

**PEMROFILAN AKTIVITAS ANTIKANKER TERHADAP SEL KANKER
PAYUDARA (T47D) DAN TOKSISITAS TERHADAP
SEL NORMAL (VERO) PADA TANAMAN KRISAN PUTIH
(*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.))**

SKRIPSI

Oleh:

SANTIA IRAWATI

NIM. 14670058



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

**PEMROFILAN AKTIVITAS ANTIKANKER TERHADAP SEL KANKER
PAYUDARA (T47D) DAN TOKSISITAS TERHADAP
SEL NORMAL (VERO) PADA TANAMAN KRISAN PUTIH
(*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.))**

SKRIPSI

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

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

**PEMROFILAN AKTIVITAS ANTIKANKER TERHADAP SEL KANKER
PAYUDARA (T47D) DAN TOKSISITAS TERHADAP
SEL NORMAL (VERO) PADA TANAMAN KRISAN PUTIH
(*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.))**

SKRIPSI

**Oleh:
SANTIA IRAWATI
NIM. 14670058**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :
Tanggal : 06 Juni 2018**

Pembimbing I



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

Pembimbing II



drg. Anik Listiyana, M.Biomed
NIP. 19800805 200912 2 001

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi**



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

**PEMROFILAN AKTIVITAS ANTIKANKER TERHADAP SEL KANKER
PAYUDARA (T47D) DAN TOKSISITAS TERHADAP
SEL NORMAL (VERO) PADA TANAMAN KRISAN PUTIH
(*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.))**

SKRIPSI

Oleh:
SANTIA IRAWATI
NIM. 14670058

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan
Diterima Sebagai salah satu Persyaratan untuk memperoleh Gelar Sarjana
Farmasi (S. Farm)
Tanggal : 06 Juni 2018

- Ketua Penguji** : drg. Anik Listiyana, M.Biomed (.....)
NIP. 19800805 200912 2 001
- Anggota Penguji**
1. Dr. Roihatul Muti'ah, M. Kes., Apt (.....)
NIP. 19800203 200912 2 003
 2. Burhan Ma'arif ZA, M, Farm., Apt (.....)
NIP. 19900221 201801 1 001
 3. Abdul Hakim, M.P.I., M. Farm., Apt (.....)
NIP. 19761214 200912 1 002

Mengesahkan,
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 : Santia Irawati
NIM : 14670058
Jurusan : Farmasi
Judul Penelitian : Pemrofilan Aktivitas Antikanker terhadap Sel Kanker Payudara (T47D) dan Toksisitas terhadap Sel Normal (Vero) pada Tanaman Krisan Putih (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.))

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 bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 06 Juni 2018

Yang membuat pernyataan,



Santia Irawati
NIM. 14670058

LEMBAR PERSEMBAHAN

Tulisan ini saya persembahkan untuk kedua orang tua tercinta

Bapak Hasan dan Ibunda Khotimah

Terimakasih yang tiada tara atas kasih sayang yang tak terhingga, perjuangan yang tak kenal lelah, serta doa yang selalu dipanjatkan.

Alhamdulillah atas berkah limpahan doanya, saya bisa menyelesaikan studi ini sesuai dengan harapan bapak dan ibu.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **“Pemrofilan Aktivitas Antikanker terhadap Sel Kanker Payudara (T47D) dan Toksisitas terhadap Sel Normal (Vero) pada Tanaman Krisan Putih (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.))”** dengan baik. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita baginda Rasulullah Muhammad SAW yang telah membawa ajaran agama islam kepada ummatnya sehingga kita dapat membedakan hal yang haq dan yang bathil. Skripsi ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program Strata-1 (S-1) di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

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

1. Ayah dan Ibu tercinta yang senantiasa memanjatkan doa dan restu, kasih sayang dan perjuangan yang tak terhingga serta dukungan kepada penulis dalam menuntut ilmu demi terselesaikannya skripsi ini.
2. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M. Ag, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Prof. Dr. Dr. Bambang Pardjianto, Sp. B., Sp. BP-REK (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Malang.
4. Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M. Kes., Apt selaku ketua program studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Serta selaku dosen pembimbing pertama yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis dan banyak memberikan pengarahan, pengalaman, motivasi serta semangat yang sangat berharga demi terselesainya skripsi ini.
5. Ibu drg. Anik Listiyana, M. Biomed selaku dosen pembimbing kedua, yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis, memberikan pengarahan dan pengalaman yang sangat berharga, serta memberikan solusi atas permasalahan yang muncul selama proses penelitian.
6. Bapak Burhan Ma'arif Z.A., M. Farm., Apt selaku dosen penguji utama yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan kepada penulis demi terselesainya skripsi ini.

7. Bapak Abdul Hakim, M.P.I., M. Farn., Apt selaku dosen penguji agama yang telah meluangkan waktu untuk memberikan pengarahan tentang ilmu agama.
8. Seluruh Dosen Pengajar di Jurusan Farmasi yang telah memberikan bimbingan ilmu kepada penulis.
9. Kakak, sahabat, serta habibi yang selalu memberikan motivasi, dukungan, dan doa kepada penulis demi terselesainya skripsi ini.
10. Adik-adik penulis yang selalu memberikan semangat kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
11. Teman-teman angkatan 2014 Jurusan Farmasi “Platinum”, tim Remas, tim Antikanker, dan tim Cell Line yang telah berjuang bersama-sama selama 4 tahun dan secara tidak langsung telah memberikan dukungan dan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
12. Bapak dan Ibu kos sekeluarga, teman-teman kos; Laily NW, Mbak Liza, Mbak Ain, Mbak Fika, Mbak Atiza, dan Mbak Amel yang secara tidak langsung telah memberikan motivasi, semangat, kekeluargaan, serta mengajari banyak hal.
13. Semua pihak yang ikut membantu serta memberikan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

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

Wassalamu 'alaikum Wr. Wb.

Malang, 06 Juni 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan	8
1.3.1 Tujuan Umum	8
1.3.2 Tujuan Khusus	8
1.4 Manfaat	9
1.4.1 Manfaat Teoritis	9
1.4.2 Manfaat Aplikatif	9
1.5 Batasan Masalah	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Tentang Tanaman Menurut Perspektif Islam	11
2.2 Tinjauan Tentang <i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>	14
2.2.1 Klasifikasi Tanaman	14
2.2.2 Morfologi Tanaman	16
2.2.3 Kandungan Kimia	16
2.3 Tinjauan tentang Ekstraksi	21
2.4 Tinjauan tentang Kromatografi Lapis Tipis	22
2.5 Tinjauan tentang Flavonoid	23
2.6 Tinjauan tentang Terpenoid	24
2.7 Tinjauan tentang Aktivitas Antikanker	25
2.8 Tinjauan tentang Kanker	27
2.9 Tinjauan tentang Kanker Payudara	32
2.10 Tinjauan tentang Apoptosis Sel	34
2.11 Tinjauan Uji Aktivitas Antikanker dan Uji Toksisitas	36
2.11.1 Uji Aktivitas Antikanker Secara <i>in Vitro</i>	36
2.11.2 Uji Toksisitas Secara <i>in Vitro</i>	37
2.12 Tinjauan Sel T47D dan Sel Normal (Vero)	38
2.12.1 Sel T47D	38
2.12.2 Sel Vero	38

2.13 Tinjauan Metode MTT	39
2.14 Tinjauan tentang Doxorubicin	40
2.15 Tinjauan tentang Indeks Selektivitas	41
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESA	
3.1 Kerangka Konseptual	43
3.1.1 Skema Kerangka Konseptual.....	43
3.1.2 Uraian Kerangka Konseptual.....	44
3.2 Hipotesis.....	45
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	
4.1 Jenis Penelitian.....	46
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	46
4.3 Variable Penelitian dan Definisi Operasional	46
4.3.1 Variabel Penelitian	47
4.3.2 Definisi Operasional	48
4.4 Alat dan Bahan.....	50
4.4.1 Alat dan Bahan Ekstraksi Tanaman <i>C. cinerariifolium</i>	50
4.4.2 Alat dan Bahan Uji Aktivitas Antikanker dan Toksisitas dengan Metode MTT	50
4.5 Prosedur Penelitian.....	51
4.5.1 Determinasi Tanaman <i>C. cinerariifolium</i>	51
4.5.2 Preparasi Simplisia <i>C. cinerariifolium</i>	51
4.5.3 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia Bunga Daun Batang akar Tanaman <i>C. cinerariifolium</i>	52
4.5.4 Ekstraksi Tanaman <i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>	53
4.5.5 Uji Aktivitas Antikanker dan Toksisitas dengan Metode MTT	54
4.5.5.1 Penumbuhan dan Pemanenan Sel	54
4.5.5.2 Perhitungan Sel dan Perletakan Sel pada <i>Plate</i>	55
4.5.5.3 Perlakuan Sampel pada Sel	56
4.5.5.4 Pemberian Larutan MTT dan ELISA <i>Reader</i>	69
4.6 Skema Kerja Penelitian	61
4.7 Analisis Data	62
BAB V HASIL PEMBAHASAN	
5.1 Determinasi Tanaman	64
5.2 Preparasi Sampel.....	66
5.3 Uji Kadar Air dan Serbuk Simplisia <i>C. cinerariifolium</i>	68
5.4 Ekstraksi dengan Metode UAE.....	69
5.5 Identifikasi Senyawa <i>C. cinerariifolium</i> dengan KLT.....	71
5.6 Uji Aktivitas Antikanker dan Uji toksisitas menggunakan Metode MTT	76
5.7 Uji Indeks Seletivitas	88
5.8 Pemanfaatan <i>C. cinerariifolium</i> Berdasarkan Perspektif Islam	90
BAB VI PENUTUP	
6.1 Kesimpulan	93
6.2 Saran.....	94
DAFTAR PUSTAKA	95
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman krisan putih (<i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>)	15
Gambar 2.2 Struktur senyawa triterpen diol dan triol	18
Gambar 2.3 Struktur senyawa golongan flavonoid pada bunga <i>C. morifolium</i>	19
Gambar 2.4 Struktur senyawa golongan flavonoid pada bunga <i>C. morifolium</i>	20
Gambar 2.5 Struktur senyawa flavonoid	24
Gambar 2.6 Struktur kerangka isoprene	24
Gambar 2.7 <i>Cell Cycle</i>	31
Gambar 2.8 Jalur Apoptosis	36
Gambar 2.9 Reaksi MTT membentuk formazan	40
Gambar 3.1 Skema kerangka konseptual	43
Gambar 4.1 Pemetaan seri konsentrasi pada <i>plate 96 Well</i> untuk uji aktivitas antikanker terhadap sel T47D	58
Gambar 4.2 Pemetaan seri konsentrasi pada <i>plate 96 Well</i> untuk uji toksisitas terhadap sel vero.....	58
Gambar 4.3 Pemetaan seri konsentrasi pada <i>plate 96 Well</i> untuk doxorubicin sebagai kontrol positif	59
Gambar 4.4 Skema kerja penelitian.....	61
Gambar 5.1 Tanaman krisan putih (<i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>)	65
Gambar 5.2 Hasil pengeringan sampel <i>C. cinerariifolium</i>	67
Gambar 5.3 Serbuk Simplisia <i>C. cinerariifolium</i>	68
Gambar 5.4 Proses UAE serbuk simplisia <i>C. cinerariifolium</i>	70
Gambar 5.5 Ekstrak kental <i>C. cinerariifolium</i>	71
Gambar 5.6 Hasil identifikasi <i>C. cinerariifolium</i> dengan <i>TLC Visualyzer</i>	73
Gambar 5.7 Perbandingan efek penghambatan pertumbuhan sel T47D	79
Gambar 5.8 Perbandingan efek penghambatan pertumbuhan sel Vero	81
Gambar 5.9 Kristal formazan pada sel T47D	82
Gambar 5.10 Grafik nilai IC_{50} masing-masing sampel terhadap sel T47D.....	84
Gambar 5.11 Grafik nilai CC_{50} masing-masing sampel terhadap sel Vero.....	86

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Nama senyawa golongan flavonoid pada bunga <i>C. morifolium</i>	20
Tabel 2.2 Nama senyawa golongan flavonoid pada bunga <i>C. morifolium</i>	20
Tabel 5.1 Hasil pengeringan sampel	67
Tabel 5.2 Tabel hasil uji kadar air	79
Tabel 5.3 Hasil ekstrak pekat etanol 96% <i>C. cinerariifolium</i>	71
Tabel 5.4 Hasil identifikasi golongan senyawa <i>C.cinerariifolium</i>	75
Tabel 5.5 Nilai IC ₅₀ pada masing-masing sampel	84
Tabel 5.6 Nilai CC ₅₀ pada masing-masing sampel	86
Tabel 5.7 Nilai Indeks Selektivitas masing-masing Sampel	89

DAFTAR SINGKATAN

AIF	:	<i>Apoptosis Inducing Factor</i>
ANOVA	:	<i>Analysis of Variance</i>
Apaf	:	<i>Apoptotic protease activating factor</i>
BRCA	:	<i>Breast Cancer Susceptibility Gene</i>
CC ₅₀	:	<i>Cytotoxic Concentration</i>
Cdk	:	<i>Cyclin-dependent kinase</i>
CKI	:	<i>Cyclin dependent Kinase Inhibitor</i>
DMEM	:	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DMSO	:	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>
DNA	:	<i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
E2F	:	<i>Elongation Two Factor</i>
ELISA	:	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
ER	:	<i>Esterogen Reseptor</i>
FADD	:	<i>Fas Associated Death Domain</i>
HER-2	:	<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor 2</i>
IAP	:	<i>Inhibitor Apoptosis</i>
IC ₅₀	:	<i>Inhibitory Concentration</i>
LD ₅₀	:	<i>Lethal Dose</i>
MC	:	<i>Moisture Content</i>
MK	:	<i>Medium Komplit</i>
MTT	:	<i>Methylthiazol-2-yl-2,5-diphenyl tetrazolium bromide</i>
PBS	:	<i>Phosphat Buffer Saline</i>
PCNA	:	<i>Proliferating Cell Nuclear Antigen</i>
Rb	:	<i>Retinoblasma</i>
RPMI	:	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SDS	:	<i>Sodium Dodecyl Sulfate</i>
SI	:	<i>Selective Index</i>
Smac/DIABLO:		<i>Second mitochondria-derived activator of casepase/Direct Inhibitor of Apoptosis-binding Protein</i>
TNF	:	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
TRADD	:	<i>TNF-Reseptor Associated Death Domain</i>
TRAIL	:	<i>TNF Related Apoptosis Inducing Ligand</i>
UAE	:	<i>Ultrasonication Assisted Extraction</i>

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1.** Skema Kerja
- Lampiran 2.** Data Analisis Kadar Air
- Lampiran 3.** Perhitungan Rendemen
- Lampiran 4.** Perhitungan Sel
- Lampiran 5.** Perhitungan Larutan Stok Sampel dan Kontrol Positif
- Lampiran 6.** Perhitungan IC_{50} menggunakan Microsoft Excel 2007
- Lampiran 7.** Perhitungan CC_{50} menggunakan Microsoft Excel 2007
- Lampiran 8.** Perhitungan IC_{50} dan CC_{50} Kontrol Positif (Doxorubicin) menggunakan Microsoft Excel 2007
- Lampiran 9.** Uji ANOVA One Way menggunakan SPSS 15.0
- Lampiran 10.** Perhitungan Indeks Selektivitas
- Lampiran 11.** Hasil Identifikasi Senyawa menggunakan TLC *Visualyzer*
- Lampiran 12.** Dokumentasi Penelitian.
- Lampiran 13.** Hasil Determinasi Tanaman

ABSTRAK

Irawati, Santia. 2018. Pemprofilan Aktivitas Antikanker terhadap Sel Kanker Payudara (T47D) dan Toksisitas terhadap Sel Normal (Vero) pada Tanaman Krisan Putih (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)). Skripsi. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing : (I) Dr. Roihatul Muti'ah, M. Kes., Apt
(II) drg. Anik Listiyana, M. Biomed

Tanaman Krisan putih (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)) merupakan salah satu tanaman obat yang secara empiris telah digunakan oleh masyarakat sebagai obat berbagai macam jenis penyakit salah satunya sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antikanker dan toksisitas dari bunga, daun, batang, dan akar krisan putih (*C. cinerariifolium* (Trev.)) terhadap sel kanker payudara (T47D *cell line*) dan sel normal (*Vero cell line*). Metode ekstraksi yang digunakan adalah UAE. Masing-masing ekstrak diuji aktivitas antikanker terhadap sel T47D dan uji toksisitas terhadap sel Vero menggunakan metode MTT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium* memiliki perbedaan aktivitas antikanker dan toksisitas dengan taraf kepercayaan 95%. Aktivitas antikanker terhadap sel T47D berdasarkan nilai IC_{50} berturut-turut yaitu 728,33; 362,58; 168,46; dan 293,81 $\mu\text{g/mL}$. Selain itu, *C. cinerariifolium* memiliki perbedaan toksisitas terhadap sel Vero dengan nilai CC_{50} berturut-turut yaitu 701,46; 676,18; 569,18; dan 728,19 $\mu\text{g/mL}$, serta memiliki nilai SI berturut-turut yaitu 0,89; 1,86; 3,38; dan 2,47. Ekstrak yang dinyatakan selektif dalam membunuh sel kanker payudara (T47D) dan aman terhadap sel normal adalah ekstrak batang dengan nilai $SI > 3$ dan IC_{50} sebesar 168,46 $\mu\text{g/mL}$.

Kata Kunci : *C. cinerariifolium*, antikanker, toksisitas, sel T47D, dan sel Vero

ABSTRACT

Irawati, Santia. 2018. Profiling of Anticancer Activity against Breast Cancer Cells (T47D) and Toxicity against Normal Cells (Vero) in White Chrysanthemum (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)). Thesis. Study Program Pharmacy Faculty of Medicine and Health Sciences State Islamic University Maulana Malik Ibrahim Malang.

Advisors : (I) Dr. Roihatul Muti'ah, M. Kes., Apt
(II) drg. Anik Listiyana, M. Biomed

White chrysanthemum (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)) is one of the medicinal plants that has empirically been used by the community as a cure to various types of diseases, one of them as anticancer. The aim of this study was to investigate the differences in anticancer activity and toxicity of flowers, leaves, stems and roots of chrysanthemum (*C. cinerariifolium* (Trev.)) against breast cancer cells (T47D cell line) and normal cells (*Vero cell line*). The extraction method used is UAE. Each extract was tested for anticancer activity against T47D cells and toxicity test against Vero cells using MTT method. The results showed that the extract of flowers, leaves, stems, and roots of *C. cinerariifolium* had different anticancer activity and toxicity with 95% confidence level. Anticancer activity against T47D cells based on IC₅₀ values was 728,33; 362,58; 168,46; and 293,81 µg/mL. In addition, *C. cinerariifolium* has different toxicity to Vero cell with the value of CC₅₀ 701,46; 676,18; 569,18; and 728,19 µg/mL, and has SI value of 0,89; 1,86; 3,38; and 2,47. The extract that was declared and known to be selective in killing breast cancer cells (T47D) and safe against normal cells were stem extracts with SI > 3 and IC₅₀ values of 168.46 µg / mL.

Keywords: *C. cinerariifolium*, anticancer, toxicity, T47D cells, and Vero cells

مستخلص البحث

ابراواتي ، سانتيا. ٢٠١٨. نشاط مضادة السرطان في خلايا سرطان الثدي (T47D) وسمية خلايا طبيعية (Vero) بنبات الأقحوان الأبيض (*Chrysanthemum cinerariifolium*). البحث الجامعي. قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج.

المشرف الأول: د. رائحة المطيعة الماجستير. المشرف الثاني: أنيك لستيانا الماجستير.

نبات الأقحوان الأبيض هو من إحدى النباتات الطبية التي تم استخدامها تجريبيا من قبل المجتمع باعتباره دواء لمختلف الأمراض؛ أحدها مضادة السرطان. كان الهدف من هذا البحث هو معرفة الفرق بين نشاط مضادة السرطان والسمية باستخدام زهور الأقحوان الأبيض، وأوراقه، وجذوعه وجذوره على خلايا سرطان الثدي (T47D cell line) وخلايا طبيعية (Vero cell line). استخدمت الباحثة طريقة الموجة فوق الصوتية (Ultrasonic Assisted Extraction). وتم اختبار كل المستخرجات باستخدام طريقة MTT لمعرفة نشاط مضادة السرطان في خلايا T47D واختبار السمية في خلايا فيرو. وأظهرت نتائج الاختبار أن مستخرجة الزهور، والأوراق والجذوع والجذور من نبات الأقحوان الأبيض لها الفرق فيهما بالدرجة الأهمية ٩٥% . كان نشاط مضادة السرطان في خلايا T47D وفقا لقيمة IC_{50} على النحو التالي: ٣٣،٣٣؛ ٧٨٢،٥٨؛ ٣٦٢،٥٨ ؛ ١٦٨،٤٦ و ٢٩٣،٨١ ؛ ميكروغرام/ مل. بالإضافة إلى ذلك، أن الأقحوان الأبيض لها الفرق أيضا عند أجزاءه في سمية خلايا فيرو بقيمة CC_{50} على النحو التالي: ٧٠١،٤٦ ؛ ٦٧٦،١٨ ؛ ٥٦٩،١٨ ؛ و ٧٢٨،١٩ ميكروغرام/مل. ولها قيمة SI على النحو التالي: ٠،٨٩ ؛ ٣،٣٨؛ ١،٨٦ ؛ و ٢،٤٧. المستخرجة التي قررت بالمعيار الانتقائي لقتل خلايا سرطان الثدي (T47D) والأمنة ضد الخلايا الطبيعية هي مستخرجة الجذوع بقيمة SI أقل من ٣ و $SI > 3$ وقيمة IC_{50} تبلغ ١٦٨،٤٦ ميكروغرام/ مل.

الكلمات الرئيسية: نبات الأقحوان الأبيض، نشاط، مضادة السرطان، خلايا T47D ، خلايا فيرو.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikaruniai kekayaan dan keanekaragaman sumber daya hayati yang berpotensi untuk dikembangkan salah satunya sebagai bahan baku obat (BAPPENAS, 2016). Beribu pulau dengan keanekaragaman tumbuhan yang terdapat di Indonesia tentu saja dapat menjadi potensi besar dalam pemanfaatan sumber obat-obatan. Hal ini juga didukung oleh kebiasaan masyarakat setempat dalam menggunakan berbagai macam tumbuhan sebagai obat tradisional. Pemanfaatan obat tradisional diberbagai daerah di Indonesia merupakan warisan turun temurun yang telah digunakan sejak berabad-abad yang lalu (KOTRANAS, 2007).

Keanekaragaman hayati diciptakan oleh Allah SWT supaya dapat dimanfaatkan dengan baik oleh manusia. Hal tersebut merupakan rahmat yang diberikan Allah SWT terhadap manusia yang sebagaimana di jelaskan dalam Al-Qur`an surah Thaha ayat 53 sebagai berikut :

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ
أَنْوَاجًا مِّنْ 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”* (QS. Thaha: 53).

Menurut tafsir Al-Wasith Surah Thaha ayat 53 menjelaskan bahwa Allah SWT telah menjadikan bumi terhampar seperti permadani dengan menjadikan kehidupan manusia yang mudah, nyaman dan tenang. Kemudian Allah menurunkan hujan dari langit, mengeluarkan berbagai macam tumbuhan dan buah yang beranekaragam rasa, warna, dan aromanya, sebagiannya bagi manusia dan sebagian yang lain bagi hewan. Hal ini merupakan tanda-tanda keesaan Allah SWT bagi orang-orang yang berakal (Az-Zuhaili, 2013).

Maha besar Allah SWT yang telah menciptakan beranekaragam jenis tumbuhan yang mampu tumbuh di bumi ini dengan adanya air hujan. Berbagai jenis tumbuhan tersebut merupakan fenomena alam yang harus dikembangkan dan dimanfaatkan sepenuhnya oleh manusia yang mau berfikir (Savitri, 2008). Salah satu pemanfaatan tanaman sebagai tanaman obat dan sebagai sumber daya alam bahan obat di Indonesia merupakan aset nasional yang perlu terus digali, diteliti, dikembangkan, dan dioptimalkan pemanfaatannya (KOTRANAS, 2007). Salah satu tumbuhan yang secara empiris digunakan sebagai obat dan mempunyai banyak manfaat adalah tanaman krisan atau dikenal juga dengan nama krisantemum.

Genus *Chrysanthemum* termasuk dalam familia *asteraceae* memiliki berbagai macam spesies di dunia (Boutaghane dkk., 2013). Tanaman krisan sering dimanfaatkan sebagai tanaman hias disamping itu, tanaman krisan juga

dimanfaatkan sebagai obat-obatan dan sebagai insektisida. Bunga dari tanaman krisan dikenal dengan bunga yang indah dan memiliki berbagai bentuk, ukuran dan warna (Kalia dkk., 2016). Bunga krisan yang indah tersebut juga dibudidayakan dan dimanfaatkan sebagai ramuan kesehatan. Salah satu bentuk ramuan kesehatan yang sering dijumpai adalah ramuan teh krisan, dimana yang dimanfaatkan sebagai ramuan adalah bagian bunga krisan yang berwarna kuning dan putih (Asrini, 2012). Dibeberapa negara krisantemum digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati inflamasi, sakit kepala, vertigo, iritasi pada mata, hipertensi dan penyakit pernafasaan. Salah satu tanaman krisan yang sering dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat adalah tanaman krisan putih (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)). Sebuah penelitian terbaru menyebutkan bahwa krisantemum memiliki aktivitas antikanker yang kuat (Boutaghane dkk., 2013). Menurut Ukiya dkk. (2002) ditemukan senyawa paling dominan pada tanaman chrysanthemum yaitu senyawa golongan terpenoid dan senyawa golongan flavonoid.

Senyawa golongan flavonoid dan golongan terpenoid selain berperan sebagai senyawa antioksidan (Wang dkk., 2013) juga dapat berperan sebagai antikanker. Pada kanker payudara senyawa golongan flavonoid dan golongan terpenoid berperan dalam menghambat mutasi gen p53 sehingga mencegah terjadinya proliferasi sel yang berlebihan dan dapat meningkatkan apoptosis sel (Bishayee dkk., 2011) dan (Cantero dkk., 2006). Hasil studi *in vitro* antiproliferatif tanaman krisan kuning (*Chrysanthemum coronarium*) menyatakan bahwa *C. coronarium* secara efektif dapat menghambat pertumbuhan berbagai

macam sel tumor seperti sel T47D, Sel MCF-7, Sel Caco-2, dan sel Hela berdasarkan nilai LD_{50} berturut-turut yaitu $75\pm 5 \mu\text{g/mL}$, $82\pm 8 \mu\text{g/mL}$, $43\pm 6 \mu\text{g/mL}$, dan $110\pm 8 \mu\text{g/mL}$ (Bardaweel dkk., 2015). Hasil penelitian uji aktivitas antitumor ekstrak bunga krisan merah (*Chrysanthemum kunlun*) secara *in vitro* menyatakan bahwa ekstrak bunga *C. kunlun* dapat menghambat pertumbuhan sel Eca-109, sel H22, dan sel Hela berdasarkan nilai IC_{50} berturut-turut yaitu $260,4\pm 0,06887 \mu\text{g/mL}$, $113,3\pm 0,08062 \mu\text{g/mL}$, dan $70,96\pm 0,05409 \mu\text{g/mL}$ (Jing dkk., 2015).

Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama diseluruh dunia. Pada tahun 2012, kanker menjadi penyebab kematian sekitar 8,2 juta orang. Berdasarkan data GLOBACON, *International Agency for Research on Cancer* (IARC) diketahui bahwa pada tahun 2012 terdapat 14.067.894 kasus baru kanker dan 8.201.575 kematian akibat kanker diseluruh dunia. Sementara di Indonesia Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) yang dilaksanakan oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI tahun 2013, didapatkan bahwa prevalensi penderita kanker pada penduduk semua umur di Indonesia sebesar 1,4% dengan prevalensi kanker tertinggi berada pada Provinsi DI Yogyakarta, yaitu sebesar 4,1%. Sedangkan prevalensi kanker pada Provinsi Jawa Timur diketahui sebesar 1,6%. Salah satu penyakit kanker yang banyak diderita terutama oleh perempuan adalah kanker payudara. Pada tahun 2012 kanker payudara menempati urutan kedua dengan presentase kasus baru tertinggi di dunia sebesar 43,3% dan presentase kematian tertinggi mencapai di dunia mencapai 12,9% (Kemenkes RI, 2015). Sementara di Indonesia, pada tahun

2013 kanker payudara merupakan penyakit kanker dengan prevalensi tertinggi sebesar 0,5%. Sedangkan prevalensi kanker payudara di Provinsi Jawa Timur sebesar 0,5%. Selain itu, Provinsi Jawa Timur diketahui memiliki estimasi jumlah penderita kanker payudara terbesar di Indonesia dengan estimasi jumlah kanker payudara sebanyak 9.688 kasus (Kemenkes RI, 2015).

Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan beberapa cara seperti pembedahan, terapi sistemik (kemoterapi), terapi hormonal, dan radioterapi. Namun dalam pengobatan tersebut sangat rentan dengan timbulnya efek samping. Sebagai contoh efek samping kemoterapi yang timbul karena obat-obat kemoterapi yang sangat kuat adalah tidak hanya membunuh sel kanker, tetapi juga menyerang sel-sel normal terutama sel-sel yang membelah dengan cepat dan dapat menimbulkan toksikologi berat karena terapi kemoterapi merupakan toksin yang memberikan ancaman terhadap sel normal (Harvey and Champe, 2004). Akibat toksin tersebut sel kanker menjadi lebih ganas dan menjadi salah satu penyakit yang mematikan. Selain itu, pengobatan berbasis bahan kimia membutuhkan biaya yang cukup mahal (Kalia dkk., 2016). Oleh karena itu, pemanfaatan tanaman obat dalam hal ini sangat diperlukan sebagai pilihan terapi obat antikanker (Javed dkk., 2009).

Pemanfaatan tanaman obat dewasa ini telah menjadi isu *back to nature*, masyarakat Indonesia cenderung beralih ke pengobatan secara tradisional. Masyarakat semakin memahami kelebihan penggunaan obat tradisional, seperti kemudahan dalam memperoleh bahan, harga yang lebih murah dan mempunyai

efek samping yang minimal (Kemendag RI, 2014). Selain itu, tanaman obat dilaporkan lebih aman dibandingkan dengan obat sintetik (Javed dkk., 2009).

Berdasarkan uraian diatas maka penelitian ini penting dilakukan pemprofilan aktivitas antikanker dan toksisitas pada bagian akar, batang, daun, dan bunga *C. cinerariifolium* (Trev.), untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan aktivitas dan toksisitas antikanker pada tiap bagian tanaman *C. cinerariifolium* (Trev.). Pada bagian akar, batang, daun, dan bunga *C. cinerariifolium* (Trev.) diduga memiliki perbedaan kandungan senyawa, hal ini disebabkan karena pada umumnya kandungan senyawa berasal dari organ tumbuhan spesifik pada suatu spesies tanaman. Organ tumbuhan yang sering digunakan yaitu pada bagian bunga, daun, biji, rimpang, kulit kayu, batang, akar, dan buah (Dokuparthi and Manikanta, 2015).

Tanaman krisan putih *C. cinerariifolium* (Trev.) yang digunakan sebagai sampel pada penelitian berasal dari daerah Nongkojajar Kabupaten Pasuruan. Akar, batang, daun, dan bunga tanaman *C. cinerariifolium* di ekstraksi dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) menggunakan pelarut etanol 96%. Pemprofilan aktivitas dan toksisitas pada penelitian ini dilakukan secara *in vitro* terhadap kultur sel menggunakan metode *MTT assay*, dimana profiling aktivitas antikanker diujikan terhadap kultur sel T47D berdasarkan nilai IC_{50} menggunakan ANOVA *one way* sedangkan profiling toksisitas diujikan terhadap kultur sel Vero berdasarkan nilai CC_{50} menggunakan ANOVA *one way*. Nilai IC_{50} dan CC_{50} yang diperoleh di uji selektivitas menggunakan *Selectivity Index* (SI) yang bertujuan untuk mengetahui apakah pemberian akar, batang, daun, dan bunga tanaman *C.*

cinerariifolium bersifat selektif dalam membunuh sel T47D dan bersifat aman terhadap sel Vero (Mutiah, 2017). Hasil dari penelitian ini diharapkan terdapat perbedaan aktivitas dan toksisitas dari akar, batang, daun, dan bunga tanaman krisan putih *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.), serta memiliki selektivitas antikanker sehingga dapat diketahui tingkat efikasi dan keamanan ekstrak *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) sebagai obat antikanker.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Apakah terdapat aktivitas antikanker pada akar, batang, daun, dan bunga *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) terhadap sel kanker payudara (T47D *cell line*) berdasarkan nilai IC_{50} ?
2. Apakah terdapat perbedaan aktivitas antikanker dari akar, batang, daun, dan bunga *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) terhadap sel kanker payudara (T47D *cell line*) berdasarkan nilai IC_{50} ?
3. Apakah terdapat toksisitas dari akar, batang, daun, dan bunga *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) terhadap sel normal (Vero *cell line*) berdasarkan nilai CC_{50} ?
4. Apakah terdapat perbedaan toksisitas antikanker dari akar, batang, daun, dan bunga *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) terhadap sel normal (Vero *cell line*) berdasarkan nilai CC_{50} ?

5. Berapakah nilai indeks selektivitas dari akar, batang, daun, dan bunga *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) dalam membunuh sel kanker payudara (T47D *cell line*) dan bersifat non toksik terhadap sel normal (Vero *cell line*)?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan aktivitas antikanker dan toksisitas dari akar, batang, daun, dan bunga tanaman krisan putih (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)) terhadap sel kanker payudara (T47D *cell line*) dan sel normal (Vero *cell line*) berdasarkan nilai IC₅₀ dan CC₅₀ serta untuk mengetahui nilai indeks selektivitas dalam membunuh sel kanker payudara dan bersifat non toksik terhadap sel normal.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui apakah terdapat aktivitas antikanker dari bunga, daun, batang, dan akar *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) terhadap sel kanker payudara (T47D *cell line*) berdasarkan nilai IC₅₀.
2. Untuk mengetahui perbedaan aktivitas antikanker dari bunga, daun, batang, dan akar tanaman krisan putih (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)) terhadap sel kanker payudara (T47D *cell line*) berdasarkan nilai IC₅₀.

3. Untuk mengetahui apakah terdapat toksisitas dari bunga, daun, batang, dan akar *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) terhadap sel normal (Vero *cell line*) berdasarkan nilai CC_{50} .
4. Untuk mengetahui perbedaan toksisitas dari bunga, daun, batang, dan akar tanaman krisan putih (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)) terhadap sel normal (Vero *cell line*) berdasarkan nilai CC_{50} .
5. Untuk mengetahui nilai indeks selektivitas dari bunga, daun, batang, dan akar tanaman krisan putih (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)) dalam membunuh sel kanker payudara (T47D *cell line*) dan bersifat non toksik terhadap sel normal (Vero *cell line*).

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai perbedaan aktivitas dan toksisitas antikanker dari akar, batang, daun, dan bunga *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.), serta memiliki selektivitas antikanker sehingga dapat diketahui tingkat efikasi dan keamanan ekstrak *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) sebagai obat antikanker.

1.4.2 Manfaat Aplikatif

Penelitian ini diharapkan dapat dilanjutkan dengan penelitian klinis sehingga dapat dijadikan pilihan terapi dalam pengobatan kanker.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) diperoleh dari daerah Nongkojajar Kabupaten Pasuruan, bagian tanaman yang digunakan meliputi akar, batang, daun dan bunga.
2. Ekstraksi tanaman krisan putih *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) dilakukan dengan metode *Ultrasonication Assisted Extraction* (UAE) menggunakan pelarut etanol 96%.
3. Uji aktivitas antikanker dilakukan berdasarkan nilai IC_{50} terhadap sel kanker payudara (T47D *cell line*) yang diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
4. Uji toksisitas dilakukan berdasarkan nilai CC_{50} terhadap sel normal (Vero *cell line*) yang diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
5. Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antikanker dan uji toksisitas adalah metode MTT *assay*.
6. Indeks selektivitas digunakan untuk mengukur kemampuan ekstrak dalam membunuh sel kanker (T47D *cell line*) secara selektif dan bersifat nontoksik terhadap sel normal (Vero *cell line*) dengan nilai $SI > 3$.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Tanaman Menurut Perspektif Islam

Allah SWT menciptakan alam dan seluruh isinya mempunyai hikmah yang sangat besar, semuanya tidak ada yang sia-sia dalam penciptaanNya. Manusia diberikan kesempatan yang sebanyak-banyaknya untuk mengambil manfaat yang dari hewan maupun tumbuhan (Savitri, 2008). Allah SWT berfirman dalam Q.S Az-Zumar ayat 21 sebagai berikut :

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنْبِيعَ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا مُخْتَلِفًا
 أَلْوَانُهُ ثُمَّ يَهَيِّجُ فَتَرْتَهُ مُصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُ حُطْمًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرَى لِأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿٢١﴾

Artinya: “Apakah kamu tidak memperhatikan, bahwa Sesungguhnya Allah menurunkan air dari langit, maka diaturNya menjadi sumber-sumber air di bumi kemudian ditumbuhkan-Nya dengan air itu tanam-tanaman yang bermacam-macam warnanya, lalu menjadi kering lalu kamu melihatnya kekuning-kuningan, kemudian dijadikan-Nya hancur berderai-derai. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat pelajaran bagi orang-orang yang mempunyai akal” (QS. Az-Zumar: 21).

Surah Az-Zumar ayat 21 menjelaskan bahwa Allah SWT memerintahkan manusia untuk merenungkan dan memperhatikan keanekaragaman serta keindahan ciptaan-ciptaanNya yang amat menakjubkan. Allah SWT telah menciptakan beranekaragam jenis tumbuhan diciptakan oleh Allah SWT yang mampu tumbuh di bumi ini dengan adanya air hujan. Keanekaragaman tumbuhan tersebut tentunya bermanfaat bagi manusia (Savitri, 2008), salah satu manfaat tumbuhan bagi manusia adalah sebagai obat-obatan yang dapat mencegah dan

mengobati penyakit, sebagaimana dalam sabda Nabi Muhammad SAW dalam HR. Imam Muslim dari Jabir bin Abdillah :

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أَصَابَ الدَّوَاءُ الدَّاءَ، بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: “Setiap penyakit pasti ada obatnya, bila sebuah obat sesuai dengan penyakitnya maka dia akan sembuh dengan seizin Allah Subhanallahu wa Ta’ala.” (HR. Imam Muslim).

Sabda Nabi Muhammad SAW dalam Shahih Al-Bukhari dan Muslim dari ‘Atha, dari Abu Hurairah bahwa Rasulullah SAW bersabda :

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنْ دَاءٍ، إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: “Tidaklah Allah menurunkan suatu penyakit, melainkan Dia menurunkan pula obatnya.” (HR. Bukhari Muslim).

Kedua hadits tersebut menunjukkan bahwa betapa adilnya Allah yang memberikan suatu penyakit disertai dengan penawarnya (obat) (Muhammad, 2007). Salah satu obat yang digunakan sebagai penawar penyakit adalah tanaman (Savitri, 2008), sebagaimana tercantum dalam QS. Asy-Syu’ara ayat 7 sebagai berikut :

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

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan dibumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”(QS. Asy-Syu’araa: 7).

Menurut tafsir Al-Qurthubi Surah Asy-Syu’araa ayat 7 menjelaskan bahwa Allah memperingatkan akan keagungan dan kekuasaan-Nya, bahwa jika mereka melihat dengan hati dan mata mereka niscaya mereka mengetahui bahwa Allah

adalah yang berhak untuk disembah, karena Maha Kuasa atas segala sesuatu. Allah SWT yang mengeluarkan dan menumbuhkan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik di bumi (Al-Qurthubi, 2009).

Maha sempurna Allah atas segala yang diciptakannya, salah satunya adalah tumbuhan yang baik itu yang bermanfaat bagi makhluk hidup termasuk tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan. Tumbuhan yang beranekaragam bentuk dan jenis, berbagai bagian dari tumbuhan seperti bagian akar, batang, daun, bunga, buah, biji, dan rimpang dapat dimanfaatkan sebagai obat berbagai penyakit. Hal ini merupakan anugerah Allah SWT yang harus dipelajari dan dimanfaatkan (Savitri, 2008), sebagaimana tercantum dalam QS. Al-Qashash ayat 57 sebagai berikut :

وَقَالُوا إِن نَّتَّبِعِ الْهُدَىٰ مَعَكَ نُتَخَطَّفَ مِنْ أَرْضِنَا أَوَلَمْ نُمَكِّنْ لَهُمْ حَرَمًا آمِنًا يُحْيِي إِلَيْهِ
ثَمَرَاتُ كُلِّ شَيْءٍ رِّزْقًا مِنْ لَدُنَّا وَلَكِنَّ أَكْثَرَهُمْ لَا يَعْلَمُونَ ﴿٥٧﴾

Artinya: “Dan mereka berkata: “Jika kami mengikuti petunjuk bersama kamu, niscaya kami akan di usir dari negeri kami”. Dan apakah kami tidak meneguhkan kedudukan mereka dalam daerah Haram (tanah suci) yang aman, yang didatangkan ketempat itu buah-buahan dari segala macam (tumbuh-tumbuhan) untuk menjadi rezeki (bagimu) dari sisi kami? Tetapi kebanyakan mereka tidak mengetahui” (QS. Al-Qashash: 57).

Surah Al-Qashash ayat 57 mengisyaratkan supaya manusia mau memanfaatkan beranekaragam tumbuhan di bumi dengan cara mempelajari berbagai tumbuhan yang menjadi rezeki, yang memberikan manfaat bagi kehidupan. Tumbuhan menjadi rezeki bagi makhluk hidup karena tumbuhan merupakan bahan pangan, bahan sandang, papan, dan bahan obat-obatan (Savitri, 2008).

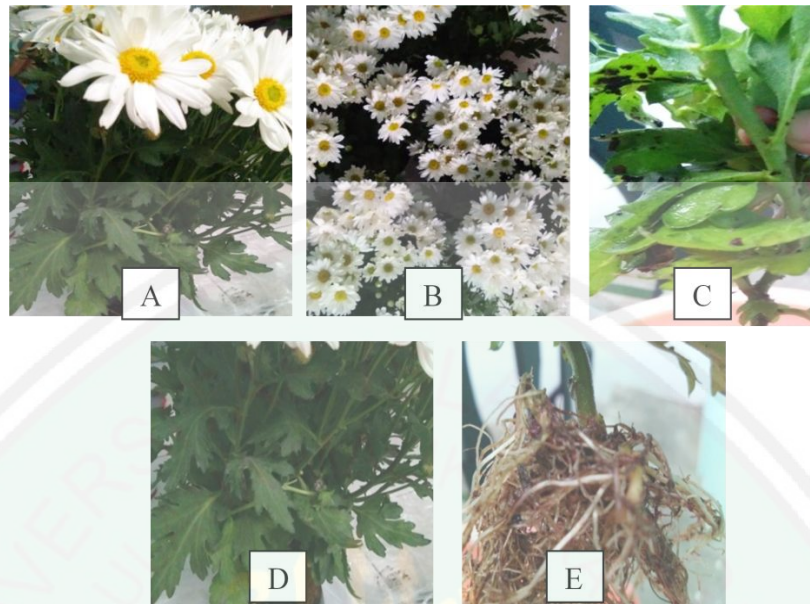
2.2 Tinjauan Tentang *Chrysanthemum cinerariifolium*

2.2.1 Klasifikasi Tanaman

Chrysanthemum merupakan tanaman familia asteraceae, dikenal dengan nama tanaman krisan. Bunga dari tanaman ini dikenal dengan bunga yang indah serta memiliki berbagai bentuk, ukuran dan warna. Tanaman krisan ini disamping dimanfaatkan sebagai tanaman hias yang ramah lingkungan, juga dimanfaatkan sebagai insektisida dan obat-obatan. Salah satu tanaman krisan yang sering dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat adalah tanaman krisan putih (*Chrysanthemum cinerariifolium*) (Kalia dkk., 20016).

Secara taksonomi, tanaman krisan putih memiliki jalur klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Asterales
Familia	: Asteraceae
Genus	: <i>Chrysanthemum</i>
Spesies	: <i>Chrysanthemum cinerariifolium</i> (Trev.) Vis.
Nama Umum	: Krisan; Seruni; Piretri; Krisantemum



Gambar 2.1 : Tanaman krisan putih (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)); A. Tanaman herba *C. cinerariifolium*; B. Bunga *C. cinerariifolium*; C. Batang *C. cinerariifolium*; D. Daun *C. cinerariifolium*; E. Akar *C. cinerariifolium*.

Krisan atau dikenal juga dengan seruni bukan tanaman asli Indonesia. Terdapat 1000 varietas krisan yang tumbuh didunia. Beberapa varietas krisan yang dikenal antara lain adalah *C. daisy*, *C. indicum*, *C. coccineum*, dan *C. parthenium*. Varietas krisan yang banyak ditanam di Indonesia umumnya diintroduksi dari luar negeri, terutama dari Belanda, Amerika Serikat dan Jepang (Rukmana & Maulana, 1997).

Selain sebagai tanaman hias, bunga krisan juga dibudidayakan sebagai ramuan kesehatan. Minuman teh krisan juga telah banyak dijumpai. Krisan yang dijadikan minuman adalah krisan berwarna kuning dan putih. Selain diolah menjadi teh, bunga dan daun krisan juga dapat diolah menjadi makanan sedap dan berkhasiat. Konon beberapa bagian tanaman krisan juga mengandung zat antioksidan (Asrini, 2012).

2.2.2 Morfologi Tanaman

Tanaman krisan putih (*C. cinerariifolium*) merupakan tanaman habitus terna, yang memiliki tingi 0,5-1 m. Batang dari tanaman *C. cinerariifolium* berbentuk bulat, tegak, sedikit bercabang, permukaan kasar, dan berwarna hijau. Bunga dari tanaman *C. cinerariifolium* berbentuk bunga cawan yang tergolong dalam bunga majemuk tak terbatas, dimana ujung tangkainya melebar dan merata sehingga membentuk seperti cawan. Pada bagian cawan tersebut tersusun bunga (Rosanti, 2008).

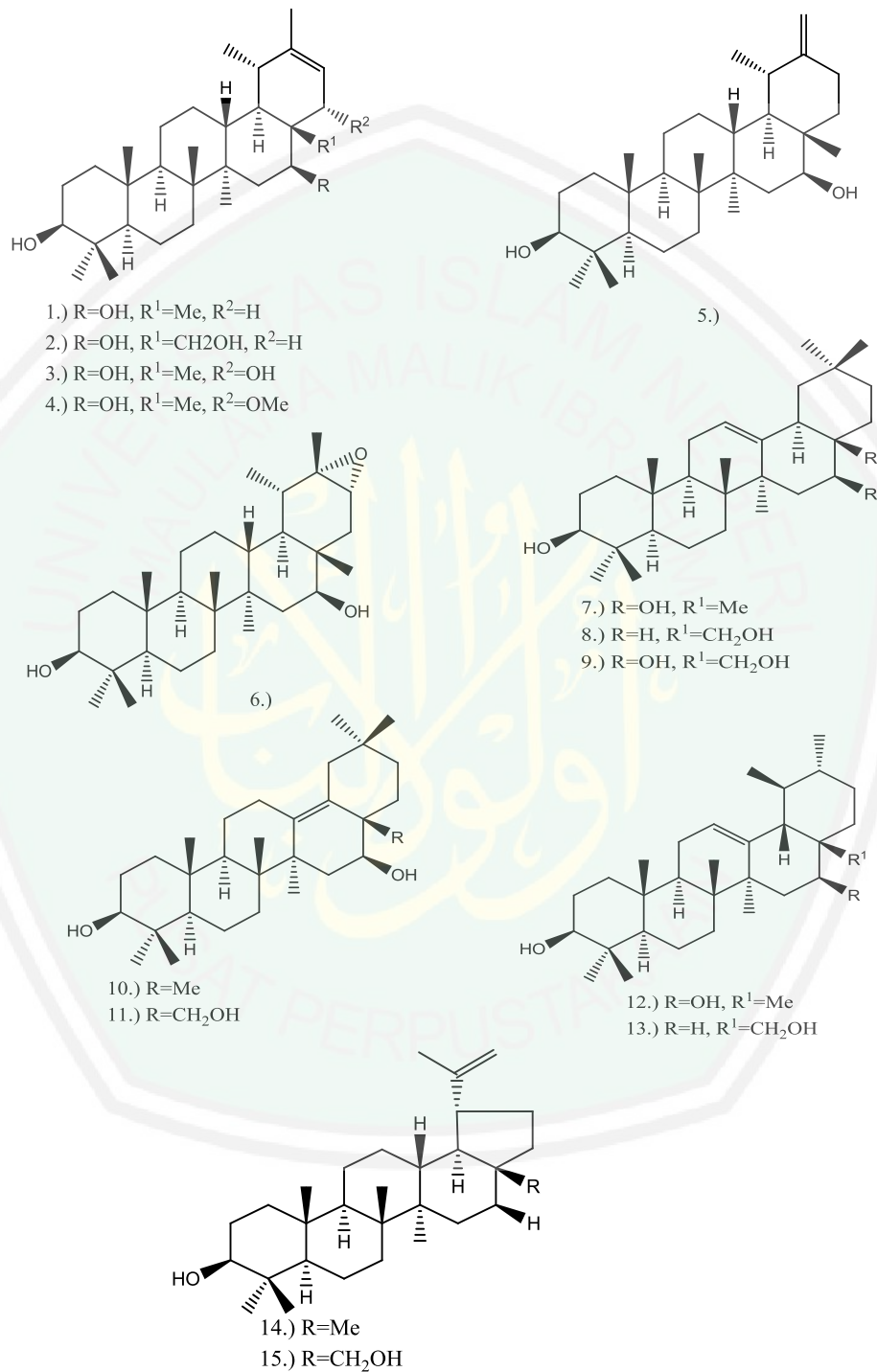
Daun *C. cinerariifolium* berbentuk daun tunggal, berseling, lonjong, ujung runcing, pangkal membulat, tepi bertoreh, panjang 7-13 cm, dan lebar 3-6 cm, pertulangan menyirip, tebal, permukaan kasar, dan berwarna hijau. Sedangkan akar tanaman *C. cinerariifolium* merupakan akar tunggang, berwarna putih (No. Determinasi 074/374/102.7/2017).

2.2.3 Kandungan Kimia

Tanaman *Chrysanthemum* familia *asteraceae* mengandung banyak senyawa terpenoid, sesquiterpen, derivat dihidrochrysanolide, polyasetilen, flavonoid, fenolik, asam lemak tidak jenuh, dan senyawa kompesterol dan sterol (Chae, 2016).

Hasil isolasi fraksi metanol NSL (*Non-Saponifiable Lipid*) ekstrak bunga *C. morifolium* menunjukkan bahwa bunga krisan mengandung 15 senyawa golongan terpenoid, diantaranya yaitu 1). Faradiol (taraxast-20-ene-3 β , 16 β -diol); 2). Heliantriol B₀ (taraxast-20-ene-3 β , 16 β , 28-triol); 3). Heliantriol C (taraxast-20-ene-3 β , 16 β , 22 α -triol); 4). 22 α -methoxyfaradiol (22 α -methoxytaraxast-20-

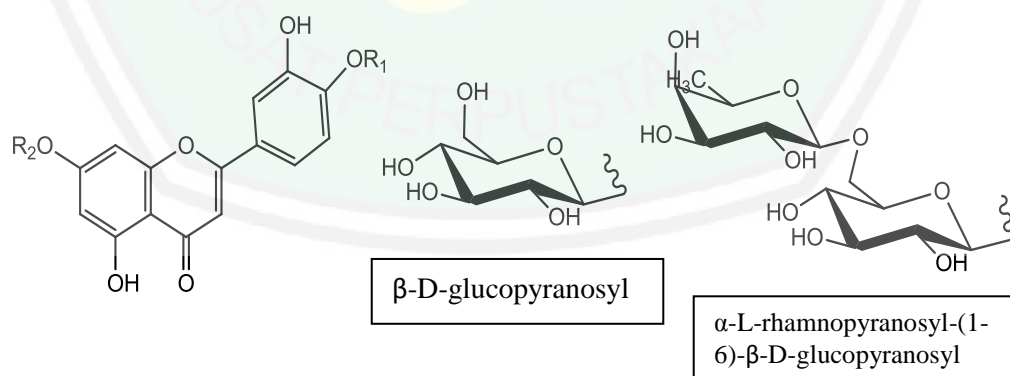
ene-3 β , 16 β -diol); 5). Arnidiol (taraxast-20(30)-ene-3 β , 16 β -diol); 6). Faradiol α -poxide ((20*R*,21*S*)-20,21-epoxytaraxastane-3 β , 16 β -diol); 7). Maniladiol (olean-12-ene-3 β , 16 β -diol); 8). Erythrodiol (olean-12-ene-3 β , 28-diol); 9). Longispinogenin (olean-12-ene-3 β , 16 β , 28-triol); 10). Coflodiol (olean-13(18)-ene-3 β , 16 β -diol); 11). heliantriol A1 (olean-13(18)-ene-3 β , 16 β , 28-triol); 12). Brein (urs-12-ene-3 β , 16 β -diol); 13). Uvaol (urs-12-ene-3 β ,28-diol); 14). Calenduladiol (lup-20(29)-ene-3 β , 16 β -diol); 15). and heliantriol B2 (lup-20(29)-ene-3 β , 16 β , 28-triol) (Ukiya dkk., 2002).



Gambar 2.2 : Struktur senyawa triterpen diol dan triol.

Hasil identifikasi senyawa pada tanaman *C. trifurcatum* menyatakan bahwa terdapat 50 total senyawa yang teridentifikasi, mengandung 97,84%, 99,02%, dan 98,20% total komposisi dari daun, batang, dan akar *C. trifurcatum*. Pada daun dan batang *C. trifurcatum* banyak mengandung senyawa monoterpen hidrokarbon dengan rasio masing-masing 67,88% dan 51,29%. Sedangkan pada akar *C. trifurcatum* banyak mengandung senyawa sesquiterpen hidrokarbon sebanyak 70,30% (Sassi dkk., 2014).

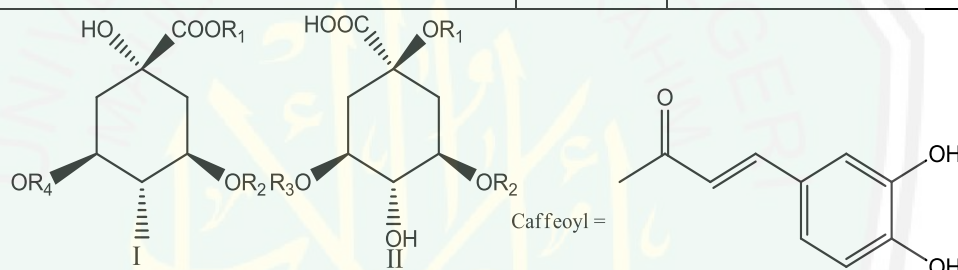
Isolasi ekstrak etanol 95% bunga *Chrysanthemum morifolium* menunjukkan bahwa bunga *C. morifolium* mengandung 10 senyawa golongan flavonoid, diantaranya yaitu 1). 7-(6^N-O-*p*-Hydroxyphenylacetyl)-O-β-D-glucopyranoside; 2). Diosmetin; 3) Diosmetin 7-O-β-D-glucopyranoside; 4). Diosmin; 5). Scolimoside; 6). Derivat caffeoylquinic acid dan macranthoin F; 7). 3-5-dicaffeoylquinic acid; 8). 1,3-dicaffeoyl-*epi*-quinic acid; 9). Chlorogenic acid; dan 10). Luteolin (Xie dkk., 2009).



Gambar 2.3 Struktur senyawa golongan flavonoid pada bunga *C. morifolium*.

Tabel 2.1 Nama senyawa golongan flavonoid pada bunga *C. morifolium*

Senyawa	R ₁	R ₂
diometin 7-(6"-O-p-hydroxyphenylacetyl)-O-β-D-glucopyranoside (1)	CH ₃	6"-O-p-hydroxyphenylacetyl-glc
luteolin (2)	H	H
diosmetin (3)	CH ₃	H
diosmetin 7-O-β-D-glucopyranoside (4)	CH ₃	-glc
diosmin (5)	CH ₃	-glc-rhm
scolimoside (6)	OH	-glc-rhm

**Gambar 2.4** Struktur senyawa golongan flavonoid pada bunga *C. morifolium*.**Tabel 2.2** Nama senyawa golongan flavonoid pada bunga *C. morifolium*

Senyawa		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Macranthonin F (7)	I	H	caffeoyl	H	caffeoyl
3,5-dicaffeoylquinic acid (8)	I	H	caffeoyl	caffeoyl	H
1,3-dicaffeoyl-epi-quinic acid (9)	II	CH ₃	caffeoyl	H	H
Chlorogenic acid (10)	I	CH ₃	H	H	caffeoyl

Hasil analisis UPLC-MS/MS tanaman *C. morifolium* terdapat 24 komponen senyawa yang terdeteksi yang terdiri dari 12 senyawa asam hidroksicinnamoylquinat dan 12 senyawa golongan flavonoid yang terdiri dari 9 senyawa glikosida dan 3 senyawa aglikon (Bi dkk., 2016).

2.3 Tinjauan Tentang Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Metode ekstraksi terdiri dari beberapa macam diantaranya yaitu, perkolasi, maserasi, sokhletasi, refluks, digesti, dekok (Ditjen POM, 2000).

Metode ekstraksi konvensional terdiri dari beberapa macam, seperti pemanasan, perebusan, atau ekstraksi refluks. Namun metode ekstraksi konvensional memiliki kerugian seperti senyawa yang terekstrak dalam tanaman mengalami oksidasi, ionisasi, dan hidrolisis selama waktu ekstraksi, karena ekstraksi konvensional mempunyai kelemahan dengan waktu yang lama. Sedangkan metode ekstraksi yang modern seperti *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) merupakan teknik ekstraksi yang efisien, sangat berguna untuk senyawa termolabil, dan tidak stabil. Metode ekstraksi UAE ini juga memiliki kelebihan mampu mengekstraksi dalam waktu yang lebih singkat (Xie dkk., 2009).

UAE merupakan metode ekstraksi yang efisien dan mampu mengekstraksi senyawa dalam waktu yang singkat. Gelombang yang dihasilkan mampu mengubah materi secara fisik maupun kimia dengan meningkatkan penetrasi pelarut kedalam serbuk simplisia padat. Kavitasasi getaran pada UAE menghasilkan suhu dan tekanan tinggi untuk mendapatkan energi, sehingga mampu

mengekstraksi senyawa-senyawa target tertentu dari serbuk simplisia. Beberapa studi terbaru menunjukkan bahwa metode UAE dapat mempercepat laju ekstraksi dan meningkatkan hasil lebih banyak sekitar 10% (Kumcuoglu dkk., 2014).

2.4 Tinjauan Tentang Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan fisikokimia. KLT merupakan bentuk kromatografi planar. Pada KLT fase diamnya berupa lapisan yang seragam (*uniform*) pada permukaan bidang datar didukung dengan lempeng kaca, plat aluminium, atau plat plastik (Rohman, 2007). Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan yang ditotolkan pada fase diam berupa bercak atau pita. Kemudian fase diam dimasukkan kedalam bejana tertutup rapat berisi larutan pengembang (fase gerak) (Stahl, 1985). Fase gerak akan bergerak sepanjang fase diam yang disebabkan karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara mekanik (*ascending*) atau disebabkan karena pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*) (Rohman, 2007).

KLT memiliki beberapa keuntungan yaitu (Rohman, 2007) :

- a. KLT banyak digunakan untuk tujuan analisis.
- b. Identifikasi pemisahan dapat dilakukan dengan pereaksi warna, fluoresensi, atau dengan radiasi menggunakan sinar ultra violet.
- c. Dapat dilakukan eluasi secara menaik (*ascending*), menurun (*descending*), atau dengan cara eluasi 2 dimensi.
- d. Ketepatan penentuan kadar akan lebih baik karena komponen yang akan ditentukan berupa bercak yang tidak bergerak.

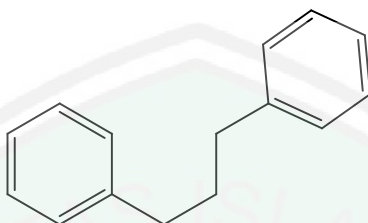
Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel, maka efisiensi dan resolusinya semakin baik (Rohman, 2007). Sedangkan fase gerak pada KLT dapat dipilih dari pustaka, tetapi lebih sering dengan optimasi atau mencoba-coba karena waktu yang diperlukan hanya sebentar. Sistem yang paling sederhana adalah campuran 2 pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut dapat memisahkan komponen secara optimal. Berikut beberapa petunjuk dalam memilih dan mengoptimasi fase gerak (Rohman, 2007) :

- a. Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif.
- b. Daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga harga R_f terletak antara 0,2-0,8 untuk memaksimalkan pemisahan.
- c. Untuk pemisahan dengan menggunakan fase diam polar seperti silika gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi dan menentukan nilai R_f .

2.5 Tinjauan Tentang Flavonoid

Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang terdiri dari $C_6-C_3-C_6$. Flavonoid umumnya terdapat pada tanaman sebagai glikosida (Sirait, 2007). Senyawa flavonoid tergolong dalam kelompok senyawa fenol. Senyawa golongan flavonoid diklasifikasikan menjadi beberapa jenis seperti flavon, flavanol,

flavanon, flavanonol, isoflavon, calkon, dihidrokalkon, auron, antosianidin, katekin, dan flavan-3,4-diol (Sirait, 2007).

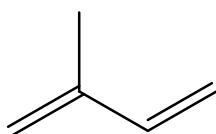


Gambar 2.5 Struktur senyawa flavonoid

Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk bunga, daun, akar, buah, biji, kayu dan kulit (Harborne, 1987). Sejumlah tanaman obat yang mengandung senyawa golongan flavonoid telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antivirus, antiradang, antialergi dan antikanker (Miller, 1996 dalam Wahyulianingsih, 2016).

2.6 Tinjauan Tentang Terpenoid

Senyawa terpenoid adalah senyawa yang tersusun dari kerangka isoterpen (C_5), yang terdiri dari lima rantai karbon bercabang (*branching*) metil pada karbon nomor dua atau kelipatannya. Senyawa golongan terpenoid di klasifikasikan menjadi beberapa jenis seperti monoterpen, sesquiterpen, diterpen, sesterterpen, triterpen, tetraterpen, dan polyterpen yang terisolasi dari tumbuhan. (Syarifudin, 2014).



Gambar 2.6 Struktur kerangka isoprene

Senyawa terpenoid berperan penting dalam kesehatan tubuh manusia yaitu sebagai antioksidan, antimikroba, antiviral, antialergi, antipuritic, antikarsinogenik dan sebagai antikanker (Bishayee dkk., 2011).

2.7 Tinjauan Tentang Aktivitas Antikanker

Tanaman *Chrysanthemum cinerariifolium* mengandung beberapa senyawa aktif yang bermanfaat bagi kesehatan, seperti senyawa golongan flavonoid, golongan pyrethroids, golongan terpenoid, dan golongan sterol (Kumar dkk., 2005). Selain itu, secara kemotaksonomi tanaman *Chrysanthemum* familia asteraceae mengandung banyak senyawa terpenoid, sesquiterpen, derivat dihydrochrysanolide, polyasetilen, flavonoid, fenolik, asam lemak tidak jenuh, dan senyawa kompesterol dan sterol (Chae, 2016).

Senyawa paling dominan pada tanaman *Chrysanthemum* adalah senyawa golongan terpenoid dan golongan flavonoid (Ukiya dkk., 2002). Senyawa flavonoid dan senyawa terpenoid memiliki aktivitas antioksidan paling dominan pada tanaman *C. indicum* L. (Wang dkk., 2013). Senyawa terpenoid dan senyawa flavonoid merupakan metabolit sekunder dalam tumbuhan.

Senyawa terpenoid berperan penting dalam kesehatan tubuh manusia yaitu sebagai antioksidan, antimikroba, antiviral, antialergi, antipuritic, antikarsinogenik dan sebagai antikanker (Bishayee dkk., 2011). Sedangkan senyawa flavonoid juga berperan penting dalam kesehatan selain berperan sebagai antioksidan yang tinggi, senyawa flavoind juga berperan sebagai stimulan pada jantung yang dapat mempengaruhi pembuluh darah kapiler, sebagai diuretik dan

sebagai antikanker (Sirait, 2007). Salah satu manfaat senyawa terpenoid dan flavonoid adalah sebagai kemopreventif dan memberikan efek terapeutik untuk berbagai jenis kanker termasuk kanker payudara (Bishayee dkk., 2011).

Senyawa triterpenoid mampu mencegah terjadinya overekspresi beberapa protein seperti ER (Esterogen Reseptor), HER-2, dan mencegah terjadinya mutasi gen p53 pada sel kanker payudara, sehingga dapat memperbaiki proliferasi sel dan meningkatkan apoptosis sel (Bishayee dkk., 2011). Sedangkan senyawa golongan flavonoid selain berperan sebagai senyawa antioksidan, senyawa flavonoid juga berperan sebagai antiinflamasi, antimutagenik, antiproliferatif dan antikanker (Weeb dan Ebeler, 2004). Salah satu manfaat senyawa terpenoid sebagai antikanker pada kanker payudara. Pada kanker payudara terjadi proliferasi sel yang berlebihan dan menyebabkan terjadinya penurunan apoptosis, sedangkan senyawa flavonoid memberikan efek antiproliferatif pada sel kanker payudara (Abdolmohammadi dkk., 2008) dan mampu menginduksi apoptosis sel (Ren dkk., 2003). Selain itu, Senyawa flavonoid mempunyai mekanisme yang sama dengan obat antikanker doxorubicin yaitu mampu mencegah kanker dengan mekanisme interkalasi DNA yaitu dengan menghambat DNA topoisomerase I dan II (Cantero dkk., 2006).

Tanaman *Chrysanthemum* mengandung enam senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik secara *in vitro* terhadap sel normal. Senyawa-senyawa tersebut merupakan senyawa golongan terpenoid diantaranya yaitu 1). Faradiol (taraxast-20-ene-3 β , 16 β -diol); 2). Heliantriol B₀ (taraxast-20-ene-3 β , 16 β , 28-triol); 3). Heliantriol C (taraxast-20-ene-3 β , 16 β , 22 α -triol); 4). Arnidiol (taraxast-20(30)-

ene-3 β , 16 β -diol); 5). Faradiol α -poxide ((20R,21S)-20,21-epoxytaraxastane-3 β , 16 β -diol); 6). Maniladiol (olean-12-ene-3 β , 16 β -diol) (Ukiya dkk., 2002). Sedangkan pada senyawa flavonoid terdapat 2 senyawa golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antikanker terhadap sel kanker kolon yaitu senyawa luteolin dan senyawa diosmetin dengan nilai IC₅₀ sebesar 96,9 dan 82,9 μ M (Xie dkk., 2009).

Penelitian Bardaweel dkk. (2015) menyatakan bahwa *C. coronium* efektif digunakan untuk menghambat pertumbuhan berbagai macam sel tumor seperti sel T47D, Sel MCF-7, Sel Caco-2, dan sel Hela berdasarkan nilai LD₅₀ yang berkisar antara konsentrasi 43-110 μ g/mL. Hasil penelitian uji aktivitas antitumor ekstrak bunga *Chrysanthemum kunlun* menyatakan bahwa ekstrak bunga *Chrysanthemum kunlun* dapat menghambat pertumbuhan sel Eca-109, sel H22, dan sel Hela berdasarkan nilai IC₅₀ berturut-turut yaitu 260,4 \pm 0,06887 μ g/mL, 113,3 \pm 0,08062 μ g/mL, dan 70,96 \pm 0,05409 μ g/mL (Jing dkk., 2015).

2.8 Tinjauan tentang Kanker

Kanker merupakan pertumbuhan sel dan jaringan secara otonom dan tidak mengikuti aturan dan regulasi sel yang tumbuh normal. Tumor adalah istilah umum yang menunjukkan massa dari pertumbuhan jaringan abnormal. Pertumbuhan yang tidak terkendali tersebut disebabkan oleh kerusakan DNA, yang menyebabkan mutasi di gen vital yang mengontrol pembelahan sel. Terjadinya mutasi dapat mengubah sel normal menjadi sel kanker. Mutasi-mutasi tersebut sering diakibatkan agen kimia maupun fisik yang disebut karsinogen.

Mutasi dapat terjadi secara spontan (diperoleh) ataupun diwariskan (mutasi *germline*) (Raymond dan Ruddon, 2007).

Kanker adalah suatu penyakit sel dengan ciri gangguan atau kegagalan mekanisme pengatur multiplikasi dan fungsi homeostasis lainnya pada organisme multiseluler. Sifat umum dari kanker adalah sebagai berikut : (1) terjadinya pertumbuhan berlebihan yang menyebabkan tumor; (2) gangguan diferensiasi dari sel dan jaringan; (3) bersifat invasif, pertumbuhan jaringan berbeda dengan jaringan normal; (4) bersifat metastatik, menyebar ketempat lain dan menyebabkan pertumbuhan baru; (5) memiliki hereditas bawaan (keturunan sel kanker bawaan juga dapat menimbulkan kanker); (6) pergeseran metabolisme kearah pembentukan makromolekul dari nukleosida dan asam amino serta peningkatan katabolisme karbohidrat untuk energi sel (Katzung dkk., 2012).

Regulasi siklus sel kanker pada dasarnya sama dengan sel normal, yaitu berada dalam tiga keadaan : 1) Fase proliferaatif (keadaan sedang membelah); 2) Fase istirahat (keadaan tidak membelah (G_0)); dan 3) Keadaan secara permanen tidak membelah. Pada regulasi siklus sel terdapat duplikasi genom yaitu pada fase S dan pembagian sel anak secara tepat pada fase M. Diantara kedua fase tersebut terdapat fase G_1 (*gap 1*) dan fase G_2 (*gap 2*). Fase G_1 berperan sebagai penghubung akhir dari fase M dengan inisiasi fase S, sedangkan fase G_2 berperan sebagai pemisah fase S dengan fase M. Regulasi siklus sel yang normal tergantung pada *signal* pertumbuhan dari lingkungan disekitarnya, apabila signal pertumbuhan tidak mencukupi maka sel yang berada di fase G_1 akan keluar dari sel memasuki fase G_0 (fase istirahat) (Muti'ah, 2014).

Fase G_1 (pascamitosis) merupakan tahap penting dari sistem regulasi signal pertumbuhan yang berfungsi untuk kelangsungan regulasi siklus sel dan akurasi transmisi informasi genetik. Setelah melewati fase G_1 sel akan memasuki fase S. Fase S merupakan fase sintesis DNA, dimana sel mereplikasi DNA menjadi dua set DNA yang identik, kemudian sel siap memasuki fase G_2 . Pada proses sintesis DNA ini berlangsung secepat mungkin untuk meminimalkan pengaruh dari agen luar yang akan memengaruhi proses regulasi sel. Setelah melewati proses sintesis, sel akan memasuki fase G_2 . Fase G_2 (premitosis) merupakan fase persiapan untuk proses pembagian gen kepada sel anak dan juga memastikan ketepatan replikasi DNA yang selanjutnya akan memasuki fase M. Pada fase M (mitosis) terjadi pembagian gen kepada sel anak, kemudian sel akan membelah (*cytokinesis*) menghasilkan dua sel anak yang identik. Kedua sel ini akan memasuki fase G_1 atau memasuki fase G_0 tergantung pada *signal* pertumbuhan yang diperoleh (Muti'ah, 2014).

Setiap fase dalam regulasi siklus sel tersebut dikontrol ketat oleh beberapa regulator sebagai berikut (Muti'ah, 2014) :

a. *Cyclin*

Cyclin diekspresikan secara periodik sehingga konsentrasi *cyclin* berubah-ubah pada setiap fase siklus sel. Jenis *cyclin* utama dalam siklus sel yaitu *cyclin* D, E, A dan B. *Cyclin* D memiliki perbedaan dari *cyclin* lainnya, *cyclin* D tidak diekspresikan secara periodik, tetapi selalu disintesis ketika ada stimulasi *growth factor*.

b. *Cyclin-dependent kinase (Cdk)*

Cdk merupakan treonin atau serin protein kinase yang harus berikatan dengan cyclin untuk aktivitasnya. Jenis Cdk utama dalam regulasi siklus sel yaitu Cdk 4, 6, 2 dan 1.

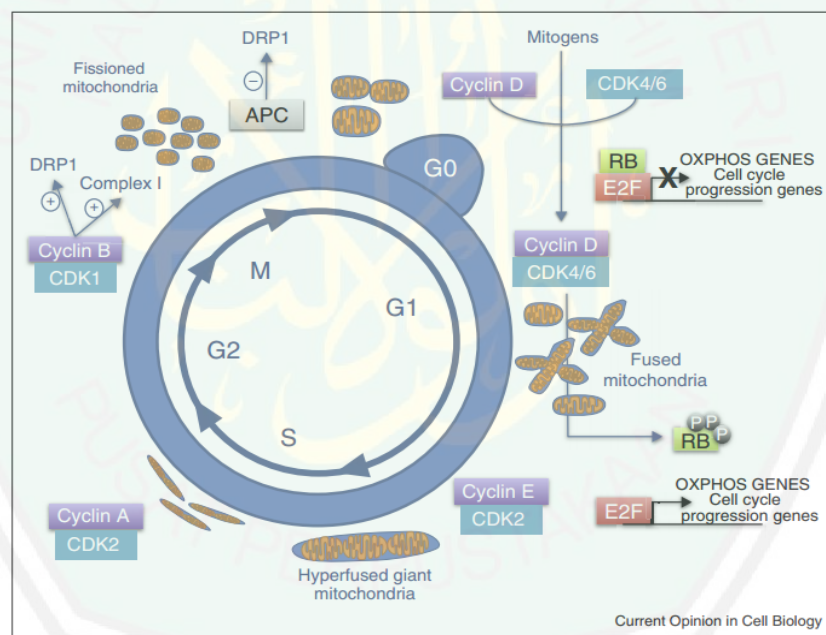
c. *Cyclin dependent Kinase Inhibitor (CKI)*

CKI merupakan protein yang dapat menghambat aktivitas Cdk dengan cara mengikat atau membentuk kompleks cyclin-Cdk. CKI terdiri dari dua kelompok protein yaitu INK4 (p15, p16, p18 dan p19) dan CIP/KIP (p21, p27 dan p57). Kelompok INK4 membentuk kompleks stabil dengan Cdk sehingga mencegah Cdk mengikat cyclin D, kelompok ini mencegah progresi fase G₁. Sedangkan kelompok CIP/KIP meregulasi G₁ dan S dengan menghambat kompleks G₁ cyclin-Cdk dan cyclin B-Cdk1, protein p21 juga menghambat sintesis DNA dengan menonaktifkan *proliferating cell nuclear antigen* (PCNA). Ekspresi p21 diregulasi oleh p53 karena p53 merupakan faktor transkripsi untuk p21.

Proses regulasi siklus sel diatur oleh tiga jenis gen yaitu *oncprotein*, *supressor genes* dan gen pengatur replikasi DNA. Jenis gen *oncprotein* dan *supressor genes* ini bekerja mengatur perkembangan sel untuk menjaga integritas tubuh. Apabila terjadi kerusakan pada gen-gen tersebut maka akan beresiko terjadinya proliferasi berlebihan yang dapat menyebabkan kanker (Muti'ah, 2014).

Regulasi *cell cycle* melalui *supressor genes* biasanya melalui gen Rb (*Retinoblasma*) dan gen p53. Protein Rb berperan dalam regulasi *cell cycle* secara umum, sedangkan protein p53 berperan dalam perbaikan DNA dan pemacuan

apoptosis. Protein Rb bekerja dengan cara menghambat aktivasi faktor transkripsi dari sel, yaitu E2F. E2F merupakan faktor transkripsi yang bekerja dengan cara menginduksi gen-gen yang diperlukan untuk masuk ke fase S. E2F menjadi aktif ketika Rb menjadi tidak aktif, E2F akan terlepas bebas dan menginduksi gen-gen transkripsi yang penting untuk regulasi *cell cycle*, termasuk menginduksi gen p53 sehingga menghubungkan jalur p53 untuk memicu apoptosis secara langsung. Selain itu, ekspresi *onkoprotein* seperti Myc dan RAS juga berperan dalam proses regulasi *cell cycle* dengan menginduksi protein p53 (Guo dan Hay, 1999).



Gambar 2.7 *Cell cycle*

Mitogen menginduksi aktivasi CyclinD-CDK4/6 diawal fase G_1 menyebabkan inaktivasi parsial protein Rb. Protein Rb yang tidak aktif akan melepaskan aktivasi transkripsi E2F untuk mengekspresikan gen yang diperlukan untuk transisi dari fase G_1 ke fase S yang memicu aktivasi CDK2 dan Cyc E atau A. Selanjutnya aktivasi CDK1 dan Cyc B mendorong mitosis sel sehingga terjadi pembelahan sel dan aktivasi kompleks APC. Pembelahan sel anakan masuk ke fase G_1 dan memasuki regulasi *cell cycle* selanjutnya (Lopez-Mejia dan Fajas, 2015).

2.9 Tinjauan Kanker Payudara

Kanker payudara merupakan penyakit ganas pada jaringan payudara yang berasal dari epitel duktus maupun lobulusnya (Kemenkes RI, 2015). Faktor resiko terjadinya kanker payudara diantaranya yaitu durasi paparan hormon wanita (menopause lambat), faktor reproduksi (usia lanjut dari kehamilan pertama), diet dan faktor aktivitas yang rendah (obesitas, diet tinggi lemak), dan faktor keturunan (genetik) seperti terjadi mutasi pada kromosom BRCA1, BRCA2 dan p53. Sekitar 15%-20% kanker payudara terjadi akibat faktor keturunan (genetik) dan sekitar 5% kanker payudara terjadi akibat faktor lain seperti overekspresi enzim (Raymond dan Ruddon, 2007). Selain itu hormon estradiol dan progesteron pada saat menstruasi juga menjadi penyebab terjadinya kanker payudara, hal ini terjadi karena kanker payudara merupakan kanker yang tergantung pada esterogen (CCRC, 2014).

Proses terjadinya kanker payudara awalnya disebabkan karena aktivasi atau overekspresi beberapa protein predisposisi kanker payudara seperti reseptor estrogen (ER) dan c-erbB-2 (HER2) (Eccles, 2001). Kedua protein tersebut selain berperan dalam metastasis, juga berperan dalam perkembangan kanker payudara. Estrogen berikatan dengan ER (Reseptor Estrogen) membentuk kompleks reseptor aktif dan mempengaruhi transkrip gen yang mengatur proliferasi sel. Aktivasi hormon esterogen berperan memicu ekspresi protein yang berperan dalam regulasi *cell cycle* seperti Cyclin D1, Cyclin E, CDK4 dan CDK2, selain itu ER juga berperan mengaktivasi beberapa onkoprotein seperti CycD1, Myc, Ras (Foster dkk., 2001).

Protein yang berperan penting dalam kelangsungan regulasi *cell cycle* adalah protein CycD1 yang mengakibatkan pertumbuhan sel kanker semakin cepat. Sedangkan protein Myc berperan sebagai faktor transkripsi untuk pertumbuhan sel. Adanya hormon esterogen berperan untuk menstabilkan keberadaan protein Myc yang akan menghambat CDK2 pada proses transisi sel dari fase G₁ memasuki fase S. Sedangkan aktivasi onkoprotein RAS dapat menghambat apoptosis sel dengan menurunkan protein pro-apoptosis seperti Bax dan meningkatkan protein anti-apoptosis (Vermeulen dkk., 2003). Selain itu, overekspresi ER juga dapat memacu mutasi transkripsi beberapa gen tumor supressor seperti BRCA1, BRCA2, dan p53. Pada penderita kanker payudara gen tumor supressor tersebut mengalami perubahan perkembangan karena terjadi mutasi gen yang menyebabkan peningkatan proliferasi sel-sel. Peran protein BRCA1 dan BRCA2 yaitu dapat menjaga kestabilan integritas genetik melalui kemampuannya untuk melakukan homolog rekombinasi, selain itu protein BRCA1 dan BRCA2 terlibat dalam perbaikan kerusakan DNA akibat oksidasi radiasi. Sedangkan gen p53 terlibat dalam kontrol pertumbuhan sel karena secara normal gen p53 menyandi protein dengan berat molekul 53 kDa (CCRC, 2014).

Mutasi gen p53 yang disebabkan oleh overekspresi ER dan HER-2 dapat menyebabkan terjadinya kerusakan DNA, sehingga menyebabkan pertumbuhan sel menjadi tidak terkontrol (Yamamoto, et al., 2014). Hal ini menyebabkan hilangnya kemampuan gen p53 untuk regulasi *cell cycle* dan aktivasi transkripsi pada proses apoptosis sel (Vermeulen, et al., 2003). Hilangnya kemampuan gen p53 menyebabkan ketidakseimbangan antara proses proliferasi dan apoptosis sel.

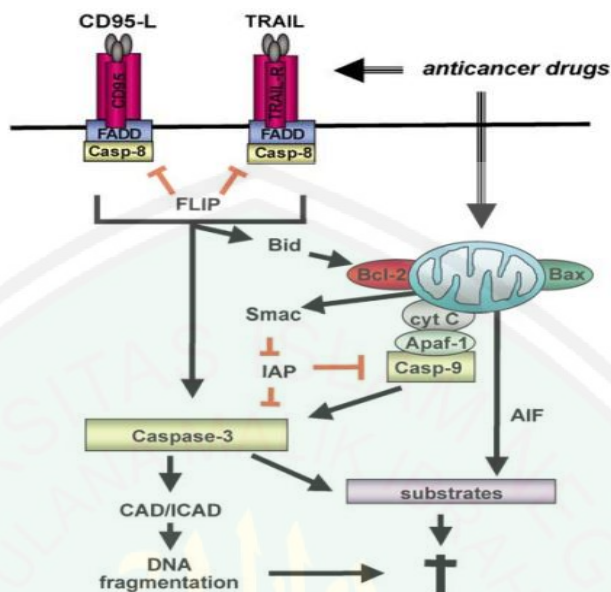
Mutasi gen p53 memicu overekspresi protein antiapoptosis bcl-2 sehingga menyebabkan terjadinya penurunan apoptosis dan sel mengalami proliferasi yang tidak terkontrol (Guo dan Hay, 1999).

2.10 Tinjauan tentang Apoptosis Sel

Apoptosis adalah mekanisme kematian sel yang terprogram yang berfungsi sebagai titik regulasi pada proses biologi dalam tubuh dan dapat dianggap sebagai penghambatan pembelahan sel. Mekanisme selektif apoptosis ini sangat aktif selama proses pertumbuhan dan perkembangan sel. Berbeda dengan nekrosis, apoptosis lebih menguntungkan daripada nekrosis. Nekrosis merupakan proses degeneratif yang menyebabkan kematian sel. Kematian sel terjadi bersamaan dengan pecahnya membran plasma dan terjadi sejumlah perubahan morfologis seperti edema sitoplasma, dilatasi retikulum endoplasma, disagregasi polisom, akumulasi trigliserida, pembengkakan mitokondria dan hancurnya organel dalam nukleus (Hodgson, 2004).

Apoptosis dapat diamati pada penampakan histologis yaitu berupa pengkerutan sel, kerusakan membran plasma dan kondensasi kromatin. Sel yang mati yang dalam proses apoptosis ini tidak kehilangan kandungan internal sel dan tidak menimbulkan respon inflamasi. Jika program apoptosis sudah selesai, sel akan menjadi kepingan-kepingan sel mati yang disebut badan apoptosis (Muti'ah, 2014).

Apoptosis terjadi melalui dua jalur, yaitu melalui jalur ekstrinsik dan jalur intrinsik (Ashkenazi, 2008). Jalur ekstrinsik terjadi melalui *death receptor* yang terdapat pada permukaan membran sel seperti *Tumor Necrosis Factor* (TNF), CD95(APO-1/Fas), dan *TNF Related Apoptosis Inducing Ligand* (TRAIL) R1 dan R2. Reseptor tersebut akan berikatan dengan ligan yang akan memicu aktivasi caspase-8 setelah membentuk trimer dengan adaptor *Fas Associated Death Domain* (FADD). Sebagai contoh CD95, TRAIL-R1 dan R2 berikatan dengan FADD, sedangkan reseptor TNF berikatan secara tidak langsung dengan molekul adaptor lain yaitu *TNF-Reseptor Associated Death Domain* (TRADD). Selanjutnya, caspase-8 akan memicu aktivasi caspase-3 kemudian aktivasi caspase tersebut akan memicu terjadinya kerusakan mitokondria dan sel mengalami apoptosis. Sedangkan pada jalur intrinsik terjadi melalui mitokondria yang diaktivasi oleh beberapa faktor, seperti radikal bebas yang mengakibatkan sinyal stress, faktor pendorong apoptosis (AIF), atau Smac/DIABLO dari ruang intermembran mitokondria. Faktor-faktor tersebut dapat menyebabkan gangguan pada mitokondria dan melepaskan sitokrom c dari intermembran. Protein caspase-9 memotong anggota Bcl-2 yaitu Bid, kemudian Bid akan menginduksi insersi Bax dalam membran mitokondria dan melepaskan sitokrom c ke sitosol yang akan memicu aktivasi caspase-3 melalui pembentukan kompleks apoptosom sitokrom C/Apaf1/Caspase-9. Smac/DIABLO mempromosikan aktivasi caspase melalui penetralisir penghambatan terhadap IAP, sedangkan AIF menyebabkan kondensasi DNA (Fulda dan Debatin, 2016).



Gambar 2.8 Jalur apoptosis : jalur ekstrinsik dan intrinsik.

2.11 Tinjauan Uji Aktivitas Antikanker dan Toksisitas

2.11.1 Uji Aktivitas Antikanker Secara *in Vitro*

Uji *in vitro* kemo-resisten dan kemo-sensitivitas telah dikembangkan untuk memberikan informasi tentang karakteristik keganasan individual pasien untuk memprediksi respon potensi kanker mereka terhadap obat spesifik. Metode uji *in vitro* memberikan beberapa keuntungan, antara lain dapat digunakan sebagai langkah awal dalam pengembangan suatu obat, merupakan metode yang cepat, hanya memerlukan sedikit senyawa yang digunakan dalam pengujian, secara drastis dapat mengurangi penggunaan hewan laboratorium dan untuk beberapa tujuan penggunaan kultur sel dari bermacam-macam organ target (hati, paru-paru, ginjal, kulit, SSP) dapat memberikan informasi tentang potensi efeknya pada sel target manusia secara langsung (Doyle dan Griffiths, 2000).

Uji aktivitas antikanker suatu senyawa secara *vitro* dapat menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa. Penggunaan uji aktivitas pada sel merupakan salah satu cara penetapan *in vitro* untuk mendapatkan obat-obat yang efektif. Sistem ini merupakan uji kualitatif dengan cara menetapkan kematian sel. Akhir dari uji aktivitas dapat memberikan informasi konsentrasi obat yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup (Doyle dan Griffiths, 2000).

Parameter yang digunakan untuk menentukan aktivitas antikanker pada suatu sampel yaitu digunakan parameter IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% populasi sel. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Meiyanto dkk., 2008).

2.11.2 Uji Toksisitas Secara *in Vitro*

Uji toksisitas adalah suatu uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Data yang diperoleh dapat digunakan untuk memberi informasi mengenai derajat bahaya sediaan uji tersebut bila terjadi pemaparan pada manusia, sehingga dapat ditentukan dosis penggunaannya demi keamanan manusia (BPOM, 2014).

Pengujian toksisitas dapat diukur melalui perkiraan kerusakan sel yang terjadi. Prinsip pengukuran toksisitas menghitung secara langsung jumlah sel dalam media kultur (Widiyanti dkk., 2016). Parameter yang digunakan untuk menentukan toksisitas salah satunya yaitu menggunakan nilai CC_{50} (*Cytotoxic*

Concentration) yang diperoleh dari presentase sel hidup. Konsentrasi sitotoksik 50% (CC_{50}) adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk mereduksi viabilitas sel 50% (Abid, et al., 2012).

2.12 Tinjauan Sel T47D dan Sel Normal (Vero)

2.12.1 Sel T47D

Sel T47D merupakan *continuous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun yang terkena *ductal carcinoma*. Sel ini memiliki morfologi sama seperti sel epitel. Sel T47D ini sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas. Sel ini dapat ditumbuhkan menggunakan media penumbuh RPMI + 10% FBS + 2 mM L-Glutamin, kemudian diinkubasi dalam inkubator CO_2 5% pada suhu $37^\circ C$ (Muti'ah, 2014).

2.12.2 Sel Normal (*Vero Cell Line*)

Sel Vero ATCC CCL-81 merupakan sel epitel non kanker (sel normal). Sel ini berasal dari organ ginjal monyet hijau asal Afrika. Sel vero merupakan sel monolayer berbentuk poligonal dan pipih, immortal, sel fibroblastik non tumorigenik. Sel ini melekat erat pada substrat yang berbahan polistirena dengan membentuk ikatan kovalen. Pengujian sel vero dilakukan untuk mempelajari pertumbuhan sel, diferensiasi sel, sitotoksisitas, dan transformasi sel yang diinduksi oleh berbagai senyawa kimia. sel vero ini direkomendasikan untuk penelitian dan memberikan hasil yang sangat baik untuk *study carcinogenesis in vitro* karena pertumbuhannya yang khas (Goncalves, 2012). Sel vero ini homolog

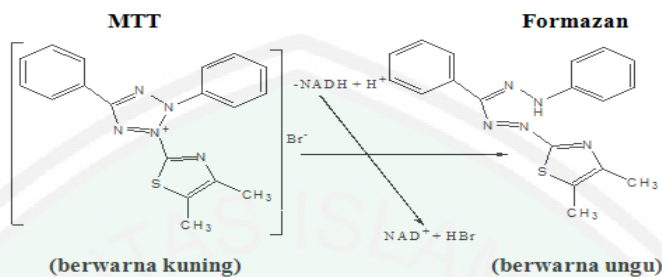
dengan sel tubuh manusia, berbentuk tringular. Kelebihan dari sel ini adalah mudah ditumbuhkan dalam media kultur. Analisis viabilitas sel ini dilakukan menggunakan metode MTT (Methylthiazol-2-yl-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) (Triatmoko dkk., 2016). Sedangkan kelemahan dari vero cell line ini adalah rentan terhadap infeksi dari beberapa virus seperti SV-40, campak, rubella dan juga rentan terhadap toksin bakteri (ECACC, 2016).

2.13 Tinjauan Metode MTT

Uji MTT didasarkan pada aktivitas enzim *mitochondria succinate dehydrogenase* pada sel hidup untuk mereduksi substrat larut air berwarna kuning 3-(4, 5-dimethyl thiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) menjadi kristal formazan yang diukur secara spektrofotometri. Reduksi MTT hanya dapat terjadi pada sel aktif sehingga aktivitas reduksinya diukur sebagai viabilitas sel (Patel dkk., 2009).

Prinsip dari metode MTT adalah 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 (Muti'ah dkk, 2018). Penambahan reagen stopper (bersifat detergenik) akan melarutkan kristal berwarna yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*). 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).



Gambar 2.9 Reaksi MTT membentuk formazan

2.14 Tinjauan Tentang Doxorubicin

Doxorubicin merupakan antibiotik golongan antrasiklin yang banyak digunakan untuk terapi berbagai macam jenis kanker seperti leukimia akut, kanker payudara, kanker tulang dan kanker ovarium (Childs dkk., 2002). Doxorubicin dapat menyebabkan kardiotoxicitas pada penggunaan jangka panjang. Efek samping pada pemakaian pada pemakaian kronisnya bersifat ireversibel, termasuk terbentuknya *cardiomyopathy* dan *congestive heart failure* (Han dkk., 2008).

Doxorubicin memiliki tiga aktivitas utama yang dapat bervariasi sesuai tipe sel. Ketiganya efektif dalam fase S dan G₂. Tiga aktivitas tersebut sebagai berikut (Harvey dan Champe, 2004) :

- a. Interkalasi di dalam DNA: obat masuk secara non-spesifik diantara pasangan basa yang berdampingan dan berikatan dengan gula-fosfat DNA. Hal ini menyebabkan penguraian lokal sehingga menghambat sintesis DNA dan RNA. Interkalasi dapat mengganggu reaksi pemecahan/penyatuan kembali

yang dikatalisis topoisomerase II pada untai DNA yang dapat menyebabkan pemecahan yang tidak dapat diperbaiki.

- b. Ikatan pada membran sel : kerja ini mengubah fungsi proses pengangkutan yang berhubungan dengan aktivasi fosfatidilinositol.
- c. Pembentukan radikal oksigen : sitokrom p450 reduktase mengatalisis reduksi anthracycline menjadi radikal bebas semimikuinon.

Doxorubicin merupakan agen kemoterapi yang memiliki efek sitotoksik kuat terhadap sel kanker payudara. Sel kanker payudara resisten terhadap doxorubicin yaitu pada mutasi gen p53 (Anjarsari dkk., 2013). Doxorubicin mampu meningkatkan apoptosis pada fase G_1 *aresst*. Beberapa protein meregulasi G_1 *aresst* seperti p21 dan p27. Regulasi p21 pada sel kanker payudara adalah protein p53. Kerusakan DNA pada sel kanker di mediasi oleh p21 yang diikuti dengan apoptosis (Nugroho dkk., 2013). Mekanisme doxorubicin terhadap sel kanker payudara dengan interkalasi di dalam DNA dan menghambat DNA topoisomerase II (Laksamiami dkk., 2015). Penelitian terdahulu menyatakan bahwa doxorubicin mampu menghambat sel kanker payudara T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 250 nM (Abdolmohammadi dkk., 2008).

2.15 Tinjauan Tentang Indeks Selektivitas

Indeks selektivitas adalah suatu parameter untuk mengukur kemampuan suatu bahan (ekstrak) untuk membunuh secara selektif sel kanker dan bersifat aman terhadap sel normal. Parameter indeks selektivitas digunakan untuk

menghindari efek samping obat antikanker terhadap sel normal (Sutedjo dkk., 2016).

SI (*Selectivity Index*) adalah rasio antara CC_{50} untuk sel normal terhadap IC_{50} untuk sel kanker (Furuta dkk., 2002). Selektivitas dibuktikan dengan membandingkan efek aktivitas pada sel kanker dengan sel normal melalui parameter SI (Nugroho dkk., 2013). Suatu ekstrak dinyatakan mempunyai selektivitas yang tinggi apabila nilai $SI \geq 3$, dan dinyatakan kurang selektif apabila nilai $SI < 3$ (Sutedjo dkk., 2016).

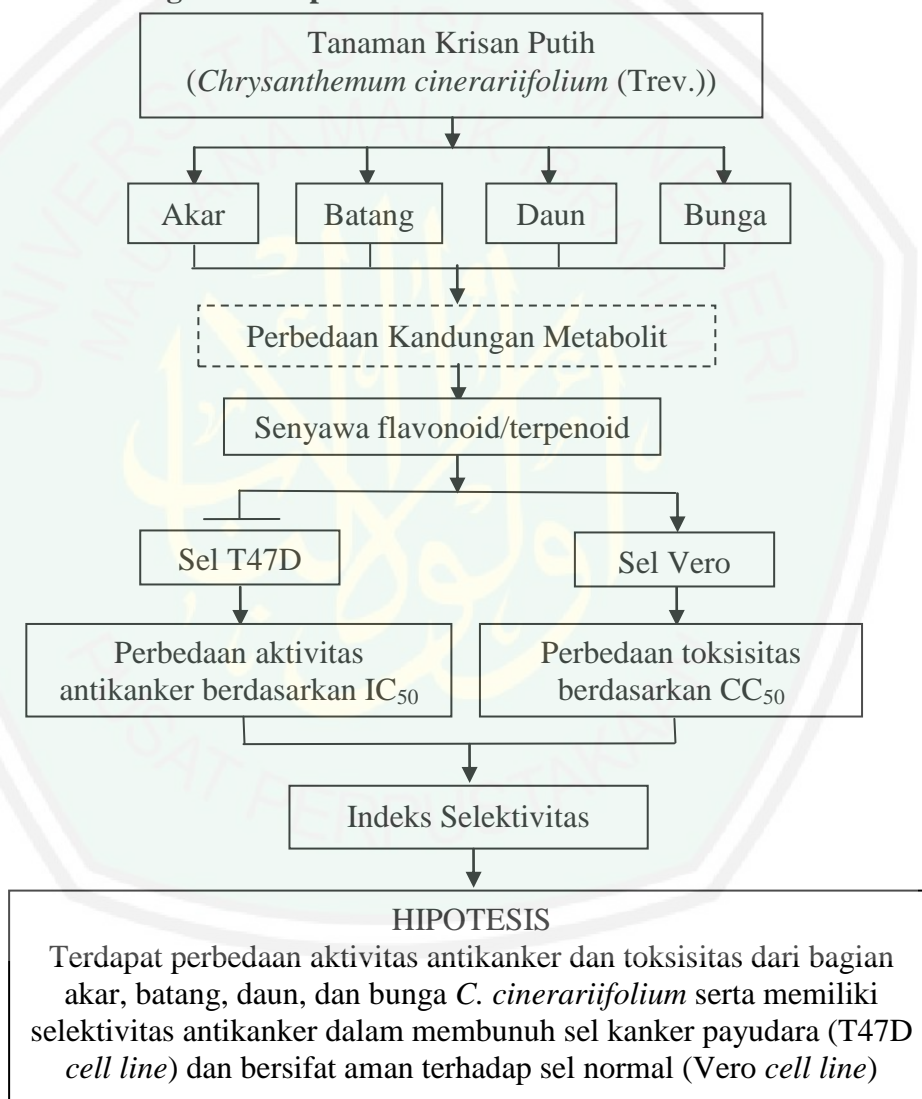


BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konseptual

3.1.1 Skema Kerangka Konseptual



Keterangan :

- : Tidak dilakukan
- | : Menghambat
- : Menginduksi/
dilakukan

Gambar 3.1 Skema kerangka konseptual

3.1.2 Uraian Kerangka Konseptual

Chrysanthemum cinerariifolium (Trev.) terdiri dari beberapa organ seperti bunga, daun, batang, dan akar yang diduga memiliki perbedaan kandungan metabolit. Perbedaan kandungan metabolit tersebut disebabkan karena pada umumnya kandungan senyawa berasal dari organ tumbuhan spesifik pada suatu spesies tertentu. *C. cinerariifolium* (Trev.) mengandung beberapa senyawa aktif seperti senyawa golongan flavonoid, golongan pyrethroids, golongan terpenoid, dan golongan sterol (Kumar dkk., 2005). Sedangkan senyawa yang paling dominan pada *C. cinerariifolium* (Trev.) adalah senyawa golongan terpenoid dan senyawa golongan flavonoid. Senyawa yang terdapat pada *C. cinerariifolium* (Trev.) tersebut bermanfaat bagi kesehatan.

C. cinerariifolium (Trev.) secara empiris digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat karena dipercaya memiliki manfaat bagi kesehatan salah satunya yaitu sebagai antikanker pada kanker payudara. Kanker payudara merupakan salah satu penyakit kanker yang paling banyak diderita oleh perempuan. Pada tahun 2013 di Indonesia, kanker payudara merupakan penyakit kanker dengan prevalensi kasus baru tertinggi sebesar 0,5%. Upaya pengobatan kanker yang dilakukan selama ini adalah dengan cara pembedahan, kemoterapi, dan radioterapi. Pengobatan kanker tersebut dapat menimbulkan efek samping yang serius, karena dapat bersifat toksik bagi sel normal. Selain itu, pengobatan tersebut membutuhkan biaya yang cukup mahal. Oleh karena itu, dibutuhkan obat antikanker alternatif dari bahan alam yang mampu membunuh sel kanker dan bersifat aman terhadap sel normal.

Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan pemprofilan aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara (T47D *cell line*) berdasarkan nilai IC_{50} dan toksisitas terhadap sel normal (Vero *cell line*) berdasarkan nilai CC_{50} dari ekstrak etanol 96% bunga, daun, batang, dan akar *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.). Selanjutnya, nilai IC_{50} dan CC_{50} di uji selektivitas menggunakan *Selectivity Index* (SI) yang bertujuan untuk mengetahui apakah pemberian akar, batang, daun, dan bunga tanaman *C. cinerariifolium* bersifat selektif dalam membunuh sel T47D dan bersifat aman terhadap sel Vero.

3.2 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini yaitu :

1. Terdapat aktivitas antikanker dari akar, batang, daun, dan bunga *C. cinerariifolium* (Trev.) terhadap sel T47D berdasarkan nilai IC_{50} .
2. Terdapat perbedaan aktivitas antikanker dari akar, batang, daun, dan bunga *C. cinerariifolium* (Trev.) terhadap sel T47D berdasarkan nilai IC_{50} .
3. Terdapat toksisitas dari akar, batang, daun, dan bunga *C. cinerariifolium* (Trev.) terhadap sel Vero berdasarkan nilai CC_{50} .
4. Terdapat perbedaan toksisitas dari akar, batang, daun, dan bunga *C. cinerariifolium* (Trev.) terhadap sel Vero berdasarkan nilai CC_{50} .
5. Terdapat nilai indeks selektivitas dari akar, batang, daun, dan bunga *C. cinerariifolium* (Trev.) dalam membunuh sel T47D dan bersifat non toksik dalam membunuh sel normal (Vero).

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis 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 setelah lama perlakuan pengamatan dilakukan secara bersama-sama pula dengan menggunakan jenis *Postes Only Control Group Design*. Penelitian ini menggunakan kultur sel T47D dan sel Vero dengan menggunakan doxorubicin sebagai kontrol positif.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Kimia Dasar Jurusan Farmasi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada pada bulan Februari – Mei 2018.

4.3 Variable Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 96% bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium*.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah persentase sel hidup pada sel T47D berdasarkan nilai IC_{50} dan persentase sel hidup pada sel Vero berdasarkan nilai CC_{50} .

c. Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini yaitu :

1. Waktu pemanenan dilakukan pada pukul 09.00 WIB dan waktu perlakuan pascapanen *C. cinerariifolium* dilakukan pada hari yang sama.
2. Waktu pengeringan bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium* dilakukan mulai pukul 07.00 sampai pukul 11.00 WIB, sedangkan pengeringan dilakukan dibawah sinar matahari dengan penutup kain hitam.
3. Lingkungan laboratorium memiliki suhu kamar dan kelembaban yang sama.
4. Metode yang digunakan untuk ekstraksi adalah metode UAE, Sedangkan metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas dan toksisitas pada *cell line* adalah metode MTT *assay*.

4.3.2 Definisi Operasional

- a. *C. cinerariifolium* (Trev.) : merupakan tanaman habitus terna yang terdiri dari beberapa organ seperti bunga, daun, batang, dan akar. *C. cinerariifolium* (Trev.) diperoleh dari daerah Nongkojajar Kabupaten Pasuruan.
- b. Bunga *C. cinerariifolium* (Trev.) : Bunga *C. cinerariifolium* (Trev.) berbentuk bunga cawan yang tergolong dalam bunga majemuk tak terbatas, bagian yang diambil merupakan seluruh bagian bunga lengkap yang terdiri

dari tangkai bunga, dasar bunga, perhiasan bunga, dan organ reproduktif (Rosanti, 2008).

- c. Daun *C. cinerariifolium* (Trev.) : Daun *C. cinerariifolium* (Trev.) berbentuk daun tunggal, berseling, lonjong, ujung runcing, pangkal membulat, bagian yang diambil merupakan satu bentuk daun utuh yang terdiri dari helaian daun, tulang daun, dan tangkai daun (Rosanti, 2008).
- d. Batang *C. cinerariifolium* (Trev.) : Batang *C. cinerariifolium* (Trev.) berbentuk bulat, tegak, sedikit bercabang, dan berwarna hijau, bagian yang diambil yaitu seluruh bagian batang (Rosanti, 2008).
- e. Akar *C. cinerariifolium* (Trev.) : Akar *C. cinerariifolium* (Trev.) merupakan akar tunggang, bagian yang diambil terdiri dari leher akar, batang akar, dan ujung akar (Rosanti, 2008).
- f. Ekstrak bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium* (Trev.) : diekstraksi dengan UAE (*Ultrasonic Assisted Extraction*) menggunakan pelarut etanol 96%.
- g. Sel T47D : Sel T47D merupakan *continuous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara serorang wanita berusia 54 tahun yang diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada (Muti'ah, 2014).
- h. Sel Vero : Sel Vero ATCC CCL-81 merupakan sel epitel non kanker (sel normal) yang berasal dari organ ginjal monyet hijau. Sel vero merupakan sel monolayer berbentuk poligonal dan pipih, immortal, sel fibroblastik non

tumorigenik. Kultur sel Vero diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada (Goncalves, 2012).

- i. Doksorubicin : Doxorubicin merupakan antibiotik golongan antrasiklin yang banyak digunakan untuk terapi berbagai macam jenis kanker, salah satunya seperti kanker payudara (Childs dkk., 2002).
- j. Metode MTT : Uji MTT didasarkan pada aktivitas enzim *mitochondria succinate dehydrogenase* pada sel hidup untuk mereduksi substrat larut air berwarna kuning 3-(4, 5-dimethyl thiazol-2-yl)-2, 5- diphenyl tetrazolium bromide (MTT) menjadi kristal formazan. Reduksi MTT hanya dapat terjadi pada sel aktif sehingga aktivitas reduksinya diukur sebagai viabilitas sel (Patel dkk., 2009).
- k. IC_{50} : Nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) yang menunjukkan nilai konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% populasi sel. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Meiyanto dkk., 2008).
- l. CC_{50} : Nilai CC_{50} (*Cytotoxic Concetration*) adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk mereduksi viabilitas sel 50% (Abid dkk., 2012).
- m. Selektivitas Indeks : SI (*Selectivity Index*) adalah rasio antara CC_{50} untuk sel normal terhadap IC_{50} untuk sel kanker. Ekstrak dinyatakan mempunyai selektivitas yang tinggi apabila nilai $SI \geq 3$, dan dinyatakan kurang selektif apabila nilai $SI < 3$ (Sutejo dkk., 2016).

4.4 Alat dan Bahan

4.4.1 Alat dan Bahan Ekstraksi Tanaman *C. cinerariifolium*

a. Alat

Alat-alat yang dibutuhkan dalam ekstraksi bagian tanaman *C. cinerariifolium* yaitu timbangan analitik, gelas erlenmeyer 300 ml, kaca arloji, kertas saring, corong pisah, aluminium foil, beaker glass 250 ml dan 500 ml, gelas ukur 100 ml, sonikator, *rotary evaporator* (IKA), batang pengaduk, spatula, dan jerigen 1 L.

b. Bahan

Bahan yang dibutuhkan dalam ekstraksi bagian tanaman *C. cinerariifolium* yaitu bagian radix, caulis, folium, dan flos *C. cinerariifolium*, etanol teknis 96%, dan aquades.

4.4.2 Alat dan Bahan Uji Aktivitas Antikanker dan Toksisitas dengan Metode MTT

a. Alat

Alat-alat yang dibutuhkan dalam uji aktivitas dan uji toksisitas yaitu mikropipet 1000 μ L, 100 μ L, dan 10 μ L, *hemocytometer* (Asisstent), *counter*, *conical tube*, *culture dish*, sentrifugator, inkubator CO₂ merk HERA cell, *cryotube*, *ependorf*, rak tabung kecil, *Laminar Air Flow* (LAF), tisu, mikroskop cahaya (Olympus), *plate 96 well*, dan *ELISA Reader (Microplate reader Benchmark)*.

b. Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan dalam uji aktivitas dan uji toksisitas yaitu sel T47D dan sel Vero diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, Medium Komplit (MK) RPMI 1640 (Gibco, USA), MK MI99 (Gibco, USA), PBS, Tripsin-EDTA, DMSO (EMSURE ACS, Jepang), SDS (Merck, Jerman), ekstrak etanol 96% bunga, ekstrak etanol 96% daun, ekstrak etanol 96% batang, ekstrak etanol 96% akar tanaman *C. cinerariifolium*, doxorubicin HCL 50 mg, dan larutan MTT (Bio Basic Canada Inc, Kanada).

4.5 Prosedur Penelitian

4.5.1 Determinasi Tanaman *C. cinerariifolium*

Determinasi tanaman krisan putih *C. cinerariifolium* dilakukan di UPT Materia Medika Kota Batu.

4.5.2 Preparasi Simplisia *C. cinerariifolium*

Pemanenan tanaman *C. cinerariifolium* dilakukan dengan cara dipotong bagian akar, batang, daun, dan bunga menggunakan gunting. Bagian akar yang diambil mulai dari leher akar, batang akar, ujung akar, dan akar yang tidak cacat. Bagian batang yang diambil yaitu seluruh bagian batang yang tidak cacat. Bagian daun yang diambil yaitu dalam bentuk daun utuh, daun berwarna hijau muda dan hijau tua dan tidak cacat. Sedangkan bagian bunga yang diambil yaitu seluruh bagian bunga lengkap yang terdiri dari tangkai bunga, dasar bunga, perhiasan bunga, organ reproduktif dan bunga yang tidak cacat.

Selanjutnya tiap bagian *C. cinerariifolium* dilakukan penyortiran awal untuk memisahkannya dari benda asing. Selanjutnya tiap bagian *C. cinerariifolium* dicuci bersih sebanyak 3-5 kali sampai air terlihat jernih dan ditiriskan. Setelah ditiriskan dan dikeringkan dibawah sinar matahari untuk menjaga kualitas bahan agar tidak mudah rusak. Pengeringan dilakukan dibawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam agar menghasilkan warna yang lebih tajam. Kemudian dilakukan penyortiran akhir untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan dan kotoran lain yang tertinggal. Setelah penyortiran akhir tiap bagian *C. cinerariifolium* di grinding/diserbukkan untuk memperoleh serbuk simplisia akar, batang, daun, dan bunga *C. cinerariifolium*. Kemudian tiap serbuk simplisia tersebut ditimbang untuk mengetahui berat simplisia (Kementan RI, 2011).

4.5.3 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia Bunga Daun Batang Akar Tanaman

C. cinerariifolium

Uji kadar air merupakan uji yang dilakukan untuk menentukan kadar air yang terkandung dalam suatu sampel. Parameter kadar air merupakan kandungan air yang berada didalam sampel, yang bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam sampel (Ditjen POM, 2000). Menurut Permenkes RI no 661 tahun 1994 kadar air suatu simplisia tidak lebih dari 10%. Uji kadar air dilakukan pada setiap bagian tanaman krisan putih yaitu bagian akar, batang, daun dan bunga *C. cinerariifolium* yang telah berbentuk serbuk simplisia. Uji kadar air dilakukan menggunakan alat *Moisture Content Analyzer* merk *Mettler Toledo*. Uji kadar air dilakukan dengan menyalakan alat

terlebih dahulu, kemudian alat di tara secara otomatis dengan layar menunjukkan tampilan 0,000 g. Selanjutnya penutup alat dibuka dan tiap bagian tanaman serbuk simplisia *C. cinerariifolium* dimasukkan dan ditimbang sebanyak $\pm 0,500$ g. Kemudian penutup alat diturunkan dan secara otomatis alat akan memulai pengukuran kadar air hingga terbaca hasil pengukuran % MC pada layar.

4.5.4 Ekstraksi Tanaman *Chrysanthemum cinerariifolium*

Proses ekstraksi tanaman krisan putih (*C. cinerariifolium*) dilakukan di Laboratorium Fitofarmasi dan Laboratorium Kimia Dasar Jurusan Farmasi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

a. Proses Ekstraksi Menggugurkan UAE

UAE merupakan metode ekstraksi yang efisien dan mampu mengekstraksi senyawa dalam waktu yang singkat. Gelombang yang dihasilkan mampu mengubah materi secara fisik maupun kimia dengan meningkatkan penetrasi pelarut kedalam serbuk simplisia padat (Kumcuoghu dkk., 2014).

Prosedur yang dilakukan pada proses ekstraksi yaitu serbuk halus tiap bagian tanaman krisan putih seperti akar, batang, daun dan bunga, masing-masing ditimbang, kemudian tiap bagian tanaman tersebut dimasukkan kedalam gelas erlenmeyer 300 mL dan ditambahkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:20. Proses selanjutnya, diekstraksi dengan UAE selama 2 menit dengan 3 kali replikasi.

b. Proses Penguapan Pelarut

Hasil dari proses UAE, tiap bagian tanaman krisan putih dimasukkan ke dalam labu evaporasi, kemudian dipasang pada *rotary evaporator*. Semua

rangkaian alat *rotary evaporator* dipasang. Suhu diatur 50°C kemudian pelarut akan menguap hingga menghasilkan ekstrak kental.

c. Pemekatan Ekstrak

Ekstrak kental tiap bagian tanaman *C. cinerariifolium* di keringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C sampai tekstur ekstrak menjadi pekat. Kemudian tiap bagian ekstrak etanol 96% *C. cinerariifolium* di timbang dan di hitung rendemen dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

Setelah diperoleh nilai rendemen dari tiap bagian ekstrak etanol 96% *C. cinerariifolium*, dilakukan uji identifikasi senyawa menggunakan KLT.

4.5.5 Uji Aktivitas Antikanker dan Toksisitas dengan Metode MTT

4.5.5.1 Penumbuhan dan Pemanenan Sel

Penelitian ini menggunakan kultur sel T47D pada medium RPMI dan kultur sel vero pada medium MI99. Sel dikeluarkan dari tangki nitrogen cair atau dari freezer-80°C, dihangatkan sel dalam *cryo tube* pada suhu kamar hingga mencair. Kemudian diambil sel dengan mikropipet 1000µL, dimasukkan kedalam *conical tube* yang berisi MK (Medium Komplit) dan diinkubasi selama 3-4 jam pada suhu 37°C/5% CO₂. Kemudian *conical tube* di sentrifugasi untuk memisahkan sel kultur (pelet/endapan sel) dengan medium. Pemisahan sel dengan MK dilakukan dalam LAF (*Laminar Air Flow*) dengan membuang MK, kemudian di tambahkan lagi 4 mL MK baru ke dalam *conical tube* dan disuspensikan hingga homogen (CCRC, 2009). Sel diletakkan ke dalam *culture dish* sebanyak 2 ml dan diamati kondisi sel

dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali untuk melihat apakah sel melekat didasar *culture dish* atau tidak dan bila jumlah sel dalam *culture dish* mencapai 80% konfluen, maka dilakukan panen sel dengan cara sel dicuci sebanyak 2 kali menggunakan PBS dan ditambahkan tripsin-EDTA secara merata dan di inkubasi selama 3 menit. Kemudian ditambahkan media dan diresuspensi untuk menginaktifkan tripsin, diamati keadaan sel di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali, kemudian di inkubasi selama 24 jam (CCRC, 2009).

4.5.5.2 Perhitungan Sel dan Perletakan Sel pada *Plate*

Panen sel diambil sebanyak 10 μ l dan diletakkan ke *hemocytometer*, dihitung sel dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali menggunakan *counter*. Jumlah sel dapat diketahui dengan perhitungan sebagai berikut (CCRC, 2009):

$$\sum \text{sel /mL} = \frac{\sum \text{sel kamarA} + \sum \text{sel kamarB} + \sum \text{sel kamarC} + \sum \text{sel kamarD}}{4} \times 10^4$$

Plate yang digunakan pada penelitian ini adalah *plate 96 well*. Perletakan sel pada *plate* harus diketahui berapa jumlah (mL) panen sel yang diperlukan pada setiap sumuran, dengan menggunakan perhitungan sebagai berikut (CCRC, 2009):

$$\text{Vol. panen sel yang di transfer} = \frac{\sum \text{total sel yang diperlukan}}{\sum \text{sel terhitung /mL}}$$

Panen sel diletakkan dan ditambahkan MK sebanyak total volume yang diperlukan ke dalam 96 *PlateWell* dan diinkubasi kembali selama 24 jam (CCRC, 2009).

4.5.5.3 Perlakuan Sampel pada Sel

Perlakuan pada penelitian ini terdiri dari beberapa macam kontrol, yaitu kontrol perlakuan berupa ekstrak etanol 96% bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium*, kontrol positif berupa doxorubicin, kontrol negatif berupa kontrol sel tanpa perlakuan, dan kontrol media berupa media tanpa sel.

Larutan stok sampel/ekstrak dibuat dengan melarutkan ekstrak etanol 96% bunga, daun, batang, dan akar tanaman *C. cinerariifolium* dalam DMSO, dimana masing-masing ekstrak ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan masing-masing ekstrak dalam 100 μ L DMSO (*dimethyl sulfoxide*) kemudian diaduk dengan vortex agar lebih cepat dalam melarutkan ekstrak. Ekstrak etanol 96% bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium* dibuat dengan 7 macam seri konsentrasi. Konsentrasi pada uji aktivitas antikanker terhadap sel T47D yaitu 1000 μ g/mL, 800 μ g/mL, 600 μ g/mL, 400 μ g/mL, 200 μ g/mL, 100 μ g/mL, dan 50 μ g/mL. Konsentrasi pada uji toksisitas terhadap Sel Vero yaitu 1000 μ g/mL, 500 μ g/mL, 250 μ g/mL, 125 μ g/mL, 62,5 μ g/mL, 31,25 μ g/mL, dan 15,625 μ g/mL. Sedangkan larutan stok kontrol positif berupa doxorubicin dibuat sebanyak 2 mg/mL. Doxorubicin dibuat dengan 7 macam seri konsentrasi, dimana untuk uji aktivitas terhadap sel T47D yaitu 2000 nM, 1000 nM, 500 nM, 250 nM, 125 nM, 62,5 nM, dan 31,25 nM dan untuk uji toksisitas terhadap sel Vero yaitu 10000 nM, 5000 nM, 2500 nM, 1250 nM, 625 nM, 312,5 nM, dan 156,25 nM.


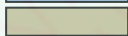
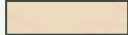



Cek kondisi sel, jika sudah siap encerkan masing-masing larutan stok sesuai seri konsentrasi yang telah dibuat untuk perlakuan. Ambil plate dari inkubator CO₂ untuk di bawa ke LAF. Buang media sel (balikkan plate 180°) di atas tempat buangan dengan jarak 10 cm, kemudian tekan plate secara perlahan di atas tisu untuk meniriskan sisa cairan. Masukkan 100 µL PBS ke dalam semua sumuran yang terisi sel, kemudian buang PBS dengan cara membalik plate 180°. Tiriskan sisa cairan dengan tisu. Seri konsentrasi tiap kontrol dimasukkan ke dalam masing-masing sumuran dengan tiga kali replikasi, kemudian diinkubasi di dalam inkubator CO₂. Lama inkubasi tergantung pada efek perlakuan terhadap sel. Jika dalam waktu 24 jam belum terlihat efek terhadap sel, inkubasi kembali selama 24 jam (waktu inkubasi total: 24-48 jam) (CCRC, 2013).

Pemetaan seri konsentrasi pada *plate 96 Well* sebagai berikut :

a. *Plate 96 Well* untuk Uji Aktivitas Antikanker terhadap Sel T47D

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1000 µg/mL			1000 µg/mL			1000 µg/mL			1000 µg/mL		
B	800 µg/mL			800 µg/mL			800 µg/mL			800 µg/mL		
C	600 µg/mL			600 µg/mL			600 µg/mL			600 µg/mL		
D	400 µg/mL			400 µg/mL			400 µg/mL			400 µg/mL		
E	200 µg/mL			200 µg/mL			200 µg/mL			200 µg/mL		
F	100 µg/mL			100 µg/mL			100 µg/mL			100 µg/mL		
G	50 µg/mL			50 µg/mL			50 µg/mL			50 µg/mL		
H												

Keterangan :







	: Ekstrak Bunga <i>C.cinerariifolium</i> (Kontrol perlakuan)
	: Ekstrak Daun <i>C.cinerariifolium</i> (Kontrol perlakuan)
	: Ekstrak Batang <i>C.cinerariifolium</i> (Kontrol perlakuan)
	: Ekstrak Akar <i>C.cinerariifolium</i> (Kontrol perlakuan)
	: Kontrol media
	: Kontrol sel

Gambar 4.1 Pemetaan seri konsentrasi pada *plate 96 Well* untuk uji aktivitas antikanker terhadap sel T47D

b. *Plate 96 Well* untuk Uji Toksisitas terhadap Sel Vero

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

Keterangan :


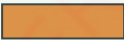
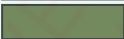
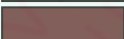
	: Ekstrak Bunga <i>C.cinerariifolium</i> (Kontrol perlakuan)
	: Ekstrak Daun <i>C.cinerariifolium</i> (Kontrol perlakuan)
	: Ekstrak Batang <i>C.cinerariifolium</i> (Kontrol perlakuan)
	: Ekstrak Akar <i>C.cinerariifolium</i> (Kontrol perlakuan)
	: Kontrol Media
	: Kontrol Sel

Gambar 4.2 Pemetaan seri konsentrasi pada *plate 96 Well* untuk uji toksisitas terhadap sel vero

c. *Plate 96 Well* untuk Doxorubicin sebagai Kontrol Positif

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	2000 nM						10000 nM					
B	1000 nM						5000 nM					
C	500 nM						2500 nM					
D	250 nM						1250 nM					
E	125 nM						625 nM					
F	62,5 nM						312,5 nM					
G	31,25 nM						156,25 nM					
H												

Keterangan :

	: Kontrol positif (Doxorubicin) untuk sel T47D
	: Kontrol positif (Doxorubicin) untuk sel Vero
	: Kontrol Media
	: Kontrol Sel

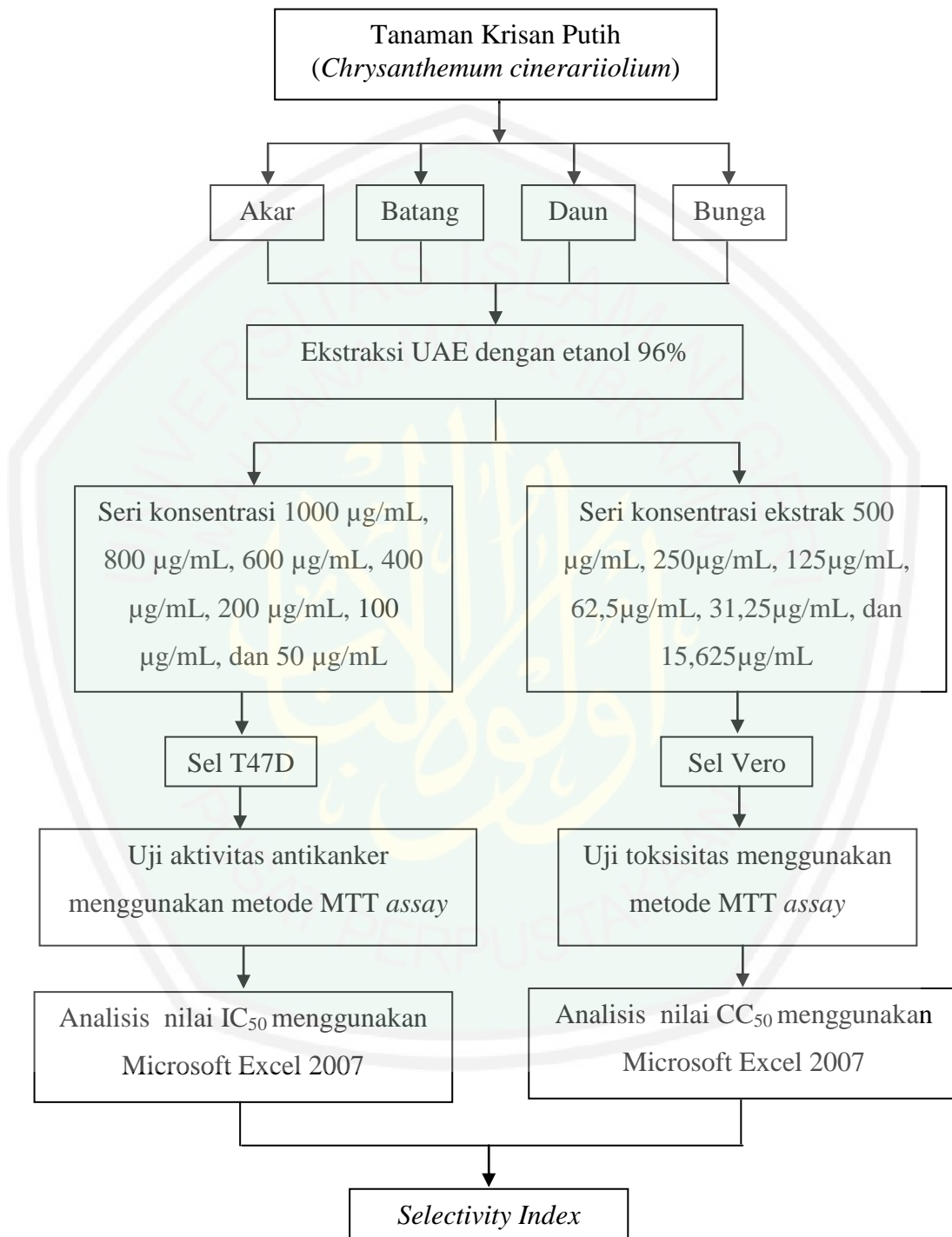
Gambar 4.3 Pemetaan seri konsentrasi pada *plate 96 Well* untuk doxorubicin sebagai kontrol positif

4.5.5.4 Pemberian Larutan MTT dan ELISA Reader (CCRC, 2009)

Siapkan reagen MTT untuk perlakuan (0,5 mg/ml) dengan cara ambil 1 mL stok MTT dalam PBS (5mg/mL), encerkan dengan MK ad 10 mL (untuk 96 well plate). Pemberian larutan MTT dilakukan dengan cara media sel dibuang, dicuci dengan PBS dan tambahkan reagen MTT 100 μ L ke setiap sumuran, termasuk kontrol media (tanpa sel), kemudian diinkubasi kembali selama 3-4 jam di dalam inkubator CO₂. Inkubasi dilakukan sampai terbentuk formazan. Diamati kondisi sel dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Jika formazan telah berbentuk jelas, maka ditambahkan *stopper* 100 μ L SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*) 10% dalam 0,01 N HCl. *Plate* dibungkus dengan kertas atau aluminium foil dan inkubasikan di tempat gelap pada temperatur kamar selama semalam (CCRC, 2013).

Selanjutnya dilakukan pembacaan nilai absorbansi menggunakan ELISA reader dengan cara dihidupkan ELISA reader dan tunggu hingga *progressing* selesai, dibuka bungkus *plate*, dimasukkan ke dalam ELISA reader. Dibaca absorbansi masing-masing sumuran dengan ELISA reader dengan $\lambda=550-600$ nm (595 nm, tekan tombol START). Simpan dan tempel kertas hasil ELISA pada *log book*. Buat grafik absorbansi (setelah dikurangi kontrol media) vs konsentrasi. Buat grafik absorbansi (setelah dikurangi kontrol media) vs konsentrasi. Hitung prosentase sel hidup dan analisis nilai IC_{50} dan CC_{50} dengan SPSS (Probit/Logit) (CCRC, 2013).

4.6 Skema Kerja Penelitian



Gambar 4.4 Skema Kerja Penelitian

4.7 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa absorbansi masing-masing sumuran dikonversi ke dalam persen sel hidup. Prosentase sel hidup dihitung dengan rumus berikut (CCRC, 2009):

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

Prosentase sel hidup dihitung untuk memperoleh nilai IC_{50} dari sel kanker payudara (T47D *Cell line*) dan nilai CC_{50} dari sel normal (Vero *Cell line*). Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% populasi sel. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Meiyanto dkk., 2008). Sedangkan nilai konsentrasi sitotoksik 50% (CC_{50}) adalah konsentrasi yang dibutuhkan untuk mereduksi viabilitas sel 50% (Abid dkk., 2012). Nilai IC_{50} dan CC_{50} dianalisis menggunakan Microsoft Excel 2007.

Analisis yang digunakan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan yaitu analisis statistik menggunakan uji normalitas data yang dilakukan untuk mengetahui apakah data penelitian berasal dari populasi yang memiliki sebaran normal. Uji normalitas data dilakukan secara numerik menggunakan uji Shapiro-wilk, dengan derajat kepercayaan lebih dari 95% ($P > 0,05$) dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal. Setelah diuji normalitas, data diuji homogenitas yang dilakukan untuk mengetahui apakah data yang diperoleh memiliki varians populasi yang sama atau tidak, uji homogenitas dilakukan menggunakan uji Levene karena varians kelompok yang digunakan lebih dari 2 kelompok data. Kriteria uji Levene yaitu, jika signifikansi $< 0,05$ maka varian kelompok data tidak sama, begitu pula sebaliknya jika signifikansi $> 0,05$, maka

varian kelompok adalah sama atau homogen. Apabila data yang diperoleh homogen yaitu $p > 0,05$, maka data diuji statistik parametrik yaitu uji ANOVA *one-way multivariate* (SPSS 15.0 for windows) dengan taraf kepercayaan 95%. Uji ANOVA *one-way multivariate* digunakan untuk membandingkan 2 atau lebih rata-rata. Jika data yang diperoleh menunjukkan signifikansi $> 0,05$ maka data yang diperoleh diasumsikan tidak ada perbedaan antar rata-rata. Jika data yang diperoleh menunjukkan signifikansi $< 0,05$ maka data yang diperoleh di uji *post hoc*. Uji *post hoc* dapat digunakan untuk melakukan evaluasi ulang data ANOVA yang mengalami perbedaan signifikan dan mengidentifikasi dimana perbedaan berada. Apabila data yang diperoleh menunjukkan signifikansi $< 0,05$ maka data yang diperoleh dianggap bermakna (Rohman, 2014).

Hasil ANOVA *one way* menunjukkan perbedaan nilai IC_{50} dan CC_{50} dari bagian akar, batang, daun, dan bunga tanaman *C. cinerariifolium*. Nilai IC_{50} dan CC_{50} yang diperoleh tersebut dianalisis selektivitas menggunakan *Selectivity Index* (SI) yang bertujuan untuk mengetahui apakah pemberian akar, batang, daun, dan bunga tanaman *C. cinerariifolium* bersifat selektif dalam membunuh sel kanker payudara T47D dan non toksik terhadap sel normal Vero (Mutiah, 2017). SI adalah rasio antara CC_{50} untuk sel normal terhadap IC_{50} untuk sel kanker (Furuta dkk., 2002). SI dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Nugroho dkk., 2013) :

$$SI = \frac{CC_{50} \text{ pada Sel vero}}{IC_{50} \text{ pada Sel Kanker (Sel T47D)}}$$

Ekstrak dinyatakan mempunyai selektivitas yang tinggi apabila nilai $SI \geq 3$, dan dinyatakan kurang selektif apabila nilai $SI < 3$ (Sutejo dkk., 2016).

BAB V

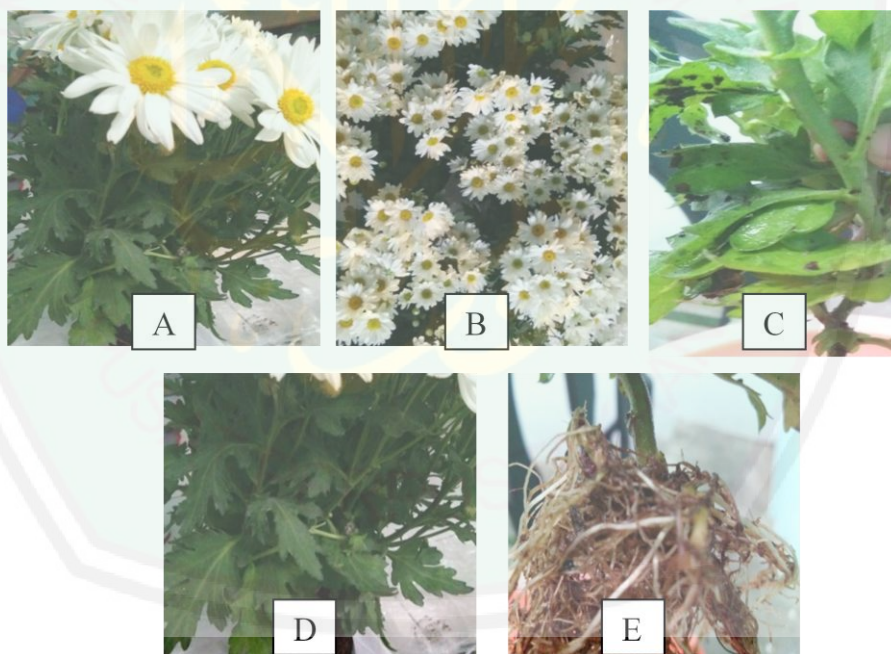
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antikanker ekstrak etanol 96% bunga, daun, batang, dan akar tanaman krisan putih (*C. cinerariifolium* (Trev.)) terhadap sel kanker payudara (T47D *cell line*). Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui perbedaan toksisitas ekstrak etanol 96% bunga, daun, batang, dan akar terhadap sel normal (Vero *cell line*). Penelitian ini dilakukan dalam enam tahap yaitu determinasi tanaman, preparasi sampel, uji kadar air serbuk simplisia *C. cinerariifolium*, ekstraksi UAE serbuk simplisia *C. cinerariifolium*, identifikasi senyawa dengan KLT, dan uji aktivitas antikanker dan uji toksisitas menggunakan metode MTT.

5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman sangat penting dilakukan untuk menghindari kesalahan pengambilan tanaman sebelum dilakukannya penelitian. Determinasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di UPT Materia Medica Kota Batu. Bagian tanaman yang digunakan untuk determinasi adalah seluruh bagian tanaman dari krisan putih. Hasil determinasi tanaman berupa surat keterangan dengan nomor 074/374/102/2017 yang menyatakan bahwa tanaman krisan putih yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.). Spesimen tanaman hasil determinasi disimpan di Laboratorium Farmakognosi Jurusan Farmasi UIN Malang.

Morfologi tanaman *C. cinerariifolium* yang diperoleh dari hasil determinasi adalah batang tegak, bulat, sedikit bercabang, permukaan kasar, dan berwarna hijau. Daun berbentuk tunggal, berseling, ujung runcing, pangkal membulat, tepi bertoreh, panjang 7-13 cm, lebar 3-6 cm, pertulangan menyirip, dan berwarna hijau. Bunga bebentuk majemuk, berwarna putih dan membentuk cawan, diketiak daun atau diujung batang, garis tengah 3-5 cm, kelopak bebrbentuk cawan, ujung runcing, berwarna hijau, benang sari dan putik halus, berkumpul di tengah bunga, dan panjang 3-8 mm. Akar berupa akar tunggang dan berwarna putih.



Gambar 5.1 : Tanaman krisan putih (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.)); A. Tanaman herba *C. cinerariifolium*; B. Bunga *C. cinerariifolium*; C. Batang *C. cinerariifolium*; D. Daun *C. cinerariifolium*; E. Akar *C. cinerariifolium*.

5.2 Preparasi Sampel

Sampel tanaman *C. cinerariifolium* diperoleh dari daerah Nongkojajar Kabupaten Pasuruan Propinsi Jawa Timur. Preparasi sampel sangat penting dilakukan karena dapat mempengaruhi mutu ekstrak. Pada tahap ini terdiri dari proses pemanenan, penanganan pasca panen yaitu sortasi awal, pencucian, pengeringan, sortasi akhir, dan penyerbukan.

Waktu panen sangat mempengaruhi terhadap kadar metabolit sekunder yang terdapat pada bagian tanaman. Pemanenan tiap bagian *C. cinerariifolium* dilakukan pada pukul 9 pagi karena mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang cukup besar (Depkes RI,1985). Pemanenan akar, batang, daun, dan bunga *C. cinerariifolium* dilakukan dengan cara dipotong menggunakan gunting. Bagian bunga yang diambil yaitu seluruh bagian bunga lengkap yang terdiri dari tangkai bunga, dasar bunga, perhiasan bunga, organ reporoduktif dan bunga yang tidak cacat. Bagian daun yang diambil yaitu dalam bentuk daun utuh, daun berwarna hijau muda dan hijau tua dan tidak cacat. Bagian batang yang diambil yaitu seluruh bagian batang yang tidak cacat. Sedangkan bagian akar yang diambil mulai dari leher akar, batang akar, ujung akar, dan akar yang tidak cacat (Rosanti, 2008). Selanjutnya tiap bagian *C. cinerariifolium* dilakukan penyortiran awal untuk memisahkannya dari bahan asing. Kemudian tiap bagian *C. cinerariifolium* dicuci bersih sebanyak 5 kali sampai air terlihat jernih dan ditiriskan. Tahap pencucian ini bertujuan untuk menghilangkan kotoran berupa debu atau tanah yang menempel pada tiap bagian *C. cinerariifolium*. Selanjutnya, dikeringkan

dibawah sinar matahari untuk menjaga kualitas bahan agar tidak mudah rusak (Kementan RI, 2011).

Tabel 5.1 Hasil pengeringan sampel

No.	Sampel	Karakteristik
1.	Bunga	Berwarna kuning kecoklatan, bertekstur keras, dan mudah dihancurkan.
2.	Daun	Berwarna Hijau, bertekstur keras, dan mudah dihancurkan.
3.	Batang	Berwarna Hijau, bertekstur keras, dan mudah dihancurkan.
4.	Akar	Berwarna coklat, bertekstur keras, dan mudah dihancurkan.



Gambar 5.2 Hasil pengeringan sampel *C. cinerariifolium*; bunga (A); daun (B); batang (C); dan akar (D).

Sampel tiap bagian *C. cinerariifolium* di grinding/diserbukkan untuk memperoleh serbuk simplisia bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium*. Proses penyerbukan ini bertujuan untuk memperkecil ukuran sampel sehingga memiliki luas permukaan yang besar dan memudahkan dalam proses ekstraksi karena dapat memberikan kontak antara sampel dengan pelarut lebih maksimal.

Kemudian dilakukan penimbangan berat serbuk simplisia pada serbuk bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium* (Kementan RI, 2011).



Gambar 5.3 Serbuk simplisia *C. cinerariifolium*; bunga (A); daun (B); batang (C); dan akar (D).

5.3 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia *C. cinerariifolium*

Uji kadar air merupakan uji yang dilakukan untuk menentukan kadar air yang terkandung dalam suatu sampel. Parameter kadar air merupakan kandungan air yang berada didalam sampel, yang bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam sampel (Ditjen POM, 2000). Jika kadar air suatu sampel terlalu tinggi maka sampel akan mudah terkontaminasi oleh bakteri atau jamur. Kadar air menentukan stabilitas ekstrak, menurut Permenkes RI no 661 tahun 1994 kadar air suatu simplisia tidak lebih dari 10%.

Alat yang digunakan untuk uji kadar air pada penelitian ini adalah *Moisture Content Analyzer* merk *Mettler Toledo*. Alat ini mampu bekerja secara otomatis dan cara penggunaannya mudah, serta menghasilkan data yang akurat. Uji kadar air dilakukan pada serbuk simplisia bunga, daun, batang, dan akar *C.*

cinerariifolium. Adapun hasil pengukuran kadar air pada tiap sampel adalah sebagai berikut :

Tabel 5.2 Hasil uji kadar air tiap sampel serbuk simplisia *C. cinerariifolium* menggunakan *Moisture Content Analyzer*

No.	Sampel	% MC
1.	Bunga	6,52 %
2.	Daun	5,94 %
3.	Batang	9,74 %
4.	Akar	5,11 %

Berdasarkan hasil uji kadar air serbuk simplisia bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium* diketahui bahwa tiap sampel serbuk simplisia mempunyai kadar air yang cukup baik karena kurang dari 10%. Menurut Permenkes RI no 661 tahun 1994 kadar air suatu simplisia tidak lebih dari 10%.

5.4 Ekstraksi dengan Metode UAE

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair (Ditjen POM, 2000). Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE). Metode ekstraksi ini memiliki beberapa keuntungan yaitu mampu mengekstraksi senyawa dalam waktu yang singkat serta efisien. Gelombang yang dihasilkan mampu mengubah materi secara fisik maupun kimia dengan meningkatkan penetrasi pelarut kedalam serbuk simplisia padat. Kavitasasi getaran pada UAE menghasilkan suhu dan tekanan tinggi untuk mendapatkan energi, sehingga mampu mengekstraksi senyawa-senyawa target tertentu dari

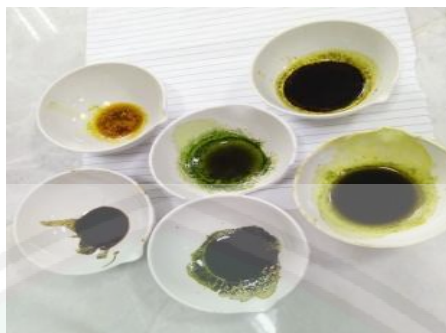
serbuk simplisia. Beberapa studi terbaru menunjukkan bahwa metode UAE dapat mempercepat laju ekstraksi dan meningkatkan hasil lebih banyak sekitar 10% (Kumcuoghu dkk., 2014).

Proses ekstraksi pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan serbuk simplisia dan pelarut adalah 1 : 20. Hal ini dilakukan karena bersifat efektif dan efisien dalam proses ekstraksi. Ekstraksi dilakukan selama 2 menit dengan 3 kali replikasi yang bertujuan untuk memperoleh hasil ekstraksi yang maksimum.



Gambar 5.4 Proses UAE serbuk simplisia *C. cinerariifolium*

Sampel hasil proses UAE dilakukan penguapan pelarut menggunakan alat *rotary evaporator* bermerk IKA dengan suhu 50°C dan 75 rpm. Prinsip kerja alat ini didasarkan pada titik didih pelarut dan tekanan yang menyebabkan uap pelarut terkumpul diatas, serta adanya suhu dingin yang menyebabkan uap mengembun dan akhirnya jatuh ke tabung bulat (Nugroho dkk, 1999 dalam Sanjaya dan Surakusumah, 2007).



Gambar 5.5 Ekstrak kental *C. cinerariifolium*

Ekstrak kental tiap bagian tanaman *C. cinerariifolium* di pekatkan menggunakan oven dengan suhu 40°C sampai tekstur ekstrak menjadi pekat. Selanjutnya masing-masing ekstrak *C. cinerariifolium* di timbang dan di hitung rendemen.

Tabel 5.3 Hasil ekstrak pekat etanol 96% *C. cinerariifolium*.

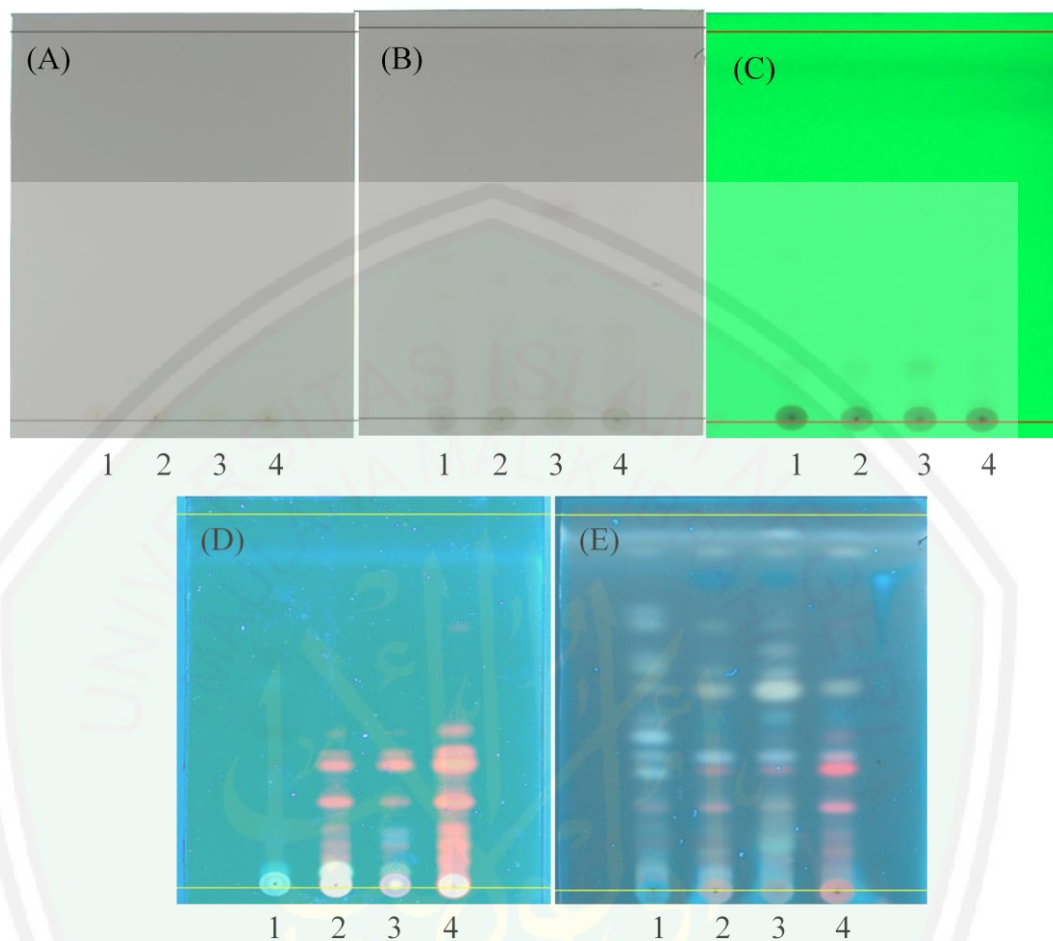
Sampel	Serbuk simplisia + pelarut yang digunakan	Warna ekstrak	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%) (b/b)
Bunga	25 gram + 500 mL	Coklat pekat	2,65	10,6
Daun	25 gram + 500 mL	Hijau pekat	1,18	4,72
Batang	20 gram + 400 mL	Hijau pekat	0,59	2,95
Akar	9 gram + 180 mL	Kuning pekat	0,29	3,2

5.5 Identifikasi Senyawa *C. cinerariifolium* dengan KLT

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan pada dua fase yaitu fase gerak berupa cairan dan fase diam berupa padatan (Muti'ah, Hayati, dan Triastutik, 2013). Fase gerak akan bergerak sepanjang fase diam yang disebabkan karena pengaruh kapiler pada

pengembangan secara mekanik (*ascending*) atau disebabkan karena pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*) (Rohman, 2007).

Fase diam yang digunakan pada penelitian ini adalah plat KLT Silika gel 60 F₂₅₄. Plat KLT tersebut mayoritas dapat memisahkan golongan senyawa kimia. Fase gerak yang digunakan adalah fase gerak terbaik dalam optimasi identifikasi senyawa ekstrak *C.cinerariifolium* yaitu fase gerak n-Heksana dan etilasetat (8 : 2), serta fase gerak tersebut digunakan karena secara umum dapat memisahkan berbagai senyawa dengan kemampuan yang luas (Saifudin, Rahayu dan Teruna 2011). Penampak noda yang digunakan adalah H₂SO₄ 10%. Identifikasi senyawa menggunakan *Thin Layer Chromatography (TLC) Visualyzer* CAMAG. Hasil yang diperoleh ditunjukkan pada Gambar 5.6 dan Tabel 5.4.



Gambar 5.6 Hasil identifikasi *C.cinerariifolium* dengan *TLC Visualyzer*. Ekstrak Akar (1); Ekstrak Batang (2); Ekstrak Bunga (3); dan Ekstrak Daun (4). (A) Plat KLT dengan sinar *White* sebelum di semprot dengan penampak noda; dan (B) Plat KLT dengan sinar *White* sesudah disemprot dengan penampak noda; (C) Plat KLT dengan sinar UV 254 sebelum disemprot. (D) Plat KLT dengan sinar UV 366 sebelum disemprot; dan (E) Plat KLT dengan sinar UV 366 sesudah disemprot.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada gambar 5.6 menunjukkan perbandingan antara bercak noda antara sebelum dan sesudah disemprot dengan penampak noda H_2SO_4 10%. Plat KLT dengan sinar *White* sebelum disemprot dapat diamati bahwa bercak noda hanya pada ekstrak daun berwarna coklat, namun plat KLT dengan sinar *White* setelah disemprot dapat diamati bahwa terdapat bercak noda berwarna ungu pada setiap ekstrak. Pada plat KLT dengan

sinar UV 254 sebelum disemprot dapat diamati bahwa terdapat bercak noda berwarna coklat pada setiap ekstrak ekstrak. Menurut Harborne (1987) menyatakan bahwa pada panjang gelombang 250-270 dengan warna noda coklat menunjukkan senyawa flavon dan biflavon. Pada plat KLT dengan sinar UV 366 sebelum dan sesudah disemprot sangat terlihat perbedaannya. Plat KLT sesudah disemprot menunjukkan banyak noda dengan beberapa macam warna. Hal ini terlihat pada hasil Rf yang diperoleh, Rf senyawa pada plat KLT sesudah disemprot lebih banyak dibandingkan dengan nilai Rf pada plat KLT sebelum disemprot. Menurut Harborne (1987) warna kuning dengan panjang gelombang 341-389 setelah disemprot menunjukkan senyawa golongan flavonol. Hasil Identifikasi senyawa pada sinar UV 366 setelah disemprot dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil identifikasi golongan senyawa *C.cinerariifolium*

Sampel	Jumlah Noda + Rf Senyawa	Warna Noda	Senyawa Golongan
Bunga	2 noda (0,09; 0,29)	Merah muda	Terpenoid (Harborne, 1987)
	2 noda (0,20; 0,49)	Kuning Kehijauan	Flavonoid (Harborne, 1987)
	1 noda (0,33)	Merah	Terpenoid (Harborne, 1987)
	4 noda (0,42; 0,61; 0,87; 0,92)	Kuning	Flavonoid (Harborne, 1987)
Daun	3 noda (0,08; 0,19; 0,43)	Merah muda	Terpenoid (Harborne, 1987)
	1 noda (0,50)	Merah ungu	Terpenoid (Harborne, 1987)
	2 noda (0,28; 0,34)	Merah	Terpenoid (Harborne, 1987)
	2 noda (0,80; 0,92)	Kuning	Flavonoid (Harborne, 1987)
Batang	2 noda (0,02; 0,33)	Merah	Terpenoid (Harborne, 1987)
	2 noda (0,08; 0,12)	Merah Muda	Terpenoid (Harborne, 1987)
	1 noda (0,18)	Merah ungu	Terpenoid (Harborne, 1987)
	5 noda (0,49; 0,56; 0,67; 0,86; 0,92)	Kuning	Flavonoid (Harborne, 1987)
Akar	1 noda (0,00)	Biru	Monoterpen lakton Flavonoid (Harborne, 1987)
	8 noda (0,03; 0,34; 0,38; 0,51; 0,56; 0,67; 0,79; 0,86; 0,92)	Kuning	Flavonoid (Harborne, 1987)
	1 noda (0,13)	Kuning kehijauan	Flavonoid (Harborne, 1987)
	1 noda (0,20)	Merah muda	Terpenoid (Harborne, 1987)

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh ekstrak bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium* mengandung senyawa mayor golongan flavonoid dan terpenoid (Harborne, 1987). Secara kemotaksonomi pada tanaman *C. trifurcatum* terdapat 50 total senyawa yang teridentifikasi dari bagian daun, batang, dan akar. Pada daun dan batang *C. trifurcatum* banyak mengandung senyawa monoterpen hidrokarbon, sedangkan pada akar *C. trifurcatum* banyak mengandung senyawa sesquiterpen hidrokarbon (Sassi dkk., 2014). Menurut Xie dkk 2009 menyatakan bahwa pada bunga *C. morifolium* mengandung 10 senyawa golongan flavonoid. Senyawa golongan flavonoid dan golongan terpenoid sangat berperan terhadap kesehatan, salah satunya yaitu memiliki aktivitas antikanker pada kanker payudara (Bishayee dkk., 2011 ; Weeb dan Ebeler, 2004).

5.6 Uji Aktivitas Antikanker dan Uji toksisitas menggunakan Metode MTT

Ekstrak dari masing-masing bagian tanaman *C. cinerariifolium* diuji aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara (T47D *cell line*) dan diuji toksisitas terhadap sel normal (Vero *cell line*) menggunakan metode MTT. Uji aktivitas antikanker bertujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antikanker dari bagian bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium* melalui penurunan presentase sel hidup berdasarkan nilai IC_{50} . Sedangkan uji toksisitas terhadap sel normal bertujuan untuk mengetahui efek toksik dari masing-masing ekstrak bagian *C. cinerariifolium* dengan melihat kenaikan presentase sel hidup berdasarkan nilai CC_{50} . Metode MTT merupakan metode kolorimetrik yang didasarkan pada perubahan warna dari reduksi garam tetrazolium [3-(4,5-

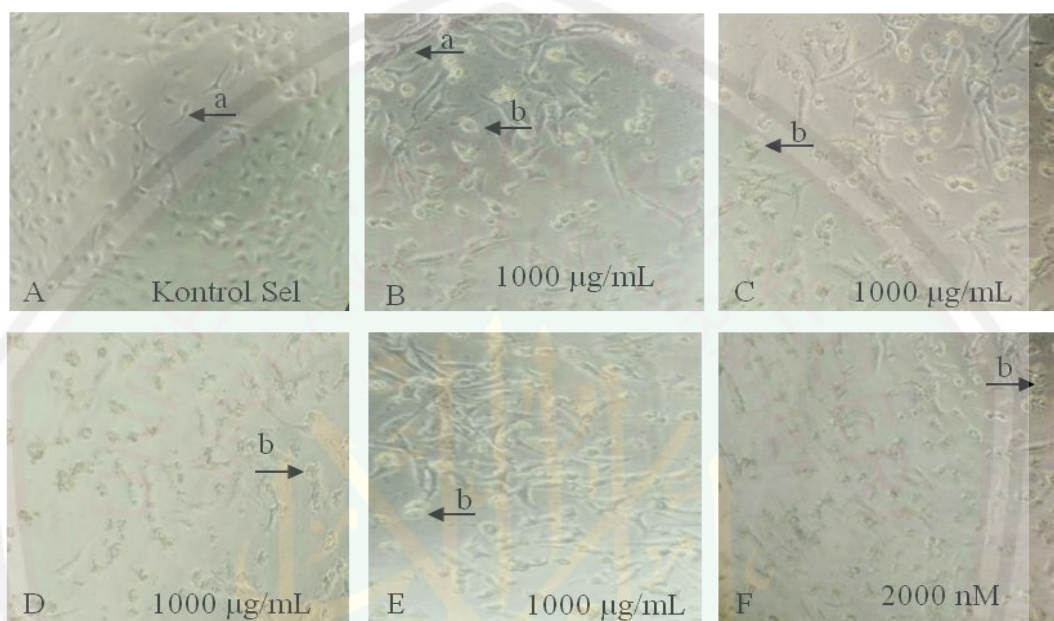
dimetiliazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid] (MTT) oleh sistem reduktase membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air (Muti'ah dkk, 2018). Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup (Doyle dan Griffiths, 2000). Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka jumlah sel hidup semakin banyak (CCRC, 2009).

Sel kanker payudara (T47D *cell line*) yang digunakan pada uji aktivitas antikanker ini merupakan sel T47D subkultur ke-5 *continuous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun yang terkena *ductal carcinoma*. Sel ini memiliki morfologi sama seperti sel epitel. Sel T47D ini sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya dan memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas (Muti'ah dkk, 2017). Sedangkan sel Vero yang digunakan untuk uji toksisitas merupakan sel Vero subkultur ke-5. Sel Vero merupakan sel epitel non kanker (sel normal). Sel ini berasal dari organ ginjal monyet hijau asal Afrika. Sel vero merupakan sel monolayer berbentuk poligonal dan pipih, immortal, sel fibroblastik non tumorigenik (Goncalves, 2012). Sel vero ini homolog dengan sel tubuh manusia, berbentuk tringular. Kelebihan dari sel ini adalah mudah ditumbuhkan dalam media kultur (Triatmoko dkk., 2016). Sel T47D dan sel Vero yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Sel T47D ditumbuhkan dalam media kultur RPMI 1640 merk (Gibco, USA) dan sel Vero ditumbuhkan dalam media kultur M199 merk (Gibco, USA).

Tahap awal pada penelitian ini yaitu dilakukan pemanenan sel yang diambil dari inkubator CO₂ dan diambil sebanyak 10 µl dan dihitung sel menggunakan *hemocytometer*. Jumlah sel T47D yang diperoleh adalah sebanyak 56 x 10⁴ sel/mL, sedangkan sel Vero diperoleh sebanyak 74,75 x 10⁴ sel/mL. Berdasarkan jumlah sel tersebut diambil sel T47D sebanyak 1,78 mL dan ditambah media kultur RPMI ad 10 mL, serta dihomogenkan, sedangkan sel Vero diambil sebanyak 1,34 mL dan ditambah media kultur M199 ad 10 mL, serta dihomogenkan. Kemudian masing-masing sel dalam media kultur ditanam ke 96 *well plate* dan diinkubasi selama 24 jam.

Sebanyak 10 mg ekstrak bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium* ditimbang dan dilarutkan dalam 100 µL *Dimethyl sulfoxide* (DMSO) sehingga diperoleh larutan stok masing-masing ekstrak sebanyak 100.000 µg/mL. Ekstrak etanol 96% bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium* dibuat dengan 7 macam seri konsentrasi. Konsentrasi pada uji aktivitas antikanker terhadap sel T47D yaitu 1000 µg/mL, 800 µg/mL, 600 µg/mL, 400 µg/mL, 200 µg/mL, 100 µg/mL, dan 50 µg/mL. Konsentrasi pada uji toksisitas terhadap Sel Vero yaitu 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL, dan 15,625 µg/mL. Sedangkan larutan stok kontrol positif berupa doxorubicin dibuat sebanyak 2 mg/mL. Seri konsentrasi kontrol positif doxorubicin dibuat berdasarkan nilai IC₅₀ doxorubicin terhadap sel T47D sebesar 250 nM (Abdolmohammadi, 2008). Doxorubicin dibuat dengan 7 macam seri konsentrasi, dimana untuk uji aktivitas terhadap sel T47D yaitu 2000 nM, 1000 nM, 500 nM, 250 nM, 125 nM, 62,5 nM, dan 31,25 nM. dan untuk uji toksisitas terhadap sel

Vero yaitu 10000 nM, 5000 nM, 2500 nM, 1250 nM, 625 nM, 312,5 nM, dan 156,25 nM. Seri konsentrasi kontrol positif doxorubicin dibuat berdasarkan nilai IC_{50} doxorubicin terhadap sel T47D sebesar 250 nM (Abdolmohammadi, 2008).



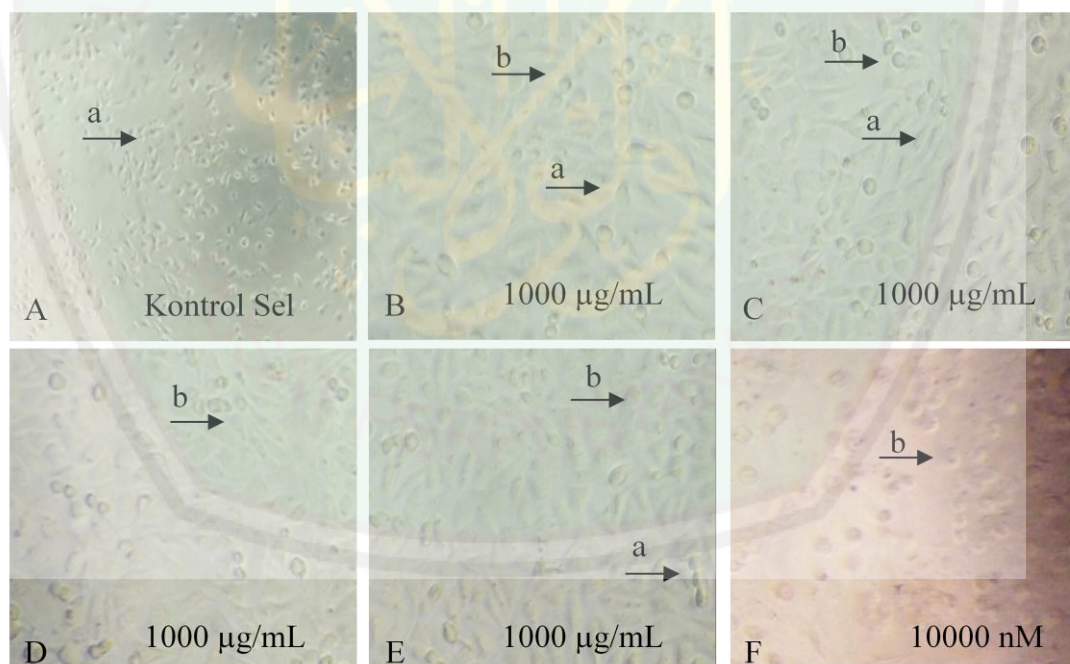
Gambar 5.7 Perbandingan efek penghambatan pertumbuhan sel T47D setelah diberi perlakuan dengan ekstrak *C. cinerariifolium*; (A) Kontrol sel; (B) Kontrol perlakuan ekstrak bunga (1000 µg/mL) ; (C) Kontrol perlakuan ekstrak daun (1000 µg/mL) ; (D) Kontrol perlakuan ekstrak batang (1000 µg/mL) ; (E) Kontrol perlakuan ekstrak akar (1000 µg/mL) ; dan (F) Kontrol positif Doxorubicin (2000 nM). Morfologi sel diamati dibawah mikroskop inverted dengan perbesaran 400 kali. Perubahan yang terjadi tampak pada (B, C, D, E, dan F) yaitu sel hidup (a) dan sel mati (b).

Berdasarkan gambar 5.7 diatas terjadi perubahan morfologi antara kontrol sel T47D dengan perlakuan sampel ekstrak bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium* pada konsentrasi 1000 µg/mL dan kontrol positif doxorubicin konsentrasi 2000 nM. Sel T47D yang hidup berbentuk memanjang, sedangkan sel T47D yang mati berbentuk bulat mengkerut (Tussanti, Johan, dan Kisdjamiatun, 2014). Pada kelompok kontrol sel teramati bahwa sel hidup berbentuk memanjang

dan terdapat inti sel dengan jelas. Sedangkan pada kelompok kontrol perlakuan ekstrak bunga dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ terjadi perubahan morfologi sel mati berbentuk bulat, kecil, tidak terdapat inti sel dan mengkerut, serta masih teramati sel hidup. Kelompok kontrol perlakuan ekstrak daun, batang, dan akar dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan kelompok kontrol positif doxorubicin konsentrasi 2000 nM terjadi perubahan morfologi sel mati berbentuk bulat, kecil, dan mengkerut. Sel menjadi lebih kecil dikarenakan terjadi kerusakan seluler. Sel kanker payudara (T47D) mengalami kerusakan seluler akibat perlakuan masing-masing ekstrak.

Kanker payudara terjadi disebabkan karena aktivasi atau overekspresi beberapa protein predisposisi seperti reseptor esterogen (ER) dan c-erbB-2 (HER-2) (Eccles, 2001). Kedua protein tersebut selain berperan dalam metastasis, juga berperan dalam perkembangan kanker payudara. Estrogen berikatan dengan ER (Reseptor Estrogen) membentuk kompleks reseptor aktif dan mempengaruhi transkrip gen yang mengatur proliferasi sel. Aktivasi hormon esterogen berperan memicu ekspresi beberapa onkoprotein seperti CycD1, Myc, Ras (Foster dkk., 2001). Selain itu, overekspresi ER juga dapat memacu mutasi transkripsi beberapa gen tumor supressor seperti BRCA1, BRCA2, dan p53 (CCRC, 2014). Mutasi gen p53 yang disebabkan oleh overekspresi ER dan HER-2 dapat menyebabkan terjadinya kerusakan DNA, sehingga menyebabkan pertumbuhan sel menjadi tidak terkontrol (Yamamoto, et al., 2014). Hilangnya kemampuan gen p53 tersebut menyebabkan ketidakseimbangan antara proses proliferasi dan apoptosis sel (Guo dan Hay, 1999).

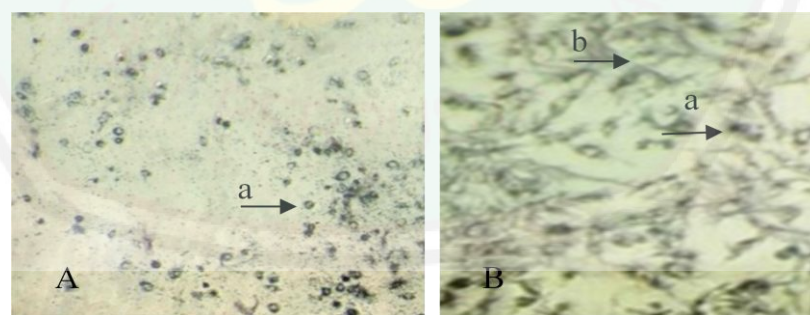
Berdasarkan hasil identifikasi senyawa dengan KLT, ekstrak bunga, daun, batang, dan akar memiliki senyawa paling dominan yaitu senyawa golongan terpenoid dan golongan flavonoid. Senyawa tersebut mampu mencegah terjadinya kanker payudara. Senyawa golongan terpenoid mampu mencegah terjadinya overekspresi protein ER dan HER-2 dan mampu mencegah terjadinya mutasi gen p53, sehingga dapat memperbaiki proliferasi sel dan meningkatkan apoptosis sel (Bishayee dkk., 2011). Sedangkan senyawa flavonoid memiliki aktivitas antikanker yang sama dengan obat doxorubicin yaitu mampu mencegah terjadinya kanker dengan menghambat DNA topoisomerase I dan II, sehingga dapat memperbaiki terjadinya kerusakan DNA (Cantero dkk., 2006).



Gambar 5.8 Perbandingan efek penghambatan pertumbuhan sel Vero setelah diberi perlakuan dengan ekstrak *C. cinerariifolium*; (A) Kontrol sel; (B) Kontrol perlakuan ekstrak bunga (1000 µg/mL); (C) Kontrol perlakuan ekstrak daun (1000 µg/mL); (D) Kontrol perlakuan ekstrak batang (1000 µg/mL); (E) Kontrol perlakuan ekstrak akar (1000 µg/mL); dan (F) Kontrol positif Doxorubicin (10000 nM). Morfologi sel diamati dibawah mikroskop inverted dengan perbesaran 400 kali. Perubahan yang terjadi tampak pada (B, C, D, E, dan F) yaitu sel hidup (a) dan sel mati (b).

Berdasarkan gambar 5.8 diatas terjadi perubahan morfologi antara kontrol sel Vero dengan perlakuan sampel ekstrak bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium* pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan kontrol positif doxorubicin konsentrasi 10000 nM. Pada kelompok kontrol sel teramati bahwa sel hidup berbentuk poligonal dan terdapat inti sel yang jelas. Pada kelompok kontrol perlakuan ekstrak bunga, daun, batang, dan akar dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ terjadi perubahan morfologi sel mati menjadi bulat, mengkerut, dan tidak terdapat inti sel. Sedangkan pada kelompok kontrol positif doxorubicin konsentrasi 10000 nM terjadi perubahan morfologi sel menjadi bulat dan mengkerut. Menurut Goncalves (2012) morfologi sel vero yang hidup berbentuk poligonal dan pipih.

Setelah dilakukan penambahan reagen MTT terbentuk, serabut formazan dapat diamati dibawah mikroskop *inverted* dengan perbesaran 400 kali. Semakin banyak serabut formazan maka sel hidup semakin banyak. Sel mati berbentuk bulat, kecil dan mengkerut sedangkan sel hidup berbentuk serabut formazan.



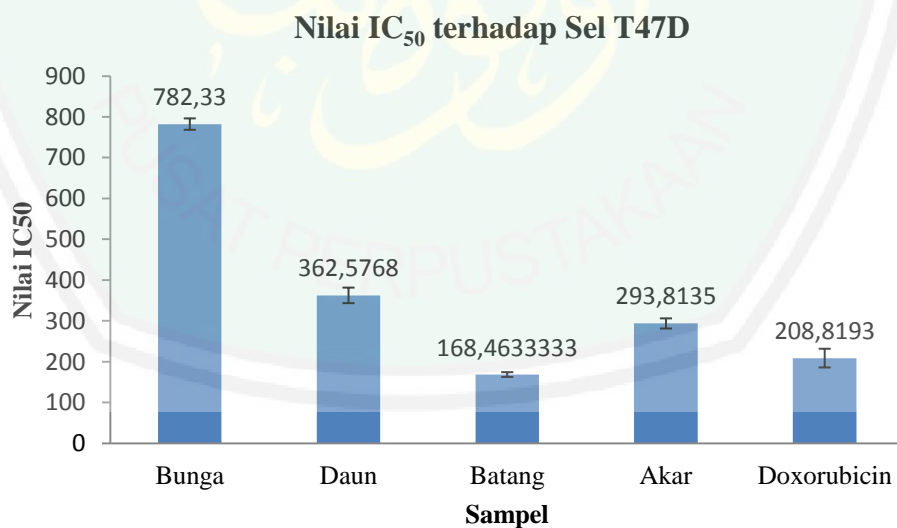
Gambar 5.9 Kristal formazan pada sel T47D terbentuk setelah pemberian reagen MTT; (A) Ekstrak batang 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$; dan (B) Ekstrak batang 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Morfologi sel diamati dibawah mikroskop *inverted* dengan perbesaran 400 kali. Perubahan yang terjadi pada (A) tampak sel mati berbentuk bulat kecil mengkerut (a) dan pada (B) tampak sel berbentuk bulat kecil mengkerut (a), sel hidup membentuk serabut formazan (b).

Berdasarkan gambar 5.9 diatas terdapat perubahan morfologi sel setelah pemberian reagen MTT, salah satunya yaitu pada sampel ekstrak batang terhadap sel T47D dengan konsentrasi tertinggi 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan konsentrasi terendah 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ teramati bahwa sel mati berbentuk bulat, kecil dan mengkerut, sedangkan serabut formazan tidak teramati. Pada konsentrasi terendah 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ teramati bahwa sel hidup semakin banyak dengan terbentuknya serabut formazan yang semakin banyak namun teramati juga sel mati berbentuk bulat, kecil, dan mengkerut. Serabut formazan berwarna ungu terbentuk disebabkan karena terjadi reaksi reduksi garam kuning tetrazolium MTT oleh sistem reduktase. Enzim *mitochondria succinate dehydrogenase* pada sel hidup memberikan aktivitas enzimatik yang mampu memecah garam tetrazolium MTT berwarna kuning menjadi serabut formazan berwarna ungu dan tidak larut air (Ebada dkk, 2008). Penambahan reagen stopper 100 μL *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) 10% pada tiap sumuran bersifat detergenik yang mampu melisiskan membran sel, dan menghentikan reaksi MTT dengan melarutkan kristal formazan (CCRC, 2009). Kemudian dilakukan pembacaan nilai absorbansi masing-masing sumuran menggunakan ELISA reader dengan panjang gelombang 595. Data absorbansi yang diperoleh dikonversikan ke dalam % viabilitas sel hidup untuk mengetahui nilai IC_{50} untuk uji aktivitas antikanker dan CC_{50} untuk uji toksisitas dari masing-masing ekstrak *C. cinerariifolium* menggunakan Microsoft Excel 2007.

Tabel 5.5 Nilai IC₅₀ pada masing-masing sampel

Sampel	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata ± SD (%)
Bunga	772,38 µg/mL	776,29 µg/mL	798,32 µg/mL	782,33 ± 13,98
Daun	341,94 µg/mL	366,25 µg/mL	379,54 µg/mL	362,58 ± 19,07
Batang	161,75 µg/mL	172,29 µg/mL	171,35 µg/mL	168,46 ± 5,83
Akar	288,25 µg/mL	285,18 µg/mL	308,02 µg/mL	293,81 ± 12,40
Doxorubicin	197,93 nM	235,19 nM	193,33 nM	208,82 ± 22,95

Berdasarkan tabel 5.5 dapat dibuat grafik nilai IC₅₀ pada masing-masing sampel terhadap sel T47D.

**Gambar 5.10** Grafik nilai IC₅₀ masing-masing sampel terhadap sel T47D

Berdasarkan tabel 5.5 hasil nilai IC_{50} yang diperoleh menunjukkan bahwa masing-masing ekstrak etanol 96% *C. cinerariifolium* memiliki aktivitas antikanker terhadap kanker payudara. Suatu ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas antikanker yang moderat apabila nilai IC_{50} dalam kisaran 100 $\mu\text{g/mL}$ hingga 1000 $\mu\text{g/mL}$ (Prayong dkk, 2008). Sedangkan menurut Costa dkk (2017) suatu ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas yang tinggi apabila nilai $IC_{50} < 500 \mu\text{g/mL}$ dan dikatakan memiliki aktivitas yang lemah apabila nilai $IC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$.

Sampel yang memiliki nilai IC_{50} kurang dari 500 $\mu\text{g/mL}$ yaitu ekstrak batang, ekstrak akar, dan ekstrak daun *C. cinerariifolium* berturut-turut sebesar 168,46 $\mu\text{g/mL}$; 293,81 $\mu\text{g/mL}$; dan 362,58 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga ekstrak tersebut memiliki aktivitas antikanker terhadap kanker payudara (T47D) yang tinggi (Costa dkk, 2017). Sementara nilai IC_{50} pada ekstrak bunga *C. cinerariifolium* sebesar 782,33 $\mu\text{g/mL}$ dinyatakan memiliki aktivitas antikanker yang lemah karena lebih dari 500 $\mu\text{g/mL}$ (Costa dkk, 2017) dan tergolong moderat (Prayong dkk, 2008). Sedangkan nilai IC_{50} pada kontrol positif sebesar 208,82 nM. Hasil yang diperoleh tersebut mendekati nilai IC_{50} peneliti Abdolmohammadi dkk (2008) yang menyatakan bahwa nilai IC_{50} doxorubicin terhadap sel T47D sebesar 250 nM. Doxorubicin memiliki nilai IC_{50} yang rendah dikarenakan memiliki aktivitas yang tinggi terhadap sel kanker payudara (Anjarsari dkk., 2013).

Tabel 5.6 Nilai CC_{50} pada masing-masing sampel

Sampel	Nilai CC_{50}			Rata-rata \pm SD
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	
Bunga	682,20 $\mu\text{g/mL}$	699,06 $\mu\text{g/mL}$	723,14 $\mu\text{g/mL}$	701,46 \pm 20,59
Daun	655,77 $\mu\text{g/mL}$	683,54 $\mu\text{g/mL}$	689,23 $\mu\text{g/mL}$	676,18 \pm 17,90
Batang	585,79 $\mu\text{g/mL}$	575,71 $\mu\text{g/mL}$	546,04 $\mu\text{g/mL}$	569,18 \pm 20,66
Akar	728,30 $\mu\text{g/mL}$	735,83 $\mu\text{g/mL}$	720,44 $\mu\text{g/mL}$	728,19 \pm 7,69
Doxorubicin	1632,64 nM	1607,70 nM	3573,61 nM	2271,32 \pm 1127,89

Berdasarkan tabel 5.6 dapat dibuat grafik nilai CC_{50} pada masing-masing sampel terhadap sel Vero.

**Gambar 5.11** Grafik nilai CC_{50} masing-masing sampel terhadap sel Vero

Berdasarkan tabel 5.6 hasil nilai CC_{50} yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel ekstrak etanol 96% bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium* memiliki toksisitas terhadap sel normal. Toksisitas yang tinggi terhadap sel

normal pada uji *in vitro* berkorelasi dengan efek toksik terhadap sel normal (Muti'ah, 2017). Sampel yang memiliki nilai CC_{50} paling tinggi adalah ekstrak akar *C. cinerriifolium* sebesar 728,19 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan nilai CC_{50} pada kontrol positif sebesar 2271,32 nM. Tingkat toksisitas suatu ekstrak dapat diukur melalui indeks selektifitas dengan rasio antara CC_{50} untuk sel normal terhadap IC_{50} untuk sel kanker (Furuta dkk, 2002).

Hasil IC_{50} dan CC_{50} masing-masing sampel yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA *one-way multivariate* (SPSS 15.0 for windows) dengan taraf kepercayaan 95%. Uji ANOVA *one way* yang digunakan bertujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antikanker dan perbedaan toksisitas antar sampel dengan membandingkan lebih dari 2 rata-rata. Kemudian data yang diperoleh di uji *post hoc* untuk melakukan evaluasi ulang data ANOVA yang mengalami perbedaan signifikan dan mengidentifikasi dimana perbedaan berada. Apabila data yang diperoleh menunjukkan signifikansi $< 0,05$ maka data yang diperoleh dianggap bermakna (Rohman, 2014).

Hasil uji ANOVA nilai IC_{50} masing-masing sampel terhadap sel T47D diperoleh menunjukkan signifikansi $P < 0,000$, hal ini membuktikan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar sampel ekstrak bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerriifolium* dalam menghambat pertumbuhan sel T47D. Sedangkan nilai CC_{50} masing-masing sampel terhadap sel Vero juga menunjukkan signifikansi $P < 0,009$. Hal ini membuktikan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar sampel ekstrak bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerriifolium* terhadap efek toksik pada sel normal Vero. Menurut Dahlan (2012), jika data yang diperoleh

menunjukkan signifikansi $< 0,000$ maka data yang diperoleh diasumsikan terdapat perbedaan antar kelompok (Dahlan, 2012). Sampel ekstrak bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium* memiliki perbedaan aktivitas antikanker terhadap kanker payudara (*T47D cell line*) dan perbedaan toksisitas terhadap sel normal (*Vero cell line*).

Hasil IC_{50} dan CC_{50} yang diperoleh pada masing-masing sampel menunjukkan nilai yang berbeda-beda hal ini disebabkan karena pada masing-masing sampel memiliki perbedaan kandungan senyawa. Sehingga memiliki aktivitas antikanker yang berbeda-beda. Perbedaan kandungan metabolit tersebut disebabkan karena pada umumnya kandungan senyawa berasal dari organ tumbuhan spesifik pada suatu spesies tertentu (Dokuparthi and Manikanta, 2015).

5.7 Uji Indeks Selektivitas

Indeks selektivitas adalah suatu parameter untuk mengukur kemampuan suatu bahan (ekstrak) untuk membunuh secara selektif sel kanker dan bersifat aman terhadap sel normal. Parameter indeks selektivitas digunakan untuk menghindari efek samping obat antikanker terhadap sel normal (Sutedjo dkk., 2016). SI (*Selectivity Index*) adalah rasio antara CC_{50} untuk sel normal terhadap IC_{50} untuk sel kanker (Furuta dkk., 2002). Analisis SI pada penelitian ini untuk mengetahui apakah masing-masing sampel bersifat selektif dalam membunuh sel kanker payudara (*T47D cell line*) dan bersifat aman terhadap sel normal (*Vero cell line*). Nilai SI diperoleh dengan membandingkan nilai IC_{50} dan nilai CC_{50} yang telah diperoleh.

Tabel 5.7 Nilai Indeks Selektivitas masing-masing Sampel

Sampel	IC ₅₀ pada sel T47D ± SD (%)	CC ₅₀ pada Sel Vero ± SD (%)	Indeks Selektivitas (SI > 3)
Bunga	782,33 µg/mL ± 13,98	701,46 µg/mL ± 20,59	0,89
Daun	362,58 µg/mL ± 19,07	676,18 µg/mL ± 17,90	1,86
Batang	168,46 µg/mL ± 5,83	569,18 µg/mL ± 20,66	3,38
Akar	293,81 µg/mL ± 12,40	728,19 µg/mL ± 7,69	2,47
Doxorubicin	208,82 nM ± 22,95	2271,32 nM ± 1127,89	10,88

Hasil nilai IC₅₀ dan nilai CC₅₀ pada tabel 5.7 dapat diketahui bahwa masing-masing sampel memiliki perbedaan nilai indeks selektivitas. Hal ini disebabkan karena masing-masing bagian tanaman memiliki aktivitas dan toksisitas terhadap sel yang berbeda-beda. Sampel yang memiliki selektivitas > 3 adalah ekstrak batang *C. cinerariifolium* dengan nilai SI sebesar 3,38 dan kontrol positif doxorubicin dengan nilai SI sebesar 10,88. Sedangkan sampel ekstrak bunga, daun, dan akar *C. cinerariifolium* memiliki nilai SI < 3. Menurut Suttedjo dkk 2016 suatu ekstrak dinyatakan mempunyai selektivitas yang tinggi apabila nilai SI > 3, dan dinyatakan kurang selektif apabila nilai SI < 3. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak batang *C. cinerariifolium* memiliki aktivitas antikanker yang selektif terhadap sel kanker payudara dan aman terhadap sel

normal. Sementara ekstrak bunga, daun dan akar *C. cinerariifolium* memiliki aktivitas antikanker tetapi tidak selektif sehingga kurang aman jika digunakan sebagai obat antikanker. Sedangkan nilai selektivitas paling tinggi adalah doxorubicin yang menunjukkan selektif terhadap sel kanker payudara dan aman terhadap sel normal. Hal ini disebabkan karena doxorubicin memiliki sensitifitas yang tinggi terhadap sel kanker payudara (Anjasari dkk, 2013).

5.8 Pemanfaatan *C. cinerariifolium* Berdasarkan Perspektif Islam

Penelitian ini membahas tentang pemanfaatan bagian-bagian tanaman *C. cinerariifolium* yang terdiri dari bunga, daun, batang, dan akar sebagai obat antikanker pada kanker payudara yang bersifat selektif terhadap sel kanker dan aman terhadap sel normal, sehingga dapat digunakan sebagai agen kemopreventif.

Allah SWT telah menciptakan sebuah keindahan alam semesta salah satunya beranekaragam tumbuh-tumbuhan yang dapat dimanfaatkan dengan baik oleh manusia. Maka perlu untuk mengkaji lebih dalam mengenai manfaat tumbuhan dalam kehidupan manusia, salah satunya yaitu bermanfaat sebagai tanaman obat. Hal tersebut merupakan rahmat yang diberikan Allah SWT terhadap manusia sebagaimana dijelaskan dalam QS. An-Nahl ayat 11 sebagai berikut :

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya : “Dia menumbuhkan tanaman-tanaman untukmu, seperti zaitun, kurma, anggur, dan buah-buahan lain selengkapnya, sesungguhnya pada hal-hal demikian terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang-orang yang mau memikirkannya” (QS An-Nahl : 11).

Maha sempurna Allah menumbuhkan beranekaragam tanaman tentunya memiliki banyak manfaat. Surah An-Nahl ayat 11 mengisyaratkan supaya manusia mau memanfaatkan beranekaragam tanaman di bumi dengan cara mempelajari berbagai tanaman dan menjadikan manfaat bagi manusia salah satunya sebagai obat-obatan (Savitri, 2008). Beranekaragam tanaman yang bisa dimanfaatkan oleh manusia salah satunya yaitu tanaman krisan putih (*C. cinerariifolium*) yang harus dipelajari dan dijadikan manfaat bagi manusia sebagai obat antikanker. Selain itu, pada tanaman terdapat beberapa bagian seperti bagian akar, batang, daun, bunga, buah, biji, dan rimpang yang memiliki manfaat berbeda-beda seperti sebagai obat berbagai penyakit. Maka dalam penelitian ini mengkaji manfaat dari setiap bagian tersebut mengenai aktivitas antikanker terhadap kanker payudara dan toksisitas terhadap sel normal pada bagian bunga, daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium*.

Firman Allah SWT dalam Surah Al-Hijr ayat 19 :

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْقَيْنَا فِيهَا رُوسِيَ وَأَمْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَوْزُونٍ ﴿١٩﴾

Artinya :“Dan Kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan gunung-gunung dan Kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran” (QS. Al-Hijr : 19).

Menurut tafsir Al-Wasith Surah Al-Hijr ayat 19 menjelaskan bahwa Allah SWT menjadikan bumi terhampar dan membentang dalam pandangan mata dan demi keperluan agar dapat dimanfaatkan, dan bumi dihamparkan untuk dimanfaatkan. Allah SWT menopang bumi dengan menjadikan gunung-gunung yang kokoh di sisi-sisinya yang berbeda agar tidak mengguncang manusia, dan

Allah menumbuhkan tanaman serta buah-buahan yang sesuai yang telah ditetapkan berdasarkan ukuran-ukuran (Az-Zuhaili, 2013).

Berdasarkan firman Allah SWT dalam Surah Al-Hijr tersebut dapat diketahui bahwa segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT memiliki ukuran. Sebagaimana hasil uji aktivitas antikanker dan uji toksisitas dalam penelitian ini memiliki ukuran dalam membunuh sel kanker payudara dan memiliki batas toksik terhadap sel normal yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} untuk aktivitas antikanker payudara (T47D) dan nilai CC_{50} untuk toksisitas terhadap sel normal.

Menurut Costa dkk (2017) suatu ekstrak dinyatakan berpotensi kuat sebagai antikanker apabila nilai IC_{50} kurang dari 500 $\mu\text{g/mL}$, apabila lebih dari 500 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak dinyatakan berpotensi lemah. Ekstrak daun, batang, dan akar *C. cinerariifolium* memiliki potensi yang kuat sebagai obat antikanker, namun pada ekstrak bunga memiliki potensi yang lemah sebagai obat antikanker. Selain itu, berdasarkan hasil nilai SI yang diperoleh ekstrak yang berpotensi sebagai antikanker secara selektif dalam membunuh sel kanker payudara dan bersifat aman terhadap sel normal dengan nilai IC_{50} sebesar 168,46 $\mu\text{g/mL}$.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

1. Ekstrak etanol 96% bunga, daun, batang, dan akar *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) memiliki aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara (T47D *cell line*) dengan nilai IC₅₀ berturut-turut yaitu 782,33 µg/mL; 362,58 µg/mL; 168,46 µg/mL; dan 293,81 µg/mL.
2. Terdapat perbedaan aktivitas antikanker dari ekstrak etanol 96% bunga, daun, batang, dan akar *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) terhadap sel kanker payudara (T47D *cell line*) berdasarkan nilai IC₅₀ dengan nilai signifikansi P < 0,000.
3. Ekstrak etanol 96% bunga, daun, batang, dan akar *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) memiliki toksisitas terhadap sel normal (Vero *cell line*) dengan nilai CC₅₀ berturut-turut yaitu 701,46 µg/mL; 676,18 µg/mL; 569,18 µg/mL; dan 728,19 µg/mL.
4. Terdapat perbedaan toksisitas dari ekstrak etanol 96% bunga, daun, batang, dan akar *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) terhadap sel normal (Vero *cell line*) berdasarkan nilai CC₅₀ dengan nilai signifikansi P < 0,009.
5. Nilai indeks selektivitas ekstrak etanol 96% bunga, daun, batang, dan akar *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) berturut-turut yaitu 0,89; 1,86; 3,38; dan 2,48. Ekstrak yang dinyatakan selektif dalam membunuh sel kanker

payudara (T47D) dan aman terhadap sel normal adalah ekstrak batang dengan nilai $SI > 3$ dan IC_{50} sebesar 168,46 $\mu\text{g/mL}$.

6.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan diatas, peneliti menyarankan ekstrak etanol 96 % batang *C. cinerariifolium* untuk dilakukan uji lanjutan untuk mengetahui mekanisme molekuler dalam menghambat pertumbuhan sel kanker. Selain itu, dapat dilanjutkan dengan uji in vivo untuk menjamin efikasi dan keamanan sehingga dapat dijadikan pilihan terapi dalam pengobatan kanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdolmohammadi M. H., Fouladdel Sh., Shafiee A., Amin Gh., Ghaffari S. M., dan Azizi E. 2008. Anticancer Effects and Cell Cycle Analysis on Human Breast Cancer T47D Cells Treated with Extracts of *Astrodaucus persicus* (Boiss.) Drude in Comparison to Doxorubicin. *Daru* Vol. 16, No. 2, 112-118.
- Abid, N. B., Rouis, Z., Lassoued, M. A., Sfar, S., dan Aouni, M. 2012. Assessment of The Cytotoxic Effect and In Vitro Evaluation of The Anti-enteroviral Activities of Plants Rich in Flavonoids. *Journal of Applied Pharmaceutical Care*, 74-78.
- Al-Qurthubi, Syaikh Imam. 2009. Tafsir Al-Qurthubi Jilid 13. Jakarta : Pustaka Azzam.
- Anjarsari, E. Y., Kristiani, N., Larasati, Y. A., Dewi, D., Putri, P., dan Meiyanto, E. 2013. Synergistic Effect of Cinnamon Essential Oil (*Cinnamomum burmannii*) and Doxorubicin on T47D Cells Correlated with Apoptosis Induction. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 450-456.
- Ashkenazi, A. 2008. Targeting the Extrinsic Apoptosis Pathway in Cancer. *Cytokine & Growth Factor*, 325-331.
- Asrini, J. 2012, Desember. *Krisan Flower*. Retrieved November Kamis, 2017, from Word Press: <https://juniekrishan.wordpress.com/2012/12/>.
- Az-Zuhaili, Wahbah. 2013. *Tafsir Al-Wasith* Jilid 2. Jakarta : Gema Insani.
- BAPPENAS. 2016. *Indonesian Biodiversity Strategy and Action Plan 2015-2020*. Jakarta: Kementerian Perencanaan Pembangunan Nasional/BAPPENAS.
- Bardaweel, S. K., Hudaib, M. M., Tawaha, K. A., dan Bashatwah, R. M. 2015. Studies on the In Vitro Antiproliferative, Antimicrobial, Antioxidant, and Acetylcholinesterase Inhibition Activities Associated with *Chrysanthemum coronarium* Essential Oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-6.
- Bi, W., Pam, C., Liu, J., dan Wang, Q. 2016. Greenhouse Performance, Genetic Stability and Biochemical Compounds in *Chrysanthemum morifolium* 'Hangju' Plants Regenerated from Cryopreserved Shoot Tips. *Acta Physiol Plant*, 1-10.

- Bishayee, A., Ahmed, S., Brankov, N., dan Perloff, M. 2011. Triterpenoids as Potential agents for the Chemoprevention and Therapy of Breast Cancer. *NIH Public Acces*, 980-996.
- Boutaghane, N., Voutquenne-Nazabadioko, L., Simon, A., Harakat, D., Benlabeled, K., dan Kabouche, Z. 2013. A New Triterpenic Diester from the Aerial Parts of *Chrysanthemum macrocarpum*. *Phytochemistry Letters*, 1-7.
- BPOM. 2014. *Pedoman Uji Toksisitas Non Klinik Secara in Vivo*. Jakarta: BPOM RI.
- Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC). 2014. *About us: CCRC FARMASI UGM*. Retrieved 12 12, 2017, from CCRC UGM Kanker Mammae Web site: http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=885
- Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC). 2009. *Prosedur Tetap Menumbuhkan Sel dari Tanki Nitrogen Cair (Cell Thawing)*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC). 2009. *Prosedur Tetap Panel Sel*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC). 2009. *Prosedur Tetap Perhitungan Sel*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC). 2013. *Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Cantero, G., Campanella, C., Mateos, S., dan Corte's, F. 2006. Topoisomerase II Inhibition and High Yield of Endoreduplication Induced by The Flavonoids Luteolin and Quercetin. *Mutagenesis*, 321-325.
- Chae, S. C. 2016. An Up-to Date Review of Phytochemicals and Biological Activities in *Chrysanthemum* spp. *Bioscines Biotechnology Research Asia* , 615-623.
- Childs, A. C., Phaneuf, S. L., Dirks, A. J., Phillips, T., dan Leeuwenburgh, C. 2002. Doxorubicin Treatment in Vivo Causes Cytochrome c Release and Cardiomyocyte Apoptosis, As Well As Increased Mitochondrial Efficiency, Superoxide Dismutase Activity, and Bcl-2:Bax Ratio. *Cancer Research*, 4592-4598.
- Costa, Erica Vanessa Souza, Brigido, Heliton Patrick Cordovil, Silva, Jono Victor da Silva e, Marlia Regina Coelho-Ferreira, Geraldo Célio Brandão, and Maria Fâni Dolabela. 2017. Antileishmanial Activity of *Handroanthus*

serratifolius (Vahl) S. Grose (Bignoniaceae). Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Hindawi. Vol. 2017. 1-6.

Dahlan, Sopiudin. 2012. Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan. Jakarta : Salemba Medika.

Ditjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Ditjen POM, Depkes RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Dokuparthi, S. K., dan Manikanta, P. 2015. Phytochemical and Pharmacological Studies on *Chrysanthemum coronarium* L. *Journal of Drug Discovery and Therapeutics*, 11-16.

Doyle, A., dan Griffiths, J. B. 2000. *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. New York: John Willey and Sons Ltd.

ECACC, E. C. 2016. Cell Line Profile. *Public Health England* .

Eccles, S. A. 2001. The Role of c-erbB-2/HER2/neu in Breast Cancer Progression and Metastasis. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 393-406.

Foster, J. S., Henley, D. C., Ahamed, S., dan Wimalasena, J. 2001. Estrogens and Cell-cycle Regulation in Breast Cancer. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 320-327.

Fulda, S., dan Debatin, K. M. 2006. Extrinsic Versus Intrinsic Apoptosis Pathways in Anticancer Chemotherapy. *Oncogene*, 4798-4811.

Furuta, Y., Takahashi, K., Fukuda, Y., Kuno, M., Kamiyama, T., Kozaki, K., et al. 2002. In Vitro and In Vivo Activities of Anti-Influenza Virus Compound T-705. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, 977-981.

Goncalves, D. 2012. The Micro-analysis of Human Burned Bones: some Remarks. *Cadernos do GEEvH*, 32-40.

Guo, M., dan Hay, B. A. 1999. Cell Proliferation and Apoptosis. *Cell Multiplication*, 745-752.

H., A. M., Sh, F., A., S., Gh., A., S.M, G., dan E., A. 2008. Anticancer Effects and Cell Cycle Analysis on Human Breast Cancer T47D Cells Treated with Extracts of *Astrodaucus persicus* (Boiss.) Drude in Comparison to Doxorubicin. *Daru*, 112-118.

- Han, X., Pan, J., Ren, D., Cheng, Y., Fan, P., dan Lou, H. 2008. Naringenin-7-O-glucoside Protects Against Doxorubicin-induced Toxicity in H9c2 Cardiomyocytes by Induction of Endogenous Antioxidant Enzymes. *Food and Chemical Toxicology*, 3140-3146.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung : ITB.
- Harvey, R. A., dan Champe, P. C. 2004. *Farmakologi Edisi 4*. Jakarta: EGC.
- Hodgson, E. 2004. *A Textbook of Modern Toxicology*. Canada: Wiley Interscience.
- Javed, I., Zia-Ur-Rahman, Khan, M. Z., Muhammad, F., Aslam, B., Iqbal, Z., et al. 2009. Antihyperlipidaemic Efficacy of *Trachyspermum ammi* in Albino Rabbits. *ACTA VET BRNO*, 229-236.
- Jing, S., Zhang, X., dan Yan, L.-J. 2015. Antioxidant Activity, Antitumor Effect, and Antiaging Property of Proanthocyanidins Extracted from *Chrysanthemum kunlun* Flowers. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-10.
- Kalia, R., Katnoria, J. K., dan Nagpal, A. K. 2016. Antitumor Activity of Aqueous Leaf Extract of Different Cultivars of *Chrysanthemum morifolium* R. using Potato Disc Tumor Assay. *journal pharmaceutical sciences and research*, 1262-1265.
- Katzung, B. G., Masters, S. B., dan Trevor, A. J. 2012. *Basic & Clinical Pharmacology Twelfth Edition*. Chicago: The McGraw-Hill Companies.
- Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI). 2015. *Situasi Penyakit Kanker*. Jakarta: Pusat Data dan Informasi.
- Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI). 1994. 661/MENKES/SK/VII/ 1994 tentang *Persyaratan Obat Tradisional*.
- Keputusan Mentrieri Perdagangan Republik Indonesia (Kemendag RI). 2014. *Direktorat Jenderal PEN/MJL/005/9/ tentang Obat Herbal Tradisional*. Jakarta: Warta Ekspor.
- Keputusan Menteri Pertanian (Kementan). 2011. *Pedoman Teknologi Penanganan Pascapanen Tanaman Obat*. Jakarta: Kementerian Pertanian Direktorat Jenderal Hortikultura Direktorat Jenderal Budaya dan Pascapanen Sayuran dan Tanaman Obat.

- KOTRANAS. 2007. *Kemenkes RI No. 381/Menkes/SK/III/2007 Tentang "Kebijakan Obat Tradisional Nasional"*. Jakarta: Depkes RI.
- Kumar, A., Singh, S., dan Bhakuni, R. 2005. Secondary Metabolites of *Chrysanthemum* genus and their Biological Activities. *Current Science*, 1489-1501.
- Kumcuoglu, S., Yilmaz, T., dan Tavman, S. 2014. Ultrasound Assisted Extraction of Lycopene from Tomato Processing Wastes. *J. Food Sci. Technol.*, 4102-4107.
- Laksamiani, N. P., Susidarti, R. A., dan Meiyanto, E. (2015). Brazilein Increases The Sensitivity of Doxorubicin on MCF-7 Resistent Doxorubicin (MCF-7/DOX) Cells through Inhibition of HER-2 Activation. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 0975-1491.
- Lopez-Mejia, I. C., dan Fajas, L. 2015. Cell Cycle Regulation of Mitochondrial Function. *Cell Biology*, 19-25.
- Maulana, R. dkk. 2010. *Isolasi tanaman dan Elektroforesis DNA*. Jakarta : UPI.
- Meiyanto, E., Susidarti, R. A., Handayani, S., dan Rahmi, F. 2008. Ethanolic Extract of *Areca catechu* Seeds Inhibit Proliferation and Induce Apoptosis on MCF-7 Cells. *Majalah Farmasi Indonesia*, 12-19.
- Miller, A. L. 1996. *Antioxidant Flavonoids : Structure, Function and Clinical Usage*. *Alt. Med. Rev.* 1(2).
- Muhammad, Mahir Hasan Mahmud. 2007. *Mukjizat Kedokteran Nabi*. Jakarta : Qultum Media.
- Muti'ah R, Hayati Elok Kamilah, Triatutik Yani. 2013. Pemisahan dan Identifikasi Ekstrak Kasar Seskuiterpen Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.) dengan Kromatografi Lapis Tipis. *Alchemy*, Vol. 2 No. 3. 190-194.
- Muti'ah R, Listiyana A, Indradmojo C, Griana TP, Dwi HH, Atmaja RR. 2017. Induction of Apoptosis and Phase-Cell Cycle Inhibition of G0-G1, S, G2-M of T47D Breast Cancer Cells on Treatment with Ethyl Acetate Fraction of Jackfruit Parasite Leaves (*Macrosolen cochinchinensis*). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2017; 07 (10): 138-143.
- Muti'ah, R. 2014. *Pengembangan Fitofarmaka Antikanker*. Malang: UIN Maliki Press.

- Muti'ah, R. 2017. Studi Efikasi dan Keamanan Ekstrak Akar dan Daun *Calotropis gigantea* terhadap Sel Kanker Kolon dan Sel Kanker Payudara Secara In Vitro. *Journal of Islamic Medicine*, 67-75.
- Mutiah R, Widyawaruyanti A. Sukardiman S. 2018. Calotroposid A: a Glycosides Terpenoids from *Calotropis gigantea* Induces Apoptosis of Colon Cancer WiDr Cells through Cell Cycle Arrest G2/M and Caspase 8 Expression. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 19 (6):1457-1464.
- Mutiah R, Widyawaruyanti A. Sukardiman S. 2018. *Calotropis gigantea* Leaf Extract Increases the Efficacy of 5-Fluorouracil and Decreases the Efficacy of Doxorubicin in Widr Colon Cancer Cell Culture. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2018;8 (4): 51-56.
- Nugroho, A. E., Hermawan, A., Putri, D. D., Novika, A., dan Meiyanto, E. 2013. Combinational Effects of Hexane Insoluble Fraction of *Ficus septica* Burm. F. and Doxorubicin Chemotherapy on T47D Breast Cancer Cells. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 297-302.
- Nugroho, B. W., Dadang, dan D. Prijono. 1999. *Pengembangan dan Pemanfaatan Insektisida Alami*. Pusat Kajian Pengendalian Hama Terpadu. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Patel, S., Gheewala, N., Suthar, A., dan Shah, A. 2009. In vitro Cytotoxicity Activity of *Solanum nigrum* Extract against Hela Cell Line and Vero Cell Line. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 38-46
- Prayong, P, Barussrux, S, and Weerapreeyakul, N. 2008. Cytotoxic activity screening of some indigenous Thai plants. *Fitoterapia* 79. 598-601.
- Raymond, dan Ruddon. 2007. *Cancer Biology*. Michigan: Oxford University Press.
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., dan Zhang, L. 2003. Flavonoids : Promising Anticancer Agents. *Medicinal Research*, 519-534.
- Rohman, Abdul. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Rohman, A. 2014. *Statistika dan Kemometrika Dasar dalam Analisa Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rosanti, D. 2008. *Morfologi Tumbuha* . Jakarta: Erlangga.

- Rukmana, R., & Maulana, A. E. 1997. *Krisan*. Yogyakarta: Kanisus.
- Saifudin, Azis, Rahayu, Viesa, dan Teruna, Hilwan Yuda. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Sanjaya, Yusuf Andi dan Surakusumah, Wahyu. 2007. Potensi EKstrak Daun Pinus (*Pinus merkusii* Jungh. et de Vriese) sebagai Bioherbisida Penghambat Perkecambahan *Echinochloa colonum* L. dan *Amaranthus viridis*. *Jurnal Perenial*. 4 (1) : 1-5.
- Sassi, A. B., Skhiri, F. H., Chraief, I., Bourgougnon, N., Hammami, M., dan Aoni, M. 2014. Essential Oils and Crude Extracts from *Chrysanthemum trifurcatum* Leaves, Stems and Roots: Chemical Composition and Antibacterial Activity. *Journal of Oleo Science*, 607-617.
- Savitri, E. S. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*. Malang: UIN-Malang Press.
- Sirait, Midian. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung : ITB.
- Stahl, Egon. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Bandung: ITB.
- Sulas, L., Petretto, G. L., Pintore, G., dan Piluzza, G. 2017. Bioactive Compounds and Antioxidants From a Mediterranean Garland Harvested at Two Stages of Maturuty. *Natural Product Research*, 1-4.
- Sutedjo, I. R., Putri, H., dan Meiyanto, E. 2016. Ethanolic Leaves Extract of Awar-awar (*Ficus septica*) as Selective Chemopreventive Agent on Various Cancer Cells. *NurseLine Journal*, 190-197.
- 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*, 1-5.
- Syaifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Deepublish.
- Triatmoko, B., Hertiani, T., dan Yuswanto, A. 2016. Citotoxicity of Mesoyi Oil (*Cryptocarya massoy*) on Vero Cell Lines. *e-Journal Pustaka Kesehatan*, 263-266.
- Tussanti, Iin, Johan Andrew, dan Kisdjamiatun. 2014. Sitotoksisitas in vitro ekstrak etanolik buah parijoto (*Medinilla speciosa*, reinw.ex bl.) terhadap sel kanker payudara T47D. Sitotoksitas in vitro. Vol. 2. No. 2 : 53-58.

- Ukiya, M., Akihisa, T., Tokuda, H., Suzuki, H., Mukainaka, T., Ichiishi, E., et al. 2002. Constituents of Compositae Plants III Anti-tumor Promoting Effects and Cytotoxic Activity against Human Cancer Cell Lines of Triterpenoid Diols and Triols from Edible Chrysanthemum Flowers. *Cancer Letters*, 7-12.
- Vermeulen, K., Berneman, Z., dan Bockstaele, D. R. 2003. Cell cycle and Apoptosis. *Cell Proliferative*, 165-175.
- Wahyulianingsih, Selpida Handayani, dan Abd. Malik. 2016. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.)). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, Vol. 3 No. 2. 188-193.
- Wang, W., Wang, H., Zhang, Y., dan Zu, Y. 2013. In vitro Antioxidant and Antimicrobial Activity of Anthotaxy Extracts from *Dendranthema morifolium* (Ramat.) Tzvel. and *Chrysanthemum indicum* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2657-2661.
- Weebb, M. R., dan Ebeler, S. E. 2004. Comparative Analysis of Topoisomerase IB Inhibition and DNA Intercalation by Flavonoids and Similar Compounds: Structural Determinates of Activity. *Biochem. J.*, 527-541.
- Widiyanti, P., Prayogo, 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*, 24-18.
- Xie, Y.-Y., Yuan, D., Yang, J.-Y., Wang, L.-H., dan Wu, C.-F. 2009. Cytotoxic Activity of Flavonoids from the Flowers of *Chrysanthemum morifolium* on Human Colon Cancer Colon205 Cells. *Journal of Asian Natural Products Research*, 771-778.
- Xie, Z., Sun, Y., Lam, S., Zhao, M., Liang, Z., Yu, X., et al. 2014. Extraction and Isolation of Flavonoid Glycosides From Flos *Sophorae Immaturus* using Ultrasonic-assisted Extraction followed by High-speed Countercurrent Chromatography. *J. Sep. Sci.*, 957-965.
- Yamamoto, M., Hosoda, M., Nakano, K., Jia, S., Hatanaka, K. C., Takakuwa, E., et al. 2014. p53 Accumulation is a Strong Predictor of Recurrence in Estrogen Receptor-positive Breast Cancer Patients Treated with Aromatase Inhibitors. *Cancer Science*, 81-88.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja

1.1 Preparasi Sampel

Tanaman *C. cinerariifolium*

- Dipanen *C. cinerariifolium*
- Dipisahkan tiap bagian akar, batang, daun, dan bunga menggunakan gunting dan dipotong kecil-kecil untuk bagian batang dan akar
- Disortir tiap bagian tanaman dari benda asing
- Dicuci bersih sebanyak 5 kali dan ditiriskan
- Dikeringkan dibawah sinar matahari mulai pukul 07.00 – 11.00 WIB dengan ditutupi kain hitam
- Disortir tiap bagian tanaman yang telah kering dari benda asing
- Digrinding tiap bagian akar, batang, daun, dan bunga sampai menjadi serbuk dan ditimbang

Hasil

1.2 Uji Kadar Air Serbuk Simplisia *C. cinerariifolium*

Tanaman *C. cinerariifolium*

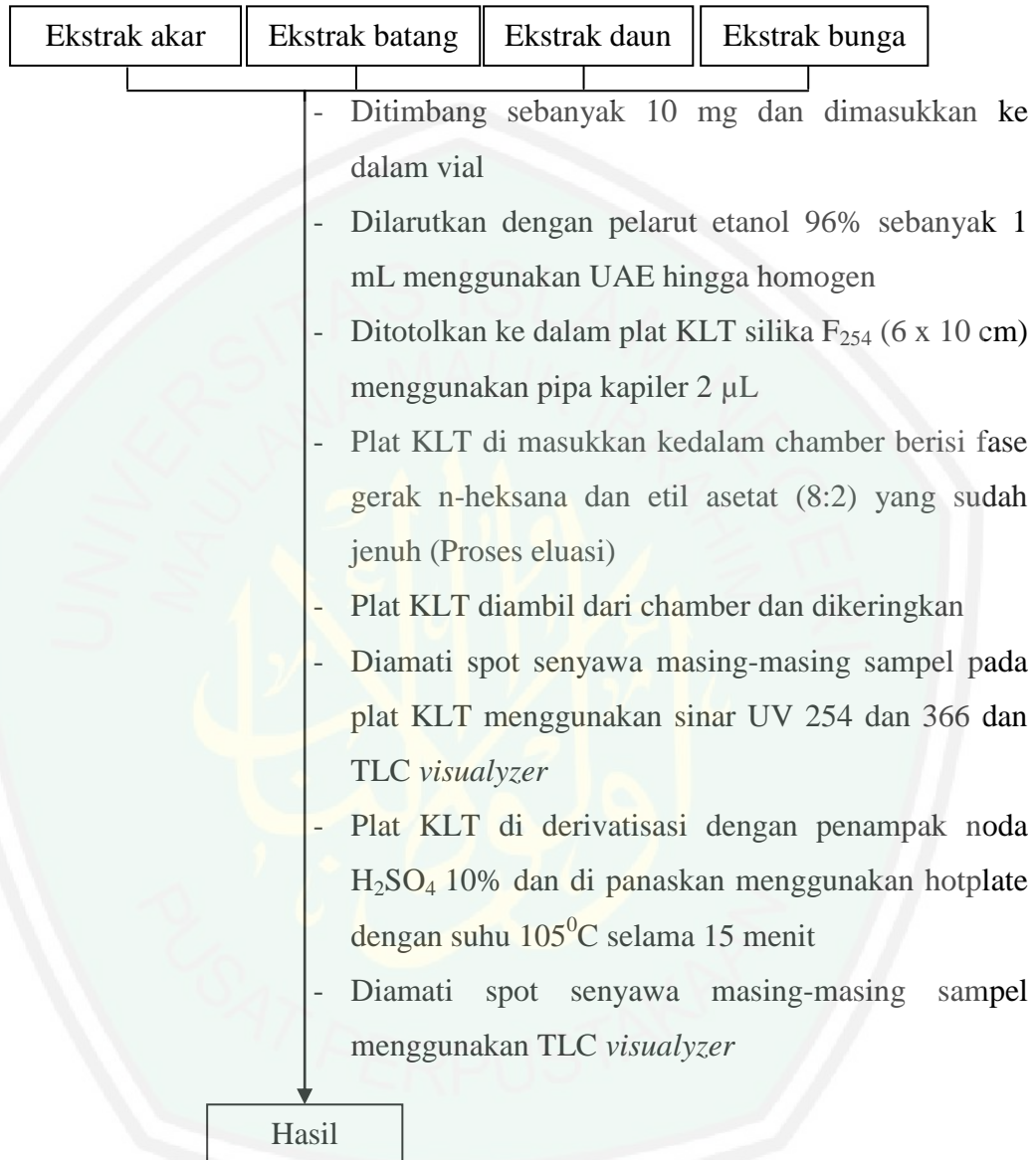
- Dinyalakan alat *Moisture Content Analyzer*
- Dibuka penutup alat dan dimasukkan *sample pan* kosong kedalam *sample pan handler*
- Diturunkan penutup alat (secara otomatis alat akan menara dan menunjukkan tampilan 0,000 pada layar)
- Dimasukkan tiap serbuk simplisia sebanyak $\pm 0,500$ gram ke dalam *sample pan*
- Diturunkan penutup alat dan secara otomatis alat akan memulai pengukuran kadar air hingga terbaca hasil %MC pada layar

Hasil

1.3 Ekstraksi UAE

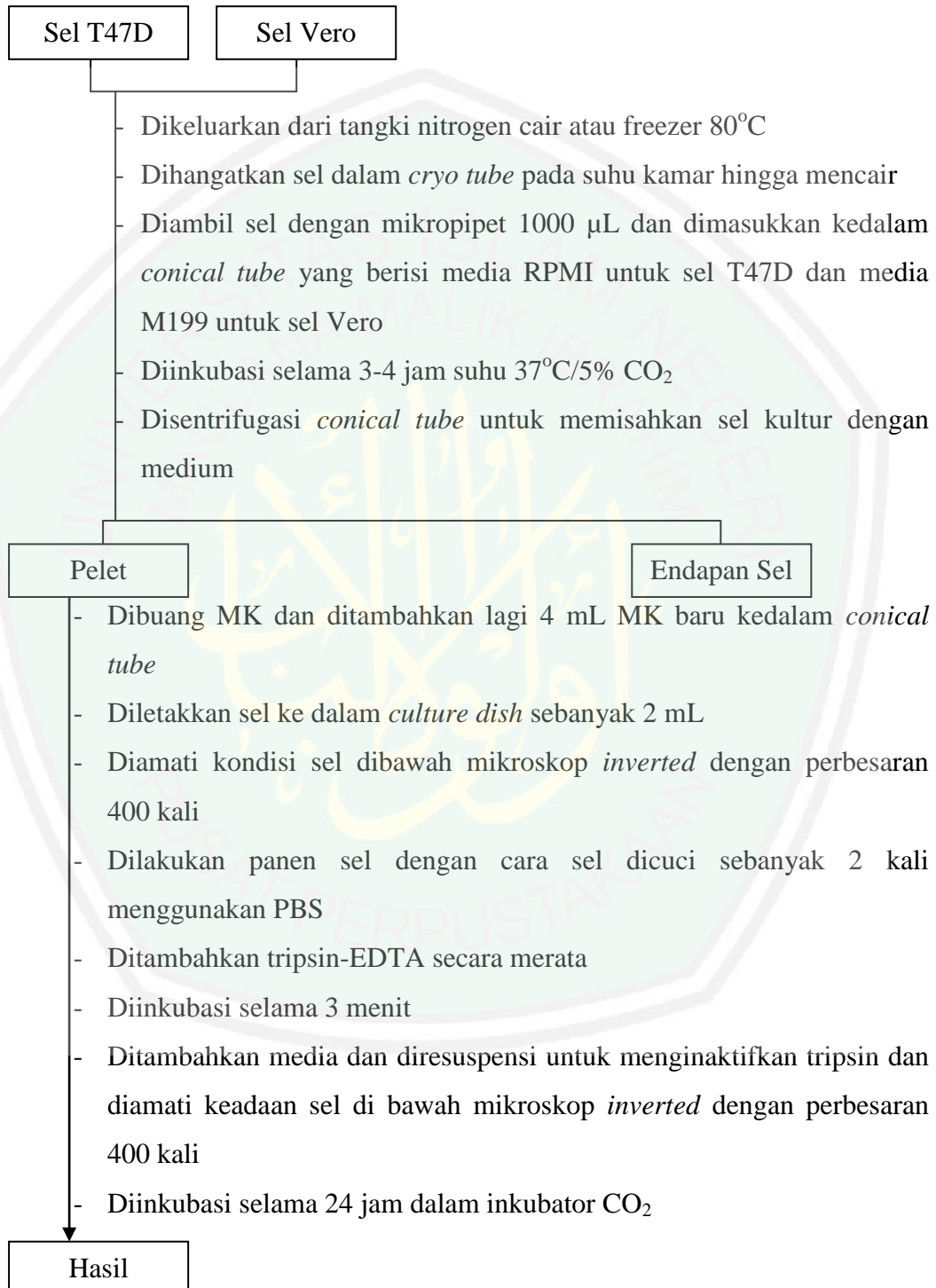


1.4 Identifikasi Senyawa dengan KLT

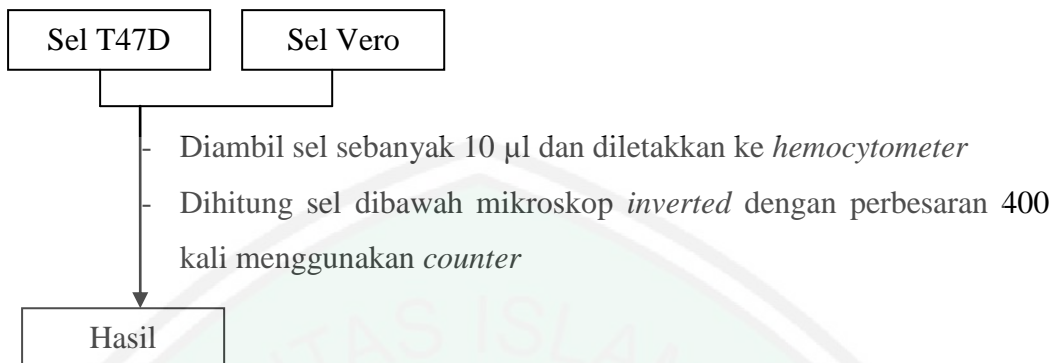


1.5 Uji aktivitas Antikanker dan Uji Toksisitas dengan Metode MTT

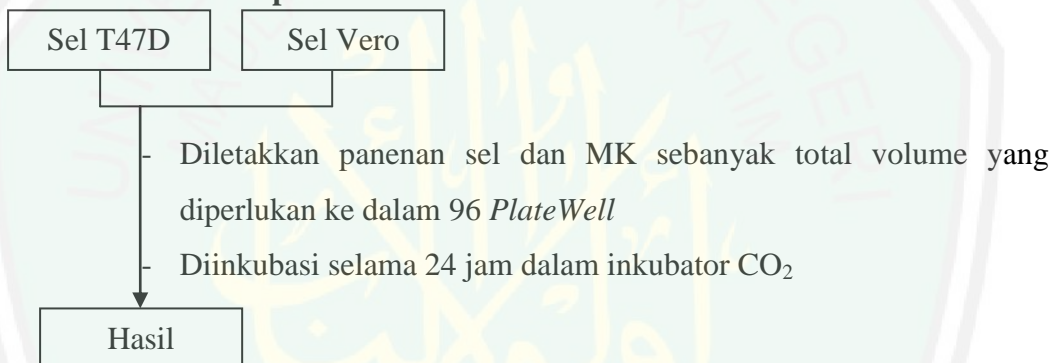
1.4.5 Penumbuhan dan Pemanenan Sel



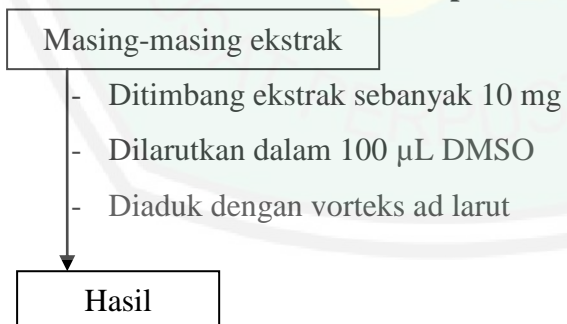
1.4.6 Perhitungan Sel



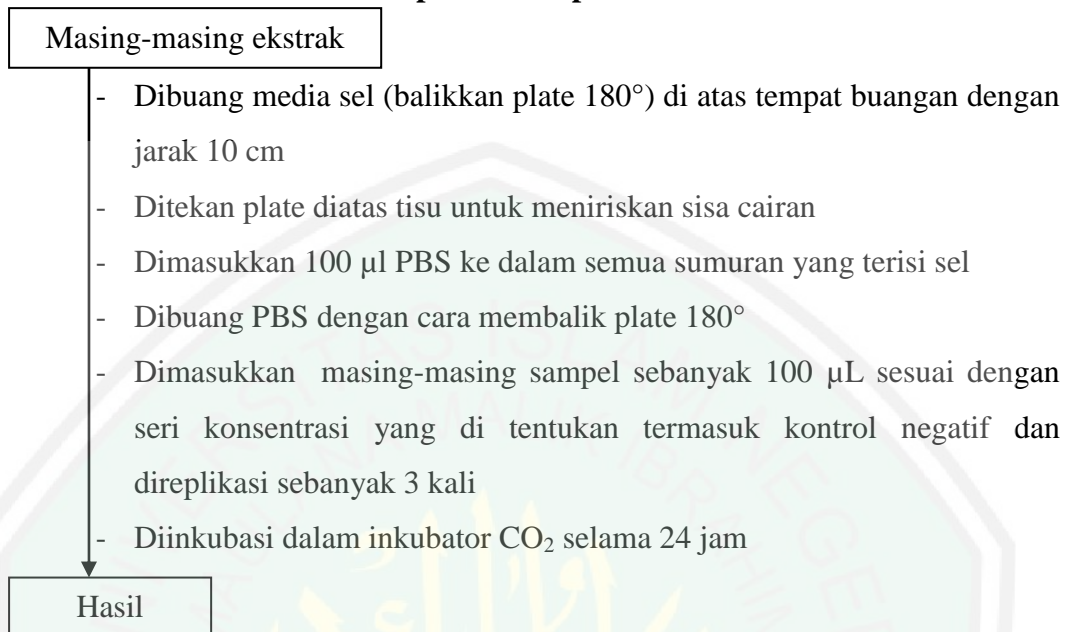
1.4.7 Perletakan Sel pada *Plate*



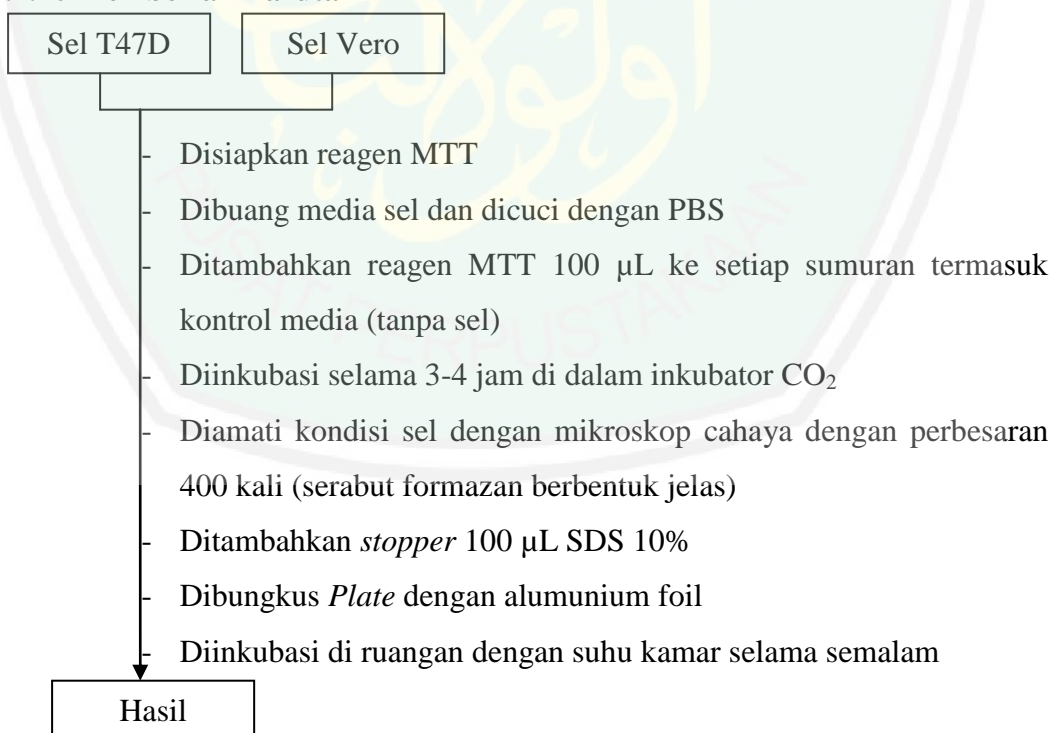
1.4.8 Pembuatan Larutan Stok Sampel



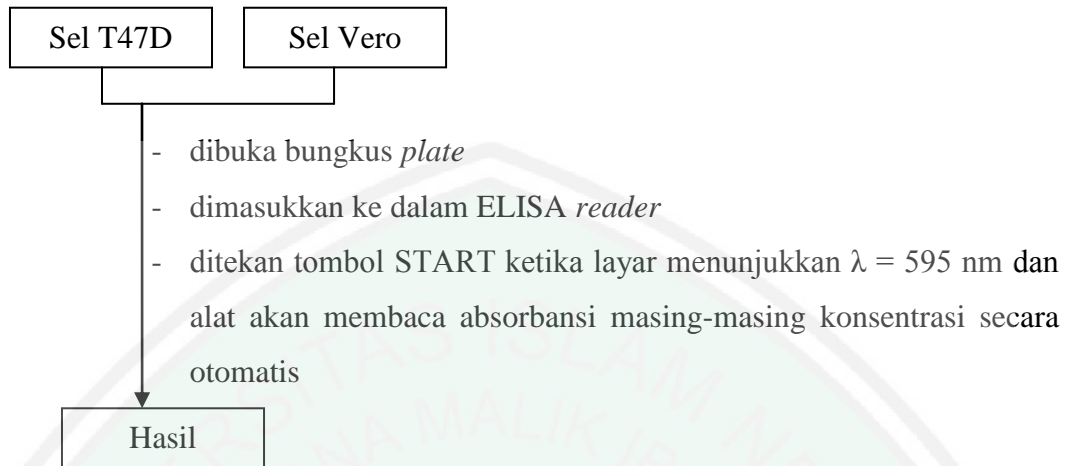
1.4.9 Pemberian Larutan Sampel terhadap Sel



1.4.10 Pemberian Larutan MTT

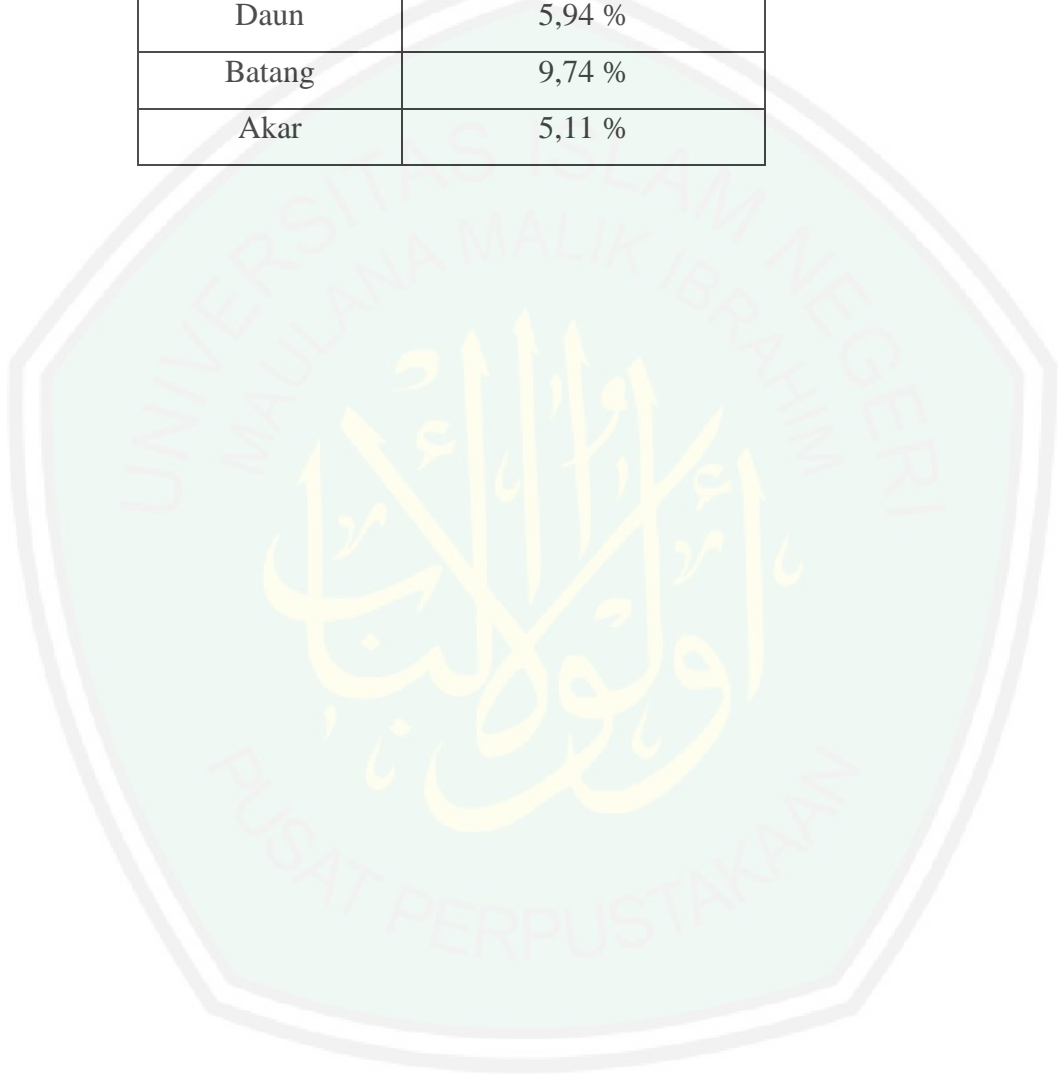


1.4.11 ELISA Reader



Lampiran 2. Data Analisis Kadar Air

Serbuk Simplisia	% MC
Bunga	6,52 %
Daun	5,94 %
Batang	9,74 %
Akar	5,11 %



Lampiran 3. Perhitungan Rendemen

3.1 Perhitungan Rendemen Ekstrak Bunga *C. cinerariifolium*

Berat serbuk bunga *C. cinerariifolium* = 25,0050 gram

Berat ekstrak kental bunga *C. cinerariifolium* = 2,65 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% = \frac{25,0050 \text{ gram}}{2,65 \text{ gram}} = 10,6\%$$

3.2 Perhitungan Rendemen Ekstrak Daun *C. cinerariifolium*

Berat serbuk daun *C. cinerariifolium* = 25,0031 gram

Berat ekstrak kental daun *C. cinerariifolium* = 1,18 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% = \frac{25,0031 \text{ gram}}{1,18 \text{ gram}} = 4,72\%$$

3.3 Perhitungan Rendemen Ekstrak Batang *C. cinerariifolium*

Berat serbuk batang *C. cinerariifolium* = 20,0013 gram

Berat ekstrak kental batang *C. cinerariifolium* = 0,59 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% = \frac{20,0013 \text{ gram}}{0,59 \text{ gram}} = 2,95\%$$

3.4 Perhitungan Rendemen Ekstrak Akar *C. cinerariifolium*

Berat serbuk batang *C. cinerariifolium* = 9,0054 gram

Berat ekstrak kental batang *C. cinerariifolium* = 0,29 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% = \frac{9,0054 \text{ gram}}{0,29 \text{ gram}} = 3,2\%$$

Lampiran 4. Perhitungan Sel

4.1 Perhitungan Sel T47D

Kamar A = 39

Kamar B = 71

Kamar C = 52

Kamar D = 62

- **Jumlah sel yang dihitung**

$$\begin{aligned}\sum \text{ sel /mL} &= \frac{\sum \text{ sel kamarA} + \sum \text{ sel kamarB} + \sum \text{ sel kamarC} + \sum \text{ sel kamarD}}{4} \times 10^4 \\ &= \frac{39 + 71 + 52 + 62}{4} \times 10^4 = 56 \times 10^4/\text{mL}\end{aligned}$$

- **Jumlah panen sel yang di transfer**

$$\begin{aligned}\sum \text{ panen sel yang di transfer} &= \frac{\sum \text{ total sel yang diperlukan}}{\sum \text{ sel} \frac{\text{terhitung}}{\text{mL}}} = \frac{100 \times 10^4}{56 \times 10^4} \\ &= 1,785 \text{ mL}\end{aligned}$$

Volume panen sel yang ditransfer sebanyak 1,785 mL ditambahkan MK ad 10 mL.

4.2 Perhitungan Sel Vero

Kamar A = 76

Kamar B = 96

Kamar C = 63

Kamar D = 64

- **Jumlah sel yang dihitung**

$$\begin{aligned}\sum \text{ sel /mL} &= \frac{\sum \text{ sel kamarA} + \sum \text{ sel kamarB} + \sum \text{ sel kamarC} + \sum \text{ sel kamarD}}{4} \times 10^4 \\ &= \frac{76 + 96 + 63 + 64}{4} \times 10^4 = 74,75 \times 10^4/\text{mL}\end{aligned}$$

- **Jumlah panen sel yang di transfer**

$$\begin{aligned}\Sigma \text{ panen sel yang di transfer} &= \frac{\Sigma \text{ total sel yang diperlukan}}{\Sigma \text{ sel} \frac{\text{terhitung}}{\text{mL}}} \\ &= \frac{100 \times 10^4}{74,75 \times 10^4} = 1,337 \text{ mL}\end{aligned}$$

Volume panen sel yang ditransfer sebanyak 1,337 mL ditambahkan MK ad 10 mL.



Lampiran 5. Perhitungan Larutan Stok Sampel dan Kontrol Positif

5.1 Perhitungan Larutan Stok Sampel Masing-masing Ekstrak

Masing-masing ekstrak ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan kedalam DMSO 100 μ L (0,0100 g/100 μ L)

$$\frac{0,0100 \text{ g}}{100/1000} \rightarrow 0,0100 \times \frac{1000}{100} \text{ mL} = 0,0100 \text{ g} \times 10 \text{ mL} = 0,100 \text{ g/mL}$$

Hasil dikonversikan ke μ g/mL

$$0,100 \text{ g/mL} \times 1000000 = 10000 \mu\text{g/mL}$$

5.2 Perhitungan Kontrol Positif

Stok doxorubicin = 2 mg/mL

BM = 543,52

$$\text{Larutan Stok} = \frac{2 \text{ mg}}{543,52} \times \frac{1000}{1 \text{ mL}} = 3679720 \text{ nM}$$

Lampiran 6. Perhitungan IC₅₀ menggunakan Microsoft Excel 2007

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

Absorbansi Kontrol Media

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
0,068	0,07	0,069	0,069

Absorbansi Kontrol Sel

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
0,887	0,86	0,841	0,862667

Data Absorbansi dan Viabilitas Sel Ekstrak Bunga

Konentrasi (µg/mL)	Absorbansi			Viabilitas sel (%)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
1000	0,417	0,431	0,414	43,82872	45,59194	43,45088
800	0,423	0,411	0,422	44,58438	43,07305	44,45844
600	0,499	0,501	0,491	54,15617	54,40806	53,14861
400	0,629	0,634	0,63	70,52897	71,15869	70,65491
200	0,703	0,696	0,698	79,84887	78,96725	79,21914
100	0,741	0,746	0,727	84,63476	85,26448	82,87154
50	0,825	0,783	0,733	95,21411	89,92443	83,6272

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 1

Konentrasi (1000 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,417 - 0,069)}{(0,862667 - 0,069)} \times 100\% = 43,82872\%$$

Konentrasi (800 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,423 - 0,069)}{(0,862667 - 0,069)} \times 100\% = 44,58438\%$$

Konsentrasi (600 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,499-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 54,15617\%$$

Konsentrasi (400 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,629-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 70,52897\%$$

Konsentrasi (200 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,703-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 79,84887\%$$

Konsentrasi (100 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,741-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 84,63476\%$$

Konsentrasi (50 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,825-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 95,21411\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 2**Konsentrasi (1000 µg/mL)**

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,431-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 45,59194\%$$

Konsentrasi (800 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,411-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 43,07305\%$$

Konsentrasi (600 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,501-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 54,40806\%$$

Konsentrasi (400 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,634-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 71,15869\%$$

Konsentrasi (200 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,696-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 78,96725\%$$

Konsentrasi (100 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,746-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 85,26448\%$$

Konsentrasi (50 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,783-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 89,92443\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 3**Konsentrasi (1000 µg/mL)**

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,414-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 43,45088\%$$

Konsentrasi (800 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,422-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 44,45844\%$$

Konsentrasi (600 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,491-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 53,14861\%$$

Konsentrasi (400 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,63-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 70,65491\%$$

Konsentrasi (200 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,63-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 79,21914\%$$

Konsentrasi (100 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,727-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 82,87154\%$$

Konsentrasi (50 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,733-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 83,6272\%$$

Data Absorbansi dan Viabilitas Sel Ekstrak Daun

Konentrasi (µg/mL)	Absorbansi			Viabilitas sel (%)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
1000	0,113	0,111	0,117	5,541562	5,289673	6,04534
800	0,25	0,314	0,303	22,79597	30,85642	29,47103
600	0,446	0,431	0,431	47,48111	45,59194	45,59194
400	0,574	0,598	0,622	63,60202	66,62469	69,64736
200	0,793	0,793	0,826	91,18388	91,18388	95,34005
100	0,758	0,767	0,803	86,77582	87,90932	92,44332
50	0,801	0,802	0,817	92,19144	92,31738	94,20655

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 1

Konsentrasi (1000 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,113-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 5,541562\%$$

Konsentrasi (800 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,25-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 22,79597\%$$

Konsentrasi (600 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,446-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 47,48111\%$$

Konsentrasi (400 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,574-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 63,60202\%$$

Konsentrasi (200 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,793-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 91,18388\%$$

Konsentrasi (100 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,758-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 86,77582\%$$

Konsentrasi (50 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,801-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 92,19144\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 2

Konsentrasi (1000 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,111-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 5,289673\%$$

Konsentrasi (800 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,314-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 30,85642\%$$

Konsentrasi (600 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,431-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 45,59194\%$$

Konsentrasi (400 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,598-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 66,62469\%$$

Konsentrasi (200 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,793-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 91,18388\%$$

Konsentrasi (100 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,767-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 87,90932\%$$

Konsentrasi (50 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,802-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 92,31738\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 3**Konsentrasi (1000 µg/mL)**

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,117-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 6,04534\%$$

Konsentrasi (800 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,303-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 29,47103\%$$

Konsentrasi (600 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,431-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 45,59194\%$$

Konsentrasi (400 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,622-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 69,64736\%$$

Konsentrasi (200 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,826-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 95,34005\%$$

Konsentrasi (100 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,803-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 92,44332\%$$

Konsentrasi (50 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,817-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 94,20655\%$$

Data Absorbansi dan Viabilitas Sel Ekstrak Batang

Konentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Viabilitas sel (%)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
1000	0,109	0,115	0,119	5,037783	5,793451	6,297229
800	0,097	0,098	0,102	3,526448	3,652393	4,156171
600	0,096	0,098	0,099	3,400504	3,652393	3,778338
400	0,184	0,198	0,19	14,48363	16,24685	15,23929
200	0,789	0,79	0,732	90,6801	90,80605	83,50126
100	0,762	0,808	0,774	87,2796	93,07305	88,79093
50	0,775	0,799	0,798	88,91688	91,93955	91,8136

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 1**Konsentrasi (1000 $\mu\text{g/mL}$)**

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,109-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 5,037783\%$$

Konsentrasi (800 $\mu\text{g/mL}$)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,097-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 3,526448\%$$

Konsentrasi (600 $\mu\text{g/mL}$)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,096-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 3,400504\%$$

Konsentrasi (400 $\mu\text{g/mL}$)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,184-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 14,48363\%$$

Konsentrasi (200 $\mu\text{g/mL}$)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,789-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 90,6801\%$$

Konsentrasi (100 $\mu\text{g/mL}$)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,762-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 87,2796\%$$

Konsentrasi (50 $\mu\text{g/mL}$)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,775-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 88,91688\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 2

Konsentrasi (1000 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,115-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 5,793451\%$$

Konsentrasi (800 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,098-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 3,652393\%$$

Konsentrasi (600 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,098-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 3,652393\%$$

Konsentrasi (400 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,198-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 16,24685\%$$

Konsentrasi (200 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,79-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 90,80605\%$$

Konsentrasi (100 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,808-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 93,07305\%$$

Konsentrasi (50 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,799-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 91,93955\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 3**Konsentrasi (1000 µg/mL)**

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,119-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 6,297229\%$$

Konsentrasi (800 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,102-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 4,156171\%$$

Konsentrasi (600 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,099-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 3,778338\%$$

Konsentrasi (400 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,19-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 15,23929\%$$

Konsentrasi (200 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,732-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 83,50126\%$$

Konsentrasi (100 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,774-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 88,79093\%$$

Konsentrasi (50 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,798-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 91,8136\%$$

Data Absorbansi dan Viabilitas Sel Ekstrak Akar

Konentrasi (µg/mL)	Absorbansi			Viabilitas sel (%)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
1000	0,156	0,16	0,179	10,95718	11,46096	13,8539
800	0,185	0,186	0,194	14,60957	14,73552	15,74307
600	0,262	0,269	0,273	24,3073	25,18892	25,6927
400	0,523	0,543	0,552	57,17884	59,69773	60,83123
200	0,768	0,787	0,776	88,03526	90,42821	89,04282
100	0,81	0,854	0,857	93,32494	98,8665	99,24433
50	0,84	0,813	0,848	97,10327	93,70277	98,11083

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 1**Konsentrasi (1000 µg/mL)**

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,156-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 10,95718\%$$

Konsentrasi (800 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,185-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 14,60957\%$$

Konsentrasi (600 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,262-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 24,3073\%$$

Konsentrasi (400 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,523-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 57,17884\%$$

Konsentrasi (200 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,768-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 88,03526\%$$

Konsentrasi (100 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,81-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 93,32494\%$$

Konsentrasi (50 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,84-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 97,10327\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 2**Konsentrasi (1000 µg/mL)**

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,16-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 11,46096\%$$

Konsentrasi (800 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,186-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 14,73552\%$$

Konsentrasi (600 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,269-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 25,18892\%$$

Konsentrasi (400 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,543-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 59,69773\%$$

Konsentrasi (200 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,787-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 90,42821\%$$

Konsentrasi (100 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,854-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 98,8665\%$$

Konsentrasi (50 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,813-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 93,70277\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 3

Konsentrasi (1000 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,179-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 13,8539\%$$

Konsentrasi (800 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,194-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 15,74307\%$$

Konsentrasi (600 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,273-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 25,6927\%$$

Konsentrasi (400 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,552-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 60,83123\%$$

Konsentrasi (200 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,776-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 89,04282\%$$

Konsentrasi (100 µg/mL)

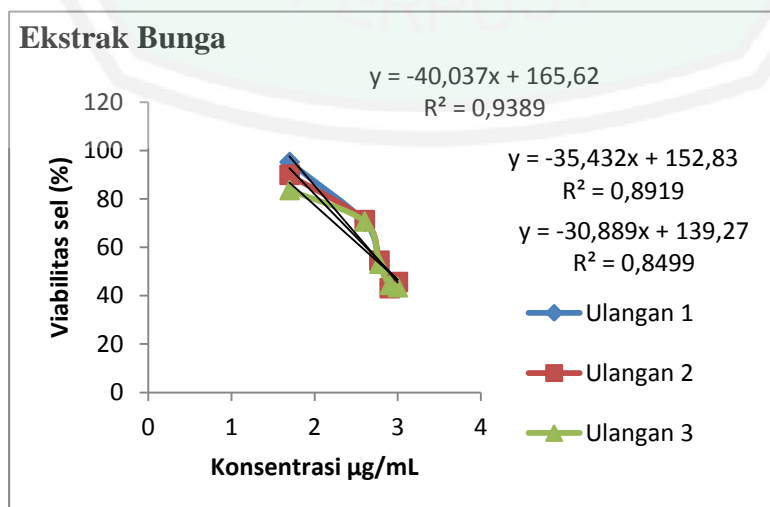
$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,857-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 99,24433\%$$

Konsentrasi (50 µg/mL)

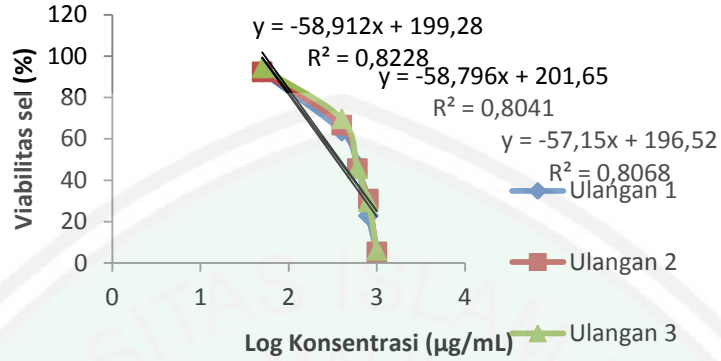
$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,848-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 98,11083\%$$

Data Perhitungan IC₅₀

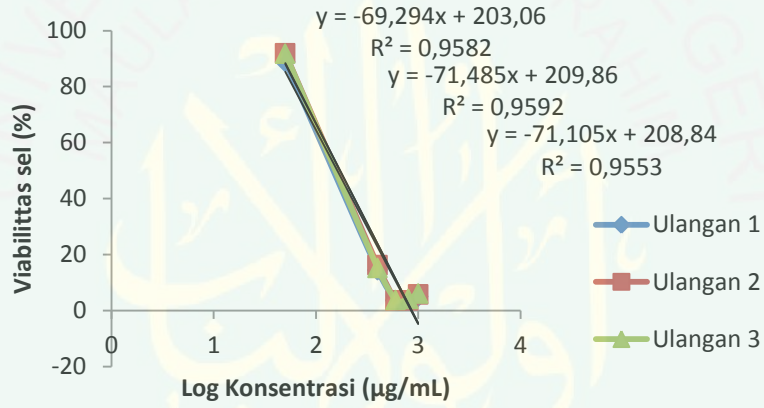
Grafik Viabilitas Sel



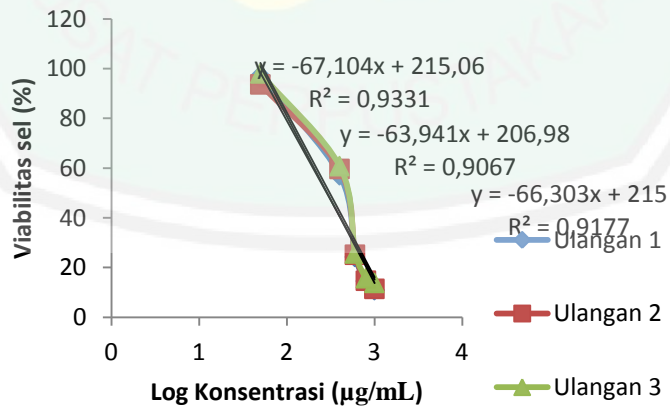
Ekstrak Daun



Ekstrak Batang



Ekstrak Akar



Tabel Perhitungan IC₅₀

Sampel	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata ± SD (%)
Bunga	772,376	776,2928	798,3233	782,33 ± 13,98507
Daun	341,9392	366,2516	379,5396	362,5768 ± 19,06766
Batang	161,75	172,29	171,35	168,4633 ± 5,832884
Akar	288,2464	285,1768	308,0173	293,8135 ± 12,39623
Doxorubicin	197,9347	235,1883	193,3349	208,8193 ± 22,95175



Lampiran 7. Perhitungan CC₅₀ menggunakan Microsoft Excel 2007

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

Absorbansi Kontrol Media

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
0,071	0,072	0,074	0,072333

Absorbansi Kontrol Sel

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
0,592	0,572	0,598	0,587333

Data Absorbansi dan Viabilitas Sel Ekstrak Bunga

Konentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Viabilitas sel (%)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
1000	0,214	0,227	0,246	27,57282	30,09709	33,78641
500	0,38	0,378	0,391	59,80583	59,41748	61,94175
250	0,456	0,479	0,457	74,56311	79,02913	74,75728
125	0,523	0,556	0,51	87,57282	93,98058	85,04854
62,5	0,566	0,573	0,546	95,92233	97,28155	92,03883
31,25	0,579	0,579	0,568	98,4466	98,4466	96,31068
15,62	0,669	0,6	0,592	115,9223	102,5243	100,9709

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 1**Konsentrasi (1000 $\mu\text{g/mL}$)**

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,214 - 0,072333)}{(0,587333 - 0,072333)} \times 100\% = 27,57282\%$$

Konsentrasi (500 $\mu\text{g/mL}$)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,38 - 0,072333)}{(0,587333 - 0,072333)} \times 100\% = 59,80583\%$$

Konsentrasi (250 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,456-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 74,56311\%$$

Konsentrasi (125 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,523-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 87,57282\%$$

Konsentrasi (62,5 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,566-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 95,92233\%$$

Konsentrasi (31,25 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,579-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 98,4466\%$$

Konsentrasi (15,62 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,669-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 115,9223\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 2**Konsentrasi (1000 µg/mL)**

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,227-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 30,09709\%$$

Konsentrasi (500 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,378-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 59,41748\%$$

Konsentrasi (250 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,479-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 79,02913\%$$

Konsentrasi (125 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,556-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 93,98058\%$$

Konsentrasi (62,5 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,573-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 97,28155\%$$

Konsentrasi (31,25 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,579-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 98,4466\%$$

Konsentrasi (15,62 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,6-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 102,5243\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 3

Konsentrasi (1000 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,246-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 33,78641\%$$

Konsentrasi (500 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,391-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 61,94175\%$$

Konsentrasi (250 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,457-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 74,75728\%$$

Konsentrasi (125 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,51-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 85,04854\%$$

Konsentrasi (62,5 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,63-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 92,03883\%$$

Konsentrasi (32,25 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,546-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 96,31068\%$$

Konsentrasi (15,62 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,568-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 100,9709\%$$

Data Absorbansi dan Viabilitas Sel Ekstrak Daun

Konentration (µg/mL)	Absorbansi			Viabilitas sel (%)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
1000	0,16	0,176	0,17	17,08738	20,19417	19,02913
500	0,438	0,451	0,463	71,06796	73,59223	75,92233
250	0,483	0,504	0,492	79,80583	83,8835	81,5534
125	0,535	0,563	0,575	89,90291	95,33981	97,6699
62,5	0,593	0,566	0,595	101,165	95,92233	101,5534
31,25	0,616	0,603	0,609	105,6311	103,1068	104,2718
15,62	0,624	0,616	0,595	107,1845	105,6311	101,5534

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 1

Konsentrasi (1000 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,16-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 17,08738\%$$

Konsentrasi (500 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,438-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 71,06796\%$$

Konsentrasi (250 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,483-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 79,80583\%$$

Konsentrasi (125 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,535-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 89,90291\%$$

Konsentrasi (62,5 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,593-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 101,165\%$$

Konsentrasi (31,25 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,616-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 105,6311\%$$

Konsentrasi (15,62 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,624-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 107,1845\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 2

Konsentrasi (1000 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,176-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 20,19417\%$$

Konsentrasi (500 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,451-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 73,59223\%$$

Konsentrasi (250 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,504-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 83,8835\%$$

Konsentrasi (125 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,563-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 95,33981\%$$

Konsentrasi (62,5 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,566-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 95,92233\%$$

Konsentrasi (31,25 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,603-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 103,1068\%$$

Konsentrasi (15,62 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,616-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 105,6311\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 3**Konsentrasi (1000 µg/mL)**

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,17-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 19,02913\%$$

Konsentrasi (500 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,463-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 75,92233\%$$

Konsentrasi (250 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,492-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 81,5534\%$$

Konsentrasi (125 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,575-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 97,6699\%$$

Konsentrasi (62,5 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,595-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 101,5534\%$$

Konsentrasi (32,25 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,609-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 104,2718\%$$

Konsentrasi (15,62 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,595-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 101,5534\%$$

Data Absorbansi dan Viabilitas Sel Ekstrak Batang

Konentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Viabilitas sel (%)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
1000	0,093	0,096	0,092	4,07767	4,660194	3,883495
500	0,425	0,423	0,329	68,54369	68,15534	49,90291
250	0,456	0,444	0,46	74,56311	72,23301	75,33981
125	0,57	0,527	0,584	96,69903	88,34951	99,41748
62,5	0,577	0,608	0,582	98,05825	104,0777	99,02913
31,25	0,572	0,566	0,52	97,08738	95,92233	86,99029
15,62	0,609	0,567	0,621	104,2718	96,1165	106,6019

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 1**Konentrasi (1000 $\mu\text{g/mL}$)**

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,093-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 4,07767\%$$

Konentrasi (500 $\mu\text{g/mL}$)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,425-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 68,54369\%$$

Konentrasi (250 $\mu\text{g/mL}$)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,456-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 74,56311\%$$

Konentrasi (125 $\mu\text{g/mL}$)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,57-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 96,69903\%$$

Konentrasi (62,5 $\mu\text{g/mL}$)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,577-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 98,05825\%$$

Konentrasi (31,25 $\mu\text{g/mL}$)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,572-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 97,08738\%$$

Konentrasi (15,62 $\mu\text{g/mL}$)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,609-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 104,2718\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 2

Konsentrasi (1000 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,096-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 4,660194\%$$

Konsentrasi (500 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,423-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 68,15534\%$$

Konsentrasi (250 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,444-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 72,23301\%$$

Konsentrasi (125 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,527-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 88,34951\%$$

Konsentrasi (62,5 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,608-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 104,0777\%$$

Konsentrasi (31,25 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,566-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 95,92233\%$$

Konsentrasi (15,62 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,567-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 96,1165\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 3

Konsentrasi (1000 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,092-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 3,883495\%$$

Konsentrasi (500 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,329-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 49,90291\%$$

Konsentrasi (250 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,46-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 75,33981\%$$

Konsentrasi (125 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,584-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 99,41748\%$$

Konsentrasi (62,5 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,582-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 99,02913\%$$

Konsentrasi (32,25 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,52-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 86,99029\%$$

Konsentrasi (15,62 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,621-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 106,6019\%$$

Data Absorbansi dan Viabilitas Sel Ekstrak Akar

Konentrasi (µg/mL)	Absorbansi			Viabilitas sel (%)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
1000	0,215	0,213	0,211	27,76699	27,37864	26,99029
500	0,419	0,433	0,42	67,37864	70,09709	67,57282
250	0,575	0,576	0,515	97,6699	97,86408	86,01942
125	0,623	0,606	0,586	106,9903	103,6893	99,80583
62,5	0,61	0,611	0,608	104,466	104,6602	104,0777
31,25	0,641	0,641	0,601	110,4854	110,4854	102,7184
15,62	0,56	0,668	0,66	94,75728	115,7282	114,1748

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 1**Konsentrasi (1000 µg/mL)**

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,215-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 4,07767\%$$

Konsentrasi (500 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,419-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 68,54369\%$$

Konsentrasi (250 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,575-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 74,56311\%$$

Konsentrasi (125 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,623-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 96,69903\%$$

Konsentrasi (62,5 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,61-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 98,05825\%$$

Konsentrasi (31,25 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,641-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 97,08738\%$$

Konsentrasi (15,62 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,56-0,072333)}{(0,587333-0,072333)} \times 100\% = 104,2718\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 2**Konsentrasi (1000 µg/mL)**

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,213-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 4,660194\%$$

Konsentrasi (500 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,433-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 68,15534\%$$

Konsentrasi (250 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,576-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 72,23301\%$$

Konsentrasi (125 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,606-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 88,34951\%$$

Konsentrasi (62,5 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,611-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 104,0777\%$$

Konsentrasi (31,25 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,641-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 95,92233\%$$

Konsentrasi (15,62 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,668-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 96,1165\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 3

Konsentrasi (1000 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,211-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 3,883495\%$$

Konsentrasi (500 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,42-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 49,90291\%$$

Konsentrasi (250 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,46-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 75,33981\%$$

Konsentrasi (125 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,515-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 99,41748\%$$

Konsentrasi (62,5 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,586-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 99,02913\%$$

Konsentrasi (32,25 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,52-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 86,99029\%$$

Konsentrasi (15,62 µg/mL)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,608-0,069)}{(0,862667-0,069)} \times 100\% = 106,6019\%$$

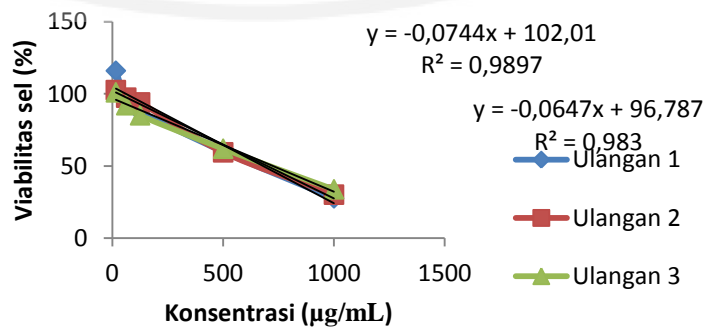
Data Perhitungan CC₅₀

Grafik Viabilitas Sel Vero

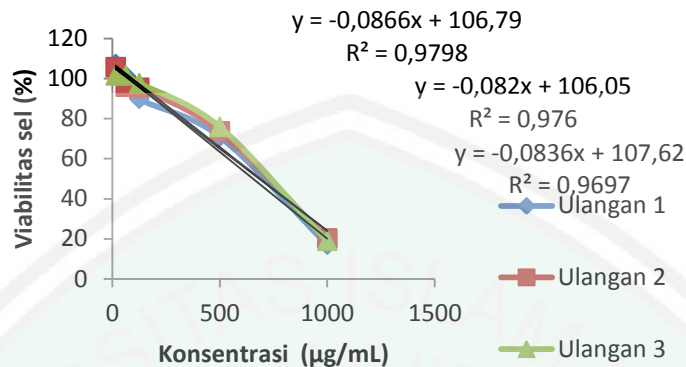
Ekstrak Bunga

$$y = -0,0805x + 104,78$$

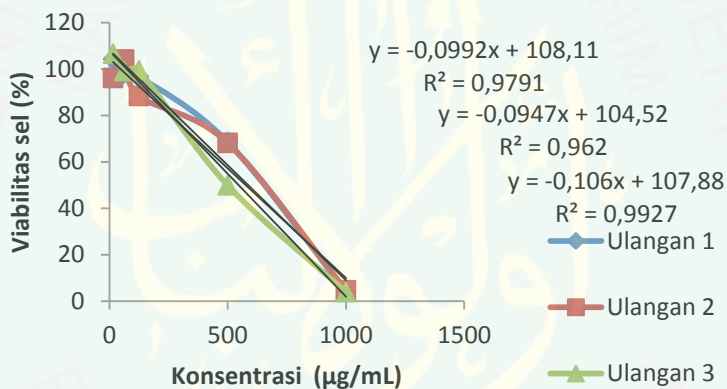
$$R^2 = 0,9465$$



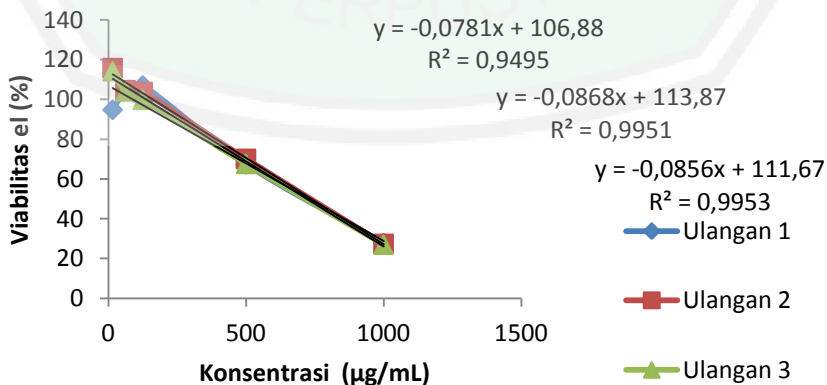
Ekstrak Daun



Ekstrak Batang



Ekstrak Akar



Tabel Nilai CC₅₀

Sampel	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata ± SD
Bunga	682,1918	699,0591	723,1376	701,4628 ± 20,57846
Daun	655,7737	683,5366	689,2344	676,1816 ± 17,90187
Batang	585,7863	575,7128	546,0377	569,1789 ± 20,66413
Akar	728,2971	735,8295	720,4439	728,1902 ± 7,693357

Lampiran 8. Perhitungan IC₅₀ dan CC₅₀ Kontrol Positif (Doxorubicin) menggunakan Microsoft Excel 2007

8.1 Kontrol Positif pada Sel T47D (IC₅₀)

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

Absorbansi Kontrol Media

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
0,076	0,076	0,075	0,075667

Absorbansi Kontrol Sel

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
0,624	0,624	0,622	0,623333

Data Absorbansi dan Viabilitas Sel T47D

Konentrasi (nM)	Absorbansi			Viabilitas sel (%)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
2000	0,382	0,413	0,401	55,9415	61,60878	59,41499
1000	0,283	0,247	0,233	37,84278	31,26143	28,70201
500	0,222	0,229	0,173	26,69104	27,97075	17,73309
250	0,292	0,317	0,262	39,48812	44,0585	34,00366
125	0,374	0,461	0,489	54,47898	70,38391	75,50274
62,5	0,595	0,606	0,571	94,88117	96,89214	90,4936
31,25	0,646	0,651	0,65	104,2048	105,1188	104,936

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 1

Konsentrasi (2000 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,382 - 0,075667)}{(0,623333 - 0,075667)} \times 100\% = 55,9415\%$$

Konsentrasi (1000 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,283-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 37,84278\%$$

Konsentrasi (500 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,222-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 26,69104\%$$

Konsentrasi (250 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,292-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 39,48812\%$$

Konsentrasi (125 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,374-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 54,47898\%$$

Konsentrasi (62,5 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,595-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 94,88117\%$$

Konsentrasi (31,25 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,6460,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 104,2048\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 2**Konsentrasi (2000 nM)**

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,413-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 61,60878\%$$

Konsentrasi (1000 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,247-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 31,26143\%$$

Konsentrasi (500 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,229-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 27,97075\%$$

Konsentrasi (250 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,317-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 44,0585\%$$

Konsentrasi (125 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,461-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 70,38391\%$$

Konsentrasi (62,5 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,606-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 96,89214\%$$

Konsentrasi (31,25 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,651-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 105,1188\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 3**Konsentrasi (2000 nM)**

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,401-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 59,41499\%$$

Konsentrasi (1000 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,233-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 28,70201\%$$

Konsentrasi (500 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,173-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 17,73309\%$$

Konsentrasi (250 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{0,262-0,075667}{0,623333-0,075667} \times 100\% = 34,00366\%$$

Konsentrasi (125 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,489-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 75,50274\%$$

Konsentrasi (62,5 nM)

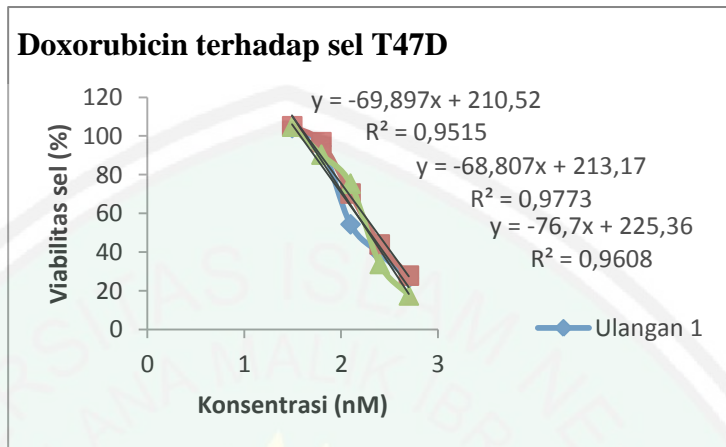
$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,571-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 90,4936\%$$

Konsentrasi (31,25 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,65-0,075667)}{(0,623333-0,075667)} \times 100\% = 104,936\%$$

Perhitungan IC₅₀

Grafik Viabilitas Sel



Tabel Nilai IC₅₀ (nM)

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata ± SD (%)
197,9347	235,1883	193,3349	208,8193 ± 22,95175

8.2 Kontrol Positif pada Sel Vero (CC₅₀)

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

Absorbansi Kontrol Media

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
0,077	0,079	0,084	0,08

Absorbansi Kontrol Sel

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
0,614	0,646	0,601	0,620333

Data Absorbansi dan Viabilitas Sel Ekstrak Bunga

Konentrasi (nM)	Absorbansi			Viabilitas sel (%)		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
10000	0,418	0,4	0,401	62,59259	59,25926	59,44444
5000	0,404	0,417	0,417	60	62,40741	62,40741
2500	0,436	0,44	0,432	65,92593	66,66667	65,18519
1250	0,417	0,429	0,405	62,40741	64,62963	60,18519
625	0,409	0,416	0,411	60,92593	62,22222	61,2963
312,5	0,431	0,421	0,402	65	63,14815	59,62963
156,2	0,436	0,448	0,424	65,92593	68,14815	63,7037

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 1**Konentrasi (10000 nM)**

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,418-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 62,59259\%$$

Konentrasi (5000 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,404-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 60\%$$

Konentrasi (2500 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,436-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 65,92593\%$$

Konentrasi (1250 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,417-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 62,40741\%$$

Konentrasi (625 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,409-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 60,92593\%$$

Konentrasi (312,5 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,431-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 65\%$$

Konentrasi (156,25 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,436-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 65,92593\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 2

Konsentrasi (10000 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,4-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 59,25926\%$$

Konsentrasi (5000 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,417-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 62,40741\%$$

Konsentrasi (2500 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,44-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 66,66667\%$$

Konsentrasi (1250 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,429-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 64,62963\%$$

Konsentrasi (625 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,416-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 62,22222\%$$

Konsentrasi (312,5 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,421-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 63,14815\%$$

Konsentrasi (156,25 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,448-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 68,14815\%$$

Perhitungan Viabilitas Sel Ulangan 3

Konsentrasi (10000 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,401-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 59,44444\%$$

Konsentrasi (5000 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,417-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 62,40741\%$$

Konsentrasi (2500 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,432-0,08)}{(0,620333-0,083)} \times 100\% = 65,18519\%$$

Konsentrasi (1250 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,405-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 60,18519\%$$

Konsentrasi (625 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,411-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 61,2963\%$$

Konsentrasi (312,5 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,402-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 59,62963\%$$

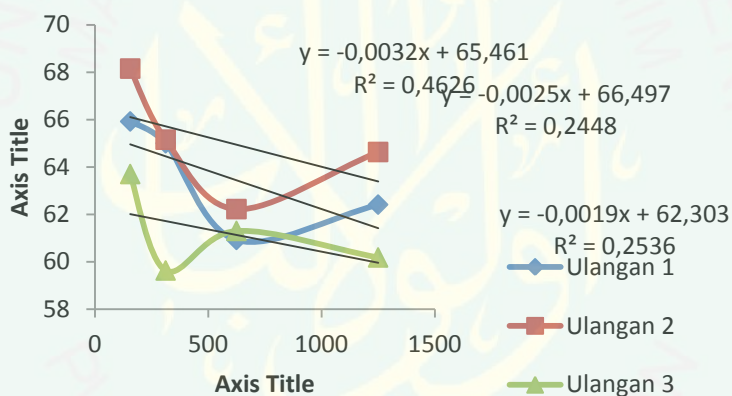
Konsentrasi (156,25 nM)

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,424-0,08)}{(0,620333-0,08)} \times 100\% = 63,7037\%$$

Perhitungan CC₅₀

Grafik Viabilitas Sel

Doxorubicin terhadap sel Vero



Tabel Nilai CC₅₀

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata ± SD (%)
1632,636	1607,705	3573,611	2271,317 ± 1127,888

Lampiran 9. Uji ANOVA One Way menggunakan SPSS 15.0

9.1 Uji ANOVA untuk Nilai IC₅₀ masing-masing Sampel

Data Uji Normalitas

Tests of Normality

Sampel		Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Statistic	df	Sig.
IC50	Bunga	.334	3	.
	Daun	.243	3	.
	Akar	.340	3	.
	Doxorubicin	.349	3	.
	Batang	.356	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Data Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.878	4	10	.191

Data Uji ANOVA *One Way*

ANOVA

IC50					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	726721.445	4	181680.361	713.123	.000
Within Groups	2547.670	10	254.767		
Total	729269.116	14			

Data Uji Pos Hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable:IC50

	(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	Bunga	Daun	419.75700*	13.03245	.000	376.8661	462.6479
		Akar	488.51700*	13.03245	.000	445.6261	531.4079
		Doxorubicin	573.51133*	13.03245	.000	530.6205	616.4022
		Batang	613.86567*	13.03245	.000	570.9748	656.7565
	Daun	Bunga	-419.75700*	13.03245	.000	-462.6479	-376.8661
		Akar	68.76000*	13.03245	.003	25.8691	111.6509
		Doxorubicin	153.75433*	13.03245	.000	110.8635	196.6452
		Batang	194.10867*	13.03245	.000	151.2178	236.9995
	Akar	Bunga	-488.51700*	13.03245	.000	-531.4079	-445.6261
		Daun	-68.76000*	13.03245	.003	-111.6509	-25.8691
		Doxorubicin	84.99433*	13.03245	.000	42.1035	127.8852
		Batang	125.34867*	13.03245	.000	82.4578	168.2395
	Doxorubicin	Bunga	-573.51133*	13.03245	.000	-616.4022	-530.6205
		Daun	-153.75433*	13.03245	.000	-196.6452	-110.8635
		Akar	-84.99433*	13.03245	.000	-127.8852	-42.1035
		Batang	40.35433	13.03245	.068	-2.5365	83.2452
Batang	Bunga	-613.86567*	13.03245	.000	-656.7565	-570.9748	
	Daun	-194.10867*	13.03245	.000	-236.9995	-151.2178	
	Akar	-125.34867*	13.03245	.000	-168.2395	-82.4578	
	Doxorubicin	-40.35433	13.03245	.068	-83.2452	2.5365	

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

IC50

		N	Subset for alpha = 0.05				
Sampel			1	2	3	4	5
Tukey HSD ^a	Batang	3	1.6846E2				
	Doxorubicin	3	2.0882E2				
	Akar	3		2.9381E2			
	Daun	3			3.6257E2		
	Bunga	3				7.8233E2	
	Sig.			.068	1.000	1.000	1.000
Duncan ^a	Batang	3	1.6846E2				
	Doxorubicin	3		2.0882E2			
	Akar	3			2.9381E2		
	Daun	3				3.6257E2	
	Bunga	3					7.8233E2
	Sig.			1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

9.2 Uji ANOVA untuk Nilai CC₅₀ masing-masing Sampel

Data Uji Normalitas

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a		
Sampel		Statistic	Df	Sig.
CC50	Doxorubicin	.381	3	.
	Akar	.176	3	.
	Bunga	.213	3	.
	Daun	.326	3	.
	Batang	.291	3	.

a. Lilliefors Significance Correction

Data Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

CC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
15.513	4	10	.000

Data Uji ANOVA *One Way*

ANOVA

CC50	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6207420.514	4	1551855.129	6.094	.009
Within Groups	2546723.179	10	254672.318		
Total	8754143.693	14			

Data Uji Pos Hoc

Multiple Comparisons

Dependent Variable:CC50

	(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	Doxorubicin	Akar	1543.12650*	4.12046E2	.025	187.0507	2899.2023
		Bunga	1569.85383*	4.12046E2	.022	213.7780	2925.9296
		Daun	1595.13510*	4.12046E2	.020	239.0593	2951.2109
		Batang	1702.13773*	4.12046E2	.014	346.0619	3058.2135
	Akar	Doxorubicin	-1543.12650*	4.12046E2	.025	-2899.2023	-187.0507
		Bunga	26.72733	4.12046E2	1.000	-1329.3485	1382.8031
		Daun	52.00860	4.12046E2	1.000	-1304.0672	1408.0844
		Batang	159.01123	4.12046E2	.995	-1197.0646	1515.0870
	Bunga	Doxorubicin	-1569.85383*	4.12046E2	.022	-2925.9296	-213.7780
		Akar	-26.72733	4.12046E2	1.000	-1382.8031	1329.3485
		Daun	25.28127	4.12046E2	1.000	-1330.7945	1381.3571
		Batang	132.28390	4.12046E2	.997	-1223.7919	1488.3597
	Daun	Doxorubicin	-1595.13510*	4.12046E2	.020	-2951.2109	-239.0593
		Akar	-52.00860	4.12046E2	1.000	-1408.0844	1304.0672
		Bunga	-25.28127	4.12046E2	1.000	-1381.3571	1330.7945
		Batang	107.00263	4.12046E2	.999	-1249.0732	1463.0784
Batang	Doxorubicin	-1702.13773*	4.12046E2	.014	-3058.2135	-346.0619	
	Akar	-159.01123	4.12046E2	.995	-1515.0870	1197.0646	
	Bunga	-132.28390	4.12046E2	.997	-1488.3597	1223.7919	
	Daun	-107.00263	4.12046E2	.999	-1463.0784	1249.0732	

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

CC50

Sampel	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	
Tukey HSD ^a	Batang	3	569.1789	
	Daun	3	676.1816	
	Bunga	3	701.4628	
	Akar	3	728.1902	
	Doxorubicin	3		2.2713E3
	Sig.		.995	1.000
Duncan ^a	Batang	3	569.1789	
	Daun	3	676.1816	
	Bunga	3	701.4628	
	Akar	3	728.1902	
	Doxorubicin	3		2.2713E3
	Sig.		.726	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 10. Perhitungan Indeks Selektivitas

A. Bunga

$$SI = \frac{CC50}{IC50} = \frac{701,46 \mu\text{g/mL}}{782,33 \mu\text{g/mL}} = 0,8966$$

B. Daun

$$SI = \frac{CC50}{IC50} = \frac{676,18 \mu\text{g/mL}}{362,58 \mu\text{g/mL}} = 1,86$$

C. Batang

$$SI = \frac{CC50}{IC50} = \frac{569,18 \mu\text{g/mL}}{168,46 \mu\text{g/mL}} = 3,38$$

D. Akar

$$SI = \frac{CC50}{IC50} = \frac{728,19 \mu\text{g/mL}}{293,81 \mu\text{g/mL}} = 2,48$$

E. Doxorubicin

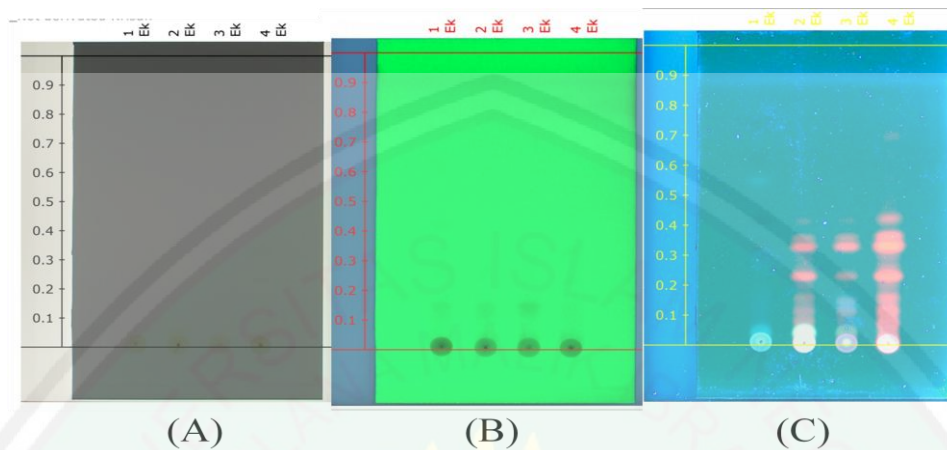
$$SI = \frac{CC50}{IC50} = \frac{2271,32 \text{ nM}}{208,82 \text{ nM}} = 10,88$$

Data Nilai Indeks Selektivitas

Sampel	Nilai IC ₅₀	Nilai CC ₅₀	SI (< 3)
Bunga	782,33 μg/mL	701,463 μg/mL	0,896693
Daun	362,5768 μg/mL	676,182 μg/mL	1,864933
Batang	168,4633 μg/mL	569,179 μg/mL	3,378652
Akar	293,8135 μg/mL	728,19 μg/mL	2,47841
Doxorubicin	208,8193 nM	2271,32 nM	10,87695

Lampiran 11. Hasil Identifikasi Senyawa menggunakan TLC *Visualyzer*

11.1 Spot Senyawa Sebelum di derivatisasi



Keterangan :

A : Identifikasi dengan sinar *white*

B : Identifikasi dengan sinar UV 254

C : Identifikasi dengan sinar UV 366

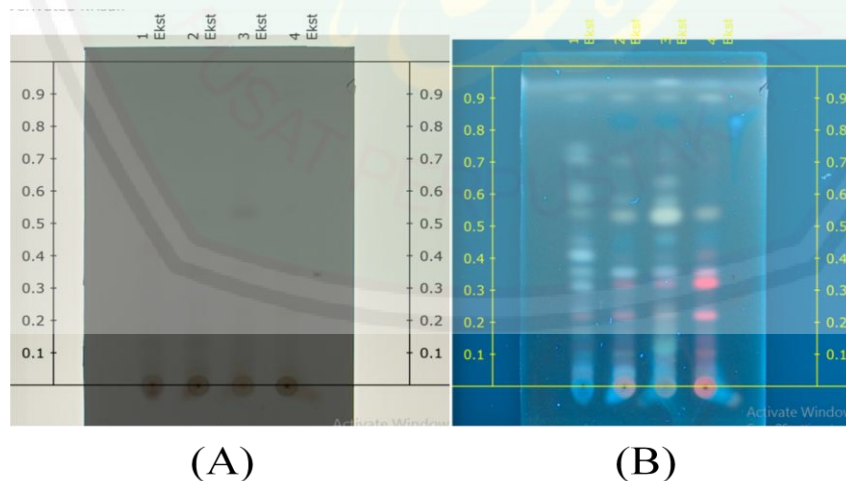
1 Ek : Ekstrak Akar *C. cinerariifolium*

2 Ek : Ekstrak Batang *C. cinerariifolium*

3 Ek : Ekstrak Daun *C. cinerariifolium*

4 Ek : Ekstrak Bunga *C. cinerariifolium*

11.2 Spot Senyawa Sesudah di derivatisasi



Keterangan :

A : Identifikasi dengan sinar *white*

B : Identifikasi dengan sinar UV 366

1 Ek : Ekstrak Akar *C. cinerariifolium*

2 Ek : Ekstrak Batang *C. cinerariifolium*

3 Ek : Ekstrak Daun *C. cinerariifolium*

4 Ek : Ekstrak Bunga *C. cinerariifolium*

11.3 Data Nilai Rf Ekstrak Akar

A. Sebelum di derivatisasi

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.001	0.0000	0.027	0.1177	50.33	0.044	0.0000	0.00345	47.10	No	
2	0.127	0.0310	0.143	0.0500	21.39	0.167	0.0101	0.00146	19.93	No	
3	0.401	0.0104	0.426	0.0246	10.53	0.440	0.0088	0.00072	9.82	No	
4	0.888	0.0281	0.914	0.0415	17.75	0.939	0.0178	0.00170	23.15	No	

B. Sesudah di derivatisasi

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.000	0.0000	0.017	0.0492	4.39	0.027	0.0300	0.00091	2.50	No	
2	0.027	0.0300	0.052	0.0732	6.52	0.083	0.0156	0.00267	7.34	No	
3	0.128	0.0006	0.160	0.0144	1.28	0.186	0.0001	0.00044	1.20	No	
4	0.200	0.0051	0.230	0.0345	3.07	0.261	0.0057	0.00142	3.92	No	
5	0.277	0.0000	0.313	0.1448	12.90	0.336	0.0571	0.00443	12.19	No	
6	0.337	0.0559	0.357	0.1104	9.83	0.378	0.0502	0.00340	9.35	No	
7	0.379	0.0495	0.409	0.2248	20.02	0.440	0.0584	0.00843	23.19	No	
8	0.510	0.0000	0.539	0.0418	3.73	0.562	0.0159	0.00126	3.48	No	
9	0.564	0.0158	0.588	0.0909	8.10	0.594	0.0797	0.00151	4.17	No	
10	0.670	0.0000	0.716	0.0884	7.87	0.725	0.0726	0.00268	7.38	No	
11	0.795	0.0000	0.856	0.0376	3.35	0.860	0.0255	0.00090	2.48	No	
12	0.860	0.0255	0.902	0.0874	7.79	0.917	0.0728	0.00332	9.15	No	
13	0.918	0.0724	0.945	0.1251	11.15	0.997	0.0005	0.00496	13.64	No	

11.4 Data Nilai Rf Ekstrak Batang

A. Sebelum di derivatisasi

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.008	0.0461	0.032	0.0617	42.13	0.042	0.0000	0.00168	36.03	No	
2	0.112	0.0284	0.144	0.0419	28.63	0.161	0.0173	0.00166	35.47	No	
3	0.888	0.0245	0.908	0.0428	29.24	0.924	0.0274	0.00133	28.49	No	

B. Sesudah di derivatisasi

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.017	0.0415	0.046	0.0843	12.19	0.082	0.0000	0.00327	13.27	No	
2	0.082	0.0000	0.101	0.0197	2.85	0.120	0.0000	0.00033	1.34	No	
3	0.122	0.0000	0.158	0.0115	1.66	0.184	0.0013	0.00040	1.62	No	
4	0.185	0.0013	0.222	0.0521	7.53	0.264	0.0015	0.00183	7.43	No	
5	0.326	0.0288	0.355	0.1591	23.00	0.391	0.0071	0.00509	20.63	No	
6	0.490	0.0000	0.531	0.0851	12.30	0.562	0.0166	0.00304	12.31	No	
7	0.562	0.0166	0.583	0.0308	4.45	0.618	0.0025	0.00101	4.08	No	
8	0.667	0.0000	0.701	0.0272	3.93	0.740	0.0000	0.00086	3.49	No	
9	0.857	0.0336	0.905	0.0983	14.21	0.918	0.0744	0.00390	15.80	No	
10	0.918	0.0744	0.945	0.1237	17.88	0.992	0.0020	0.00494	20.02	No	

11.5 Data Nilai Rf Ekstrak Bunga

A. Sebelum di derivatisasi

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.001	0.0000	0.028	0.0552	41.37	0.042	0.0000	0.00153	39.57	No	
2	0.121	0.0416	0.147	0.0650	48.74	0.174	0.0132	0.00223	57.51	No	
3	0.591	0.0030	0.597	0.0132	9.89	0.607	0.0014	0.00011	2.92	No	

B. Sesudah di derivatisasi

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.087	0.0298	0.114	0.0661	7.09	0.163	0.0162	0.00323	8.88	No	
2	0.200	0.0076	0.224	0.0382	4.10	0.261	0.0026	0.00133	3.65	No	
3	0.287	0.0000	0.326	0.0862	9.24	0.330	0.0420	0.00116	3.18	No	
4	0.330	0.0420	0.356	0.1318	14.14	0.391	0.0112	0.00440	12.10	No	
5	0.423	0.0090	0.461	0.0461	4.95	0.488	0.0055	0.00165	4.54	No	
6	0.489	0.0049	0.533	0.2400	25.73	0.609	0.0174	0.01353	37.23	No	
7	0.609	0.0174	0.637	0.0526	5.64	0.675	0.0001	0.00193	5.32	No	
8	0.869	0.0399	0.903	0.0856	9.18	0.914	0.0747	0.00292	8.03	No	
9	0.920	0.0735	0.948	0.1858	19.93	0.986	0.0060	0.00620	17.07	No	

11.6 Data Nilai Rf Ekstrak Daun

A. Sebelum di derivatisasi

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.001	0.0000	0.031	0.0385	69.10	0.040	0.0000	0.00100	71.60	No	
2	0.304	0.0045	0.323	0.0172	30.90	0.340	0.0058	0.00039	28.40	No	

B. Sesudah di derivatisasi

Peak #	Start		Max			End		Area		Manual peak	Substance Name
	Rf	H	Rf	H	%	Rf	H	A	%		
1	0.084	0.0000	0.102	0.0108	1.48	0.120	0.0004	0.00019	0.75	No	
2	0.188	0.0000	0.220	0.1184	16.25	0.257	0.0029	0.00326	12.99	No	
3	0.277	0.0002	0.322	0.1744	23.93	0.341	0.0758	0.00450	17.94	No	
4	0.341	0.0758	0.355	0.1047	14.37	0.393	0.0108	0.00303	12.09	No	
5	0.427	0.0082	0.466	0.0187	2.56	0.497	0.0033	0.00084	3.34	No	
6	0.497	0.0033	0.537	0.0629	8.63	0.567	0.0133	0.00227	9.04	No	
7	0.797	0.0121	0.903	0.1040	14.27	0.918	0.0792	0.00586	23.37	No	
8	0.918	0.0792	0.944	0.1350	18.52	0.994	0.0000	0.00514	20.48	No	

Lampiran 12. Dokumentasi Penelitian

12.1 Preparasi Sampel

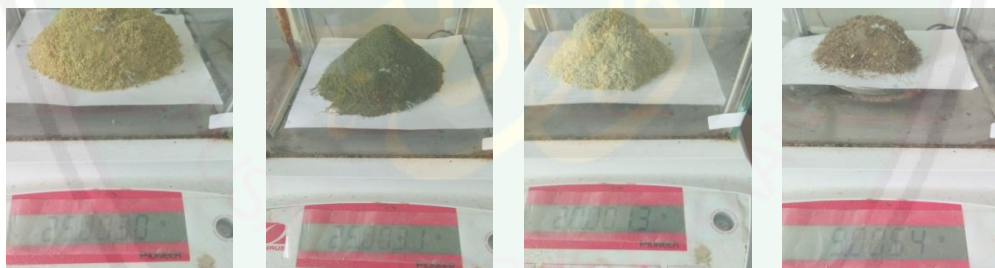


Hasil pengeringan bagian bunga, daun, batang dan akar *C. cinerariifolium*



Serbuk simplisia bunga, daun, batang dan akar *C. cinerariifolium*

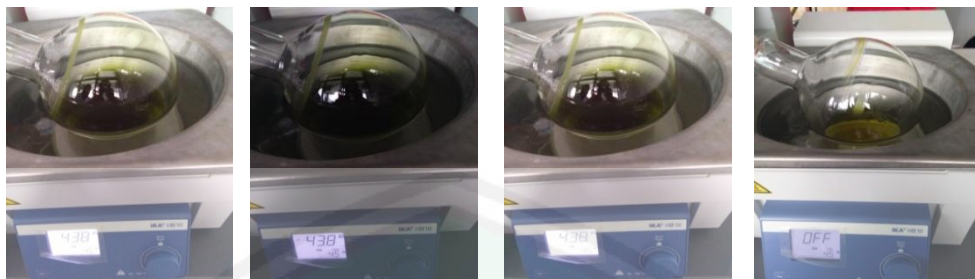
12.2 Ekstraksi UAE



Penimbangan serbuk simplisia bunga, daun, batang dan akar *C. cinerariifolium*



Proses UAE serbuk simplisia bunga, daun, batang dan akar *C. cinerariifolium*



Proses pemekatan ekstrak bunga, daun, batang dan akar *C. cinerariifolium*



Hasil pemekatan ekstrak bunga, daun, batang, dan akar



Hasil pemekatan ekstrak bunga, daun, batang, dan akar dengan oven

12.3 Identifikasi Senyawa dengan KLT



Ekstrak dalam etanol 96 %



Plat KLT silika gel 60 F₂₅₄



Proses eluasi



Hasil Penyemprotan dengan H₂SO₄ 10%

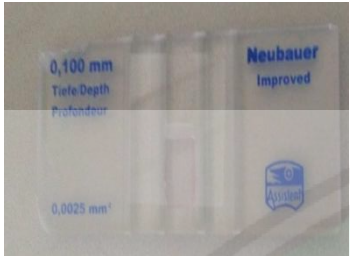
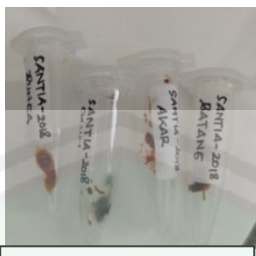

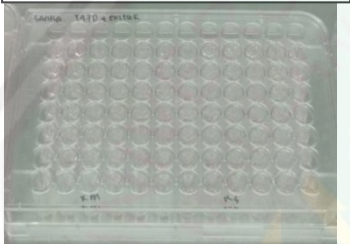



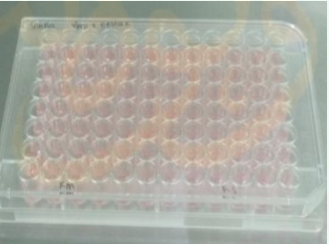
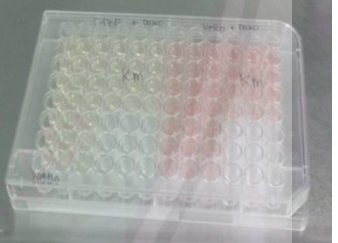
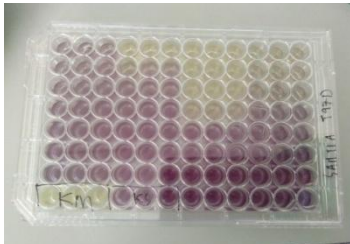
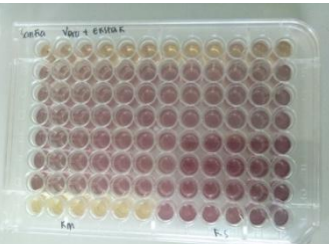
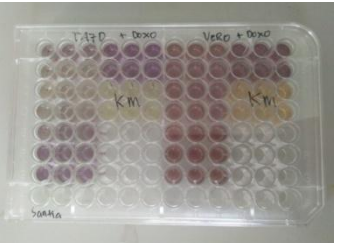


Hasil identifikasi dengan sinar UV 366 sebelum di semprot H₂SO₄ 10%



Hasil identifikasi dengan sinar UV 366 sesudah di semprot H₂SO₄ 10%

12.4 Uji Aktivitas Antikanker dan Uji Toksisitas

		
<p>Perhitungan sel menggunakan alat hemocitometer</p>	<p>10 mg ekstrak untuk kontrol perlakuan</p>	<p>Doxrubicin sebagai kontrol positif</p>
		
<p>Penumbuhan sel T47D dalam 96 well plate</p>	<p>Penumbuhan sel Vero dalam 96 well plate</p>	<p>Penumbuhan sel T47D dan sel Vero dalam 96 well plate</p>
		
<p>sel T47D dalam 96 well plate setelah di treatment dengan</p>	<p>sel Vero dalam 96 well plate setelah di treatment dengan</p>	<p>sel T47D dan Vero dalam 96 well plate setelah di treatment</p>
		
<p>sel T47D dalam 96 well plate setelah di beri reagen MTT</p>	<p>sel Vero dalam 96 well plate setelah di beri reagen MTT</p>	<p>sel T47D dan Vero dalam 96 well plate setelah di beri reagen MTT</p>



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

Nomor : 074/347/102.7/2017
Sifat : Biasa
Perihal : Determinasi Tanaman Krisan

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : SANTIA IRAWATI
NIM : 14670058
Instansi : JURUSAN FARMASI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG

- Perihal determinasi tanaman krisan
 - Kingdom : Plantae
 - Sub Kingdom : Tracheobionta (berpembuluh)
 - Divisi : Spermatophyta
 - Sub divisi : Angiospermae
 - Kelas : Dicotyledonae
 - Bangsa : Asterales
 - Suku : Asteraceae
 - Marga : Chrysanthemum
 - Jenis : *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.) Vis.
 - Nama Umum : Krisan, seruni, piretri, krisantemum.
 - Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23a-1b-6b-7b-9b-10b.
- Morfologi : Habitus: Terna, tinggi 0,5-1 m. Batang: Tegak, bulat, sedikit bercabang, permukaan kasar, hijau. Daun: Tunggal, berseling, lonjong, ujung runcing, pangkal membulat, tepi bertoreh, panjang 7-13 cm, lebar 3-6 cm pertulangan menyirip, tebal, permukaan kasar, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk cawan, di ketiak daun atau di ujung batang, garis tengah 3-5 cm, kelopak bentuk cawan, ujung runcing, hijau, benang sari dan putik halus, berkumpul di tengah bunga, mahkota lonjong, lepas, panjang 3-8 mm, putih. Buah: Lonjong, kecil, ditutupi selaput buah, masih muda putih setelah tua hitam. Biji: Lonjong, kecil, hitam. Akar: Tunggang, putih.
- Nama Simplicia : Pyrethri Radix et Cauli et Folium et Flos / Akar, Batang, Daun dan Bunga Krisan.
- Kandungan kimia : Daun dan bunga mengandung saponin, daunnya mengandung alkaloida dan tanin, bunganya juga mengandung minyak atsiri. Selain itu, juga mengandung piretrin I, piretrin II, piretrolon, sinerin II, paraffin, piretrosin, khirsantemin, β -karoten, folacin, kolin, riboflavin, niacin.
- Penggunaan : Penelitian (Skripsi).
- Daftar Pustaka
 - Anonim. <http://www.warintek.ristek.go.id/krisan>, diakses 23 Oktober 2010.
 - Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol I. N.V.P. Noordhoff, Groningen.
 - Backer, C.A. & Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol. II. 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 R.M., Drs., Apt., M.Kes.
NIP.196111021991031003

	<p>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>KETERANGAN KELAIKAN ETIK (ETHICAL CLEARANCE) No. 004/EC/KEPK-FKIK/2018</p>

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

Judul Uji aktivitas anti kanker terhadap sel T47D dan Toksisitas terhadap sel Vero pada Ekstrak Ethanol 96% *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev)

Sub Judul Uji aktivitas anti kanker terhadap sel T47D dan Toksisitas terhadap sel Vero pada Ekstrak Ethanol 96% *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev)

Peneliti Alfiah Laili Inayatn
Santia Irawati
drg. Anik Listiyana, Mbiomed

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

Tempat Penelitian Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM
Laboratorium Farmasi UGM

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

Mengetahui, Malang, 23 APR 2018
 Dekan FKIK-UIN Maulana Malik Ibrahim Malang Ketua



[Signature]
 Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, SpB, SpBP-RE(K)
 NIP. 20161201 1 515

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

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

SERTIFIKAT

Diberikan kepada

Santia Irawati

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

sebagai
Peserta

Kursus Singkat Kultur Jaringan yang diselenggarakan pada tanggal 2 – 5 Oktober 2017
di Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

Yogyakarta, 5 Oktober 2017
Penyelenggara
Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada



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



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

Nomor : UGM/KU/Prst/102/M/05/07/03.18
Hal : Ijin Penelitian.

15 Maret 2018

Kepada Yth.
SANTIA IRAWATI
NIM: 14670058
Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
Malang

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

“PEMROFILAN AKTIVITAS ANTIKANKER TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA (T47D) DAN TOKSISITAS TERHADAP SEL NORMAL (VERO) PADA TANAMAN KRISAN PUTIH (*Chrysanthemum cinerarifolium* (Trev.))”

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

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

Atas perhatian dalam hal ini kami ucapkan terima kasih.

Kepala,



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

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



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

SURAT KETERANGAN

No. UGM/KU/Prst/ 114 /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 : SANTIA IRAWATI
Instansi : Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
Malang
NIM. : 14670058

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

“PEMROFILAN AKTIVITAS ANTIKANKER TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA (T47D) DAN TOKSISITAS TERHADAP SEL NORMAL (VERO) PADA TANAMAN KRISAN PUTIH (*Chrysanthemum cinerarifolium* (Trev.))”

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.



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

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

LEMBAR PERSETUJUAN PERBAIKAN (REVISI) UJIAN SKRIPSI

Naskah ujian skripsi yang disusun oleh:

Nama : Santia Irawati
NIM : 14670058
Judul Skripsi : Pemprofilan Aktivitas Antikanker terhadap Sel Kanker Payudara (T47D) dan Toksisitas terhadap Sel Normal (Vero) pada Tanaman Krisan Putih (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev.))

Tanggal Ujian Skripsi : 06 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.	Burhan Ma'arif, M. Farm., Apt	28 Juni 2018	
2.	Abdul Hakim, M.P.I, M. Farm, Apt	3 Juli 2018	
3.	drg. Anik Listiyana, M. Biomed	9 Juni 2018	
4.	Dr. Roihatul Muti'ah, M. Kes., Apt	8 Juni 2018	

Catatan :

1. Batas waktu maksimum melakukan revisi 2 Minggu. Jika tidak selesai, mahasiswa TIDAK dapat mendaftarkan diri untuk mengikuti Yudisium
2. Lembar revisi dilampirkan dalam naskah skripsi yang telah dijilid, dan dikumpulkan di Bagian Administrasi Jurusan Farmasi selanjutnya mahasiswa berhak menerima Bukti Lulus Ujian Skripsi.



Malang, 03 Juli 2018
Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi

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