

**AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK dan FRAKSI BUAH
JAMBU WER (*Prunus persica* (L.) Batsch) TERHADAP SEL T47D
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**Oleh:
FABY SELA RAHMATIKA
NIM. 14670016**



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK dan FRAKSI
BUAH JAMBU WER (*Prunus persica* (L.) Batsch) TERHADAP SEL T47D
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

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

Oleh:

FABY SELA RAHMATIKA

NIM. 14670016

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

2019

**AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK dan FRAKSI
BUAH JAMBU WER (*Prunus persica* (L.) Batsch) TERHADAP SEL T47D
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:
FABY SELA RAHMATIKA
NIM. 14670016

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 03 Januari 2019

Pembimbing I,



Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt
NIP. 19881124 20160801 1 085

Pembimbing II,



Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm., Apt
NIP. 19900221 2018 01 1001



Mengetahui,
Kepala Jurusan Farmasi



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

**AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK dan FRAKSI
BUAH JAMBU WER (*Prunus persica* (L.) Batsch) TERHADAP SEL T47D
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh:
FABY SELA RAHMATIKA
NIM. 14670016

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

Tanggal: 03 Januari 2019

Ketua Penguji : Burhan Ma'arif Z.A, M.Farm., Apt. (.....)
NIP. 19900221 2018 01 1001

Anggota Penguji : 1. Dr. Roihatul Muti'ah, M. Kes., Apt. (.....)
NIP. 19800203 200912 2003

2. Weka Sidha Bhagawan, M.Farm, Apt (.....)
NIP. 19881124 20160801 1 085

3. Ach. Nashichuddin, MA (.....)
NIP. 19730705 200003 1 002

**Mengesahkan,
Ketua Jurusan Farmasi**



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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Faby Sela Rahmatika

NIM : 14670016

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Judul Skripsi : Aktivitas Antikanker Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer

(*Prunus persica* (L.) Batsch) Terhadap Sel T47D Secara *In Vitro*

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 rujukan. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 10 Januari 2019

Yang membuat pernyataan



Faby Sela Rahmatika

NIM. 14670016

MOTTO

مَنْ جَدَّ وَ جَدَّ

من صبر ظفر

من سار على الدرب وصل

“Bermimpilah Setinggi Langit. Jika Engkau Jatuh, Engkau Akan Jatuh Diantara Bintang-Bintang”
(Soekarno)

“TIDAK ADA LAIN KALI: SEKARANG ATAU TIDAK SAMA SEKALI!”

“RELIGION WITHOUT KNOWLEDGE IS LIKE A BIRD WITHOUT WINGS”

(Faby Sela Rahmatika/14670016)

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'aalamiin

Dengan senantiasa memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT beserta Nabi Muhammad sehingga bisa terselesaikannya skripsi ini.

Dengan rasa syukur yang mendalam, kupersembahkan tulisan karya sederhana ini kepada:

1. Kedua orang tuaku, Ayahanda tercinta Nur Chozin dan Ibunda tercinta Umi Ma'rifah. Terimakasih telah memberi doa, dukungan dalam segala bentuk, semangat, dan kasih sayang yang tak pernah putus sehingga saya dapat menempuh sarjana dengan lancar. Selalu memberikan yang terbaik untuk saya.
2. Adikku Ach. Robith Saifun Nawan dan Kerabat tercinta budheku Umi Asih, pakte Ach. Chamami, Ach Cholid terimakasih untuk perhatian, dukungan, doa, dan semangatnya selama ini.
3. Keluarga besar terimakasih atas barokah doanya, alhamdulillah.
4. Terimakasih kepada bapak Weka Sidha Bhagawan, M. Farm., Apt, bapak Burhan Ma'arif Z.A, M. Farm., Apt, Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt, atas dukungan moril maupun materil serta semangat dan doanya. Terimakasih juga kepada Bapak Ach. Nashichuddin, MA selaku pembimbing agama yang telah mengajarkan banyak ilmunya.
5. Terimakasih tak terhingga kepada sahabat, teman-teman tersayang Farmasi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang 2014 yang telah memberikan semangat dan warna selama menempuh perkuliahan. Tak cukup kata-kata untuk menggambarkan persahabatan kita, kecuali rasa syukur kuucapkan kepada Allah SWT karena telah mengenal kalian. Semoga kita selalu dipertemukan dalam kebaikan. Selamat dan sukses selalu buat kalian.
6. Kepada semua pihak yang telah membantu terselesainya skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu. **(Faby Sela Rahmatika/ 14670016)**

KATA PENGANTAR



Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan proposal skripsi yang berjudul “**Aktivitas Antikanker Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer (*Prunus persica* (L.) Batsch) Terhadap Sel T47D Secara *In Vitro***” 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. Bapak Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt selaku dosen pembimbing utama yang selalu meluangkan waktunya untuk membimbing penulis demi terselesainya skripsi ini.
2. Bapak Burhan Ma’arif Z.A, M.Farm., Apt selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan, tambahan ilmu dan

pengalaman yang berharga.

3. Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt selaku dosen penguji utama.
4. Bapak Ach. Nashichuddin, MA selaku dosen penguji agama

Yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat serta bantuan materil maupun moril kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulisan skripsi ini tidak luput dari bantuan semua pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis menghaturkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Bapak Prof. Dr. Dr. Bambang Pardjianto,, Sp.B, Sp.BP-RE (K) , selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Maliki Malang.
3. Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt selaku ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Para Dosen Pengajar dan staf di Jurusan Farmasi yang telah memberikan bimbingan dan membagi ilmunya kepada penulis selama berada di UIN Maliki Malang
5. Kedua orang tuaku, Ayahku Bpk Nur Chozin dan mamaku Umi Ma'rifah yang senantiasa memberikan dukungan, doa, perhatian dan kasih sayangnya.
6. Sahabat serta teman-teman Farmasi angkatan 2014 khususnya Tim Riset Jambu Wer (Maya Nafilatin, Fathan Luthfi dan Rani) yang telah berbagi

kebersamaan dalam senang maupun susah, sehingga tetap terjaga tali persaudaraan kita

7. Teman-temanku di Surabaya Nindy, mbak Uchi, dan Dhany yang senantiasa menghibur dan memberikan dukungan serta doanya untuk terselesainya skripsi ini.
8. Semua dosen dan staf bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.
9. Semua rekan dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas segala bantuannya kepada penulis.

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 skripsi ini. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi kita semua.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 03 Januari 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGAJUAN	
HALAMAN PERSETUJUAN	
HALAMAN PENGESAHAN	
HALAMAN PERNYATAAN	
MOTTO	
HALAMAN PERSEMBAHAN	
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR SINGKATAN	ix
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
المخلص	xii
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Batasan Masalah	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pemanfaatan Tanaman dalam Al-qur'an dan Hadist	7
2.2 Morfologi Tanaman Prunus persica (L.) Batsch	11
2.3 Kandungan dan Aktivitas Golongan Senyawa Ekstrak	11
2.4 Flavonoid	12
2.5 Ekstraksi	14
2.6 Fraksinasi Cair-cair	15
2.7 Kanker	17
2.8 Kanker Payudara	18
2.9 Patofisiologi	18
2.10 Sel Kanker Payudara T47D	21
2.11 Apoptosis	22
2.12 Doksorubisin	24
2.13 Sitotoksik	25
2.14 MTT assay	26
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	
3.1 Kerangka Konseptual	28
3.2 Uraian Kerangka Konseptual	29
3.3 Hipotesis	31

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	32
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	32
4.3 Populasi dan Sampe	32
4.3.1 Populasi	32
4.3.2 Sampel	33
4.4 Variabel Penelitian	33
4.4.1 Variabel Bebas	33
4.4.2 Variabel Tergantung	33
4.4.3 Variabel Kontrol	33
4.4.4 Definisi Operasional	33
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	35
4.5.1 Alat	35
4.5.2 Bahan	35
4.6 Skema Penelitian	36
4.6.1 Fraksinasi Jambu Wer	37
4.6.2 Uji Aktivitas Antikanker Metode MTT assay	38
4.7 Fraksinasi Buah Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> (L.) Batsch)	39
4.8 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromide)	41
4.8.1 Penumbuhan Sel	41
4.8.2 Pemanenan Sel	41
4.8.3 Perhitungan Sel Kanker	42
4.8.4 Peletakan Sel pada <i>Plate 96-well</i>	42
4.8.5 Pembuatan Larutan Sampel	43
4.8.6 Pemberian Larutan MTT dan ELISA Reader	45
4.9 Analisis Data	45

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Determinasi Tanaman	48
5.2 Pembuatan Simplisia	49
5.3 Pembuatan Ekstrak	50
5.4 Pembuatan Fraksi	51
5.5 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT assay	54
5.6 Mekanisme Senyawa Antikanker	66
5.7 Pemanfaatan Buah Jambu Wer Berdasarkan Perspektif Islam	69

BAB VI PENUTUP

6.1 Kesimpulan	72
6.2 Saran	72

DAFTAR PUSTAKA	73
-----------------------------	----

LAMPIRAN	83
-----------------------	----

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Hasil Kandungan Golongan Senyawa Ekstrak Etanol 96%.....	11
Tabel 4.1	Perbedaan Konstanta Dielektrik.....	40
Tabel 5.1	Hasil Fraksinasi dan Rendemen masing-masing Fraksi.....	53
Tabel 5.2	% Viabilitas Sel Hidup pada tiap-tiap Larutan Uji	60
Tabel 5.3	% Viabilitas Sel Hidup Kontrol Positif	60
Tabel 5.4	Kategori Sitotoksik Berdasarkan Nilai IC ₅₀	62
Tabel 5.5	Potensi Ekstrak etanol 96% dan Fraksi n-heksana, kloroform Etil asetat dan air terhadap penghambatan pertumbuhan sel T47D	63
Tabel 5.6	Hasil Uji Kruskal-Wallis Test	65
Tabel 5.7	Hasil Uji Post Hoc Tukey.....	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tanaman Buah Jambu Wer (<i>Prunus persica</i> (L.) Batsch)	10
Gambar 2.2	Kerangka Flavonoid	13
Gambar 2.3	Fraksinasi Cair-cair	16
Gambar 2.4	Morfologi Sel T47D akibat perlakuan EP $\mu\text{g/ml}$ (a) dibandingkan dengan sel tanpa perlakuan /kontrol sel (b) dilakukan dengan menginkubasi 3×10^3 sel T47D dengan EP (30-210 $\mu\text{g/ml}$) selama 48 jam.....	21
Gambar 2.5	Jalur Apoptosis	23
Gambar 2.6	Struktur Kimia Doksorubisin	24
Gambar 2.7	Reaksi Reduksi MTT menjadi Formazan.....	27
Gambar 3.1	Bagan Kerangka Konsep	28
Gambar 4.1	Bagan Skema Kerja Penelitian	36
Gambar 4.2	Bagan Skema Fraksinasi Buah Jambu Wer.....	37
Gambar 4.3	Bagan Skema Uji Aktivitas Antikanker Metode MTT assay.....	38
Gambar 4.4	Hemocytometer.....	42
Gambar 4.5	Plate 96 Well	44
Gambar 5.1	Morfologi Sel T47D setelah diberi perlakuan terhadap ekstrak etanol 96% dan Fraksi –fraksi buah Jambu wer 500 $\mu\text{g/ml}$ (a) Ekstrak etanol 96% (b) Fraksi n-heksana (c) Fraksi Kloroform (d) Fraksi Etil Asetat (e) Fraksi Air (f) Doksorubisin (g) Kontrol Sel	58
Gambar 5.2	Grafik % viabilitas sel kanker payudara T47D pada konsentrasi 500; 250; 31,250; 15,625; 7,8125 $\mu\text{g/ml}$ dari Ekstrak Etanol 96% dan Fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat dan air buah Jambu Wer	61
Gambar 5.3	Grafik % viabilitas sel kanker payudara T47D pada Doksorubisin (kontrol positif) pada konsentrasi 0,5; 0,25; 0,03125; 0,0156; 0,00781 $\mu\text{g/ml}$	62

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Skema Kerja
Lampiran 2	Fraksinasi Buah Jambu Wer
Lampiran 3	Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT
Lampiran 4	Perhitungan Rendemen
Lampiran 5	Perhitungan Bahan Uji Sitotoksik Metode MTT assay
Lampiran 6	Perhitungan Konsentrasi Sel
Lampiran 7	Perhitungan IC50 menggunakan <i>Probit analysis</i> SPSS
Lampiran 8	Uji Kruskal-Wallis
Lampiran 9	Uji <i>Pos Hoc Tuckey</i>
Lampiran 10	Dokumentasi Penelitian
Lampiran 11	Hasil Absorbansi Elisa <i>Reader</i>
Lampiran 12	Determinasi Tanaman
Lampiran 13	Sertifikat Kursus Kultur Jaringan Sel
Lampiran 14	Surat Izin Penelitian
Lampiran 15	Surat Bebas Tanggungan Laboratorium
Lampiran 16	<i>Ethical Clearance</i>
Lampiran 17	Lembar Revisi Ujian Skripsi

DAFTAR SINGKATAN

CCRC	: Cancer Chemoprevention Research Center
CDK	: Cyclin dependent kinase
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	: Dimethyl Sulfoxide
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
DISC	: Death Inducing Signaling Complex
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ER	: Estrogen
FBS	: Fetal Bovine Serum
IC50	: Inhibitori Concentration 50%
KLT	: Kromatografi Lapis Tipis
MTT	: (3-(4,5- dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid)
PBS	: Phospat Buffer Serum
P53	: Protein 53
RPMI	: Rosewell Park Memorial Institute
SDS	: Sodium Duodecyl Suphate
SPSS	: Program for Social Science
TLC	: Thin Layer Chromatography
TNFR-1	: Tumor Necrosis Factor Receptor
WHO	: Word Health Organization

ABSTRAK

Rahmatika, Faby Sela . 2018. **Aktivitas Antikanker Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer (*Prunus persica* (L.) Batsch) Terhadap Sel T47D Secara *In Vitro*. Skripsi.** Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang Pembimbing (I) Weka Sidha Bhagawan., M.Farm., Apt Pembimbing (II) Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm., Apt Penguji Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt

Kanker disebabkan pertumbuhan sel yang tidak normal. Pengobatan kanker selama ini seperti kemoterapi, radioterapi, sinar x, dapat membunuh sel normal. Maka dari itu dilakukan pengobatan dari bahan alam untuk mengobati kanker tanpa membunuh sel normal. Upaya untuk mengobati kanker payudara salah satunya menggunakan pengobatan herbal. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai pengobatan antikanker adalah buah jambu wer (*Prunus persica* (L.) Batsch) dari penelitian sebelumnya telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan IC_{50} 5,17 ppm, dan memiliki kandungan senyawa tanin, pholabatanin, saponin dan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat dan air buah jambu wer (*Prunus persica* (L.) Batsch) terhadap IC_{50} kanker payudara T47D dan mengetahui sampel yang paling aktif terhadap kematian sel kanker payudara T47D. Metode penelitian yaitu dengan uji MTT assay. Hasil uji MTT assay menunjukkan fraksi kloroform (aktif), fraksi n-heksan (moderat aktif), fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak etanol 96% dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 13.033 $\mu\text{g/ml}$; 43.236 $\mu\text{g/ml}$; 849.583 $\mu\text{g/ml}$; >1000 $\mu\text{g/ml}$ dan 222.730 $\mu\text{g/ml}$. Berdasarkan hasil yang diperoleh didapatkan fraksi kloroform mempunyai aktivitas yang paling tinggi dengan nilai IC_{50} 13.033 $\mu\text{g/ml}$.

Kata kunci : Antikanker, Buah Jambu Wer (*Prunus persica* L.Batsch), Sel T47, MTT assay

ABSTRACT

Rahmatika, Faby Sela. 2018. **Anticancer Activity of Extracts and Fractions of Jambu Wer Fruit (*Prunus persica* (L.) Batsch) on In Vitro T47D Cells**. Essay. Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang Advisor (I) Weka Sidha Bhagawan., M.Farm. Apt Advisor (II) Burhan Maarif Z.A., M.Farm., Testing Apt Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt

Cancer is caused by abnormal cell growth. Cancer treatments such as chemotherapy, radiotherapy, x-rays, can kill normal cells. Therefore, treatment from natural ingredients is carried out to treat cancer without killing normal cells. One way to treat breast cancer is to use herbal medicine. One of the plants that has the potential as an anticancer treatment is Jambu Wer fruit (*Prunus persica* (L.) Batsch) from previous studies that have been known to have antioxidant activity IC₅₀ 5.17 ppm, and contain tannins, phlobaphene, saponins and flavonoids. This study aims to determine the activity of 96% ethanol extract, n-hexane, chloroform, ethyl acetate and Jambu Wer fruit juice (*Prunus persica* (L.) Batsch) against IC₅₀ T47D breast cancer and find out the most active sample for breast cancer cell death T47D. The research method is the MTT assay test. The MTT assay test results showed chloroform (active) fraction, n-hexane fraction (moderate active), ethyl acetate fraction, water fraction and 96% ethanol extract with IC₅₀ values of 13,033 µg / ml respectively; 43,236 µg / ml; 849,583 µg / ml; > 1000 µg / ml and 222,730 µg / ml. Based on the results obtained the chloroform fraction has the highest activity with an IC₅₀ value of 13,033 µg / ml.

Keywords: Anticancer, Jambu Wer Fruit (*Prunus persica* L. Batsch), Cell T47, MTT assay

مستخلص البحث

رحمتك، فابي سيللا. 2018. نشاط مضادة سرطان الثدي باستخدام مستخرجة وجزئية الجوافة وير (*Prunus persica*) *Batsch* (L.) على خلايا خط لخلايا سرطان الثدي (T47D). البحث الجامعي. قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: ويكا سيدا بغاوان، الماجستير. المشرف الثاني: برهان معارف، الماجستير. المناقش: د. رائحة المطيعة، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: مضادة السرطان، فاكهة الجوافة وير (*Prunus persica* (L.) *Batsch*) ، خلايا سرطان الثدي (T47D)، *MTT assay*

السرطان يحدث بسبب نمو الخلايا غير الطبيعي. علاجات السرطان مثل العلاج الكيميائي والعلاج الإشعاعي والأشعة السينية تمكن أن تقتل الخلايا الطبيعية. من إحدى طرق علاج سرطان الثدي هي استخدام المكونات الطبيعية بدون قتل الخلايا الطبيعية. واحد من النباتات التي لديها القدرة كعلاج المضاد للسرطان هي فاكهة الجوافة (جامبو وير (فرونوس فرسيجا (ل.) باتسجه) التي عرفت لها نشاط المضادة الأكسدة بقيمة المثبطة ١٧,٥ ففم في الدراسات السابقة وتحتوي الفاكهة الجوافة الثاينبات، الفولباتين، السابونين والفلافونويد. تهدف هذه الدراسة لتحديد النشاط من مستخلص الإيثانول ٩٦٪، وجزء من ن-هيكسان، الكلوروفورم، الإيثيل الأسيتات والماء من فاكهة الجوافة (جامبو وير (فرونوس فرسيجا (ل.) باتسجه) على قيمة المثبطة من مضادة السرطان الثدي T47D والتعريف أي الأكثر العينة ليقول السرطان الثدي. فأما الإجراء هذه الدراسة هو اختبار *MTT assay*. أظهرت النتائج من ذلك الاختبار أن نشاط عامل مضادة السرطان على خط خلية (*cell line*) سرطان الثدي T47D كما يلي جزئية الكلوروفورم (نشط) وجزئية ن الهكسان (نشط معتدل) وجزئية أسيتات الإيثيل وجزئية الماء ومستخرجة الإيثانول ٩٦٪ بمقدار المتسلسل الأتي ٠,٣٣، ١٣، ٤٣، ٨٤٩، ٥٨٣، ١٠٠٠ ميكروغرام/مل؛ و ٢٢٢، ٧٣٠، ١٣، ٠,٣٣ ميكروغرام/مل. استنادا إلى تلك النتائج التي تم الحصول عليها فإن أنشط الجزئيات كمضادة السرطان هي جزئية الكلوروفورم مع قيمة المثبطة ٠,٣٣، ١٣ ميكروغرام/مل.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan salah satu jenis penyakit tidak menular yang angka kejadiannya memiliki kecenderungan meningkat setiap tahunnya (Oemiati *et al.*, 2011). Kanker payudara menduduki peringkat pertama kasus kanker pada wanita di seluruh dunia, dengan angka kejadian sebesar 1.676.633 dan kanker hati menduduki peringkat tiga dunia dengan angka 879.987 kasus didunia, kanker payudara merupakan penyebab kematian akibat kanker yang paling banyak pada wanita (IARC, 2015).

Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Rinkesdas) tahun 2013 kanker di Indonesia secara Nasional sebesar 1,4% atau diperkirakan sekitar 347.792 orang dimana kanker payudara menduduki peringkat tertinggi setelah kanker serviks sebesar 0,5%. Jumlah penderita kanker payudara di Indonesia kurang lebih 200 juta populasi atau 23.140 kasus baru setiap tahunnya (Emir, 2010). Di Indonesia 80% kasus kanker berada pada stadium lanjut dimana upaya pengobatan sulit dilakukan (Kemenkes, 2010).

Sel kanker dapat terjadi karena mutasi genetik sebagai akibat dari adanya kerusakan DNA pada sel normal (Heti, 2008). Kanker merupakan penyakit yang disebabkan pertumbuhan sel yang tidak normal, tumbuh dengan cepat dan membelah diri dengan tidak terkendali (Rasjidi, 2010). Kanker payudara adalah

keganasan pada payudara yang berasal dari sel kelenjar mammae serta jaringan penunjang payudara, namun tidak termasuk kulit payudara (Depkes RI, 2014).

Penyebab timbulnya kanker payudara bersifat multifaktorial atau banyak faktor dalam jangka waktu lama dan mengalami kemajuan melalui stadium yang berbeda-beda (Oemiati *et al.*, 2011). Beberapa hal yang dapat menjadi penyebab kanker payudara yaitu, adanya kelemahan genetik pada sel tubuh sehingga mempermudah tumbuhnya sel kanker, iritasi dan inflamasi kronis kemudian berkembang menjadi sel kanker, radiasi sinar matahari dan sinar-x, senyawa kimia seperti *aflatoxin B1*, asbestos, nikel arsen, arang tar, asap rokok, kontrasepsi oral, serta makanan yang bersifat karsiogenik misalnya makanan kaya karbohidrat yang diolah dengan digoreng, ikan asin dan sebagainya (Suryaningsih dan Sukaca, 2009).

Pengobatan penyakit kanker yang dilakukan selama ini melalui pembedahan, radioterapi, kemoterapi, hormonoterapi dan imunoterapi (Sandina, 2011). Pengobatan kanker seperti pemberian obat antikanker, kemoterapi, sinar x dan operasi tergolong sangat mahal, sedikit juga pasien yang dapat berhasil sembuh dari penyakit kanker meskipun sudah melakukan berbagai usaha pengobatan medis dan mengeluarkan biaya yang mahal, pengobatan ini masih belum spesifik dikarenakan tidak selektif dalam membunuh sel kanker melainkan sel normal lainnya juga ikut terbunuh, hal ini mendorong di kembangkannya obat baru yang mempunyai efek terapi yang selektif sebagai obat antikanker antara lain dilakukan menggali senyawa-senyawa alam yang berasal dari tumbuhan (Mangan, 2014)

Kanker merupakan salah satu penyakit yang berbahaya dan mematikan, namun dalam Islam telah dijelaskan dalam hadist riwayat Imam Bukhari didalam shahihnya dari sahabat Abu Hurairah radliallahu ‘anhu bahwa Rasulullah ﷺ beliau bersabda :

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya:

“Allah tidak menurunkan penyakit melainkan menurunkan obatnya juga” (H.R. Imam Bukhari).

Sebagai manusia yang mengimani setiap apa yang diperintahkan Allah ﷻ dan Rasulnya tentunya dalam sebuah masalah kehidupan khususnya masalah kesehatan selalu merujuk kepada tuntunan Allah ﷻ dan Rasulnya yang berupa Al-qur’an dan Hadist. Terkait dengan hal tersebut, maka pemanfaatan tumbuhan sebagai peningkat kualitas kesehatan perlu dikembangkan. Ditandai dalam surah Asy-Syu’araa ayat 7 berikut ini.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زوجٍ كَرِيمٍ ٧

Artinya:

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

Ayat tersebut menunjukkan bahwa tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang memiliki banyak manfaat, salah satunya digunakan untuk pengobatan. Tumbuhan memiliki beranekaragam jenis yang dapat digunakan sebagai obat untuk berbagai penyakit, hal ini merupakan anugerah dari Allah ﷻ yang harus dimanfaatkan sebaik-baiknya (Shihab, 2000).

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi. Indonesia merupakan salah satu negara tropis dan termasuk ke dalam

delapan negara *Biodiversity*, memiliki hutan tropika yang kaya akan tumbuhan obat, terdapat 20.000 jenis tumbuhan obat, 1.000 jenis yang sudah didata, dan 300 jenis dimanfaatkan sebagai obat tradisional, hal ini membuktikan bahwa di Indonesia masih banyak tumbuhan yang dapat berpotensi sebagai obat (Zuhud, 2008).

Menyikapi potensi yang dimiliki Indonesia terkait tumbuhan obat, telah banyak dilakukan penelitian-penelitian terhadap tumbuhan seperti penemuan tumbuhan yang berkhasiat sebagai obat, adapun cara yang dapat dilakukan untuk menemukan tumbuhan khasiat obat adalah dengan mengeksplorasi kebudayaan dan pengetahuan komunitas tertentu mengenai pemanfaatan tumbuhan disekitarnya, salah satu pendekatan yang dapat digunakan untuk mengeksplorasi dalam hal pemanfaatan tumbuhan obat adalah etnofarmasi (Zuhud, 2008).

Pemanfaatan potensi sumber daya alam dari metode etnofarmasi untuk mengembangkan obat dari bahan-bahan alam (Dianto *et al.*, 2015). Salah satu tanaman yang telah diteliti dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan antikanker adalah *Prunus persica* (L.) Batsch dimana penelitian sebelumnya telah diuji kandungan antioksidan tanaman ini memiliki nilai IC_{50} 5,17 ppm (Cho, 2003). Memiliki kandungan kimia tanin, phlobatanin, saponin dan flavonoid (Edrah *et al.*, 2013). Berdasarkan uraian tersebut peneliti berusaha melakukan penelitian buah (*P. persica* (L.) Batsch) terhadap aktivitas antikanker payudara T47D terhadap IC_{50} kematian sel.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang masalah di atas dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Apakah Ekstrak etanol 96%, Fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat dan air buah jambu wer (*Prunus persica* (L.) Batsch) memberikan efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D ?
2. Sampel manakah yang paling aktif terhadap kematian sel kanker payudara T47D?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui aktivitas ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat dan air buah jambu wer (*Prunus persica* (L.) Batsch) terhadap kematian sel kanker payudara T47 D
2. Mengetahui ekstrak etanol 96% dan fraksi yang paling aktif terhadap kematian sel kanker payudara T47D.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai aktivitas antikanker payudara T47D terhadap fraksi buah jambu wer (*Prunus persica* (L.) Batsch). Dapat dijadikan referensi untuk penelitian selanjutnya dan kedepannya dapat dilakukan penelitian lanjutan uji toksisitas, flowsito sampai uji klinis.

1.5 Batasan Masalah

- Bagian tanaman yang diambil pada penelitian ini adalah Buah
- Ekstrak yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak buah jambu wer muda (*Prunus persica* (L.) Batsch) usia 2 minggu, berasal dari Desa Ngadas Poncokusumo Bromo Tengger.
- Pelarut yang digunakan dalam pembuatan fraksi adalah n-heksana, etil asetat, kloroform, air dan etanol 96%
- Uji yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji aktivitas antikanker payudara ekstrak etanol 96% dan fraksi n-heksan, kloroform, etil asetat dan air buah jambu wer
- Sel Kanker payudara yang digunakan pada penelitian ini adalah sel T47 D.
- Metode yang di gunakan pada penelitian ini MTT *assay*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tanaman dalam Al-qur'an dan Hadist

Allah ﷻ menciptakan segala sesuatu di muka bumi ini tidaklah sia-sia. Penciptaan tersebut dapat bermanfaat bagi makhluk hidup di bumi terutama manusia. Salah satu ciptaan Allah ﷻ yang bermanfaat adalah tumbuhan. Allah ﷻ menciptakan tumbuhan dengan bermacam-macam jenis untuk dimanfaatkan manusia. Sebagaimana firman Allah ﷻ, dalam QS. Thaha (20) : 53

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

Artinya: “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”. (QS. Thaha:53).

Menurut Shihab (2000) tumbuhan memiliki beraneka ragam jenis ,bentuk dan kandungan yang berbeda-beda. Hal itu merupakan suatu kenikmatan dari Allah ﷻ. Setiap tumbuhan diciptakan hanya untuk memenuhi kebutuhan manusia. Tumbuhan memiliki banyak manfaat sebagai makanan dan pengobatan .

Menurut Al-Mahalli (2007) Allah ﷻ yang telah menjadikan bagi kalian di antara sekian banyak makhluk-Nya bumi sebagai hamparan tempat berpijak dan Allah ﷻ memudahkan bagi kalian di bumi itu jalan-jalan tempat-tempat untuk berjalan dan Allah ﷻ menurunkan dari langit air hujan sebagaimana berikut

“Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis tumbuh-tumbuhan yang beranekaragam”. Lafal Syattaa ini menjadi kata sifat daripada lafal Azwaajan, maksudnya, yang berbeda-beda warna dan rasa serta lain-lainnya. Lafal syattaa ini adalah bentuk jamak dari lafal Syatiitun, wazannya sama dengan lafal Mardhaa sebagai jamak dari lafal Mariidhun. Ia berasal dari kata kerja Syatta artinya Tafarraqa atau berbeda-beda (Al-Mahalli, 2007).

Menurut Basyir (2013) Allah ﷻ yang telah menjadikan bumi bagi kalian yang mudah untuk diambil manfaatnya, menyediakan bagi kalian banyak jalan di sana, dan menurunkan hujan dari langit dengan air hujan itu. Kami tumbuhkan aneka macam tumbuhan.

Menurut Kemenag RI (2015), Tuhan lah yang telah menjadikan jalan-jalan di bumi ini, baik di gunung-gunung maupun di tempat-tempat yang rendah untuk menghubungkan satu tempat dengan tempat yang lain, antara satu kota dengan kota yang lain, antar satu desa dengan desa yang lain, guna memudahkan melaksanakan keperluan-keperluan kita.

Pemanfaatan tumbuhan sebagai pengobatan, terkait hal ini mewajibkan manusia untuk belajar dan berfikir karena Allah ﷻ memberikan kita akal untuk berfikir.

Hal ini sebagaimana firman Allah ﷻ dalam QS.Al-Jathiyah Ayat : 13.

وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمَوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١٣﴾

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

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah ﷻ telah menundukkan segala sesuatu yang ada di langit dan bumi ini sebagai tanda kecintaan Allah ﷻ terhadap hambanya yaitu manusia, dalam ayat tersebut Allah ﷻ berfirman agar manusia hendaklah berfikir dalam penciptaan alam semesta, sehingga dapat memanfaatkan Alam sebaik-baiknya, sehingga kita bisa menjadi insan yang ulul albab hendaknya memiliki pemahaman secara mendalam tentang segala sesuatu yang Allah ﷻ ciptakan di muka bumi ini (Shihab, 2002).

Kanker merupakan penyakit yang mematikan, meskipun tidak menular disebutkan dalam kitab Shahih Al Bukhari dan Muslim dari Atha dari abu Hurairah, diriwayatkan Imam Bukhori Muslim dari Jabir bin Abdillah ia berkata bahwa Rasulullah ﷺ bersabda sebagaimana berikut:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أَصَابَ الدَّوَاءُ الدَّوَاءَ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

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

Hadist tersebut menunjukkan bahwa setiap penyakit yang diturunkan Allah ﷻ terdapat obat yang sudah pasti menyembuhkan, namun bukan dari sesuatu yang haram. Hal ini, menunjukkan meskipun kanker payudara memiliki prevalensi yang tinggi terhadap kematian terbesar pada wanita dan susah di sembuhkan, salah satunya menggunakan tanaman buah jambu wer yang dapat berpotensi mengobati kanker (Park *et al.*, 2005).

Prunus persica (L.) Batsch merupakan pohon gugur dengan ketinggian 5 sampai 10 m dan umumnya dibudidayakan di Asia Barat, Eropa, Himalaya dan

India hingga ketinggian 1000 kaki. Ada sekitar 100 marga dari 3.000 spesies dalam family Rosaceae (Hidayat *et al.*, 2011). Sedangkan pada masyarakat suku Tengger *Prunus persica* (L.) Batsch disebut dengan jambu wer (Hidayat *et al.*, 2011).



Gambar 2.1 Buah Jambu wer (*Prunus persica* (L.) Batsch) (Listiyana, 2017)

Menurut Backer and Bakhuizen (1963) dalam buku *Flora of Java* menjelaskan klasifikasi tumbuhan jambu wer (*Prunus persica* (L.) Batsch).

Klasifikasi

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Rosales</i>
Famili	: <i>Rosaceae</i>
Genus	: <i>Prunus</i>
Spesies	: <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch

2.2 Morfologi

Tumbuhan *Prunus persica* (L.) Batsch memiliki daunnya berwarna hijau berbentuk lonjong pertulangan daun menyirip, batangnya berkayu tebal, memiliki buah berbentuk lonjong berwarna hijau kekuningan ketika muda dan berwarna kuning kemerahan ketika tua, akarnya tebal dan memanjang (LIPI, 2017).

2.3 Kandungan dan Aktivitas Golongan Senyawa Ekstrak

Pada uji kandungan golongan senyawa dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dalam ekstrak etanol 96% *P. persica* (L.) Batsch memiliki kandungan senyawa alkaloid dan flavonoid, pada ekstrak etil asetat *P. persica* (L.) Batsch memiliki kandungan flavonoid, pada uji ekstrak kloroform buah *P. persica* (L.) Batsch menunjukkan memiliki kandungan senyawa golongan alkaloid dan flavonoid, Ekstrak n-heksana *P. persica* (L.) Batsch tidak mempunyai kandungan senyawa golongan alkaloid, favonoid dan polifenol (Bhagawan, 2017)

Tabel 2.1 Data Hasil Pengujian Kandungan Golongan Senyawa Ekstrak etanol 96%

No.	Senyawa	Ekstrak Etanol 96%	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak Kloroform	Ekstrak n-Heksana
1.	Alkaloid	+	-	+	-
2.	Flavonoid	+	+	+	-
3.	Polifenol	-	-	-	-

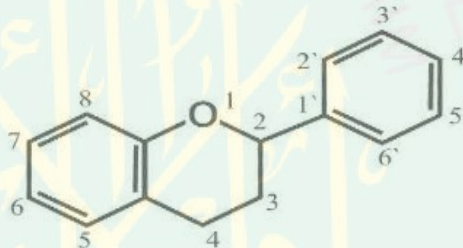
(Bhagawan, 2017)

Menurut penelitian sebelumnya senyawa golongan alkaloid, flavonoid dan polifenol memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghentikan reaksi propagasi radikal bebas, baik yang berasal dari produk samping metabolisme yang terjadi didalam tubuh maupun yang berasal dari lingkungan seperti asap rokok, polusi udara, obat-obatan tertentu, sinar ultraviolet, dan radiasi (Hardiana *et al.*, 2012). Selain itu Antioksidan dapat menurunkan resiko penyakit jantung, kanker, katarak dan penyakit degeneratif lain karena penuaan (Marliana, 2007).

2.4 Flavonoid

Flavonoid salah satu senyawa yang berfungsi sebagai antiinflamasi, antioksidan, antikanker, antifertilitas, antidiabetes, antidiuretic (Baratawidjaja, 2002). Kemampuan flavonoid untuk menghambat proliferasi sel dipengaruhi oleh kemampuan flavonoid dalam memodulasi estrogen reseptor alpha ($Er\alpha$) (Virgili *et al.*, 2014). Menurut Redha (2010) struktur dan reaktivitas senyawa flavonoid bekerja sebagai agen antioksidan dan phytoestrogen, modulator sinyal estrogen dan metabolisme untuk menginduksi respon keseluruhan anti-poliferasi. Mekanisme flavonoid sebagai antikanker dibuktikan dengan memodulasi CYP1 (sitokrom P450 1) dan kelompok ABC (*ATP-binding cassette*) protein, terlibat dalam karsinogenesis. Flavonoid juga mampu menginduksi apoptosis dan siklus sel serta sebagai jalur sinyal lain yang terlibat dalam pengembangan dan perkembangan kanker.

Flavonoid merupakan metabolit sekunder dari golongan fenol yang memiliki kerangka 15 karbon atom karbon yang terdiri dari 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin aromatic benzene (C_6) terikat pada rantai propana (C_3), sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$. Susunan ini menghasilkan tiga jenis senyawa flavonoid, yaitu : flavonoid atau 1,3-diaril propane, flavonol, Isoflavonoid atau 1,2-diarilpropana dan Neoflavonoid atau 1,1-diarilpropana (Lenny, 2006). Kandungan senyawa kimia flavonoid di duga merupakan senyawa antioksidan kuat yang berpotensi mencegah terkena resiko kanker dan memproteksi perkembangan sel kanker (Sudewo, 2012).



Gambar 2.2 Kerangka Flavonoid (Redha, 2010)

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakannya terhadap sel normal, protein, dan lemak (Herni *et al.*, 2017). Antioksidan dalam menghambat jalannya reaksi oksidan dapat melalui beberapa cara, yaitu mekanisme donor proton, radical scavenger oxygenquencher dan inhibisi dengan enzim , kandungan antioksidan yang terdapat pada tanaman bertindak sebagai *radical scavenger* dan membantu mengkonversi radikal bebas yang kurang reaktif. (Mandal *et al.*, 2017).

Flavonoid merupakan pembersih radikal bebas yang efektif secara *in vitro*. Menurut Boer (2000), mekanisme pencegahan timbulnya kanker oleh senyawa flavonoid diantaranya :

1. Menstimulasi aktivitas enzim-enzim detoksifikasi fase II. Enzim-enzim detoksifikasi fase II akan mengkatalis reaksi yang meningkatkan ekskresi senyawa toksik atau bahan kimia karsinogenik dalam tubuh.
2. Menjaga proses siklus sel dengan normal. Jika DNA mengalami kerusakan, siklus sel akan berhenti pada titik tempat terjadinya kerusakan, sehingga memberi kesempatan pada DNA untuk melakukan mengaktifkan jalur yang membawa pada kematian sel. Jika kerusakan tersebut tidak dapat diperbaiki. Menghambat proliferasi dan menginduksi apoptosis.
3. Menghambat invasi tumor dan angiogenesis, dengan bantuan enzim-enzim matrixmetalloproteinases sel-sel kanker yang akan menyerang jaringan normal.
4. Mengurangi terjadinya peradangan (inflamasi). Peradangan ini bisa terjadi akibat produksi radikal bebas secara lokal oleh enzim-enzim inflamasi.

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan komponen aktif pada suatu tanaman atau hewan dari komponen yang tidak aktif atau *inert* dengan menggunakan prosedur ekstraksi standart dan pelarut yang selektif. Pemilihan prosedur ekstraksi tergantung pada sifat dari bahan (bagian dari organisme) dan senyawa yang akan diisolasi, sehingga perlu ditetapkan target ekstraksi (Sarker *et al.*, 2006; Handa, 2008). Beberapa pendekatan dapat digunakan untuk mengekstrak bahan tanaman.

Meskipun air digunakan sebagai ekstrak dalam protokol tradisional, pelarut organik dari polaritas yang berbeda-beda pada umumnya dipilih dalam metode ekstrak modern untuk mengeksploitasi berbagai kelarutan tanaman. Kebijakan dan peraturan pemerintah membatasi penggunaan pelarut yang diperbolehkan untuk ekstraksi. Pelarut yang diperbolehkan yaitu air, etanol serta campurannya. Metode penyarian yang digunakan tergantung wujud dan kandungan zat dari bahan yang akan disari. Metode maserasi adalah metode perendaman menggunakan pelarut bukan air atau nonpolar atau semi polar misalnya etanol encer, selama periode waktu tertentu sesuai takarannya (Depkes, 2000; Harborne, 1996).

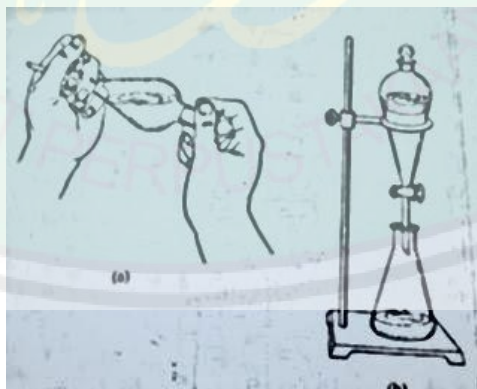
Ekstraksi ultrasonikasi termasuk salah satu alternatif preparasi sampel padat karena dapat mempermudah dan mempercepat beberapa preparasi, seperti pelarutan, *fusi* dan *leaching*. Hal ini dikarenakan efek dari gelombang ultrasonik yang membentuk *local high temperature* dan gerakan mekanik antarmuka zat padat dan zat cair, sehingga akan mempercepat laju perpindahan massanya (Pourhossein *et al.*, 2009). Menurut De la Fuente *et al* (2004) beberapa kinetika proses juga dapat dipercepat dengan efek gelombang ultrasonik.

2.6 Fraksinasi Cair-Cair

Fraksinasi adalah proses pemisahan komponen-komponen dalam ekstrak berdasarkan perbedaan tingkat kepolaran. Pada prinsipnya senyawa polar diekstraksi dengan pelarut polar, sedangkan pelarut non polar diekstraksi dengan senyawa non polar (Saifuddin, 2014).

Pembagian atau pemisahan ini didasarkan pada bobot dari tiap fraksi, fraksi yang lebih berat akan berada paling dasar sedangkan fraksi yang lebih ringan akan berada di atas. Fraksinasi bertingkat biasanya menggunakan pelarut organik seperti eter, aseton, benzena, etanol, diklorometana, atau campuran pelarut tersebut. Asam lemak, asam resin, lilin, tanin dan zat warna adalah bahan yang penting dan dapat diekstraksi dengan pelarut organik (Adijuwana dan Nur, 1989). Fraksinasi bertingkat umumnya diawali dengan pelarut yang kurang polar dan dilanjutkan dengan pelarut yang lebih polar. Tingkat polaritas pelarutan dapat ditentukan dari nilai konstanta dielektrik pelarut (Lestari dan Pari, 1990).

Ekstraksi cair-cair merupakan salah satu metode fraksinasi. Tujuannya dari ekstraksi ini adalah memperoleh ekstrak yang lebih spesifik sifat kepolarannya. Prinsip ekstraksi cair-cair adalah adanya distribusi komponen target pada dua pelarut yang tidak saling larut. Sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua (Khopkar, 2008).



Gambar 2.3 Fraksinasi cair-cair (Khopkar, 2008).

2.7 Kanker

Kanker merupakan penyakit sel yang ditandai hilangnya fungsi kontrol sel terhadap regulasi daur sel maupun fungsi homeostatis sel pada organisme multiseluler, dengan kegagalan tersebut, sel tidak dapat berpoliferasi secara normal. Akibatnya, sel akan berpoliferasi terus menerus sehingga menimbulkan pertumbuhan jaringan yang abnormal (CCRC, 2009).

Perubahan sel normal menjadi sel kanker melalui tiga tahapan yaitu inisiasi, promosi dan progresi. Tahapan inisiasi adalah sel normal terpapar oleh senyawa penyebab kanker (karsinogenik). Agen karsinogenik yaitu radiasi, bahan-bahan kimia dan virus (Cooper *et al.*, 2007). Mekanisme tahapan inisiasi adalah zat-zat karsinogenik dan zat inisiator diaktivasi oleh enzim tertentu sehingga menyebabkan mutasi pada gen, sehingga DNA salah menerjemahkan dan sel memperbanyak diri secara terus menerus hingga tidak terkontrol. Tahapan promosi adalah tahapan terjadinya kesalahan DNA saat pembelahan sel karena terpapar karsinogen. Mitogen adalah pemicu terjadinya tahap poliferasi sel dan ekspansi klonal pada fase promosi (Muti'ah, 2014). Sedangkan pada tahap progresi ditandai dengan adanya invasi sel ganas ke membran basalis atau kapsul, perubahan keganasan melibatkan beberapa gen yaitu onkogen, gen penekan tumor, gen yang berperan dalam perbaikan DNA (*DNA repair gen*) dan gen pengatur apoptosis (Tjarta, 2001).

2.8 Kanker Payudara

Kanker Payudara merupakan kanker yang menyerang jaringan epitel payudara, yaitu membran mukosa dan kelenjar (Globocan, 2012). Kelenjar payudara merupakan turunan dari sel epitel. Struktur anatomi payudara secara garis besar tersusun dari jaringan lemak, lobus dan lobulus (setiap kelenjar terdiri dari 15-25 lobus) yang memproduksi cairan susu, serta ductus lactiferous yang berhubungan dengan glandula lobus dan lobulus yang berfungsi mengalirkan cairan susu dan juga terdapat jaringan penghubung (konektif), pembuluh darah dan limphe node (Hondeemarck, 2003; Bergman *et al.*, 1996). Lobulus dan duktus mengekspresikan reseptor estrogen (ER) yang menstimulasi pertumbuhan diferensiasi, perkembangan kelenjar payudara, dan mammatogenesis (Van De Graaff dan Fox, 1995).

Fase awal wanita penderita kanker payudara, 90% bersifat asimtomatik atau tidak disadari dan tidak menimbulkan nyeri. Kanker payudara biasanya didiagnosa dengan adanya benjolan kecil berukuran kurang dari 2 cm, pada tumor ganas benjolan bersifat keras dan tidak beraturan sehingga terlihat abnormal, pada kasus yang lebih berat terlihat tanda-tanda seperti edema kulit, kemerahan dan rasa panas pada jaringan payudara (Dipiro *et al.*, 2005).

2.9 Patofisiologi

Kanker payudara pada umumnya berupa ductal breast cancer yang invasif dengan pertumbuhan tidak terlalu cepat (Tambunan, 2003). Kanker payudara sebagian besar (sekitar 70%) ditandai dengan adanya gumpalan yang biasanya

terasa sakit pada payudara, juga adanya tanda lain yang lebih jarang yang berupa sakit pada bagian payudara, erosi, retraksi, pembesaran dan rasa gatal pada bagian puting, juga secara keseluruhan timbul kemerahan, pembesaran dan kemungkinan penyusutan payudara. Sedangkan pada masa metastasis dapat timbul gejala nyeri tulang, penyakit kuning atau bahkan pengurangan berat badan (Bosman, 1999). Sel kanker payudara dapat tumbuh menjadi benjolan sebesar 1 -2 cm dalam waktu 8-12 tahun (Tambunan, 2003). Pada tumor yang ganas, benjolan ini bersifat solid, keras, tidak beraturan, dan nonmobile. Pada kasus yang lebih berat dapat terjadi edema kulit, kemerahan, dan rasa panas pada jaringan payudara (Lindley dan Michaud, 2005).

Tumor pada payudara bermula dari sel epitel, sehingga kebanyakan kanker payudara dikelompokkan sebagai karsinoma (keganasan tumor epitelial). Sedangkan sarkoma, yaitu keganasan yang berangkat dari jaringan penghubung jarang dijumpai pada payudara. Berdasarkan asal dan karakteristik histologinya kanker payudara dikelompokkan menjadi dua kelompok besar yaitu *in situ* karsinoma dan *invasive* karsinoma. Karsinoma *in situ* dikarakterisasi oleh lokalisasi sel tumor baik di duktus maupun di lobular, tanpa adanya invasi melalui membran basal menuju stroma di sekelilingnya. Sebaiknya pada *invasive* karsinoma, membran basal akan rusak sebagian atau secara keseluruhan dan sel kanker akan mampu menginvasi jaringan di sekitarnya menjadi sel metastatik (Hondermarck, 2003).

Onkogen telah diketahui mempengaruhi karsinogenesis kanker payudara, diantaranya Ras, c-myc, *epidermal growth factor receptor* (EGFR, erb-B1), dan

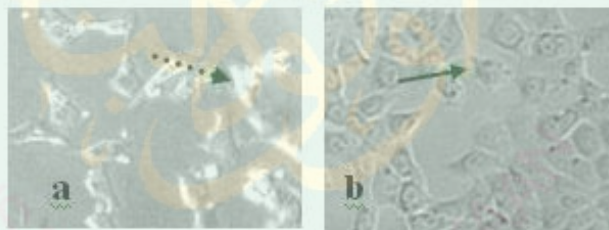
erb-B2 (HER-2/neu) (Greenwald, 2002). Perubahan ekspresi maupun fungsi dari gen supresor tumor seperti BRCA1, BRCA2 dan p53 tidak sepenuhnya bertanggung jawab dalam tingginya prevalensi kanker payudara spontan. Mutasi atau ketiadaan BRCA1 terdapat pada <10% kanker payudara, sementara itu mutasi p53 terjadi pada lebih dari 30% kanker payudara (Bouker *et al.*, 2005).

Penyebab kanker payudara multifaktor tetapi ada sejumlah faktor risiko yang dihubungkan dengan perkembangan penyakit ini yaitu asap rokok, konsumsi alkohol, umur pada saat menstruasi pertama, umur saat melahirkan pertama, lemak pada makanan, dan genetik atau keturunan (Oemiati *et al.*, 2011). Hormon juga berperan dalam terjadinya kanker payudara. Estradiol dan progesteron dalam menstruasi meningkatkan resiko kanker payudara. Hal ini terjadi pada kanker payudara yang memiliki reseptor estrogen, dimana 50% kasus kanker payudara merupakan kanker yang tergantung hormon estrogen (Gibbs, 2000).

Reseptor estrogen akan teraktivasi apabila berikatan dengan hormone estrogen. Reseptor estrogen yang teraktivasi akan menyebabkan terjadinya transkripsi pada gen yang berperan pada proliferasi sel. Sel yang terus mengalami proliferasi sel tanpa diimbangi dengan kematian sel (apoptosis) akan menimbulkan penumpukan massa sel yang awalnya disebut dengan tumor. Selain itu, konsentrasi estrogen yang tinggi dapat memicu aktivasi onkogen seperti Ras, Myc (pertumbuhan), dan CycD1 (*Cell Cycle Progression*). Karena teraktivasi beberapa jenis onkogen akan memacu teraktivasinya onkogen lain yang menyebabkan pertumbuhan sel semakin cepat dan tidak terkendali seperti : PI3K, Akt, Raf dan ERK (Foster, 2001 ; Hanahan dan Weinberg, 2000).

2.10 Sel Kanker Payudara T47D

Cell line adalah sel yang di subkultur dari *primary culture*, yaitu sel yang langsung berasal dari organ atau jaringan yang diperoleh melalui metode enzimatik maupun secara mekanik dari kultur dalam kondisi hormonal yang sesuai (Doyle and Griffiths, 2000). Sel T47D merupakan *continuous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. Continuous cell sering digunakan dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya. Memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan frozen stock jika terjadi kontaminasi (Burdall *et al.*, 2003). Sel T47D memiliki morfologi seperti sel epitel. Sel ini dikulturkan dalam media DMEM + 10% FBS + 2 Mm L-Glutamin, diinkubasi dalam CO₂ inkubasi 5% dan suhu 37°C (Abcam, 2007).



Gambar 2.4 Morfologi sel T47D akibat perlakuan EP 60 µg/ml (a) dibandingkan dengan sel tanpa perlakuan/kontrol sel (b) dilakukan dengan menginkubasi 3x10³ sel T47D dengan EP (30-210 µg/ml) selama 48 jam (CCRC, 2009)

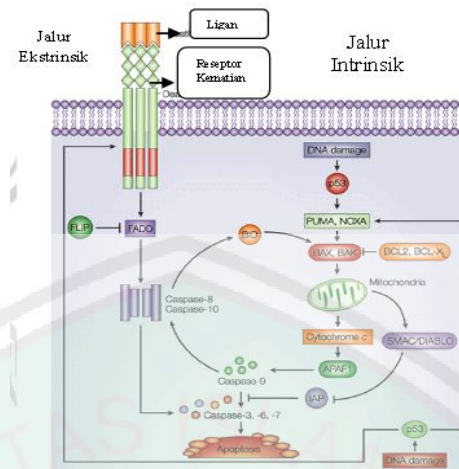
Sel kanker payudara T47D mengekspresikan protein p53 yang termutasi. Missence mutation terjadi pada residu 194 (dalam *zinc-binding domain*, L₂), sehingga p53 tidak dapat berikatan dengan response elemen pada DNA, dan mengakibatkan berkurang bahkan hilangnya kemampuan p53 untuk regulasi cell cycle. Sel T47D merupakan sel kanker payudara ER/PR-positif (Schafer *et al.*,

2007). Induksi estrogen eksogen mengakibatkan peningkatan poliferasinya (Verma *et al.*, 1998). Sel T47D merupakan sel yang sensitif terhadap doksorubisin (Zampieri *et al.*, 2002).

2.11 Apoptosis

Proses kematian sel yang terjadi melalui dua jalur, yaitu kematian sel yang tidak terprogram (nekrosis) dan kematian sel yang terprogram (apoptosis). Apoptosis merupakan mekanisme fisiologi pengurangan sel yang bertujuan untuk perbaikan jaringan dan pelepasan sel yang rusak, yang dapat berbahaya bagi tubuh (King, 2000). Proses apoptosis ditandai dengan pepadatan dan pemisahan kromatin inti, pengkerutan sel, *membran blebbing*, dan fragmentasi sel untuk menghasilkan badan apoptosis yang selanjutnya difagositosis sel untuk menghasilkan badan apoptosis yang kemudian difagositosis oleh makrofrag dan didegradasi dalam lisosom (Simstein *et al.*, 2003).

Jalur apoptosis dapat terjadi melalui dua jalur utama yaitu jalur intrinsik dan ekstrinsik. Jalur ekstrinsik melibatkan aktivasi reseptor kematian, Fas dan reseptor TNF, sedangkan jalur intrinsik melalui aktivasi beberapa procaspase dan pelepasan faktor apoptogenik dari mitokondria ke dalam sitoplasma (CCRC. 2009)



Gambar 2.5 Jalur Apoptosis (Ashkenazi, 2002)

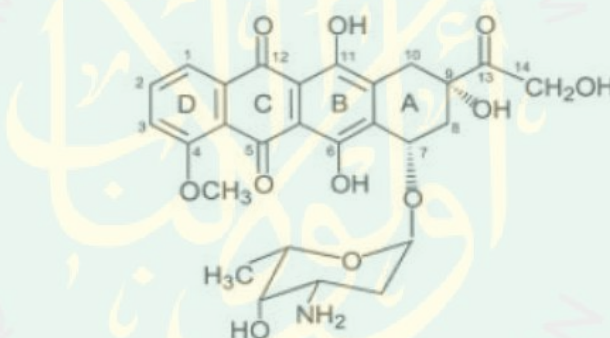
Jalur ekstrinsik melibatkan penempatan suatu ligan (TNF, FasL) pada reseptor kematian (*death receptor*) transmembran yaitu Fas dan *tumor necrosis factor receptor* (TNFR-1) akan menginduksi terjadinya apoptosis melalui jalur ekstrinsik. Pengikatan ligan oleh reseptornya misal FasL oleh Fas akan menyebabkan trimerisasi dari reseptor Fas. Fas akan mengikat protein adaptor yaitu FADD (*Fas Associating protein with death domain*) pada *death domain* yang terletak pada sisi sitoplasmik dari reseptor. Kompleks ini disebut sebagai *Death Inducing Signaling Complex* (DISC) yang akan menyebabkan aktivasi caspase-8. Caspase 8 akan mengaktifkan caspase 3, 6 dan 7 yang merupakan caspase efektor atau eksekutor apoptosis. Caspase efektor ini secara langsung mengdegradasi berbagai substrat dalam sel termasuk substrat struktural, protein regulator dalam inti sel, sitoplasma dan sitoskeleton (Singh, 2007).

Jalur intrinsik dipacu oleh adanya stres seluler yang biasanya disebabkan oleh kerusakan DNA, radiasi UV, hipoksia, *heat shock* atau aplikasi obat sitotoksik. Ketika terjadi stres seluler, level p53 akan meningkat secara signifikan. Protein p53

merupakan faktor transkripsi yang mampu memacu ekspresi protein pro apoptosis seperti Bax, IGF-BP3, DR5/KILLER, Fas/Apo-1, PIGs, PAG608, PERP, Noxa, PIDD, DRAL, Apafl, Scotin dan p53 AIPI (Slee *et al.*, 2004).

2.12 Doksorubisin

Doksorubisin merupakan antibiotik golongan antrasiklin yang banyak digunakan untuk terapi berbagai macam jenis kanker seperti leukimia akut, kanker payudara, kanker tulang dan ovarium (Childs *et al.*, 2002). Senyawa ini diisolasi dari *Streptomyces peucetius* var *caesius* pada tahun 1960-an dan digunakan secara luas (Minotti *et al.*, 2004).



Gambar 2.6 Struktur Kimia Doksorubisin (Minotti *et al.*, 2004)

Doksorubisin dapat menyebabkan kardiotoxikitas pada penggunaan jangka panjang sehingga penggunaannya secara klinis menjadi terbatas. Efek samping pada pemakaian kronisnya bersifat ireversibel, termasuk terbentuknya *cardiomyopathy* dan *congestive heart failure* (Han *et al.*, 2008). Umumnya doksorubisin digunakan dalam bentuk kombinasi dengan agen antikanker lainnya seperti siklofosamid, cisplatin dan 5-FU. Peningkatan respon klinis dan pengurangan efek samping cenderung lebih baik pada penggunaan kombinasi

dengan agen lain dibandingkan penggunaan doksorubisin tunggal (Bruton *et al.*, 2005).

2.13 Sitotoksik

Uji sitotoksik adalah uji *in vitro* dengan menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa. Sistem ini merupakan uji kualitatif dengan cara menetapkan kematian sel (Doyle dan Griffiths, 2000). Senyawa sitotoksik adalah senyawa yang bersifat toksik pada sel tumor secara *in vitro* dan jika toksisitas ditransfer menembus sel tumor *in vivo* senyawa tersebut mempunyai aktivitas antitumor (Evans, 2002).

Metode *in vitro* memberikan keuntungan seperti : dapat digunakan pada langkah awal pengembangan obat hanya membutuhkan sejumlah kecil bahan yang digunakan untuk kultur sel primer manusia dari berbagai organ target seperti ginjal, liver, kulit serta dapat memberikan informasi secara langsung efek potensial pada sel target manusia (Doyle and Griffiths, 2000).

Akhir dari uji sitotoksik dapat memberikan informasi konsentrasi obat maksimal yang masih dimungkinkan sel mampu bertahan hidup, akhir dari uji sitotoksitas pada organ target memberikan informasi tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Doyle and Griffiths, 2000). Penetapan jumlah sel yang bertahan hidup pada uji sitotoksitas dapat dilakukan dengan beberapa cara yang seringkali didasarkan pada parameter kerusakan sel membran, gangguan sintesis dan degradasi makromolekul, modifikasi, kapasitas metabolisme serta perubahan morfologi sel. Metode lain yang dapat digunakan adalah metode

kolorimetrik menggunakan suatu substrat yang akan dimetabolisme oleh sel menjadi produk berwarna misal MTT (3-(4,5-dimetil tiazol -2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromide) (Sadowsky ,1992 : Rokhman, 2007).

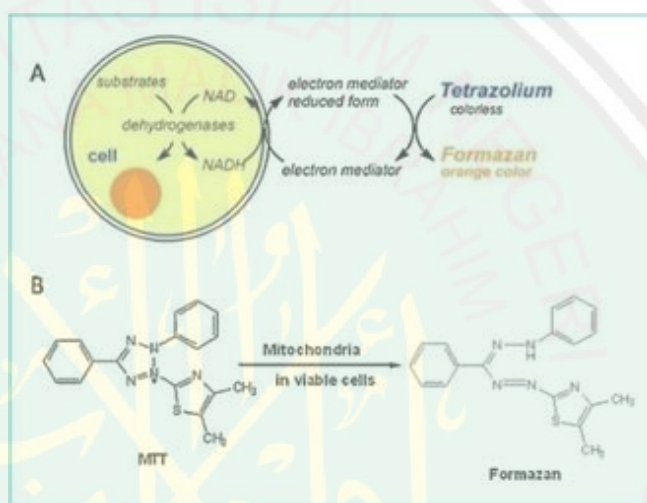
Uji sitotoksik dapat menggunakan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan pertumbuhan sel kanker sebesar 50% dari populasi dan menunjukkan potensi toksik suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel. Nilai IC_{50} dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Melannisa, 2004).

2.14 MTT assay

Metode yang umumnya digunakan untuk sitotoksitas adalah metode MTT assay. Dalam penelitian ini digunakan uji MTT assay yang memiliki kelebihan relatif cepat, sensitif dan akurat digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya dapat memprediksikan sifat sitotoksik suatu bahan (Doyle and Griffihs, 2000).

Metode ini berdasarkan pada perubahan garam tetrazolium 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide) (MTT) menjadi formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup. MTT diabsorpsi ke dalam sel hidup dan dipecah melalui reaksi reduksi enzim reduktase dalam rantai respirasi mitokondria menjadi formazan yang terlarut dalam PBS (*Phosphate Buffer Saline*) berwarna biru dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan berbanding

lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif (Mosman, 1983). Absorpsi larutan berwarna ini kemudian dapat diukur menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang antara 500-600 nm, yang mana semakin besar absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel hidup. Reaksi reduksi MTT dapat dilihat pada gambar berikut (Meiyanto, 1999):

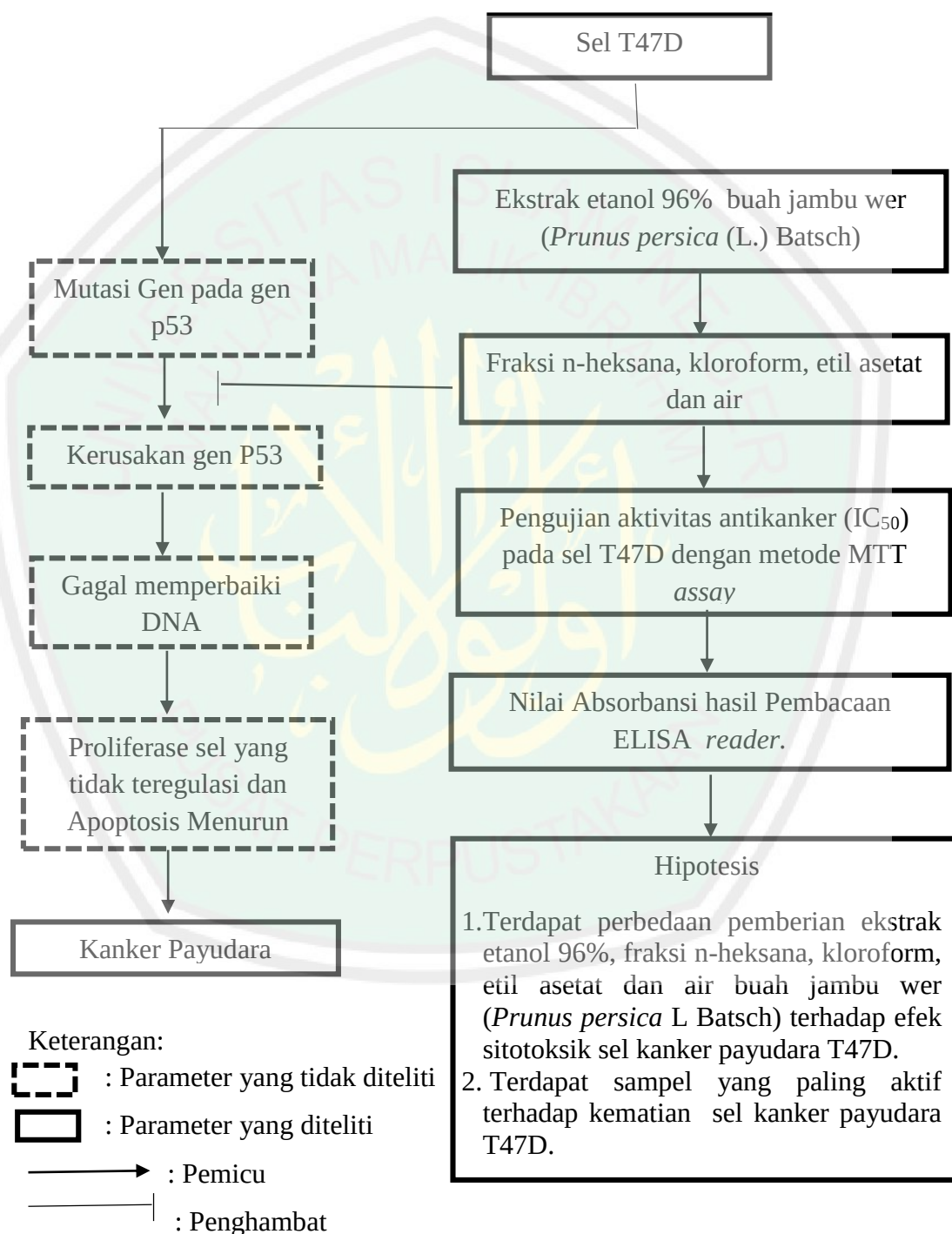


Gambar 2.7 Reaksi reduksi MTT menjadi Formazan (Duval *et al.*, 2012)

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konseptual



3.1 Uraian Kerangka Konsep

Sel T47D merupakan salah satu sel kanker payudara tipe ephitelial dan didapatkan dari *continuous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor ductal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. Proliferasi sel T47D dipengaruhi oleh adanya p53. Sel T47D mengalami mutasi pada gen p53 yang disebabkan oleh hilangnya kendali pengaturan kerja protein p53, berakibat terjadinya kerusakan pada gen p53 yang akhirnya gagal untuk memperbaiki DNA kemudian terjadi proliferasi sel yang tidak terkendali dan penurunan apoptosis sel dimana Proliferasi sel merupakan fungsi dari daur ulang sel atau pergantian sel dan apoptosis sel yang merupakan kematian sel secara terprogram bertujuan untuk memperbaiki jaringan atau pelepasan sel yang rusak.

Biakan sel kanker payudara T47D dikulturkan pada media RPMI 1640 yang merupakan media untuk menumbuhkan sel kanker T47D. Selanjutnya dilakukan perhitungan sel menggunakan hemositometer pada mikroskop *inverted*, diinkubasi sel selama 4 jam kemudian dilakukan uji kematian sel pada 96 well plate yang masing-masing perlakuan menggunakan ekstrak etanol 96% buah jambu wer dan fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat dan air buah jambu wer dibuat 8 serial konsentrasi dengan 3x replikasi, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya media sel dibuang dicuci menggunakan PBS dan ditambahkan reagen MTT (*Microculture Tetrazolium Salt*) pada well plate setelah itu diinkubasi selama 4 jam. Kemudian ditambahkan SDS *stopper* untuk menghentikan reaksi MTT. Selanjutnya 96 well plate dibungkus menggunakan kertas atau aluminium foil pada suhu kamar selama 24 jam. Pembacaan absorpsi menggunakan ELISA *reader*

$\lambda=550-595$ nm dihitung intensitas perubahan warna kuning menjadi ungu , semakin ungu semakin banyak sel hidup.

Ekstraksi buah Jambu Wer dengan pelarut etanol 96% penggunaan pelarut etanol dikarenakan etanol merupakan pelarut universal dapat melarutkan senyawa polar dan non polar (Aziz *et al.*, 2014). Kemudian di Fraksinasi menggunakan pelarut n-heksana, kloroform, etil asetat dan air. Fraksinasi bertingkat menggunakan perbedaan pelarut non polar ke polar bertujuan memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya dari non polar, semi polar dan polar (Harborne, 1987).

Kandungan yang terdapat dalam ekstrak etanol tanaman *P. persica* (L.) Batsch adalah alkaloid dan flavonoid, hal ini dibuktikan dengan tampaknya noda berwarna jingga pada uji alkaloid dan berwarna kuning pada uji flavonoid *P. persica* (L.) Batsch (Bhagawan, 2017). Flavonoid adalah senyawa yang terdapat pada tumbuhan yang mempunyai struktur kimia C6-C3-C6 yang tiap bagian C6 merupakan rantai alifatik dan dalam tanaman (Heinrich, 2010). Flavonoid dapat digunakan untuk antiinflamasi, antioksidan, antikanker, antifertilitas, antidiabetes, antidiuretic (Baratawidjaja, 2002). Senyawa Flavonoid diketahui mampu menginduksi terjadinya apoptosis. Apoptosis adalah kematian sel terprogram dan berperan penting dalam proses perkembangan kanker. Mekanisme flavonoid dalam menginduksi apoptosis adalah melalui ekspresi protein p53 secara in vitro pada sel kanker payudara T47D (Rollando dan Rokiy, 2017). Apoptosis terjadi pada fase G2/M pada siklus sel (Tussanti, 2014). Perbedaan pelarut pada ekstrak dan fraksi dapat memberikan perbedaan aktivitas antikanker (Rollando dan Rokiy, 2017).

Penelitian tentang uji aktivitas antikanker pada ekstrak dan fraksi buah jambu wer (*P. persica* (L.) Batsch) terhadap sel kanker payudara T47D belum pernah dilakukan sebelumnya. Dalam rangka pemenuhan kriteria kualitas calon produk fitofarmaka yang dilihat dari kekuatan potensi aktivitas antikanker dan jaminan *safety*, maka dirasa penting untuk mengetahui profil aktivitas antikanker secara in vitro terhadap sel T47D pada ekstrak dan fraksi dari buah jambu wer (*P.persica* (L.) Batsch).

3.2 Hipotesis Penelitian

1. Terdapat perbedaan pemberian ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat dan air buah jambu wer (*Prunus persica* (L.) Batsch) terhadap efek sitotoksik sel kanker payudara T47D .
2. Terdapat sampel yang paling aktif terhadap kematian sel kanker payudara T47D.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan *true-experimental design*. Desain penelitian ini menggunakan *post test only control group design* dengan bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan beberapa perlakuan dan efek yang ditimbulkan. Kelompok perlakuan yang terdiri dari ekstrak etanol 96% pada buah jambu wer, fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat dan air. Kontrol positif dan kontrol negatif dilakukan secara bersamaan dan waktu yang bersamaan. Kontrol positif menggunakan doksorubisin. Uji aktivitas antikanker pada penelitian ini menggunakan biakan sel kanker payudara T47D.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Parasitologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta pada bulan Juli sampai Agustus 2018.

4.3 Populasi dan Sampel

4.3.1 Populasi

Semua Buah jambu wer (*Prunus persica* (L.) Batsch) yang ada di desa Ngadas Kecamatan Poncokusumo Kabupaten Malang.

4.3.2 Sampel

Buah jambu wer (*Prunus persica* (L.) Batsch) muda usia ± 2 minggu yang di ambil untuk di ekstraksi.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Ekstrak etanol 96% dan Fraksi (n-heksana, kloroform, etil asetat dan air) terhadap buah jambu wer muda usia ± 2 minggu.

4.4.2 Variabel Tergantung

Perubahan intensitas warna dari garam tetrazolium berwarna kuning menjadi serabut formazan mitokondria berwarna ungu yang akan di baca pada ELISA reader yang akan di ubah menjadi angka-angka pada pembacaan IC₅₀.

4.4.3 Variabel Kontrol

Waktu ultrasonikasi, suhu, tekanan rotary evaporator, suhu inkubasi, lingkungan aseptik pada saat kultur sel, media kultur dan pewarnaan MTT assay.

4.4.4 Definisi Operasional

- Buah jambu wer muda usia ± 2 minggu yang didapatkan dari suku Tengger Kecamatan Senduro Kabupaten Lumajang. Buah merupakan organ pada tumbuhan yang berbunga yang merupakan perkembangan lanjutan dari bakal buah (*ovarium*).
- Ekstrak etanol 96% merupakan hasil dari ekstraksi buah jambu wer muda usia ± 2 minggu menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi

- Fraksi n-heksana merupakan hasil dari fraksinasi ekstrak etanol 96% buah jambu wer muda usia ± 2 minggu menggunakan pelarut n-heksana metode fraksinasi cair-cair.
- Fraksi kloroform merupakan hasil dari fraksinasi n-heksana buah jambu wer muda usia ± 2 minggu menggunakan pelarut kloroform metode fraksinasi cair-cair.
- Fraksi etil asetat merupakan hasil dari fraksinasi kloroform buah jambu wer muda usia ± 2 minggu menggunakan pelarut etil asetat metode fraksinasi cair-cair.
- Fraksi air merupakan hasil dari fraksinasi etil asetat menggunakan buah jambu wer muda usia ± 2 minggu menggunakan pelarut air metode fraksinasi cair-cair.
- Sel T47D adalah continous cell line yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun (CCRC, 2009)
- Nilai IC_{50} adalah konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan sejumlah 50% dari populasi sel (Jonathan, 2010)
- Inkubasi merupakan proses memelihara kultur sel dalam suhu tertentu selama jangka waktu tertentu (Jonathan, 2009)
- Media kultur sel adalah bahan yang digunakan untuk tempat berkembangbiaknya sel yang terdiri dari campuran nutrisi. (Evans et al., 2003)
- Intensitas warna merupakan perubahan dari metode MTT assay dari garam tetrazolium berwarna kuning menjadi serabut formazan mitokondria warna ungu (CCRC, 2009).

- Sampel adalah bagian dari populasi yang ingin diteliti (Ari, 2002)
- Dosis adalah kadar dari sesuatu (kimia, fisik, biologis) yang dapat mempengaruhi suatu organisme secara biologis; makin besar kadarnya, makin besar pula dosisnya (Jonathan, 2009).

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam Fraksinasi

Corong pisah, gelas ukur, *beaker glass*, erlenmeyer, klem, statif, *rotary evaporator*, timbangan analitik, pipet volume, pipet tetes, *petry disk*, corong *buchner*, inkubator, bunsen, jarum ose, spatula, mikropipet, *chamber*, penggaris, oven, aluminium foil,

Alat-alat Uji Sitotoksik

Sarung tangan karet, botol semprot, labu erlenmeyer, gelas piala, botol duran, pipet mikro, hemasitometer, timbangan analitik, autoklaf, lemari es, inkubator, microbiological safety cabinet air flow kelas II, penangan air sentrifus, tabung sentrifugal, mikroskop inverted, plat 96 sumuran, spektrofotometer microplate, ELISA reader.

4.5.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

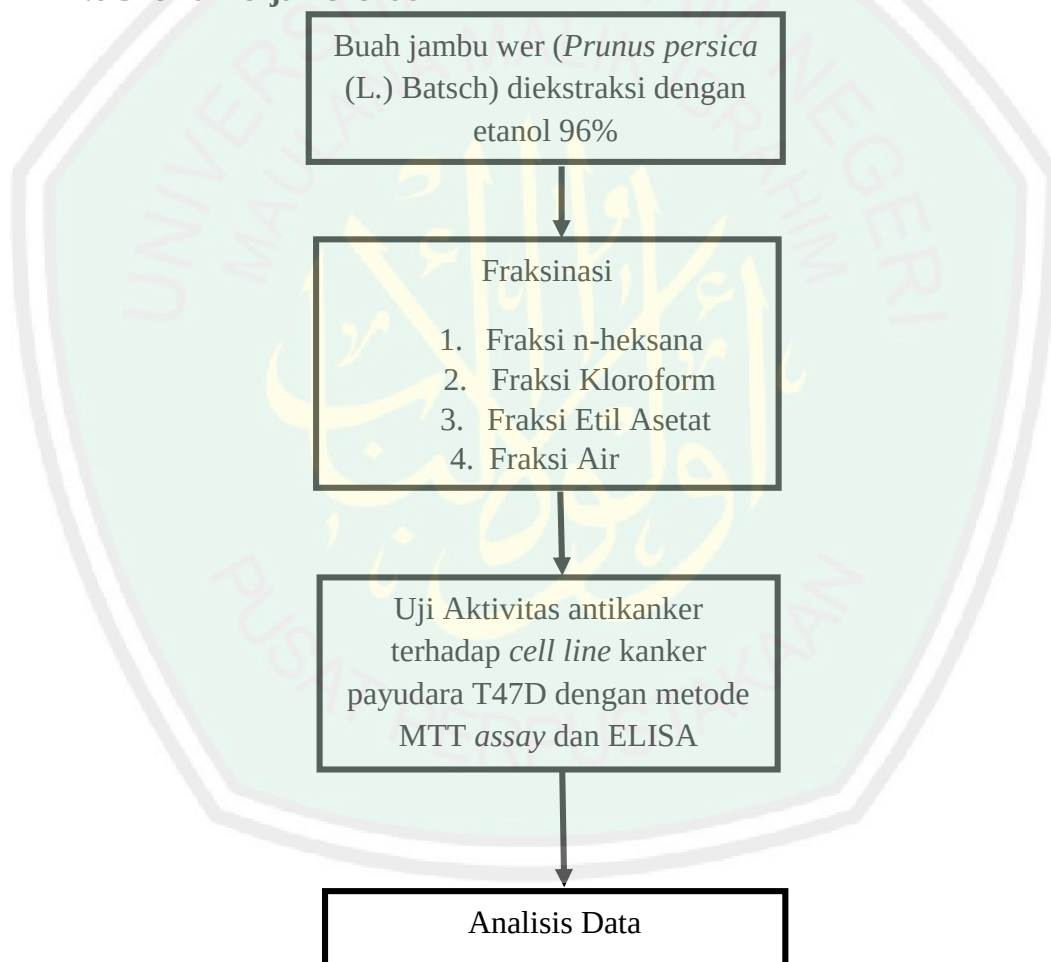
a. Bahan pembuatan fraksi

Ekstrak buah jambu wer, Etanol 96%, Etil asetat, Kloroform, N-heksan

b. Bahan uji Sitotoksik sel T47D

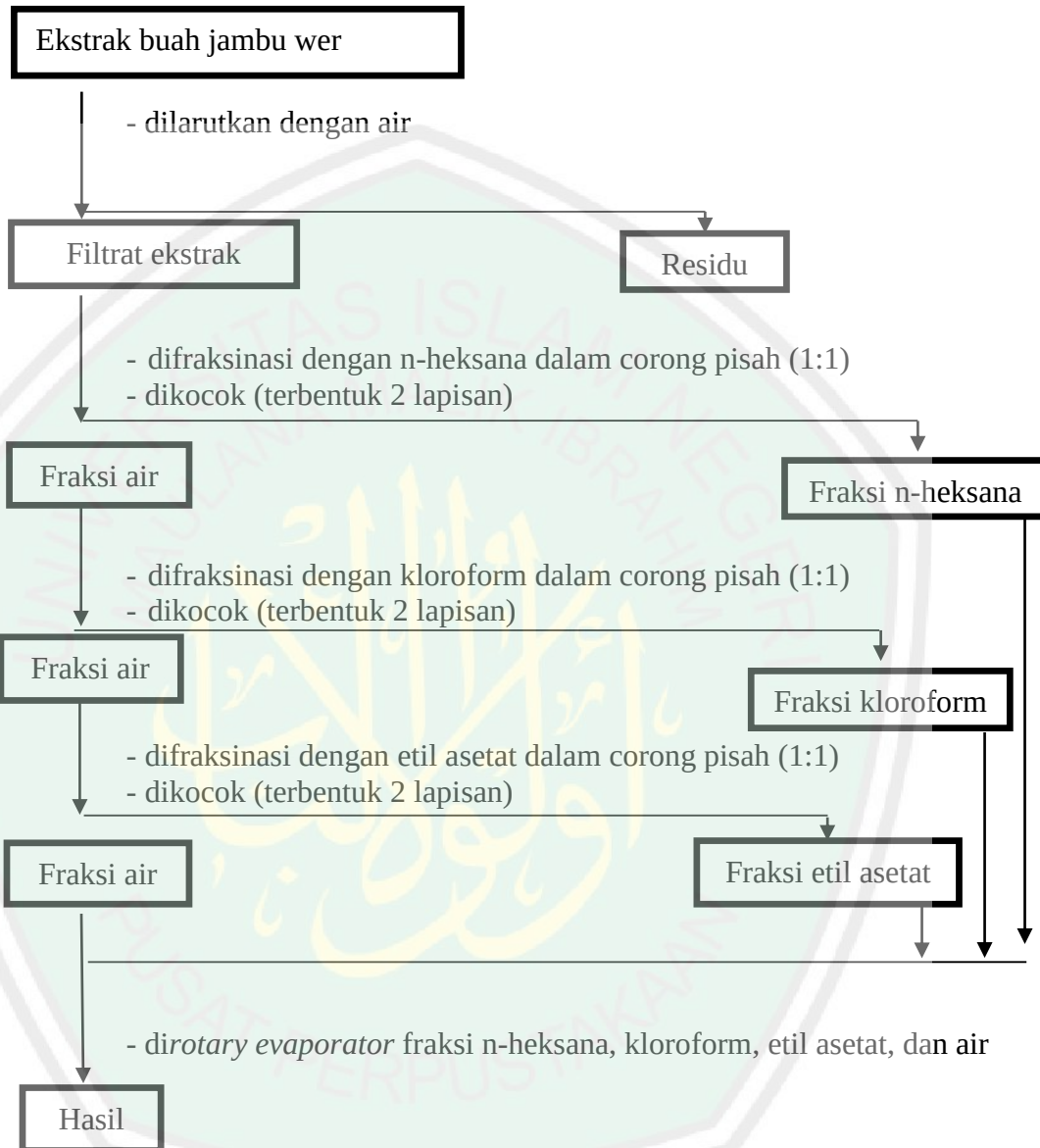
Sel kanker payudara T47D, Dimetil sulfoksida (DMSO), Etanol 70%, Medium roswell park memorial institute (RPMI), Fetal Bovine Serum (FBS), Trypsin EDT, Phosphate buffer Saline (PBS), Reagen 3-(4,5-dimetilthiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida reagen MTT.

4.6 Skema Kerja Penelitian



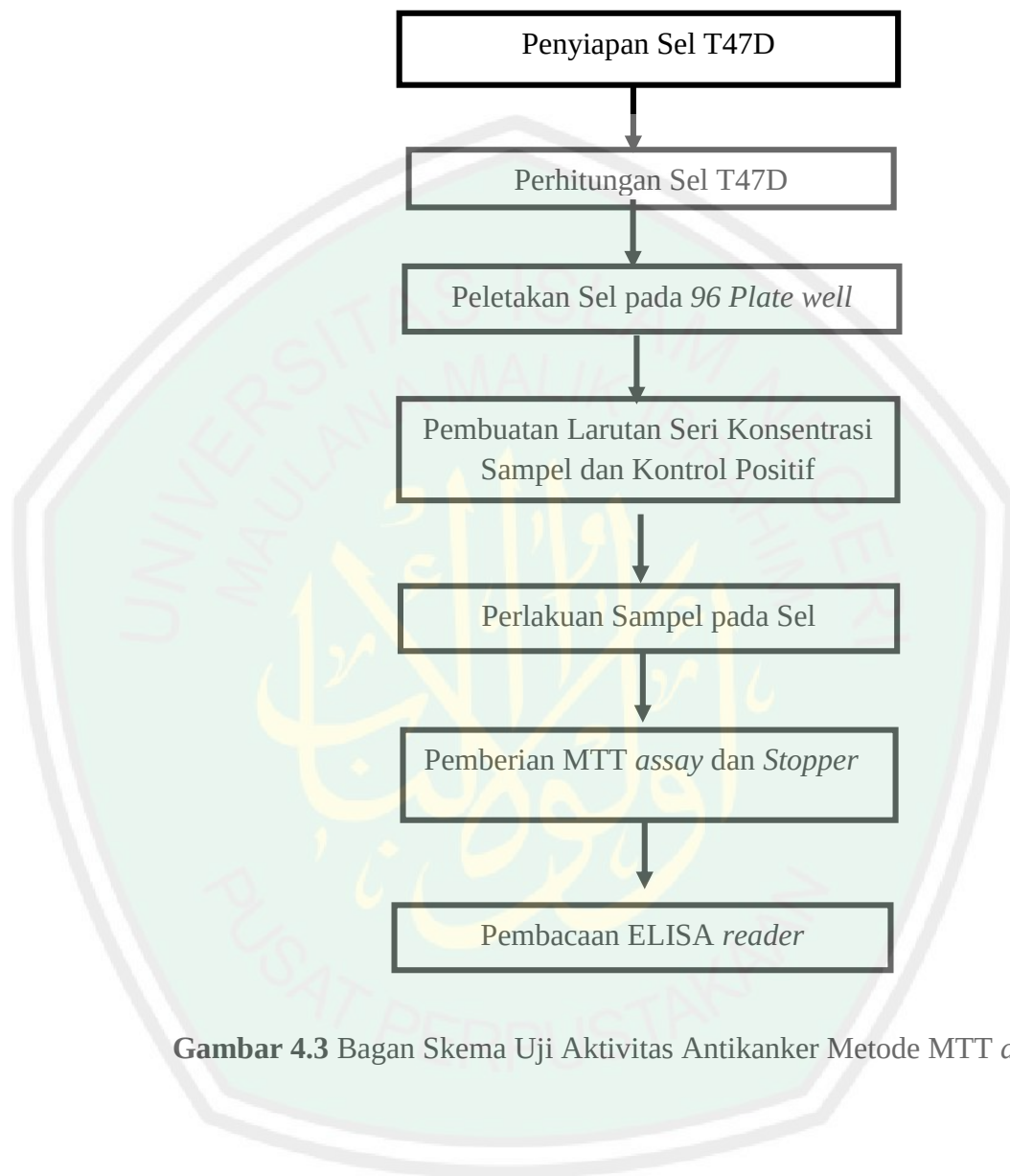
Gambar 4.1 Bagan Skema Kerja Penelitian

4.6.1 Fraksinasi Jambu wer



Gambar 4.2 Bagan Skema Fraksinasi Buah Jambu wer

4.6.2 Uji Aktivitas Antikanker Metode MTT *assay*



Gambar 4.3 Bagan Skema Uji Aktivitas Antikanker Metode MTT *assay*

4.7 Fraksinasi Buah Jambu Wer (*Prunus persica* (L.) Batsch)

Teknik yang digunakan dalam pembuatan fraksi adalah fraksinasi partisi cair-cair. Tujuannya adalah memisahkan komponen-komponen senyawa aktif dari ekstrak yang dihasilkan. Fraksinasi ini dilakukan dengan berbagai tingkat kepolaran pelarut, dimulai dari non-polar hingga polar yaitu *n*-heksana, kloroform, etil asetat, dan air. Metode fraksinasi partisi cair-cair dipilih dikarenakan alat yang digunakan sederhana dan membutuhkan waktu yang tidak terlalu lama.

Fraksinasi ekstrak etanol 96% buah jambu wer dilakukan secara partisi dengan menggunakan corong pisah. Ekstrak sebanyak 1 gram dilarutkan dalam air sebanyak 100 ml sedikit demi sedikit dalam mortar. Kemudian ekstrak yang telah terpartisi dalam air ditambahkan 100 mL pelarut *n*-heksan dalam corong pisah dan dikocok. Proses fraksinasi direplikasi sebanyak tiga kali hingga pelarut jernih.

Setelah fraksinasi dengan *n*-heksan selesai dilanjutkan fraksinasi menggunakan pelarut kloroform, dan etil asetat secara berurutan dengan cara yang sama dengan sebelumnya. Kriteria kepolaran suatu pelarut dapat ditinjau dari konstanta dielektrik dan momen dipol. Pelarut non polar memiliki konstanta dielektrik yang kecil begitupun sebaliknya pelarut polar memiliki konstanta dielektrik yang besar. Semakin besar nilai konstanta dielektrik maka semakin polar senyawa tersebut (Adnan, 1997). Pelarut yang digunakan pada fraksinasi ini ada 4 pelarut yaitu, *n*-heksan, kloroform, etil asetat dan air.

Nilai konstanta dielektrik pelarut dapat dilihat pada tabel berikut :

Pelarut	Konstanta dielektrik	Tingkat Kelarutan dalam Air	Titik didih (°C)
n-heksan	1,9	Tidak Larut	68,7
Kloroform	4,81	Sedikit Larut	61,3
Etil Asetat	6,02	Sedikit Larut	77,1
Air	78,4	Larut	100

Tabel 4.1 Perbedaan konstanta dielektrik (Fessenden, 1997)

Dimulai dari pelarut yang paling non polar yaitu, n-heksana. Setelah itu dilanjutkan dengan kloroform, etil asetat, dan air. Masing-masing fraksi yang telah terpisah diuapkan menggunakan alat *Rotary evaporator* untuk menghilangkan pelarut yang tersisa dan didapatkan fraksi kental. Selanjutnya masing-masing fraksi pekat ditimbang sampai diperoleh berat konstan untuk meyakinkan bahwa pelarut telah menguap dan didiamkan selama ± 2 hari dengan ditutup dengan *aluminium foil* yang dilubangi.

Masing-masing ekstrak pekat dan fraksi pekat yang diperoleh yaitu ekstrak pekat etanol, fraksi n-heksan, kloroform, etil asetat, dan air ditimbang dan dihitung rendemennya :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

Selanjutnya ekstrak etanol 96% dan fraksinasi buah jambu wer (*prunus persica* (L.) Batsch) diuji aktivitas antikanker terhadap *cell line* kanker payudara T47D secara in-vitro.

4.8 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromide) (CCRC, 2009)

Metode ini didasarkan pada reaksi reduksi reagen MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromide) yang dikatalis oleh enzim suksinat dehidrogenase yang dikandung oleh sel hidup. Prinsip dari metode MTT adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan reagen *stopper* (bersifat detergenik) akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan *ELISA reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka jumlah sel hidup semakin banyak (CCRC, 2009).

4.8.1 Penumbuhan Sel

Sel kanker payudara yang digunakan yaitu sel T47D. sel kanker dikeluarkan dari freezer (-80°C) dihangatkan dalam penangas air pada suhu 37°C selama 2-3 menit. Setelah mencair, sel dipindahkan ke dalam flask yang telah berisi 10 ml media diinkubasi selama 3-4 jam pada suhu 37°C /5% CO₂, Kemudian diamati dibawah mikroskop untuk melihat apakah sel melekat di dasar *flask*. Medium pertumbuhan diganti sekali dalam dua hari dan bila jumlah sel di dalam *flask* mencapai 70-80% dilakukan sub kultur sel.

4.8.2 Pemanenan Sel

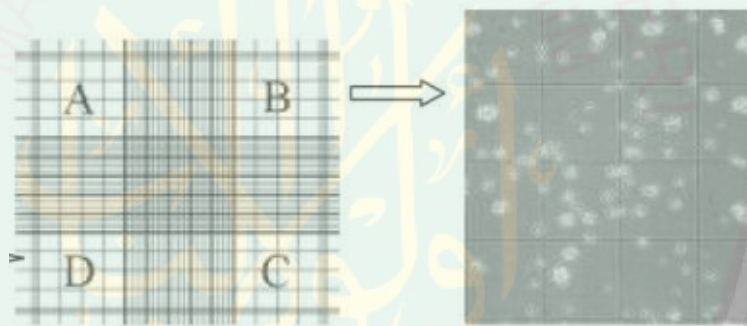
Medium dibuang kemudian ditambahkan 2 ml trypsin-EDTA ke dalam flask yang berisi kultur sel, kemudian inkubasi 10 menit. Setelah sel memisah

ditambahkan 3 ml medium RPMI. Ambil 10 ul suspensi sel, letakkan pada masing-masing kotak perhitungan sel hematositometer. Lakukan perhitungan di bawah mikroskop. Ditentukan rata-rata jumlah sel aktif yang ada untuk membuat suspensi 2000 sel dalam setiap sumur pada plat 96 sumuran.

4.8.3 Perhitungan Sel Kanker

Diambil 10 uL panen sel dan dipipetkan ke *haemocytometer*. Diamati dan dihitung di bawah mikroskop inverted dengan *counter*. Jumlah sel kanker dapat diketahui dengan perhitungan sebagai berikut

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



Gambar 4.4 Haemocytometer (Sumber CCRC, 2009)

4.8.4 Peletakan Sel pada Plate 96-well

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

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

Diletakkan sel dan ditambahkan media RPMI sesuai perhitungan kedalam plate 96-*well* dan diinkubasi kembali selama 24 jam dalam inkubator CO₂, akan tetapi 12 sumuran bagian bawah disisakan untuk kontrol sel dan kontrol media.

4.8.5 Pembuatan Larutan Sampel

Ditimbang sampel ekstrak 10 mg dilarutkan masing-masing ekstrak pekat dalam 100 μ L DMSO dan diaduk dengan vortex supaya lebih cepat dalam melarutkan sampel, kadar DMSO yang dipakai pada penelitian ini adalah 1% v/v. Konsentrasi DMSO tidak boleh melebihi 10% v/v karena dapat menyebabkan terjadinya sitotoksik pada sel (Machana *et al.*, 2011). Selanjutnya diambil sel dari inkubator, kemudian dibuang media sel dengan cara dibalikkan plate 96-*well* 180° diatas empat buangan dan ditekan secara perlahan diatas tissue untuk meniriskan sisa cairan, dimasukkan 100 μ L PBS kedalam semua sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali, lalu dimasukkan larutan sampel sebanyak 100 μ L dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 ppm; 7,8125 ppm dan diulang sebanyak 3x (triplo) tujuannya untuk signifikansi peningkatan dosis, dan diinkubasi kembali 24 jam pada suhu 37°C dan CO₂ 5% setelah diinkubasi selama 24 jam sel diamati dibawah mikroskop inverted.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A 1000	D O K S O R U B I C I N			F R A K S I E T I L A S E T A T			F R A K S I A I R			KONTROL SEL		
B 500												
C 250										KONTROL MEDIA		
D 125												
E 62.5												
F 31.25												
G 15.625												
H 7.8125												

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A 1000	E K S T R A K J A M B U W E R			F R A K S I N - H E K S A N			F R A K S I K L O R O F O R M			KONTROL SEL		
B 500												
C 250										KONTROL MEDIA		
D 125												
E 62.5												
F 31.25												
G 15.625												
H 7.8125												

4.8.6 Pemberian Larutan MTT dan ELISA Reader

Dibuang media sel yang telah dipakai dan di cuci dengan PBS, ditambahkan larutan MTT 100 μ L ke setiap sumuran kecuali kontrol sel. Diinkubasi kembali selama 3 – 4 jam didalam inkubator sampai terbentuk formazan. Apabila formazan sudah terbentuk diamati kondisi sel menggunakan mikroskop *inverted*. Lalu ditambahkan *stopper* SDS 10% dalam 0,01 N HCl, dibungkus *plate* dengan aluminium foil dan diinkubasi kembali ditempat gelap pada suhu ruangan semalam.

Selanjutnya pembacaan nilai absorpsi dengan ELISA reader untuk mengetahui nilai IC_{50} setiap ekstrak. Tahapan awalnya ini dihidupkan ELISA reader dan ditunggu hingga *progressing* selesai, dibuka pembungkus *plate* kemudian dimasukkan ke ELISA reader, dibaca absorbansi masing-masing sumuran dengan panjang gelombang 550 – 595 nm, dimatikan kembali ELISA reader

4.9 Analisis Data

Hasil data yang diperoleh dari absorbansi dihitung dengan rumus presentasi sel hidup dengan rumus :

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

Dari hasil persentasi sel hidupp kemudian dimasukkan ke dalam aplikasi SPSS di analisis menggunakan *probit analysis* dicari nilai IC_{50} dari kontrol positif, ekstrak dan masing-masing fraksi.

Cara perhitungan IC_{50}

Pada percobaan diperoleh absorbansi 3 macam kontrol dan senyawa uji meliputi:

- a. Kontrol sel : berisi media kultur + sel
- b. Kontrol pelarut : berisi media kultur + sel + DMSO dengan konsentrasi terbesar dilihat dari konsentrasi DMSO dalam seri konsentrai sampel yang paling pekat.
- c. Kontrol media : berisi media kultur
- d. Senyawa uji berisi : media kultur + sel + senyawa ekstrak etanol 96% dan fraksi

Nilai IC_{50} dihitung melalui presentasi sel hidup yaitu konsentrasi yang dapat menyebabkan pertumbuhan sel kanker terhambat 50% dari populasi sel. Sehingga potensi sitotoksitasnya dapat diketahui potensinya. Pengujian pertama menggunakan uji normalitas. Uji normalitas menggunakan *Shapiro-wilk* bertujuan untuk mengetahui sebaran data sudah terdistribusi normal atau tidak.

Uji statistik memerlukan adanya asumsi kesamaan atau homogenitas dalam suatu varian. Uji homogenitas merupakan salah satu syarat untuk ke metode selanjutnya yaitu uji statistik parametrik. Apabila sampel lebih dari 3 maka dapat digunakan uji levene. Uji levene ini digunakan untuk menguji kesamaan varian dari beberapa sampel.

Setelah dilakukan uji homogenitas dilanjutkan dengan uji statistik parametrik. Uji statistik parametrik digunakan untuk mengetahui perbedaan perlakuan antara sample perlakuan digunakan uji statistik ANOVA *one way*. Apabila hasil tidak homogen maka dapat menggunakan uji statistik *kruskal-wallis*. Hasil pengujian yang diperoleh digunakan untuk menilai pengaruh pemberian

beberapa dosis ekstrak etanol 96% dan fraksinasi dari pelarut n-heksan, kloroform, etil asetat dan air pada buah jambu werr terhadap IC_{50} dan selektivitas index. Penelitian ini dikatakan bermakna jika $p \leq 0,05$. Kemudian dilakukan analisis *postHoc* dengan uji Tukey untuk mengetahui perbedaan secara signifikan dan selektivitas index pada beberapa fraksi buah jambu wer dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Sehingga untuk mengetahui kelompok mana saja yang menunjukkan perbedaan secara signifikan. Pengujian ini menggunakan *analisis probit* dengan program *Statistic Products and Service Solution (SPSS) 25.0 for windows 7*.



BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksan, kloroform, etil asetat dan air buah jambu wer (*Prunus persica* (L.) Batsch) terhadap kematian sel kanker payudara T47D. Mengetahui sampel yang paling aktif terhadap kematian sel kanker payudara T47D. Uji sitotoksik antikanker payudara terhadap sel T47D menggunakan metode MTT (3-(4,5- dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid).

5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman ini bertujuan agar tidak terjadi kesalahan dalam memilih tanaman yang digunakan sampel. Bagian tanaman yang digunakan untuk determinasi adalah buah dari jambu wer. Hasil determinasi dibuktikan dengan adanya surat keterangan yang dikeluarkan dari unit determinasi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Purwodadi dengan No. 1865/IPH.6/HM/XI/2016 yang menyatakan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan *Prunus persica* (L.) Batsch.

5.2 Pembuatan simplisia

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah jambu wer muda, usia ± 2 minggu berwarna hijau yang diambil dari Desa Ngadas Kecamatan Poncokusumo Kabupaten Malang. Pembuatan simplisia dilakukan dengan beberapa langkah, meliputi pencucian, pengeringan, dan penyerbukan.

Buah jambu wer sebanyak 4 kg dicuci menggunakan air dengan tujuan menghilangkan kotoran yang ada pada sampel. Selanjutnya buah jambu wer dipotong kecil dan di oven pada suhu 40°C selama 5 hari, hal ini bertujuan untuk pengeringan. Simplisia yang telah kering selanjutnya disortasi kembali untuk menghilangkan kotoran yang tertinggal, setelah itu dihaluskan menggunakan *blender*. Serbuk simplisia kering buah jambu wer yang didapat sebanyak 900 gram (Vadliyanto, 2017).

Setelah didapat simplisia buah jambu wer, selanjutnya dilakukan uji kadar air. Hal ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kadar air yang ada dalam simplisia. Pengujian kadar air dilakukan menggunakan alat *Moisture Analyzer* sebanyak 3 kali. Hasil rata-rata pengujian kadar air yang didapat dalam simplisia buah jambu wer terdapat persentase kadar air sebanyak 4,29% (Vadliyanto, 2017).

Berdasarkan ketetapan Menteri Kesehatan (1994) menyatakan bahwa batas maksimal kadar air yang ada pada simplisia adalah sebanyak 10% (BPOM, 2014). Hal ini menandakan bahwa persentase kadar air simplisia buah jambu telah memenuhi persyaratan.

5.3 Pembuatan Ekstrak

Proses ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan teknik maserasi yang dikombinasi dengan sonikasi. Kombinasi dari teknik ini bertujuan untuk pengoptimalan penyarian senyawa metabolit sekunder yang ada pada simplisia buah jambu wer dengan berbagai macam pelarut. Adapun pelarut yang digunakan adalah *n*-heksan, kloroform, etil asetat, dan etanol 96%.

Metode kombinasi maserasi dan sonikasi dipilih dikarenakan metode ini tergolong metode yang sederhana dan cepat, tetapi sudah dapat menyari zat aktif (Sa'adah dan Nurhasnawati, 2015). Keuntungan utama metode maserasi yaitu prosedur yang digunakan sederhana, metode ini tidak menggunakan pemanasan sehingga bahan alam menjadi tidak terurai (Istiqomah, 2013). Begitupula metode sonikasi juga memberikan hasil kandungan yang tinggi dan waktu yang relatif singkat (Rahmawati *et al.*, 2013)

Proses maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia jambu wer kedalam pelarut selama 24 jam. Setelah itu dilanjutkan proses sonikasi dengan merendam larutan Selama 20 menit dalam sonikator. Selanjutnya ekstrak disaring dan dipekatkan dengan *Rotary evaporator* (Vadliyanto, 2017).

Proses ekstraksi dilakukan selama 3 hari dan mendapatkan hasil yang berbeda-beda tiap pelarut. Adapun pelarut *n*-heksan (non polar) didapatkan hasil rendemen 2,2 %. Pelarut kloroform (semi polar) didapatkan hasil rendemen 5,8%, pelarut etil asetat (semi polar) didapatkan hasil rendemen 5,3% sedangkan pelarut etanol (polar) didapatkan hasil rendemen 16,6% (Vadliyanto, 2017).

5.4 Pembuatan Fraksi

Fraksinasi merupakan proses pemisahan antara zat cair dengan zat cair. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari non polar, semi polar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, yang semi polar akan larut dalam pelarut semi polar, dan bersifat polar akan larut ke dalam pelarut polar (Harborne, 1987). Prinsip metode ini didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut dalam fase kedua (Khopkar, 2008). Pemilihan metode fraksinasi cair-cair ini dikarenakan penggunaannya sederhana menggunakan corong pisah. Pada tahap ini dilakukan fraksinasi yang bertujuan untuk mendapatkan senyawa target. Proses fraksinasi ini dimulai dari pelarut non polar sampai polar, tujuan melarutkan sampel dari pelarut non polar untuk menarik senyawa pengotor dan senyawa yang bersifat asam. Pada fraksinasi ini pelarut yang memiliki massa jenis lebih tinggi akan berada di lapisan bawah, sedangkan pelarut yang memiliki massa jenis lebih kecil akan berada di lapisan atas. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak akan terpisah sesuai dengan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan.

Sebelum dilakukan proses partisi, ekstrak etanol 96% dipartisikan dengan air terlebih dahulu. Hal ini bertujuan agar membentuk 2 fase saat pemisahan proses partisi. Proses ini dilakukan dengan cara ekstrak etanol 96% buah jambu wer ditambahkan sedikit demi sedikit air sambil digerus dengan tujuan untuk mempercepat proses partisi. 1 gram ekstrak etanol 96% dipartisikan dengan 100 ml air. Setelah itu dilanjutkan proses partisi dengan berbagai tingkat kepolaran pelarut,

selanjutnya dilakukan fraksinasi menggunakan corong pisah. Fraksinasi pertama adalah antara filtrat air ekstrak etanol dengan pelarut n-heksan perbandingan 1:1 dilakukan fraksinasi selama 60 menit dan terbentuk dua lapisan yaitu lapisan atas fraksi n-heksana dan lapisan bawah fraksi air. Perbedaan massa jenis pelarut menyebabkan fraksi n-heksana berada di atas karena massa jenis n-heksana (0,655 g/ml) lebih kecil dari pada massa jenis air (1 g/ml) selanjutnya di pisahkan fase n-heksan didapatkan warna kuning keruh kemudian replikasi lagi sampai perubahan warna bening pada pelarut baru dilakukan fraksinasi pelarut selanjutnya. Fraksinasi kedua antara fraksi air dengan pelarut kloroform dengan perbandingan yang sama (1:1) dilakukan fraksinasi menggunakan corong pisah selama 60 menit dan terbentuk dua fase yaitu fase atas fraksi air dan fase bawah fraksi kloroform. Fraksi kloroform berada di bawah karena kloroform memiliki massa jenis (1,498 g/mL) lebih besar daripada massa jenis air selanjutnya dipisahkan dan fase kloroform selanjutnya disaring di pisahkan fase kloroform didapatkan warna kuning keruh kemudian replikasi lagi sampai perubahan warna bening pada pelarut baru dilakukan fraksinasi pelarut selanjutnya. Pada fraksinasi terakhir antara fraksi air dengan pelarut etil asetat perbandingan (1:1) dilakukan fraksinasi menggunakan corong pisah selama 60 menit dan terbentuk dua lapisan yaitu lapisan atas fraksi etil asetat dan lapisan bawah fraksi air. Fraksi etil asetat berada di atas karena etil asetat mempunyai massa jenis 0,894 g/mL lebih kecil daripada massa jenis air selanjutnya di pisahkan dan fase etil asetat didapatkan warna merah kecoklatan kemudian di replikasi lagi sampai perubahan warna bening pada pelarut etil asetat.

Selanjutnya dipekatkan menggunakan rotary evaporator tiap pelarut diatur tekanannya sesuai dengan titik didih tiap pelarut.

Selanjutnya di masukkan ke dalam oven sampai pelarut yang masih tersisa hilang kemudian di timbang lagi hasil dari oven menggunakan neraca analitik untuk mendapatkan hasil rendemen.

Tabel 5.1 Hasil fraksinasi dan rendemen masing-masing fraksi

Pelarut	Berat ekstrak awal	Berat Fraksi	Rendemen (%) (b/b)
n-heksana	30 gram	1,3 gram	4,3 %
Kloroform	30 gram	1,7 gram	5,7 %
Etil asetat	30 gram	2,6 gram	8,7 %
Air	30 gram	8 gram	26,7 %

Menurut Vadliyanto (2017) hasil ekstraksi buah jambu wer dengan pelarut etanol 96% menghasilkan rendemen sebesar 16,6%, Proses fraksinasi yang telah dilakukan dengan menimbang total ekstrak kental etanol 96% buah jambu wer sebanyak 30 gram dilarutkan aquades kemudian difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana dan didapat fraksi kental berwarna hijau pekat menghasilkan rendemen 4,3%. Proses fraksinasi menggunakan pelarut kloroform dan diperoleh fraksi kental kloroform berwarna coklat pekat menghasilkan rendemen 5,7%. Setelah itu dilanjutkan fraksinasi dengan pelarut etil asetat, hasil yang didapatkan fraksi etil asetat kental berwarna coklat pekat menghasilkan rendemen 8,7%. Proses fraksinasi yang terakhir adalah dengan pelarut aquades, hasil yang didapat berupa fraksi air berwarna coklat pekat menghasilkan rendemen 26,7%.

Rendemen merupakan parameter untuk mengetahui seberapa besar produk yang dihasilkan dari proses produksi, yang dilakukan dengan perbandingan antara

jumlah produk yang dihasilkan dengan jumlah bahan yang digunakan (Warsono dkk, 2013) . Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menunjukkan senyawa dalam ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Rendemen merujuk pada jumlah produk reaksi yang dihasilkan pada reaksi kimia (Vogel, 1996). Hasil rendemen terbesar adalah pada fraksi air yaitu 26,7%, selanjutnya etil asetat dengan rendemen 8,7%, kloroform dengan rendemen 5,7%, dan yang memiliki rendemen terkecil adalah fraksi *n*-heksan sebesar 4,3%. Rendemen terbanyak pada fraksi air, hal ini dimungkinkan komponen senyawa dari buah jambu wer paling banyak tertarik pada pelarut polar. Setelah itu ditimbang masing-masing sampel sebanyak 10 mg kemudian di masukkan ke conical tube yang kecil, dan di bungkus kertas perkamen.

5.5 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT assay

Uji Sitotoksitas ini menggunakan metode MTT assay. Tujuan dari uji sitotoksitas ini untuk mengetahui aktivitas suatu senyawa dengan melihat penurunan viabilitas sel. Metode MTT assay ini merupakan metode kolometrik yang didasarkan pada perubahan garam tetrazolium [3-(4,5- dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromid] (MTT) menjadi serabut formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup (Doyle and Griffith, 2000). Prinsip dari metode MTT assay adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Pemilihan metode MTT assay

dikarenakan tidak membutuhkan banyak sampel uji, relatif cepat, sensitif dan akurat dalam pembacaan sitotoksik sampel.

Uji yang dilakukan terhadap sel kanker payudara T47D. Kultur sel T47D cell line merupakan *continous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. *Continous cell* sering digunakan dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya. Sel ini Memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall *et al.*, 2003). Sel T47D merupakan sel kanker payudara yang belum resisten terhadap agen kemoterapi doksorubisin akan tetapi diketahui memiliki p53 yang telah termutasi (Junedi *et al.*, 2010). Kultur Sel adalah teknik yang biasa digunakan untuk mengembangkan sel di luar tubuh secara *in vitro*. Keuntungan penggunaan kultur sel adalah lingkungan tempat hidup sel dapat dikontrol dan diatur sehingga kondisi fisiologis dari kultur sel relatif konstan (Winarno, 2011).

Sel T47D ditumbuhkan pada media RPMI dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ pada suhu 37°C dengan aliran CO₂ dalam waktu 5 ml/menit (Nursid dkk., 2010). Media pertumbuhan yang digunakan untuk kultur sel T47D adalah RPMI dengan penambahan serum janin sapi (*fetal bovie serum*) (ATCC, 2015). Media ini mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh sel. Medium RPMI 1640 ini berguna untuk memberikan nutrisi yang dibutuhkan sel supaya sel dapat bertahan hidup dan memperbanyak diri (Sylvia dan Lorraine, 2015).

Medium RPMI ini juga disebut media lengkap karena pembuatan media kultur dilengkapi komposisi penisilin-streptomisin 2% berfungsi untuk mencegah

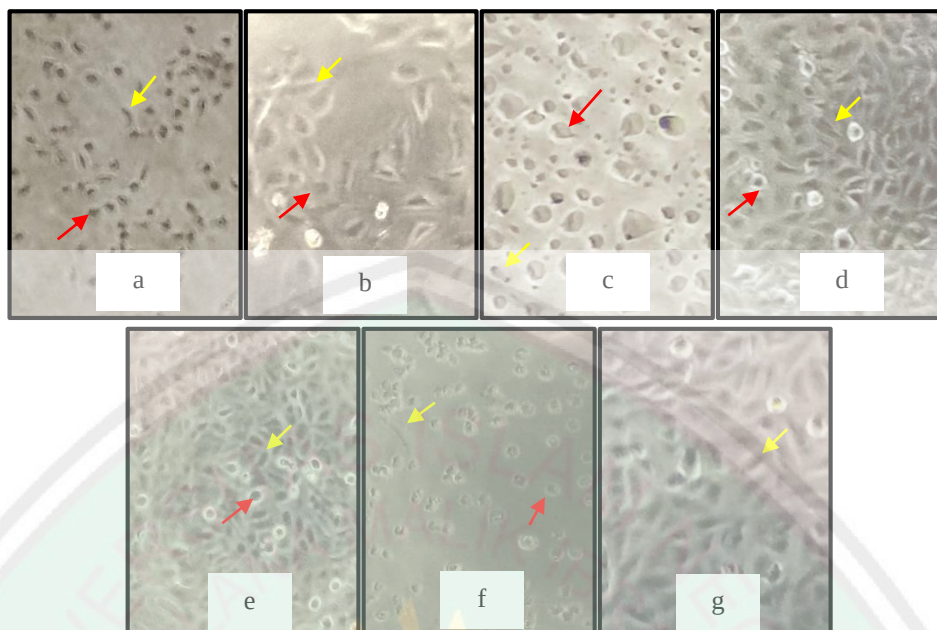
kontaminasi mikroorganisme apabila terjadi kontaminasi pada saat pengerjaan secara teknik sterilisasi. FBS (Fetal Bovine Serum) 10% berfungsi sebagai suplemen perangsang pertumbuhan sel, fungizone 0,5 % dan media RPMI add 100%. Media RPMI merupakan media yang baik untuk menumbuhkan sel kanker T47D dalam jangka pendek. Medium tersebut mengandung serum FBS 10% (Gusmita, 2010). FBS merupakan suplemen peningkat pertumbuhan yang efektif untuk sel kanker karena kompleksitas dan banyak faktor seperti pertumbuhan, perlindungan sel dan factor nutrisi yang dikandungnya. Medium RPMI juga mengandung streptomisin yang merupakan antibiotik yang tidak toksik, memiliki spectrum antimikroba luas dan ekonomis (Zarisman, 2006).

Sel diambil dari incubator CO₂ kondisi sel diamati dibawah mikroskop inverted. Panen sel dilakukan setelah 80% sel konfluen. Kemudian ditambah 500 µl Trypsin –EDTA ke dalam *flask* secara merata dan diinkubasi di dalam inkubator selama 3 menit. Proses penambahan tripsin-EDTA ini agar sel lepas dari *flask*. Setelah sel lepas, ditambahkan media ± 5 ml untuk menginaktifkan tripsin. Sel diresuspensi dengan mikropipet sampai sel terlepas satu-satu (tidak menggerombol). Keadaan sel diamati di bawah mikroskop *inverted*, kemudian diresuspensi kembali jika masih ada sel yang menggerombol. Sel yang telah lepas satu-satu ditransfer ke dalam conical *steril* baru. Panenan sel diambil 10 µl dan dipipetkan ke *hemocytometer*. Sel dihitung di bawah mikroskop inverted atau mikroskop cahaya dengan counter. Dihitung sel pada 4 kamar *hemocytometer* sel terdiri dari 4 kamar dengan bentuk persegi A (pojok kiri atas) B (Pojok kanan atas) C (pojok kiri bawah) dan D (pojok kanan bawah). Hasil perhitungan sel adalah

160×10^4 sel/ ml. kemudian dihitung berapa sel yang akan ditanamkan per well nya. Hasilnya adalah sel yang diambil di conical tube sebanyak 500 μ l dimasukkan ke *conical tube* baru dan ditambahkan media RPMI ad 10 ml. Selanjutnya diresuspensi lagi dan disiapkan well plate 96. Ditransfer sebanyak 100 μ l sel kedalam masing-masing well plate kecuali untuk 3 well control media kemudian diinkubasi selama 24 jam. Hasilnya adalah sel tidak terkontaminasi.

Preparasi ekstrak diawali dengan membuat larutan stok yaitu dengan cara menimbang ekstrak dan fraksi masing-masing sebesar 10 mg dan dilarutkan dalam 100 μ l dimethyl sulfosida (DMSO) 1 % kemudian di vortex. Menurut Machana *et al* (2011) Konsentrasi DMSO tidak boleh melebihi 10 % karena dapat menyebabkan terjadinya sitotoksik pada sel. DMSO berfungsi sebagai buffer agar ekstrak dan fraksi-fraksi dapat larut dengan baik. DMSO dapat melarutkan senyawa non polar, semi polar maupun polar dan tidak memiliki efek samping terhadap sel normal (Muir, 2007 dalam Nala, 2013). Selanjutnya dibuat seri konsentrasi yaitu dengan konsentrasi 500; 250; 31,25; 15,625; 7,8125 ppm.

Kontrol positif yang digunakan adalah doksorubicin sediaan injeksi doksorubicin adalah 10 mg/ 5 ml (ISO, 2014). Larutan stok yang digunakan adalah 100 μ l dengan konsentrasi pengencerannya 1; 0.5 ; 0.25 ; 0, 125 ; 0.0625; 0.03125; 0.015625 ; 0.0078125 ppm, Treatmen sel dilakukan dengan memberi 100 μ g/ml masing-masing seri konsentrasi sesuai dengan plating yang telah dibuat kemudian diinkubasi selama 24 jam .



Gambar 5.1 Morfologi sel T47D setelah diberi perlakuan terhadap ekstrak etanol 96% dan fraksi-fraksi buah jambu wer 500 µg/ml (a) Ekstrak etanol 96% (b) Fraksi n-heksana (c) Fraksi Kloroform (d) Fraksi Etil Asetat (e) Fraksi Air (f) Doksorubisin (g) Kontrol Sel.

Keterangan :

- : Sel Hidup
- : Sel Mati

Dari gambar diatas ditunjukkan ada perbedaan dari kontrol sel, control positif (Doksorubisin) dengan ekstrak dan fraksi n-heksan, fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi air dengan konsentrasi 500 µg/ml. Sel hidup berbentuk memanjang seperti daun sedangkan sel mati berbentuk bulat (Nala, 2013). Pada Kontrol sel dapat dilihat banyak sel yang hidup dengan bentuk sel yang memanjang.

Selanjutnya diinkubasi pada inkubator selama 24 jam Kemudian pada akhir inkubasi, sel kultur yang mengandung ekstrak dan fraksi, kontrol positif, maupun kontrol sel di buang, di cuci dengan media PBS. Kemudian ditambahkan dengan MTT pada masing-masing sumuran pada plating *well plate*. Selanjutnya diinkubasi

selama 4 jam. Prinsip metode MTT adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) suksinat tetrazolium dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk Kristal formazan berwarna ungu yang tidak larut air. Enzim suksinat dehidrogenase pada mitokondria sel hidup mampu memecah MTT menjadi kristal formazan (CCRC, 2009)

Setelah 4 jam terbentuk reaksi MTT dengan enzim mitokondria reduktase pada sel kemudian dihentikan dengan menambahkan reagen stopper *Sodium Dodesil Sulfat* (SDS). Penambahan reagen stopper akan melarutkan Kristal berwarna yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan *ELISA reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga semakin banyak warna ungu yang terbentuk, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak. Semakin besar nilai absorbansi maka semakin besar pula presentasi sel hidup dan semakin kecil nilai absorbansi maka semakin kecil presentasi sel hidupnya maka semakin toksik zat tersebut terhadap *cell line* kanker payudara T47D.

Tabel 5.2 % Viabilitas Sel Hidup pada tiap-tiap larutan uji

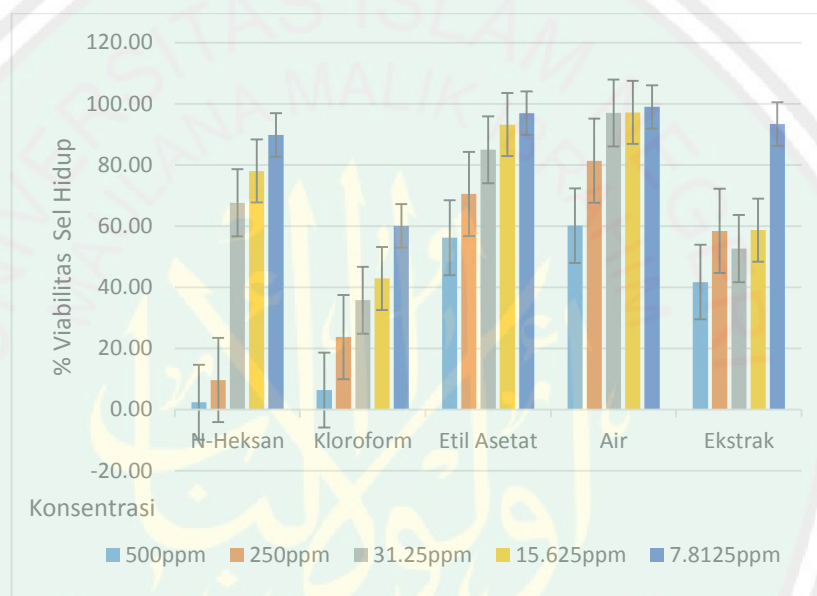
Konsentrasi (µg/ml)	Rata-rata % Viabilitas Sel Hidup & ± SD				
	Ekstrak Etanol 96%	Fraksi n- heksana	Fraksi Kloroform	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air
500	41.688 ± 3.275	2.405 ± 1.203	6.360 ± 1.344	56.219 ± 0.933	60.125 ± 8.12
250	58.417 ± 3.516	9.620 ± 5.230	23.730 ± 10.752	70.498 ± 1.5	81.365 ± 4.100
31,25	52.645 ± 13.325	67.610 ± 31.02	35.756 ± 11.342	84.957 ± 0.741	96.991 ± 5.58
15,625	58.685 ± 11.118	77.979 ± 36.601	42.864 ± 18.171	93.174 ± 4.252	97.171 ± 2.523
7,8125	93.372 ± 5.867	89.791 ± 5.352	60.074 ± 12.700	96.901 ± 2.83	98.967 ± 0.89

Tabel 5.3 % Viabilitas Sel Hidup Kontrol Positif

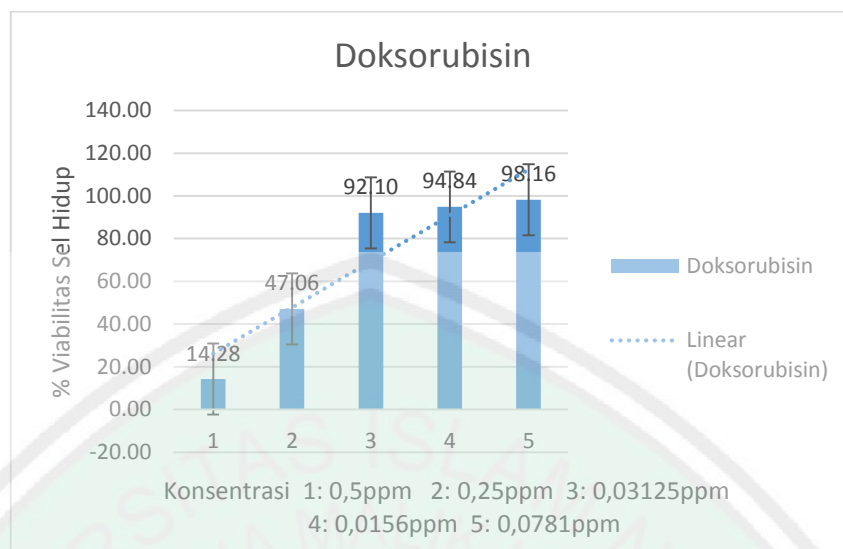
Konsentrasi (µg/ml)	Rata-rata % Viabilitas Sel Hidup & ± SD Doksorubicin
0,5	14.279 ± 3.498
0,25	47.058 ± 8.070
0,03125	92.096 ± 2.057
0,015625	94.836 ± 1.561
0,0078125	98.158 ± 0.311

Dari tabel tersebut dapat dilihat hasil semakin besar konsentrasi maka % viabilitas sel hidup semakin rendah dan sebaliknya semakin kecil konsentrasi maka % viabilitas sel hidup semakin besar. Artinya, semakin tinggi konsentrasi ekstrak ataupun fraksi dari buah jambu wer, maka semakin sedikit % jumlah sel hidup. Dari data tersebut dapat dilihat pada konsentrasi 500 µg/ml memiliki toksisitas yang paling tinggi yaitu fraksi n-heksan dengan % viabilitas sel 2.405 ± 1.203,

Selanjutnya yang kedua Fraksi Kloroform dengan % viabilitas sel 6.360 ± 1.344 , yang ketiga fraksi Ekstrak etanol 96% dengan % viabilitas sel 41.688 ± 3.275 , Keempat Fraksi Etil Asetat dengan % viabilitas sel 56.219 ± 0.933 dan yang terakhir Fraksi Air dengan % viabilitas sel 60.125 ± 8.12 . Sedangkan pada doksorubisin dengan konsentrasi $0,5 \mu\text{g/ml}$ memiliki % viabilitas sel 14.279 ± 3.498 .



Gambar 5.2 Grafik % viabilitas sel kanker payudara T47D pada konsentrasi 500; 250; 31.250 ;15,625 ; 7.8125 $\mu\text{g/ml}$ dari Ekstrak Etanol 96% dan Fraksi N-Heksan, Kloroform, Etil Asetat dan Air buah jambu wer



Gambar 5.3 Grafik % viabilitas sel kanker payudara T47D terhadap Doksorubisin (kontrol positif) pada konsentrasi 0,5; 0,25; 0,03125; 0,0156; 0,0781 $\mu\text{g/ml}$ masing-masing larutan uji.

Berdasarkan grafik % viabilitas sel kanker payudara T47D terhadap Doksorubisin (kontrol positif) pada konsentrasi 0,5; 0,25; 0,03125; 0,0156; 0,0781 $\mu\text{g/ml}$ masing-masing larutan uji dapat dilihat grafik berbentuk linier yang menunjukkan kenaikan % sel hidup dari konsentrasi tinggi ke konsentrasi rendah. Menurut The American National Cancer Institute, Kategori sitotoksik terhadap nilai IC_{50} .

Tabel 5.4 Kategori Sitotoksik Berdasarkan Nilai IC_{50}

Kategori	IC_{50} .
Sitotokik Potent	< 30 $\mu\text{g/ml}$
Sitotoksik Moderat	< 100 $\mu\text{g/ml}$
Tidak Toksik	>100 $\mu\text{g/ml}$

Hasil nilai IC_{50} pada masing-masing sampel uji dapat dilihat pada tabel 5.5

Tabel 5.5 Potensi Ekstrak etanol 96% dan Fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat, dan air terhadap penghambatan pertumbuhan sel T47 D

Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) $\pm$ SD	Kategori Sitotoksik
Ekstrak Etanol 96%	222.730 $\pm$ 108.256	Tidak Toksik
Fraksi n-heksana	43.236 $\pm$ 20.154	Moderat
Fraksi Kloroform	13.033 $\pm$ 6.213	Potent
Fraksi Etil Asetat	849.583 $\pm$ 94.392	Tidak Toksik
Fraksi Air	>1000 $\pm$ 632.577	Tidak Toksik
Doksorubisin	0.173 $\pm$ 0.016	Potent

Berdasarkan tabel 5.5 dapat diketahui bahwa Fraksi Kloroform memiliki nilai IC_{50} 13.033 $\mu\text{g/ml}$, selanjutnya Fraksi N-Heksan, Ekstrak Etanol 96%, Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air yang memiliki nilai IC_{50} masing-masing sebesar 43.236 $\mu\text{g/ml}$, 222.730 $\mu\text{g/ml}$, 849.583 $\mu\text{g/ml}$, 1299.387 $\mu\text{g/ml}$ Jika dibandingkan dengan nilai IC_{50} pada control positif (doksorubicin) sebesar 0.173 $\mu\text{g/ml}$.

Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak dan fraksi dari beberapa macam pelarut pada buah jambu wer yang telah diuji aktivitas antikanker dengan metode MTT yang paling berpotensi adalah fraksi kloroform dengan nilai IC_{50} rata-rata sebesar 13.033 $\mu\text{g/ml}$ dari konsentrasi 500 ppm; 250 ppm; 31,25 ; 15,625; 7,8125 jika dibandingkan dengan control positif doksorubicin dengan nilai IC_{50} 0.173 $\mu\text{g/ml}$ dari konsentrasi mulai dari 0,5 ppm; 0,25 ppm; 0.03125; 0,015625; 0.0078125 ppm. Hasil nilai IC_{50} pada kontrol positif tidak berbeda jauh Jika di bandingkan dengan Penelitian Satria *et al* (2015) uji sitotoksik doksorubisin terhadap sel T47D memiliki nilai IC_{50} 1,8 $\mu\text{g/mL}$ dengan konsentrasi mulai dari 1 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini dikarenakan kemampuan doksorubicin dalam menginduksi sitotoksisitas dengan mengganggu proses transkripsi dan replikasi

DNA (CCRC, 2009), sehingga kemampuan doksorubicin lebih spesifik dalam menghambat sel kanker. Tetapi dengan mekanisme mengganggu transkripsi dan replikasi DNA ini doksorubicin dapat mengganggu pertumbuhan sel normal.

Setelah mendapatkan nilai dari IC_{50} dari kelima sampel ekstrak dan fraksi, selanjutnya adalah melakukan *uji statistic one way analysis of variance* (ANOVA). Parametrik dengan software SPSS versi 25.0 dengan tujuan untuk menilai apakah ada perbedaan secara signifikan aktivitas antikanker IC_{50} ekstrak etanol 96% dan fraksi beberapa pelarut buah jambu wer. Sebelum melakukan uji one way Anova terlebih dahulu harus uji Normalitas dan Homogenitas.

Analisi data di mulai dengan uji Normalitas menggunakan uji menggunakan *Shapiro wilk* dengan aplikasi IBM SPSS Versi 25. Uji normalitas *Shapiro wilk* ini dikarenakan sample < 50 . Pembacaan uji ini dapat dilihat dari nilai p jika nilai $p > 0,05$ maka data terdistribusi normal, namun sebaliknya jika $p < 0,05$ maka data tidak terdistribusi normal. Pada penelitian ini hasil uji normalitas didapatkan nilai $p > 0,05$ maka data terdistribusi normal. Sehingga data nilai IC_{50} terdistribusi secara normal. Selanjutnya, dilakukan homogenitas menggunakan uji *levne*. Pembacaan uji homogenitas dapat dilihat dari nilai p jika $p > 0,05$ maka varian kelompok perlakuan homogen, namun sebaliknya jika nilai $p < 0,05$ maka varian antar kelompok perlakuan tidak homogeny. Data hasil penelitian ini menunjukkan nilai $p = 0,025$ maka didapatkan makna varian antar kelompok perlakuan tidak homogen ($p < 0,05$). Sehingga perlu dilanjutkan uji lanjutan menggunakan uji non parametrik yaitu menggunakan uji *kruskal-wallis*.

Hasil dari uji tersebut didapatkan signifikansi yaitu $p < 0,05$. Maka hasil menunjukkan perbedaan nilai IC_{50} perlakuan terhadap sel T47D.

Tabel 5.6 Hasil Uji Kruskal-Wallis Tes

Kruskal-Wallis Test	IC_{50}
Sig.	0.039

Selanjutnya dilanjutkan uji *Post Hoc tuckey* tujuan dilakukan uji *Post Hoc* adalah untuk membandingkan varian satu dengan variant yang lain. Pembacaan pada uji ini dapat dilihat dari nilai p jika nilai $p < 0,05$ maka adanya perbedaan secara signifikan antar varian satu terhadap varian yang lainnya. Sebaliknya jika $p > 0,05$ maka perbedaan antar varian tidak signifikan.

Tabel 5.7 Hasil Uji Post Hoc Tukey

	Fraksi n-heksana	Fraksi Kloroform	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air	Doksorubicin	Ekstrak etanol 96%
Ekstrak etanol 96%	0.957	0.921	0.109	0.003*	0.901	
Fraksi n-heksana		1.000	0.028*	0.001*	1.000	0.957
Fraksi Kloroform	1.000		0.022*	0.001*	1.000	0.921
Fraksi Etil Asetat	0.028*	0.022*		0.362	0.020*	0.109*
Fraksi Air	0.01*	0.01*	0.362		0.001*	0.03*
Doksorubicin	1.000	1.000	0.020*	0.001*		0.901

Keterangan : Berbeda Signifikan (*)

Berdasarkan Tabel 5.6 bagian ekstrak tidak memiliki nilai signifikan pada bagian fraksi n-heksan, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, dan doksorubisin. Jika dibandingkan dengan fraksi air bagian ekstrak memiliki nilai signifikan. Bagian

fraksi n-heksan tidak memiliki nilai signifikan pada ekstrak, fraksi kloroform, dan doksorubisin. Jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat, fraksi air bagian fraksi n-heksan memiliki nilai signifikan. Bagian fraksi kloroform tidak memiliki nilai signifikan pada bagian fraksi etil asetat dan fraksi air. Jika dibandingkan dengan ekstrak, fraksi n-heksan dan doksorubisin bagian fraksi kloroform memiliki nilai signifikan. Selanjutnya bagian fraksi etil asetat tidak memiliki nilai signifikan pada bagian ekstrak dan fraksi air. Jika dibandingkan dengan fraksi n-heksan, fraksi kloroform, dan doksorubisin bagian fraksi etil asetat memiliki nilai signifikan. Bagian fraksi air tidak memiliki nilai signifikan pada bagian fraksi etil asetat. Jika dibandingkan dengan ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan doksorubisin bagian fraksi air memiliki nilai signifikan. Bagian doksorubisin (kontrol positif) tidak memiliki nilai signifikan pada bagian ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi kloroform. Jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan fraksi air bagian doksorubisin (kontrol positif) memiliki nilai signifikan.

5. 6 Mekanisme Senyawa Antikanker

Mekanisme antikanker senyawa alkaloid adalah penghambatan aktivitas DNA topoisomerase II yang dapat menyebabkan apoptosis sel (Zuhair dan Subehan, 2010). DNA Topoisomerase II adalah enzim yang menghilangkan supercoiling positif yang terbentuk dalam DNA yang terjadi selama replikasi DNA (Yuwono, 2008). Mekanisme senyawa alkaloid sebagai antikanker juga berperan mengaktifkan caspase (Macabeo dkk, 2008). Pengaktifan caspase merupakan salah satu alternatif untuk membunuh sel kanker (Prescott, 2006). Caspase 3 merupakan

protein yang memberikan sinyal untuk apoptosis sel kanker. Pengaktifan caspase 3 dengan adanya interaksi antara molekul obat dengan prodomain dari procaspase 9, sehingga menjadi caspase 9 aktif. Adanya caspase 3 menimbulkan perubahan morfologi khas pada apoptosis (De Vita, 1997).

Mekanisme antikanker senyawa flavonoid yaitu pemblokiran reseptor pertumbuhan, menghambat proliferasi pada sel kanker dan menginduksi terjadinya apoptosis (Achmad dkk, 2014). Flavonol dan flavon menargetkan sel permukaan enzim transduksi sinyal, seperti tirosin kinase protein dan adhesi fokal kinase (AFK), dan proses angiogenesis menjadi obat antikanker (Kandaswani dkk, 2005; Soeksmanto dkk, 2010). Mekanisme flavonoid sebagai antikanker yaitu mencegah aktivasi metabolisme karsinogen, antiproliferasi, penangkapan siklus sel, induksi apoptosis, diferensiasi, aktifitas antioksidan, inhibisi proses angiogenik dan modulasi ketahanan obat (Ren dkk, 2003). Induksi apoptosis melalui penghambatan aktivitas DNA topoisomerase I/II penurunan spesies oksigen reaktif (ROS), regulasi protein, modulasi sinyal, pelepasan sitokrom c dan aktivasi caspase-9 dan caspase-3, regulasi ekspresi Bcl-2 dan Bcl-X (L), faktor transkripsi nuklir kappaB (NF kappaB) dan penekanan protein Mcl-1 serta aktivasi endonuclease (Ren dkk, 2003).

Mekanisme antikanker dengan senyawa saponin terjadi melalui induksi apoptosis atau non-apoptosis (Tusssanti dkk, 2014). Beberapa diantaranya adalah kematian sel akibat autofagosit, hambatan siklus sel, menurunnya produksi NO atau disintegrasi sitoskeleton. Jalur apoptosis ekstrinsik melalui aktivasi reseptor pro-apoptosis dipermukaan sel yang distimulasi oleh molekul khusus yaitu ligan pro-apoptosis (Apo 2L/TRAIL dan CD95L/FasL). Jalur apoptosis intrinsic terjadi

dengan cara pelepasan *sitokrom-c*, depolimerisasi membran mitokondria, downregulasi *Bcl-2*, stimulasi p53 atau gangguan homeostatis Ca^{2+} (Podolak dkk, 2010).

Mekanisme antikanker senyawa triterpenoid yaitu pemblokiran siklus sel pada fase mitosis atau pembelahan sel dengan menstabilkan benang-benang spindle (Puspitasari, 2015). Benang-benang spindle berfungsi untuk mempertahankan bentuk sel dan mengatur pergerakan kromosom dalam pembelahan sel erta pergerakan organel, sehingga ketika sel kanker berinteraksi dengan triterpenoid akan menyebabkan tahapan mitosis terhambat yang selanjutnya akan terjadi penghambatan perkembangan sel dan memicu terjadinya apoptosis. Senyawa triterpenoid juga menghambat enzim topoisomerase pada sel mamalia. Enzim topoisomerase adalah enzim yang berperan penting dalam proses pembentukan DNA. Inhibitor enzim topoisomerase akan menstabilkan kompleks topoisomerase dan DNA terpotong, sehingga dapat menyebabkan terekspresinya protein proapoptosis sehingga dapat memicu terjadinya apoptosis (Murti dkk, 2010).

Mekanisme antikanker senyawa tanin terjadi melalui penghambatan kerja enzim sel, pencegahan proses mutagenesis sel yang dapat menimbulkan kanker dan mengaktifkan sel makrofag kanker. Mekanisme kerja tanin ini menggunakan inhibitor *histone deacetylase* (HDAC) (Udhi, 2003).

5.7 Pemanfaatan Buah Jambu Wer Berdasarkan Perspektif Islam

Allah ﷻ menciptakan segala sesuatu di muka bumi ini pasti memiliki manfaat salah satunya adalah tumbuhan. Penelitian ini membahas tentang pemanfaatan buah jambu wer sebagai agen kemopreventif. Mempelajari lebih lanjut mengenai ciptaan Allah ﷻ merupakan salah satu bentuk ibadah kepada Allah ﷻ. Allah ﷻ memberikan gelar *ulul albab* atau orang yang berakal kepada orang yang melakukan dua hal, yakni *tazakur* atau mengingat Allah ﷻ dengan ucapan dan atau hati dalam situasi dan kondisi apapun, serta *tafakkur* memikirkan ciptaan Allah ﷻ, yakni kejadian di alam semesta. Dengan melakukan dua hal tersebut, seseorang diharapkan mampu mengetahui, memahami, menghayati bahwa dibalik fenomena alam dan segala sesuatu yang ada didalamnya menunjukkan adanya kebesaran sang pencipta, Allah ﷻ (Ulum, 2011).

Sebagaimana firman Allah dalam QS.Al-Jathiyah Ayat : 13.

وَسَخَّرَ لَكُم مَّا فِي السَّمَوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١٣﴾

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

Makna *Ulul albab* adalah orang-orang yang menggunakan pikirannya dalam mengambil faedah serta hidayah-Nya, memikirkan tentang kejadian langit dan bumi beserta manfaat dan rahasia yang terkandung di dalamnya yang menunjukkan betapa sempurnanya ilmu Allah ﷻ, serta mampu mengambil hikmah

dari segala ciptaan Allah ﷻ (al Maraghi, 1992). Sesungguhnya penciptaan langit dan bumi, serta pergantian siang dan malam semuanya tidaklah terjadi dengan sendirinya, melainkan ada yang menciptakan yakni Allah ﷻ. Sebagai seorang mukmin sudah seharusnya menggunakan akal pikirannya untuk berfikir dan mempelajari ciptaan-ciptaan Allah ﷻ yang mengandung hikmah-hikmah dan maslahat-maslahat yang besar bagi kehidupan.

Maha sempurna Allah atas segala yang diciptakannya bumi beserta isinya hanya untuk kebutuhan hidup manusia. Segala sesuatu di bumi diciptakan oleh Allah ﷻ untuk dimanfaatkan sebaik-baiknya termasuk tumbuh-tumbuhan. Tumbuh-tumbuhan dapat dimanfaatkan untuk keperluan manusia yaitu dengan memanfaatkannya sebagai obat. Tumbuhan yang tersedia melimpah di alam dan dapat digunakan sebagai obat salah satunya adalah jambu wer (*Prunus persica* (L.) Batsch). Tumbuhan tersebut dapat digunakan sebagai obat jika manusia itu berfikir. Sebagai *ulul albab* sudah seharusnya kita mengkaji apa yang terdapat di dalam tumbuhan dan dapat menjadikannya sebagai obat. Maka dalam penelitian ini mengkaji mengenai aktivitas antikanker.

Segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah ﷻ mempunyai kapasitas atau ukurannya masing-masing. Seperti halnya dalam aktivitas antikanker yang dihasilkan dari buah jambu wer. Buah jambu wer mempunyai kapasitas dalam menghambat *cell line* kanker payudara *T47D* ditunjukkan dengan IC_{50} yaitu 13.033 ppm. Menurut National Cancer Institute (2012) suatu ekstrak dan fraksi dikatakan berpotensi sebagai agen kemopreventif apabila nilai IC_{50} kurang dari 30 ppm.

Berdasarkan penjelasan tersebut dapat diketahui bahwa jambu wer (*Prunus persica* (L.) Batsch) mengindikasikan adanya potensi untuk dijadikan sebagai agen kemopreventif.



BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan pemberian ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat dan air buah jambu wer (*Prunus persica* (L.) Batsch) terhadap efek sitotoksik sel kanker payudara T47D dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 222.730 $\mu\text{g/ml}$; 43.236 $\mu\text{g/ml}$ (moderat aktif); 13.033 $\mu\text{g/ml}$ (aktif); 849.583 $\mu\text{g/ml}$ dan $>1000 \mu\text{g/ml}$.
2. Terdapat sampel yang paling aktif terhadap kematian sel kanker payudara T47D yaitu fraksi kloroform dengan nilai IC_{50} sebesar 13.033 $\mu\text{g/ml}$.

6.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan, peneliti menyarankan untuk sebaiknya proses fraksinasi tidak dilakukan penyaringan, dilakukan uji metabolite profiling pada fraksi kloroform dengan UPLC-MS, Uji *flowcyto* apoptosis sel, Uji LD_{50} terhadap sel Normal, serta ditingkatkan pengujian pada tahap *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA.

- Abcam. 2007. T47D (Human ductal breast epithelial tumor cell line) whole cell lysate (ab 14899) datasheet. *European Journal of Scientific Research*, 37(.3), 376-387.
- Achmad, H., Marhamah, Supriatno *et al.* 2014. Aktivitas Antikanker dan Antiproliferasi Fraksi Etanol Sarang semut (*Myrmecodya pendans*) pada sel kanker lidah manusia SP-C1. *Dentofasial*, 13 (1), 1-6
- Adjuwana, N. M.A. 1989. *Teknik Spektroskopi dalam Analisis Biologi*. Bogor . Pusat Antar Universitas IPB
- Adnan, M., 1997. *Teknik Kromatografi untuk Analisis Bahan Makanan, Edisi Pertama*, 9, 14, 15, .Yogyakarta : Penerbit Andi,
- Al-Maraghi., dan Ahmad M. 1992. *Terjemah Tafsir al-Maraghi*. Semarang: CV Toha. Putra.
- Al-Mahalli; Jalaluddin, I.; as-Suyuti. 2007. *Tafsir Jalalain*. Terj. Bahrin Abubakar. Bandung : Sinar Baru Algensindo
- Ashkenazi, and Michael. 2002. *Encyclopedia of Modern Asia* (Vol.5). New York: Charles Scribner's Sons.
- Aziz, A.F.A. Iqbal and Mohammad. 2014. Antioxidant activity and phytochemical composition of *Cynometra cauliflora*, *Journal of Experimental Integrative Medicine*, 3(4) : 337-341.
- Backer C. A., and Bakhuizen V. D. B. 1963. *Flora of Java*. Springer, Netherlands.
- Baratawidjaja. 2002. *Imunologi Dasar*. Jakarta: FKUI..
- Basyir, H. 2013. *At-Tafsir Muyassar, cet 3*. Terj Izzudin Karini, Ahmad Syaikh dan Habiburrahim. Solo : An-naba'.
- Batoro, J. 2012. Etnobiologi Masyarakat Tengger Di Bromo Tengger Semeru Jawa Timur. *Disertasi*. Institut Pertanian Bogor.
- Bergman, RA, AK Afifi and PM Heider. 1996. *Histology*. WB Saunders Company, Philadelphia.
- Bhagawan, W. S. 2017. Skrining Etnofarmakologi Berbagai Ekstrak Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) Pada Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysentery* Sebagai Antidiare. Malang

- Boer, Y. 2000. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Kandis (*Garcinia parvifolia* Miq), *Jurnal Matematika dan IPA* 1, (1) hal 26- 33.
- Bosman, F.T. 1999. *Aspek-Aspek Fundamental Kanker (terj) dalam : Arjono, editor : Onkologi. Edisi 5.* Yogyakarta : Gadjah Mada University Press. h. 2,7.
- Bouker, K.B., Skaar, T.C., Riggins, R.B., Harburger, D.S., Fernandez, D.R., Zwart, A. *et al.*, 2005, Interferon regulatory factor-1 (IRF-1) Exhibits Tumor Suppressor Activities in Breast Cancer Associated with Caspase Activation and Induction of Apoptosis, *Carcinogenesis*, 26, 1527-1535.
- BPOM RI. 2014. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia Vol 1.* Jakarta. BPOM.
- Bruton, L., Lazo, J. S., and Parker, K. L., 2005. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th Edition, McGrawHill, Lange.
- Burdall, E.S., Hanby, M.A., Landsdown, R.J.M *et al.*, 2003, Breast Cancer Line. *Breast Cancer Research*, 5: 89-95.
- CCRC. 2009. *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MT Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC).* Yogyakarta :Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta
- Childs, A.C., Phaneuf, S.L., Dirks, A.J., Phillips, T., *et al.*, 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*, 62:4592-4598.
- Cho, E.J. T, Yokozawa, D. Y. Rhyu, S.C. Kim. 2003. Study On The Inhibitory Effects Of Korean Medicinal Plants and Their Main Compounds On The 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl Radical. *Phytomedicine* 10: 544–551
- Cooper, G.M. 2007. *The Cell A Molecular Approach.* Second Edition. Approach. Second Edition. Sinauer Associates. Inc. Massachuseh.
- De V, F., 1997. A multicenter phase II study of induction chemotherapy with FOLFOX -4 and cetuximab followed by radiation and cetuximab in locally advanced oesophageal cancer. *British Journal of Cancer*, (104), 427-432.
- De, L.F.A. 2004. Discovery of meaningful associations in genomic data using partial correlation coefficients. *Bioinformatics* 20 (18):3565-74.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional* . Jakarta 17, 31-32.

- Departemen Kesehatan RI. 2014. *Buku Saku Pencegahan Kanker Leher Rahim dan Kanker Payudara*. Jakarta : Depkes RI.
- Dewi, G. T., dan Hendrati, L. Y. 2015. Analisis Resiko Kanker Paayudara berdasarkan Riwayat Pemakaian Kontrasepsi Hormonal dan Usia Menarche. *Epidemiologi*, Vol. 3, No. 1.
- Dianto, I., Syariful, A. Akhmad, K. 2015. Studi Etnofarmasi Tumbuhan Berkhasiat Obat Pada Suku Kaili Ledo Di Kabupaten Sigi, Provinsi Sulawesi Tengah. *GALENKA Journal of Pharmacy* Vol. 1 (2) : 85 - 91.
- Dipiro, J.T. 2005. *Pharmacotherapy Handbook. Sixth edition. The Mc. Graw Hill Company*. USA. Page : 1891-1939.
- Doyle, A. and Griffith, S.J.B. 2000. *Cell and tissue culture for medical research*, 49. New York : John Willeyand Sons, Ltd.
- Duval, Clarot, Dumarcay-Charbonnier, Fontanay, and Marsuara. 2012. Interest of Designed Cyclodextrin-tools in Gene Delivery. *Elsevier masson*. Volume 70 Nomor 6.
- Edrah S., Alafid F., and Kumar A. 2013. Preliminary Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Pistacia atlantica and Prunus persica Plants of Libyan Origin. *International Journal of Science and Research (IJSR)* 2319-7064.
- Emir, T. P dan Suyatno.2010. *Bedah Onkologi Diagnostik dan Terapi*. Jakarta: Sagung Seto.
- Evans, W,C., 2002.*Pharmakognosi, Edisi 15*. W,B Sanders, Philedelphia.
- Fessenden .1997. *Kimia Organik*. Jakarta : Erlangga.
- Foster, J.S., Henley,D.C.,Ahamed,S., dan Wimalasena, J. 2001. *Estrogen and Cell Cycle Regulation in Breast Cancer Trend in Endocrinology and Metabolism*. 12(7) : 320-327.
- Gibbs, J.B., 2000. Anticancer Drugs Targets: Growth Factor and Growth Factor Sigalling. *Journal of Clinical Investigation*, 105: 9-13.
- Globocan. 2012. EstimatedCancer Incidence, Mortality,Prevalence and Disability-adjusted life years (DALYs) Worldwide in 2008. *IARC Cancer Base*
- Greenwald, P. 2002. Cancer Chemoprevention. *British Medical Journal*, 324: 714-718.

- Gusmita, D. 2010. *Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Spons Callyspongia sp. dan Fraksi-fraksinya terhadap Sel lestari Tumor Hela*. Skripsi. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Han, X., Pan, J., Ren, D., Cheng, Y., Fan, P., and 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*, 46:3140-3146.
- Hanahan, D. and Weinberg, R.A., 2000. *The Hallmarks of Cancer*. *Cell*, 100: 57–70
- Harborne, J. B. 1987. *Phytochemical Methods*. Penerbit ITB, Bandung.
- Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Edisi II*. Hal 4Y7 : 69Y76, Bandung. ITB.
- Hardiana, R., Rudiyansyah, Zaharah T. A. 2012. Aktivits Antioksidan Senyawa Golongan Fenol Dari Beberapa Jenis Tumbuhan Famili Malvaceae. *JKK*, tahun 2012, volume 1 (1), halaman 8-13.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., Williamson, E., M. 2010. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Penerbit Buku Kedokteran: Jakarta.
- Herni K, Marliani .R, Apriliani, E. 2017. Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya dari Tongkol dan Rambut Jagung (*Zea mays* L). *IJPST* : Volume 4 Nomor 1.
- Heti dan Dany. 2008. *Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Herba Sisik Naga (Drymoglossum piloselloides Presl.) Terhadap Sel T47D*. Skripsi. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Hidayat, A., Bhagawan , W.S., dan Umiyah . 2011. Etnofarmasi Suku Tengger Kecamatan Senduro Kabupaten Lumajang. *Presented at Simposium Nasional Kimia Bahan Alam XIX.*, 11-12 Oktober 2011, Samarinda.
- Hondemarck, H. 2003. Breast Cancer : When Proteomics Challenges Biological Complexity, Molecular and Proteomics. *Proteomics of Breast Cancer* 2, 281-291.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). GLOBOCAN 2015: Estimated Cancer Incidence, Mortality, and Prevalence World Wide in 2015. *International Journal of Cancer*.
- ISO. 2014. *Informasi Spesialite Obat Indonesia*. ISSN 854-4492 :Isfi.
- Istiqomah. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti fructus*). *Skripsi*. Jakarta:

Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.

Junedi dan Iskandar. 2010. *Hipertensi Pengenalan, Pencegahan, dan Pengobatan*. Jakarta : PT Bhuana Ilmu Populer.

Kandaswani, C., Lee , L. T., Lee, P. P., Hwang, J. J., Ke, F. C., Huang , Y. T., and Lee, M. T. 2005 . The antitumor Activities Of Flavonoids. *PubMed*, 19(5), 895-909.

Kemenkes RI. 2010. *Data dan Informasi Kesehatan Situasi Penyakit Kanker*. Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta : UI Press.

King, R.J.B. 2000. *Cancer Biology*, 2nd ed. Pearson Education Limited, London.

Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia . 2017. *Determinasi Tanaman*. Purwodadi : UPT-Balai Informasi Teknologi.

Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanida dan Alkaloida*. Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara.

Lestari, S.B. dan Pari, G. 1990. Analisis Kimia Beberapa Jenis Kayu Indonesia. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan Pusat Penelitian dan Pengembangan Hasil Hutan*, VII (3), 96-100.

Lindley, C., and L. B. Michaud. 2005. Breast Cancer, Pharmacotherapy: A Pathophysiologic - Approach. Sixth Edition. The McGraw-Hill Companies. *United States of America*.

Listiyana, A dan Mutiah, R.2017. Pemberdayaan Masyarakat Suku Tengger Ngadas Poncokusumo Kabupaten Malang Dalam Mengembangkan Potensi Tumbuhan Obat dan Hasil Pertanian Berbasis“Etnofarmasi” Menuju Terciptanya Desa Mandiri. *Journal of Islamic Medicine* Volume 1(1) (2017), Pages 1-8.

Macabeo, A. P. G., Krohn, K., Gehle, D., Read, R., W., *et al*,.2008.Activity of the extracts and indole alkaloids from *Alstonia scholaris* against *Mycobacterium tuberculosis H₃₇Rv*. *The Philippine Agricultural Scientist*, 91 (3), 348-351.

Machana, Sasipawan, Weerapreeyallid, Nathida, Sapahat, B., Apiyada, N., and Bungurn, S. 2011. Cytotoxic and Apoptotic Effects of Six Herbal Plants Against The Human Hepatocarcinoma (HepG2) Cell Line. *Biomed Central*. Volume 6, No. 39.

- Mandal, V., Mohan .Y, Hemalatha S .2017. Microwave Assisted Extraction-An Innovative and Promising Extraction Tool for Medical Plant Research. *Pharmacognosy Reviews*. Vol 1 Issue 1 Jan –May, 2007.
- Mangan, Y. 2014. *Cara Bijak Menakhlukkan Kanker*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Marliana, E. 2007. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Batang *Spatholobus Ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Bent Yang Berfungsi Sebagai Antioksidan. *Jurnal Penelitian MIPA*. Vol. 1: 23-29.
- Meiyanto E. 1999. Kurkumin sebagai Obat Antikanker, menelusuri Mekanisme Aksinya. *Farmasi Indonesia*, 10(4): 224 - 236.
- Melannisa, R, 2004, Pengaruh PVG-1 Pada Sel Kanker Payudara T47D Yang Diinduksi 17 β -Estradiol: Kajian Antiproliferasi, Pemacuan Apoptosis, dan Antiangiogenesis, Tesis, 50-51, Program Pasca Sarjana UGM, Yogyakarta.
- Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G., and Gianni, L. 2004. Anthracyclins: Molecular Advances and Pharmacologic Developments in Antitumor Activity and Cardiotoxicity. *Pharmacol Rev.*, 56:185-228.
- Mosman. 1983. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxic Assays. *Journal of Immunological Methods*, 65, 55-63.
- Murti, H., Boediono, A., Setiawan, B., dan Sandra F. 2007. Regulasi Siklus Sel: Kunci Sukses *Somatic Cell Nuclear Transfer Jurnal Cdk*. 34 (6): 312-316.
- Muti'ah, R. 2014. *Pengembangan Fitofarmaka Antikanker*. Malang: UIN-Maliki Press.
- Nala dan Ayu, E. M. H. 2013. *Aktivitas Antiproliferasi Ekstrak n-Heksana Daun Benalu Kelor (Helixanthera sessiliflora (Merr.) Denser) terhadap Cell Line Kanker Payudara T47D*. Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga.
- National Cancer Institute. 2011. Measuring Cancer Death, Cited from <http://www.Cancer.gov/csr> diakses pada September. Dalam Rahmawati, Emma, dkk. 2013. Aktivitas Antikanker Ekstrak n-Heksan dan Ekstrak Metanol Herba Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn) terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Medis Farmasi* Vol. 10 No 2.
- NCI. 2012. *Breast Cancer*. <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/breast>.

- NCI. 2012. *Cancer Treatment*. <http://www.cancer.gov/cancertopics/treatment>
- Oemiati, R., Ekowati dan Antonius, 2011. Prevalensi Tumor dan Beberapa Faktor yang Mempengaruhinya di Indonesia. *Badan penelitian dan Pengembangan Kesehatan*: Vol. 39, No.4, 2011: 190 – 204.
- Park H. P. 2005. Comparison between in toto peach (*Prunus persica* L. Batsch) supplementation and its polyphenolic extract on rat liver xenobiotic metabolizing enzymes. *Food and Chemical Toxicology* 97 (2016) 385-394.
- Podolak, I, Galanty, A. and Sobolewska, D. 2010. Saponin as cytotoxic agents. *A Review Phytochem*, 9, 425-474.
- Pourhossein, A., M. Madani, and M. Shahlaei. 2009. Valuation of an Ultrasound-assisted Digestion Method for Determination of Arsenic and Lead in Edible Citric Acid Samples by ETAAS. *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy* 54 (1): 39–44.
- Prescott, A. K., Maciver, S. K., Sadler, I.H., and Kiapranis R. 2006. Lunacridine from *lunasia amara* is a DNA intercalating topoisomerase II inhibitors. *Journal of Ethnopharmacology*, 109, 289-294
- Rahmawati, Ani, and Widya Putri. 2013. The Characteristic of Pamellofruit Peel Extract Used Ultrasonic Bath Assisted Method (Study Of Blanching And Extraction Time). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Volume 3, no.1.
- Rasjidi, I. 2010. *100 Questions & Answers Kanker Pada Wanita*. Jakarta: Elex Media Komputindo.
- Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian* Vol. 9 No. 2 Sep. 2010: 196 – 202.
- Ren, W., Qiao, Z. Wang, H., Lei, Z., and Li, Z. 2003. Flavonoids Promising anticancer agents. *Medical Research Reviews.*, 23(4), 519-534.
- [RINKESDAS] Riset Kesehatan Dasar. 2013. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. Jakarta: Depkes RI.
- Rokhman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rollando, R dan Rokiy A. 2017. Efek sitotoksik senyawa 2,3-dihydro-6-hydroxy-2-methylenenaphtho [1,2-b] furan-4,5-dione dari kulit batang falok (*Sterculia quadrifida* R.Br) pada sel kanker payudara T47D. *Pharmaciana* Vol. 7, No. 2.

- Sa'adah, H., Hasnawati, H. 2015. Perbandingan Pelarut Etanol dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. ISSN: 2477-1821. Vol.1, No.2.
- Sadowsky M.J, Keyser H.H, Bohlool B. 1992. Biochemical characterization of fast-growing and slow-growing rhizobia that nodulate soybean. *Int. J.Sys.Bacteriol.* 33:716-722.
- Saifuddin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder*. Yogyakarta: Deepublish.
- Sandina D. 2011. *9 Penyakit mematikan mengenali tanda dan pengobatannya*. Yogyakarta: Smart Pustaka.
- Sarker. Satyajit D., Zahid, L, Alexander I., and Gray E.D . 2006. *Natural Products Isolation*. Totowa: Humana Press.
- Satria, D., Mainal, F., Sumadio H., and Rosidah. 2015. Combinational Effects of Ethylacetate Extract of *Picria Fel-Terrae* Lour and Doxorubicin on T47D Breast Cancer Cells. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. ISSN- 0975-1491 Vol 7, Issue 7.
- Schafer, J.M., Lee, E.S., O'Regan, R.M., Yao, K., and Jordan, V.C., 2000, Rapid development of tamoxifen-stimulated mutant p53 breast tumors (T47D) in athymic mice, *Clin. Cancer Res.*, 6, 4373-4380.
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al- Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al –Quran*. Jakarta: Penerbit Lentera Hati.
- Shihab, M.Q. 2000. *Tafsir Al-Misbah*. Volume.7. Jakarta: Lentera Hati.
- Simstein, R., Burow, M., Parker A., Weldon, C. and Beckman, B., 2003. Apoptosis, Chemoresistance, and Breast Cancer: Insights from the MCF-7 Cell Model System. *Exp Biol Med.* 228, 995–1003.
- Singh, J, A.K. Uupadhyay, A. Bahadur, B. Singh, M. Rai. 2007. Antioxidant Phytochemicals in Cabbage (*Brassica oleraceae* L. var. *Capitata*. *Sci. hort.* 108 (3) 233-237.
- Sudewo, B. 2012. *Basmi Kanker dengan Herbal*. Jakarta: Visimedia.
- Suryaningsih, E.K., dan B.E. Sukaca, 2009. *Kupas Tuntas Kanker Payudara. Paradigma Indonesia*. Yogyakarta: 1-146.
- Sylvia A, M, Lorraine. 2015. *Patofisiologi Edisi 6 Vol 2 Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*. Jakarta: EGC

- Tambunan. 2003. *Diagnosis dan Tatalaksana Sepuluh Jenis Kanker di Indonesia*. Jakarta. EGC.
- Tjarta, A. 2001. *Neoplasia: In Patologi Umum*, Seto. Jakarta: Pp198-199
- Tussanti, I., Johan, A. dan Kidsjamiatun. 2014. Sitotoksitas in vitro ekstrak etanolik buah parijito (*Mednilla speciosa*, renw.ex bl.) terhadap sel kanker payudara T47D. *Jurnal Gizi Indonesia*, 2(2),53-58.
- Ulum, M. 2011. *Konsep Ulul Albab Q.S Ali-Imron Ayat 190-195 dan Relevansinya dengan Tujuan Pendidikan Islam*. [skripsi]. Semarang: Fakultas Tarbiyah Institut Agama Islam Negeri Walisongo.
- Vadliyanto, M. Z. 2017. Skrining Aktivitas Antibakteri berbagai Ekstrak Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Skripsi*. Malang : Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Van, D. G, Kent M. Stuart I. F. 1995. *Concept of Human Anatomy Physiology*. Wm.C. Brown Publishers, Dubuque.
- Verma, Surendra .P. Goldin, *et al.*, 1998, The Inhibition of the Estrogenic Effects of Pesticides and Enviromental Chemicals by Curcumin and Isoflavonoids. *Enviromental Health Prespectives*, 106(12), 807-812.
- Virgili, F., Filippo, A., Roberto, A. *et al.* 2004. Nutritionals Flavonoids Modulate Estrogen Receptor α Signaling. *IUBMB Life*. Volume 56, Nomor 3: 145-151.
- Vogel. 1996. *Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Jakarta: EGC.
- Warsono dan Lukas .B.2013. Ekstrak Cashew Nut Shell Liquid (CNSI) dari Kulit Biji Mete dengan Mrenggunakan Metode Pengepresan. *Jurnal Teknosains Pangan*. Volume 2, Nomor 2.
- Winarno, E. 2011. *Uji Sitotoksik Ekstrak Kapang Aspergillus sp. Terhadap Sel Knaker Payudara T47D* [skripsi]. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Zampieri, L., Bianchi, P., Ruff, P., and Arbuthnot, P., 2002, Differential modulation by estradiol of P-glycoprotein drug resistance protein expression in cultured MCF7 and T47D breast cancer cells. *Anticancer Res*. 22(4): 2253-9.
- Zarisman, S. Z. 2006. *Potensi Ilmu Nomodulator Bubuk Kakao Bebas Lemak sebagai Produk Substandar secara In Vitro pasa Sel Limfosit Manusia*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Bogor, Institute Pertanian Bogor.

- Zuhair, M. S., and Subehan. 2010. Molecular docking of lunacridine from *Lunasia amara* to DNA; its inhibition and interaction study correlated with the cytotoxic activity on P388 murine leukemia cell. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 1 (2), 108-117.
- Zuhud, E.A.M. 2008. Potensi Hutan Tropika Indonesia Sebagai Penyangga Bahan Obat Alam Untuk Kesehatan Bangsa. Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor. *Jurnal etnofarmasi*. Bogor.



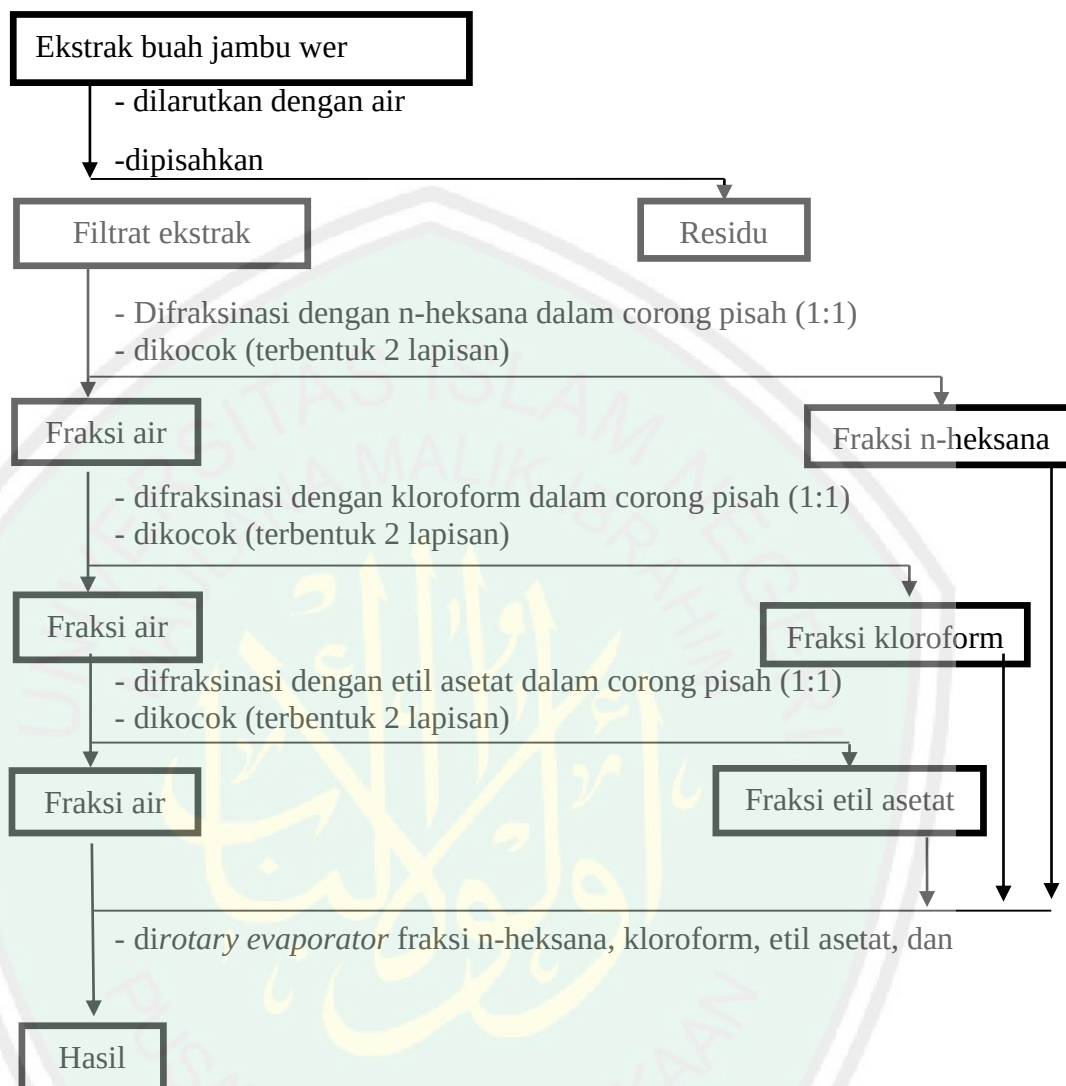
LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja

1.1 Skema Kerja Penelitian



Lampiran 2. Fraksinasi Buah Jambu wer

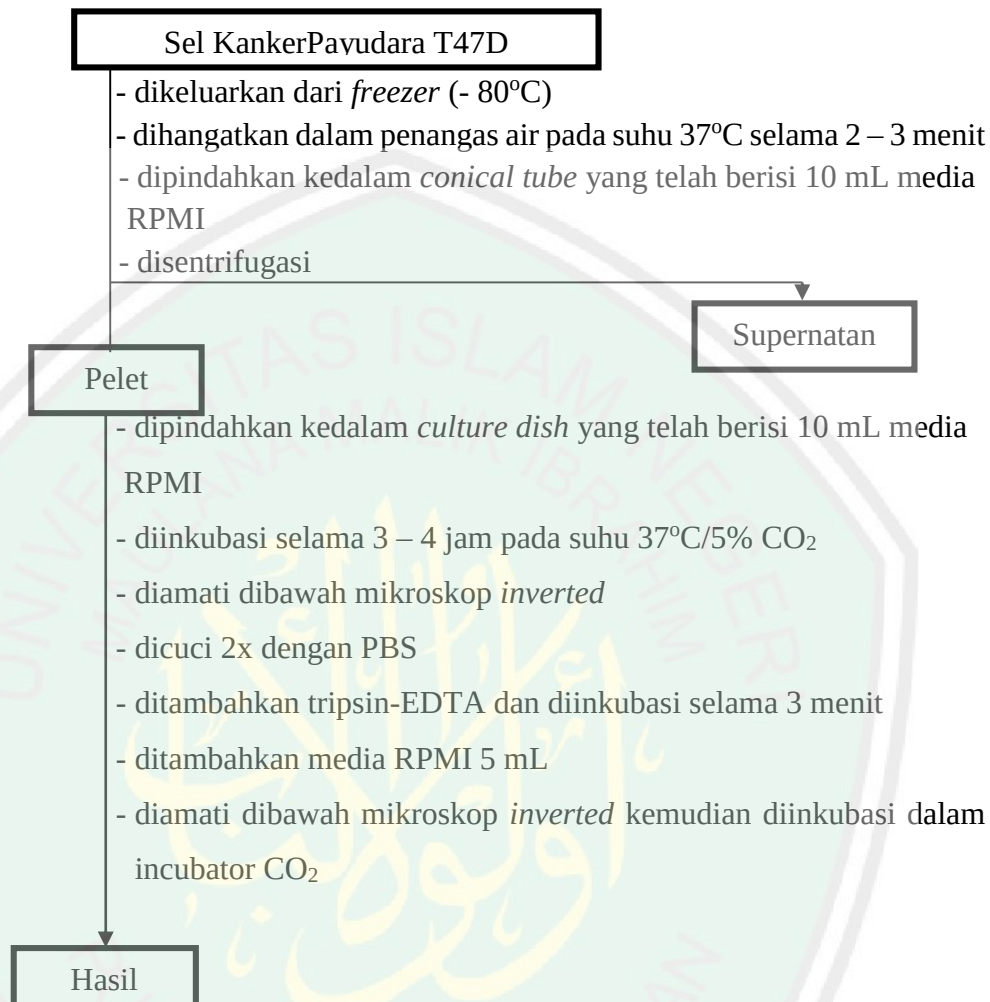


Hasil Fraksinasi

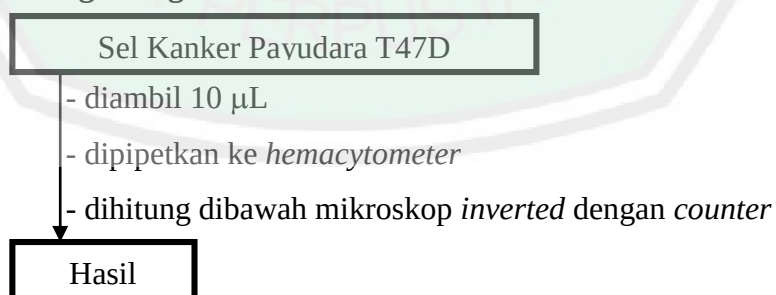
Pelarut	Serbuk + pelarut yang digunakan	Perubahan Warna Filtrat	Warna ekstrak	Berat ekstrak awal	Berat Fraksi	Rendemen (%) (b/b)
Air	30gram + 3000 mL	Merah tua sampai merah kecoklatan	Coklat	30gram	8 gram	26,7%
n-heksana	3000 mL	Merah pekat sampai keorangan menjadi bening	Coklat	30gram	1,3 gram	4,3 %
Kloroform	3000 mL	Kuning keorangan sampai kuning menjadi bening	Coklat	30gram	1,7 gram	5,7 %
Etil asetat	3000 mL	Merah kecoklatan sampai coklat Menjadi Bening	Coklat kemera han	30gram	2,6 gram	8,7 %

Lampiran 3. Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

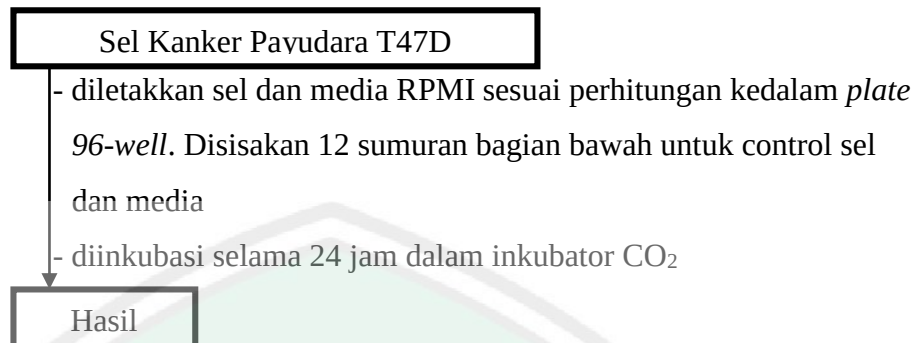
3.1 Penyiapan Sel



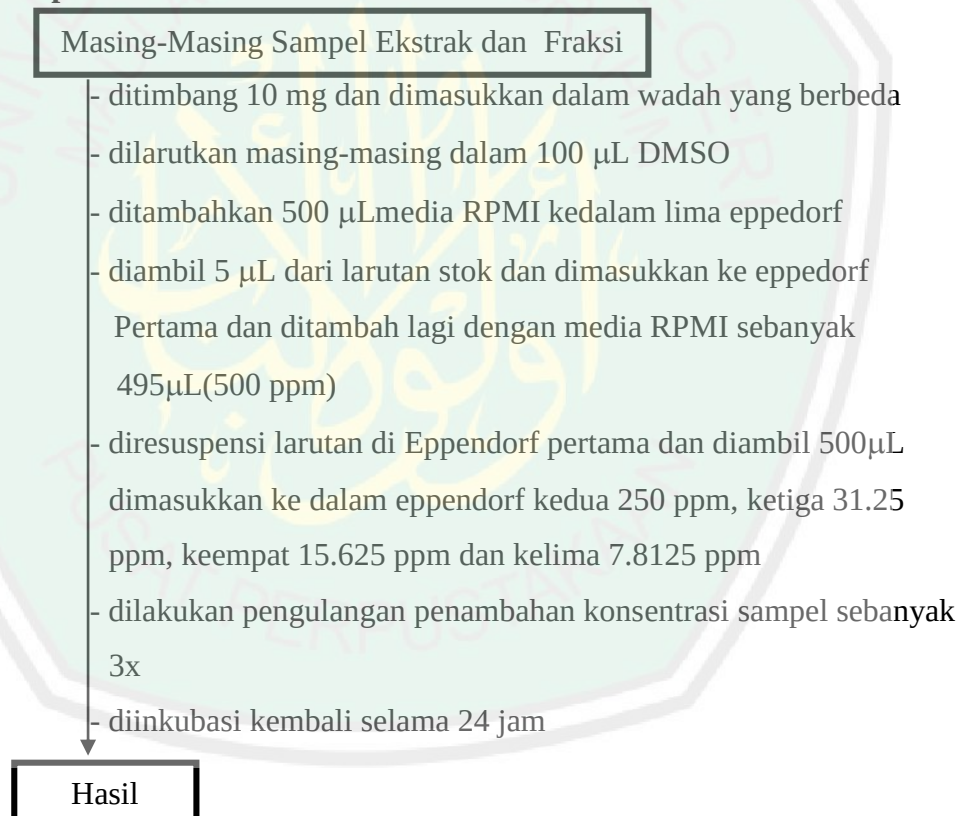
3.2 Penghitungan Sel Kanker



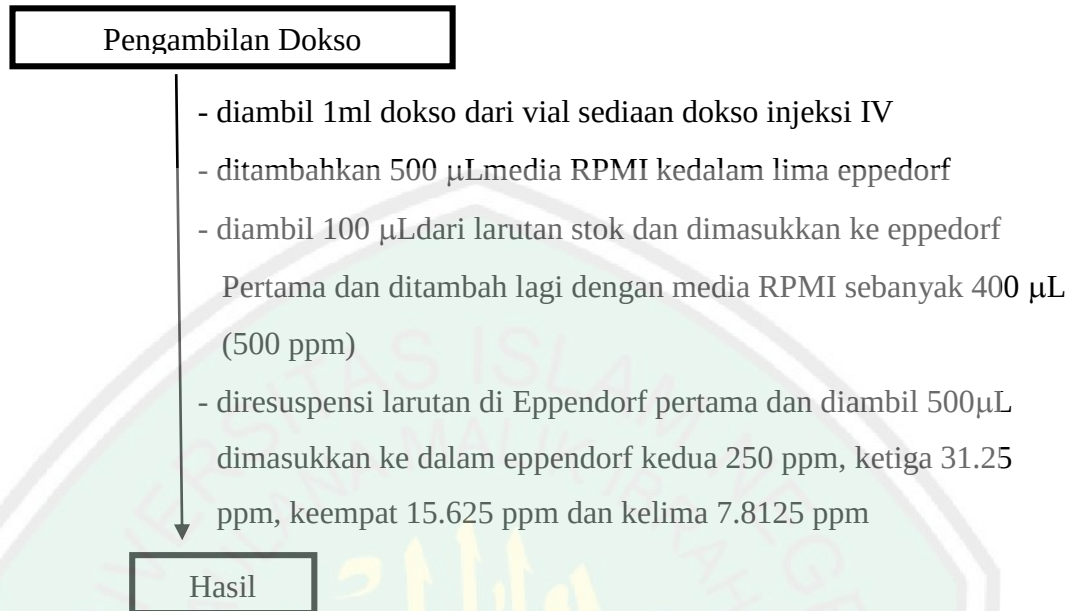
3.3 Peletakan Sel pada *Plate*



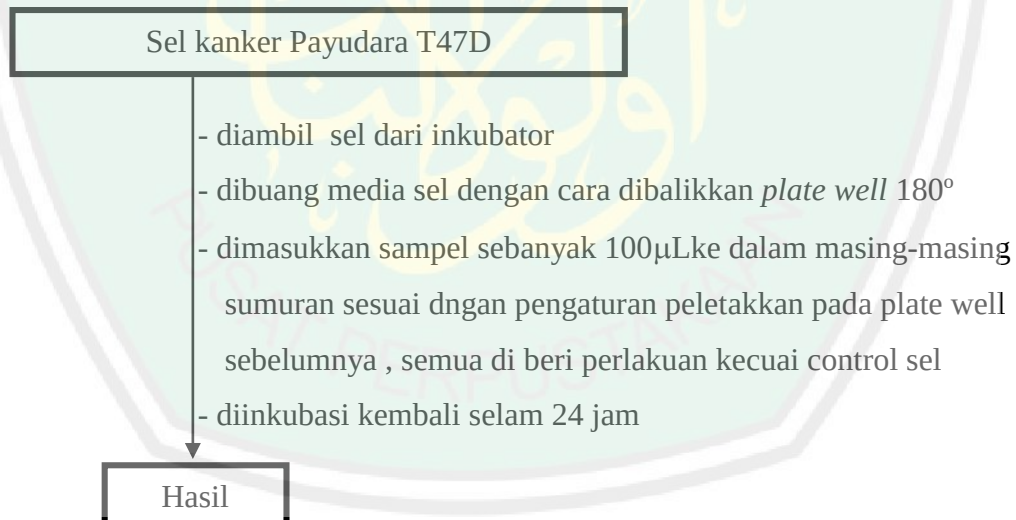
3.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada *Plate*



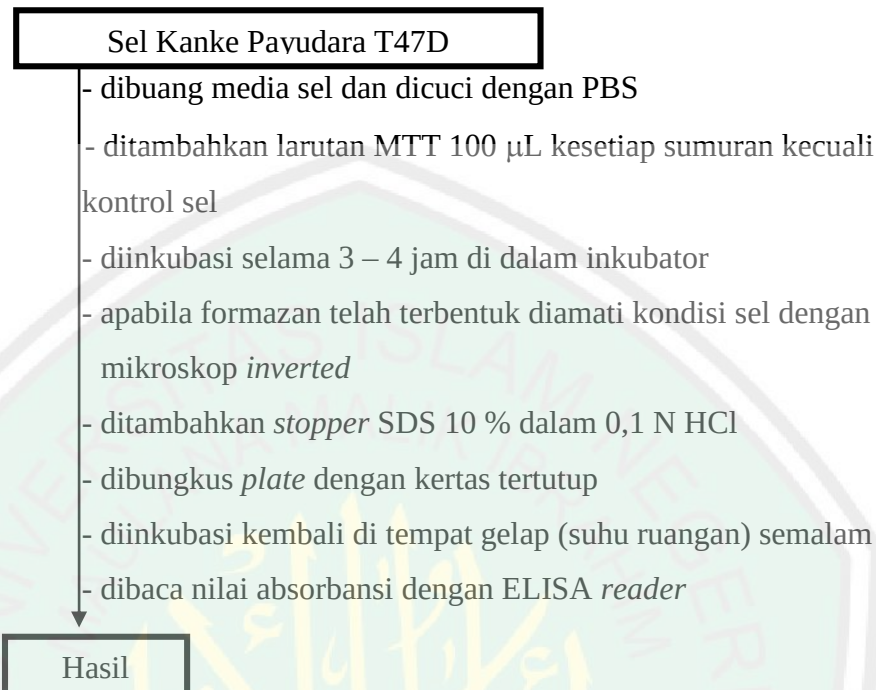
3.5 Pengambilan Doksorubisin



3.6 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada *Plate*



3.7 Pemberian Larutan MTT



Lampiran 4. Perhitungan Rendemen

4.1 Perhitungan Rendemen Serbuk Simplisia Buah Jambu Wer

Berat buah jambu wer sebelum diserbukkan : 2.220 gram

Berat buah jambu wer setelah diserbukkan : 500 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat sampel setelah diserbukkan}}{\text{berat sampel sebelum diserbukkan}} \times 100\% = \frac{500 \text{ g}}{2220 \text{ g}} \times 100\% = 22,52\%$$

4.2 Perhitungan Rendemen Hasil Maserasi Ekstrak Etanol 96%

Berat serbuk buah jambu wer = 500 gram

Berat ekstrak buah jambu wer = 83 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% = \frac{83 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% = 16,6\%$$

4.3 Perhitungan Rendemen Hasil Fraksi n-Heksan

Berat fraksi n-Heksan : 1,3 g

Berat sampel : 30 g

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat fraksi}}{\text{berat sampel}} \times 100\% = \frac{1,3 \text{ g}}{30 \text{ g}} \times 100\% = 4,3\%$$

4.4 Perhitungan Rendemen Hasil Fraksi Kloroform

Berat fraksi kloroform : 1,7 g

Berat sampel : 30 g

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat fraksi}}{\text{berat sampel}} \times \text{rendemen awal \%} = \frac{1,7 \text{ g}}{30 \text{ g}} \times 100\% = 5,7 \%$$

4.5 Perhitungan Rendemen Hasil Fraksi Etil Asetat

Berat fraksi etil asetat : 2,6 g

Berat sampel sebelumnya : 30 g

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat fraksi}}{\text{berat sampel}} \times \text{rendemen awal \%} = \frac{2,6 \text{ g}}{30 \text{ g}} \times 100\% = 8,7 \%$$

4.6 Perhitungan Rendemen Hasil Fraksi Air

Berat fraksi air : 8 g

Berat sampel sebelumnya : 30 g

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat fraksi}}{\text{berat sampel}} \times \text{rendemen awal \%} = \frac{8 \text{ g}}{30 \text{ g}} \times 100\% = 26,7\%$$

Lampiran 5. Perhitungan Bahan Uji Sitotoksik Metode MTT assay

5.1 Pembuatan Larutan SDS 10%

$$\text{SDS 10\%} = \frac{10 \text{ g}}{100 \text{ ml}}$$

Cara Pembuatannya yakni ditimbang 10 gram SDS (*Sodium Deodecyl Sulphate*) dan dimasukkan dalam *beaker glass* 100 ml, kemudian dilarutkan 100 ml aquadest.

5.2 Pembuatan Larutan Stock MTT (5 mg/ml) (CCRC,2009)

Ditimbang 50 mg serbuk MTT, dilarutkan dalam $\mu\text{L/ml}$ PBS dan diaduk dengan *vortex*.

5.3 Pembuatan Larutan Stok Kontrol Positif

Sediaan injeksi IV Doksorubicinlarutan stock adalah 100 $\mu\text{g/ml}$ kemudian dilakukan pengenceran 200 $\mu\text{l/ml}$ cara membuat 2000 ppm stock awal diambil 10 μl dari sediaan injeksi dan di add 190 $\mu\text{l/ml}$ MK (Media Komplite)

Pengencerannya :

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 \times 100 \mu\text{l/ml} = 1000 \mu\text{l/ml} \times 1 \mu\text{l/ml}$$

$$V_1 = 10 \mu\text{l/ml} + 990 \mu\text{l/ml} \text{ (Media Komplite)}$$

Jadi, larutan stock dokso 100 ppm dibuat dengan mengambil 10 $\mu\text{l/ml}$ dari larutan stock 2000 ppm, kemudian ditambahkan 900 $\mu\text{l/ml}$ media kultur RPMI dan diresuspensi hingga homogen.

Lampiran 6. Perhitungan Konsentrasi Sel

Kamar A = 154 Kamar B = 172 Kamar C= 186 Kamar D= 128

➤ Jumlah sel yang dihitung (mL^{-1})

$\Sigma \text{sel yang dihitung} =$

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

$$= \frac{640}{4} \times 10^4$$

$$= 160 \times 10^4 / \text{mL}$$

➤ **Jumlah mL Panenan Sel yang Ditransfer (Konsentrasi Sel)**

$$\Sigma \text{ Panenan Sel yang diperlukan} = \frac{\Sigma \text{ Total Sel yang diperlukan}}{\Sigma \text{ Sel yang terhitung/ml}}$$

$$= \frac{100 \times 10^4}{160 \times 10^4}$$

$$= 0,625 \text{ ml}$$

$$= 625 \mu\text{L}$$

Volume panenan yang ditransfer sebanyak 625 μL , ditambahkan hingga 10 ml media kultur RPMI (MK) karena setiap sumuran akan diisi 100 μL MK berisi sel, sehingga total volume yang diperlukan untuk memanen sel 100 μL x 100 sumuran = 10.000 μL atau 10 ml

Lampiran 7. Perhitungan IC₅₀ menggunakan *probit analysis* SPSS

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

Kontrol Sel Plate Well 1 berisi (Ekstrak, Fraksi N-Heksan, Kloroform)

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Jumlah	Rata-rata
0,658	0,756	0,768	2,182	0,727

Kontrol Media Plate Well 1 berisi (Ekstrak, Fraksi N-Heksan, Kloroform)

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Jumlah	Rata-rata
0,103	0,102	0,106	0,311	0,103

Kontrol Sel Plate Well 2 berisi (Doksorubisin, Fraksi Etil Asetat, Air)

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Jumlah	Rata-rata
0,79	0,799	0,799	2,388	0,796

Kontrol Media Plate Well 2 berisi (Doksorubisin, Fraksi Etil Asetat, Air)

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Jumlah	Rata-rata
0,052	0,052	0,057	0,161	0,053

Konsentrasi Fraksi N-Heksan							
ABSORBANSI							
	1	2	3	% sel hidup 1	% sel hidup 2	% sel hidup 3	Rata-rata
500	0.111	0.119	0.126	1.175841796	2.4585783	3.580972742	2.41
250	0.197	0.163	0.131	14.96525922	9.513629075	4.382683057	9.62
31.25	0.731	0.498	0.347	100.5879209	63.2282202	39.01656868	67.61
15.625	0.746	0.696	0.328	102.9930518	94.97594869	35.97006948	77.98
7.8125	0.702	0.648	0.641	95.93800107	87.27952966	86.15713522	89.79
KS	0.658	0.756	0.768	0.727333333			
KM	0.103	0.102	0.106	0.103666667			

a. Konsentrasi 500 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,111-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 1,17584\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,119-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 2,45857\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,126-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 3,58097 \%$

b. Konsentrasi 250 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,197-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 14,95652 \%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,163-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 9,51362 \%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,131-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 4,38268 \%$

c. Konsentrasi 31,25 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,731-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 100,58792\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,498-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 63,22822 \%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,347-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 39,016568 \%$

d. Konsentrasi 15,625 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,746-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 102,99305 \%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,696-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 94,97594\%$

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,328-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 35,97006\%$

e. Konsentrasi 7,8125 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,702-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 95,93800\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,648-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 87,27952\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,641-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 86,15713\%$

Replikasi 1

Confidence Limits							
PROBIT ^a	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
	.010	924.153	.	.	2.966	.	.
	.020	673.226	.	.	2.828	.	.
	.030	550.641	.	.	2.741	.	.
	.040	473.371	.	.	2.675	.	.
	.050	418.588	.	.	2.622	.	.
	.060	376.984	.	.	2.576	.	.
	.070	343.922	.	.	2.536	.	.
	.080	316.787	.	.	2.501	.	.
	.090	293.972	.	.	2.468	.	.
	.100	274.426	.	.	2.438	.	.
	.150	206.401	.	.	2.315	.	.
	.200	164.584	.	.	2.216	.	.
	.250	135.530	.	.	2.132	.	.
	.300	113.837	.	.	2.056	.	.
	.350	96.847	.	.	1.986	.	.
	.400	83.077	.	.	1.919	.	.
	.450	71.620	.	.	1.855	.	.
	.500	61.889	.	.	1.792	.	.
	.550	53.480	.	.	1.728	.	.
	.600	46.105	.	.	1.664	.	.
	.650	39.549	.	.	1.597	.	.
	.700	33.647	.	.	1.527	.	.
	.750	28.261	.	.	1.451	.	.
	.800	23.272	.	.	1.367	.	.
	.850	18.557	.	.	1.269	.	.
	.900	13.957	.	.	1.145	.	.
	.910	13.029	.	.	1.115	.	.
	.920	12.091	.	.	1.082	.	.
	.930	11.137	.	.	1.047	.	.
	.940	10.160	.	.	1.007	.	.
	.950	9.150	.	.	.961	.	.
	.960	8.091	.	.	.908	.	.
	.970	6.956	.	.	.842	.	.
	.980	5.689	.	.	.755	.	.
	.990	4.145	.	.	.617	.	.

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikai 2

Confidence Limits							
	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	889.501	263.236	31715.262	2.949	2.420	4.501
	.020	637.197	207.929	15976.351	2.804	2.318	4.203
	.030	515.651	178.664	10361.643	2.712	2.252	4.015
	.040	439.755	159.189	7490.882	2.643	2.202	3.875
	.050	386.336	144.783	5759.009	2.587	2.161	3.760
	.060	346.013	133.448	4607.873	2.539	2.125	3.664
	.070	314.135	124.159	3792.069	2.497	2.094	3.579
	.080	288.093	116.322	3186.858	2.460	2.066	3.503
	.090	266.288	109.567	2722.193	2.425	2.040	3.435
	.100	247.678	103.645	2355.759	2.394	2.016	3.372
	.150	183.493	81.848	1302.551	2.264	1.913	3.115
	.200	144.573	67.241	820.644	2.160	1.828	2.914
	.250	117.832	56.318	556.877	2.071	1.751	2.746
	.300	98.062	47.608	396.621	1.991	1.678	2.598
	.350	82.715	40.360	292.352	1.918	1.606	2.466
	.400	70.380	34.152	221.149	1.847	1.533	2.345
	.450	60.199	28.727	170.745	1.780	1.458	2.232
	.500	51.619	23.927	134.047	1.713	1.379	2.127
	.550	44.261	19.656	106.699	1.646	1.293	2.028
	.600	37.859	15.858	85.892	1.578	1.200	1.934
	.650	32.213	12.501	69.738	1.508	1.097	1.843
	.700	27.171	9.570	56.926	1.434	.981	1.755
	.750	22.612	7.052	46.514	1.354	.848	1.668
	.800	18.430	4.931	37.804	1.266	.693	1.578
	.850	14.521	3.190	30.244	1.162	.504	1.481
	.900	10.758	1.806	23.323	1.032	.257	1.368
	.910	10.006	1.570	21.963	1.000	.196	1.342
	.920	9.249	1.347	20.595	.966	.130	1.314
	.930	8.482	1.137	19.209	.928	.056	1.284
	.940	7.701	.940	17.792	.887	-.027	1.250
	.950	6.897	.756	16.325	.839	-.122	1.213
	.960	6.059	.584	14.779	.782	-.234	1.170
	.970	5.167	.424	13.104	.713	-.373	1.117
	.980	4.182	.277	11.199	.621	-.558	1.049
	.990	2.995	.140	8.789	.476	-.853	.944

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 3

Confidence Limits							
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT ^a							
.010	686.351	129.654	4503721020	2.837	2.113	9.654	
.020	450.744	100.293	415015378.5	2.654	2.001	8.618	
.030	345.195	84.854	91815212.72	2.538	1.929	7.963	
.040	282.426	74.608	29603539.91	2.451	1.873	7.471	
.050	239.887	67.036	11816934.84	2.380	1.826	7.073	
.060	208.766	61.077	5418839.514	2.320	1.786	6.734	
.070	184.820	56.186	2740394.151	2.267	1.750	6.438	
.080	165.720	52.052	1490855.060	2.219	1.716	6.173	
.090	150.068	48.478	858420.931	2.176	1.686	5.934	
.100	136.970	45.334	517261.737	2.137	1.656	5.714	
.150	93.847	33.599	64926.040	1.972	1.526	4.812	
.200	69.488	25.448	12982.925	1.842	1.406	4.113	
.250	53.697	19.059	3433.042	1.730	1.280	3.536	
.300	42.599	13.718	1114.202	1.629	1.137	3.047	
.350	34.374	9.189	432.266	1.536	.963	2.636	
.400	28.043	5.542	199.564	1.448	.744	2.300	
.450	23.029	2.944	109.010	1.362	.469	2.037	
.500	18.971	1.381	68.798	1.278	.140	1.838	
.550	15.629	.582	48.319	1.194	-.235	1.684	
.600	12.835	.224	36.427	1.108	-.650	1.561	
.650	10.471	.079	28.690	1.020	-1.101	1.458	
.700	8.449	.025	23.165	.927	-1.594	1.365	
.750	6.703	.007	18.914	.826	-2.137	1.277	
.800	5.180	.002	15.430	.714	-2.752	1.188	
.850	3.835	.000	12.405	.584	-3.477	1.094	
.900	2.628	.000	9.603	.420	-4.397	.982	
.910	2.398	.000	9.047	.380	-4.620	.957	
.920	2.172	.000	8.486	.337	-4.863	.929	
.930	1.947	.000	7.915	.289	-5.130	.898	
.940	1.724	.000	7.330	.237	-5.429	.865	
.950	1.500	.000	6.721	.176	-5.771	.827	
.960	1.274	.000	6.078	.105	-6.172	.784	
.970	1.043	.000	5.379	.018	-6.667	.731	
.980	.798	.000	4.583	-.098	-7.325	.661	
.990	.524	.000	3.573	-.280	-8.364	.553	

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Konsentrasi Fraksi Kloroform							
	1	2	3	% Sel hidup	% Sel hidup 2	% Sel hidup 3	Rata-rata
500	0.138	0.139	0.153	5.5050775	5.665419562	7.910208445	6.36
250	0.317	0.255	0.183	34.2063068	24.26509888	12.72047034	23.73
31.25	0.245	0.369	0.366	22.6616782	42.54409407	42.06306788	35.76
15.625	0.241	0.449	0.423	22.02031	55.37145911	51.20256547	42.86
7.8125	0.54	0.506	0.389	69.9625869	64.51095671	45.75093533	60.07
KS	0.658	0.756	0.768	0.72733333			
KM	0.103	0.102	0.106	0.10366667			

a. Konsentrasi 500 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,138-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 5,50507 \%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,139-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 5,66541\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,153-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 7,91020\%$

b. Konsentrasi 250 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,317-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 34,20636\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,255-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 24,26509\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,183-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 12,72047\%$

c. Konsentrasi 31,25 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,245-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 22,661678\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,369-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 42,544094\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,366-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 42,063067\%$

d. Konsentrasi 15,625 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,241-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 22,02031\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,449-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 55,371459\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,423-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 51,20256\%$

e. Konsentrasi 7,8125 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,54-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 69,96258\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,506-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 64,51095\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,389-0,0923)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 45,75093\%$

Replikasi 1

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	44670.918	.	.	4.650	.	.
	.020	15987.537	.	.	4.204	.	.
	.030	8330.182	.	.	3.921	.	.
	.040	5101.161	.	.	3.708	.	.
	.050	3423.117	.	.	3.534	.	.
	.060	2437.593	.	.	3.387	.	.
	.070	1809.952	.	.	3.258	.	.
	.080	1386.435	.	.	3.142	.	.
	.090	1087.962	.	.	3.037	.	.
	.100	870.358	.	.	2.940	.	.
	.150	345.494	.	.	2.538	.	.
	.200	165.781	.	.	2.220	.	.
	.250	88.296	.	.	1.946	.	.
	.300	50.147	.	.	1.700	.	.
	.350	29.687	.	.	1.473	.	.
	.400	18.052	.	.	1.257	.	.
	.450	11.156	.	.	1.048	.	.
	.500	6.947	.	.	.842	.	.
	.550	4.326	.	.	.636	.	.
	.600	2.673	.	.	.427	.	.
	.650	1.626	.	.	.211	.	.
	.700	.962	.	.	-.017	.	.
	.750	.547	.	.	-.262	.	.
	.800	.291	.	.	-.536	.	.
	.850	.140	.	.	-.855	.	.
	.900	.055	.	.	-1.256	.	.
	.910	.044	.	.	-1.353	.	.
	.920	.035	.	.	-1.458	.	.
	.930	.027	.	.	-1.574	.	.
	.940	.020	.	.	-1.703	.	.
	.950	.014	.	.	-1.851	.	.
	.960	.009	.	.	-2.024	.	.
	.970	.006	.	.	-2.237	.	.
	.980	.003	.	.	-2.520	.	.
	.990	.001	.	.	-2.966	.	.

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 2

Confidence Limits							
	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	8596.428	1272.566	2358741.670	3.934	3.105	6.373
	.020	4254.995	785.866	576338.895	3.629	2.895	5.761
	.030	2723.457	577.388	236291.892	3.435	2.761	5.373
	.040	1946.922	457.107	121028.478	3.289	2.660	5.083
	.050	1481.747	377.493	70327.750	3.171	2.577	4.847
	.060	1174.489	320.377	44357.227	3.070	2.506	4.647
	.070	957.981	277.162	29642.810	2.981	2.443	4.472
	.080	798.221	243.200	20683.060	2.902	2.386	4.316
	.090	676.181	215.736	14923.479	2.830	2.334	4.174
	.100	580.406	193.030	11060.898	2.764	2.286	4.044
	.150	308.391	120.276	3241.167	2.489	2.080	3.511
	.200	186.567	80.741	1249.748	2.271	1.907	3.097
	.250	121.222	55.778	567.399	2.084	1.746	2.754
	.300	82.304	38.590	289.512	1.915	1.586	2.462
	.350	57.491	26.184	162.574	1.760	1.418	2.211
	.400	40.901	17.151	99.351	1.612	1.234	1.997
	.450	29.422	10.756	65.327	1.469	1.032	1.815
	.500	21.276	6.457	45.506	1.328	.810	1.658
	.550	15.385	3.724	33.003	1.187	.571	1.519
	.600	11.067	2.066	24.532	1.044	.315	1.390
	.650	7.874	1.099	18.450	.896	.041	1.266
	.700	5.500	.557	13.887	.740	-.254	1.143
	.750	3.734	.264	10.348	.572	-.579	1.015
	.800	2.426	.114	7.534	.385	-.945	.877
	.850	1.468	.042	5.252	.167	-1.375	.720
	.900	.780	.012	3.366	-.108	-1.920	.527
	.910	.669	.009	3.026	-.174	-2.052	.481
	.920	.567	.006	2.697	-.246	-2.196	.431
	.930	.473	.004	2.377	-.326	-2.354	.376
	.940	.385	.003	2.065	-.414	-2.531	.315
	.950	.305	.002	1.760	-.515	-2.733	.246
	.960	.233	.001	1.460	-.634	-2.971	.164
	.970	.166	.001	1.161	-.779	-3.263	.065
	.980	.106	.000	.857	-.973	-3.653	-.067
	.990	.053	.000	.532	-1.279	-4.267	-.274

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 3

Confidence Limits							
	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	9602.690	1073.138	37030280.08	3.982	3.031	7.569
	.020	4336.837	639.606	5334051.153	3.637	2.806	6.727
	.030	2619.041	459.018	1565465.154	3.418	2.662	6.195
	.040	1792.148	356.759	624017.236	3.253	2.552	5.795
	.050	1316.278	290.042	295909.036	3.119	2.462	5.471
	.060	1012.209	242.743	157084.396	3.005	2.385	5.196
	.070	803.982	207.315	90306.111	2.905	2.317	4.956
	.080	654.165	179.715	55099.945	2.816	2.255	4.741
	.090	542.296	157.569	35212.509	2.734	2.197	4.547
	.100	456.311	139.385	23355.325	2.659	2.144	4.368
	.150	223.277	81.961	4367.570	2.349	1.914	3.640
	.200	126.512	51.305	1206.988	2.102	1.710	3.082
	.250	77.710	32.139	427.664	1.890	1.507	2.631
	.300	50.165	19.240	184.871	1.700	1.284	2.267
	.350	33.440	10.654	95.405	1.524	1.028	1.980
	.400	22.758	5.430	57.031	1.357	.735	1.756
	.450	15.683	2.593	37.807	1.195	.414	1.578
	.500	10.872	1.184	26.713	1.036	.073	1.427
	.550	7.536	.521	19.572	.877	-.283	1.292
	.600	5.194	.221	14.608	.715	-.656	1.165
	.650	3.535	.090	10.972	.548	-1.047	1.040
	.700	2.356	.034	8.210	.372	-1.466	.914
	.750	1.521	.012	6.059	.182	-1.921	.782
	.800	.934	.004	4.353	-.030	-2.431	.639
	.850	.529	.001	2.980	-.276	-3.028	.474
	.900	.259	.000	1.863	-.587	-3.783	.270
	.910	.218	.000	1.665	-.662	-3.966	.221
	.920	.181	.000	1.474	-.743	-4.164	.168
	.930	.147	.000	1.289	-.833	-4.383	.110
	.940	.117	.000	1.111	-.933	-4.627	.046
	.950	.090	.000	.937	-1.047	-4.906	-.028
	.960	.066	.000	.768	-1.181	-5.233	-.114
	.970	.045	.000	.602	-1.346	-5.636	-.220
	.980	.027	.000	.436	-1.565	-6.172	-.361
	.990	.012	.000	.262	-1.910	-7.018	-.581

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Konsentrasi Absorpsi Fraksi EA							
	ABSORBANSI						
	1	2	3	% Sel Hidup 1	% Sel hidup 2	% Sel hidup 3	RATA-RATA
500	0.467	0.479	0.467	55.68028738	57.29681185	55.68028738	56.22
250	0.575	0.589	0.567	70.22900763	72.11495285	69.15132465	70.50
31.25	0.687	0.688	0.678	85.31656938	85.45127975	84.10417602	84.96
15.625	0.734	0.781	0.721	91.64795689	97.97934441	89.89672205	93.17
7.8125	0.749	0.788	0.782	93.66861248	98.92231702	98.11405478	96.90
KS	0.79	0.799	0.799	0.796			
KM	0.052	0.052	0.057	0.053666667			

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

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,467-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 55,68028\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,479-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 57,29681\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,467-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 55,68028\%$

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

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,575-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 70,22900 \%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,589-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 72,11495\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,567-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 69,15132\%$

h. Konsentrasi 31,25 ($\mu\text{g/mL}$)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,687-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 85,31656\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,688-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 85,45127\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,678-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 84,10417\%$

i. Konsentrasi 15,625 ($\mu\text{g/mL}$)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,734-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 91,64795\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,781-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 97,97934\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,721-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 89,89672\%$

j. Konsentrasi 7,8125 ($\mu\text{g/mL}$)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,749-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 93,66861\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,788-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 98,92231\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,782-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 98,11405\%$

Replikasi 1

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	1286439.369	173403.662	38226046.09	6.109	5.239	7.582
	.020	553195.187	88486.891	12251605.29	5.743	4.947	7.088
	.030	323846.315	57723.775	5953962.103	5.510	4.761	6.775
	.040	216475.425	41850.526	3460576.472	5.335	4.622	6.539
	.050	155997.001	32213.367	2226006.166	5.193	4.508	6.348
	.060	118032.909	25777.191	1529254.613	5.072	4.411	6.184
	.070	92429.495	21198.975	1100437.734	4.966	4.326	6.042
	.080	74255.364	17792.561	819676.974	4.871	4.250	5.914
	.090	60849.061	15170.994	627101.900	4.784	4.181	5.797
	.100	50658.750	13099.653	490131.452	4.705	4.117	5.690
	.150	23718.740	7126.857	176848.090	4.375	3.853	5.248
	.200	12976.737	4387.286	78766.667	4.113	3.642	4.896
	.250	7734.927	2889.678	39407.364	3.888	3.461	4.596
	.300	4860.270	1983.228	21188.642	3.687	3.297	4.326
	.350	3159.850	1396.946	11942.696	3.500	3.145	4.077
	.400	2100.039	999.804	6945.019	3.322	3.000	3.842
	.450	1414.338	721.606	4120.622	3.151	2.858	3.615
	.500	958.519	521.810	2473.229	2.982	2.718	3.393
	.550	649.603	375.617	1491.235	2.813	2.575	3.174
	.600	437.496	267.149	897.867	2.641	2.427	2.953
	.650	290.760	185.877	537.090	2.464	2.269	2.730
	.700	189.035	124.661	317.942	2.277	2.096	2.502
	.750	118.781	78.721	185.795	2.075	1.896	2.269
	.800	70.800	45.142	106.767	1.850	1.655	2.028
	.850	38.736	22.294	59.275	1.588	1.348	1.773
	.900	18.136	8.643	30.012	1.259	.937	1.477
	.910	15.099	6.833	25.621	1.179	.835	1.409
	.920	12.373	5.283	21.615	1.092	.723	1.335
	.930	9.940	3.975	17.963	.997	.599	1.254
	.940	7.784	2.887	14.635	.891	.460	1.165
	.950	5.890	2.001	11.607	.770	.301	1.065
	.960	4.244	1.298	8.858	.628	.113	.947
	.970	2.837	.761	6.369	.453	-.119	.804
	.980	1.661	.373	4.119	.220	-.428	.615
	.990	.714	.121	2.082	-.146	-.918	.318

a. Logarithm base = 10.

Replikasi 2

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	175233.718	10705.488	9990078918	5.244	4.030	10.000
	.020	93077.638	7151.362	2063759868	4.969	3.854	9.315
	.030	62303.310	5531.560	759411282.4	4.795	3.743	8.880
	.040	46064.491	4557.303	358170939.0	4.663	3.659	8.554
	.050	36032.140	3891.315	194433177.4	4.557	3.590	8.289
	.060	29234.242	3400.640	115631981.3	4.466	3.532	8.063
	.070	24337.702	3020.792	73333975.14	4.386	3.480	7.865
	.080	20653.624	2716.199	48789271.23	4.315	3.434	7.688
	.090	17789.632	2465.420	33686669.84	4.250	3.392	7.527
	.100	15505.704	2254.662	23958724.45	4.190	3.353	7.379
	.150	8778.474	1553.780	5857846.185	3.943	3.191	6.768
	.200	5585.393	1151.836	1918884.325	3.747	3.061	6.283
	.250	3789.568	887.999	739060.080	3.579	2.948	5.869
	.300	2674.877	700.510	314849.848	3.427	2.845	5.498
	.350	1936.935	560.055	143367.228	3.287	2.748	5.156
	.400	1425.901	450.753	68285.442	3.154	2.654	4.834
	.450	1060.195	363.174	33517.205	3.025	2.560	4.525
	.500	791.995	291.315	16769.538	2.899	2.464	4.225
	.550	591.642	231.146	8482.039	2.772	2.364	3.929
	.600	439.902	179.837	4311.447	2.643	2.255	3.635
	.650	323.840	135.365	2195.748	2.510	2.132	3.342
	.700	234.499	96.391	1122.575	2.370	1.984	3.050
	.750	165.522	62.482	582.000	2.219	1.796	2.765
	.800	112.303	34.649	311.629	2.050	1.540	2.494
	.850	71.454	15.065	174.052	1.854	1.178	2.241
	.900	40.453	4.499	98.205	1.607	.653	1.992
	.910	35.260	3.303	86.998	1.547	.519	1.940
	.920	30.370	2.349	76.660	1.482	.371	1.885
	.930	25.773	1.607	67.047	1.411	.206	1.826
	.940	21.456	1.046	58.026	1.332	.020	1.764
	.950	17.408	.638	49.471	1.241	-.195	1.694
	.960	13.617	.354	41.250	1.134	-.450	1.615
	.970	10.068	.171	33.202	1.003	-.767	1.521
	.980	6.739	.064	25.081	.829	-1.191	1.399
	.990	3.580	.014	16.319	.554	-1.864	1.213

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 3

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	556645.630	98748.089	9412612.916	5.746	4.995	6.974
	.020	258455.685	53141.582	3419799.715	5.412	4.725	6.534
	.030	158849.552	35855.598	1799554.195	5.201	4.555	6.255
	.040	110143.263	26663.753	1110449.623	5.042	4.426	6.045
	.050	81771.296	20951.680	749926.859	4.913	4.321	5.875
	.060	63459.656	17062.659	536991.768	4.802	4.232	5.730
	.070	50811.120	14249.990	400711.350	4.706	4.154	5.603
	.080	41640.857	12126.264	308344.722	4.620	4.084	5.489
	.090	34746.155	10470.061	242985.516	4.541	4.020	5.386
	.100	29413.279	9145.525	195155.984	4.469	3.961	5.290
	.150	14755.026	5219.216	78819.969	4.169	3.718	4.897
	.200	8527.558	3337.357	38396.715	3.931	3.523	4.584
	.250	5327.739	2270.982	20744.965	3.727	3.356	4.317
	.300	3492.140	1604.926	11951.263	3.543	3.205	4.077
	.350	2361.003	1161.595	7180.957	3.373	3.065	3.856
	.400	1628.501	853.086	4437.015	3.212	2.931	3.647
	.450	1136.894	631.306	2791.509	3.056	2.800	3.446
	.500	798.227	467.935	1774.813	2.902	2.670	3.249
	.550	560.445	345.331	1133.344	2.749	2.538	3.054
	.600	391.260	252.008	723.067	2.592	2.401	2.859
	.650	269.871	180.228	458.792	2.431	2.256	2.662
	.700	182.457	124.686	288.397	2.261	2.096	2.460
	.750	119.594	81.804	178.969	2.078	1.913	2.253
	.800	74.719	49.393	108.973	1.873	1.694	2.037
	.850	43.183	26.234	63.910	1.635	1.419	1.806
	.900	21.663	11.281	34.257	1.336	1.052	1.535
	.910	18.338	9.153	29.620	1.263	.962	1.472
	.920	15.301	7.282	25.330	1.185	.862	1.404
	.930	12.540	5.655	21.361	1.098	.752	1.330
	.940	10.040	4.256	17.688	1.002	.629	1.248
	.950	7.792	3.073	14.287	.892	.488	1.155
	.960	5.785	2.092	11.137	.762	.320	1.047
	.970	4.011	1.301	8.217	.603	.114	.915
	.980	2.465	.690	5.500	.392	-.161	.740
	.990	1.145	.253	2.933	.059	-.597	.467

a. Logarithm base = 10.

Konsentrasi Fraksi Air							
ABSORBANSI							
	1	2	3	% Sel hidup 1	% Sel hidup 2	% Sel hidup 3	RATA-RATA
500	0.43	0.53	0.54	50.6960036	64.16704086	65.51414459	60.13
250	0.623	0.67	0.68	76.6951055	83.02649304	84.37359677	81.37
31.25	0.726	0.794	0.801	90.5702739	99.73057925	100.6735519	96.99
15.625	0.79	0.781	0.754	99.1917378	97.97934441	94.34216435	97.17
7.8125	0.79	0.781	0.794	99.1917378	97.97934441	99.73057925	98.97
KS	0.79	0.799	0.799	0.796			
KM	0.052	0.052	0.057	0.05366667			

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

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,43-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 50,69600\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,53-0,053)}{(0,54-0,053)} \times 100 \% = 64,167040\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,54-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 65,14144\%$

l. Konsentrasi 250 ($\mu\text{g/mL}$)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,623-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 76,69510\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,67-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 83,02649\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,68-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 84,37359\%$

m. Konsentrasi 31,25 ($\mu\text{g/mL}$)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,726-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 90,57027\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,794-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 99,73057\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,801-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 100,67355\%$

n. Konsentrasi 15,625 ($\mu\text{g/mL}$)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,79-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 99,19173\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,781-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 97,97934\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,754-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 94,34216\%$

o. Konsentrasi 7,8125 ($\mu\text{g/mL}$)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,79-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 99,19173\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,781-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 97,97934\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,794-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 99,73057\%$

Replikasi 1

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a						
.010	53318.048	6142.781	92999755.24	4.727	3.788	7.968
.020	31828.700	4377.944	28959487.93	4.503	3.641	7.462
.030	22943.675	3528.345	13825598.39	4.361	3.548	7.141
.040	17935.959	2998.142	7931590.562	4.254	3.477	6.899
.050	14680.420	2625.165	5049326.605	4.167	3.419	6.703
.060	12379.402	2343.749	3439031.436	4.093	3.370	6.536
.070	10660.610	2121.370	2456425.954	4.028	3.327	6.390
.080	9325.156	1939.766	1817863.396	3.970	3.288	6.260
.090	8256.441	1787.762	1382763.011	3.917	3.252	6.141
.100	7381.289	1658.073	1075136.736	3.868	3.220	6.031
.150	4641.560	1211.077	380205.400	3.667	3.083	5.580
.200	3210.283	940.231	167004.840	3.507	2.973	5.223
.250	2339.775	754.143	82731.539	3.369	2.877	4.918
.300	1761.215	616.437	44184.598	3.246	2.790	4.645
.350	1353.628	509.330	24808.396	3.131	2.707	4.395
.400	1054.453	422.937	14414.678	3.023	2.626	4.159
.450	828.094	351.243	8575.085	2.918	2.546	3.933
.500	652.823	290.331	5182.921	2.815	2.463	3.715
.550	514.650	237.505	3165.303	2.712	2.376	3.500
.600	404.170	190.845	1946.139	2.607	2.281	3.289
.650	314.841	148.984	1202.812	2.498	2.173	3.080
.700	241.980	111.096	748.299	2.384	2.046	2.874
.750	182.145	77.097	470.731	2.260	1.887	2.673
.800	132.754	47.921	300.917	2.123	1.681	2.478
.850	91.818	25.256	194.703	1.963	1.402	2.289
.900	57.738	10.255	123.862	1.761	1.011	2.093
.910	51.618	8.160	112.246	1.713	.912	2.050
.920	45.702	6.345	101.203	1.660	.802	2.005
.930	39.977	4.795	90.627	1.602	.681	1.957
.940	34.426	3.494	80.406	1.537	.543	1.905
.950	29.030	2.426	70.418	1.463	.385	1.848
.960	23.761	1.574	60.510	1.376	.197	1.782
.970	18.575	.920	50.463	1.269	-.036	1.703
.980	13.390	.448	39.890	1.127	-.349	1.601
.990	7.993	.143	27.814	.903	-.846	1.444

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 2

Confidence Limits							
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT ^a							
.010	147800.178	8142.805	1.221E+13	5.170	3.911	13.087	
.020	85091.245	5872.158	1.570E+12	4.930	3.769	12.196	
.030	59944.006	4768.406	4.276E+11	4.778	3.678	11.631	
.040	46057.189	4075.089	1.608E+11	4.663	3.610	11.206	
.050	37170.854	3584.895	7.263E+10	4.570	3.554	10.861	
.060	30971.638	3213.486	3.693E+10	4.491	3.507	10.567	
.070	26392.931	2918.932	2.041E+10	4.421	3.465	10.310	
.080	22870.710	2677.621	1.201E+10	4.359	3.428	10.079	
.090	20077.239	2475.061	7411888971	4.303	3.394	9.870	
.100	17808.446	2301.785	4755103592	4.251	3.362	9.677	
.150	10839.500	1700.862	758463055.9	4.035	3.231	8.880	
.200	7305.398	1333.362	176854796.0	3.864	3.125	8.248	
.250	5207.480	1078.988	50860070.00	3.717	3.033	7.706	
.300	3842.400	889.563	16657481.15	3.585	2.949	7.222	
.350	2899.089	741.421	5940481.247	3.462	2.870	6.774	
.400	2219.075	621.346	2241694.746	3.346	2.793	6.351	
.450	1713.381	521.261	877246.951	3.234	2.717	5.943	
.500	1328.363	435.867	350558.247	3.123	2.639	5.545	
.550	1029.863	361.464	141248.997	3.013	2.558	5.150	
.600	795.173	295.305	56760.561	2.900	2.470	4.754	
.650	608.656	235.201	22537.320	2.784	2.371	4.353	
.700	459.231	179.295	8787.653	2.662	2.254	3.944	
.750	338.849	126.121	3373.251	2.530	2.101	3.528	
.800	241.540	75.695	1307.970	2.383	1.879	3.117	
.850	162.789	33.088	546.956	2.212	1.520	2.738	
.900	99.085	8.201	260.086	1.996	.914	2.415	
.910	87.888	5.617	226.554	1.944	.750	2.355	
.920	77.153	3.679	197.389	1.887	.566	2.295	
.930	66.857	2.283	171.627	1.825	.359	2.235	
.940	56.973	1.325	148.479	1.756	.122	2.172	
.950	47.471	.705	127.278	1.676	-.152	2.105	
.960	38.312	.332	107.418	1.583	-.479	2.031	
.970	29.437	.130	88.263	1.469	-.887	1.946	
.980	20.737	.037	68.962	1.317	-1.435	1.839	
.990	11.939	.005	47.728	1.077	-2.308	1.679	

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 3

Confidence Limits							
	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	759206.612	.	.	5.880	.	.
	.020	376668.580	.	.	5.576	.	.
	.030	241449.873	.	.	5.383	.	.
	.040	172798.907	.	.	5.238	.	.
	.050	131632.171	.	.	5.119	.	.
	.060	104417.478	.	.	5.019	.	.
	.070	85226.855	.	.	4.931	.	.
	.080	71056.989	.	.	4.852	.	.
	.090	60226.421	.	.	4.780	.	.
	.100	51722.185	.	.	4.714	.	.
	.150	27539.940	.	.	4.440	.	.
	.200	16688.753	.	.	4.222	.	.
	.250	10859.122	.	.	4.036	.	.
	.300	7382.372	.	.	3.868	.	.
	.350	5162.864	.	.	3.713	.	.
	.400	3677.233	.	.	3.566	.	.
	.450	2648.131	.	.	3.423	.	.
	.500	1916.984	.	.	3.283	.	.
	.550	1387.705	.	.	3.142	.	.
	.600	999.345	.	.	3.000	.	.
	.650	711.781	.	.	2.852	.	.
	.700	497.784	.	.	2.697	.	.
	.750	338.409	.	.	2.529	.	.
	.800	220.198	.	.	2.343	.	.
	.850	133.436	.	.	2.125	.	.
	.900	71.049	.	.	1.852	.	.
	.910	61.017	.	.	1.785	.	.
	.920	51.717	.	.	1.714	.	.
	.930	43.118	.	.	1.635	.	.
	.940	35.194	.	.	1.546	.	.
	.950	27.917	.	.	1.446	.	.
	.960	21.266	.	.	1.328	.	.
	.970	15.220	.	.	1.182	.	.
	.980	9.756	.	.	.989	.	.
	.990	4.840	.	.	.685	.	.

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Konsentrasi Ekstrak Jambu Wer							
	1	2	3	%Sel hidup 1	%Sel hidup 2	%Sel hidup 3	RATA-RATA
500	0.349	0.355	0.387	39.33725281	40.29930518	45.430251	41.69
250	0.444	0.473	0.487	54.5697488	59.21966863	61.464458	58.42
31.25	0.406	0.365	0.525	48.4767504	41.90272582	67.557456	52.65
15.625	0.393	0.488	0.528	46.39230358	61.62479957	68.038482	58.69
7.8125	0.689	0.648	0.721	93.85355425	87.27952966	98.9845	93.37
KS	0.658	0.756	0.768	0.727333333			
KM	0.103	0.102	0.106	0.103666667			

p. Konsentrasi 500 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,349-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 39,33725\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,355-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 40,299305\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,387-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 45,43025\%$

q. Konsentrasi 250 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,444-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 54,56974\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,473-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 59,21966\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,487-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 61,46445\%$

r. Konsentrasi 31,25 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,406-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 48,47675\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,365-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 41,90272\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,525-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 67,55745\%$

s. Konsentrasi 15,625 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,393-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 46,39230\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,488-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 61,62479\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,528-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 68,03848\%$

t. Konsentrasi 7,8125 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,689-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 93,85355\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,648-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 87,27952\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,721-0,103)}{(0,727-0,103)} \times 100 \% = 98,98450\%$

Replikasi 1

Confidence Limits							
	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	17670548.24	.	.	7.247	.	.
	.020	4427065.392	.	.	6.646	.	.
	.030	1839567.091	.	.	6.265	.	.
	.040	950173.773	.	.	5.978	.	.
	.050	555164.616	.	.	5.744	.	.
	.060	351380.511	.	.	5.546	.	.
	.070	235291.179	.	.	5.372	.	.
	.080	164306.738	.	.	5.216	.	.
	.090	118529.060	.	.	5.074	.	.
	.100	87754.541	.	.	4.943	.	.
	.150	25277.611	.	.	4.403	.	.
	.200	9400.200	.	.	3.973	.	.
	.250	4023.272	.	.	3.605	.	.
	.300	1877.601	.	.	3.274	.	.
	.350	926.626	.	.	2.967	.	.
	.400	474.108	.	.	2.676	.	.
	.450	247.916	.	.	2.394	.	.
	.500	130.978	.	.	2.117	.	.
	.550	69.197	.	.	1.840	.	.
	.600	36.184	.	.	1.559	.	.
	.650	18.514	.	.	1.267	.	.
	.700	9.137	.	.	.961	.	.
	.750	4.264	.	.	.630	.	.
	.800	1.825	.	.	.261	.	.
	.850	.679	.	.	-.168	.	.
	.900	.195	.	.	-.709	.	.
	.910	.145	.	.	-.839	.	.
	.920	.104	.	.	-.981	.	.
	.930	.073	.	.	-1.137	.	.
	.940	.049	.	.	-1.311	.	.
	.950	.031	.	.	-1.510	.	.
	.960	.018	.	.	-1.743	.	.
	.970	.009	.	.	-2.030	.	.
	.980	.004	.	.	-2.412	.	.
	.990	.001	.	.	-3.013	.	.

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 2

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	54046587.53	.	.	7.733	.	.
	.020	12271424.88	.	.	7.089	.	.
	.030	4790469.031	.	.	6.680	.	.
	.040	2360840.484	.	.	6.373	.	.
	.050	1327677.308	.	.	6.123	.	.
	.060	813439.584	.	.	5.910	.	.
	.070	529383.090	.	.	5.724	.	.
	.080	360356.284	.	.	5.557	.	.
	.090	253990.664	.	.	5.405	.	.
	.100	184068.871	.	.	5.265	.	.
	.150	48530.653	.	.	4.686	.	.
	.200	16821.849	.	.	4.226	.	.
	.250	6778.171	.	.	3.831	.	.
	.300	2996.434	.	.	3.477	.	.
	.350	1406.373	.	.	3.148	.	.
	.400	686.091	.	.	2.836	.	.
	.450	342.603	.	.	2.535	.	.
	.500	172.974	.	.	2.238	.	.
	.550	87.332	.	.	1.941	.	.
	.600	43.609	.	.	1.640	.	.
	.650	21.275	.	.	1.328	.	.
	.700	9.985	.	.	.999	.	.
	.750	4.414	.	.	.645	.	.
	.800	1.779	.	.	.250	.	.
	.850	.617	.	.	-.210	.	.
	.900	.163	.	.	-.789	.	.
	.910	.118	.	.	-.929	.	.
	.920	.083	.	.	-1.081	.	.
	.930	.057	.	.	-1.248	.	.
	.940	.037	.	.	-1.434	.	.
	.950	.023	.	.	-1.647	.	.
	.960	.013	.	.	-1.897	.	.
	.970	.006	.	.	-2.204	.	.
	.980	.002	.	.	-2.613	.	.
	.990	.001	.	.	-3.257	.	.

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 3

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	1732580.014	.	.	6.239	.	.
	.020	642377.676	.	.	5.808	.	.
	.030	342291.717	.	.	5.534	.	.
	.040	213173.245	.	.	5.329	.	.
	.050	145024.423	.	.	5.161	.	.
	.060	104483.993	.	.	5.019	.	.
	.070	78379.118	.	.	4.894	.	.
	.080	60591.630	.	.	4.782	.	.
	.090	47945.314	.	.	4.681	.	.
	.100	38651.113	.	.	4.587	.	.
	.150	15837.937	.	.	4.200	.	.
	.200	7793.902	.	.	3.892	.	.
	.250	4241.962	.	.	3.628	.	.
	.300	2456.505	.	.	3.390	.	.
	.350	1480.713	.	.	3.170	.	.
	.400	915.921	.	.	2.962	.	.
	.450	575.469	.	.	2.760	.	.
	.500	364.239	.	.	2.561	.	.
	.550	230.543	.	.	2.363	.	.
	.600	144.849	.	.	2.161	.	.
	.650	89.599	.	.	1.952	.	.
	.700	54.008	.	.	1.732	.	.
	.750	31.276	.	.	1.495	.	.
	.800	17.022	.	.	1.231	.	.
	.850	8.377	.	.	.923	.	.
	.900	3.433	.	.	.536	.	.
	.910	2.767	.	.	.442	.	.
	.920	2.190	.	.	.340	.	.
	.930	1.693	.	.	.229	.	.
	.940	1.270	.	.	.104	.	.
	.950	.915	.	.	-.039	.	.
	.960	.622	.	.	-.206	.	.
	.970	.388	.	.	-.412	.	.
	.980	.207	.	.	-.685	.	.
	.990	.077	.	.	-1.116	.	.

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Konsentrasi Doksorubisin							
	1	2	3	% Sel hidup	% Sel hidup	% Sel hidup	RATA-RAT
0.5	0.137	0.188	0.154	11.22586	18.0960934	13.51594073	14.2793
0.25	0.338	0.415	0.456	38.30265	48.675348	54.19847328	47.05882
0.03125	0.754	0.724	0.734	94.34216	90.3008532	91.64795689	92.09699
0.015625	0.77	0.747	0.756	96.49753	93.3991917	94.61158509	94.8361
0.007813	0.785	0.781	0.781	98.51819	97.9793444	97.97934441	98.15896
KS	0.79	0.799	0.799	0.796			
KM	0.052	0.052	0.057	0.053667			

u. Konsentrasi 500 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,137-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 11,22586\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,188-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 18,09609\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,154-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 13,51594\%$

v. Konsentrasi 250 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,338-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 38,30265 \%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,415-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 48,67534\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,456-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 54,19847\%$

w. Konsentrasi 31,25 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,754-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 94,34216\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,724-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 90,30085\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,734-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 91,64795\%$

x. Konsentrasi 15,625 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,770-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 96,49753\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,747-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 93,39919\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,756-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 94,61158\%$

y. Konsentrasi 7,8125 (µg/mL)

- Persentase sel hidup = $\frac{(0,785-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 98,51819\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,781-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 97,97934\%$
- Persentase sel hidup = $\frac{(0,781-0,053)}{(0,796-0,053)} \times 100 \% = 97,97934\%$

Replikasi 1

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	2.277	1.066	8.887	.357	.028	.949
	.020	1.661	.829	5.678	.220	-.082	.754
	.030	1.359	.706	4.279	.133	-.151	.631
	.040	1.169	.625	3.461	.068	-.204	.539
	.050	1.034	.565	2.914	.014	-.248	.465
	.060	.931	.519	2.519	-.031	-.285	.401
	.070	.850	.482	2.217	-.071	-.317	.346
	.080	.783	.450	1.979	-.106	-.347	.296
	.090	.727	.423	1.785	-.139	-.374	.252
	.100	.679	.399	1.624	-.168	-.399	.211
	.150	.511	.314	1.101	-.292	-.503	.042
	.200	.408	.258	.813	-.390	-.588	-.090
	.250	.336	.217	.630	-.474	-.664	-.201
	.300	.282	.185	.503	-.549	-.733	-.299
	.350	.240	.159	.410	-.619	-.800	-.387
	.400	.206	.136	.340	-.686	-.865	-.469
	.450	.178	.117	.285	-.750	-.931	-.545
	.500	.154	.101	.241	-.813	-.998	-.619
	.550	.133	.086	.204	-.877	-1.067	-.689
	.600	.115	.072	.174	-.941	-1.140	-.759
	.650	.098	.061	.149	-1.007	-1.218	-.828
	.700	.084	.050	.127	-1.077	-1.303	-.898
	.750	.070	.040	.107	-1.153	-1.397	-.970
	.800	.058	.031	.089	-1.237	-1.506	-1.048
	.850	.046	.023	.073	-1.335	-1.635	-1.136
	.900	.035	.016	.057	-1.458	-1.801	-1.243
	.910	.033	.014	.054	-1.488	-1.842	-1.269
	.920	.030	.013	.051	-1.520	-1.886	-1.296
	.930	.028	.012	.047	-1.556	-1.935	-1.326
	.940	.025	.010	.044	-1.596	-1.990	-1.359
	.950	.023	.009	.040	-1.641	-2.053	-1.397
	.960	.020	.007	.036	-1.694	-2.127	-1.440
	.970	.017	.006	.032	-1.760	-2.218	-1.494
	.980	.014	.005	.027	-1.847	-2.341	-1.564
	.990	.010	.003	.021	-1.984	-2.534	-1.674

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 2

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	5.449	1.936	38.854	.736	.287	1.589
	.020	3.654	1.420	21.631	.563	.152	1.335
	.030	2.836	1.165	14.934	.453	.066	1.174
	.040	2.344	1.003	11.309	.370	.002	1.053
	.050	2.007	.888	9.024	.303	-.051	.955
	.060	1.759	.800	7.450	.245	-.097	.872
	.070	1.567	.730	6.300	.195	-.137	.799
	.080	1.413	.672	5.423	.150	-.172	.734
	.090	1.286	.624	4.734	.109	-.205	.675
	.100	1.179	.582	4.178	.071	-.235	.621
	.150	.823	.435	2.498	-.085	-.362	.398
	.200	.619	.343	1.668	-.209	-.464	.222
	.250	.484	.279	1.184	-.315	-.554	.073
	.300	.389	.231	.875	-.410	-.637	-.058
	.350	.317	.193	.664	-.499	-.715	-.178
	.400	.261	.161	.514	-.583	-.792	-.289
	.450	.217	.135	.404	-.664	-.870	-.394
	.500	.180	.113	.320	-.744	-.949	-.494
	.550	.150	.093	.256	-.824	-1.031	-.591
	.600	.124	.076	.206	-.905	-1.119	-.686
	.650	.102	.061	.166	-.989	-1.214	-.779
	.700	.084	.048	.134	-1.078	-1.319	-.873
	.750	.067	.037	.108	-1.173	-1.437	-.969
	.800	.053	.027	.085	-1.280	-1.573	-1.070
	.850	.039	.018	.066	-1.404	-1.738	-1.183
	.900	.028	.011	.048	-1.560	-1.952	-1.319
	.910	.025	.010	.045	-1.597	-2.005	-1.351
	.920	.023	.009	.041	-1.638	-2.062	-1.385
	.930	.021	.007	.038	-1.683	-2.126	-1.423
	.940	.018	.006	.034	-1.734	-2.197	-1.464
	.950	.016	.005	.031	-1.791	-2.278	-1.511
	.960	.014	.004	.027	-1.858	-2.374	-1.566
	.970	.011	.003	.023	-1.941	-2.493	-1.633
	.980	.009	.002	.019	-2.051	-2.652	-1.721
	.990	.006	.001	.014	-2.225	-2.904	-1.858

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Replikasi 3

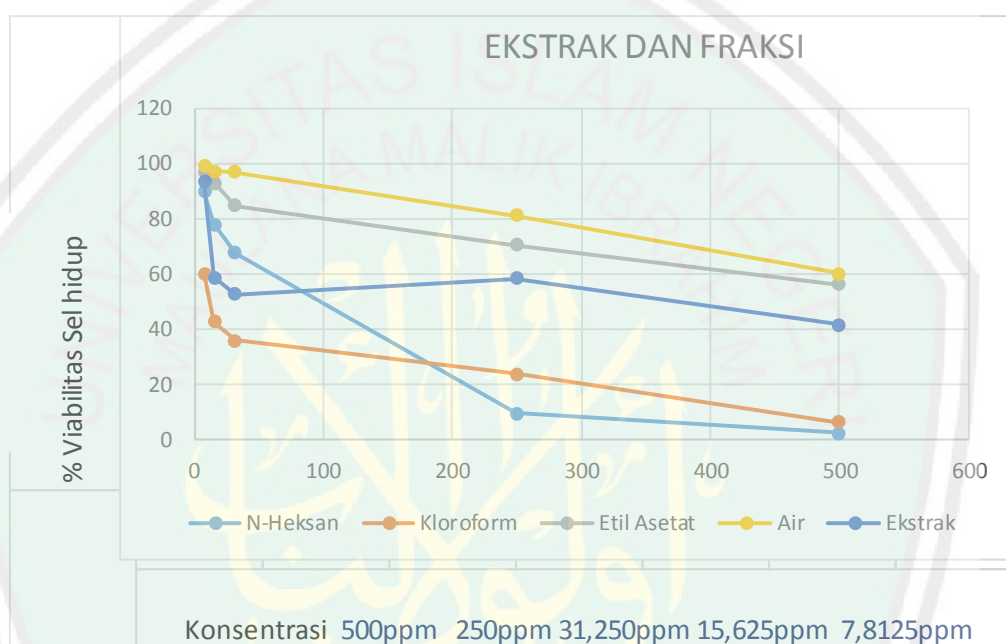
Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	4.680	1.185	271.595	.670	.074	2.434
	.020	3.206	.910	125.204	.506	-.041	2.098
	.030	2.522	.769	76.740	.402	-.114	1.885
	.040	2.105	.676	53.160	.323	-.170	1.726
	.050	1.818	.609	39.470	.260	-.216	1.596
	.060	1.604	.556	30.654	.205	-.255	1.486
	.070	1.438	.513	24.575	.158	-.290	1.391
	.080	1.303	.478	20.173	.115	-.321	1.305
	.090	1.192	.447	16.866	.076	-.349	1.227
	.100	1.098	.421	14.310	.041	-.376	1.156
	.150	.781	.325	7.285	-.107	-.488	.862
	.200	.596	.263	4.294	-.225	-.581	.633
	.250	.473	.217	2.750	-.325	-.664	.439
	.300	.384	.181	1.858	-.416	-.742	.269
	.350	.317	.152	1.304	-.500	-.818	.115
	.400	.264	.127	.942	-.579	-.895	-.026
	.450	.221	.106	.695	-.656	-.974	-.158
	.500	.185	.087	.523	-.732	-1.058	-.282
	.550	.156	.071	.399	-.808	-1.149	-.399
	.600	.130	.056	.309	-.884	-1.250	-.510
	.650	.109	.043	.242	-.964	-1.362	-.616
	.700	.090	.032	.191	-1.048	-1.489	-.719
	.750	.073	.023	.151	-1.138	-1.636	-.820
	.800	.058	.016	.119	-1.239	-1.809	-.923
	.850	.044	.010	.093	-1.356	-2.021	-1.033
	.900	.031	.005	.069	-1.504	-2.300	-1.160
	.910	.029	.004	.065	-1.540	-2.368	-1.189
	.920	.026	.004	.060	-1.579	-2.443	-1.221
	.930	.024	.003	.056	-1.621	-2.526	-1.255
	.940	.021	.002	.051	-1.669	-2.620	-1.292
	.950	.019	.002	.046	-1.723	-2.727	-1.334
	.960	.016	.001	.041	-1.787	-2.853	-1.383
	.970	.014	.001	.036	-1.865	-3.010	-1.441
	.980	.011	.001	.030	-1.970	-3.219	-1.518
	.990	.007	.000	.023	-2.134	-3.552	-1.636

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

NAMA	IC 50				SD
	REPL 1	REPL 2	REPL 3	RATA-RATA	
EKSTRAK	130.978	172.974	364.2392543	222.730	108.2567123
FRAKSI N -HEKSAN	61.889	51.619	16.2	43.236	20.15436713
FRAKSI KLOOROFORM	6.95	21.28	10.87	13.033	6.213451231
FRAKSI ETIL ASETAT	958.519	792	798.23	849.583	94.39275553
FRAKSI AIR	652.82	1328.36	1916.98	1299.387	632.5778347
DOKSORUBISIN	0.154	0.18	0.185	0.173	0.016643317



1.7.1 Uji Normalitas

Tests of Normality

Sample	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50 EKSTRAK	.322	3	.	.880	3	.324
FRAKSI N-HEKSAN	.303	3	.	.908	3	.412
FRAKSI KLOOROFORM	.282	3	.	.936	3	.512
FRAKSI ETIL ASETAT	.373	3	.	.778	3	.063
FRAKSI AIR	.185	3	.	.998	3	.924
DOKSORUBISIN	.330	3	.	.867	3	.288

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 8. Uji Kruskal-Wallis

Test Statistics^{a,b}

IC50	
Kruskal-Wallis H	6.489
df	2
Asymp. Sig.	.039

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
Sample

Lampiran 9. Uji Pos Hoc Tukey

Multiple Comparisons

Dependent Variable: IC50
Tukey HSD

(I) Sample	(J) Sample	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
EKSTRAK	FRAKSI N-HEKSAN	179.49442	217.34602	.957	-550.5536	909.5425
	FRAKSI KLOOROFORM	209.69708	217.34602	.921	-520.3510	939.7452
	FRAKSI ETIL ASETAT	-626.85258	217.34602	.109	-1356.9006	103.1955
	FRAKSI AIR	-1076.65625*	217.34602	.003	-1806.7043	-346.6082
	DOKSORUBISIN	222.55742	217.34602	.901	-507.4906	952.6055
FRAKSI N-HEKSAN	EKSTRAK	-179.49442	217.34602	.957	-909.5425	550.5536
	FRAKSI KLOOROFORM	30.20267	217.34602	1.000	-699.8454	760.2507
	FRAKSI ETIL ASETAT	-806.34700*	217.34602	.028	-1536.3951	-76.2989
	FRAKSI AIR	-1256.15067*	217.34602	.001	-1986.1987	-526.1026
	DOKSORUBISIN	43.06300	217.34602	1.000	-686.9851	773.1111
FRAKSI KLOOROFORM	EKSTRAK	-209.69708	217.34602	.921	-939.7452	520.3510
	FRAKSI N-HEKSAN	-30.20267	217.34602	1.000	-760.2507	699.8454
	FRAKSI ETIL ASETAT	-836.54967*	217.34602	.022	-1566.5977	-106.5016
	FRAKSI AIR	-1286.35333*	217.34602	.001	-2016.4014	-556.3053
	DOKSORUBISIN	12.86033	217.34602	1.000	-717.1877	742.9084
FRAKSI ETIL ASETAT	EKSTRAK	626.85258	217.34602	.109	-103.1955	1356.9006
	FRAKSI N-HEKSAN	806.34700*	217.34602	.028	76.2989	1536.3951
	FRAKSI KLOOROFORM	836.54967*	217.34602	.022	106.5016	1566.5977
	FRAKSI AIR	-449.80367	217.34602	.362	-1179.8517	280.2444
	DOKSORUBISIN	849.41000*	217.34602	.020	119.3619	1579.4581
FRAKSI AIR	EKSTRAK	1076.65625*	217.34602	.003	346.6082	1806.7043
	FRAKSI N-HEKSAN	1256.15067*	217.34602	.001	526.1026	1986.1987
	FRAKSI KLOOROFORM	1286.35333*	217.34602	.001	556.3053	2016.4014
	FRAKSI ETIL ASETAT	449.80367	217.34602	.362	-280.2444	1179.8517
	DOKSORUBISIN	1299.21367*	217.34602	.001	569.1656	2029.2617
DOKSORUBISIN	EKSTRAK	-222.55742	217.34602	.901	-952.6055	507.4906
	FRAKSI N-HEKSAN	-43.06300	217.34602	1.000	-773.1111	686.9851
	FRAKSI KLOOROFORM	-12.86033	217.34602	1.000	-742.9084	717.1877
	FRAKSI ETIL ASETAT	-849.41000*	217.34602	.020	-1579.4581	-119.3619
	FRAKSI AIR	-1299.21367*	217.34602	.001	-2029.2617	-569.1656

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

Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian

10.1 Proses Fraksinasi



Ekstrak Etanol 96%



diambil ekstrak 2 gram



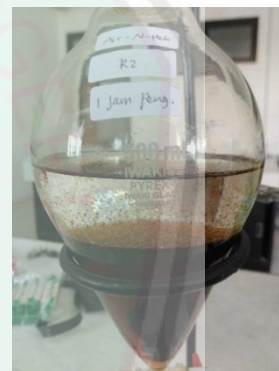
disuspensi dengan
Aquadest 200ml



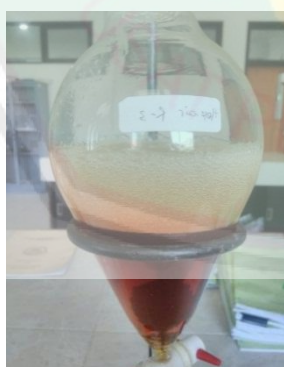
Ditambahkan dengan
Pelarut n-heksana



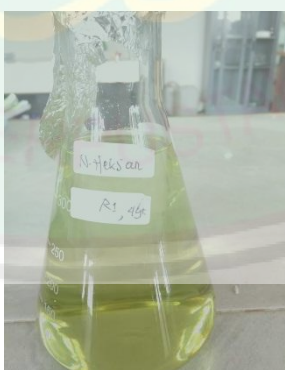
difraksinasi selama 60 menit



Fraksinasi n- heksan repl 2



fraksinasi n-heksan repl3



Hasil filtrate



di rotav untuk menghilangkan
pelarut



hasil rotav fraksi



di oven



Filtrat n-heksan

ditambahkan
pelarut kloroform

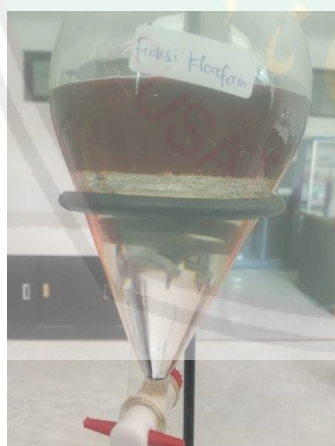
difraksinasi selama 60 menit



kloroform repl-2



Filtrat kloroform repl-1 & 2



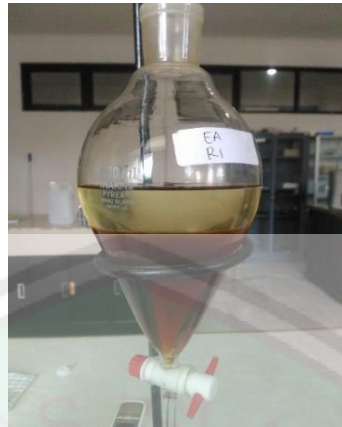
Kloroform repl-3

Dirota untuk menghilangkan
pelarut

Hasil fraksi Kloroform



Di oven

Ditambahkan pelarut etil asetat
(1 :1)

difraksinasi selama 60 menit



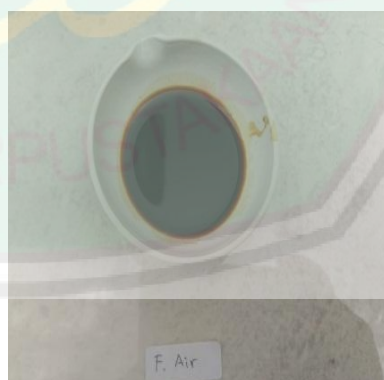
Etil asetat Replikasi ke-2



Etil asetat replikasi ke-3

dirotav untuk menghilangkan
pelarut

Fraksi Etil Asetat



Fraksi Air



dioven



ditimbang 10 mg



(Hasil penimbangan Ekstrak & Fraksi)



ditambah DMSO & di vortex



Perhitungan sel T47D di hemositometer

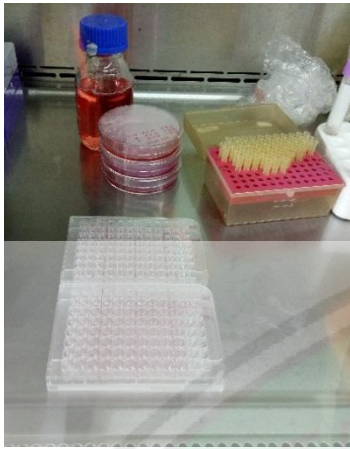


di subkultur



Diinkubasi semalam

Dilihat di bawah mikroskop
Inverteddi MTT pada microplate
96 plate well



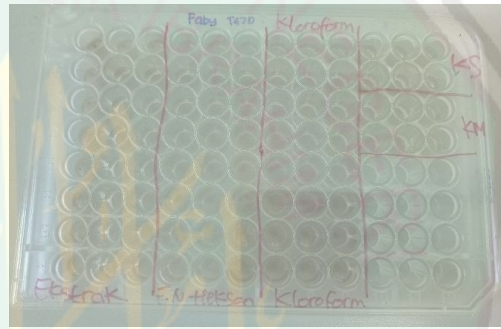
Setelah di MTT



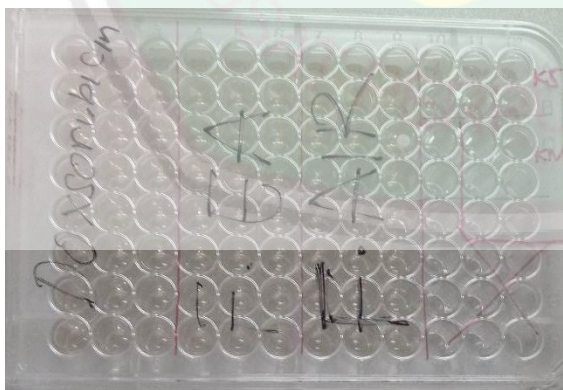
Diinkubasi selama 4 jam

Dilihat dibawah mikroskop
Inverted

Penambahan SDS stopper

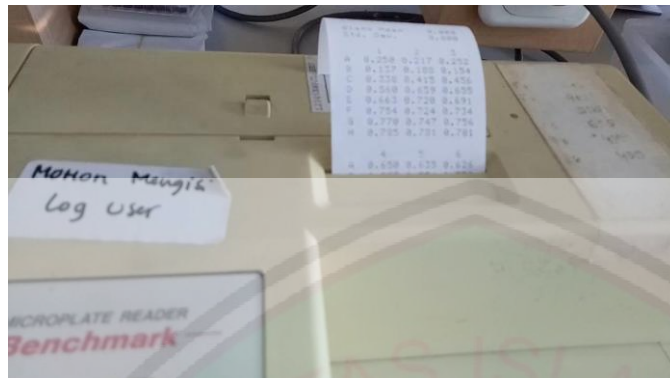


Setelah penambahan SDS stopper (1)



Setelah penambahan SDS Stopper (2)

Elisa reader λ 550-595 nm absorbansi



Setelah dimasukka sampel keluar hasil absorbansi

Lampiran 11. Hasil Absorbansi Elisa Reader

Doxo, EA, Air				Faby UIN			
Faby				Absorbance Report			
Single Wavelength				Single Wavelength			
Mes= F3, 595nm				Mes= F3, 595nm			
Incubation= OFF				Incubation= OFF			
Blank Mean 0.000				Blank Mean 0.000			
Std. Dev. 0.000				Std. Dev. 0.000			
Doxoru				Ekstrak			
	1	2	3		1	2	3
A	0.250	0.217	0.252	A	0.616	0.603	0.630
B	0.137	0.188	0.154	B	0.349	0.355	0.387
C	0.338	0.415	0.456	C	0.444	0.473	0.487
D	0.560	0.659	0.655	D	0.528	0.494	0.591
E	0.663	0.720	0.691	E	0.419	0.360	0.508
F	0.754	0.724	0.734	F	0.406	0.365	0.525
G	0.770	0.747	0.756	G	0.393	0.488	0.528
H	0.785	0.781	0.781	H	0.689	0.648	0.721
F.EA				F.N-Hersan			
	4	5	6		4	5	6
A	0.650	0.635	0.626	A	0.132	0.128	0.118
B	0.467	0.479	0.467	B	0.111	0.119	0.126
C	0.575	0.589	0.567	C	0.197	0.163	0.131
D	0.767	0.817	0.819	D	0.792	0.736	0.514
E	0.793	0.791	0.850	E	0.685	0.616	0.294
F	0.687	0.688	0.678	F	0.731	0.498	0.347
G	0.734	0.781	0.721	G	0.746	0.696	0.328
H	0.749	0.788	0.782	H	0.702	0.648	0.641
F.Air				F. Kloroform			
	7	8	9		7	8	9
A	0.670	0.701	0.675	A	0.136	0.140	0.141
B	0.430	0.530	0.540	B	0.138	0.139	0.153
C	0.623	0.670	0.680	C	0.317	0.255	0.183
D	0.798	0.754	0.817	D	0.254	0.353	0.177
E	0.784	0.754	0.817	E	0.396	0.370	0.292
F	0.726	0.794	0.801	F	0.245	0.369	0.366
G	0.790	0.781	0.754	G	0.241	0.449	0.423
H	0.790	0.781	0.794	H	0.540	0.506	0.389
KS				KS			
	10	11	12		10	11	12
A	0.790	0.763	0.799	A	0.316	0.756	0.768
B	0.866	0.770	0.799	B	0.650	0.539	0.450
C	0.020	0.065	0.052	C	0.104	0.102	0.109
D	0.020	0.066	0.052	D	0.103	0.102	0.106
E	0.021	0.068	0.057	E	0.036	0.042	0.039
F	0.026	0.020	0.011	F	0.043	0.039	0.039
G	0.027	0.016	0.006	G	0.042	0.043	0.042
H	0.019	0.012	0.010	H	0.034	0.040	0.039

Lampiran 12. Determinasi Tanaman



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

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



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. ~~1865~~ /IPH.6/HM/XI/2016

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

Ubaidillah Abdel Barsyaif, NIM : 13670049

Muhammad Zulkhaq Vadliyanto, NIM : 13670004

Mahasiswa Fakultas Sains dan Teknologi Jurusan Farmasi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 24 Nopember 2016, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume I tahun 1963, halaman 251 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Prunus*
Species : *Prunus persica* (L.) Batsch

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

Divisio : *Magnoliophyta*
Class : *Magnoliopsida*
Subclass : *Rosidae*
Ordo : *Rosales*
Family : *Rosaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 01 Desember 2016
An. Kepala
Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,



Deden Mudiana, S.Hut, M.Si

Lampiran 13. Sertifikat Kursus Kultur Jaringan Sel



Lampiran 14. Surat Izin Penelitian



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

Nomor : 312/UN1/KU.3/PRST.2/LT/2018
Hal : Ijin Penelitian.

31 Juli 2018

Kepada Yth.
FABY SELA RAHMATIKA
NIM: 14670016
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
Malang

Dengan hormat,
Menanggapi surat saudara tertanggal 13 Juli 2018 tentang ijin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Parasitologi yang berjudul:

“AKTIVITAS ANTIKANKER PAYUDARA MENGGUNAKAN EKSTRAK DAN FRAKSI BUAH JAMBU WER (*Prunus persica* Zieb&Zucc) TERHADAP SEL T47D”

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

1. Mentaati peraturan yang berlaku di FK-KMK. UGM. dan Departemen Parasitologi FK-KMK. UGM.
2. Sebagai supervisor dalam pelaksanaan penelitian ini adalah Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK., dengan Teknisi: Juanna Nursanthi, AMd.AK.
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.

Ketua,

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, AMd.AK.
3. Arsip

Lampiran 15. Surat Bebas Tanggungan Laboratorium



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

SURAT KETERANGAN No. 339/UN1/KU.3/PRST.2/LT/2018

Yang bertanda tangan di bawah ini,

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

Nama : FABY SELA RAHMATIKA
NIM : 14670016
Instansi : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
Malang

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

“AKTIVITAS ANTIKANKER PAYUDARA MENGGUNAKAN EKSTRAK DAN
FRAKSI BUAH JAMBU WER (*Prunus persica* Zieb&Zucc) TERHADAP SEL T47D”

Dibawah supervisi laboratorium: Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.
Waktu Penelitian: 30 Juli 2018 sampai dengan 6 Agustus 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, 9 Agustus 2018

Ketua

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

Lampiran 16. Ethical Clearance

	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
	KETERANGAN KELAIKAN ETIK (ETHICAL CLEARANCE) No. 014/EC/KEPK-FKIK/2018

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

Judul	Aktivitas Antikanker Payudara Menggunakan Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer (<i>Prunus persica Zieb&Zucc</i>) Terhadap Sel T47D
Sub Judul	Aktivitas Antikanker Payudara Menggunakan Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer (<i>Prunus persica Zieb&Zucc</i>) Terhadap Sel T47D
Peneliti	Weka Sidha Bhagawan, S. Farm., M. Farm., Apt Faby Sela Rahmatika
Unit / Lembaga	Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
Tempat Penelitian	Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta

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

Mengetahui,
Dekan FKIK UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

Malang, 16 AUG 2018
Ketua

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

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

Keterangan :

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

Lampiran 17. Lembar Revisi Ujian Skripsi



**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 : Faby Sela Rahmatika
NIM : 14670016
Judul : Aktivitas Antikanker Ekstrak dan Fraksi Buah Jambu Wer
(*Prunus persica* (L.) Batsch) Terhadap Sel T47D Secara *In Vitro*

Tanggal Ujian Skripsi : 03 Januari 2019

Telah dilakukan perbaikan sesuai dengan saran tim pembimbing dan tim penguji.

No	Nama Dosen	Tanggal Revisi	Tanda Tangan
1.	Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt.	10 Januari 2019	
2.	Burhan Ma'arif Z.A, M.Farm., Apt	09 Januari 2019	
3.	Dr. Roihatul Mutiah, M.Kes., Apt.	09 Januari 2019	
4.	Ach. Nashichuddin, MA	09 Januari 2019	

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, 10 Januari 2019

Mengetahui,
Kepala Jurusan Farmasi

Dr. Roihatul Mutiah, M.Kes., Apt.
NIP. 19800203 200912 2 003



Certificate No: ID08/1219

Kedalaman Spiritual, Keagungan Akhlak, Keluasan Ilmu dan Kematangan Profesional