	526,446
,070	191,143	130,880	509,104
,080	186,424	127,933	493,589
,090	182,133	125,241	479,489
,100	178,183	122,754	466,519
,150	161,829	112,334	412,945
,200	148,831	103,865	370,554
,250	137,680	96,409	334,376
,300	127,666	89,501	302,100
,350	118,387	82,847	272,444
,400	109,582	76,215	244,621
,450	101,063	69,377	218,123
,500*	92,679	62,059	192,634
,550	84,295	53,876	168,010
,600	75,776	44,234	144,317
,650	66,970	32,195	121,901
,700	57,691	16,384	101,402
,750	47,677	-4,831	83,432
,800	36,526	-32,972	67,940
,850	23,529	-69,837	53,944
,900	7,174	-119,600	39,713
,910	3,224	-131,949	36,606
,920	-1,067	-145,464	33,329
,930	-5,785	-160,424	29,827
,940	-11,055	-177,236	26,018
,950	-17,065	-196,518	21,782
,960	-24,126	-219,291	16,925
,970	-32,807	-247,426	11,093
,980	-44,346	-285,006	3,518
,990	-62,534	-344,528	-8,128

Ulangan 2

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	250,262	171,373	601,893
,020	232,080	159,983	551,285
,030	220,544	152,720	519,213
,040	211,866	147,233	495,109
,050	204,807	142,753	475,519
,060	198,798	138,926	458,859
,070	193,530	135,559	444,263
,080	188,813	132,533	431,204
,090	184,524	129,772	419,338
,100	180,575	127,222	408,423
,150	164,226	116,555	363,342
,200	151,232	107,914	327,676
,250	140,084	100,337	297,242
,300	130,073	93,351	270,093
,350	120,797	86,665	245,147
,400	111,994	80,058	221,739
,450	103,478	73,325	199,432
,500*	95,096	66,233	177,944
,550	86,715	58,475	157,123
,600	78,198	49,601	136,956
,650	69,395	38,924	117,618
,700	60,119	25,430	99,481
,750	50,108	7,817	82,958
,800	38,960	-15,335	68,099
,850	25,967	-45,776	54,234
,900	9,617	-87,156	39,866
,910	5,669	-97,461	36,706
,920	1,379	-108,752	33,369
,930	-3,338	-121,263	29,796
,940	-8,606	-135,336	25,905
,950	-14,615	-151,490	21,573
,960	-21,674	-170,585	16,598
,970	-30,352	-194,194	10,616
,980	-41,888	-225,752	2,839
,990	-60,070	-275,775	-9,137

Ulangan 3

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	244,254	214,436	286,732
,020	225,743	198,650	264,264
,030	213,998	188,624	250,020
,040	205,163	181,076	239,311
,050	197,976	174,931	230,605
,060	191,859	169,696	223,198
,070	186,496	165,103	216,708
,080	181,694	160,988	210,899
,090	177,326	157,242	205,619
,100	173,306	153,792	200,762
,150	156,661	139,476	180,681
,200	143,432	128,051	164,768
,250	132,082	118,202	151,164
,300	121,890	109,305	138,999
,350	112,446	101,002	127,786
,400	103,484	93,049	117,218
,450	94,813	85,264	107,086
,500*	86,280	77,482	97,234
,550	77,747	69,539	87,543
,600	69,076	61,252	77,912
,650	60,114	52,400	68,245
,700	50,670	42,704	58,423
,750	40,478	31,813	48,253
,800	29,128	19,228	37,385
,850	15,899	4,107	25,168
,900	-0,746	-15,360	10,238
,910	-4,766	-20,111	6,681
,920	-9,134	-25,288	2,833
,930	-13,936	-30,997	-1,382
,940	-19,300	-37,391	-6,072
,950	-25,417	-44,703	-11,401
,960	-32,603	-53,314	-17,640
,970	-41,438	-63,928	-25,285
,980	-53,183	-78,071	-35,412
,990	-71,695	-100,421	-51,316

Hasil Nilai IC ₅₀		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
88,359	90,757	81,827
Hasil	86,981 ± 4,62173	

Keterangan

* = Nilai probabilitas

5. Jawa Tengah

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata	SD (simpang deviasi)
	1	2	3	1	2	3		
125	0,389	0,39	0,37	85,38899	85,67362	79,98102	83,68121	3,207617
62,5	0,42	0,413	0,408	94,21252	92,22011	90,79696	92,40987	1,715668
31,25	0,424	0,436	0,445	95,35104	98,7666	101,3283	98,48197	2,998763
15,625	0,451	0,425	0,429	103,0361	95,63567	96,77419	98,48197	3,98482
7,8125	0,43	0,435	0,427	97,05882	98,48197	96,20493	97,24858	1,150318

1. Konsentrasi 125 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,389 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 85,38899\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,39 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 85,67362\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,37 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 79,98102\%$$

2. Konsentrasi 62,5 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,42 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 94,21252\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,413 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 92,22011\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,408 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 90,79696\%$$

3. Konsentrasi 31,25 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,424 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 95,35104\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,436 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 98,7666\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,445 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 101,3283\%$$

4. Konsentrasi 15,625 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,451 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 103,0361\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,425 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 95,63567\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,429 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 96,77419\%$$

5. Konsentrasi 7,625 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,43 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 97,05882\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,435 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 98,48197\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,427 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 96,20493\%$$

Ulangan 1

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1055,710	602,287	5637,489
,020	965,345	552,563	5135,109
,030	908,011	521,006	4816,373
,040	864,880	497,262	4576,606
,050	829,797	477,943	4381,577
,060	799,936	461,497	4215,581
,070	773,753	447,075	4070,037
,080	750,310	434,159	3939,723
,090	728,989	422,410	3821,209
,100	709,364	411,593	3712,119
,150	628,108	366,783	3260,482
,200	563,528	331,132	2901,572
,250	508,125	300,508	2593,699
,300	458,371	272,964	2317,261
,350	412,266	247,389	2061,152
,400	368,517	223,056	1818,195
,450	326,190	199,423	1583,221
,500*	284,534	176,033	1352,105
,550	242,877	152,425	1121,206
,600	200,550	128,032	886,993
,650	156,801	101,890	645,844
,700	110,697	71,252	394,798
,750	60,942	13,774	148,295
,800	5,539	-218,565	42,136
,850	-59,041	-568,623	-2,366
,900	-140,297	-1017,484	-49,952
,910	-159,922	-1126,233	-61,111
,920	-181,243	-1244,444	-73,161
,930	-204,686	-1374,489	-86,348
,940	-230,869	-1519,788	-101,015
,950	-260,730	-1685,560	-117,685
,960	-295,813	-1880,379	-137,213
,970	-338,943	-2119,946	-161,157
,980	-396,277	-2438,483	-192,913
,990	-486,643	-2940,647	-242,854

Ulangan 2

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1183,270	637,416	15760,473
,020	1080,676	584,124	14337,481
,030	1015,584	550,303	13434,647
,040	966,618	524,856	12755,485
,050	926,788	504,152	12203,043
,060	892,886	486,527	11732,832
,070	863,161	471,070	11320,551
,080	836,545	457,228	10951,406
,090	812,340	444,637	10615,685
,100	790,058	433,045	10306,655
,150	697,808	385,025	9027,215
,200	624,490	346,821	8010,396
,250	561,590	314,006	7138,095
,300	505,103	284,493	6354,787
,350	452,760	257,091	5628,989
,400	403,092	231,019	4940,346
,450	355,037	205,700	4274,172
,500*	307,744	180,638	3618,704
,550	260,451	155,337	2963,474
,600	212,396	129,170	2298,147
,650	162,728	101,017	1611,586
,700	110,385	67,185	892,218
,750	53,899	-37,137	183,718
,800	-9,002	-792,771	34,236
,850	-82,320	-1801,885	-11,672
,900	-174,570	-3078,806	-62,212
,910	-196,852	-3387,520	-74,119
,920	-221,057	-3722,961	-86,990
,930	-247,673	-4091,855	-101,084
,940	-277,398	-4503,907	-116,769
,950	-311,300	-4973,908	-134,605
,960	-351,130	-5526,153	-155,505
,970	-400,096	-6205,125	-181,141
,980	-465,188	-7107,771	-215,151
,990	-567,781	-8530,558	-268,648

Ulangan 3

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	845,155	531,827	2317,200
,020	772,530	487,721	2110,027
,030	726,451	459,729	1978,591
,040	691,788	438,665	1879,723
,050	663,592	421,528	1799,305
,060	639,593	406,937	1730,861
,070	618,550	394,142	1670,851
,080	599,709	382,682	1617,122
,090	582,574	372,258	1568,260
,100	566,801	362,660	1523,285
,150	501,497	322,896	1337,101
,200	449,595	291,253	1189,169
,250	405,068	264,063	1062,298
,300	365,081	239,599	948,412
,350	328,028	216,872	842,936
,400	292,867	195,232	742,924
,450	258,849	174,192	646,265
,500*	225,371	153,330	551,294
,550	191,892	132,207	456,584
,600	157,874	110,238	360,853
,650	122,714	86,322	263,118
,700	85,660	56,946	164,291
,750	45,674	3,405	79,481
,800	1,146	-103,428	32,254
,850	-50,755	-246,208	-4,542
,900	-116,060	-430,302	-46,395
,910	-131,833	-475,001	-56,270
,920	-148,968	-523,614	-66,942
,930	-167,809	-577,118	-78,627
,940	-188,851	-636,922	-91,629
,950	-212,850	-705,175	-106,411
,960	-241,046	-785,412	-123,729
,970	-275,709	-884,106	-144,967
,980	-321,788	-1015,367	-173,134
,990	-394,414	-1222,347	-217,432

Hasil Nilai IC ₅₀		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
284,534	307,744	225,371
Hasil	272,5497±42,47406	

Keterangan

* = Nilai probabilitas

6. Jawa Barat

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata	SD (simpang deviasi)
	1	2	3	1	2	3		
1000	0,136	0,159	0,164	9,439252	12,66355	13,36449	11,82243	2,093437
125	0,826	0,812	0,827	106,1682	104,2056	106,3084	105,5607	1,175677
62,5	0,783	0,766	0,732	100,1402	97,75701	92,99065	96,96262	3,640364
31,25	0,73	0,716	0,725	92,71028	90,74766	92,00935	91,82243	0,99457
15,625	0,744	0,704	0,686	94,6729	89,06542	86,54206	90,09346	4,161765

1. Konsentrasi 1000 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,136 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 9,439252\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,159 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 12,66355\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,164 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 13,36449\%$$

2. Konsentrasi 125 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,826 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 106,1682\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,812 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 104,2056\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,827 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 106,3084\%$$

3. Konsentrasi 62,5 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,783 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 100,1402\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,766 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 97,75701\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,732 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 92,99065\%$$

4. Konsentrasi 31,25 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,73 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 92,71028\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,716 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 90,74766\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,725 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 92,00935\%$$

5. Konsentrasi 15,625 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,744 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 94,6729\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,704 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 89,06542\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,686 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 86,54206\%$$

Ulangan 1

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1383,145	921,739	3083,725
,020	1281,711	854,804	2838,295
,030	1217,355	812,012	2682,903
,040	1168,942	779,619	2566,208
,050	1129,562	753,123	2471,432
,060	1096,044	730,454	2390,881
,070	1066,655	710,480	2320,351
,080	1040,340	692,509	2257,285
,090	1016,408	676,089	2200,006
,100	994,379	660,905	2147,351
,150	903,171	597,203	1930,177
,200	830,682	545,368	1758,782
,250	768,493	499,761	1612,877
,300	712,645	457,640	1483,013
,350	660,893	417,348	1363,936
,400	611,786	377,688	1252,371
,450	564,275	337,638	1146,109
,500*	517,517	296,179	1043,576
,550	470,758	252,151	943,610
,600	423,247	204,092	845,357
,650	374,140	150,007	748,216
,700	322,389	87,043	651,812
,750	266,541	10,959	555,912
,800	204,352	-84,758	460,117
,850	131,863	-210,835	362,963
,900	40,655	-388,252	259,504
,910	18,625	-433,593	237,005
,920	-5,307	-483,738	213,452
,930	-31,621	-539,825	188,503
,940	-61,011	-603,496	161,669
,950	-94,529	-677,256	132,209
,960	-133,909	-765,227	98,909
,970	-182,322	-874,968	59,562
,980	-246,678	-1022,980	9,388
,990	-348,111	-1259,844	-66,113

Ulangan 2

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1503,152	975,405	3781,749
,020	1388,117	901,868	3465,822
,030	1315,131	854,854	3265,734
,040	1260,226	819,264	3115,439
,050	1215,565	790,149	2993,351
,060	1177,552	765,235	2889,567
,070	1144,222	743,279	2798,680
,080	1114,379	723,522	2717,399
,090	1087,238	705,466	2643,566
,100	1062,254	688,764	2575,683
,150	958,816	618,636	2295,610
,200	876,606	561,458	2074,459
,250	806,078	511,007	1886,128
,300	742,741	464,230	1718,472
,350	684,050	419,242	1564,756
,400	628,358	374,632	1420,814
,450	574,476	329,132	1283,889
,500*	521,448	281,393	1152,095
,550	468,419	229,780	1024,175
,600	414,537	172,109	899,421
,650	358,845	105,296	777,682
,700	300,154	24,893	659,381
,750	236,817	-75,476	545,316
,800	166,289	-204,833	435,892
,850	84,079	-376,744	329,474
,900	-19,359	-617,013	219,542
,910	-44,343	-677,904	195,848
,920	-71,484	-745,010	171,064
,930	-101,327	-819,793	144,810
,940	-134,657	-904,370	116,545
,950	-172,670	-1001,978	85,454
,960	-217,331	-1117,943	50,216
,970	-272,235	-1262,041	8,429
,980	-345,222	-1455,613	-45,102
,990	-460,257	-1764,046	-126,132

Ulangan 3

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1538,879	955,506	4955,094
,020	1419,505	882,411	4529,359
,030	1343,766	835,627	4259,652
,040	1286,791	800,178	4057,018
,050	1240,446	771,153	3892,380
,060	1200,999	746,295	3752,400
,070	1166,412	724,371	3629,794
,080	1135,443	704,627	3520,129
,090	1107,278	686,567	3420,495
,100	1081,352	669,849	3328,877
,150	974,013	599,480	2950,704
,200	888,702	541,834	2651,863
,250	815,514	490,689	2397,174
,300	749,788	442,947	2170,268
,350	688,884	396,642	1962,070
,400	631,092	350,232	1766,981
,450	575,177	302,234	1581,328
,500*	520,148	250,948	1402,665
,550	465,120	194,156	1229,510
,600	409,205	128,680	1061,334
,650	351,413	49,767	898,748
,700	290,508	-49,693	743,706
,750	224,783	-179,786	599,150
,800	151,594	-353,717	467,247
,850	66,284	-589,309	346,353
,900	-41,055	-919,604	228,106
,910	-66,981	-1003,116	203,281
,920	-95,146	-1095,033	177,505
,930	-126,115	-1197,321	150,384
,940	-160,702	-1312,832	121,364
,950	-200,149	-1445,929	89,624
,960	-246,494	-1603,803	53,835
,970	-303,469	-1799,650	11,598
,980	-379,208	-2062,280	-42,263
,990	-498,582	-2479,945	-123,427

Hasil nilai IC ₅₀		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
146,704	159,24	171,276
Hasil	159,07± 12,28685	

Keterangan

* = Nilai probabilitas

7. Cisplatin

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata	SD (simpang deviasi)
	1	2	3	1	2	3		
200	0,166	0,174	0,166	21,91651	24,19355	21,91651	22,67552	1,31465
100	0,167	0,164	0,169	22,20114	21,34725	22,7704	22,10626	0,716303
50	0,245	0,231	0,259	44,40228	40,41746	48,3871	44,40228	3,98482
25	0,437	0,373	0,376	99,05123	80,83491	81,6888	87,19165	10,27957
12,5	0,434	0,431	0,461	98,19734	97,34345	105,8824	100,4744	4,702859

1. Konsentrasi 200 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,166 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 21,91651\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,174 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 24,19355\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,166 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 21,91651\%$$

2. Konsentrasi 100 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,167 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 22,20114\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,164 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 21,34725\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,169 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 22,7704\%$$

3. Konsentrasi 50 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,245 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 44,40228\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,231 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 40,41746\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,259 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 48,3871\%$$

4. Konsentrasi 25 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,437 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 99,05123\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,373 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 80,83491\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,376 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 81,6888\%$$

5. Konsentrasi 12,5 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,434 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 98,19734\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,431 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 97,34345\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,461 - 0,07933)}{(0,383 - 0,07933)} \times 100\% = 105,8824\%$$

Ulangan 1

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	160,912	110,342	378,761
,020	147,748	101,991	342,952
,030	139,396	96,654	320,271
,040	133,114	92,614	303,235
,050	128,003	89,308	289,396
,060	123,653	86,478	277,633
,070	119,839	83,983	267,334
,080	116,424	81,736	258,124
,090	113,318	79,682	249,760
,100	110,459	77,780	242,071
,150	98,623	69,766	210,377
,200	89,215	63,174	185,410
,250	81,144	57,279	164,231
,300	73,897	51,700	145,496
,350	67,180	46,173	128,493
,400	60,808	40,457	112,829
,450	54,642	34,284	98,318
,500*	48,573	27,320	84,925
,550	42,505	19,154	72,735
,600	36,339	9,338	61,866
,650	29,966	-2,505	52,330
,700	23,250	-16,631	43,926
,750	16,003	-33,294	36,275
,800	7,932	-52,996	28,903
,850	-1,476	-76,897	21,245
,900	-13,312	-107,792	12,432
,910	-16,171	-115,343	10,392
,920	-19,277	-123,575	8,205
,930	-22,692	-132,657	5,831
,940	-26,506	-142,833	3,212
,950	-30,856	-154,474	0,261
,960	-35,967	-168,192	-3,166
,970	-42,250	-185,105	-7,330
,980	-50,601	-207,655	-12,798
,990	-63,765	-243,311	-21,301

Ulangan 2

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	153,425	108,017	318,671
,020	140,674	99,673	288,445
,030	132,584	94,341	269,305
,040	126,498	90,306	254,931
,050	121,547	87,005	243,257
,060	117,334	84,180	233,337
,070	113,640	81,690	224,652
,080	110,332	79,447	216,888
,090	107,323	77,397	209,838
,100	104,554	75,499	203,360
,150	93,088	67,504	176,672
,200	83,976	60,931	155,682
,250	76,158	55,052	137,912
,300	69,138	49,491	122,238
,350	62,632	43,983	108,067
,400	56,459	38,296	95,081
,450	50,487	32,180	83,131
,500*	44,609	25,349	72,182
,550	38,731	17,488	62,263
,600	32,759	8,299	53,385
,650	26,585	-2,442	45,453
,700	20,080	-14,910	38,242
,750	13,059	-29,335	31,431
,800	5,242	-46,196	24,644
,850	-3,871	-66,515	17,400
,900	-15,336	-92,691	8,893
,910	-18,105	-99,080	6,906
,920	-21,114	-106,044	4,769
,930	-24,422	-113,725	2,444
,940	-28,116	-122,329	-0,128
,950	-32,330	-132,169	-3,033
,960	-37,280	-143,763	-6,413
,970	-43,366	-158,055	-10,530
,980	-51,456	-177,109	-15,948
,990	-64,207	-207,234	-24,393

Ulangan 3

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	160,144	116,404	292,245
,020	147,039	107,509	265,482
,030	138,725	101,834	248,532
,040	132,470	97,544	235,802
,050	127,382	94,040	225,463
,060	123,052	91,044	216,675
,070	119,255	88,407	208,981
,080	115,855	86,035	202,102
,090	112,763	83,869	195,855
,100	109,917	81,867	190,113
,150	98,133	73,467	166,449
,200	88,768	66,617	147,815
,250	80,733	60,555	132,015
,300	73,518	54,896	118,041
,350	66,832	49,387	105,357
,400	60,487	43,821	93,659
,450	54,349	37,993	82,785
,500*	48,308	31,671	72,669
,550	42,267	24,596	63,306
,600	36,129	16,496	54,704
,650	29,784	7,123	46,814
,700	23,098	-3,739	39,482
,750	15,883	-16,341	32,451
,800	7,848	-31,124	25,372
,850	-1,517	-48,998	17,763
,900	-13,301	-72,078	8,779
,910	-16,147	-77,719	6,675
,920	-19,239	-83,867	4,410
,930	-22,639	-90,651	1,944
,940	-26,436	-98,253	-0,787
,950	-30,766	-106,949	-3,874
,960	-35,854	-117,197	-7,470
,970	-42,109	-129,833	-11,853
,980	-50,423	-146,683	-17,627
,990	-63,528	-173,330	-26,639

Hasil nilai IC ₅₀		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
48,573	44,609	48,308
Hasil	47,16± 2,216082	

Keterangan

* = Nilai probabilitas

2 Perhitungan CC₅₀

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

	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata- rata
Kontrol Media	0,08	0,064	0,062	0,068667
KontrolSel	0,782	0,774	0,79	0,782

1. Kalimantan Timur

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata	SD (simpang deviasi)
	1	2	3	1	2	3		
1000	0,103	0,106	0,111	4,672245	5,299861	6,345886	5,439331	0,845492
125	0,471	0,521	0,513	81,65969	92,11994	90,4463	88,07531	5,618755
62,5	0,497	0,531	0,531	87,09902	94,21199	94,21199	91,841	4,106676
31,25	0,55	0,508	0,582	98,18689	89,40028	104,8815	97,48954	7,764109
15,625	0,521	0,511	0,528	92,11994	90,02789	93,58438	91,91074	1,787448

1. Konsentrasi 1000 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,103 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 4,672245\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,106 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 5,299861\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,111 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 6,345886\%$$

2. Konsentrasi 125 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,471 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 81,65969\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,521 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 92,11994\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,513 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 90,4463\%$$

3. Konsentrasi 62,5 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,497 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 87,09902\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,531 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 94,21199\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,531 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 94,21199\%$$

4. Konsentrasi 31,25 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,55 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 98,18689\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,508 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 89,40028\%$$

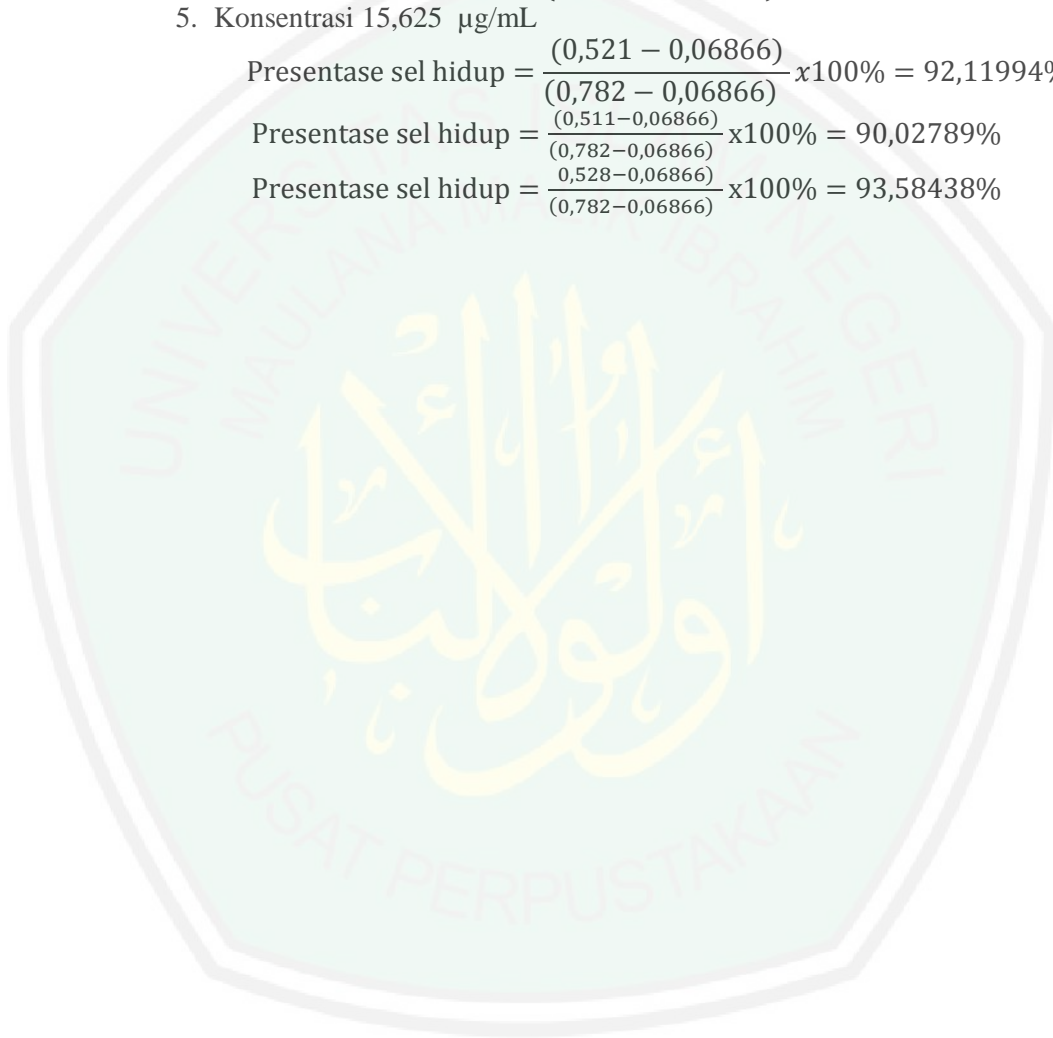
$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,582 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 104,8815\%$$

5. Konsentrasi 15,625 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,521 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 92,11994\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,511 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 90,02789\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,528 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 93,58438\%$$



Ulangan 1

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1205,238	1049,361	1420,721
,020	1108,678	965,956	1305,544
,030	1047,414	912,977	1232,528
,040	1001,327	873,085	1177,640
,050	963,839	840,608	1133,020
,060	931,931	812,943	1095,065
,070	903,954	788,667	1061,804
,080	878,904	766,914	1032,039
,090	856,121	747,115	1004,984
,100	835,150	728,878	980,094
,150	748,325	653,204	877,204
,200	679,318	592,821	795,671
,250	620,117	540,787	725,953
,300	566,952	493,821	663,582
,350	517,687	450,038	606,049
,400	470,940	408,191	551,756
,450	425,711	367,345	499,586
,500*	381,199	326,706	448,684
,550	336,687	285,509	398,339
,600	291,458	242,927	347,904
,650	244,711	197,969	296,723
,700	195,446	149,341	244,034
,750	142,281	95,242	188,796
,800	83,080	32,958	129,329
,850	14,073	-42,113	62,484
,900	-72,753	-139,500	-18,693
,910	-93,724	-163,390	-37,931
,920	-116,506	-189,471	-58,703
,930	-141,556	-218,285	-81,407
,940	-169,533	-250,612	-106,617
,950	-201,442	-287,643	-135,207
,960	-238,930	-331,335	-168,612
,970	-285,016	-385,274	-209,453
,980	-346,280	-457,278	-263,443
,990	-442,841	-571,277	-348,026

Ulangan 2

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1264,003	1106,300	1479,280
,020	1163,851	1019,333	1360,689
,030	1100,308	964,090	1285,512
,040	1052,508	922,493	1228,999
,050	1013,625	888,627	1183,060
,060	980,530	859,778	1143,982
,070	951,513	834,464	1109,739
,080	925,531	811,780	1079,095
,090	901,901	791,134	1051,242
,100	880,150	772,116	1025,617
,150	790,095	693,202	919,694
,200	718,522	630,234	835,761
,250	657,119	575,975	763,991
,300	601,977	527,003	699,786
,350	550,880	481,355	640,558
,400	502,394	437,734	584,662
,450	455,483	395,170	530,942
,500*	409,315	352,842	478,513
,550	363,148	309,965	426,633
,600	316,237	265,694	374,620
,650	267,751	219,023	321,774
,700	216,654	168,644	267,277
,750	161,512	112,729	210,014
,800	100,108	48,505	148,210
,850	28,536	-28,763	78,576
,900	-61,519	-128,909	-6,114
,910	-83,270	-153,472	-26,195
,920	-106,900	-180,289	-47,877
,930	-132,882	-209,916	-71,577
,940	-161,900	-243,158	-97,893
,950	-194,995	-281,241	-127,736
,960	-233,877	-326,180	-162,603
,970	-281,678	-381,665	-205,228
,980	-345,220	-455,744	-261,569
,990	-445,372	-573,051	-349,820

Ulangan 3

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1260,121	946,861	1935,996
,020	1165,593	876,702	1785,070
,030	1105,618	832,020	1689,481
,040	1060,501	798,304	1617,678
,050	1023,802	770,802	1559,347
,060	992,566	747,333	1509,759
,070	965,177	726,705	1466,330
,080	940,654	708,191	1427,489
,090	918,351	691,314	1392,204
,100	897,822	675,743	1359,760
,150	812,823	610,847	1225,858
,200	745,269	558,658	1120,050
,250	687,314	513,312	1029,849
,300	635,268	472,008	949,426
,350	587,040	433,112	875,525
,400	541,276	395,507	806,097
,450	496,999	358,314	739,734
,500*	453,424	320,741	675,392
,550	409,849	281,971	612,248
,600	365,572	241,057	549,606
,650	319,808	196,796	486,833
,700	271,580	147,543	423,289
,750	219,535	90,907	358,200
,800	161,579	23,188	290,370
,850	94,025	-61,894	217,455
,900	9,027	-177,084	133,848
,910	-11,503	-206,014	114,764
,920	-33,806	-237,848	94,435
,930	-58,329	-273,289	72,521
,940	-85,717	-313,351	48,526
,950	-116,954	-359,580	21,698
,960	-153,653	-414,520	-9,194
,970	-198,770	-482,831	-46,403
,980	-258,744	-574,683	-94,823
,990	-353,272	-721,232	-169,358

Hasil Nilai CC ₅₀		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
409,315	453,424	381,199
Hasil	414,646 ±	36,40642

Keterangan

* = Nilai probabilitas

2. Kalimantan Tengah

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata	SD (simpang deviasi)
	1	2	3	1	2	3		
1000	0,118	0,121	0,117	7,810321	8,437936	7,601116	7,949791	0,435495
125	0,521	0,513	0,589	92,11994	90,4463	106,3459	96,30404	8,736658
62,5	0,582	0,581	0,589	104,8815	104,6722	106,3459	105,2999	0,911904
31,25	0,555	0,583	0,599	99,23291	105,0907	108,4379	104,2538	4,659217
15,625	0,544	0,567	0,569	96,93166	101,7434	102,1618	100,2789	2,906369

1. Konsentrasi 1000 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,118 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 7,810321\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,121 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 8,437936\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,117 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 7,601116\%$$

2. Konsentrasi 125 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,521 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 92,11994\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,513 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 90,4463\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,589 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 106,3459\%$$

3. Konsentrasi 62,5 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,582 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 104,8815\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,581 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 104,6722\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,589 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 106,3459\%$$

4. Konsentrasi 31,25 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,555 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 99,23291\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,583 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 105,0907\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,599 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 108,4379\%$$

5. Konsentrasi 15,625 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,544 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 96,93166\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,567 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 101,7434\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,569 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 102,1618\%$$

Ulangan 1

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1299,495	1010,591	1859,005
,020	1204,984	938,028	1718,880
,030	1145,019	891,824	1630,139
,040	1099,911	856,966	1563,485
,050	1063,218	828,537	1509,340
,060	1031,987	804,282	1463,312
,070	1004,604	782,967	1423,004
,080	980,085	763,839	1386,954
,090	957,786	746,406	1354,206
,100	937,260	730,324	1324,095
,150	852,277	663,340	1199,832
,200	784,735	609,531	1101,644
,250	726,790	562,841	1017,934
,300	674,753	520,385	943,287
,350	626,534	480,488	874,670
,400	580,778	442,019	810,170
,450	536,509	404,104	748,460
,500*	492,942	365,974	688,546
,550	449,375	326,858	629,618
,600	405,106	285,891	570,962
,650	359,350	241,997	511,887
,700	311,130	193,733	451,637
,750	259,094	139,005	389,262
,800	201,149	74,543	323,324
,850	133,607	-5,333	251,202
,900	48,624	-112,371	166,993
,910	28,098	-139,155	147,584
,920	5,799	-168,604	126,851
,930	-18,720	-201,370	104,440
,940	-46,103	-238,395	79,841
,950	-77,335	-281,114	52,278
,960	-114,027	-331,884	20,475
,970	-159,136	-395,026	-17,896
,980	-219,100	-479,966	-67,900
,990	-313,611	-615,587	-144,968

Ulangan 2

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1288,167	1001,346	1848,576
,020	1197,879	932,066	1713,661
,030	1140,594	887,930	1628,242
,040	1097,501	854,617	1564,095
,050	1062,448	827,441	1511,996
,060	1032,612	804,246	1467,714
,070	1006,452	783,857	1428,940
,080	983,029	765,556	1394,268
,090	961,726	748,872	1362,775
,100	942,117	733,478	1333,821
,150	860,931	669,316	1214,373
,200	796,407	617,723	1120,038
,250	741,051	572,918	1039,651
,300	691,340	532,145	967,996
,350	645,274	493,808	902,154
,400	601,563	456,826	840,278
,450	559,272	420,371	781,088
,500*	517,652	383,715	723,615
,550	476,031	346,135	667,067
,600	433,740	306,824	610,732
,650	390,029	264,791	553,909
,700	343,964	218,702	495,818
,750	294,252	166,625	435,467
,800	238,896	105,515	371,385
,850	174,372	30,014	300,958
,900	93,186	-71,091	218,453
,910	73,577	-96,414	199,429
,920	52,274	-124,276	179,113
,930	28,851	-155,302	157,166
,940	2,691	-190,397	133,097
,950	-27,144	-230,936	106,160
,960	-62,197	-279,181	75,130
,970	-105,291	-339,277	37,767
,980	-162,576	-420,267	-10,799
,990	-252,864	-549,870	-85,391

Ulangan 3

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1254,351	956,435	1889,399
,020	1174,828	896,279	1761,869
,030	1124,374	857,848	1681,218
,040	1086,419	828,779	1620,707
,050	1055,545	805,020	1571,599
,060	1029,267	784,709	1529,889
,070	1006,227	766,826	1493,391
,080	985,596	750,753	1460,774
,090	966,834	736,079	1431,165
,100	949,563	722,523	1403,959
,150	878,057	665,823	1291,892
,200	821,227	619,976	1203,608
,250	772,472	579,957	1128,556
,300	728,688	543,365	1061,810
,350	688,115	508,803	1000,614
,400	649,616	475,324	943,228
,450	612,368	442,197	888,442
,500*	575,710	408,781	835,338
,550	539,052	374,440	783,161
,600	501,803	338,468	731,220
,650	463,304	300,001	678,822
,700	422,732	257,885	625,179
,750	378,948	210,445	569,282
,800	330,193	155,014	509,641
,850	273,362	86,824	443,700
,900	201,856	-4,307	366,065
,910	184,585	-27,151	348,147
,920	165,823	-52,310	329,023
,930	145,193	-80,363	308,386
,940	122,152	-112,151	285,793
,950	95,874	-148,953	260,574
,960	65,001	-192,872	231,627
,970	27,046	-247,771	196,945
,980	-23,409	-322,084	152,177
,990	-102,931	-441,716	84,121

Hasil nilai CC ₅₀		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
492,942	517,652	575,71
Hasil	528,77± 42,48893	

Keterangan

* = Nilai probabilitas

3. Kalimantan Selatan

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata	SD (simpang deviasi)
	1	2	3	1	2	3		
1000	0,108	0,114	0,113	5,718271	6,973501	6,764296	6,485356	0,6725
125	0,515	0,458	0,505	90,86471	78,94003	88,77266	86,19247	6,367306
62,5	0,537	0,557	0,591	95,46722	99,65132	106,7643	100,6276	5,711463
31,25	0,57	0,566	0,546	102,371	101,5342	97,35007	100,4184	2,69
15,625	0,524	0,543	0,497	92,74756	96,72245	87,09902	92,18968	4,83591

1. Konsentrasi 1000 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,108 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 5,718271\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,114 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 6,973501\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,113 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 6,764296\%$$

2. Konsentrasi 125 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,515 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 90,86471\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,458 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 78,94003\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,505 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 88,77266\%$$

3. Konsentrasi 62,5 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,537 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 95,46722\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,557 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 99,65132\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,591 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 106,7643\%$$

4. Konsentrasi 31,25 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,57 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 102,371\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,566 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 101,5342\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,546 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 97,35007\%$$

5. Konsentrasi 15,625 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,524 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 92,74756\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,543 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 96,72245\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,497 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 87,09902\%$$

Ulangan 1

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1293,087	828,095	3369,348
,020	1194,768	765,531	3091,387
,030	1132,387	725,528	2915,337
,040	1085,461	695,243	2783,094
,050	1047,290	670,468	2675,665
,060	1014,801	649,268	2584,339
,070	986,314	630,584	2504,359
,080	960,807	613,773	2432,829
,090	937,610	598,409	2367,851
,100	916,256	584,198	2308,106
,150	827,849	524,537	2061,569
,200	757,585	475,917	1866,833
,250	697,305	433,049	1700,924
,300	643,172	393,347	1553,138
,350	593,009	355,222	1417,526
,400	545,410	317,499	1290,390
,450	499,357	279,131	1169,255
,500*	454,034	239,025	1052,388
,550	408,712	195,864	938,575
,600	362,659	147,895	827,042
,650	315,059	92,620	717,457
,700	264,897	26,347	609,994
,750	210,764	-56,440	505,293
,800	150,484	-163,931	404,006
,850	80,220	-308,729	305,448
,900	-8,188	-514,284	204,806
,910	-29,541	-566,802	183,368
,920	-52,738	-624,827	161,050
,930	-78,245	-689,642	137,524
,940	-106,732	-763,108	112,327
,950	-139,221	-848,065	84,757
,960	-177,392	-949,190	53,678
,970	-224,319	-1075,067	17,028
,980	-286,699	-1244,443	-29,650
,990	-385,019	-1514,756	-99,862

Ulangan 2

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1244,614	1098,018	1441,014
,020	1150,742	1015,845	1331,046
,030	1091,184	963,645	1261,339
,040	1046,381	924,339	1208,940
,050	1009,937	892,337	1166,345
,060	978,917	865,076	1130,114
,070	951,719	841,155	1098,364
,080	927,367	819,720	1069,953
,090	905,219	800,211	1044,128
,100	884,832	782,240	1020,370
,150	800,424	707,676	922,163
,200	733,339	648,188	844,338
,250	675,786	596,943	777,781
,300	624,102	550,711	718,223
,350	576,209	507,644	663,260
,400	530,764	466,527	611,356
,450	486,794	426,457	561,427
,500*	443,522	386,680	512,632
,550	400,250	346,484	464,256
,600	356,280	305,115	415,625
,650	310,835	261,685	366,034
,700	262,942	215,039	314,650
,750	211,257	163,542	260,358
,800	153,705	104,663	201,434
,850	86,620	34,002	134,782
,900	2,212	-57,625	53,638
,910	-18,175	-80,132	34,416
,920	-40,323	-104,722	13,673
,930	-64,675	-131,912	-8,983
,940	-91,873	-162,447	-34,119
,950	-122,893	-197,461	-62,598
,960	-159,337	-238,820	-95,835
,970	-204,140	-289,940	-136,421
,980	-263,699	-358,271	-189,996
,990	-357,570	-466,617	-273,791

Ulangan 3

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1263,175	895,256	2254,469
,020	1166,940	827,882	2073,596
,030	1105,882	784,922	1959,052
,040	1059,950	752,473	1873,016
,050	1022,588	725,981	1803,130
,060	990,788	703,355	1743,723
,070	962,905	683,452	1691,700
,080	937,939	665,575	1645,175
,090	915,233	649,265	1602,914
,100	894,333	634,206	1564,059
,150	807,799	571,301	1403,743
,200	739,025	520,501	1277,135
,250	680,023	476,157	1169,278
,300	627,037	435,551	1073,203
,350	577,938	397,072	985,027
,400	531,348	359,591	902,324
,450	486,271	322,185	823,451
,500*	441,909	283,979	747,222
,550	397,547	244,020	672,745
,600	352,470	201,153	599,333
,650	305,880	153,854	526,448
,700	256,781	99,999	453,648
,750	203,795	36,503	380,463
,800	144,793	-41,297	306,062
,850	76,019	-141,076	228,433
,900	-10,514	-278,056	142,192
,910	-31,415	-312,630	122,852
,920	-54,121	-350,717	102,368
,930	-79,086	-393,159	80,407
,940	-106,970	-441,168	56,490
,950	-138,770	-496,598	29,888
,960	-176,132	-562,497	-0,591
,970	-222,064	-644,452	-37,121
,980	-283,122	-754,659	-84,418
,990	-379,357	-930,485	-156,839

Hasil nilai CC ₅₀		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
443,522	441,909	454,034
Hasil	446,4883 ± 5,376074	

Keterangan

* = Nilai probabilitas

4. Jawa Timur

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata	SD (simpang deviasi)
	1	2	3	1	2	3		
1000	0,123	0,12	0,115	8,856346	8,228731	7,182706	8,089261	0,845492
125	0,541	0,469	0,481	96,30404	81,24128	83,75174	87,09902	8,070001
62,5	0,577	0,541	0,564	103,8354	96,30404	101,1158	100,4184	3,81381
31,25	0,533	0,538	0,56	94,6304	95,67643	100,2789	96,86192	3,005085
15,625	0,541	0,569	0,591	96,30404	102,1618	106,7643	101,7434	5,242663

1. Konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,123 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 8,856346\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,12 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 8,228731\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,115 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 7,182706\%$$

2. Konsentrasi 125 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,541 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 96,30404\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,469 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 81,24128\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,481 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 83,75174\%$$

3. Konsentrasi 62,5 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,577 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 103,8354\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,541 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 96,30404\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,564 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 101,1158\%$$

4. Konsentrasi 31,25 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,533 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 94,6304\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,538 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 95,67643\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,56 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 100,2789\%$$

5. Konsentrasi 15,625 $\mu\text{g/mL}$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,541 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 96,30404\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,569 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 102,1618\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,591 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 106,7643\%$$

Ulangan 1

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1347,195	1019,695	2043,771
,020	1248,077	945,706	1886,905
,030	1185,189	898,569	1787,571
,040	1137,881	862,991	1712,965
,050	1099,400	833,965	1652,366
,060	1066,646	809,190	1600,855
,070	1037,928	787,409	1555,747
,080	1012,214	767,858	1515,409
,090	988,828	750,032	1478,767
,100	967,301	733,582	1445,079
,150	878,175	664,996	1306,082
,200	807,340	609,798	1196,300
,250	746,570	561,804	1102,756
,300	691,997	518,060	1019,393
,350	641,426	476,841	942,830
,400	593,440	436,970	870,937
,450	547,013	397,523	802,251
,500*	501,321	357,668	735,687
,550	455,630	316,556	670,380
,600	409,203	273,211	605,592
,650	361,217	226,404	540,636
,700	310,646	174,467	474,790
,750	256,073	114,986	407,165
,800	195,303	44,218	336,394
,850	124,468	-44,261	259,893
,900	35,342	-163,625	171,674
,910	13,815	-193,570	151,482
,920	-9,571	-226,516	129,960
,930	-35,285	-263,193	106,746
,940	-64,003	-304,654	81,319
,950	-96,757	-352,505	52,885
,960	-135,238	-409,388	20,142
,970	-182,546	-480,141	-19,289
,980	-245,434	-575,324	-70,577
,990	-344,552	-727,290	-149,467

Ulangan 2

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1309,237	994,602	1965,289
,020	1208,839	919,372	1808,867
,030	1145,139	871,470	1709,794
,040	1097,221	835,328	1635,371
,050	1058,243	805,851	1574,913
,060	1025,066	780,699	1523,516
,070	995,977	758,593	1478,503
,080	969,931	738,754	1438,245
,090	946,244	720,671	1401,672
,100	924,439	703,988	1368,045
,150	834,162	634,468	1229,266
,200	762,413	578,567	1119,617
,250	700,859	529,996	1026,161
,300	645,581	485,751	942,862
,350	594,358	444,072	866,352
,400	545,752	403,755	794,519
,450	498,725	363,849	725,919
,500*	452,444	323,491	659,492
,550	406,163	281,784	594,413
,600	359,137	237,691	530,000
,650	310,531	189,897	465,643
,700	259,308	136,628	400,724
,750	204,030	75,352	334,455
,800	142,476	2,242	265,538
,850	70,727	-89,117	191,348
,900	-19,550	-211,764	105,696
,910	-41,355	-242,397	86,018
,920	-65,042	-276,036	65,002
,930	-91,088	-313,412	42,281
,940	-120,178	-355,578	17,328
,950	-153,354	-404,139	-10,659
,960	-192,332	-461,739	-42,995
,970	-240,251	-533,218	-82,080
,980	-303,950	-629,143	-133,132
,990	-404,348	-781,874	-212,052

Ulangan 3

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1248,299	884,736	2238,038
,020	1157,903	821,351	2066,200
,030	1100,549	780,906	1957,403
,040	1057,404	750,340	1875,701
,050	1022,309	725,374	1809,346
,060	992,438	704,043	1752,948
,070	966,247	685,271	1703,566
,080	942,796	668,404	1659,410
,090	921,468	653,012	1619,304
,100	901,835	638,796	1582,434
,150	820,552	579,370	1430,351
,200	755,951	531,330	1310,289
,250	700,529	489,365	1208,038
,300	650,758	450,925	1116,967
,350	604,638	414,503	1033,379
,400	560,874	379,050	954,953
,450	518,533	343,723	880,102
,500*	476,862	307,736	807,657
,550	435,192	270,252	736,709
,600	392,850	230,277	666,505
,650	349,087	186,515	596,389
,700	302,967	137,158	525,735
,750	253,196	79,528	453,854
,800	197,774	9,416	379,751
,850	133,172	-80,408	301,473
,900	51,889	-204,590	214,145
,910	32,257	-236,155	194,624
,920	10,929	-271,030	174,001
,930	-12,522	-310,016	151,963
,940	-38,713	-354,261	128,056
,950	-68,585	-405,520	101,586
,960	-103,680	-466,675	71,419
,970	-146,824	-543,007	35,483
,980	-204,178	-646,048	-10,718
,990	-294,574	-811,135	-80,854

Hasil nilai CC ₅₀		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
501,321	452,444	476,862
Hasil	476,8757 ± 24,4385	

Keterangan

* = Nilai probabilitas

5. Jawa Tengah

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata	SD (simpang deviasi)
	1	2	3	1	2	3		
1000	0,092	0,095	0,1	3,271028	3,691589	4,392523	3,785047	0,566559
125	0,728	0,715	0,768	92,42991	90,60748	98,03738	93,69159	3,872307
62,5	0,709	0,733	0,755	89,76636	93,13084	96,21495	93,03738	3,225315
31,25	0,72	0,733	0,667	91,30841	93,13084	83,8785	89,43925	4,901199
15,625	0,703	0,668	0,768	88,92523	84,01869	98,03738	90,3271	7,113709

1. Konsentrasi 1000 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,092 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 3,271028\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,095 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 3,691589\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,1 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 4,392523\%$$

2. Konsentrasi 125 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,728 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 92,42991\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,715 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 90,60748\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,768 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 98,03738\%$$

3. Konsentrasi 62,5 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,709 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 89,76636\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,733 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 93,13084\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,755 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 96,21495\%$$

4. Konsentrasi 31,25 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,72 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 91,30841\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,733 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 93,13084\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,667 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 83,8785\%$$

5. Konsentrasi 15,625 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,703 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 88,92523\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,668 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 84,01869\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,768 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 98,03738\%$$

Ulangan 1

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1179,414	1023,003	1397,485
,020	1085,445	942,127	1284,840
,030	1025,824	890,757	1213,428
,040	980,974	852,078	1159,742
,050	944,492	820,589	1116,100
,060	913,440	793,767	1078,974
,070	886,214	770,231	1046,439
,080	861,836	749,142	1017,323
,090	839,665	729,949	990,858
,100	819,256	712,269	966,509
,150	734,760	638,917	865,849
,200	667,606	580,397	786,070
,250	609,993	529,981	717,838
,300	558,255	484,486	656,784
,350	510,312	442,087	600,449
,400	464,818	401,578	547,269
,450	420,803	362,055	496,146
,500*	377,486	322,752	446,240
,550	334,168	282,933	396,851
,600	290,153	241,799	347,340
,650	244,660	198,387	297,063
,700	196,717	151,434	245,282
,750	144,979	99,161	191,006
,800	87,366	38,876	132,642
,850	20,211	-33,969	67,188
,900	-64,285	-128,733	-12,059
,910	-84,693	-152,014	-30,807
,920	-106,864	-177,443	-51,038
,930	-131,242	-205,547	-73,138
,940	-158,469	-237,090	-97,665
,950	-189,521	-273,237	-125,466
,960	-226,003	-315,901	-157,934
,970	-270,853	-368,587	-197,612
,980	-330,473	-438,939	-250,043
,990	-424,442	-550,353	-332,149

Ulangan 2

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1202,531	844,336	2185,361
,020	1106,196	777,512	2002,543
,030	1045,075	734,941	1886,724
,040	999,095	702,809	1799,706
,050	961,695	676,592	1729,003
,060	929,861	654,213	1668,887
,070	901,949	634,538	1616,232
,080	876,957	616,873	1569,133
,090	854,228	600,765	1526,341
,100	833,306	585,899	1486,990
,150	746,683	523,873	1324,540
,200	677,837	473,878	1196,128
,250	618,774	430,310	1086,641
,300	565,733	390,470	989,031
,350	516,583	352,756	899,377
,400	469,945	316,038	815,236
,450	424,821	279,376	734,965
,500*	380,413	241,859	657,404
,550	336,006	202,462	581,722
,600	290,882	159,898	507,353
,650	244,244	112,421	433,971
,700	195,094	57,570	361,455
,750	142,053	-8,151	289,726
,800	82,990	-89,730	218,249
,850	14,144	-194,856	144,969
,900	-72,479	-338,476	64,113
,910	-93,401	-374,517	45,936
,920	-116,130	-414,123	26,643
,930	-141,122	-458,144	5,900
,940	-169,034	-507,809	-16,766
,950	-200,868	-564,996	-42,073
,960	-238,268	-632,794	-71,195
,970	-284,248	-716,871	-106,269
,980	-345,369	-829,596	-151,933
,990	-441,704	-1008,853	-222,318

Ulangan 3

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1225,824	795,853	2955,066
,020	1131,584	735,132	2711,902
,030	1071,792	696,359	2557,870
,040	1026,813	667,037	2442,152
,050	990,226	643,072	2348,139
,060	959,084	622,583	2268,209
,070	931,779	604,542	2198,203
,080	907,331	588,321	2135,588
,090	885,096	573,509	2078,701
,100	864,629	559,820	2026,392
,150	779,889	502,481	1810,481
,200	712,541	455,942	1639,849
,250	654,762	415,088	1494,391
,300	602,875	377,431	1364,733
,350	554,794	341,466	1245,656
,400	509,170	306,096	1133,906
,450	465,028	270,372	1027,290
,500*	421,585	233,324	924,255
,550	378,143	193,806	823,689
,600	334,001	150,312	724,843
,650	288,377	100,696	627,339
,700	240,295	41,767	531,226
,750	188,408	-31,298	436,977
,800	130,629	-125,748	345,113
,850	63,281	-252,781	254,976
,900	-21,458	-433,076	162,020
,910	-41,926	-479,134	142,080
,920	-64,160	-530,016	121,265
,930	-88,609	-586,847	99,260
,940	-115,914	-651,253	75,618
,950	-147,055	-725,719	49,666
,960	-183,642	-814,338	20,306
,970	-228,622	-924,621	-14,451
,980	-288,414	-1072,970	-58,907
,990	-382,654	-1309,644	-126,117

Hasil nilai CC ₅₀		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
377,486	380,413	421,585
Hasil	393,1613 ± 24,65908	

Keterangan

* = Nilai probabilitas

6. Jawa Barat

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata	SD (simpang deviasi)
	1	2	3	1	2	3		
1000	0,136	0,159	0,164	9,439252	12,66355	13,36449	11,82243	2,093437
125	0,826	0,812	0,827	106,1682	104,2056	106,3084	105,5607	1,175677
62,5	0,783	0,766	0,732	100,1402	97,75701	92,99065	96,96262	3,640364
31,25	0,73	0,716	0,725	92,71028	90,74766	92,00935	91,82243	0,99457
15,625	0,744	0,704	0,686	94,6729	89,06542	86,54206	90,09346	4,161765

1. Konsentrasi 1000 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,136 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 9,439252\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,159 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 12,66355\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,164 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 13,36449\%$$

2. Konsentrasi 125 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,826 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 106,1682\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,812 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 104,2056\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,827 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 106,3084\%$$

3. Konsentrasi 62,5 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,783 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 100,1402\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,766 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 97,75701\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,732 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 92,99065\%$$

4. Konsentrasi 31,25 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,73 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 92,71028\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,716 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 90,74766\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,725 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 92,00935\%$$

5. Konsentrasi 15,625 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,744 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 94,6729\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,704 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 89,06542\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,686 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 86,54206\%$$

Ulangan 1

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1383,145	921,739	3083,725
,020	1281,711	854,804	2838,295
,030	1217,355	812,012	2682,903
,040	1168,942	779,619	2566,208
,050	1129,562	753,123	2471,432
,060	1096,044	730,454	2390,881
,070	1066,655	710,480	2320,351
,080	1040,340	692,509	2257,285
,090	1016,408	676,089	2200,006
,100	994,379	660,905	2147,351
,150	903,171	597,203	1930,177
,200	830,682	545,368	1758,782
,250	768,493	499,761	1612,877
,300	712,645	457,640	1483,013
,350	660,893	417,348	1363,936
,400	611,786	377,688	1252,371
,450	564,275	337,638	1146,109
,500*	517,517	296,179	1043,576
,550	470,758	252,151	943,610
,600	423,247	204,092	845,357
,650	374,140	150,007	748,216
,700	322,389	87,043	651,812
,750	266,541	10,959	555,912
,800	204,352	-84,758	460,117
,850	131,863	-210,835	362,963
,900	40,655	-388,252	259,504
,910	18,625	-433,593	237,005
,920	-5,307	-483,738	213,452
,930	-31,621	-539,825	188,503
,940	-61,011	-603,496	161,669
,950	-94,529	-677,256	132,209
,960	-133,909	-765,227	98,909
,970	-182,322	-874,968	59,562
,980	-246,678	-1022,980	9,388
,990	-348,111	-1259,844	-66,113

Ulangan 2

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1503,152	975,405	3781,749
,020	1388,117	901,868	3465,822
,030	1315,131	854,854	3265,734
,040	1260,226	819,264	3115,439
,050	1215,565	790,149	2993,351
,060	1177,552	765,235	2889,567
,070	1144,222	743,279	2798,680
,080	1114,379	723,522	2717,399
,090	1087,238	705,466	2643,566
,100	1062,254	688,764	2575,683
,150	958,816	618,636	2295,610
,200	876,606	561,458	2074,459
,250	806,078	511,007	1886,128
,300	742,741	464,230	1718,472
,350	684,050	419,242	1564,756
,400	628,358	374,632	1420,814
,450	574,476	329,132	1283,889
,500*	521,448	281,393	1152,095
,550	468,419	229,780	1024,175
,600	414,537	172,109	899,421
,650	358,845	105,296	777,682
,700	300,154	24,893	659,381
,750	236,817	-75,476	545,316
,800	166,289	-204,833	435,892
,850	84,079	-376,744	329,474
,900	-19,359	-617,013	219,542
,910	-44,343	-677,904	195,848
,920	-71,484	-745,010	171,064
,930	-101,327	-819,793	144,810
,940	-134,657	-904,370	116,545
,950	-172,670	-1001,978	85,454
,960	-217,331	-1117,943	50,216
,970	-272,235	-1262,041	8,429
,980	-345,222	-1455,613	-45,102
,990	-460,257	-1764,046	-126,132

Ulangan 3

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1538,879	955,506	4955,094
,020	1419,505	882,411	4529,359
,030	1343,766	835,627	4259,652
,040	1286,791	800,178	4057,018
,050	1240,446	771,153	3892,380
,060	1200,999	746,295	3752,400
,070	1166,412	724,371	3629,794
,080	1135,443	704,627	3520,129
,090	1107,278	686,567	3420,495
,100	1081,352	669,849	3328,877
,150	974,013	599,480	2950,704
,200	888,702	541,834	2651,863
,250	815,514	490,689	2397,174
,300	749,788	442,947	2170,268
,350	688,884	396,642	1962,070
,400	631,092	350,232	1766,981
,450	575,177	302,234	1581,328
,500*	520,148	250,948	1402,665
,550	465,120	194,156	1229,510
,600	409,205	128,680	1061,334
,650	351,413	49,767	898,748
,700	290,508	-49,693	743,706
,750	224,783	-179,786	599,150
,800	151,594	-353,717	467,247
,850	66,284	-589,309	346,353
,900	-41,055	-919,604	228,106
,910	-66,981	-1003,116	203,281
,920	-95,146	-1095,033	177,505
,930	-126,115	-1197,321	150,384
,940	-160,702	-1312,832	121,364
,950	-200,149	-1445,929	89,624
,960	-246,494	-1603,803	53,835
,970	-303,469	-1799,650	11,598
,980	-379,208	-2062,280	-42,263
,990	-498,582	-2479,945	-123,427

Hasil nilai CC ₅₀		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
517,517	521,448	520,148
Hasil	519,70± 2,002703	

Keterangan

* = Nilai probabilitas

7. Cisplatin

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata	SD (simpang deviasi)
	1	2	3	1	2	3		
1000	0,211	0,208	0,216	19,95327	19,53271	30,28037	23,25545	6,087394
125	0,486	0,477	0,471	58,50467	57,24299	66,02804	60,5919	4,749911
62,5	0,541	0,472	0,497	66,21495	56,54206	69,6729	64,1433	6,806141
31,25	0,541	0,573	0,561	66,21495	70,70093	78,64486	71,85358	6,294608
15,625	0,619	0,611	0,673	77,14953	76,02804	94,34579	82,50779	10,26734

1. Konsentrasi 1000 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,211 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 19,95327\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,208 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 19,53271\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,216 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 30,28037\%$$

2. Konsentrasi 125 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,486 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 58,50467\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,477 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 57,24299\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,471 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 66,02804\%$$

3. Konsentrasi 62,5 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,541 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 66,21495\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,472 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 56,54206\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,497 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 69,6729\%$$

4. Konsentrasi 31,25 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,541 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 66,21495\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,573 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 70,70093\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,561 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 78,64486\%$$

5. Konsentrasi 15,625 µg/mL

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,619 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 77,14953\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,611 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 76,02804\%$$

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,673 - 0,06866)}{(0,782 - 0,06866)} \times 100\% = 94,34579\%$$

Ulangan 1

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	995,087	718,344	1710,413
,020	903,214	654,499	1545,463
,030	844,924	613,964	1440,834
,040	801,075	583,455	1362,144
,050	765,406	558,624	1298,148
,060	735,047	537,478	1243,689
,070	708,428	518,928	1195,948
,080	684,594	502,310	1153,210
,090	662,917	487,189	1114,350
,100	642,964	473,262	1078,587
,150	560,353	415,506	930,614
,200	494,697	369,446	813,165
,250	438,369	329,756	712,580
,300	387,785	293,898	622,467
,350	340,912	260,380	539,253
,400	296,434	228,150	460,717
,450	253,400	196,282	385,418
,500*	211,049	163,678	312,552
,550	168,698	128,514	242,247
,600	125,665	86,950	176,644
,650	81,186	32,414	120,414
,700	34,313	-38,200	74,296
,750	-16,271	-122,358	32,483
,800	-72,598	-219,878	-10,272
,850	-138,255	-335,555	-58,103
,900	-220,866	-482,392	-116,995
,910	-240,819	-517,974	-131,104
,920	-262,496	-556,664	-146,396
,930	-286,330	-599,240	-163,175
,940	-312,949	-646,826	-181,879
,950	-343,308	-701,137	-203,174
,960	-378,976	-764,988	-228,149
,970	-422,826	-843,533	-258,804
,980	-481,116	-948,011	-299,490
,990	-572,989	-1112,788	-363,507

Ulangan 2

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	1033,872		
,020	936,654		
,030	874,973		
,040	828,572		
,050	790,829		
,060	758,703		
,070	730,536		
,080	705,315		
,090	682,377		
,100	661,263		
,150	573,846		
,200	504,370		
,250	444,765		
,300	391,238		
,350	341,638		
,400	294,572		
,450	249,035		
,500*	204,220		
,550	159,405		
,600	113,868		
,650	66,802		
,700	17,201		
,750	-36,326		
,800	-95,930		
,850	-165,407		
,900	-252,824		
,910	-273,938		
,920	-296,875		
,930	-322,096		
,940	-350,264		
,950	-382,390		
,960	-420,133		
,970	-466,534		
,980	-528,215		
,990	-625,433		

Ulangan 3

Confidence Limits			
Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
,010	937,183		
,020	860,395		
,030	811,676		
,040	775,027		
,050	745,215		
,060	719,841		
,070	697,593		
,080	677,672		
,090	659,555		
,100	642,878		
,150	573,832		
,200	518,956		
,250	471,877		
,300	429,599		
,350	390,422		
,400	353,247		
,450	317,280		
,500*	281,883		
,550	246,486		
,600	210,518		
,650	173,343		
,700	134,167		
,750	91,888		
,800	44,810		
,850	-10,066		
,900	-79,112		
,910	-95,789		
,920	-113,906		
,930	-133,827		
,940	-156,075		
,950	-181,450		
,960	-211,261		
,970	-247,911		
,980	-296,630		
,990	-373,417		

Hasil nilai CC ₅₀		
Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
211,049	204,22	281,883
Hasil	232,384 ±	43,00316

Keterangan

* = Nilai probabilitas

Lampiran 8 Uji Analisis Statistik

L.8.1 Analisa *one-way* Anova dan Uji *post hoc* pada IC₅₀

1. Uji Normalitas

<i>Tests of Normality</i>						
Sampel	<i>Kolmogorov-Smirnov^a</i>			<i>Shapiro-Wilk</i>		
	<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>	<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>
Cisplatin	0,364	3		0,800	3	0,114
Jawa Timur	0,284	3		0,933	3	0,501
Kalimantan Tengah	0,188	3		0,998	3	0,911
Kalimantan Timur	0,317	3		0,888	3	0,347
Jawa Barat	0,176	3		1,000	3	0,978
Kalimantan Selatan	0,210	3		0,991	3	0,820
Jawa Tengah	0,278	3		0,940	3	0,529

Signifikansi ($P > 0,05$)

2. Uji Homogenitas

<i>Test of Homogeneity of Variances</i>				
	<i>Levene Statistic</i>	<i>df1</i>	<i>df2</i>	<i>Sig.</i>
<i>Based on Mean</i>	3,426	6	14	0,027
<i>Based on Median</i>	1,365	6	14	0,294
<i>Based on Median and with adjusted df</i>	1,365	6	4,735	0,380
<i>Based on trimmed mean</i>	3,257	6	14	0,032

3. Uji *Kuskal-Wallis*

<i>Test Statistics^{a,b}</i>	
	IC ₅₀
<i>Kruskal-Wallis</i>	19,290
<i>H</i>	
<i>df</i>	6
<i>Asymp. Sig.</i>	0,004
a. <i>Kruskal Wallis Test</i>	
b. <i>Grouping Variable: sampel</i>	

Signifikansi ($P < 0,05$)

4. Uji *post hoc*

Sampel		Nilai Signifikansi	Keterangan
Kalimantan Timur	Kalimantan Selatan	0,000	Signifikan
	Kalimantan Tengah	0,696	Tidak Signifikan
	Jawa Timur	0,251	Tidak Signifikan
	Jawa Barat	0,782	Tidak signifikan
	Jawa Tengah	0,000	Signifikan
	Cisplatin	0,005	Signifikan
Kalimantan Selatan	Kalimantan Timur	0,000	Signifikan
	Kalimantan Tengah	0,000	Signifikan
	Jawa Timur	0,000	Signifikan
	Jawa Barat	0,000	Signifikan
	Jawa Tengah	1,000	Tidak Signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Kalimantan Tengah	Kalimantan Timur	0,696	Tidak Signifikan
	Kalimantan Selatan	0,000	Signifikan
	Jawa Timur	0,954	Tidak signifikan
	Jawa Barat	0,103	Tidak Signifikan
	Jawa Tengah	0,000	Signifikan
	Cisplatin	0,079	Tidak Signifikan
Jawa Timur	Kalimantan Timur	0,215	Tidak Signifikan
	Kalimantan Selatan	0,000	Signifikan
	Kalimantan Tengah	0,954	Tidak signifikan
	Jawa Barat	0,018	Signifikan
	Jawa Tengah	0,000	Signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Jawa barat	Kalimantan Timur	0,782	Tidak signifikan
	Kalimantan Selatan	0,000	Signifikan
	Kalimantan Tengah	0,103	Tidak Signifikan
	Jawa Timur	0,018	Signifikan
	Jawa Tengah	0,000	Signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Jawa Tengah	Kalimantan Timur	0,000	Signifikan
	Kalimantan Selatan	0,100	Tidak Signifikan
	Kalimantan Tengah	0,000	Signifikan
	Jawa Timur	0,000	Signifikan
	Jawa Barat	0,000	Signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Cisplatin	Kalimantan Timur	0,005	Signifikan
	Kalimantan Selatan	0,000	Signifikan
	Kalimantan Tengah	0,079	Tidak Signifikan
	Jawa Timur	0,358	Tidak Signifikan
	Jawa Barat	0,000	Signifikan
	Jawa Tengah	0,000	Signifikan

Signifikansi ($P < 0,05$)

L.8.2 Analisa one-way Anova dan Uji *post hoc* pada CC₅₀

1. Uji Normalitas

<i>Tests of Normality</i>						
sampel	<i>Kolmogorov-Smirnov^a</i>			<i>Shapiro-Wilk</i>		
	<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>	<i>Statistic</i>	<i>df</i>	<i>Sig.</i>
Kalimantan Timur	0,225	3		0,984	3	0,757
Kalimantan Selatan	0,340	3		0,848	3	0,235
Kalimantan Tengah	0,270	3		0,949	3	0,563
Jawa Timur	0,175	3		1,000	3	0,999
Jawa Barat	0,254	3		0,963	3	0,631
Jawa Tengah	0,364	3		0,800	3	0,113
cisplatin	0,357	3		0,815	3	0,152

Signifikansi ($P > 0,05$)

2. Uji Homogenitas

<i>Test of Homogeneity of Variances</i>				
	<i>Levene Statistic</i>	<i>df1</i>	<i>df2</i>	<i>Sig.</i>
<i>Based on Mean</i>	2,753	6	14	0,056
<i>Based on Median</i>	0,633	6	14	0,702
<i>Based on Median and with adjusted df</i>	0,633	6	7,301	0,703
<i>Based on trimmed mean</i>	2,521	6	14	0,072

Signifikansi ($P > 0,05$)

3. Analisa one-way Anova

ANOVA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	182746,522	6	30457,754	34,207	0,000
Within Groups	12465,368	14	890,383		
Total	195211,8890	20			

Signifikansi ($P < 0,05$)

4. Uji *post hoc*

Sampel		Nilai Signifikansi	Keterangan
Kalimantan Timur	Kalimantan Selatan	0,838	Tidak signifikan
	Kalimantan Tengah	0,005	Signifikan
	Jawa Timur	0,212	Tidak signifikan
	Jawa Barat	0,010	Signifikan
	Jawa Tengah	0,970	Tidak signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Kalimantan Selatan	Kalimantan Timur	0,838	Tidak signifikan
	Kalimantan Tengah	0,053	Tidak signifikan
	Jawa Timur	0,864	Tidak signifikan
	Jawa Barat	0,102	Tidak signifikan
	Jawa Tengah	0,359	Tidak signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Kalimantan Tengah	Kalimantan Timur	0,005	Signifikan
	Kalimantan Selatan	0,053	Tidak signifikan
	Jawa Timur	0,388	Tidak signifikan
	Jawa Barat	1,000	Tidak signifikan
	Jawa Tengah	0,001	Signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Jawa Timur	Kalimantan Timur	0,212	Tidak signifikan
	Kalimantan Selatan	0,864	Tidak signifikan
	Kalimantan Tengah	0,388	Tidak signifikan
	Jawa Barat	0,593	Tidak signifikan
	Jawa Tengah	0,048	Signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Jawa barat	Kalimantan Timur	0,010	Signifikan
	Kalimantan Selatan	0,102	Tidak signifikan
	Kalimantan Tengah	1,000	Tidak signifikan
	Jawa Timur	0,593	Tidak signifikan
	Jawa Tengah	0,002	Signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Jawa Tengah	Kalimantan Timur	0,970	Tidak signifikan
	Kalimantan Selatan	0,359	Tidak signifikan
	Kalimantan Tengah	0,001	Signifikan
	Jawa Timur	0,048	Signifikan
	Jawa Barat	0,002	Signifikan
	Cisplatin	0,000	Signifikan
Cisplatin	Kalimantan Timur	0,000	Signifikan
	Kalimantan Selatan	0,000	Signifikan
	Kalimantan Tengah	0,000	Signifikan
	Jawa Timur	0,000	Signifikan
	Jawa Barat	0,000	Signifikan
	Jawa Tengah	0,000	Signifikan

Signifikansi ($P < 0,05$)

Lampiran 9 Gambar prosedur Kerja

L.9.1 Preparasi Sampel



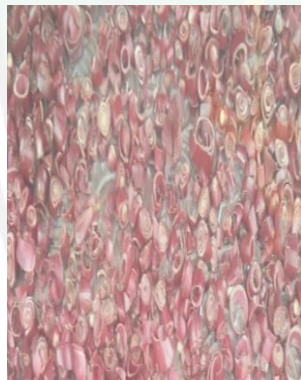
Tanaman Bawang dayak



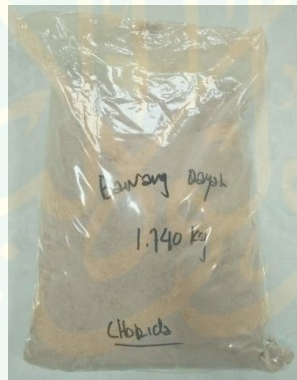
Proses Pembersihan Bawang dayak



Proses Pencucian Bawang dayak



Proses Pengeringan Bawang dayak



Simplisia Bawang dayak



Proses pemisahan filtrat dengan residu

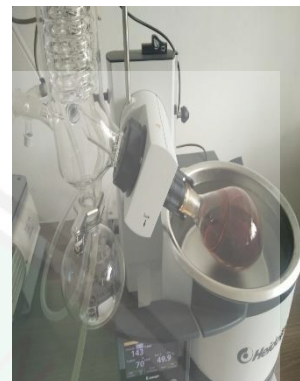
L.9.2 Ekstraksi Menggunakan Metode UAE (*Ultrasonication Assisted Extraction*)



Penimbangan
Bawang dayak

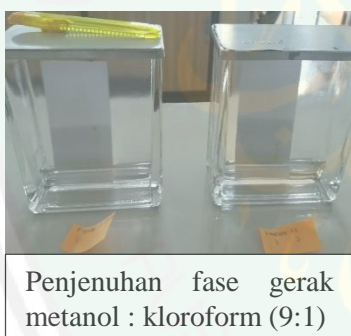


Ekstraksi bawang
dayak menggunakan



Pemekatan ekstrak
menggunakan rotary
evaporator

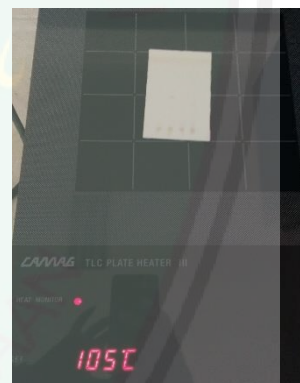
L.9.3 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)



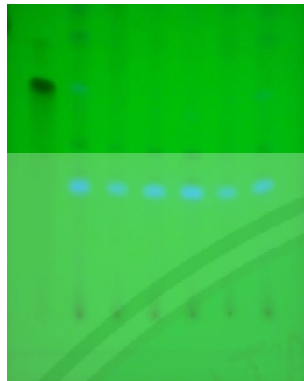
Penjenuhan fase gerak
metanol : kloroform (9:1)



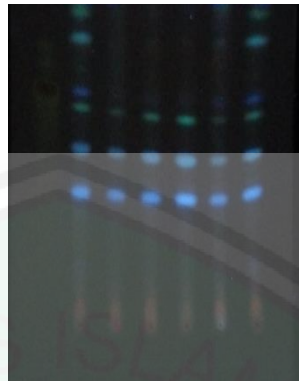
Derivatisasi plat KLT
menggunakan H_2SO_4



Pemanasan
menggunakan
hotplate suhu $105^{\circ}C$



Hasil kloroform :
Metanol (9:1) dengan
sinar UV 254



Hasil kloroform :
Metanol (9:1) dengan
sinar UV 366

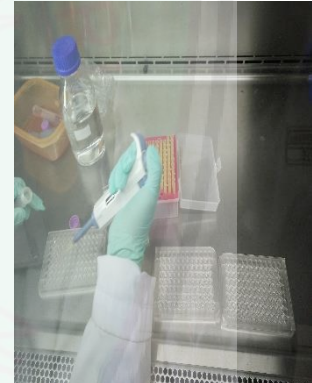
L.9.4 Uji Aktivitas dan Toksisitas dengan Metode MTT assay



Penimbangan ekstrak
sebanyak 10 mg



10 mg ekstrak + 10
 μ L DMSO



Induksi hasil panen
sel (WiDr dan Vero)
dalam 96 *plate well*



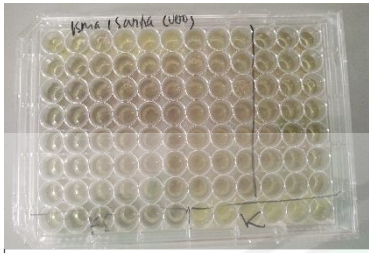
Inkubasi sel



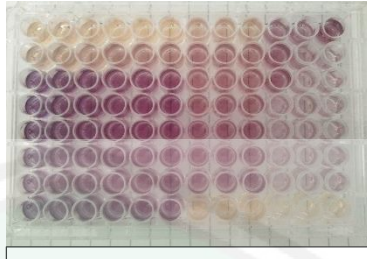
Pembuatan seri
konsentrasi



Pemberian seri konsentrasi
dalam 96 *plate well*



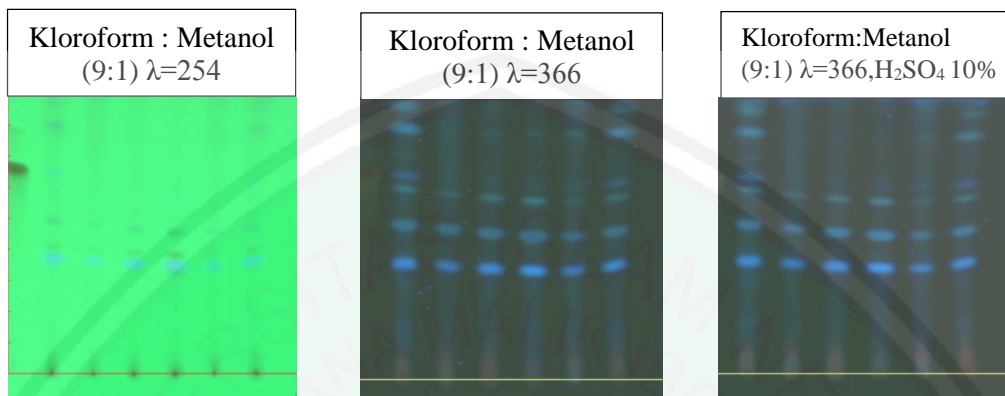
Pemberian larutan MTT



Hasil inkubasi 4 jam dalam inkubator



Lampiran 10 Hasil Visualizer



1. Jawa Timur

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.339	0.0066	0.372	0.2501	39.11	0.438	0.0007	0.00742	40.02	No	
2	0.441	0.0006	0.497	0.0922	14.42	0.534	0.0002	0.00276	14.90	No	
3	0.582	0.0020	0.613	0.0492	7.70	0.632	0.0047	0.00104	5.60	No	
4	0.632	0.0047	0.654	0.0550	8.59	0.682	0.0016	0.00122	6.58	No	
5	0.759	0.0018	0.806	0.0872	13.64	0.837	0.0030	0.00230	12.43	No	
6	0.837	0.0030	0.878	0.0472	7.39	0.901	0.0327	0.00163	8.78	No	
7	0.901	0.0327	0.928	0.0585	9.15	0.956	0.0226	0.00217	11.70	No	

2. Jawa Tengah

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.314	0.0005	0.366	0.1457	65.20	0.397	0.0047	0.00389	67.57	No	
2	0.441	0.0001	0.483	0.0610	27.28	0.519	0.0006	0.00152	26.45	No	
3	0.571	0.0002	0.599	0.0168	7.52	0.621	0.0006	0.00034	5.98	No	

3. Jawa Barat

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.304	0.0014	0.355	0.2258	56.70	0.386	0.0073	0.00596	50.56	No	
2	0.422	0.0009	0.472	0.0833	20.93	0.509	0.0010	0.00235	19.94	No	
3	0.549	0.0011	0.582	0.0361	9.06	0.607	0.0016	0.00077	6.50	No	
4	0.895	0.0016	0.925	0.0530	13.31	0.999	0.0000	0.00271	23.00	No	

4. Kalimantan Timur

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.295	0.0028	0.350	0.2980	60.38	0.386	0.0076	0.00777	57.49	No	
2	0.422	0.0020	0.461	0.0938	19.01	0.497	0.0011	0.00289	21.38	No	
3	0.533	0.0017	0.574	0.0553	11.21	0.599	0.0017	0.00118	8.74	No	
4	0.795	0.0019	0.798	0.0127	2.56	0.809	0.0000	0.00004	0.28	No	
5	0.892	0.0013	0.928	0.0337	6.84	0.999	0.0000	0.00164	12.10	No	

5. Kalimantan Tengah

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.311	0.0025	0.350	0.1424	51.12	0.378	0.0052	0.00347	49.70	No	
2	0.400	0.0016	0.405	0.0166	5.94	0.411	0.0015	0.00006	0.81	No	
3	0.422	0.0015	0.461	0.0519	18.63	0.495	0.0009	0.00125	17.89	No	
4	0.546	0.0011	0.571	0.0133	4.79	0.593	0.0012	0.00027	3.87	No	
5	0.854	0.0064	0.912	0.0544	19.53	0.928	0.0440	0.00194	27.73	No	

6. Kalimantan Selatan

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.322	0.0021	0.366	0.1980	46.48	0.412	0.0040	0.00529	43.73	No	
2	0.422	0.0016	0.474	0.0782	18.35	0.508	0.0007	0.00210	17.34	No	
3	0.555	0.0011	0.582	0.0310	7.29	0.604	0.0021	0.00063	5.23	No	
4	0.604	0.0021	0.629	0.0301	7.08	0.671	0.0000	0.00068	5.65	No	
5	0.759	0.0004	0.793	0.0420	9.86	0.822	0.0001	0.00099	8.19	No	
6	0.889	0.0036	0.920	0.0466	10.94	0.999	0.0000	0.00240	19.85	No	

Lampiran 11 Lembar Determinasi Tanaman



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/348/102.7/2017
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Bawang Dayak**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : Dr. ROIHATUL MUTIAH, M.Kes., Apt.
NIP : 19800203 200912 2 001
Instansi : JURUSAN FARMASI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

1. Perihal determinasi tanaman bawang merah hutan
 - Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
 - Divisi : Spermatophyta
 - Sub Divisi : Angiospermae
 - Kelas : Monocotyledonae
 - Ordo : Liliales
 - Famili : Liliaceae
 - Genus : Eleutherine
 - Spesies : *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.
 - Sinonim : *Eleutherine bulbosa*, *E. plicata* Herb., *E. americana* (Aubl.) Merr.
 - Nama Umum : Bawang sabrang, bawang tiwai, bawang dayak, bawang berlian, bawang kapal, bawang kambe, brambang sabrang.
 - Kunci determinasi : 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33b-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335a-336a-337b-338b-341b-342b-343b-344a-1a-2a-3b-4a-5a-9-1.
2. Morfologi : Habitus: Herba, semusim, tinggi 30-40 cm. Batang: Semu, umbi berlapis bulat telur, merah. Daun: Tunggal, bentuk pita, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, hijau. Bunga: Majemuk, tumbuh di ujung batang, panjang tangkai ±40 cm, bentuk silindris, kelopak terdiri dari dua daun kelopak, hijau kekuningan, mahkota terdiri dari empat daun mahkota, lepas, panjang ±5 mm, putih, benang sari empat kepala sari kuning, putik bentuk jarum, panjang ±4 mm, putih kekuningan. Akar: Serabut, coklat muda.
3. Nama Simplisia : Eleutherinii Bulbus/ Umbi Bawang Sabrang.
4. Kandungan : Daun dan umbi mengandung flavonoida, alkaloid, saponin, triterpenoid, steroid, glikosida, tannin, dan polifenol.
5. Penggunaan : Penelitian (Skripsi).
6. Daftar Pustaka
 - Anonim. <http://ff.unair.ac.id/sito/index.php?search=Eleutherine+Americana>, diakses tanggal 16 Juni 2010.
 - Anonim. http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/tanaman_obat/depkes/1-112.pdf, diakses tanggal 23 Oktober 2010.
 - Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*. N.V.P. Noordhoff, Groningen.
 - Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1968. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol. III. N.V.P. Noordhoff, Groningen

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

Batu, 19 September 2017

Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin K.M. Drs., Apt., M.Kes.
NIP. 19611102 199103 1 003

Lampiran 12 Lembar Kelaikan Etik (*Ethical Clearance*)

	<p style="text-align: center;">FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN Gedung Klinik UMMI It 2 Jalan Gajayana 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. 003/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 Profiling Aktivitas dan Toksisitas Anti Kanker Bawang Dayak (*Eleutherine pamifolia (L)*) terhadap Sel Kanker Kolon Widr dan Sel Normal (*Vero cell line*)

Sub Judul Profiling Aktivitas dan Toksisitas Anti Kanker Bawang Dayak (*Eleutherine pamifolia (L)*) terhadap Sel Kanker Kolon Widr dan Sel Normal (*Vero cell line*)

Peneliti Fadhila Isma Huwaida
 Ria Ramadhani Dwi Atmaja, SKep, Ns, MKep

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 UIN Maulana Malik Ibrahim Malang



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

Malang, 23 APR 2018
 Ketua

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

Keterangan :

- Keterangan Lalk 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).

Lampiran 13 Lembar Surat Ijin Penelitian



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

SURAT KETERANGAN

No. UGM/KU/Prst/113 /M/04/03/03.18

Yang bertanda tangan di bawah ini,

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

Nama : FADHILA ISMA HUWAIDA
Instansi : Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
Malang
NIM. : 14670046

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

“*PROFILLING* AKTIVITAS DAN TOKSISITAS ANTIKANKER BAWANG DAYAK
(*Eleutherine palmifolia* (L.)) TERHADAP SEL KANKER KOLON WiDr DAN SEL
NORMAL (*VERO CELL LINE*)”

Dibawah supervisi laboratorium: Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.
Waktu Penelitian: 19 Maret 2018 sampai dengan 22 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, 26 Maret 2018
Kepala,

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

Lampiran 14 Lembar Sertifikat Penelitian



Lampiran 15 Lembar Persetujuan Revisi



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

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

LEMBAR PERSETUJUAN PERBAIKAN (REVISI)
SIDANG PENELITIAN

Naskah Sidang Penelitian yang disusun oleh:

Nama : Fadhila Isma Huwaida
 NIM : 14670036
 Judul : Profiling Aktivitas Dan Toksisitas Antikanker Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia* (L.)) Terhadap Sel Kanker Kolon Widr Dan Sel Normal (Vero Cell Line)

Tanggal Sidang : 6 juni 2018

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

No	Nama Dosen	Tanggal Revisi	Tanda Tangan
1.	Abdul Hakim, M.P.I, M. Farm, Apt		
2	Weka sidha Bhagawan.M.Farm., Apt.	26-6-2018	
3.	Ria Ramadhani D.A., S.Kep.,Ns.,M.Kep.		
4.	Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt	8-6-2018	

Catatan :

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

Malang, 6 juni 2018
 Mengetahui,
 Ketua Jurusan Farmasi

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