

**PROFIL AKTIVITAS SITOTOKSIK BERDASARKAN PERBEDAAN  
UMUR BUAH *Prunus persica* L. Batsch TERHADAP SEL T47D**

**SKRIPSI**

Oleh :  
**MALA MILIYATNA**  
NIM. 15670065



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2020**

**PROFIL AKTIVITAS SITOTOKSIK BERDASARKAN PERBEDAAN  
UMUR BUAH *Prunus persica* L. Batsch TERHADAP SEL T47D**

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**Mala Miliyatna**

**NIM. 15670065**

**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)**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2020**

**PROFIL AKTIVITAS SITOTOKSIK BERDASARKAN PERBEDAAN  
UMUR BUAH *Prunus persica* L. Batsch TERHADAP SEL T47D**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**Mala Miliyatna**  
**15670065**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal : 27 Desember 2019

Pembimbing I,



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

Pembimbing II,



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

Mengetahui,

Ketua Jurusan Farmasi



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

**PROFIL AKTIVITAS SITOTOKSIK BERDASARKAN PERBEDAAN  
UMUR BUAH *Prunus persica* L. Batsch TERHADAP SEL T47D**

**SKRIPSI**

Oleh :

Mala Miliyatna

15670065

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

Tanggal : 27 Desember 2019

Ketua Penguji : drg. Arief Suryadinata, Sp., Ort

NIP. 19850720 200912 1 003

Anggota Penguji : 1. Dr. Roihatul Mutiah, M. Kes., Apt

NIP. 19800203 200912 2 003

2. Ria Ramadhani, M. Kep., Ns

NIP. 19850617 200912 2 005

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

NIP. 19761214 200912 1 002

(.....)  
Reul  
(.....)  
Arief  
(.....)  
Ria  
(.....)

Mengetahui,

Ketua Jurusan Farmasi



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

NIP. 19800203 200912 2 003

## LEMBAR PERSEMBAHAN



الحمد لله على رب العبد واحده. لا شريك له. الذي لا يضر مع اسمه شيء في الأرض ولا في السماء وما بينهما. وهو السميع العليم.

Dengan senantiasa mamajatkan puja dan puji syukur kepada Allah SWT atas segala nikmat sehat dan iman yang selalu diberikan serta salam yang akan selalu tercurahkan kepada ahsanun naas sayyidina Muhammad SAW sehingga dapat terselesaikannya skripsi ini. Disertai rasa syukur yang mendalam, penulis persembahkan karya tulis sederhana ini kepada orang-orang yang selalu mendoakan dan membantu penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.

Terimakasih tak terhingga kepada kedua orang tua, abati Sayyidur Rahman dan ummi Mailatus Syarifah, yang selalu menjadi sumber dukungan dan do'a terbaik. Adik Daniel Musthofa yang tengah menjalani kehidupan sebagai santri di ma'had tahfidzul qur'an Al-Amien Preduan, semoga Allah permudah hafalannya dan menafi'kan ilmunya. Ibu Maryani, yang telah membantu abi dan ummi dalam membesarkan dan merawat penulis beserta adiknya. Kakak Moh. Waris Aprilianto, semoga Allah selalu mempermudah urusan. Beserta seluruh keluarga besar di Madura, Semoga Allah selalu menjaga dan menyayangi kalian dunia dan akhirat.

Terimakasih kepada Alm. Prof. Supargiono sebagai pengajar kultur jaringan sel sekaligus sebagai supervisor laboratorium penulis, nama dan ilmunya akan selalu ada, semoga Allah meberikannya tempat terbaik. Ibu Juanna yang telah memberikan pelatihan kultur sel serta ibu Atin sebagai pembimbing laboratorium Parasitologi Universitas Gadjah Mada, penulis ucapkan terimakasih atas waktu dan bimbingannya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.

Terimakasih yang sebesar-besarnya kepada saudari sekaligus teman serumah Hafizha Fadhila Suleman, yang selalu meluangkan waktu dan tenaganya

untuk selalu mendukung dan mendorong penulis untuk menyelesaikan skripsi ini secepatnya, serta teman kecil penulis Milo yang selalu menjadi teman setia penulis dalam proses penyelesaian skripsi ini. Teman begadang Melisa dan Tifani yang selalu mengajak penulis untuk melakukan sistem kebut dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Terimakasih juga kepada teman-teman UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, khususnya teman-teman farmasi angkatan 2015 (Pharmajelly) dan teman-teman kelas B atas kisah-kisah yang telah kita rajut bersama selama ini, teman-teman proyek (Moh. Adrik Syahirul Fahmi, Sri Patimah, dan Winartiana) yang telah menjadi partner proyek penelitian ini.

Tak cukup kata-kata untuk menggambarkan perjuangan yang telah ditempuh serta untuk berterima kasih kecuali rasa syukur yang penulis panjatkan kepada Allah SWT. Semoga senantiasa dipertemukan dalam kebaikan dan semoga semua ungkapan doa baik kembali kepada pemiliknya. Selamat dan salam sukses untuk teman-teman.

Kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan terselesainya skripsi ini. Terima kasih. *Jazaakumullaahu akhyaar.*

**Mala Miliyatna**

**15670065**

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Mala Miliyatna

NIM : 15670065

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan


Judul Skripsi : Profil Aktivitas Sitotoksik Berdasarkan Perbedaan Umur Buah  
*Prunus Persica* L. Batsch Terhadap Sel T47D

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, 18 Januari 2020

Yang membuat Pernyataan,



  
Mala Miliyatna  
15670065

## MOTTO

خذ العفو وأمر بالعرف وأعرض عن الجاهلین (الأعراف)



## KATA PENGANTAR



السلام عليكم ورحمة الله وبركاته

*Alhamdulillah* rabbil 'aalamiin. Segala puji bagi Allah yang telah memberikan nikmat, rahmat serta hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “**Profil Aktivitas Sitotoksik Berdasarkan Perbedaan Umur Buah *Prunus persica* L. Batsch Terhadap Sel T47D**”, sebagai salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S. Farm). Sholawat serta salam tetap tercurahkan kepada baginda Rasulullah SAW, beserta para keluarga, para sahabat dan para pengikutnya.

Penulis telah menyadari bahwa telah banyak pihak yang telah berpartisipasi dalam penyelesaian penulisan skripsi ini, iringan doa dan ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M. Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp. B, Sp. BP- RE (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes. Apt selaku ketua jurusan sekaligus selaku pembimbing utama yang senantiasa memberikan bimbingan dan saran kepada peneliti sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
4. Ria Ramadhani, M. Kep., Ns., selaku dosen pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis demi terselesainya proposal ini.
5. drg. Arief Suryadinata, Sp. Ort selaku dosen penguji utama yang telah memberikan arahan, bimbingan serta motivasi kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan proposal skripsi ini.
6. Abdul Hakim, M.P.I., M. Farm., Apt., selaku penguji agama yang telah memberikan bimbingan pada penulis dalam mengintegrasikan karya tulis ini pada ayat Al-Qur'an.

7. Seluruh Dosen Pengajar di Jurusan Farmasi yang telah memberikan bimbingan dan membagi ilmunya kepada penulis selama di UIN Malang.
8. Keluarga penulis, Abi, Ummi, Daniel yang selalu menjadi sumber doa dan dukungan terbaik. Ibu dan Kak Aries Beserta seluruh keluarga besar di Madura.
9. Keluarga serumah, Dila dan Milo, yang selalu memberikan semangat dan menemani penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
10. Alm. Prof. Supargiono, Ibu Juanna, Ibu Atin serta seluruh staf dan laboran Laboratorium Parasitologi Universitas Gadjah Mada yang telah memberikan bimbingan dan arahan pada penulis dalam menyelesaikan penelitian.
11. Rekan seproyek *Prunus persica* L. Batsch 2015, Adrik, Bunda Titim, Mbak Wiwin.
12. Teman setia revisi semalam suntuk, Melisa dan Tifani.
13. Seluruh teman-teman di Jurusan Farmasi angkatan 2015 yang berjuang bersama-sama untuk meraih mimpi dan terima kasih untuk setiap kenangan indah yang dirajut bersama dalam menggapai impian.
14. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan proposal skripsi ini baik moril maupun materil.

*Jazaakumullahu Akhyaarul Jazaa'*

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

والسلام عليكم ورحمة الله وبركاته

Malang, 27 Desember 2019

Penulis

Mala Miliyatna  
15670065

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b>	
<b>HALAMAN PENGANTAR</b>	
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b>	
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b>	
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b>	
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN</b>	
<b>MOTTO</b>	
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>i</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>iii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN.....</b>	<b>ix</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>xi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	7
1.3 Tujuan Penelitian .....	7
1.4 Manfaat Penelitian .....	8
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti .....	8
1.4.2 Manfaat Terapan .....	8
1.5 Batasan Penelitian .....	8
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>10</b>
2.1 Tinjauan dalam Perspektif Islam.....	10
2.2 <i>Prunus persica</i> L. Batsch .....	12
2.2.1 Klasifikasi .....	12
2.2.2 Kandungan .....	13
2.2.3 Kegunaan .....	14

2.3 Tinjauan Tentang Ekstraksi .....	14
2.3.1 Ekstraksi.....	14
2.3.2 Kombinasi Teknik Ekstraksi.....	16
2.4 Tinjauan Tentang Flavonoid .....	18
2.5 Tinjauan Maturasi Buah dan Kandungan Metabolit Sekunder .....	20
2.6 Tinjauan Tentang Anatomi Payudara .....	20
2.7 Tinjauan Tentang Kanker.....	21
2.7.1 Tinjauan Tentang Patofisiologi Kanker Payudara .....	22
2.7.2 Tinjauan Tentang Sel T47D.....	23
2.7.3 Tinjauan Tentang Apoptosis Sel.....	24
2.7.4 Tinjauan Tentang Tatalaksana Kanker Payudara .....	24
2.8 Tinjauan Tentang MTT Assay.....	25
<b>BAB III KERANGKA KONSEP .....</b>	<b>27</b>
3.1 Kerangka Konsep .....	27
3.2 Uraian Kerangka Konsep .....	28
3.3 Hipotesis Penelitian.....	30
<b>BAB IV METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>31</b>
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....	31
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	32
4.3 Populasi dan Sampel .....	32
4.3.1 Populasi.....	32
4.3.2 Sampel Tanaman.....	32
4.3.3 Sampel Sel Kultur .....	33
4.3.4 Teknik Pengambilan 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 .....	34
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	34
4.5.1 Alat.....	34
4.5.2 Bahan Tanaman .....	35
4.5.3 Bahan Sel .....	35
4.5.4 Bahan Kimia .....	35
4.6 Prosedur Penelitian.....	35
4.6.1 Determinasi Buah <i>Prunus persica</i> L. Batsch.....	35
4.6.2 Preparasi Sampel.....	35
4.6.3 Analisis Kadar Air Serbuk Simplisia Buah <i>Prunus persica</i> L. Batsch...	36
4.6.4 Ekstraksi.....	36
4.6.5 Uji Aktivitas dengan Metode MTT Assay.....	37

4.7 Analisa Data .....	41
<b>BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>43</b>
5.1 Pengumpulan Sampel Buah .....	43
5.2 Determinasi Tanaman .....	44
5.3 Pembuatan Simplisia.....	44
5.4 Uji Kadar Air.....	45
5.5 Pembuatan Ekstrak.....	46
5.6 Preparasi Sampel Ekstrak dan Kontrol Positif.....	49
5.7 Preparasi Sel T47D .....	50
5.8 Pembuatan Media Kultur .....	51
5.9 Uji Aktivitas Sitotoksik dengan Metode MTT Assay .....	51
5.10 Analisis Data .....	56
5.11 Manfaat <i>Prunus persica</i> L. Batsch dalam Perspektif Islam.....	61
<b>BAB VI PENUTUP .....</b>	<b>65</b>
5.1 Kesimpulan .....	65
5.2 Saran.....	65
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>66</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>77</b>

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b> Buah <i>Prunus persica</i> L. Batsch .....	12
<b>Gambar 2.2</b> Struktur inti senyawa flavonoid.....	13
<b>Gambar 2.3</b> Struktur fenol.....	13
<b>Gambar 2.4</b> Struktur inti (a) senyawa flavonoid dan (b) senyawa quersetin (bagian flavonoid).....	19
<b>Gambar 2.5</b> Morfologi sel T47D akibat perlakuan EP 60 µg/mL. (a), dibandingkan dengan sel tanpa perlakuan atau kontrol sel. (b), dilakukan dengan mennginkubasi 3x10 <sup>3</sup> sel T47D dengan EP (30-210 60 µg/mL) selama 48 jam .....	23
<b>Gambar 2.6</b> Reaksi reduksi MTT menjadi formazan .....	26
<b>Gambar 3.1</b> Kerangka Konseptual.....	27
<b>Gambar 4.1</b> Rancangan Penelitian.....	31
<b>Gambar 5.1</b> Buah <i>Prunus persica</i> L. Batsch berbeda umur. (a) Buah umur 2 minggu, (b) Buah umur 3 minggu, (c) Buah umur 4 minggu.....	44
<b>Gambar 5.2</b> Morfologi sel T47D setelah perlakuan ekstrak etanol 96% buah <i>Prunus persica</i> L. Batsch umur 2 minggu dibanding dengan kontrol sel (KS).....	53
<b>Gambar 5.3</b> Morfologi sel T47D setelah perlakuan ekstrak etanol 96% buah <i>Prunus persica</i> L. Batsch umur 3 minggu dibanding dengan kontrol sel (KS).....	53
<b>Gambar 5.4</b> Morfologi sel T47D setelah perlakuan ekstrak etanol 96% buah <i>Prunus persica</i> L. Batsch umur 4 minggu dibanding dengan kontrol sel (KS).....	54
<b>Gambar 5.5</b> Morfologi sel T47D setelah pemberian Doxorubicin dibanding dengan kontrol sel (KS) .....	54

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 4.1</b> Skema <i>Platting</i> Larutan Sampel Uji.....	40
<b>Tabel 5.1</b> Rata-rata % Viabilitas Sel Hidup $\pm$ SD Ekstrak Etanol 96% Buah <i>Prunus persica</i> L. Batsch .....	56
<b>Tabel 5.2</b> Rata-rata % Viabilitas Sel Hidup $\pm$ SD Doxorubicin.....	56
<b>Tabel 5.3</b> Kategori Sitotoksik Nilai IC <sub>50</sub> .....	57
<b>Tabel 5.4</b> Hasil IC <sub>50</sub> .....	57
<b>Tabel 5.5</b> Hasil Uji <i>Shapiro-Wilk</i> .....	59
<b>Tabel 5.6</b> Hasil Uji <i>Levene's Test</i> .....	59
<b>Tabel 5.7</b> Hasil Uji <i>Kruskal-wallis</i> .....	60
<b>Tabel 5.8</b> Hasil Analisis LSD.....	60

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1</b> Diagram Alir Penelitian .....	77
<b>Lampiran 2</b> Skema Kerja.....	78
<b>Lampiran 3</b> Perhitungan Kadar Air Serbuk Buah <i>Prunus persica</i> L. Batsch .....	82
<b>Lampiran 4</b> Perhitungan Rendemen Ekstrak Hasil Maserasi-Sonikasi.....	83
<b>Lampiran 5</b> Perhitungan .....	84
<b>Lampiran 6</b> Dokumentasi Penelitian .....	108
<b>Lampiran 7</b> Determinasi Tanamam.....	115
<b>Lampiran 8</b> Hasil Pembacaan ELISA <i>Reader</i> .....	116
<b>Lampiran 9</b> Sertifikasi Kursus Kultur Jaringan Sel .....	117
<b>Lampiran 10</b> Surat Ijin Penelitian .....	118
<b>Lampiran 11</b> Surat Bebas Tanggungan Laboratorium .....	119

## DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	: Analysis of Variance
BPOM	: Badan Pengawas Obat dan Makanan
CCRC	: Cancer Chemoprevention Research Center
Depkes RI	: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
DKIS	: Ductus Carcinoma in Situ
DMSO	: Dimethyl Sulfoxide
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ER	: Estrogen Receptor
ER $\alpha$	: Estrogen Receptor Alpha
ER $\beta$	: Estrogen Receptor Beta
FBS	: Fetal Bovine Serum
FW	: Fresh Weight
HCl	: Hydrochloride (Acid)
IARC	: International Agency for Research on Cancer
IC <sub>50</sub>	: Inhibitory Concentration 50%
ISO	: Informasi Spesialite Obat
Kemenkes RI	: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
kHz	: Kilohertz
KS	: Kontrol Sel
LIPI	: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
LSD	: Least Significant Differences
MC	: Moisture Content

mg	: Miligram
MHz	: Megahertz
mL	: Mililiter
MTT	: Microtetrazolium salt
NMDR	: Non-Monotonic Dose Responses
PBS	: Phosphate Buffer Saline
ppm	: Part per Million
PR	: Progesteron Receptor
p53	: Protein 53
rpm	: Rotasi per Menit
RPMI	: Rosewall Park Memorial Institute
SD	: Standar Deviasi
SDS	: Sodium Duodecyl Suphate
SPSS	: Statistic Product and Service Solution
Trypsin-EDTA	: Trypsin-Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
UAE	: Ultrasonic Assisted-Extraction
WHO	: World Health Organization
°C	: Derajat Celcius
μL	: Mikroliter
μg	: Mikrogram

## ABSTRAK

Miliyatna, Mala. 2019. **Profil Aktivitas Sitotoksik Berdasarkan Perbedaan Umur Buah *Prunus persica* L. Batsch Terhadap Sel T47D**. *Skripsi*. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing (I) Dr. Roihatul Muti'ah, M. Kes., Apt. Pembimbing (II) Ria Ramadhani, M. Kep., Ns. Penguji : drg. Arief Suryadinata Sp. Ort.

Kanker payudara merupakan salah satu kanker penyebab kematian terbesar. Pada tahun 2018 prevalensi angka kejadian kanker payudara mencapai 42,1/100.000 penduduk dengan angka kematian 17/100.000 penduduk. Pengobatan modern seperti kemoterapi dan radioterapi dapat membunuh sel normal sehingga dibutuhkan obat alternatif yang bisa didapatkan dengan memanfaatkan tumbuhan. *Prunus persica* L. Batsch diduga memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker dengan kandungan polifenol, flavonoid, tanin dan alkaloid. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui apakah terdapat aktivitas sitotoksik serta mengetahui perbedaan aktivitas sitotoksik berdasarkan perbedaan umur buah *Prunus persica* L. Batsch terhadap sel T47D. Buah dipanen pada umur 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu setelah pembungaan. Dilakukan ekstraksi maserasi-sonikasi untuk mendapatkan ekstrak dari masing-masing buah berbeda umur. Aktivitas sitotoksik dievaluasi dengan metode MTT Assay. Seri konsentrasi dari masing-masing sampel ekstrak buah berbeda umur adalah 8000; 4000; 2000; 1000; 500; 250; 125;  $\mu\text{g/ml}$ . Untuk kontrol positif (Doxorubicin) larutan stok yang digunakan adalah 2000 ppm dengan konsentrasi pengenceran 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12. Hasil  $\text{IC}_{50}$  yang didapatkan dari ekstrak buah berbeda umur adalah  $> 1000 \mu\text{g/ml}$  sehingga seluruh sampel ekstrak buah berbeda umur yang digunakan dinyatakan tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D serta terdapat perbedaan signifikan nilai  $\text{IC}_{50}$  dari sampel buah berbeda umur dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  kontrol positif (Doxorubicin).

Keywords : Aktivitas sitotoksik, buah *Prunus persica* L. Batsch berbeda umur, Sel T47D, MTT Assay,  $\text{IC}_{50}$ .

## ABSTRACT

Miliyatna, Mala. 2019. **Cytotoxic Activity Profile Based On The Age Difference Of *Prunus Persica L. Batsch* Fruit Toward T47D Cells.** *Thesis.* Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Mentor: (I) Dr. Roihatul Muti'ah, M. Kes., Apt. Mentor (II) Ria Ramadhani, M. Kep., Ns. Consultant : drg. Arief Suryadinata Sp. Ort.

Breast cancer is one of the biggest causes of death cancer. In 2018, the prevalence of breast cancer incidence reached 42.1/100,000 population with a mortality rate of 17/100,000 population. Modern medicine such as chemotherapy and radiotherapy can kill normal cells, so, alternative medicines can be obtained by using plants. *Prunus persica L. Batsch* is guessed that it has cytotoxic activity against cancer cells containing polyphenols, flavonoids, tannins and alkaloids. The aims of this study are to determine whether there are cytotoxic activities and to know the cytotoxic activity differences based on the age of the *Prunus persica L. Batsch* fruits against T47D cells. The fruits are harvested at 2 weeks, 3 weeks and 4 weeks after flowering. Maceration-sonication extraction is carried out to get extracts from each fruit with different age. Cytotoxic activity is evaluated by MTT Assay method. The concentration series of each fruit extract sample with different age is 8000; 4000; 2000; 1000; 500; 250; 125;  $\mu\text{g/ml}$ . For positive control (Doxorubicin), the stock solution used is 2000 ppm with a dilution concentration of 200; 100; 50; 25; 12.5; 6.25; 3.12. IC<sub>50</sub> results obtained from fruit extracts of different ages are  $> 1000 \mu\text{g/ml}$ , so that, all samples of fruit extracts of different ages used are stated to have no cytotoxic activity toward T47D cells and there are significant differences in IC<sub>50</sub> values of different age fruit samples with IC<sub>50</sub> values of positive control (Doxorubicin).

Keywords : Cytotoxic Activity, *Prunus persica L. Batsch* fruits in a different age, MTT Assay, IC<sub>50</sub>.

## مستخلص البحث

ميليياتنا، مالا. 2019. وصف نشاط السامة للخلايا بأساس فارق السن للفاكهة *Prunus persica* L. Batsch إلى خلية (T47D). البحث العلمي. قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشريفات: (1) الدكتور رائحة المطيبة الماجستير (2) ريبا رمضان، م. الماجستير، المناقش: غارف سورياتيتنا، الماجستير.

سرطان الثدي هو واحد من أكبر أسباب الموت بالسرطان. في عام 2018، انتشار سرطان الثدي هو 42.1 / 100,000 السكان مع معدل وفيات 17/100000 السكان. الطب الحديث مثل العلاج الكيميائي والعلاج الإشعاعي يمكن أن تقتل الخلايا الطبيعية حتى هناك يحتاج إلى الطب البديل الذي يمكن الحصول عليها باستخدام النباتات. *Prunus persica* L. Batsch تخمان أن له نشاط السامة للخلايا إلى خلية السرطان مع البوليفينول، الفلافونويد، العفص والقلويات. الأغراض من هذا البحث هم لأن تعرف نشاط السامة للخلايا ولأن تعرف الاختلافات في نشاط السامة للخلايا بأساس فارق السن للفاكهة إلى خلية (T47D). يتم حصاد الفاكهة في 2 أصابع، 3 أصابع و 4 أصابع بعد الإزهار. يعمل استخلاص النقع-صوتنة للحصول على مقتطفات من كل فاكهة تختلف في العمر. تم تقييم نشاط السامة للخلايا بواسطة طريقة التيترازول الصغير الفحص (MTT Assay). سلسلة تركيز كل عينة مقتطف فواكه مع سن مختلفة 8000؛ 4000؛ 2000؛ 1000؛ 500؛ 250؛ 125؛ ميكروغرام/مل. للتحكم الإيجابي (Doxorubicin)، يكون محلول المخزون المستخدم هو 2000 جزء في المليون مع تركيز تخفيف 200؛ 100؛ 50؛ 25؛ 12.5؛ 6.25؛ 3.12. نتائج IC50 التي تم الحصول عليها من مستخلصات الفاكهة من مختلف الأعمار < 1000 ميكروغرام/مل بحيث تم ذكر أن جميع عينات مستخلصات الفاكهة من مختلف الأعمار المستخدمة ليس لها أي نشاط السامة للخلايا ضد خلايا T47D وكانت هناك اختلافات كبيرة في قيم IC50 من عينات مختلفة من فواكه العمر مع قيم IC50 ذات تحكم إيجابي (Doxorubicin).

الكلمات المفتاحيات: نشاط السامة للخلايا، الفاكهة *Prunus persica* L. Batsch بفارق السن، خلية (T47D)، التيترازول الصغير الفحص (MTT Assay)، IC50.

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian yang cukup tinggi di dunia. Kanker adalah penyakit tidak menular yang ditandai dengan pertumbuhan sel tidak normal secara terus-menerus dan tidak terkendali yang dapat merusak jaringan sekitarnya serta dapat menjalar ke tempat yang jauh dari asalnya yang disebut metastasis. Sel kanker bersifat ganas dapat berasal atau tumbuh dari setiap jenis sel di tubuh manusia (Depkes RI, 2009). Kanker hingga saat ini menjadi masalah kesehatan di dunia termasuk Indonesia. Menurut data WHO tahun 2013, insiden kanker meningkat dari 12,7 juta kasus tahun 2008 menjadi 14,1 juta kasus tahun 2012, dengan jumlah kematian meningkat dari 7,6 juta orang tahun 2008 menjadi 8,2 juta pada tahun 2012. Kanker menjadi penyebab kematian nomor 2 di dunia sebesar 13% setelah penyakit kardiovaskular. Secara nasional prevalensi penyakit kanker pada penduduk semua umur di Indonesia tahun 2013 sebesar 1,4% atau diperkirakan sekitar 347.792 orang (Kemenkes RI, 2015).

Kanker payudara menjadi salah satu kanker penyebab kematian terbesar setiap tahunnya. Pada tahun 2013 penderita kanker payudara di Indonesia tercatat sebesar 0,5% dari diagnosis dokter atau sekitar 61.682 jiwa (Estimasi Jumlah Absolut) (Kemenkes RI, 2015). Berdasarkan data *Globacan, International Agency for Research on Cancer (IARC)* tahun 2002, kanker payudara menjadi kanker yang menempati urutan pertama dari seluruh kanker pada perempuan di dunia dengan

insiden *rate* 38 per 100.000 perempuan. Sementara kanker rahim berada pada urutan kedua dengan insiden *rate* 16 per 100.000 perempuan. Dengan demikian kanker payudara menjadi kanker penyebab kematian pada wanita. Sementara itu, data dari *International Agency for Research on Cancer (IARC)* pada pertengahan tahun 2012 mencatat kasus kanker payudara pada laki-laki dan perempuan sebanyak 1.670.000 kasus (*Union for International Cancer Control*, 2014).

Beberapa pengobatan terhadap kanker payudara telah dilakukan, yaitu Pengobatan Terhadap *Ductus Carcinoma In Situ (DKIS)* (dengan menggunakan operasi atau pembedahan dan radioterapi serta penggunaan tamoxifen sebagai terapi sistemik sekunder), Mastektomi (pengangkatan seluruh payudara), Mastektomi di bawah kulit (mencakup pembuangan jaringan payudara di mana kulit payudara dan *nipple-aerola complex* (puting susu yang kompleks) diawetkan), dan operasi aksilari (Jacky, 2008). Tindakan terhadap penyakit kanker juga telah dilakukan beberapa pengobatan yaitu operasi, kemoterapi, radioterapi (Jackie, 2008), imunoterapi, pengobatan dengan hormon, dan transplantasi organ (Maharani, 2009). Diantara beberapa terapi tersebut, kemoterapi merupakan pilihan pengobatan yang paling banyak digunakan. Kemoterapi adalah cara pengobatan dengan menggunakan senyawa kimia yang bekerja langsung pada sel kanker (Maharani, 2009). Kegagalan yang sering terjadi dalam usaha pengobatan kanker (utamanya melalui kemoterapi) dikarenakan rendahnya selektifitas obat-obat anti kanker dan sensitivitas sel kanker terhadap agen kemoterapi (Balunas, 2005).

Usaha penemuan obat baru yang aman dan selektif terhadap pengobatan dan pencegahan kanker dengan mengetahui pengaruh molekuler terhadap sel kanker

perlu untuk dilakukan. Obat baru tersebut bisa didapatkan dari senyawa tumbuhan yang efektif digunakan sebagai antikanker. Senyawa dari tumbuhan yang efektif digunakan sebagai senyawa antikanker hingga kini yaitu *vincristine*, *vinblastine*, *epipodophyllotoxins*, *taxanes*, flavonoid, dan *camptothecins* (Balunas, 2005). Agen kemoterapi lain yang sering digunakan sebagai antikanker adalah doxorubicin (Kumar *et al.*, 2014).

Allah SWT menciptakan segala sesuatu di atas bumi ini bukan hanya sebatas menciptakan. Dibalik penciptaan terdapat kekuasaan-Nya yang sangat berguna bagi kehidupan semesta. Allah menciptakan tumbuhan bukan hanya sebagai penghias bumi, melainkan juga menyimpan sesuatu yang sangat berguna untuk terus berlanjut dan berkembangnya kehidupan. Dalam QS. An-Nahl ayat 11 Allah berfirman :

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

Artinya: “Dia menumbuhkan bagi kamu (dari air hujan itu) berbagai macam tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan” (QS. An-Nahl : 11).

Dijelaskan dalam tafsir Ibnu Katsir bahwa Allah menumbuhkan tanaman-tanaman dan buah-buahan dalam berbagai macam warna, rasa, bau, dan bentuk dengan 1 elemen yaitu air. Dalam tafsir Al-Aisar disebutkan bahwa turunnya hujan hingga tumbuhnya tumbuhan merupakan tanda yang jelas tentang adanya Allah, kekuasaan, ilmu, kebijaksanaan, rahmat Allah, dan sudah menjadi keharusan bagi manusia untuk menyembah-Nya. Tetapi hanya “bagi kaum yang memikirkan” yaitu

orang-orang yang menggunakan akal pikiran mereka dalam memahami sesuatu serta menyingkap rahasia dan hakekat-Nya.

Berdasarkan ayat di atas dapat dipahami bahwa Allah menumbuhkan berbagai macam tanaman dan buah-buahan atas kuasa-Nya dan di dalamnya terdapat kandungan yang bermanfaat bagi keberlangsungan kehidupan. Maha Suci Allah dan Maha Benar Firman Allah. Dia menciptakan segala sesuatu dengan manfaat yang tersembunyi pada tiap-tiap ciptaannya untuk menciptakan keragaman, memajukan ilmu pengetahuan dan mengasah kepintaran manusia. Mereka yang dapat menguak kekuasaan Allah yang tersembunyi pada makhluk-Nya hanyalah mereka yang menggunakan pikiran dan akalnya untuk berpikir dan memahami serta menggunakan hati mereka untuk meresapi ciptaan Allah dan menerima Ilmu Allah. Dalam ayat lain Allah berfirman :



أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَأْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

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

Ayat di atas menunjukkan bahwa tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang memiliki banyak manfaat, salah satunya dapat bermanfaat sebagai pengobatan penyakit tertentu. Tumbuhan memiliki beranekaragam jenis yang dapat digunakan sebagai obat bagi berbagai penyakit, hal ini merupakan anugerah dari Allah SWT yang dapat dimanfaatkan dengan sebaik-baiknya oleh manusia (Shihab, 2000).

Ayat di atas juga menegaskan pada kita bahwasanya di dalam tumbuh-tumbuhan yang terdapat di bumi ini ada kandungan-kandungan yang baik yang sangat dibutuhkan oleh kehidupan terutama manusia. Manusia yang dapat berpikir

hendaklah menggunakan kemampuannya ini untuk mempelajari ciptaan Allah. Tumbuh-tumbuhan tersebut mampu menjadi obat bagi penyakit yang diderita oleh manusia dan dapat menjadi sumber untuk menghasilkan energi dalam tubuh sehingga dapat menjalani aktivitas dan ibadah dengan maksimal.

Berbagai penelitian dan pengembangan tumbuhan menjadi bahan baku obat terus berkembang. Para peneliti menyadari bahwa dalam tumbuhan terdapat beragam senyawa yang dapat menjadi obat bagi berbagai penyakit. Salah satu tumbuhan yang dipercaya memiliki aktivitas sitotoksik adalah tanaman *Prunus persica* L. Batsch yang juga dikenal memiliki aktivitas sebagai antibakteri khususnya sebagai antidiare (Gairola, 2013 dan Madikizela, 2012). Selain itu buah muda dan daun muda *Prunus persica* juga bisa digunakan sebagai obat disentri (Batoro, 2017).

*Prunus persica* L. Batsch dikenal dengan beberapa kandungan yang bermanfaat antara lain fenol (polyphenol), flavonoid, tanin, antosianin, dan alkaloid. *Prunus persica* L. Batsch memiliki jumlah flavonoid sebesar 2,44 % per 100 g FW atau per 100 mL (Floegel, 2013). Data yang tersedia telah mengungkapkan sifat menguntungkan dari flavonoid terutama quercetin yaitu sebagai antioksidan, anti-inflamasi dan antikarsinogenik yang menghasilkan peran potensial sebagai agen kemopreventif (Weng, 2012). Beberapa penelitian membuktikan bahwa *Prunus persica* L. Batsch terbukti mengandung flavonoid. Flavonoid yang terkandung dalam *Prunus persica* L. Batsch terutama adalah subclass flavonoid yaitu flavan-3-ols dan flavonols (Zhao *et al.*, 2015; Ceccarelli *et al.*, 2016).

Flavonoid merupakan kelas senyawa fenolik terbesar dalam tumbuhan. flavonoid banyak didapatkan pada biji-bijian, sayur-sayuran, dan buah-buahan (Cantin, 2009). Flavonoid dikenal memiliki aktivitas sebagai antialergi, antiplatelet, antiinflamasi, antitumor dan aktivitas sebagai antioksidan. Beberapa penelitian menekankan aktivitasnya sebagai aktioksidan terutama peran flavonoid sebagai agen kemopreventif kanker (Benmehdi, 2017). Adapun beberapa sumber flavonoid adalah bawang putih yang mengandung flavonol, flavon pada seledri, flavanon pada jeruk, flavan-3-ols pada apel, antosianidin pada *blueberry*, dan isoflavon pada kedelai (Hui, 2013).

Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol 96% dari berbagai umur buah *Prunus persica* L. Batsch yaitu dari umur 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu setelah pembungaan. Suatu hasil penelitian yang dilakukan oleh Oms-Oliu, *et al* (2011) menunjukkan adanya hubungan antara tingkat kematangan (maturasi) buah tomat (*Solanum lycopersicum* L. cv Plaisance) dengan profil metabolit yang dihasilkan. Penelitian lain yang dilakukan oleh Elyani (2012) terhadap tandan bunga jantan enau menyatakan bahwa secara umum keberadaan dan kelimpahan metabolit sekunder pada enau cenderung meningkat seiring dengan penambahan usia tandan. Sejalan dengan hal tersebut, Siswanto (2004) dan Handoyo (2011) menjelaskan bahwa tingkat usia dan kematangan tanaman mempengaruhi kandungan metabolit sekunder yang aktif secara maksimal dalam tanaman.

Penggunaan etanol 96% sebagai pelarut dalam mengekstrak senyawa aktif dalam *Prunus persica* L. Batsch telah dilakukan sebelumnya. Hasil penelitian sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak etanol dari akar *Prunus persica* L. Batsch

dapat menghambat pertumbuhan sel kanker liver HepG2 secara *in vitro* serta dapat menghambat pertumbuhan tumor secara *in vivo* (Shen *et al.*, 2017).

Berdasarkan paparan di atas maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efektivitas ekstrak *Prunus persica* L. Batsch terhadap sel kanker payudara pada *cell line* T47D. Pada penelitian ini akan digunakan buah *Prunus persica* L. Batsch berdasarkan perbedaan usia sebagai sampelnya. Dari penelitian ini diharapkan akan mengetahui jumlah kadar dari usia buah manakah yang memiliki potensi paling baik sebagai antikanker pada *cell line* T47D kanker payudara yang dinilai dari  $IC_{50}$ .

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan penelitian sebagaimana berikut :

1. Apakah terdapat aktivitas sitotoksik ( $IC_{50}$ ) sel T47D berdasarkan perbedaan umur dari ekstrak buah *Prunus persica* L. Batsch?
2. Apakah terdapat perbedaan aktivitas sitotoksik sel T47D berdasarkan perbedaan umur dari ekstrak buah *Prunus persica* L. Batsch?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka dapat diketahui tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui apakah terdapat aktivitas sitotoksik ( $IC_{50}$ ) sel T47D berdasarkan perbedaan umur dari ekstrak buah *Prunus persica* L. Batsch.

2. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan aktivitas sitotoksik sel T47D berdasarkan perbedaan umur dari ekstrak buah *Prunus persica* L. Batsch.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

##### **1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti**

Manfaat bagi peneliti adalah peneliti dapat mengetahui ada atau tidaknya jumlah kadar dan efektifitas antikanker terhadap *cell line* T47D kanker payudara dari ekstrak buah *Prunus persica* L. Batsch berdasarkan perbedaan usia pada buah. Jika memang ada perbedaan, maka ekstrak buah yang manakah yang berpotensi paling baik sebagai antikanker terhadap *cell line* T47D kanker payudara.

##### **1.4.2 Manfaat Terapan**

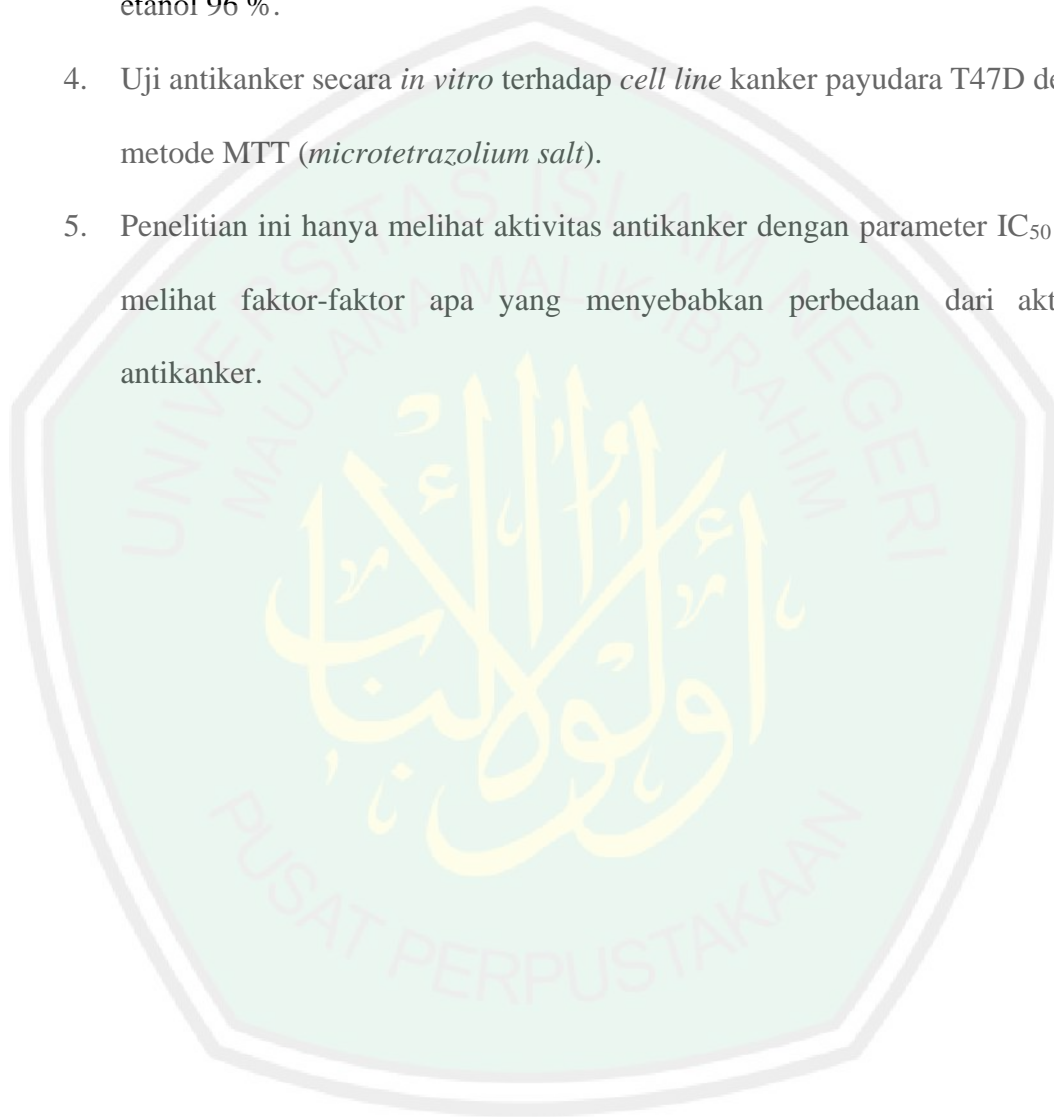
Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan dasar bahwa pada usia buah yang memiliki efektivitas terbaik, kemungkinan memiliki faktor-faktor seperti kandungan nutrisi, kematangan yang baik untuk menghasilkan metabolit sekunder sehingga dari usia buah tersebut dapat terus diekstrak dan diteliti hingga menjadi bagian dari obat fitofarmaka.

#### **1.5 Batasan Penelitian**

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Tempat pengambilan buah *Prunus persica* L. Batsch adalah di Taman Nasional Bromo Tengger Semeru.

2. Umur buah *Prunus persica* L. Batsch yang dipakai adalah umur buah 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu setelah pembungaan.
3. Ekstraksi dengan metode kombinasi maserasi dan UAE menggunakan pelarut etanol 96 %.
4. Uji antikanker secara *in vitro* terhadap *cell line* kanker payudara T47D dengan metode MTT (*microtetrazolium salt*).
5. Penelitian ini hanya melihat aktivitas antikanker dengan parameter  $IC_{50}$  tanpa melihat faktor-faktor apa yang menyebabkan perbedaan dari aktivitas antikanker.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan dalam Perspektif Islam

Allah menciptakan segala sesuatunya di bumi ini dengan berbagai manfaat. Segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah tidak ada yang tidak bermanfaat bahkan hewan buas sekalipun. Allah SWT. berfirman :

وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعِيشَ وَمَنْ لَسْتُمْ لَهُ بِرِزْقِينَ ﴿٢٠﴾

Artinya: “Dan Kami telah menjadikan untukmu di bumi keperluan-keperluan hidup, dan (Kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-sekali bukan pemberi rezeki kepadanya” (QS. Al-Hijr : 20).

Tafsir Ibnu Katsir menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan segala sesuatunya di bumi baik dari sarana dan penghidupan. *Al-Ma’ayish* dalam ayat diatas merupakan bentuk *jama’* dari *Ma’ayishah* (penghidupan). Mujahid mengatakan : “*Yaitu binatang yang melata dan ternak*”. Ibnu Jarir berpendapat lain dengan mengatakan : “*Mereka adalah para budak laki-laki dan perempuan, binatang melata dan binatang ternak*”. Allah bermaksud memberi anugerah kepada manusia dengan apa yang dapat memudahkan mata pencaharian dan sarana kehidupan, dan dengan menundukkan binatang untuk dikendarai dan binatang ternak yang dapat mereka makan, serta hamba sahaya yang dapat melayani mereka. Manusia mendapatkan manfaat dari mereka sedangkan rezeki mereka menjadi tanggungan Allah (Katsir, 2004).

Tafsir Jalalain menjelaskan “*Dan Kami telah menjadikan untuk kalian di muka bumi keperluan-keperluan hidup*” berupa buah-buahan dan biji-bijian (dan)

Kami jadikan pula untuk kalian “*makhluk-makhluk yang kalian sekali-kali bukan pemberi rezeki kepadanya*” yaitu berupa hamba-hamba sahaya, binatang-binatang serta segala macam ternak, hanya Allah yang memberi rezeki kepa mereka (Al-Mahalli, 2007).

Tafsir Al-Mishbah menjelaskan ayat di atas dalam tafsirnya dengan menerangkan bahwa “Allah menyiapkan berbagai kebutuhan yang baik di bumi ini bagi kalian. Ada bebatuan yang berguna untuk membangun tempat tinggal, hewan-hewan yang daging, kulit dan bulunya dapat dimanfaatkan, barang-barang tambang yang ada dalam perut bumi, dan lain sebagainya. Di samping kebutuhan-kebutuhan hidup itu, di bumi ini Allah juga menjadikan penghidupan bagi keluarga dan pengikut yang berada di bawah tanggung jawab kalian. Hanya Allah yang memberi rezeki kepada mereka, juga kepada kalian” (Shihab, 2003).

Berdasarkan beberapa tafsir QS. Al-Hijr ayat 20 di atas, maka dapat dipahami bahwa Allah telah menciptakan segala sesuatu di muka bumi ini dengan berbagai macam manfaat yang diilikinya baik dari tumbuh-tumbuhan, hewan ternak, bahkan hamba sahaya. Manusia mendapatkan manfaat dari mereka tanpa harus menanggung beban rezeki kepada mereka karena rezeki mereka telah ditanggung oleh Allah sepenuhnya.

## 2.2 *Prunus persica* L. Batsch

### 2.2.1 Klasifikasi

*Prunus persica* L. Batsch adalah pohon gugur dari famili Rosaceae dengan ketinggian 5-10 m dan umumnya dibudidayakan di Asia Barat, Eropa, Himalaya dan India hingga ketinggian 1.000 kaki. Terdapat sekitar 100 marga dan 3.000 spesies dalam keluarga Rosaceae (Aziz dan Rohman, 2013). Pada masyarakat suku Tengger, tumbuhan *Prunus persica* L. Batsch dinamai jambu wer (Pamungkas, 2010).

Klasifikasi (taksonomi) dari *Prunus persica* L. Batsch adalah sebagaimana berikut (van Steenis, 1972):



**Gambar 2.1** Buah *Prunus persica* L. Batsch

Divisi : *Magnoliophyta*

Class : *Magnoliopsida*

Subclass : *Rosidae*

Ordo : *Rosales*

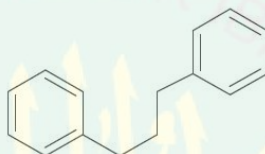
Family : *Rosaceae*

Genus : *Prunus*

Species : *Prunus persica* L. Batsch.

### 2.2.2 Kandungan

*Prunus persica* L. Batsch dikenal dengan beberapa kandungan yang bermanfaat antara lain fenol (polifenol), flavonoid, tanin, antosianin, dan alkaloid. *Prunus persica* L. Batsch memiliki jumlah flavonoid sebesar 2,44 % per 100 g FW atau per 100 mL (Floegel, 2013). Data yang tersedia telah mengungkapkan sifat menguntungkan dari flavonoid terutama quercetin yaitu sebagai antioksidan, anti-inflamasi dan antikarsinogenik yang menghasilkan peran potensial sebagai agen kemopreventif (Weng, 2012).



**Gambar 2.2** Struktur inti senyawa flavonoid (Robinson, 1995)

*Prunus persica* L. Batsch juga memiliki kandungan asam fenol yang dipercaya memiliki aktivitas sebagai antikanker. Asam fenol yang dikandung berjumlah sebesar 24,85% per 100 g FW atau per 100 mL, sedangkan kandungan total dari fenolnya sebesar 279,08% per 100 g FW atau per 100 mL (Floegel, 2013). Salah satu kandungan fenol yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antikanker adalah polifenol. Ekstrak polifenol dari genotip *Prunus persica* L. Batsch menunjukkan sitotoksitas selektif terhadap estrogen sel kanker payudara MDA-MB-435 dibandingkan dengan sel MCF-7. Dalam senyawa fenol juga terdapat asam klorogenik dimana memiliki efektivitas terhadap kedua sel kanker tersebut (Vizzotto, 2014).



**Gambar 2.3** Struktur fenol (Robinson, 1995)

### 2.2.3 Kegunaan

Berbagai penelitian dan pengembangan tumbuhan menjadi bahan baku obat terus berkembang. Para peneliti menyadari bahwa dalam tumbuhan terdapat beragam senyawa yang dapat menjadi obat bagi berbagai penyakit. Salah satu tumbuhan yang dipercaya memiliki aktivitas anti kanker adalah tanaman *Prunus persica* L. Batsch. *Prunus persica* L. Batsch juga dikenal memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Gairola, 2013 dan Madikizela, 2012). Pada penelitian yang dilakukan oleh Gairola (2013) membuktikan bahwa ekstrak kulit kayu *Prunus persica* L. Batsch dapat menjadi antidiare. Hasil ini juga didapatkan dari penelitian yang dilakukan oleh Madikizela (2012) dimana membuktikan bahwa rebusan daun *Prunus persica* L. Batsch dapat dijadikan sebagai obat antidiare.

### 2.3 Tinjauan Tentang Ekstraksi

Ekstrak diartikan sebagai sediaan padat yang diperoleh dari menyari zat aktif dari tanaman atau hewan dengan menggunakan pelarut yang sesuai kemudian dilakukan penguapan terhadap pelarut tersebut sedemikian hingga tersisa massa serbuk atau ekstrak sesuai baku yang ditetapkan (Depkes RI, 1995).

Sedangkan Ekstraksi adalah suatu proses untuk mendapatkan kandungan kimia dari suatu tanaman dan hewan dengan menggunakan pelarut atau penyari yang sesuai. Pelarut yang biasa digunakan adalah air, etanol, atau campuran dari keduanya (Depkes RI, 1995). Dalam penelitian ini digunakan ekstraksi maserasi ultrasonik.

### 2.3.1 Ekstraksi

Ekstraksi dengan metode ini memiliki keuntungan yaitu meminimalkan kerusakan kandungan yang bersifat termolabil (Istiqomah, 2013).

#### a. Maserasi

Maserasi berasal dari bahasa latin *macerace* yang berarti mengairi atau melunakkan. Maserasi adalah salah satu dari metode ekstraksi cara dingin dengan cara merendam simplisia tanaman dengan menggunakan pelarut di dalam wadah tertutup selama kurun waktu tertentu dengan diselingi pengadukan dan dilakukan pada suhu kamar (Istiqomah, 2013).

Prinsip dari metode ini adalah diperolehnya kesetimbangan antara konsentrasi di dalam dan luar sel tanaman sehingga mampu melarutkan atau mengeluarkan konstituen aktif dari dalam sel tanaman melalui mekanisme difusi (Istiqomah, 2013).

Keunggulan dari metode ini adalah pengerjaan yang cukup mudah serta dengan peralatan yang sederhana dan murah, namun metode ini juga memiliki kekurangan yaitu pengerjaannya cukup lama dan membutuhkan banyak pelarut (Istiqomah, 2013).

#### b. Sonikasi (Ultrasonik)

Ultrasonik merupakan energi yang dihasilkan gelombang suara dengan frekuensi di atas deteksi telinga manusia, yaitu 20 kHz sampai 500 MHz (Thompson dan Doraiswamy, 1999; Teddy, 2011). Ultrasonik pada intensitas rendah dan frekuensi tinggi biasanya diaplikasikan untuk evaluasi non-destruktif, sebaliknya pada intensitas tinggi dan frekuensi rendah merupakan jenis ultrasonik

untuk aplikasi sonokimia (Thompson dan Doraiswamy, 1999; Teddy, 2011). Ekstraksi dengan menggunakan gelombang ultrasonik dapat menyebabkan gangguan fisik pada dinding maupun membran sel biologis serta penurunan ukuran partikel. Efek tersebut menyebabkan penetrasi pelarut lebih baik ke dalam sel dan meningkatkan laju perpindahan massa pada jaringan serta memfasilitasi perpindahan senyawa aktif ke pelarut (Novak *et al.*, 2008; Teddy, 2011).

### 2.3.2 Kombinasi Teknik Ekstraksi

Kombinasi teknik ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah teknik maserasi dengan sonikasi. Metode ekstraksi yang ditetapkan oleh BPOM sebagai standar mutu ekstrak tanaman obat dengan menggunakan metode maserasi selama 72 jam tidak efisien dalam waktu ekstraksi. Oleh karena itu, perlu dikembangkan metode ekstraksi lain yang bertujuan menjadikan proses ekstraksi lebih efisien dan mempersingkat waktu ekstraksi, salah satunya adalah ekstraksi sonikasi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik (Melecchi *et al.*, 2006).

Metode ekstraksi maserasi dilakukan selama 24 jam tanpa menggunakan pemanas. Kelebihan metode ini diantaranya sederhana dan bisa menghindari kerusakan komponen senyawa. Kelemahan metode ini ditinjau dari segi waktu dan penggunaan pelarut yang tidak efektif dan efisien karena jumlah pelarut yang digunakan relatif banyak sehingga membutuhkan waktu yang lebih lama (Meloan, 1999).

Ekstraksi sonikasi merupakan metode *non thermal* yang digunakan dalam proses peningkatan rendemen ekstraksi dan pengurangan waktu ekstraksi senyawa-senyawa polifenol, antosianin, aromatik, polisakarida, dan senyawa fungsional

lainnya (Vilkhu *et al.*, 2006). Metode ini menggunakan gelombang ultrasonik yaitu gelombang akustik dengan frekuensi lebih besar dari 20 kHz (Suslick *et al.*, 1986). Alat yang digunakan pada metode ini disebut dengan sonikator.

Sonikator bersifat *non-destructive* (tidak merusak senyawa akibat panas) sehingga dapat dengan mudah diadaptasikan ke berbagai aplikasi (McClements, 1995). Menurut Kuldiloke (2002), salah satu manfaat metode ekstraksi sonikasi adalah mempercepat proses ekstraksi. Hal ini dibuktikan dengan penelitian Cameron dan Wang (2006) tentang ekstraksi pati jagung yang menyebutkan bahwa rendemen pati jagung yang didapat dari proses ekstraksi sonikasi selama 2 menit sebesar 55,2-67,8% hampir sama dengan rendemen yang didapat dari pemanasan dengan air selama 1 jam yaitu 53,4%. Dengan penggunaan metode ekstraksi sonikasi, ekstraksi senyawa organik tanaman dan biji-bijian dapat berlangsung lebih cepat karena dinding sel bahan dipecah oleh getaran ultrasonik sehingga kandungan yang ada di dalamnya dapat berdifusi dengan mudah (Mason *et al.*, 1996).

Prinsip kerja ekstraksi sonikasi adalah perambatan gelombang ultrasonik dari sumber getaran sonikator dalam medium pelarut secara longitudinal. Gelombang tersebut jika merambat melalui medium cair menyebabkan molekul air mengalami peregangan dan membentuk gelembung-gelembung mikro yang jika terus menerus menerima energi dari gelombang ultrasonik akan pecah sambil melepaskan energi yang besar yang disebut kavitasi. Kavitasi dengan energi besar akan menumbuk dinding sel bahan yang akan diekstrak dan memperbesar diameter pori. Akibat dari pori bahan yang membesar, pelarut akan dengan mudah melarutkan senyawa yang terdapat pada bahan dengan proses difusi (Santos *et al.*, 2009).

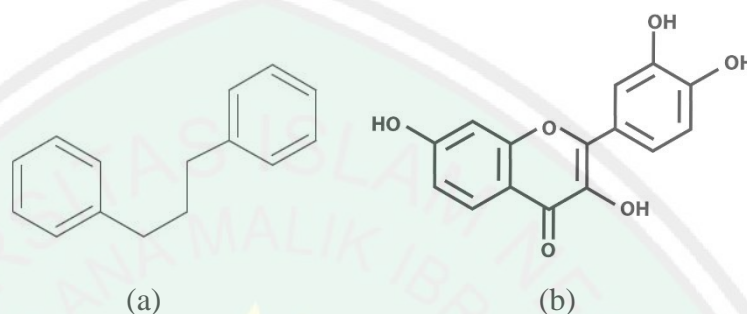
## 2.4 Tinjauan Tentang Flavonoid

Flavonoid mempunyai kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzen (C<sub>6</sub>) terikat pada suatu rantai propana (C<sub>3</sub>) sehingga membentuk suatu susunan C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis senyawa flavonoid, yaitu: Flavonoid atau 1.3-diaril propane, Isoflavonoid, atau 1.2-diarilpropana dan Neoflavonoid atau 1.1-diarilpropana (Lenny, 2006).

Flavonoid dalam tumbuhan terdapat sebagai bentuk O-glikosida dan C-glikosida. Bentuk flavonoid O-glikosida, satu gugus hidroksil (-OH) flavonoid (lebih) terikat pada satu gula (lebih) dengan ikatan hemiasetal yang tidak tahan asam, biasanya pada posisi 3 atau 7. Bentuk C-glikosida memiliki gula yang terikat pada atom karbon flavonoid dan dalam hal ini gula terikat langsung pada inti benzena dengan ikatan karbon-karbon yang tahan asam, dan hanya ditemukan pada atom C nomor 6 dan 8 dalam inti flavonoid. Glukosa merupakan gula yang paling umum terlibat, selain itu juga terdapat galaktosa, ramnosa, xilosa, dan arabinosa (Markham, 1988).

Sejumlah gugus hidroksil yang tak terganti atau suatu gula menyebabkan flavonoid bersifat polar sehingga larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan lain-lain. Pengaruh glikosilasi (gula terikat pada flavonoid) menyebabkan flavonoid menjadi kurang reaktif sehingga lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti air dan dengan demikian campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida flavonoid (Harborne 1996; Markham 1988).

Harbone (1996) menjelaskan bahwa senyawa flavonoid golongan utama berupa senyawa yang dapat larut dalam air dan dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70 % serta akan tetap larut dalam lapisan air jika diekstraksi atau difraksinasi dengan eter minyak bumi.



**Gambar 2.4** Struktur inti (a) senyawa flavonoid dan (b) quersetin (bagian flavonoid) (Robinson, 1995).

Beberapa penelitian menekankan aktivitas flavonoid sebagai antioksidan terutama peran flavonoid sebagai kemopreventif kanker (Benmehdi, 2017). Adapun beberapa sumber flavonoid adalah bawang putih yang mengandung flavonol, flavon pada seledri, flavanon pada jeruk, flavan-3-ols apel, antosianidin pada blueberry, dan isoflavon pada kedelai (Hui, 2013).

Hasil dari penelitian *in vitro* dan *in vivo* mengidentifikasi flavonoid memiliki aktivitas sebagai antiproliferasi, antioksidan, dan antiangiogenik sehingga baik sebagai kapasitas dalam menghambat suatu enzim tertentu yang bertanggung jawab terhadap metabolisme dari hormon steroid. Selain itu, beberapa flavonoid tertentu seperti naringenin, apigenin dan kaempferol memiliki afinitas yang tinggi terhadap reseptor estrogen (ER)  $\beta$  daripada ER  $\alpha$  yang telah dikaitkan dengan mekanisme inhibitor dari proliferasi sel pada jaringan payudara. Sebuah meta-analisis yang didalamnya terdapat enam *cohort-longitudinal* dan enam *case-control*

studi menyatakan bahwasanya mengkonsumsi flavon dan flavonol dapat menurunkan resiko kanker payudara (Ortega *et.al.*, 2016).

## **2.5 Tinjauan Pengaruh Pematangan Buah dan Kandungan Metabolit Sekunder**

Pematangan merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder yang ada pada buah. Tingkat pematangan buah berhubungan erat dengan usia buah yang artinya semakin tua umur buah maka tingkat pematangan pada buah akan bertambah, dan begitu sebaliknya. Perbedaan usia buah dapat mempengaruhi kandungan senyawa metabolit sekunder (Siswanto, 2004; Handoyo, 2011).

Banyak penelitian yang dilakukan sebelumnya yang menunjukkan hubungan antara tingkat pematangan dengan kandungan senyawa dalam buah. Penelitian tersebut antara lain pada buah mangga didapatkan kadar vitamin C maksimum pada buah pisang matang (Rahman *et al.*, 2015), pada buah pisang kadar dekstrin ditemukan lebih tinggi pada buah matang daripada buah mentah (Abe *et al.*, 2017), serta pada buah alpukat kandungan metabolit pada buah masak lebih besar dibandingkan pada buah muda (Yachya dan sulistyawati, 2015).

## **2.6 Tinjauan Tentang Anatomi Payudara**

Setiap payudara merupakan elevasi dari jaringan glandular dan adiposa yang tertutup kulit pada dinding anterior dada. Payudara terletak diatas otot pektoralis mayor dan melekat pada otot tersebut melalui selapis jaringan ikat. Variasi ukuran

payudara tergantung pada variasi jumlah jaringan lemak dan jaringan ikat, bukan pada jumlah glandular aktual.

Jaringan glandular terdiri dari 25-20 lobus mayor dimana setiap lobus dialiri duktus laktiferusnya sendiri yang membesar menjadi sinus laktiferus (ampula). Lobus-lobus dikelilingi oleh jaringan adipose dan dipisahkan oleh ligamen suspensorium cooper (berkas jaringan ikat fibrosa). Lobus mayor bersubdivisi menjadi 20-40 lobulus dan setiap lobulus kemudian bercabang menjadi duktus-duktus kecil yang berakhir di alveoli sekretori. Puting memiliki kulit berpigmen dan berkerut membentang keluar sekitar 1-2 cm untuk membentuk aerola (Underwood, 1996).

## **2.7 Tinjauan Tentang Kanker**

Kanker merupakan penyakit yang ditandai dengan pergeseran mekanisme kontrol mengatur kelangsungan hidup, poliferasi dan diferensiasi sel. Sel seperti demikian berpoliferasi secara berlebihan dan membentuk tumor lokal yang dapat menekan dan menginvasi struktur normal disekitarnya (Katzung, 2010).

Pertumbuhan sel menjadi sel kanker dimulai dari satu sel yang memperbanyak diri dan membentuk koloni kecil dalam jaringan yang sama. Proses ini disebut karsinogenesis. Karsinogenesis memiliki 4 tahapan yang secara berurutan dimuai dari tahap inisiasi, tahap promosi, tahap progresi, dan tahap akhir adalah tahap metastasis. Pada tahap awal yaitu tahap inisiasi, zat-zat kimia karsinogen dan zat inisiator diaktivasi oleh enzim tertentu sehingga menghasilkan metabolit elektrofil dan reaktif. Metabolit yang pada dasarnya bersifat mutagen ini

akan memasuki sel normal yang selanjutnya berikatan dengan DNA secara irreversible. Ikatan tersebut menyebabkan terjadinya mutasi dan kelainan kromosomal berupa gen *rearrangement*, atau amplifikasi gen, sehingga DNA berubah dan sel akan mulai memperbanyak diri secara tidak terkendali (Muti'ah, 2014).

Tahap kedua adalah tahap promosi. Tahap promosi terjadi karena kesalahan acak selama proses pembelahan sel ataupun terpapar oleh karsinogen spesifik, misalnya hormon. Senyawa tersebut akan mendapatkan penolakan sehingga dapat menyebabkan terjadinya perubahan fungsi sel dan pertumbuhan neoplasma. Fase promosi juga dianggap sebagai tahap proliferasi sel. Tahap ketiga adalah tahap progresi yang didalamnya meliputi manifestasi pertumbuhan dan perkembangan sel kanker menjadi ganas. Salah satu penanda dari tahap progresi ini adalah perubahan genetik yang terjadi karena pembelahan sel yang berlangsung secara cepat. Pada tahap progresi terjadi penambahan jumlah sel kanker. Tahapan terakhir dari proses karsinogenesis adalah tahap metastase. Pada tahap metastase meliputi beberapa tahap pemisahan, termasuk pemisahan sel kanker dari tumor induk yang menyebabkan sel kanker melakukan invasi ke jaringan lain dalam tubuh melalui sirkulasi sistemik atau rongga tubuh (Muti'ah, 2014).

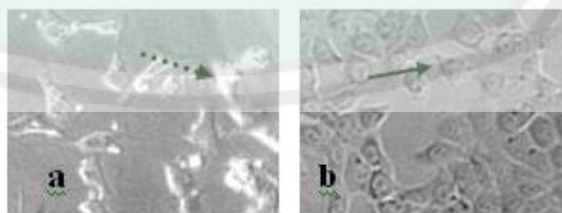
### **2.7.1 Tinjauan Tentang Patofisiologi Kanker Payudara**

Kanker payudara berasal dari jaringan epitelial, dan paling sering terjadi pada sistem duktal. Tahap awal yaitu terjadi hiperplasia sel-sel dengan perkembangan sel-sel atipik. Sel-sel ini akan berlanjut menjadi karsinoma in situ dan menginvasi stroma. Kanker membutuhkan waktu tujuh tahun untuk bertumbuh

dari sebuah sel tunggal sampai menjadi massa yang cukup besar untuk dapat diraba (berdiameter  $\pm 1$  cm). Ukuran tersebut diperkirakan seperempat dari carcinoma mammae telah bermetastasis. Carcinoma mammae bermetastasis dengan penyebaran langsung ke jaringan sekitarnya dan juga melalui saluran limfe dan aliran darah (Price, 2006). Kanker payudara pertama kali menyebar ke kelenjar aksila regional. Lokasi metastasis paling jauh yaitu tulang, hati, paru, pleura, dan otak (Yuanita, 2010).

### 2.7.2 Tinjauan Tentang Sel T47D

Sel T47D merupakan *continous cell line* dari kanker payudara. *Continous cell line* sering digunakan dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena penanganannya yang mudah, kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Muti'ah, 2014). Sel T47D memiliki karakteristik *Estrogen Receptor (ER) / Progesteron Receptor (PR)* positif, dimana induksi estrogen eksogen menyebabkan peningkatan proliferasi sel. Secara molekular sel tersebut mengalami mutasi pada p53, sehingga sel kehilangan kontrol untuk dapat melakukan regulasi *cell cyclenya* (Nurani, 2012). Sel T47D memiliki morfologi seperti sel epitel (Muti'ah, 2014).



**Gambar 2.5** Morfologi sel T47D akibat perlakuan EP 60  $\mu\text{g/mL}$ . (a), dibandingkan dengan sel tanpa perlakuan atau kontrol sel. (b), dilakukan dengan menginkubasi  $3 \times 10^3$  sel T47D dengan EP (30-210 60  $\mu\text{g/mL}$ ) selama 48 jam (CCRC, 2009)

### 2.7.3 Tinjauan Tentang Apoptosis Sel

Apoptosis atau kematian sel yang terprogram, merupakan proses normal yang mempunyai dua fungsi yaitu: perbaikan jaringan dan pelepasan sel yang rusak yang bisa membahayakan tubuh (King, 2000). Apoptosis dipengaruhi oleh proses fisiologis yang berfungsi untuk mengeliminasi sel yang tidak diinginkan atau tidak berguna selama proses pertumbuhan sel dan proses biologis normal lainnya (King, 2000). Apoptosis dapat diamati pada penampakan fisiologis yaitu berupa pengerutan sel, kerusakan membran plasma dan kondensasi kromatin. Sel yang mati dengan proses ini tidak kehilangan kandungan internal sel dan tidak menimbulkan respon inflamasi. Jika program apoptosis sudah selesai, sel akan menjadi kepingan-kepingan sel mati yang disebut badan apoptosis (*apoptotic body*). Badan apoptosis ini akan segera dikenali oleh sel makrofag, untuk selanjutnya dimakan *engulfed* (King, 2000). Pada prinsipnya ada dua jalur inisiasi apoptosis, yaitu melalui *death receptor* pada permukaan sel (jalur ekstrinsik) dan melalui mitokondria (jalur intrinsik) (King, 2000).

### 2.7.4 Tinjauan Tentang Tatalaksana Kanker Payudara

Terapi kanker payudara didahului dengan diagnosa yang lengkap dan akurat. Terapi kanker payudara selain memiliki efek terapi yang diharapkan juga memiliki beberapa efek yang tidak diinginkan. Oleh sebab itu pemberian terapi harus terlebih dahulu dikomunikasikan dengan pasien dan keluarga. Selain itu harus mempertimbangkan usia pasien, *co-morbid*, *evidence-based*, *cost-effective*, dan kapan menghentikan seri pengobatan sistemik termasuk *end of life issues*.

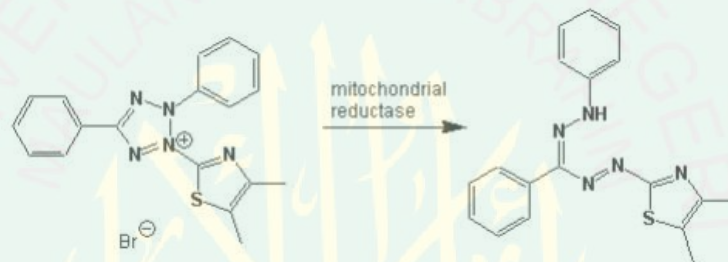
Secara umum, terapi pada kanker payudara dilakukan dengan operasi/pembedahan, kemoterapi, radioterapi, terapi hormonal, dan terapi target (Suyanto, 2010). Penggunaan obat kemoterapi pada penderita kanker payudara salah satunya adalah doxorubicin. Namun penggunaan jangka panjang doxorubicin dapat mengakibatkan terjadinya *cardiomyopathy* yang diikuti dengan gagal jantung (Jenie dan Meiyanto, 2007). Terapi-terapi medis yang telah disebutkan diatas sangat sulit dijangkau oleh masyarakat. Selain mempertimbangkan efek samping obat, biaya terapi juga menjadi pertimbangan. Hal ini kemudian membuat masyarakat lebih memilih pengobatan herbal sebagai alternatif untuk pengobatan kanker.

## 2.8 Tinjauan Tentang MTT Assay

Dua metode umum yang digunakan untuk uji toksisitas adalah metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan biru tripan (*trypan blue*) dan metode MTT assay. Dalam penelitian ini digunakan uji MTT assay yang memiliki kelebihan yaitu relatif cepat, sensitif dan akurat digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya dapat untuk memprediksikan sifat sitotoksik suatu bahan (Doyle dan Griffiths, 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 oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi. Mitokondria menjadi formazan yang terlarut dalam PBS (*Phosphate Buffer saline*)

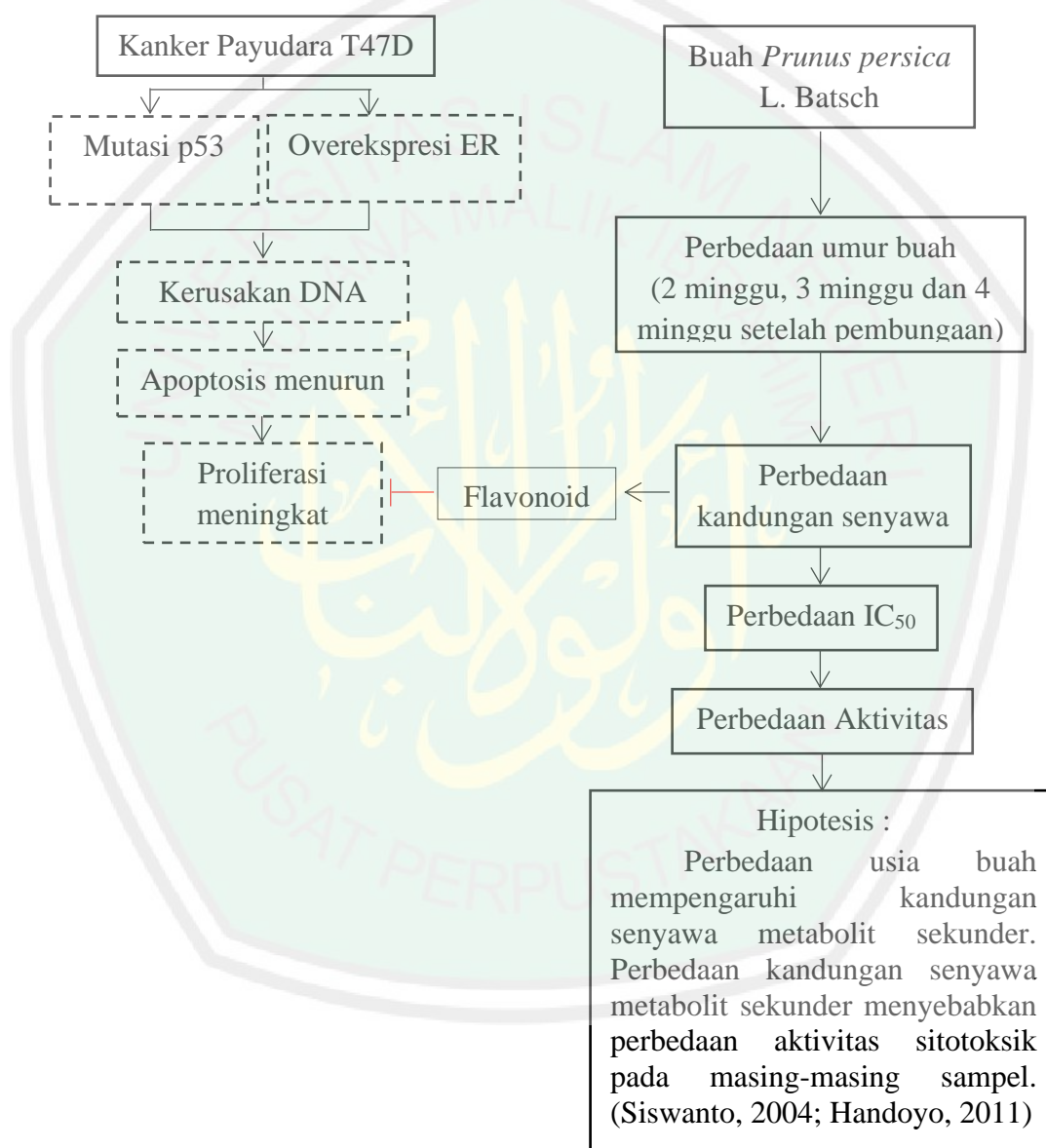
berwarna biru (Doyle dan Griffiths, 2000). Konsentrasi formazan yang berwarna biru dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif (Mosmann, 1983). Absorbansi larutan berwarna ini kemudian dapat diukur menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang antara 500 dan 600 nm, yang mana semakin besar absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel yang hidup. Reaksi reduksi MTT dapat dilihat pada gambar berikut (Meiyanto, 1999):



**Gambar 2.6** Reaksi reduksi MTT menjadi formazan (Meiyanto, 1999)

**BAB III**  
**KERANGKA KONSEPTUAL**

**3.1 Bagan Kerangka Konseptual**



**Gambar 3.1** Kerangka Konseptual

**Keterangan:**

→	: Memicu
—	: Menghambat
□	: Yang diteliti
□	: Yang tidak diteliti

**3.2 Uraian Kerangka Konseptual**

Kanker merupakan penyakit paling berbahaya dan menyebabkan kematian, salah satunya adalah kanker payudara. Kanker payudara adalah keganasan pada payudara yang berasal dari sel kelenjar, saluran kelenjar, serta jaringan penunjang payudara, namun tidak termasuk kulit payudara (Depkes RI, 2014). Prevalensi kanker payudara semakin bertambah setiap tahunnya.

Sel kanker yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sel kanker payudara T47D. Sel T47D mengalami mutasi gen p53 yang menyebabkan p53 tidak dapat berikatan dengan *response element* pada DNA dan menyebabkan kerusakan DNA (Muti'ah, 2014). Sel T47D memiliki karakteristik ER (*Estrogen Receptor*)/PR (*Progesteron Receptor*) –positif (Nurani, 2012). Induksi estrogen eksogen menyebabkan peningkatan proliferasi sel kanker (Verma *et al.*, 1998).

*Prunus persica* L. Batsch dikenal memiliki beberapa kandungan yang bermanfaat antara lain flavonoid, fenol, tanin, antosianin dan alkaloid. Kandungan dalam tumbuhan dipengaruhi oleh faktor eksternal dan internal. Faktor eksternal seperti suhu dan ketinggian lahan sedangkan faktor internal yang dapat berpengaruh terhadap kandungan metabolit sekunder dari suatu tumbuhan adalah tingkat

maturasi. Penelitian buah laban (*Vitex pubescent* Vahl) menyatakan bahwa buah laban setengah masak memiliki kandungan senyawa flavonoid dan alkaloid dengan kadar yang lebih sedikit dibandingkan buah laban masak (Sirait *et al.*, 2014). Penelitian lain yang dilakukan pada buah alpukat menyatakan bahwa buah alpukat masak memiliki kandungan metabolit yang lebih besar dibandingkan pada buah alpukat yang masih muda (Yachya dan sulistyawati, 2015).

Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* L. Batsch pada 3 tingkat kematangan berbeda berdasarkan umur buah. Buah yang digunakan adalah buah pada umur 2 minggu setelah pembungaan, 3 minggu setelah pembungaan, dan 4 minggu setelah pembungaan. Penelitian tentang profil aktivitas sitotoksik berdasarkan perbedaan umur dari ekstrak etanol 96% *Prunus persica* L. Batsch belum dilakukan sebelumnya. Salah satu senyawa sitotoksik yang berperan sebagai antikanker adalah flavonoid.

Flavonoid merupakan senyawa polifenol terbesar yang ada pada tumbuhan. Diet dengan menu flavonoid diketahui memiliki banyak manfaat yang di dalamnya termasuk sebagai antikanker. Banyak mekanisme kerja flavonoid antara lain seperti inaktivasi karsinogen, antiproliferasi, inhibisi siklus sel, induksi apoptosis dan diferensiasi, serta penghambatan angiogenesis (Simajuntak, 2010; Subroto, 2007; Achmad *et al.*, 2014).

Profil aktivitas sitotoksik secara invitro terhadap sel T47D pada ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* L. Batsch berdasarkan perbedaan umur bertujuan untuk mengetahui kekuatan potensi aktivitas antikanker dan jaminan *safety*. Profil

sitotoksik atau potensi aktivitas antikanker tersebut berfungsi dalam rangka pemenuhan kriteria kualitas calon produk fitofarmaka.

### 3.3 Hipotesis

Terdapat perbedaan aktivitas sitotoksik ekstrak etanol 96% pada perbedaan usia buah *Prunus persica* L. Batsch yang tumbuh pada Taman Nasional Bromo Tengger Semeru. Hal ini disebabkan perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder dari masing-masing ekstrak dari perbedaan usia buah tersebut.

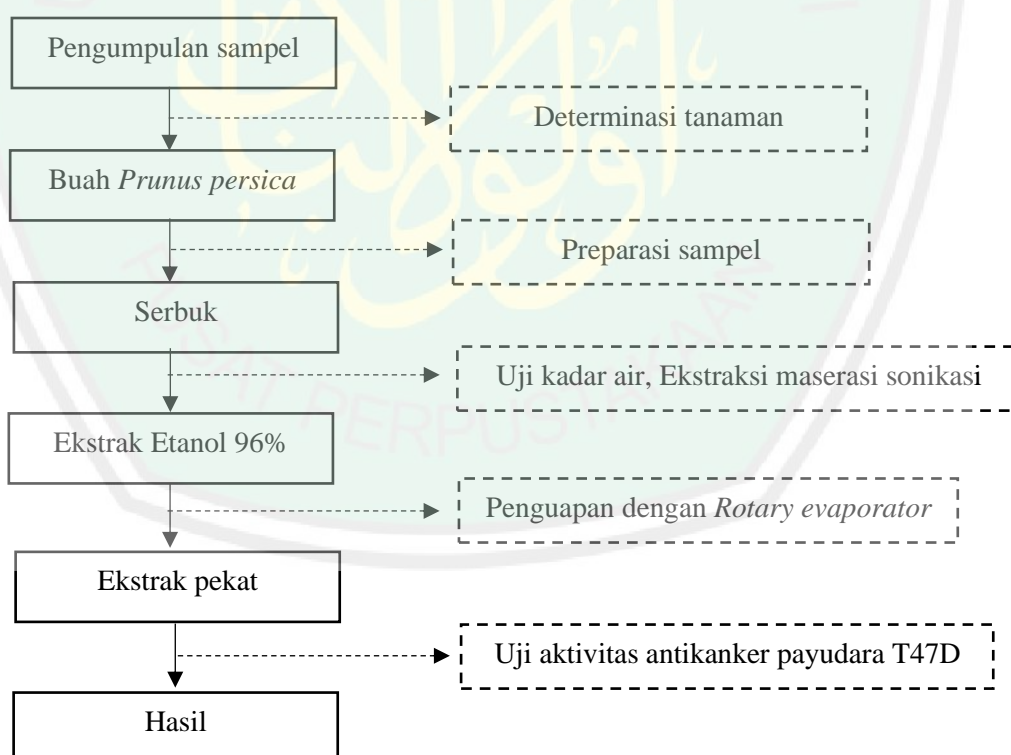


## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan *True Experimental Design* yaitu penelitian eksperimental murni dengan membandingkan hasil yang didapatkan setelah perlakuan pada kontrol positif dan kontrol negatif (Notoatmodjo, 2002). Populasi dalam penelitian ini adalah tumbuhan *Prunus persica* L. Batsch dan sampel penelitian ini adalah buah *Prunus persica* L. Batsch yang berasal dari Taman Nasional Bromo Tengger Semeru. Adapun tahapan dari penelitian ini adalah sebagaimana berikut :



**Gambar 4.1** Rancangan Penelitian

Hasil  $IC_{50}$  yang didapat didasarkan pada kriteria yang ditetapkan oleh *National Cancer Institut* (NCI) bahwa suatu ekstrak dinyatakan aktif memiliki aktivitas sitotoksik apabila memiliki nilai  $IC_{50} < 30 \mu\text{g/ml}$ , moderat aktif apabila memiliki nilai  $IC_{50} \geq 30 \mu\text{g/ml}$  dan  $IC_{50} < 100 \mu\text{g/ml}$ , dan dikatakan tidak aktif apabila nilai  $IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$  (Istiqomah, 2013).

## 4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-Oktober 2019 di Laboratorium Kimia Dasar, Laboratorium Fitokimia, Laboratrium Teknologi Formulasi Jurusan Farmasi Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Protho Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta.

## 4.3 Populasi dan Sampel

### 4.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah *Prunus persica* L. Batsch umur 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu setelah pembungaan yang tumbuh di Taman Nasional Bromo Tengger Semeru.

### 4.3.2 Sampel Tanaman

Sampel tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah buah *Prunus persica* L. Batsch umur 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu dari pembungaan yang tumbuh di Taman Nasional Bromo Tengger Semeru.

### 4.3.3 Sampel Sel Kultur

Sel kultur yang digunakan pada penelitian ini adalah *Continous Cell line* T47D yang didapatkan dari *Cancer Chemoprevention Research Center* (CCRC), Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta.

### 4.3.4 Teknik Pengambilan Sambil

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini adalah dengan dipilih buah *Prunus persica* berdasarkan perbedaan usia 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu dari pembungaan. Buah usia 2 minggu memiliki karakteristik buah yang berwarna hijau dan memiliki serabut pada kulit buah. Buah usia 3 minggu memiliki karakteristik buah berwarna hijau kekuningan dan serabut telah menghilang dari buah. Buah usia 4 minggu memiliki karakteristik buah yang berwarna merah dan masak.

## 4.4 Variabel Penelitian

### 4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* L. Batsch umur 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu dari pembungaan.

### 4.4.2 Variabel Tergantung

Aktivitas antikanker (IC<sub>50</sub>).

### 4.4.3 Variabel Kontrol

Metode ekstraksi, sel T47D, media kultur, suhu inkubasi sel, metode MTT, pembacaan menggunakan instrumen ELISA *reader*.

#### 4.4.4 Definisi Operasional

1. Ekstrak etanol 96% merupakan hasil dari ekstraksi buah *Prunus persica* L. Batsch umur 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu setelah pembungaan.
2. Metode ekstraksi adalah metode yang digunakan untuk mengekstrak senyawa dari buah *Prunus persica* L. Batsch.
3. Sel T47D adalah jenis sel kanker payudara yang diambil dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun.
4. Media kultur merupakan tempat yang terdiri dari campuran nutrisi untuk pertumbuhan dan berkembangbiaknya sel.
5. Inkubasi merupakan adalah proses memelihara kultur sel pada suhu tertentu dan dalam waktu tertentu.
6. Metode MTT merupakan metode yang digunakan untuk menetapkan jumlah sel.
7. ELISA *reader* adalah instrumen yang digunakan untuk mengetahui adanya suatu reaksi penghambatan oleh suatu senyawa.

#### 4.5 Alat dan Bahan Penelitian

##### 4.5.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain erlenmeyer 500 ml, gelas ukur 500 ml, *grinder*, mesh 120, *moisture analyser*, spatula, batang pengaduk, aluminium foil, kertas saring, *conical tube*, *yellow tip*, *blue tip*, spuit 10 ml, *flask culture* 25 cm<sup>2</sup>, mikropipet 1000 µL, mikrofilter 0,22 µm, *ultrasonic cleaner*, *rotary*

*evaporator*, oven, *biosafety cabinet*, inkubator, *inverted microscope*, ELISA reader, hemositometer, dan 96-well plate.

#### **4.5.2 Bahan Tanaman**

Bahan tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah buah *Prunus persica* L. Batsch umur 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu dari pembungaan yang didapatkan dari Taman Nasional Bromo Tengger.

#### **4.5.3 Bahan Sel**

Sel yang digunakan pada penelitian ini adalah *continuous cell line* T47D yang didapat dari *Cancer Chemoprevention Research Center* (CCRC), Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta.

#### **4.5.4 Bahan Kimia**

Etanol 96%, Tween 80, DMSO, Penisilin-streptomisin, FBS, RPMI, PBS, Tripsin-EDTA, etanol 70%, reagen MTT, reagen stopper.

### **4.6 Prosedur Penelitian**

#### **4.6.1 Determinasi Buah *Prunus persica* L. Batsch**

Determinasi tanaman dilakukan di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan menggunakan buku acuan Flora of Java karangan C.A Backer dan R.C Bakhuizen van de Brink jr (1963) untuk mendapatkan kepastian bahwa tanaman yang digunakan adalah *Prunus persica* L. Batsch.

#### **4.6.2 Preparasi Sampel**

Sampel yang digunakan adalah bagian buah *Prunus persica* L. Batsch. Buah dicuci, lalu dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C

selama  $\pm 3 \times 24$  jam. Selanjutnya buah dihaluskan dengan *grinder* hingga terbentuk serbuk, diayak dengan ayakan ukuran 120 mesh untuk memperoleh serbuk kecil-kecil dan seragam. Serbuk halus yang diperoleh dianalisis kadar airnya kemudian diekstraksi.

#### 4.6.3 Analisis Kadar Air Serbuk Simplisia Buah *Prunus persica* L. Batsch

Analisis kadar air dalam serbuk simplisia digunakan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam bahan. Serbuk simplisia diukur kadar airnya menggunakan *Moisture Analyzer*. Setelah alat *Moisture Analyzer* dinyalakan dan layar menunjukkan tampilan 0,000 g, penutup alat dibuka dan *sample pan* kosong dimasukkan ke dalam *sample pan handler*. Penutup alat diturunkan dan alat akan menara secara otomatis dan menunjukkan tampilan angka 0,000 pada layar. Kemudian sejumlah  $\pm 0,500$  g serbuk simplisia dimasukkan ke dalam *sample pan* dan penutup alat diturunkan. Alat akan memulai pengukuran secara otomatis hingga terbaca hasil pengukuran % MC pada layar.

Hasil kadar air beracuan pada keputusan menkes RI tentang kadar air yang boleh dikandung oleh suatu simplisia yaitu  $<10\%$  (Menteri Kesehatan RI, 1994). Proses di atas dilakukan triplo agar didapatkan hasil yang akurat.

#### 4.6.4 Ekstraksi

Proses ekstraksi simplisia buah dilakukan menggunakan metode kombinasi maserasi dan sonikasi dengan pelarut etanol 96%, hasil ekstraksi kemudiar diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan dioven hingga kering. Langkah-langkah ekstraksi yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Ditimbang simplisia buah masing-masing sebanyak 30 gram sebanyak 2 kali.
2. Simplisia dimasukkan ke dalam gelas beaker (masing-masing 30 gram) dan ditambahkan 200 ml etanol 96% pada gelas beaker kedua.
3. Dilakukan maserasi/perendaman selama 1x24 jam.
4. Dilanjutkan dengan proses sonikasi menggunakan UAE 3x2 menit sambil diaduk pada setiap jeda waktunya.
5. Hasil ekstraksi disaring.
6. Residu ditambahkan kembali dengan pelarut sebanyak 2x150 ml disertai ulangan proses 3 dan 4.
7. Filtrat yang terkumpul dimasukkan labu *rotary evaporator*.
8. Suhu alat diatur 50°C dengan kecepatan pemutaran 70 rpm.
9. Ekstrak hasil *rotary evaporator* diuapkan kembali (dikeringkan) dalam oven pada suhu 40°C agar diperoleh ekstrak kering bebas pelarut.

#### 4.6.5 Uji Aktivitas Sitotoksik dengan Metode MTT

##### 1. Penyiapan Sel

Sel kanker payudara T47D diambil dari koleksi Universitas Gajah Mada (UGM). Sel kanker dikeluarkan dari *freezer* (-80 0C), dihangatkan dalam penangas air pada suhu 37°C selama 2-3 menit. Setelah mencair, sel dipindahkan ke dalam *conical* tube yang telah berisi 10 ml media komplet, terdiri dari media dasar RPMI, antibiotik penisilin-streptomisin dan FBS. Kemudian disentrifugasi untuk memisahkan sel kanker (pelet) dengan supernatan. Pelet yang terbentuk kemudian diresuspensi kembali dengan

media komplit dalam *culture dish* dan diamati dibawah mikroskop inverted untuk melihat apakah sel melekat di dasar *culture dish*.

Pengamatan dilakukan setiap hari serta penggantian media komplit sel dilakukan 2-3 kali seminggu. Bila jumlah sel di dalam *culture dish* mencapai 70-85 % (konfluen), dilakukan panen sel. Tahapan panen sel yakni, supernatan dibuang kemudian sel dicuci dengan PBS, ditambahkan trispsin-EDTA dan diinkubasi selama 3 menit, ditambahkan media komplit untuk menginaktifkan sel serta dilakukan resuspensi, kemudian diamati dibawah mikroskop *inverted*.

## 2. Perhitungan Sel

Diambil 10  $\mu$ L panen sel dan dipipetkan ke *hemacytometer*. Diamati dan dihitung dibawah mikroskop *inverted* dengan *counter*. Jumlah sel kanker dapat diketahui dengan perhitungan sebagai berikut :

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

## 3. Pembuatan Larutan Induk dan Larutan Sampel

Ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* sejumlah 10 mg dimasukkan ke dalam *beaker glass* 50 mL dan ditambahkan DMSO 1% dalam *deionized water* pada labu ukur 50 ml untuk membuat larutan induk yaitu suspensi Ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* 80.000 ppm. Saring larutan sampel induk dengan *milipore* 0,22  $\mu$ m dan disimpan dalam tabung steril. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan induk ke larutan dosis menggunakan media komplit sel yaitu RPMI dilengkapi dengan FBS dan pen-

strep. Dosis yang digunakan yaitu 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1.000 ppm, 2.000 ppm, 4.000 ppm dan 8.000 ppm.

Kontrol negatif yang digunakan terdiri dari kontrol media, kontrol sel dan kontrol pelarut. Kontrol media terdiri dari media komplet sel, kontrol sel terdiri dari suspensi sel dalam media, sedangkan kontrol pelarut terdiri dari suspensi sel dalam media dilengkapi pelarut DMSO 1%. Kontrol positif yang digunakan adalah doxorubicin.

#### 4. Peletakan Sel dan Pemberian Sampel 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 sesuai perhitungan dan ditambahkan media komplet ad 100  $\mu$ L kedalam *plate* 96-well, diamati dibawah mikroskop *inverted*. Selanjutnya sel diinkubasi kembali dalam inkubator CO<sub>2</sub>, dilakukan pengamatan serta penggantian media sel jika dibutuhkan hingga sel konfluen. Setelah supernatant dibuang dan sel dicuci PBS, dimasukkan larutan sampel sejumlah 100  $\mu$ L per *well* dan diinkubasi selama 24 jam.

**Tabel 4.1** Skema *Platting* Larutan Sampel Uji

	2 minggu			3 minggu			4 minggu			Doxorubicin		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	8.000 ppm			8.000 ppm			8.000 ppm			200 ppm		
<b>B</b>	4.000 ppm			4.000 ppm			4.000 ppm			100 ppm		
<b>C</b>	2.000 ppm			2.000 ppm			2.000 ppm			50 ppm		
<b>D</b>	1.000 ppm			1.000 ppm			1.000 ppm			25 ppm		
<b>E</b>	500 ppm			500 ppm			500 ppm			12,5 ppm		
<b>F</b>	250 ppm			250 ppm			250 ppm			6,25 ppm		
<b>G</b>	125 ppm			125 ppm			125 ppm			3,12 ppm		
<b>H</b>	KP			KS			KM					

**Keterangan:**

KP = Kontrol pelarut; suspensi sel dalam media ditambah pelarut

KS = Kontrol sel; suspensi sel dalam media

KM = Kontrol media; media komplit sel

**5. Pemberian Reagen MTT dan Reagen Stopper**

Larutan sampel dibuang kemudian sel dicuci dengan PBS, ditambahkan reagen MTT 100  $\mu$ L ke setiap *well*. Diinkubasi kembali selama 3-4 jam di dalam inkubator sampai terbentuk formazan. Apabila formazan telah terbentuk diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted*, ditambahkan reagen *stopper* SDS 10% dalam 0,1 N HCl, kemudian dibungkus *plate* dengan aluminium foil dan diinkubasi kembali di tempat gelap (suhu ruangan) hingga pembacaan absorbansi.

**6. Pembacaan Absorbansi Sel**

Langkah selanjutnya yakni pembacaan nilai absorbansi dengan ELISA *reader* untuk mengetahui nilai  $IC_{50}$  setiap sampel. Tahapan awalnya yaitu 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 – 600

nm, dimatikan kembali ELISA *reader*. Dengan menggunakan data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran, dapat ditentukan prosentase sel yang terhambat. Jika absorbansi kontrol pelarut sama dengan kontrol sel maka prosentase sel hidup dihitung dengan rumus sebagaimana berikut :

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

Jika absorbansi kontrol pelarut lebih rendah dari absorbansi kontrol sel maka prosentase sel hidup dihitung dengan rumus sebagaimana berikut :

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

#### 4.7 Analisa Data

Data hasil perhitungan prosentase sel hidup dimasukkan ke dalam aplikasi *Statistic Product and Service Solution* (SPSS) 24.0 kemudian dianalisis dengan menggunakan probit analysis untuk mendapatkan nilai  $IC_{50}$  dari masing-masing sampel. Nilai  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi yang dapat menghambat pertumbuhan sejumlah 50% dari populasi sel (Jonathan, 2010). Selanjutnya nilai  $IC_{50}$  dianalisis menggunakan uji normalitas dan uji homogenitas.

Uji normalitas dalam penelitian ini menggunakan *Shapiro-wilk test*. Populasi data dikatakan terdistribusi secara normal apabila didapatkan hasil  $P > 0,05$  dari uji normalitas (Rohman, 2014). Hasil dari uji normalitas kemudian dimasukkan uji homogenitas. Uji homogenitas yang digunakan adalah *Levene's test*. Hasil dikatakan homogen apabila didapatkan nilai  $P \geq 0,05$  (Rohman, 2014). Apabila didapatkan hasil yang homogen maka dilanjutkan dengan uji *one-way ANOVA* dengan taraf kepercayaan hingga 95%. Penelitian dikatakan bermakna jika nilai P

$\leq 0,05$ . Apabila hasil yang didapatkan tidak homogen maka dilakukan uji *Kruskal-Wallis*. Penelitian dikatakan bermakna jika nilai  $P \leq 0,05$ .

Selanjutnya dilakukan analisis *Post hoc* yang digunakan untuk evaluasi ulang serta melihat perbedaan nilai yang signifikan. Data dikatakan signifikan apabila diperoleh nilai signifikansi  $< 0,05$  (Rohman, 2014). Uji *Post hoc* menggunakan analisis LSD untuk mengetahui perbedaan yang diuji bermakna atau tidak.



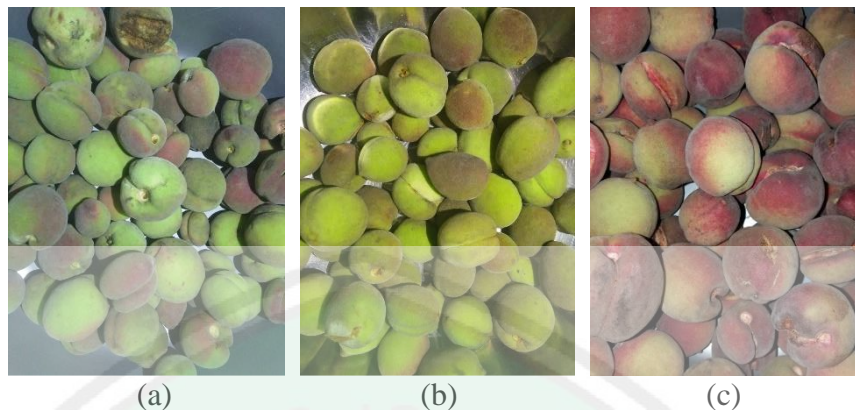
## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* L. Batsch sebagai sampelnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil aktivitas sitotoksik ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* L. Batsch terhadap sel kanker payudara T47D. Dalam penelitian dilakukan tahapan dimulai dari pengumpulan buah usia 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu dari pembungaan, dilanjutkan dengan determinasi tumbuhan, pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak menggunakan teknik kombinasi maserasi-sonikasi, uji aktivitas sitotoksik. Uji aktivitas sitotoksik dilakukan dengan menggunakan metode MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid).

#### 5.1 Pengumpulan Sampel Buah

Pengumpulan sampel buah dilakukan untuk mendapatkan sampel tanaman dengan karakteristik yang sesuai dengan yang ditetapkan. Sampel buah yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah *Prunus persica* L. Batsch berbeda usia yaitu usia 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu setelah pembungaan. Karakteristik yang digunakan adalah buah berusia 2 minggu setelah pembungaan yang ditandai dengan warna buah hijau dan mempunyai serabut pada kulit buah. Buah berusia 3 minggu dari pembungaan ditandai dengan buah yang berwarna kekuningan dan serabut yang telah lepas dari kulit buah. Buah berusia 4 minggu dari pembungaan ditandai dengan buah yang matang dan berwarna merah.



**Gambar 5.1** Buah *Prunus persica* L. Batsch berbeda umur. (a) Buah umur 2 minggu, (b) Buah umur 3 minggu, (c) Buah umur 4 minggu.

## 5.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan bahwasanya sampel yang digunakan benar-benar buah *Prunus persica* L. Batsch. Hasil determinasi yang dilakukan membuktikan bahwa buah yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah *Prunus persica* L. Batsch. Hal ini dibuktikan dengan adanya surat keterangan yang dikeluarkan oleh 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 buah *Prunus persica* L. Batsch.

## 5.3 Pembuatan Simplisia

Preparasi yang dilakukan meliputi pencucian, pencacahan, pengeringan, dan penyerbukan buah. Buah *Prunus persica* L. Batsch dicuci untuk menghilangkan kotoran berupa debu yang menempel pada buah. Pencucian buah hendaknya dilakukan sesingkat mungkin karena dalam air juga terdapat mikroba (Prasetyo dan

Inorih, 2013). Pencucian sebaiknya dilakukan pada air yang mengalir dan menggunakan tangan (Banu dan Catherine, 2015).

Buah yang sudah bersih kemudian dicacah untuk mengurangi ukuran pada buah agar lebih memudahkan pada pengerjaan proses selanjutnya (Prasetyo dan Inorih, 2013). Buah yang sudah dicacah lalu dikeringkan untuk menghilangkan sisa kandungan air dalam simplisia (Prasetyo dan Inorih, 2013). Selain itu pengeringan dapat mencegah pertumbuhan jamur terutama *A. Flavus* yang dapat menghasilkan senyawa aflatoksin yang beracun (Emilan *et al.*, 2011). Proses pengeringan secara tidak langsung dapat menyebabkan simplisia lebih tahan lama.

Setelah proses pengeringan dilakukan penggilingan untuk mendapatkan serbuk simplisia kering buah *Prunus persica* L. Batsch dengan menggunakan *grinder*. Penggilingan dilakukan untuk mendapatkan ukuran sampel yang lebih kecil dari proses cacahan seta mempermudah dalam proses ekstraksi. Hal ini disebabkan karena semakin kecil ukuran serbuk, maka semakin luas permukaan serbuk sehingga memudahkan kontak antara pelarut dengan bahan. Setelah serbuk simplisia didapatkan maka disimpan serbuk simplisia dalam wadah tertutup rapat dan kering serta dalam ruangan yang terhinda dari radiasi sinar UV yang dapat menyebabkan rusaknya simplisia.

#### **5.4 Uji Kadar Air**

Uji kadar air merupakan uji yang bertujuan untuk mengetahui kadar air dalam suatu simplisia. Kadar air menunjukkan *acceptability*, kesegaran dan daya tahan suatu serbuk simplisia (Winarno, 2002). Pengujian kadar air dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Content Analyzer*. Prosedur yang dilakukan dalam uji

kadar air ini adalah dimulai dengan menyalakan alat *Moisture Content Analyzer* hingga layar pada alat menunjukkan angka 0,000 pada layar alat. Penutup alat dibuka dan dimasukkan *sample pan handler*. Penutup alat diturunkan dan secara otomatis alat akan menara sehingga angka 0,000 muncul pada layar alat. Selanjutnya, dimasukkan sampel sebanyak 0,500 g pada *sample pan* dan penutup diturunkan. Alat akan menara secara otomatis sehingga hasil pengujian *Moisture Content* (% MC) akan terbaca pada layar alat. Proses pengujian kadar air dilakukan replikasi selama 3 kali.

Dalam penelitian ini didapatkan rata-rata kadar air pada simplisia buah *Prunus persica* L. Batsch umur 2 minggu adalah 4,65%, pada simplisia buah *Prunus persica* L. Batsch umur 3 minggu didapatkan rata-rata kadar air 4,49%, dan pada simplisia buah *Prunus persica* L. Batsch umur 4 minggu didapatkan rata-rata kadar air 5,44%. Menurut peraturan Kepala Badan POM nomor 12 tahun 2014 tentang persyaratan mutu obat tradisional bahwa kadar air maksimal yang terkandung dalam sediaan adalah  $\leq 10\%$  (BPOM, 2014). Sehingga sampel buah *Prunus persica* L. Batsch yang digunakan dalam penelitian ini memenuhi standar.

### 5.5 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode kombinasi ekstraksi maserasi-sonikasi. Pemilihan metode kombinasi ekstraksi maserasi-sonikasi ditujukan untuk lebih mengoptimalkan penyarian senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam buah *Prunus persica* L. Batsch. Prinsip dasar dari ekstraksi maserasi-sonikasi adalah melalui dua proses yaitu *acoustic streaming* dan *acoustic cavitation* (Iersel, 2008). Dengan proses

*acoustic cavitation* dapat merusak dinding maupun membran sel partikel (Iersel, 2008). Dengan proses *acoustic streaming* menyebabkan semakin tipisnya lapisan batas antara cairan dan partikel, sehingga dapat meningkatkan kemampuan penetrasi pelarut seiring dengan meningkatkan difusibilitas dan solvensi senyawa aktif dalam sel yang pada akhirnya dapat meningkatkan laju perpindahan panas, masa dan efisiensi ekstraksi (Li *et al.*, 2010). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%.

Pembuatan ekstrak dimulai dengan metode maserasi yaitu dengan merendam simplisia buah *Prunus persica* L. Batsch dalam pelarut etanol 96% selama 24 jam. Dalam prosesnya sampel direndam dalam wadah tertutup dan sesekali diselingi pengadukan dan dilakukan pada suhu kamar. Prinsip dari metode ini maserasi adalah diperolehnya kesetimbangan antara konsentrasi di dalam dan luar sel tanaman sehingga mampu melarutkan atau mengeluarkan konstituen aktif dari dalam sel tanaman melalui mekanisme difusi (Istiqomah, 2013).

Proses dilanjutkan dengan metode ekstraksi sonikasi dengan cara merendam larutan sampel pada wadah ultrasonik atau sonikator selama 20 menit (Handayani *et al.*, 2016). Ekstaksi dengan metode sonikasi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik menyebabkan gangguan fisik pada dinding dan membran sel biologis serta penurunan ukuran partikel. Efek yang ditimbulkan adalah penetrasi pelarut menjadi lebih baik ke dalam sel dan meningkatkan laju perpindahan massa pada jaringan serta memfasilitasi perpindahan senyawa aktif ke pelarut (Novak *et al.*, 2008; Teddy, 2011).

Setelah proses ekstraksi sonikasi selesai, larutan sampel disaring dengan menggunakan kertas saring Wattman No. 1. Filtrat yang didapatkan dari penyaringan kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga dihasilkan ekstrak kental buah *Prunus persica* L. Batsch. Prinsip kerja dari *rotary evaporator* adalah pemisahan pelarut dengan ekstrak menggunakan prinsip penurunan tekanan dengan kecepatan putaran labu bulat dengan pemanasan sehingga pelarut dapat menguap pada suhu dibawah titik didih pelarut yang menyebabkan senyawa tidak rusak (Nisa *et al.*, 2014).

Pemekatan ekstrak yang dilakukan bertujuan untuk menghilangkan pelarut dari sampel setelah proses ekstraksi sehingga didapatkan ekstrak yang siap digunakan serta menekan toksisitas yang dapat ditimbulkan oleh pelarut yang digunakan (Depkes RI, 2008). Proses penguapan dihentikan ketika pelarut sudah tidak menetes pada labu alas bulat penampung pelarut. Filtrat yang didapatkan dari proses penguapan dikeringkan dengan bantuan oven. Pengeringan dengan oven bertujuan untuk menguapkan kembali pelarut yang masih tersisa pada ekstrak. Hasil yang diperoleh adalah ekstrak kental buah *Prunus persica* L. Batsch.

Setelah didapatkan ekstrak pekat dari masing-masing sampel yaitu ekstrak etanol 96% buah *Prunuspersica* L. Batsch umur 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu, masing-masing sampel ditimbang untuk kemudian digunakan untuk menghitung rendemen pada masing-masing sampel. Rendemen merupakan suatu parameter untuk mengetahui seberapa besar produk yang dihasilkan dari proses produksi yang dinyatakan dengan perbandingan antara jumlah produk yang dihasilkan dengan jumlah bahan yang digunakan (Warsono *et al.*, 2013). Rendemen yang didapatkan

oleh ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* L. Batsch umur 2 minggu adalah 30,044%, rendemen ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* L. Batsch umur 3 minggu adalah 31,356%, dan rendemen dari ekstrak etanol 96% buah dan rendemen dari ekstrak etanol 96% umur 4 minggu adalah 33,655%. Nilai rendemen merujuk pada jumlah produk reaksi yang dihasilkan pada reaksi kimia Rendemenia (Vogel, 1996). Sehingga semakin tinggi nilai rendemen maka senyawa yang dihasilkan dalam ekstrak juga semakin banyak.

#### 5.6 Preparasi Sampel Ekstrak dan Kontrol Positif

Preparasi ekstrak diawali dengan menimbang ekstrak kental buah *Prunus persica* L. Batsch sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dalam *Dimetil Sulfoksida* (DMSO) 1% sebanyak 100  $\mu$ l (100.000 ppm) dengan menggunakan vortex. DMSO berfungsi sebagai *buffer* yang menyebabkan ekstrak dapat larut dengan baik. DMSO dapat melarutkan senyawa polar dan nonpolar serta tidak memiliki efek samping terhadap sel normal (Nala, 2013). Setelah ekstrak terlarut sempurna dalam DMSO dilanjutkan dengan dibuat seri konsentrasi dari 8.000; 4.000; 2.000; 1.000; 500; 250; 125;  $\mu$ g/ml.

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah doxorubicin. Sediaan injeksi doxorubicin adalah 10 mg/5 ml (ISO, 2014). Larutan stok yang digunakan adalah 2.000 ppm dengan konsentrasi pengenceran 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12. Treatment sel dilakukan dengan memberikan 100  $\mu$ l masing-masing konsentrasi sesuai dengan *plating*-an yang telah dibuat.

## 5.7 Preparasi Sel T47D

Sel kanker payudara T47D diambil dari inkubator CO<sub>2</sub> dan diamati kondisi sel. Penen sel bisa dilakukan setelah diketahui sel 80% konfluen saat pengamatan. Panenan sel yang didapatkan ditambah 500 µl Tripsin EDTA ke dalam *flask* secara merata dan diinkubasi di dalam inkubator selama 3 menit. Tujuan penambahan Tripsin EDTA adalah untuk melepaskan sel yang menempel pada *flask*. Proses dilanjutkan dengan penambahan media ± 5 ml untuk menginaktifkan tripsin.

Sel diresuspensikan dengan mikropipet yang berfungsi untuk memisahkan sel yang menggerombol. Sel diamati pada mikroskop dan jika didapatkan sel yang masih menggerombol maka diresuspensikan kembali. Sel yang telah lepas ditransfer ke dalam *conical tube* steril baru.

Panen sel diambil 10 µl dan dipipetkan ke *hemacytometer* untuk kemudian dilakukan perhitungan sel dibawah mikroskop dengan *counter*. Cara menghitung sel adalah dihitung sel pada 4 kamar *hemacytometer*. Sel pada batas kiri dan batas bawah ikut dihitung. Hasil perhitungan sel adalah  $1.720 \times 10^4$  sel/ml. Selanjutnya dilakukan perhitungan untuk mengetahui jumlah sel yang akan ditanam pada tiap sumuran *plate 96-well*. Hasil perhitungan adalah 58 µL dimasukkan dalam *conical tube* baru dan ditambah media RPMI ad 10 ml.

Sel diresuspensikan kembali dan disiapkan *plate 96-well*. Ditransfer sebanyak 100 µl sel kedalam masing-masing sumuran kecuali 4 sumuran untuk kontrol media. Proses dilanjutkan dengan sel dalam *plate* diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam. Hasil yang didapatkan adalah sel yang tidak terkontaminasi.

## 5.8 Pembuatan Media Kultur

Media kultur yang digunakan merupakan media lengkap dengan komposisi penisilin-streptomisin 2% yang berfungsi untuk mencegah kontaminasi mikroorganisme saat melakukan perlakuan dengan teknik steril. *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10% berfungsi sebagai suplemen perangsang pertumbuhan sel, fungizone 0,5% dan media RPMI add 100%. Medium RPMI mengandung FBS 10% dan merupakan media yang baik untuk menumbuhkan sel kanker payudara T47D dalam jangka pendek (Gusmita, 2010). FBS merupakan suplemen peningkat pertumbuhan yang efektif untuk sel kanker karena kompleksitas dan banyak faktor lainnya seperti perumbuhan sel, perlindungan sel dan faktor nutrisi yang dikandungnya. Medium RPMI juga mengandung streptomisin yang merupakan antibiotik yang tidak toksik, memiliki spektrum antimikroba yang luas dan ekonomis (Zarisman, 2006).

## 5.9 Uji Aktivitas Sitotoksik dengan Metode MTT Assay

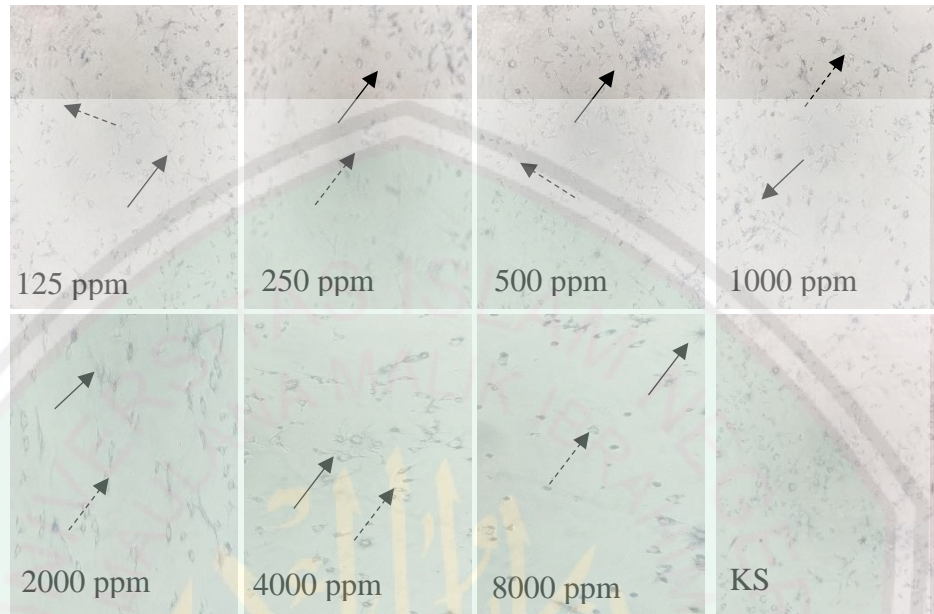
Uji sitoksisitas dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode MTT assay. Tujuan dari uji sitotoksisitas yang dilakukan adalah untuk mengetahui aktivitas suatu senyawa dengan melihat penurunan viabilitas sel. Metode ini berdasarkan pada perubahan garam tetrazolium [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide] (MTT) menjadi formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup. MTT diabsorpsi ke dalam sel hidup dan dipecah melalui reaksi reduksi oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi. Mitokondria menjadi formazan yang terlarut dalam PBS (*Phosphate Buffer saline*) berwarna biru (Doyle dan Griffiths, 2000). Pemilihan metode MTT assay didasarkan pada kelebihan dari

metode ini yaitu relatif cepat, sensitif dan akurat untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya dapat untuk memprediksikan sifat sitotoksik suatu bahan (Doyle and Griffiths, 2000). Metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas penghambatan sel secara *in vitro* dengan menggunakan nilai  $IC_{50}$  dengan menghitung pembentukan kristal formazan yang berwarna ungu (Doyle and Griffiths, 2000).

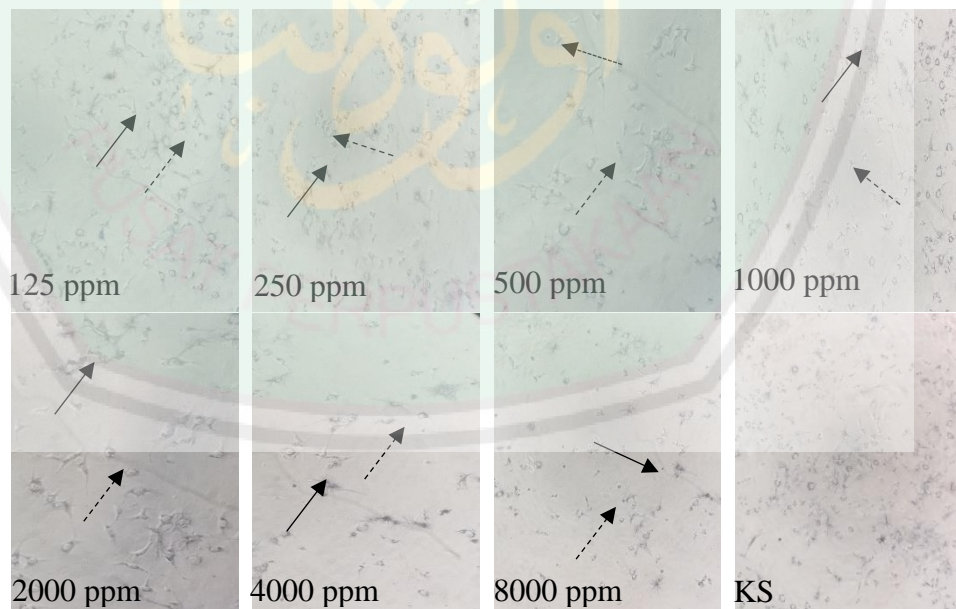
Uji dilakukan terhadap sel T47D yang merupakan *continous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. Sel T47D sering digunakan dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena penanganannya yang mudah, kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Muti'ah, 2014). Sel T47D belum resisten terhadap doxorubicin.

Sel T47D dalam kulturnya ditumbuhkan pada media RPMI dan diinkubasi dalam inkubator  $CO_2$  pada suhu  $37^{\circ}C$  dengan aliran  $CO_2$  5 ml/menit (Nursid *et al.*, 2010). Penggunaan medium RPMI adalah karena medium mengandung FBS 10% dan merupakan media yang baik untuk menumbuhkan sel kanker payudara T47D dalam jangka pendek (Gusmita, 2010). Dalam pembuatannya media komplit untuk kultur terdiri dari media RPMI, penisilin-streptomisin 2%, FBS 10%, dan fungizone 0,5%.

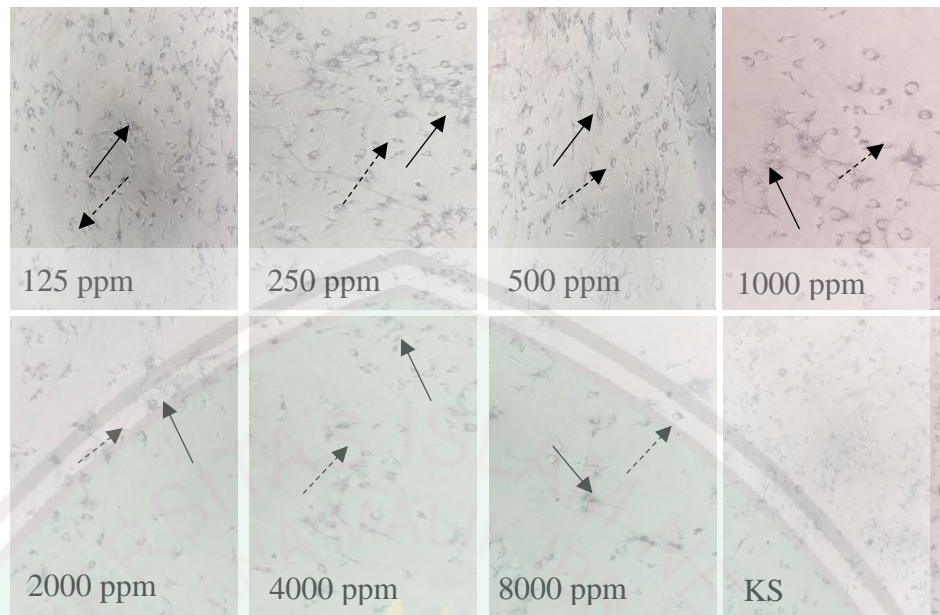
Hasil yang didapatkan dari uji sitotoksitas yang dilakukan adalah sebagaimana berikut :



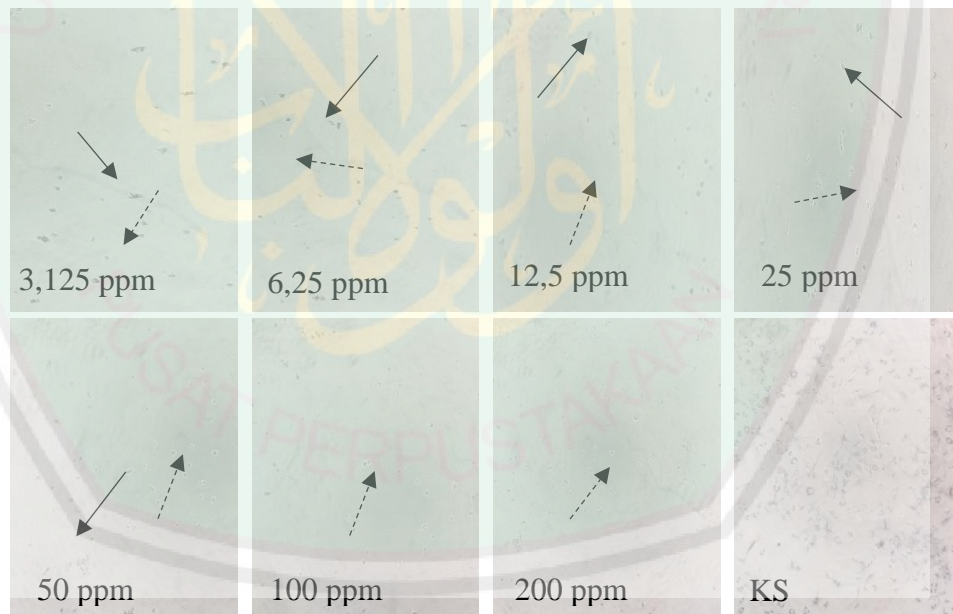
**Gambar 5.2** Morfologi sel T47D setelah perlakuan ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* L. Batsch umur 2 minggu dibandingkan dengan kontrol sel (KS)



**Gambar 5.3** Morfologi sel T47D setelah perlakuan ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* L. Batsch umur 3 minggu dibandingkan dengan kontrol sel (KS)



**Gambar 5.4** Morfologi sel T47D setelah perlakuan ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* L. Batsch umur 4 minggu dibandingkan dengan kontrol sel (KS)



**Gambar 5.5** Morfologi sel T47D setelah pemberian Doxorubicin dibandingkan dengan kontrol sel (KS)

**Keterangan :** —————▶ : Sel hidup  
 - - - - -▶ : Sel yang berubah Morfologi

Berdasarkan gambar 5.2, 5.3 dan 5.4 maka dapat diketahui bahwasanya pada sumuran ekstrak 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu sama-sama menunjukkan

bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin sedikit pula sel yang dapat hidup. Pada kontrol sel dapat dilihat banyak sel hidup.

Setelah pengamatan untuk melihat perubahan pada sel setelah diberi perlakuan sudah dilakukan, media kultur yang mengandung ekstrak, kontrol positif, kontrol pelarut dan kontrol sel dibuang dan dicuci dengan PBS. MTT kemudian ditambahkan pada setiap sumuran pada *plate* 96-well. Selanjutnya diinkubasi kembali selama 4 jam dalam inkubator CO<sub>2</sub>.

Setelah 4 jam inkubasi dimana telah terjadi reaksi antara MTT dengan enzim mitokondria reduktase pada sel, maka inkubasi dihentikan dengan menambahkan reagen *stopper* SDS (*Sodium Dodesil Sulfat*). Laruan SDS akan melarutkan kristal berwarna yang kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan ELISA *reader* (CCRC, 2009). Intensitas warna ungu yang didapatkan saat pengamatan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup, sehingga semakin banyak sel hidup maka intensitas warna ungu yang dihasilkan juga semakin banyak. Nilai absorbansi pada saat pembacaan dengan ELISA *reader* juga berbanding lurus dengan jumlah sel hidup, sehingga semakin tinggi nilai absorbansi yang didapatkan maka semakin banyak pula sel yang hidup dan semakin kecil nilai absorbansi maka semakin toksik zat tersebut terhadap sel.

### 5.10 Analisis Data

Hasil Absorbansi yang diperoleh kemudian dikonversikan menjadi persentase sel hidup. Hasil perhitungan yang didapatkan adalah sebagaimana berikut :

**Tabel 5.1** Rata-rata % Viabilitas Sel Hidup  $\pm$  SD Ekstrak Etanol 96% Buah *Prunus persica* L. Batsch

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Rata-rata % Viabilitas Sel Hidup $\pm$ SD		
	2 minggu	3 minggu	4 minggu
8000	35,336 $\pm$ 3,251	38,942 $\pm$ 2,892	48,918 $\pm$ 9,072
4000	40,385 $\pm$ 5,951	55,889 $\pm$ 4,508	47,958 $\pm$ 2,401
2000	55,409 $\pm$ 1,908	66,586 $\pm$ 2,524	48,678 $\pm$ 4,148
1000	73,558 $\pm$ 4,566	74,519 $\pm$ 7,908	75,601 $\pm$ 3,659
500	80,409 $\pm$ 0,751	76,562 $\pm$ 3,557	69,952 $\pm$ 3,988
250	77,524 $\pm$ 0,907	78,726 $\pm$ 1,365	75,240 $\pm$ 3,764
125	90,745 $\pm$ 6,879	81,130 $\pm$ 3,350	83,173 $\pm$ 2,862

**Tabel 5.2** Rata-rata % Viabilitas Sel Hidup  $\pm$  SD Doxorubicin

Konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ )	Rata-rata % Viabilitas Sel Hidup $\pm$ SD Doxorubicin
200	6,25 $\pm$ 1,779
100	25,360 $\pm$ 1,501
50	33,654 $\pm$ 3,232
25	31,971 $\pm$ 1,300
12,5	31,370 $\pm$ 1,365
6,25	30,529 $\pm$ 0,360
3,12	23,077 $\pm$ 2,454

Berdasarkan pada tabel 5.1 dan 5.2 di atas maka dapat dilihat bahwasanya semakin tinggi konsentrasi maka % viabilitas sel semakin rendah. Artinya, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin sedikit pula jumlah sel yang hidup. Dari data di atas maka dapat diketahui bahwa pada konsentrasi 8000  $\mu\text{g/ml}$  memiliki toksisitas yang paling tinggi secara berurutan dari ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* L. Batsch usia 2 minggu dengan % viabilitas 35,336  $\pm$  3,251, ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* L. Batsch usia 3 minggu dengan % viabilitas 38,942  $\pm$  2,892, dan ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* L. Batsch

usia 4 minggu dengan % viabilitas  $48,918 \pm 9,072$ . Sedangkan doxorubicin konsentrasi 200  $\mu\text{g/ml}$  memiliki % viabilitas  $6,25 \pm 1,779$ .

Data hasil % viabilitas sel hidup masing-masing sampel kemudian dianalisis dengan menggunakan probit analysis SPSS untuk mendapatkan nilai  $\text{IC}_{50}$  dari masing-masing sampel. Menurut *the American National Cancer Institute*, kategori sitotoksik suatu sampel nilai  $\text{IC}_{50}$  adalah :

**Tabel 5.3** Kategori Sitotoksik Nilai  $\text{IC}_{50}$

Kategori sitotoksik	$\text{IC}_{50}$
Sitotoksik potent	$< 30 \mu\text{g/ml}$
Sitotoksik moderat	$< 100 \mu\text{g/ml}$
Tidak toksik	$> 100 \mu\text{g/ml}$

Hasil  $\text{IC}_{50}$  yang didapatkan dalam penelitian ini adalah sebagaimana berikut :

**Tabel 5.4** Hasil  $\text{IC}_{50}$

Sampel	$\text{IC}_{50} (\mu\text{g/ml}) \pm \text{SD}$	Kategori sitotoksik
2 minggu	$2895,417 \pm 559,114$	Tidak toksik
3 minggu	$6053,759 \pm 2260,413$	Tidak toksik
4 minggu	$4698,812 \pm 1475,230$	Tidak toksik
Doxorubicin	$1,642 \pm 2,097$	Sitotoksik potent

Berdasarkan tabel 5.4 dapat diketahui bahwa ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* L. Batsch bersifat tidak toksik terhadap sel kanker T47D dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  yang ditunjukkan. Secara berturut-turut nilai  $\text{IC}_{50}$  ekstrak buah usia 2 minggu  $2895,417 \pm 559,114$ , nilai  $\text{IC}_{50}$  ekstrak buah usia 4 minggu  $4698,812 \pm 1475,230$ , dan nilai  $\text{IC}_{50}$  ekstrak buah usia 3 minggu  $6053,759 \pm 2260,413$ . Jika dibandingkan dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  dari doxorubicin sebagai kontrol positif maka nilai  $\text{IC}_{50}$  dari masing-masing ekstrak masih jauh dibawahnya. Menurut Machana (2011), suatu ekstrak dikatakan tidak aktif sebagai antikanker jika nilai  $\text{IC}_{50} > 500 \mu\text{g/ml}$ .

Sehingga dapat disimpulkan bahwa dari ketiga ekstrak yang diuji tidak ada ekstrak yang dapat dinyatakan aktif sebagai antikanker.

Data hasil diatas menunjukkan adanya ketidak linearan hasil. Peristiwa di atas bisa disebut dengan NMDR (*Non-Monotonic Dose Response*). NMDR seringkali terjadi pada uji aktivitas sitotoksik secara *in vitro* pada sel, selain itu juga dapat terjadi pada penelitian dengan sampel perlakuan berupa hormon atau senyawa pengganti hormon. NMDR dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain; (i) aktivitas sitotoksik berhubungan dengan pengamatan bahwa hormon dapat bersifat sitotoksik pada dosis tinggi dan belum mengubah titik akhir biologis pada dosis rendah; (ii) selektivitas reseptor-afinitas terhadap reseptor berbeda untuk setiap zat, misalnya pada dosis rendah senyawa-senyawa dalam ekstrak buah *Prunus persica* L. Batsch dapat mengikat hampir secara eksklusif pada reseptor estrogen (ER) dengan afinitas yang besar sehingga memunculkan respon aktivitas yang besar, akan tetapi pada pemberian dosis tinggi senyawa-senyawa dalam ekstrak buah *Prunus persica* L. Batsch dapat berikatan dengan reseptor hormon lainnya selain ER yang hal ini kemudian mengakibatkan terjadinya penurunan respon aktivitas akibat adanya efek antagonis antara dua reseptor yang berbeda; (iii) kompetensi reseptor-EDC bersaing dengan hormon alami ke tempat pengikatan reseptor (Ramos, 2017).

Setelah didapatkan nilai  $IC_{50}$  dari seluruh sampel, selanjutnya dilanjutkan dengan uji statistik *one way analysis of variance* (ANOVA) ataupun dengan Uji *Kruskal-wallis* dengan tujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan signifikan  $IC_{50}$  dari ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* L. Batsch berbeda usia.

Sebelum dilakukan uji *one way* ANOVA, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan homogenitas.

Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji normalitas *Shapiro-wilk*. Pembacaan uji dapat dilihat dari nilai  $p$ . Jika nilai  $p > 0,05$  maka data terdistribusi normal, dan jika  $p < 0,05$  maka data tidak terdistribusi normal. Hasil yang didapatkan adalah sebagai berikut :

**Tabel 5.5** Hasil uji *Shapiro-wilk*

<b>Sampel</b>	<b><i>Shapiro-wilk</i></b>	<b>Kategori</b>
<b>2 minggu</b>	0,084	Normal
<b>3 minggu</b>	0,092	Normal
<b>4 minggu</b>	0,119	Normal
<b>Doxorubicin</b>	0,049	Tidak Normal

Berdasarkan tabel 5.5 yang menunjukkan hasil uji normalitas pada penelitian ini menunjukkan hasil uji pada sampel buah umur 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu setelah pembungaan adalah  $p > 0,05$  yang artinya data dalam penelitian ini terdistribusi normal. Akan tetapi hasil uji pada kontrol positif yaitu dokso menunjukkan nilai  $p < 0,05$  sehingga data dinyatakan tidak terdistribusi normal.

Setelah uji normalitas dilanjutkan dengan uji homogenitas. Uji homogenitas yang digunakan adalah uji Levene. Pembacaan uji pada uji Levene dilakukan dengan melihat nilai  $p$ . Jika nilai  $p > 0,05$  maka varian kelompok perlakuan dikatakan homogen, dan jika nilai  $p < 0,05$  maka varian kelompok perlakuan dikatakan tidak homogen. Hasil uji yang didapatkan pada penelitian ini adalah:

**Tabel 5.6** Hasil uji *Levene's Test*

<b><i>Levene Statistic</i></b>	<b>Sig.</b>	<b>Kategori</b>
8.172	0,008	Tidak homogen

Berdasarkan tabel 5.6 yang menunjukkan hasil uji homogenitas pada penelitian ini dari masing-masing sampel menunjukkan hasil  $p < 0,05$  yang artinya varian kelompok perlakuan dalam penelitian ini tidak homogen.

Setelah dilakukan uji *Levene*, selanjutnya dilakukan dengan uji *Kruskal-wallis* karena didapatkan hasil yang tidak homogen dari uji *Levene*. Penelitian dikatakan bermakna jika nilai  $P \leq 0,05$ . Hasil yang didapatkan adalah sebagai berikut :

**Tabel 5.7** Hasil uji *Kruskal-wallis*

<i>Kruskal-wallis</i>	IC <sub>50</sub>	Kategori
Sig.	0,041	Tidak signifikan

Berdasarkan tabel 5.7 yang menunjukkan hasil uji *Kruskal wallis* maka dapat diketahui bahwa hasil uji signifikansi IC<sub>50</sub> antar sampel menunjukkan nilai 0,041. Artinya nilai  $p < 0,05$  yang artinya terdapat perbedaan signifikan nilai IC<sub>50</sub> dari masing-masing sampel.

Selanjutnya dilakukan analisis *Post hoc* yang digunakan untuk evaluasi ulang serta melihat perbedaan nilai yang signifikan. Data dikatakan signifikan apabila diperoleh nilai signifikansi  $< 0,05$  (Rohman, 2014). Uji *Post hoc* yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis LSD. Hasil analisis LSD ditunjukkan pada tabel berikut :

**Tabel 5.8** Hasil analisis LSD

Sampel	2 minggu	3 minggu	4 minggu	Doxorubicin
2 minggu	-	0,023	0,148	0,033
3 minggu	0,023	-	0,263	0,001
4 minggu	0,148	0,263	-	0,003
Doxorubicin	0,033	0,001	0,003	-

Pada tabel hasil LSD diatas dapat diketahui bahwasanya terdapat perbedaan signifikan nilai  $IC_{50}$  antara sampel buah secara berurutan umur 2 minggu dan 3 minggu (0,023), umur 2 minggu dan doxorubicin (0,033), umur 3 minggu dan doxorubicin (0,001), umur 4 minggu dan doxorubicin (0,003). Pada hasil uji LSD doxorubicin didapatkan perbedaan nilai yang signifikan saat dibandingkan dengan sampel. Hasil nilai signifikansi pada doxorubicin dengan sampel secara berurutan doxorubicin dengan ekstrak sampel umur 2 minggu adalah sebesar 0,033, doxorubicin dengan ekstrak sampel 3 minggu sebesar 0,001, dan doxorubicin dengan ekstrak sampel umur 4 minggu sebesar 0,003.

#### **5.11 Manfaat *Prunus persica* L. Batsch dalam perspektif Islam**

Allah SWT. menciptakan alam semesta dan seisinya termasuk manusia, hewan dan tumbuhan bukan tanpa tujuan. Manusia diciptakan oleh Allah dan diberi akal bukan semata-mata hanya untuk mengikuti hawa nafsunya tetapi juga untuk berpikir akan kekuasaan Allah pada alam semesta. Begitupula dengan terciptanya hewan dan tumbuhan yang sangat bermanfaat bagi keberlangsungan kehidupan manusia. Dengan demikian maka tujuan Allah menciptakan alam semesta dan seisinya adalah untuk memberikan berbagai manfaat antar sesama makhluk Allah.

Tumbuhan memiliki berbagai manfaat terhadap kehidupan manusia. Selain menjadi bahan konsumtif langsung dalam kehidupan sehari-hari seperti: sumber bahan pangan dan bahan bakar, tumbuhan juga dapat menjadi bahan produktif seperti: bahan baku industri obat, bahan baku industri makanan, serta bahan baku yang lainnya. Ketika membahas tentang tumbuhan dan manusia dapat ditemukan banyak sumber bacaan yang membahas tentang hubungan keduanya terutama

dalam bidang sains. Dalam perspektif Islam yakni dalam Al-Qur'an Allah SWT. telah lebih dahulu menerangkan tentang hubungan timbal balik antar sesama makhluk termasuk hubungan antara manusia dengan tumbuhan, manusia dengan hewan, bahkan hubungan antara hewan dengan tumbuhan. Salah satunya adalah dalam Al-Qur'an surat *Thaaha* ayat 53-54, Allah SWT. berfirman :

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً  
فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّىٰ ۖ كُلُوا وَارْعَوْا أَنْعَمَكُمُ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ  
لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ۚ

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. Makanlah dan gembalakanlah binatang-binatangmu. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang-orang yang berakal” (QS. *Thaaha*: 53-54).

*Alladzii ja'ala lakumul ardlah mahdan* (“Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan”), menurut sebagian ahli qiraat, dibaca yakni hamparan yang kalian tinggal, berdiri, dan tidur di atasnya, serta melakukan perjalanan di atas permukaannya. *Wa salaka lakum fiha subulan* (“Dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan”), yakni Dia yang telah membuatkan jalan bagi kalian, yang kalian dapat berjalan di permukaannya. *Wa anzala minas samaa-i maa-an fa akhrajnaa bihi azwaajam min nabaatin syattaa* (“Dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”), yakni berbagai macam tumbuh-tumbuhan berupa tanam-tanaman dan buah-buahan, baik yang asam, manis, maupun pahit, dan berbagai macam lainnya (Abdullah, 2003).

*Kuluu war'aun an'aamakum* (“Makanlah dan gembalakanlah binatang-binatangmu”), yakni sesuatu bagi makanan kalian dan buah-buahan kalian serta sesuatu bagi binatang ternak kalian berupa makanannya yang hijau dan yang kering. *Innaa fii dzaalika la-aayaatin* (“Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah”), yakni, bukti-bukti, hujjah-hujjah, dan argumen. *Li ulin nuhaa* (“Bagi orang-orang yang berakal”), yakni orang yang berakal sehat lagi lurus, bahwasanya tidak ada *Ilah* (yang berhak diibadahi) selain Allah, dan tidak ada *Rabb* kecuali hanya Dia (Abdullah, 2003).

Ayat diatas menyiratkan adanya interaksi antar sesama makhluk Allah. Bumi sebagai tempat berpijak, langit sebagai atap yang darinya kemudian Allah turunkan air hujan, dengan air hujan hiduplah bumi dengan menumbuhkan banyak tumbuhan, dengan tumbuhan manusia dapat menggembalakan hewan-hewan ternaknya ataupun dapat menjadi bahan konsumtif dan dapat menjadi bahan obat bagi manusia sendiri. Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai bahan obat adalah *Prunus persica* L. Batsch.

*Prunus persica* L. Batsch yang merupakan sampel dalam penelitian ini merupakan salah satu tumbuhan yang dapat sangat bermanfaat. Di Indonesia buah muda *Prunus persica* L. Batsch digunakan sebagai obat disentri oleh suku Tengger, Bromo (Batoro and Dian, 2017). Pada penelitian yang dilakukan oleh Gairola (2013) membuktikan bahwa ekstrak kulit kayu *Prunus persica* L. Batsch dapat menjadi antidiare. Hasil ini juga didapatkan dari penelitian yang dilakukan oleh Madikizela (2012) dimana membuktikan bahwa rebusan daun *Prunus persica* L. Batsch dapat dijadikan sebagai obat antidiare. Dalam penelitian lain ekstrak

polifenol dari genotip *Prunus persica* L. Batsch menunjukkan sitotoksitas selektif terhadap estrogen sel kanker payudara MDA-MB-435 (Vizzotto, 2014). Ekstrak polifenol dari *Prunus persica* L. Batch juga dapat menekan proliferasi sel kanker payudara dan pertumbuhan tumor (Fukuda *et al.*, 2003). Selain itu, ekstrak etanol dari akar *Prunus persica* L. Batsh dapat menghalangi pertumbuhan sel HepG2 (kanker liver) secara *in vitro* (Shen *et al.*, 2017). Berdasarkan banyak hasil penelitian *Prunus persica* L. Batsh terhadap berbagai penyakit maka dapat disimpulkan bahwa tumbuhan ini memiliki banyak manfaat bagi manusia.



## BAB VI

### PENUTUP

#### 6.1 Kesimpulan

1.  $IC_{50}$  yang didapatkan dari penelitian ini adalah secara berturut-turut nilai  $IC_{50}$  ekstrak buah usia 2 minggu  $2895,417 \pm 559,114$ , nilai  $IC_{50}$  ekstrak buah usia 4 minggu  $4698,812 \pm 1475,230$ , dan nilai  $IC_{50}$  ekstrak buah usia 3 minggu  $6053,759 \pm 2260,413$ . Hasil  $IC_{50}$  yang didapatkan adalah  $> 1000$  sehingga ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* L. Batsch berbeda usia dikategorikan tidak toksik terhadap sel T47D.
2. Berdasarkan uji pada *Kruskal-wallis* menunjukkan nilai signifikansi 0,041. Nilai  $p < 0,05$  yang artinya terdapat perbedaan signifikan nilai  $IC_{50}$  dari masing-masing sampel.

#### 6.2 Saran

1. Dilakukan peninjauan kembali dalam preparasi sampel.
2. Dilakukan optimasi dari perbedaan buah dan dilakukan uji KLT untuk melihat kandungan senyawa yang terdapat dalam buah.
3. Dilakukan isolasi flavonoid dari buah *Prunus persica* L. Batsch berbeda usia untuk kemudian dilakukan uji sitotoksiknya terhadap sel kanker.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abdullah, Dr. 2003. Tafsir Ibnu Katsir Jilid 5. Pustaka Imam Asy-Syafi'i: Bogor.
- Abidin, Z. 2011. Analisa Pengukuran Kadar Larutan Temulawak Menggunakan Metode TLC (*Thin Layer Chromatography*). Skripsi. Jurusan Teknik Fisika, Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember : Surabaya.
- Achmad, Harun, Supriatno, Marhaman, and Rasmidar. 2014. Aktivitas Antikanker dan Proliferasi Fraksi Etanol Sarang Semut (*Myrmecodya pendans*) pada Sel Kanker Lidah Manusia SP-C1. *Jurnal Dentofasial* Vol. 13 No. 1.
- Al-Mahalli, Imam J., & As-Suyuti. 2007. *Tafsir Jalalain*. Terj. Bahrhun. Abubakar. Bandung: Sinar Baru Algensindo.
- Balunas, M.J. dan Kinghorn, A.D. 2005. *Drug Discovery from Medicinal Plants*. *Journal Life Sciences*. 78 (5): 431-441.
- Banu, K. S. and Katherine L. 2015. General Techniques Involved in Phytochemical Analysis. *International Journal of Advance Research in Chemical Science* Vol 2 No. 5.
- Batoro, Jati and Dian Siswanto. 2017. Ethnomedicinal Survey of Plants Used by Local Society in Poncokusumo District, Malang, East Java, Indonesia. *Asian Journal of Medical and Biological Research* Vol. 3 No. 2.
- Benmehdi, Houcine, Khadija Fella, Abdellah Amrouche, Faiza Memmou, Hesna Malainine, Halima Dalile, and Wahiba Siata. 2017. Phytochemical Study, Antioxidant Activity and Kinetic Behavior of Flavonoids Fraction Isolated from *Prunus persica* L. Leaves. *Asian Journal of Chemistry* Vol. 29 N0.1.

- BPOM RI. 2014. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia Vol. 1*. Jakarta : BPOM RI.
- Cameron, Devon K. And Ya-Jane Wang. 2006. Application of Protease and High-Intensity Ultrasound in Corn Starch Isolation from Demerged Corn Flour. *Cereal Chemistry* Vol. 83 No. 5.
- Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC) Farmasi UGM. 2009. *Prosedur Tetap Kerja In Vitro*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Cantin, Celia M., Maria A. Moreno, and Yolanda Gogorcena. 2009. Evaluation of the Antioxidant Capacity, Phenolic Compounds and Vitamin C Content of Different Peach and Nectarine (*Prunus persica* (L.) Batsch). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* Vol 57 No. 11.
- CCRC. 2009. *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MT Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC)*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada.
- Ceccarelli, Danilo, Anna Maria Simeone, Paolo Nota, Maria Gracia Piazza, Carlo Fideghelli, and Emilia Caboni. 2016. Phenolic Compounds (Hydroxycinnamic Acids, Flavan-3-ols, Flavonols) Profile in Fruit Italian Peach Varieties. *Official Journal of the Societa Botanica Italian*.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakope Herbal Edisi Pertama*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Kesehatan RI. 2009. *Profil Kesehatan Indonesia 2008*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Kesehatan RI. 2014. *Buku Saku Pencegahan Kanker Leher Rahim dan Kanker Payudara*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

- Devipriya S, Ganapathy V, Shyamaladevi CS. Suppression of tumor growth and invasion in 9,10 dimethyl benz(a)anthracene induced mammary carcinoma by the plant bioflavonoid quercetin. *Chem Biol Interact* 2006;162(2):10613.
- Dihal AA, de Boer VC, van der Woude H, Tilburgs C, Bruijntjes JP, et al. Quercetin, but not its glycosylated conjugate rutin, inhibits azoxymethane-induced colorectal carcinogenesis in F344 rats. *J Nutr* 2006;136(11):2862-2827.
- Dirjen POM. 1979. *Farmakope Edisi III*. Departemen Kesehatan RI : Jakarta.
- Doyle, A, Griffiths J.B., dan Newell, D.G. 2000. *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures Third Edition*. New York: John Wilwy & Son.
- Emilan, T., Kurnia A., Utami B., Diyani L. N., Maulana A. 2011. *Konsep Herbal Indonesia*. Depok : Universitas Indonesia.
- Erlyani, Alafifah. 2012. Identifikasi Kandungan Metabolit Sekunder dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol Tandan Bunga Jantan Enau (*Arenga pinnata* Merr.). *Jurnal Skripsi Jurusan Fakultas P. MIPA FKIP Unhalu*.
- Floegel A, Kim DO, Chung SJ, Koo SI, Chun OK. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *J Food Compos Anal* 2011; 24:10438.
- Gairola, Sumeet, Jyotsana Sharma, R.D. Gaur, T.O. Siddiqi, R.M. Painuli. 2013. Plants Used for Treatment of Dysentery and Diarrhoea by the Bhoja Community of District Dehradun, Uttarakhand, India. *Journal of Ethnopharmacology* 150
- Gandjar, I. G. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar : Yogyakarta.

- Gee JM, Hara H, Johnson IT. Suppression of intestinal crypt cell proliferation and aberrant crypt foci by dietary quercetin in rats. *Nutr Cancer* 2002;43(2):193201.
- Gusmita, D. 2010. Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Spons *Callyspongia sp.* Dan Fraksi-fraksinya terhadap Sel Lestari Tumor Hela. *Skripsi*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Handayani, Hani. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan: Pelarut dan lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 4 No. 1.
- Handoyo. 2011. Penapisan Fitokimia Kelompok Daun Jati (*Tectona grandis* L.F.) pada Jati Usia 1 tahun dan Jati Usia 20 Tahun yang Tumbuh di Kabupaten Muna. *Skripsi F-KIP*. Universitas Haluoleo. Kendari.
- Harbone, J. B. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Kokasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: ITB.
- Hui, Chang, Xie Qi, Zhang Qianyong, Peng Xiaoli, Zhu Jundong, Mi Mantian. 2013. Flavonoid, Flavonoid Subclasses and Breast Cancer Risk: A Meta-Analysis of Epidemiologic Studies. *Journal of Plos One* Vol. 8 Issue. 1.
- Iersel, van Maria. 2008. *Sensible Sonochemistry*. Doctor of Philosophy Dissertation. Eindhoven : Eindhoven University of Technology.
- 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*. S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta: Tidak diterbitkan.

- Jackie, Lincoln-Wilensky. 2008. *Kanker Payudara dan Solusinya* Cetakan Pertama. Jakarta: Prestasi Pustaka.
- Jenie, R.I., and Mieyanto E. 2007. Kokemoterapi Ekstrak Etanolik Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) dan Doxorubicin pada Sel Kanker Payudara. *Majalah Obat Tradisional* Vol. 11 No. 41.
- Katsir, I. 2004. *Lubaabut Tafsir Min Ibnu Katsiir*. Kairo : Mu-assasah Daar al-Hilaal Kairo.
- Katzung, B. G. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi 10*. Jakarta: Salemba Medika.
- Kemenkes RI. 2015. *Panduan penatalaksanaan kanker payudara*. Jakarta : Balai Pustaka.
- King, R.2000. *Cancer Biology Seond Edition Harlow-England-London: School of Biological Science*. University of Suyey, Parson Education.
- Kuldiloke, J. 2002. *Effect of Ultrasound Temperature and Pressure Treatments on Enzyme Activity and Quaity Indicators of Fruit and Vegetable Juices*. Berlin: Dissertationer Technischen University of Berlin Jerman.
- Kumar, Ajay, Babita Gautam, Chetan Dubey, and Puspendra Kumar Tripathi. 2014. A Review: Role of Doxorubicin in Treatment of Cancer. *International Journal of Pharmaceutical sciences and Research* Vol. 5 Issue. 10.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilflavonoida dan Alkaloida*. Karya Ilmiah. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Machana, S., Weerapreeyakul, S. Barusrux, A. Nonpunya, B. Sripanikulchai, and T. Thimetharoch. 2011. Cytotoxic and Apoptotic Affects of Six Herbal Plants Against the Human Hepatocarcinoma (HepG2) Cell Line. *Journal of Chinese Medicine* Vol. 6.

- Madikizela, B., A.R. Ndhlala, J.F. Finnie, J. Van Staden. 2012. Ethnopharmacological Study of Plants from Pondoland Used Against Diarrhoea. *Journal of Ethnopharmacology* 141.
- Maharani, Sabrina 2009. *Mengenal 13 Jenis Kanker Dan Pengobatannya*. Jogjakarta: Katahati.
- Markham, K. R.1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Padmawinata K, Penerjemah. Bandung: ITB Press. Terjemahan dari: Techniques of Flavonoid Identification.
- Mason, J., L. Paniwinyk dan P. Lorimer. 1996. The Use of Ultrasound in Food Technology. *Ultrasonics Sonochemistry* Vol. 3.
- McClements, D.J. 1995. Advances in the Application of Ultrasound in Food Analysis and Processing. *Trends Food Science Technology* Vol 6.
- Meiyanto, M., Kudo, G., Lee, Y., Yang, T.J., Gelboin, H.V., Gonzalez, F.J. 1999. Targeted Disruption of the Microsomal Epoxide Hydrolase Gene. *The Journal of Biological Chemistry*.
- Melecchi et al. 2006. Optimisation of the Sonication Extraction Method of Hibiscus Tiliaceus L. Flowers. *Ultrasonics Sonochemistry* Vol. 13.
- Meloan, C. 1999. *Chemical Separation*. New York: J Willey.
- Mosmann, T. 1983. Rapid Colorimetric Assay for cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Journal of Immunological Method* Vol. 16 No. 65.
- Muti'ah, Roihatul. 2014. *Pengembangan Fitofarmaka antikanker (Panduan dan Teknik Pengembangan Obat Herbal Indonesia menjadi Fitofarmaka)*. Malang: UIN Maliki Press.

- Nala, 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.
- Nisa, Ghallisa Khoirun, Wahyunanto Agung Nugroho, Yusuf Hendrawan. 2014. Ekstraksi Daun Sirih (*Piper crocatum*) dengan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE). *Jurnal Bioproses Komoditus Tropis*. Vol. 2, No. 1.
- Notoatmodjo,S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Novak et al., 2008. Ultrasound Extracted Flavonoids from Four Varieties of Portuguese Red Grape Skins Determined by Reverse-phase High-performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection. *Analytica Chimica Acta* Vol. 630.
- Nurani, L. H. 2012. Uji Sitotoksitas dan Antiproliferatif Sel Kanker Payudara T47D dan Sel Vero Biji Nigella sativa, L. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* Vol. 2 No. 1.
- Nursid, M., A. Pratitis, and E. Chasanah. 2010. Kultivasi Kapang MFW-01-08 yang Diisolasi dari *Ascidia Aplidium longitorax* dan Uji Aktivitas Sitotoksiknya terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautandan Perikanan* Vol 5 No. 2.
- Oms-Oliu, Gemma, M.I.A.T.M. Hertog, Van de Poel, J. Ampofo-Asiama, A.H. Geeraerd, B.M. Nicolai. 2011. Metabolic Characterization of Tomato Fruit During Preharvest Development, Ripening, and Postharvest Shelf-Life. *Journal of Postharvest Biology and Technology* Vol. 62.
- Ortega, Angel Merida, Cesar hernandez-Alcaraz, Raul U. Hernandez-Ramirez, Angelica Garcia-Martinez, Belem Trejo-Valdina, Aaron Salinas-Rodrigues, Katherine Svensson, Mariano E. Cebrian, Francisco

- Franco-Marina, and Lizbeth Lopez-Carrillo. 2016. Phthalate Exposure, Flavonoid Consumption and Breast Cancer Risk among Mexican Women. *Environment International* 96.
- Pamungkas, Rizky. T. P. 2010. Etnofarmasi Suku Tengger Kecamatan Poncokusumo Kabupaten Malang. *Skripsi*. S1 Farmasi Fakultas Farmasi. Universitas Jember: Tidak diterbitkan.
- Pellegrini N, Serafini M, Colombi B, et al. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J Nutr* 2003;133: 28129.
- Prasetyo and Inorihah, E. 2013. *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-obatan*. Bengkulu : UNIB.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi Edisi 6*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB Press.
- Rohman, A. 2014. *Statistika dan Kemometrika Dasar dalam Analisis Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Belajar.
- Santos, H.M., C. Lodeiro, J.L. Capelo-Martinez. 2009. *Ultrasound in Chemistry: Analytical Application*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA, Weinhei.
- Shihab, M.Q. 2003. *Tafsir al-Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian al-Qur'an*. Jakarta : Lentera Hati.
- Simanjuntak, P., Fanny, and Subroto, MA. 2010. Isolasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Hipokotil Sarang Semut (*Myrmecodia pandans*) sebagai Penghambat Xantinoksidase. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*.
- Sirait, Eva Ulina, Siti Khotimah, and Masnur Turnip. 2014. Ekstrak Buah Laban (*Vitex pubescent Vahl*) sebagai Penghambat Salmonella Thypi dan Staphylococcus aureus. *Jurnal Protobiont* Vol. 3 No. 3.

- Siswanto Y. W. 2004. *Penanganan Hasil Panen Obat Komersial*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Subroto, A., and Saputro, H. 2007. *Gempur Penyakit dengan Sarang Semut*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka.
- Suslick K.S., R.E. Cline dan D.A. Hammerton. 1986. *Journal of the American Chemical Society*.
- Suyanto, P. E. 2010. *Bedah Onkologi Diagnosis dan Terapi Edisi I*. Jakarta: CV. Sagung Seto.
- Teddy, Budi Suandi. 2011. *Pemodelan Proses Ekstraksi Ultrasonik Oleresin dan Cinnamaldehyde dari Kayu Manis*. Thesis. Semarang : Fakultas Teknik Universitas Diponegoro. Tidak diterbitkan.
- Thompson, L. H., and L. K. Doraiswamy. 1999. Sonochemistry: Science and Engineering. *Industrial and Engineering Chemistry Research* Vol. 38.
- Underwood, J.C.E. 1996. *General and Systematic Pathology Second Edition*. New York: Churchill Livingstone.
- Union for International Cancer Control. Early Stage Breast Cancer. *Review of Cancer Medicines on the WHO List of Essential Medicine*. 2014. Diakses tanggal 11 April 2018.
- Van Steenis. 1972. *Flora*. Jakarta: Pradnya Pramita.
- Verma, S.P., Goldin, B.R., and Lin, P.S. 1998. The Inhibition of the Estrogenic Effects of Pesticides and Environmental Chemicals by Curcumin and Isoflavonoids, *Envir. Health Persp* Vol. 106 No. 12.
- Vilkhu, K., R. Mawson, L. Simons dan D. Bates. 2006. Application and Opportunities for Ultrasound Assisted Extraction in the Food Industry

(A Review). *Food Innovation: Emerging Science*, Australia: Technologies & Application (FIESTA).

Vizzotto, Marcia., Weston Porter, David Byrne, Luis Cisneros-Zevallos. 2014. Polyphenols of Selected Peach and Plum Genotypes Reduce Cell Viability and Inhibit Proliferation of Breast Cancer Cells While not Affecting Normal Cells. *Food Chemistry* 164.

Vogel. 1996. *Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Jakarta : EGC.

Volate SR, Davenport DM, Muga SJ, Wargovich MJ. Modulation of aberrant crypt foci and apoptosis by dietary herbal supplements (quercetin, curcumin, silymarin, ginseng and rutin). *Carcinogenesis* 2005;26(8):14506.

Warsono and Lukas. 2013. Ekstrak Cashew Nut Shell Liquid (CNSL) dari Kulit Biji Mete dengan Menggunakan Metode Pengepresan. *Jurnal Teknosains Pangan* Vol. 2 No. 2.

Weng C-J, Yen G-C. Chemopreventive effects of dietary phytochemicals against cancer invasion and metastasis: Phenolic acids, monophenol, polyphenol, and their derivatives. *Cancer Treat Rev* 2012;38(1):7681.

Winarno, F. G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama.

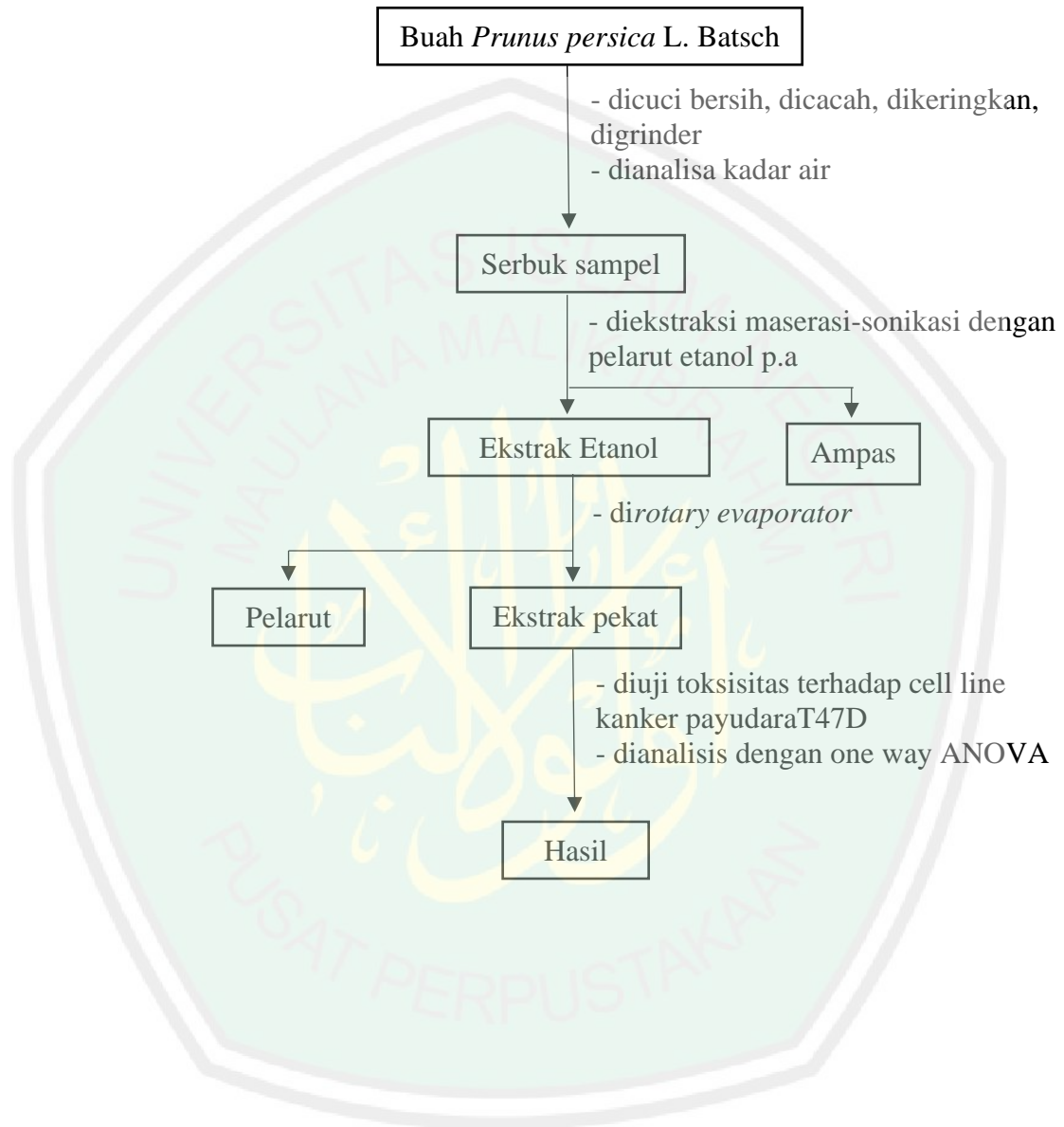
Yachya, A., and Sulistyawati. 2015. Aktivitas Antibakteri Biji dan Kulit Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap *Aerobacter aerogenes* dan *Proteus mirabilis*. *Jurnal Teknik WAKTU* Vol. 13 No. 2.

Yuanita. 2010. Konsep Medis Ca Mammae. Dalam [katumbu.blogspot.com/9/konsep-medis-ca-mammae.html](http://katumbu.blogspot.com/9/konsep-medis-ca-mammae.html).

Zarisaman, S. Z. 2006. Potensi Ilmu Nomodulator Bubuk Kakao Bebas Lemak sebagai Produk Substandar secara *In Vitro* pada Sel Limfosit Manusia. *Skripsi*. Bogor : Institute Pertanian Bogor.

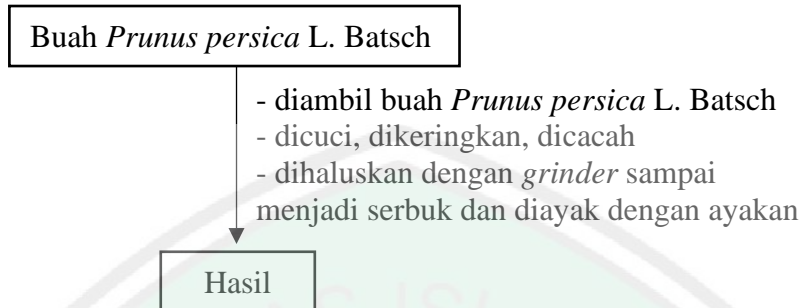
Zhao, Xiaoyong, Wenna Zhang, Xueren Yin, Mingshen Su, Chongde Sun, Xian Li, and Kunsong Chen. 2015. Phenolic Composition and Antioxidant Properties of Different Peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) Cultivars in China. *International Journal of Molecular Science* 16.



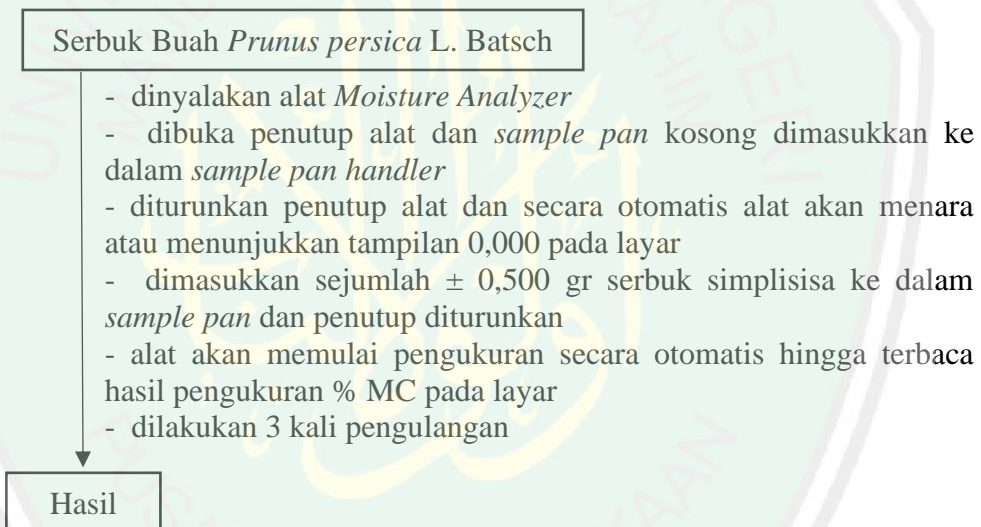
**LAMPIRAN****Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian**

## Lampiran 2. Skema Kerja

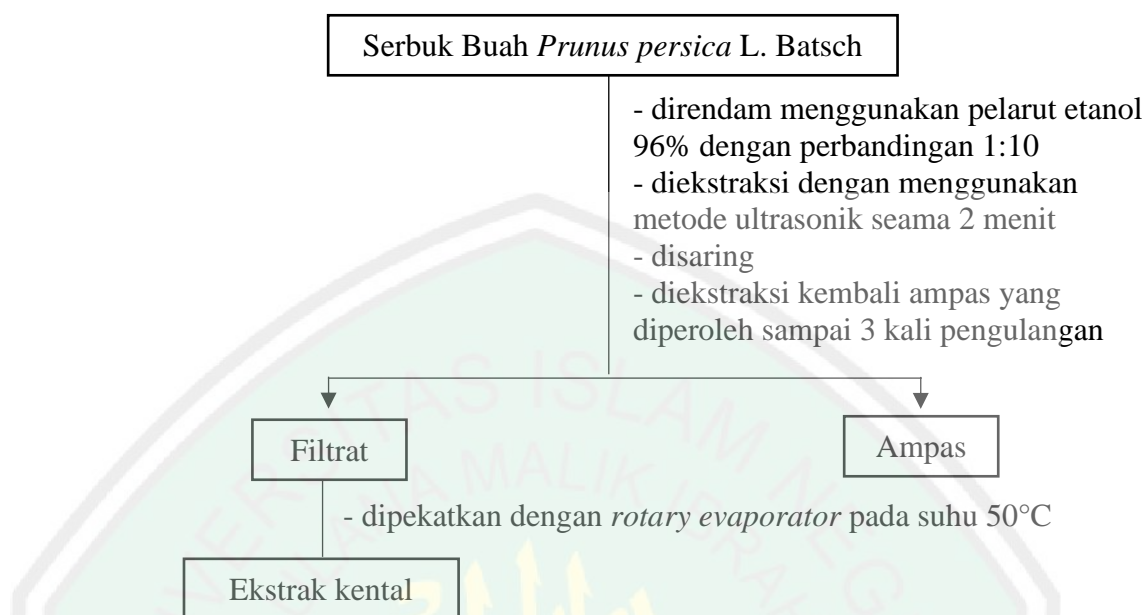
### L.2.1 Preparasi sampel



### L.2.2 Analisa Kadar Air

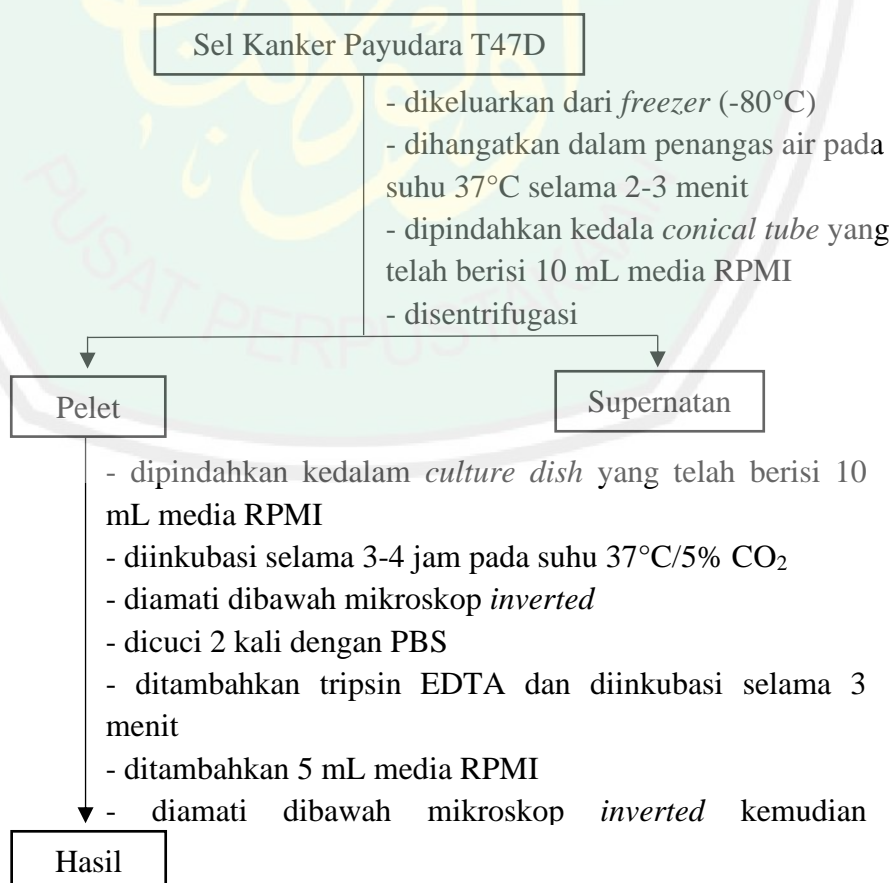


### L.2.3 Ekstraksi Serbuk Buah *Prunus persica* L. Batsch

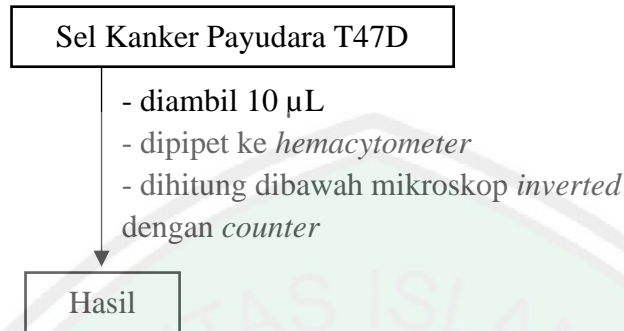


### L.2.4 Uji Aktivitas Sitotoksik dengan Metode MTT

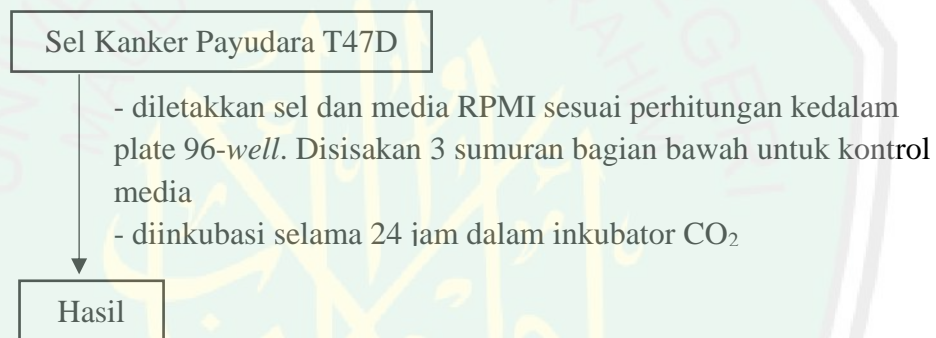
#### L.2.4.1 Penyiapan Sel



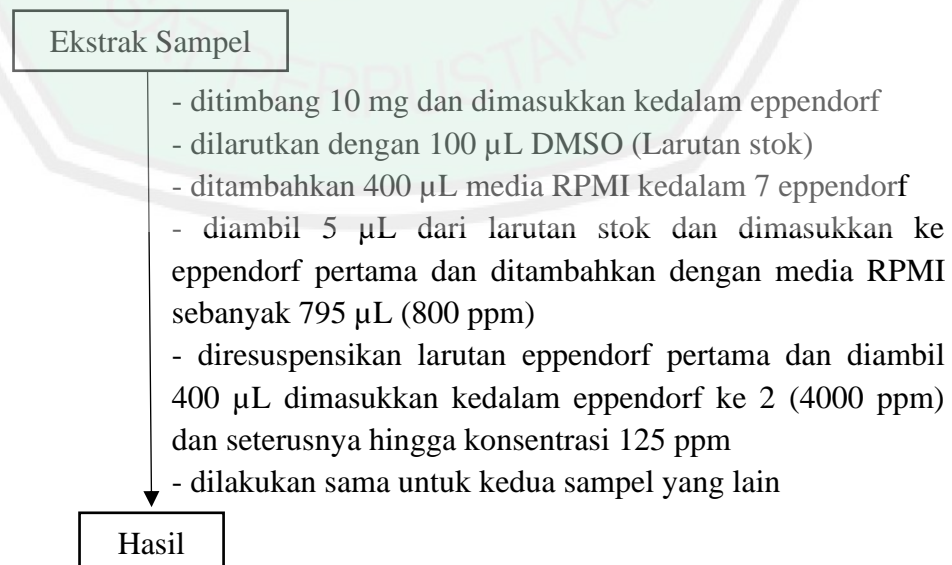
#### L.2.4.2 Perhitungan Sel Kanker

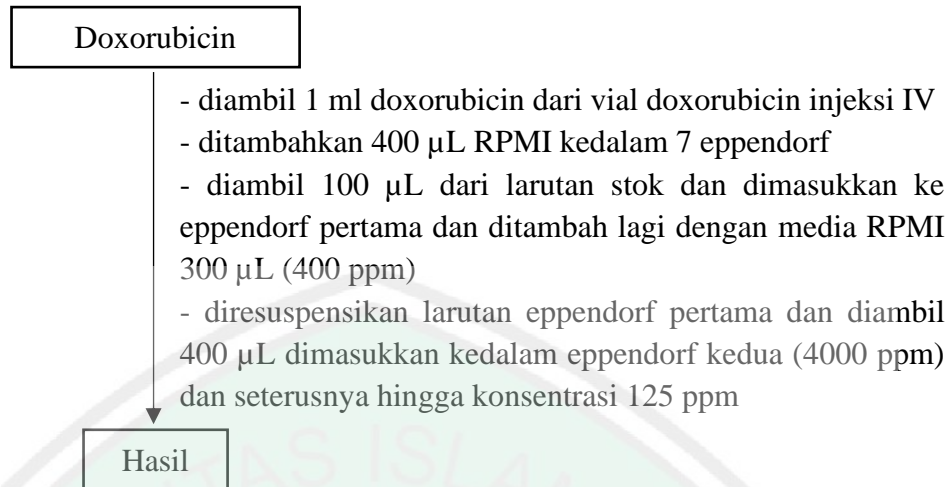


#### L.2.4.3 Peletakan Sel pada Plate

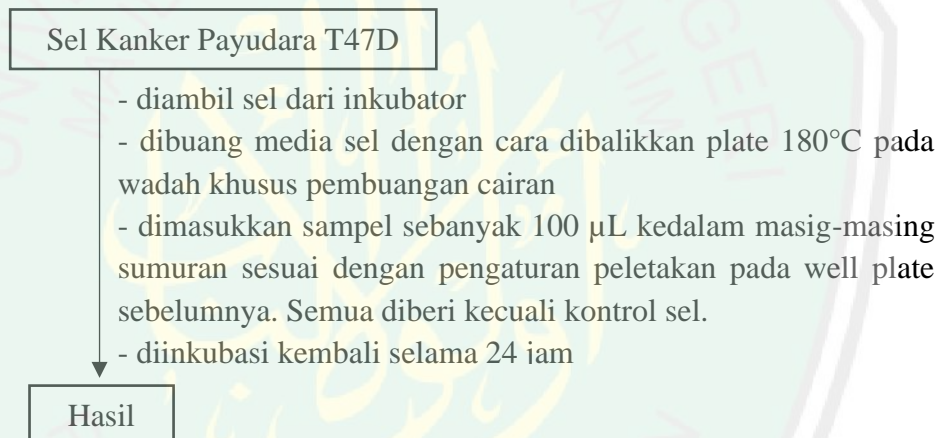


#### L.2.4.4 Pembuatan Larutan Seri Konsentrasi Sampel dan Kontrol Positif (Doxorubicin)

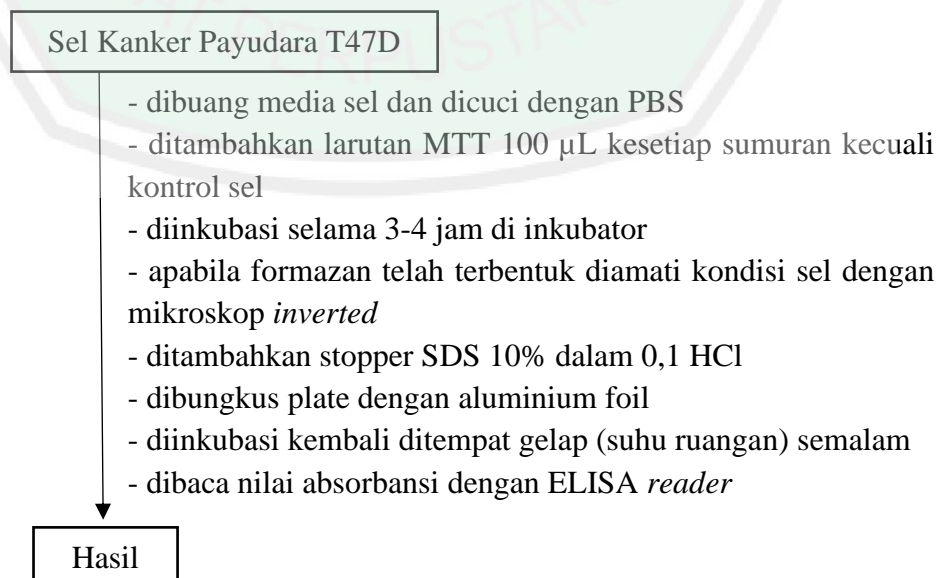




#### L.2.4.5 Penambahan Larutan Sampel ke dalam Sel



#### L.2.4.6 Pemberian Larutan MTT



**Lampiran 3. Perhitungan Kadar Air Serbuk Buah *Prunus persica* L. Batsch**

<b>Umur serbuk buah</b>	<b>Kadar air I (% b/b)</b>	<b>Kadar air II (% b/b)</b>	<b>Kadar air III (% b/b)</b>	<b>Kadar air rata-rata (% b/b)</b>
<b>2 minggu</b>	4,13	4,69	5,14	4,65
<b>3 minggu</b>	4,66	3,77	5,04	4,49
<b>4 minggu</b>	6,82	4,57	4,93	5,44



## Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak Hasil Maserasi-Sonikasi

### L.4.1 Rendemen Ekstrak buah *Prunus persica* L. Batsch umur 2 minggu

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat simplisia serbuk}} \times 100\%$$

Berat simplisia serbuk = 240 gr

Berat ekstrak kental = 75,11 gr

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{75,11 \text{ gr}}{240 \text{ gr}} \times 100\% = 31,29\%$$

### L.4.2 Rendemen Ekstrak buah *Prunus persica* L. Batsch umu 3 minggu

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat simplisia serbuk}} \times 100\%$$

Berat simplisia serbuk = 250 gr

Berat ekstrak kental = 78,39 gr

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{78,39 \text{ gr}}{250 \text{ gr}} \times 100\% = 31,35\%$$

### L.4.3 Rendemen Ekstrak buah *Prunus persica* L. Batsch umur 4 minggu

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat simplisia serbuk}} \times 100\%$$

Berat simplisia serbuk = 400 gr

Berat ekstrak kental = 134,62 gr

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{134,62 \text{ gr}}{400 \text{ gr}} \times 100\% = 33,65\%$$

## Lampiran 5. Perhitungan

### L.5.1 Perhitungan Konsentrasi Sel

Kamar A = 423

Kamar B = 421

Kamar C = 412

Kamar D = 464

Jumlah sel yang dihitung ( $\text{mL}^{-1}$ )

$$\begin{aligned} \Sigma \text{sel yang dihitung} &= \frac{\Sigma \text{sel kamar A} + \Sigma \text{sel kamar B} + \Sigma \text{sel kamar C} + \Sigma \text{sel kamar D}}{4} \times 10^4 \\ &= \frac{423 + 421 + 412 + 464}{4} \times 10^4 \\ &= 1.720 \times 10^4 / \text{mL} \end{aligned}$$

Jumlah mL panen sel yang ditransfer (konsentrasi sel)

$$\begin{aligned} \Sigma \text{mL panen sel yang ditransfer} &= \frac{\Sigma \text{ total sel yang diperlukan}}{\Sigma \text{ jumlah sel terhitung}} \\ &= \frac{100 \times 10^4}{1.720 \times 10^4 / \text{mL}} \\ &= 0,058 \text{ mL} \\ &= 58 \mu\text{L} \end{aligned}$$

Volume panen sel yang ditransfer adalah sebanyak 58  $\mu\text{L}$ , ditambahkan 10 mL MK RPMI karena setiap sumuran akan diisi 100  $\mu\text{L}$  MK berisi sel, sehingga

total volume yang diperlukan untuk memanen sel =  $100 \mu\text{L} \times 100 \text{ sumuran} = 10000 \mu\text{L}$  atau 10 mL.

### L.5.2 Pembuatan Larutan Stok Ekstrak dan Ekstrak dan Kontrol Positif

Sediaan injeksi IV doxorubicin adalah  $\frac{10 \text{ mg}}{5 \text{ ml}} = \frac{2 \text{ mg}}{\text{ml}} = \frac{2000 \mu\text{g}}{\text{ml}}$

Larutan stok doxorubicin adalah 2000 ppm kemudian dilakukan pengenceran 200 ppm. Cara membuat 2000 ppm adalah diambil 1 ml dari sediaan vial injeksi IV, karena kandungan doxorubicin 2 mg/1 ml setara dengan 2000 ppm.

Pengencerannya adalah :

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

$$2000 \mu\text{g/ml} \times V_1 = 200 \mu\text{g/ml} \times 1 \text{ ml}$$

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

Jadi, larutan stok doxorubicin 200 ppm dibuat dengan mengambil 100  $\mu\text{l}$  dari larutan stok 2000 ppm, kemudian ditambahkan 900  $\mu\text{L}$  media kultur RPMI dan diresuspensi hingga homogen.

### L.5.3 Pembuatan Larutan Stok MTT (5 mg/mL) (CCRC, 2009)

Ditimbang 50 mg serbuk MTT, dilarutkan dalam 10  $\mu\text{l/mL}$  PBS dan diaduk dengan vortex.

### L.5.4 Pembuatan Larutan SDS 10%

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

Cara pembuatannya yakni diimbang 10 g SDS (Sodium Deodecyl Sulphate) dan dimasukkan dalam beaker glass 100 mL, kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquadest.

### L.5.5 Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub> menggunakan *Analysis Probit* SPSS

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

#### 1. Kontrol Sel

Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata
0,349	0,421	0,426	0,398666667

#### 2. Kontrol Media

Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata
0,115	0,123	0,126	0,121333333

#### 3. Ekstrak Etanol 96% Buah *Prunus persica* L. Batsch Umur 2 minggu

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata
	1	2	3	1	2	3	
8000	0,210	0,228	0,220	31,971	38,461	42,067	35,336
4000	0,215	0,238	0,247	33,774	42,067	45,312	40,385
2000	0,271	0,273	0,281	53,966	54,687	57,572	55,409
1000	0,314	0,339	0,323	69,471	78,485	72,716	73,558
500	0,346	0,342	0,345	81,010	79,567	80,649	80,409
250	0,334	0,336	0,339	76,683	77,404	78,485	77,524
125	0,363	0,395	0,361	87,139	98,678	86,418	90,745

- a. Konsentrasi 8000 ( $\mu\text{g/mL}$ )
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,210-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 31,971$$
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,228-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 38,461$$
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,220-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 42,067$$
- b. Konsentrasi 4000 ( $\mu\text{g/mL}$ )
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,215-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 33,774$$
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,238-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 42,067$$
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,247-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 45,312$$
- c. Konsentrasi 2000 ( $\mu\text{g/mL}$ )
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,271-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 53,966$$
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,273-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 54,687$$
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,281-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 57,572$$
- d. Konsentrasi 1000 ( $\mu\text{g/mL}$ )
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,314-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 69,471$$
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,339-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 78,485$$
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,323-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 72,716$$
- e. Konsentrasi 500 ( $\mu\text{g/mL}$ )
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,346-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 81,010$$
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,342-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 79,567$$
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,345-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 80,649$$
- f. Konsentrasi 250 ( $\mu\text{g/mL}$ )
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,334-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 76,683$$
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,336-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 77,404$$
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,339-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 78,485$$
- g. Konsentrasi 125 ( $\mu\text{g/mL}$ )
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,363-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 87,139$$
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,395-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 98,678$$
- $$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,361-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 86,418$$

## Replikasi 1

		Confidence Limits					
		95% Confidence Limits for Konsentrasi			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>b</sup>		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	0.01	6.059E5	123702.905	1.347E7	5.782	5.092	7.129
	0.02	3.145E5	75132.682	5097024.857	5.498	4.876	6.707
	0.03	2.075E5	54719.919	2753060.494	5.317	4.738	6.440
	0.04	1.517E5	43090.742	1732897.038	5.181	4.634	6.239
	0.05	1.176E5	35468.221	1189549.175	5.070	4.550	6.075
	0.06	94707.260	30044.233	863831.664	4.976	4.478	5.936
	0.07	78320.970	25969.324	652673.842	4.894	4.414	5.815
	0.08	66070.026	22787.210	507914.204	4.820	4.358	5.706
	0.09	56600.389	20229.141	404416.598	4.753	4.306	5.607
	0.1	49088.013	18125.752	327954.600	4.691	4.258	5.516
	0.15	27222.307	11478.289	138035.673	4.435	4.060	5.140
	0.2	17038.215	7953.964	69645.987	4.231	3.901	4.843
	0.25	11398.258	5783.767	38880.158	4.057	3.762	4.590
	0.3	7944.292	4324.606	23140.699	3.900	3.636	4.364
	0.35	5685.546	3284.409	14389.351	3.755	3.516	4.158
	0.4	4139.165	2510.904	9236.190	3.617	3.400	3.965
	0.45	3044.613	1916.915	6075.599	3.484	3.283	3.784
	0.5	2250.434	1449.369	4079.666	3.352	3.161	3.611
	0.55	1663.414	1075.179	2792.123	3.221	3.031	3.446
	0.6	1223.545	774.417	1946.746	3.088	2.889	3.289
	0.65	890.759	536.008	1380.185	2.950	2.729	3.140
	0.7	637.496	353.196	989.164	2.804	2.548	2.995
	0.75	444.318	219.322	708.902	2.648	2.341	2.851
	0.8	297.241	126.225	500.012	2.473	2.101	2.699
	0.85	186.041	65.110	338.915	2.270	1.814	2.530
	0.9	103.171	27.862	211.099	2.014	1.445	2.324
	0.91	89.477	22.659	188.612	1.952	1.355	2.276
	0.92	76.653	18.091	166.981	1.885	1.257	2.223
	0.93	64.663	14.116	146.135	1.811	1.150	2.165
	0.94	53.475	10.692	125.991	1.728	1.029	2.100
	0.95	43.058	7.784	106.456	1.634	.891	2.027
	0.96	33.381	5.357	87.405	1.523	.729	1.942
	0.97	24.411	3.380	68.654	1.388	.529	1.837
	0.98	16.103	1.831	49.867	1.207	.263	1.698
	0.99	8.359	.695	30.192	.922	-.158	1.480

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

## Replikasi 2

		Confidence Limits					
		95% Confidence Limits for Konsentrasi			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>b</sup>		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	0.01	6.431E5	87194.069	1.242E8	5.808	4.940	8.094
	0.02	3.454E5	56534.749	3.977E7	5.538	4.752	7.600
	0.03	2.328E5	42911.549	1.932E7	5.367	4.633	7.286
	0.04	1.730E5	34855.452	1.123E7	5.238	4.542	7.050
	0.05	1.359E5	29420.143	7228220.243	5.133	4.469	6.859
	0.06	1.107E5	25458.773	4968301.855	5.044	4.406	6.696
	0.07	92444.883	22420.593	3577374.077	4.966	4.351	6.554
	0.08	78675.833	20004.288	2666561.612	4.896	4.301	6.426
	0.09	67942.477	18029.536	2041697.461	4.832	4.256	6.310
	0.1	59361.580	16381.084	1597134.920	4.774	4.214	6.203
	0.15	33941.970	10984.440	579347.463	4.531	4.041	5.763
	0.2	21766.691	7962.141	259851.646	4.338	3.901	5.415
	0.25	14868.361	6015.140	131184.329	4.172	3.779	5.118
	0.3	10558.754	4652.806	71362.844	4.024	3.668	4.853
	0.35	7688.929	3645.229	40841.088	3.886	3.562	4.611
	0.4	5690.594	2869.150	24238.436	3.755	3.458	4.385
	0.45	4253.005	2252.056	14786.107	3.629	3.353	4.170
	0.5	3193.296	1748.459	9226.216	3.504	3.243	3.965
	0.55	2397.632	1329.016	5880.236	3.380	3.124	3.769
	0.6	1791.929	975.849	3834.578	3.253	2.989	3.584
	0.65	1326.211	680.932	2567.036	3.123	2.833	3.409
	0.7	965.752	443.946	1765.392	2.985	2.647	3.247
	0.75	685.828	266.243	1238.662	2.836	2.425	3.093
	0.8	468.475	144.142	872.591	2.671	2.159	2.941
	0.85	300.429	67.950	601.801	2.478	1.832	2.779
	0.9	171.780	25.561	389.136	2.235	1.408	2.590
	0.91	150.085	20.118	351.389	2.176	1.304	2.546
	0.92	129.610	15.495	314.846	2.113	1.190	2.498
	0.93	110.305	11.615	279.334	2.043	1.065	2.446
	0.94	92.123	8.409	244.661	1.964	.925	2.389
	0.95	75.016	5.811	210.593	1.875	.764	2.323
	0.96	58.930	3.759	176.819	1.770	.575	2.248
	0.97	43.800	2.197	142.859	1.641	.342	2.155
	0.98	29.524	1.073	107.827	1.470	.031	2.033
	0.99	15.856	.346	69.461	1.200	-.461	1.842

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) <sup>a</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT 0.01	2.087E6	565029.683	1.510E7	6.319	5.752	7.179
0.02	9.780E5	300877.691	5816185.444	5.990	5.478	6.765
0.03	6.047E5	201651.562	3176638.491	5.782	5.305	6.502
0.04	4.212E5	149201.375	2015884.136	5.624	5.174	6.304
0.05	3.138E5	116756.807	1392785.552	5.497	5.067	6.144
0.06	2.443E5	94750.880	1016864.410	5.388	4.977	6.007
0.07	1.962E5	78887.338	771833.613	5.293	4.897	5.888
0.08	1.611E5	66943.927	603054.713	5.207	4.826	5.780
0.09	1.348E5	57653.893	481874.805	5.130	4.761	5.683
0.1	1.143E5	50241.812	392008.529	5.058	4.701	5.593
0.15	57831.167	28388.141	166978.068	4.762	4.453	5.223
0.2	33648.563	18001.826	84891.545	4.527	4.255	4.929
0.25	21144.129	12155.728	47603.380	4.325	4.085	4.678
0.3	13931.185	8524.708	28378.128	4.144	3.931	4.453
0.35	9464.063	6119.233	17619.468	3.976	3.787	4.246
0.4	6557.632	4451.616	11249.485	3.817	3.649	4.051
0.45	4598.253	3256.000	7323.967	3.663	3.513	3.865
0.5	3242.521	2376.428	4834.987	3.511	3.376	3.684
0.55	2286.508	1716.462	3225.336	3.359	3.235	3.509
0.6	1603.314	1214.775	2170.170	3.205	3.084	3.336
0.65	1110.933	832.699	1470.490	3.046	2.920	3.167
0.7	754.706	546.282	998.987	2.878	2.737	3.000
0.75	497.251	338.811	673.385	2.697	2.530	2.828
0.8	312.463	195.279	442.388	2.495	2.291	2.646
0.85	181.804	101.195	275.223	2.260	2.005	2.440
0.9	91.976	43.702	153.384	1.964	1.640	2.186
0.91	78.019	35.634	133.355	1.892	1.552	2.125
0.92	65.245	28.537	114.596	1.815	1.455	2.059
0.93	53.601	22.344	97.040	1.729	1.349	1.987
0.94	43.034	16.994	80.629	1.634	1.230	1.906
0.95	33.501	12.432	65.302	1.525	1.095	1.815
0.96	24.963	8.606	51.001	1.397	.935	1.708
0.97	17.387	5.473	37.660	1.240	.738	1.576
0.98	10.750	2.995	25.187	1.031	.476	1.401
0.99	5.038	1.157	13.380	.702	.063	1.126

- a. A heterogeneity factor is used  
b. Logarithm base = 10

#### 4. Ekstrak Etanol 96% Buah *Prunus persica* L. Batsch Umur 3 minggu

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata
	1	2	3	1	2	3	
8000	0,230	0,221	0,237	39,183	35,937	41,707	38,942
4000	0,264	0,276	0,289	51,442	55,769	60,457	55,889
2000	0,299	0,306	0,313	64,062	66,586	69,110	66,586
1000	0,319	0,312	0,353	71,274	68,75	83,534	74,519
500	0,329	0,345	0,327	74,880	80,649	74,159	76,562
250	0,344	0,337	0,338	80,288	77,764	78,125	78,726
125	0,336	0,349	0,354	77,404	82,091	83,894	81,130

a. Konsentrasi 8000 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,230-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 39,183$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,221-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 35,937$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,237-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 41,707$$

b. Konsentrasi 4000 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,264-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 51,442$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,276-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 55,769$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,289-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 60,457$$

c. Konsentrasi 2000 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,299-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 64,062$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,306-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 66,586$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,313-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 69,110$$

d. Konsentrasi 1000 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,319-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 71,274$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,312-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 68,75$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,353-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 83,534$$

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

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,329-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 74,880$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,345-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 80,649$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,327-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 74,159$$

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

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,344-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 80,288$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,337-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 77,764$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,338-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 78,125$$

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

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,336-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 77,404$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,349-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 82,091$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,354-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 83,894$$



## Replikasi 1

		Confidence Limits					
		95% Confidence Limits for Konsentrasi			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>a</sup>		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	0.01	3.558E7	3745257.064	1.820E9	7.551	6.573	9.260
	0.02	1.254E7	1647877.233	4.338E8	7.098	6.217	8.637
	0.03	6.472E6	978486.530	1.747E8	6.811	5.991	8.242
	0.04	3.935E6	660953.591	8.815E7	6.595	5.820	7.945
	0.05	2.625E6	480291.779	5.054E7	6.419	5.682	7.704
	0.06	1.860E6	365948.368	3.148E7	6.269	5.563	7.498
	0.07	1.375E6	288290.983	2.079E7	6.138	5.460	7.318
	0.08	1.049E6	232827.341	1.434E7	6.021	5.367	7.157
	0.09	8.202E5	191688.807	1.023E7	5.914	5.283	7.010
	0.1	6.540E5	160262.833	7498704.872	5.816	5.205	6.875
	0.15	2.561E5	76272.605	2073789.229	5.408	4.882	6.317
	0.2	1.215E5	42197.611	748004.325	5.085	4.625	5.874
	0.25	64133.211	25343.980	312485.529	4.807	4.404	5.495
	0.3	36119.832	15996.220	143031.353	4.558	4.204	5.155
	0.35	21217.665	10411.473	69540.097	4.327	4.018	4.842
	0.4	12807.239	6898.315	35223.859	4.107	3.839	4.547
	0.45	7858.438	4604.062	18351.696	3.895	3.663	4.264
	0.5	4859.371	3062.989	9754.002	3.687	3.486	3.989
	0.55	3004.858	2004.840	5269.379	3.478	3.302	3.722
	0.6	1843.761	1266.706	2900.019	3.266	3.103	3.462
	0.65	1112.916	752.218	1638.949	3.046	2.876	3.215
	0.7	653.754	409.031	953.788	2.815	2.612	2.979
	0.75	368.194	200.665	561.668	2.566	2.302	2.749
	0.8	194.280	87.387	323.607	2.288	1.941	2.510
	0.85	92.214	32.345	174.466	1.965	1.510	2.242
	0.9	36.107	9.100	81.617	1.558	.959	1.912
	0.91	28.790	6.688	68.047	1.459	.825	1.833
	0.92	22.511	4.784	55.877	1.352	.680	1.747
	0.93	17.175	3.308	45.014	1.235	.520	1.653
	0.94	12.697	2.190	35.377	1.104	.340	1.549
	0.95	8.996	1.367	26.893	.954	.136	1.430
	0.96	6.001	.786	19.498	.778	-.105	1.290
	0.97	3.648	.397	13.141	.562	-.401	1.119
	0.98	1.883	.160	7.784	.275	-.795	.891
	0.99	.664	.038	3.416	-.178	-1.417	.534

- a. A heterogeneity factor is used  
b. Logarithm base = 10

## Replikasi 2

		Confidence Limits					
		95% Confidence Limits for Konsentrasi			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>b</sup>		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	0.01	1.326E7	775587.175	1.499E10	7.123	5.890	10.176
	0.02	5.220E6	401870.784	2.947E9	6.718	5.604	9.469
	0.03	2.889E6	264651.184	1.051E9	6.461	5.423	9.022
	0.04	1.851E6	193217.649	4.839E8	6.267	5.286	8.685
	0.05	1.289E6	149551.978	2.576E8	6.110	5.175	8.411
	0.06	9.471E5	120226.232	1.506E8	5.976	5.080	8.178
	0.07	7.229E5	99265.866	9.413E7	5.859	4.997	7.974
	0.08	5.676E5	83604.444	6.180E7	5.754	4.922	7.791
	0.09	4.555E5	71505.776	4.216E7	5.658	4.854	7.625
	0.1	3.720E5	61913.463	2.965E7	5.571	4.792	7.472
	0.15	1.608E5	34038.047	6916994.731	5.206	4.532	6.840
	0.2	82592.919	21094.460	2182051.808	4.917	4.324	6.339
	0.25	46628.370	13947.802	813577.110	4.669	4.145	5.910
	0.3	27904.602	9583.557	336712.422	4.446	3.982	5.527
	0.35	17340.308	6736.461	149380.455	4.239	3.828	5.174
	0.4	11040.673	4790.239	69529.105	4.043	3.680	4.842
	0.45	7133.523	3412.216	33487.797	3.853	3.533	4.525
	0.5	4641.090	2408.582	16554.920	3.667	3.382	4.219
	0.55	3019.507	1659.896	8382.488	3.480	3.220	3.923
	0.6	1950.942	1091.236	4374.558	3.290	3.038	3.641
	0.65	1242.176	661.128	2389.824	3.094	2.820	3.378
	0.7	771.906	355.902	1384.397	2.888	2.551	3.141
	0.75	461.944	166.806	839.964	2.665	2.222	2.924
	0.8	260.794	67.105	514.739	2.416	1.827	2.712
	0.85	133.931	22.200	304.181	2.127	1.346	2.483
	0.9	57.907	5.346	162.021	1.763	.728	2.210
	0.91	47.291	3.779	139.570	1.675	.577	2.145
	0.92	37.951	2.590	118.797	1.579	.413	2.075
	0.93	29.797	1.708	99.597	1.474	.233	1.998
	0.94	22.742	1.072	81.874	1.357	.030	1.913
	0.95	16.711	.630	65.541	1.223	-.201	1.817
	0.96	11.635	.337	50.520	1.066	-.473	1.703
	0.97	7.456	.156	36.731	.872	-.808	1.565
	0.98	4.126	.056	24.085	.616	-1.254	1.382
	0.99	1.624	.011	12.418	.211	-1.958	1.094

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

## Replikasi 3

		Confidence Limits					
		95% Confidence Limits for Konsentrasi			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>b</sup>		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	0.01	8.511E7	1050683.864	2.553E16	7.930	6.021	16.407
	0.02	2.898E7	540699.074	1.339E15	7.462	5.733	15.127
	0.03	1.463E7	354499.041	2.065E14	7.165	5.550	14.315
	0.04	8.751E6	257935.874	5.061E13	6.942	5.412	13.704
	0.05	5.760E6	199084.493	1.613E13	6.760	5.299	13.208
	0.06	4.035E6	159658.278	6.096E12	6.606	5.203	12.785
	0.07	2.953E6	131539.545	2.598E12	6.470	5.119	12.415
	0.08	2.233E6	110569.936	1.211E12	6.349	5.044	12.083
	0.09	1.732E6	94398.993	6.048E11	6.239	4.975	11.782
	0.1	1.371E6	81598.708	3.193E11	6.137	4.912	11.504
	0.15	5.203E5	44539.511	2.273E10	5.716	4.649	10.357
	0.2	2.409E5	27436.331	2.791E9	5.382	4.438	9.446
	0.25	1.245E5	18041.819	4.635E8	5.095	4.256	8.666
	0.3	68789.159	12331.915	9.280E7	4.838	4.091	7.968
	0.35	39704.047	8623.716	2.101E7	4.599	3.936	7.322
	0.4	23569.254	6100.102	5168383.969	4.372	3.785	6.713
	0.45	14230.337	4321.121	1343625.220	4.153	3.636	6.128
	0.5	8660.815	3030.651	362386.156	3.938	3.482	5.559
	0.55	5271.113	2069.611	100381.042	3.722	3.316	5.002
	0.6	3182.524	1333.816	28683.164	3.503	3.125	4.458
	0.65	1889.221	758.066	8780.599	3.276	2.880	3.944
	0.7	1090.429	332.886	3166.251	3.038	2.522	3.501
	0.75	602.585	99.752	1446.016	2.780	1.999	3.160
	0.8	311.309	20.378	772.891	2.493	1.309	2.888
	0.85	144.165	2.793	426.644	2.159	.446	2.630
	0.9	54.726	.212	218.299	1.738	-.674	2.339
	0.91	43.310	.113	186.844	1.637	-.947	2.271
	0.92	33.590	.057	158.061	1.526	-1.244	2.199
	0.93	25.401	.027	131.729	1.405	-1.572	2.120
	0.94	18.591	.012	107.655	1.269	-1.939	2.032
	0.95	13.023	.004	85.672	1.115	-2.358	1.933
	0.96	8.572	.001	65.634	.933	-2.851	1.817
	0.97	5.126	.000	47.405	.710	-3.459	1.676
	0.98	2.588	.000	30.845	.413	-4.268	1.489
	0.99	.881	.000	15.739	-.055	-5.544	1.197

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

### 5. Ekstrak Etanol 96% Buah *Prunus persica* L. Batsch Umur 4 minggu

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata
	1	2	3	1	2	3	
8000	0,228	0,270	0,273	38,461	53,606	54,687	48,918
4000	0,247	0,256	0,260	45,312	48,558	50	47,957
2000	0,256	0,268	0,245	48,558	52,885	44,591	48,678
1000	0,342	0,322	0,329	79,567	72,356	74,880	75,600
500	0,305	0,314	0,327	66,226	69,471	74,159	69,952
250	0,337	0,318	0,335	77,764	70,913	77,043	75,240
125	0,355	0,358	0,343	84,255	85,336	79,928	83,173

a. Konsentrasi 8000 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,228-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 38,461$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,270-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 53,606$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,273-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 54,687$$

b. Konsentrasi 4000 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,247-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 45,312$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,256-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 48,558$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,260-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 50$$

c. Konsentrasi 2000 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,256-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 48,558$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,268-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 52,885$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,245-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 44,591$$

d. Konsentrasi 1000 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,342-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 79,567$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,322-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 72,356$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,329-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 74,880$$

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

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,305-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 66,226$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,314-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 69,471$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,327-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 74,159$$

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

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,337-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 77,764$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,318-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 70,913$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,335-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 77,043$$

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

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,355-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 84,255$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,358-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 85,336$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,343-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 79,928$$



## Replikasi 1

		Confidence Limits					
		95% Confidence Limits for Konsentrasi			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>b</sup>		
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>	0.01	4.747E6	275744.248	2.412E10	6.676	5.441	10.382
	0.02	2.002E6	154391.433	4.249E9	6.301	5.189	9.628
	0.03	1.158E6	106774.021	1.413E9	6.064	5.028	9.150
	0.04	7.668E5	80864.912	6.174E8	5.885	4.908	8.791
	0.05	5.484E5	64476.867	3.150E8	5.739	4.809	8.498
	0.06	4.123E5	53155.172	1.777E8	5.615	4.726	8.250
	0.07	3.211E5	44863.675	1.076E8	5.507	4.652	8.032
	0.08	2.567E5	38533.507	6.870E7	5.409	4.586	7.837
	0.09	2.094E5	33547.538	4.568E7	5.321	4.526	7.660
	0.1	1.736E5	29523.689	3.139E7	5.239	4.470	7.497
	0.15	79864.965	17345.699	6653712.519	4.902	4.239	6.823
	0.2	43094.963	11314.265	1948207.594	4.634	4.054	6.290
	0.25	25384.383	7802.559	682639.588	4.405	3.892	5.834
	0.3	15781.392	5554.642	267816.466	4.198	3.745	5.428
	0.35	10159.333	4022.051	113433.753	4.007	3.604	5.055
	0.4	6688.968	2928.062	50761.545	3.825	3.467	4.706
	0.45	4464.264	2118.315	23706.859	3.650	3.326	4.375
	0.5	2998.643	1500.391	11504.855	3.477	3.176	4.061
	0.55	2014.187	1017.657	5830.489	3.304	3.008	3.766
	0.6	1344.282	640.004	3132.370	3.128	2.806	3.496
	0.65	885.084	360.337	1812.475	2.947	2.557	3.258
	0.7	569.776	178.122	1124.504	2.756	2.251	3.051
	0.75	354.228	76.966	726.845	2.549	1.886	2.861
	0.8	208.652	28.645	471.908	2.319	1.457	2.674
	0.85	112.588	8.723	295.972	2.051	.941	2.471
	0.9	51.806	1.900	169.240	1.714	.279	2.229
	0.91	42.949	1.311	148.275	1.633	.118	2.171
	0.92	35.035	.876	128.542	1.544	-.058	2.109
	0.93	28.005	.561	109.958	1.447	-.251	2.041
	0.94	21.808	.341	92.445	1.339	-.467	1.966
	0.95	16.395	.193	75.924	1.215	-.714	1.880
	0.96	11.726	.099	60.312	1.069	-1.005	1.780
	0.97	7.766	.043	45.505	.890	-1.362	1.658
	0.98	4.491	.014	31.347	.652	-1.839	1.496
	0.99	1.894	.003	17.472	.277	-2.591	1.242

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) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>						
0.01	1.750E8	1989561.961	5.166E15	8.243	6.299	15.713
0.02	5.189E7	921125.975	2.687E14	7.715	5.964	14.429
0.03	2.399E7	564739.693	4.122E13	7.380	5.752	13.615
0.04	1.343E7	390690.372	1.006E13	7.128	5.592	13.003
0.05	8.376E6	289423.450	3.197E12	6.923	5.462	12.505
0.06	5.605E6	224137.401	1.205E12	6.749	5.351	12.081
0.07	3.941E6	179090.533	5.123E11	6.596	5.253	11.710
0.08	2.875E6	146465.664	2.383E11	6.459	5.166	11.377
0.09	2.158E6	121961.873	1.188E11	6.334	5.086	11.075
0.1	1.657E6	103028.158	6.260E10	6.219	5.013	10.797
0.15	5.553E5	51122.487	4.424E9	5.745	4.709	9.646
0.2	2.329E5	29182.705	5.405E8	5.367	4.465	8.733
0.25	1.105E5	17966.562	8.939E7	5.043	4.254	7.951
0.3	56589.641	11564.490	1.785E7	4.753	4.063	7.252
0.35	30432.823	7637.719	4037872.884	4.483	3.883	6.606
0.4	16893.242	5103.842	994871.638	4.228	3.708	5.998
0.45	9558.478	3404.529	260380.346	3.980	3.532	5.416
0.5	5457.400	2227.055	71441.924	3.737	3.348	4.854
0.55	3115.895	1384.417	20626.993	3.494	3.141	4.314
0.6	1763.025	764.984	6517.059	3.246	2.884	3.814
0.65	978.654	332.649	2467.547	2.991	2.522	3.392
0.7	526.301	104.410	1174.544	2.721	2.019	3.070
0.75	269.473	24.531	642.541	2.431	1.390	2.808
0.8	127.875	4.415	363.536	2.107	.645	2.561
0.85	53.634	.566	197.656	1.729	-.247	2.296
0.9	17.974	.041	95.074	1.255	-1.384	1.978
0.91	13.803	.022	79.918	1.140	-1.660	1.903
0.92	10.361	.011	66.238	1.015	-1.961	1.821
0.93	7.558	.005	53.934	.878	-2.291	1.732
0.94	5.314	.002	42.914	.725	-2.661	1.633
0.95	3.556	.001	33.100	.551	-3.083	1.520
0.96	2.218	.000	24.424	.346	-3.579	1.388
0.97	1.241	.000	16.830	.094	-4.190	1.226
0.98	.574	.000	10.276	-.241	-5.002	1.012
0.99	.170	.000	4.735	-.769	-6.284	.675

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) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup> 0.01	1.590E8	976932.619	5.791E22	8.201	5.990	22.763
0.02	4.785E7	486510.794	5.906E20	7.680	5.687	20.771
0.03	2.234E7	312347.686	3.222E19	7.349	5.495	19.508
0.04	1.259E7	223682.422	3.616E18	7.100	5.350	18.558
0.05	7.902E6	170413.820	6.104E17	6.898	5.232	17.786
0.06	5.314E6	135149.756	1.343E17	6.725	5.131	17.128
0.07	3.752E6	110256.558	3.563E16	6.574	5.042	16.552
0.08	2.748E6	91860.750	1.086E16	6.439	4.963	16.036
0.09	2.070E6	77790.901	3.689E15	6.316	4.891	15.567
0.1	1.595E6	66737.434	1.365E15	6.203	4.824	15.135
0.15	5.418E5	35280.817	2.234E13	5.734	4.548	13.349
0.2	2.297E5	21158.929	8.542E11	5.361	4.325	11.932
0.25	1.100E5	13575.528	5.220E10	5.042	4.133	10.718
0.3	56809.687	9055.965	4.269E9	4.754	3.957	9.630
0.35	30787.864	6171.209	4.230E8	4.488	3.790	8.626
0.4	17215.948	4236.945	4.775E7	4.236	3.627	7.679
0.45	9810.338	2888.458	5898993.512	3.992	3.461	6.771
0.5	5640.394	1914.066	779666.330	3.751	3.282	5.892
0.55	3242.910	1181.346	110639.482	3.511	3.072	5.044
0.6	1847.940	609.817	18049.771	3.267	2.785	4.256
0.65	1033.331	205.097	4159.205	3.014	2.312	3.619
0.7	560.011	36.399	1582.579	2.748	1.561	3.199
0.75	289.131	3.849	816.553	2.461	.585	2.912
0.8	138.482	.266	463.037	2.141	-.575	2.666
0.85	58.714	.011	259.365	1.769	-1.963	2.414
0.9	19.946	.000	131.396	1.300	-3.730	2.119
0.91	15.368	.000	111.971	1.187	-4.159	2.049
0.92	11.577	.000	94.226	1.064	-4.626	1.974
0.93	8.478	.000	78.040	.928	-5.139	1.892
0.94	5.987	.000	63.308	.777	-5.713	1.801
0.95	4.026	.000	49.936	.605	-6.368	1.698
0.96	2.526	.000	37.843	.402	-7.138	1.578
0.97	1.424	.000	26.958	.154	-8.086	1.431
0.98	.665	.000	17.213	-.177	-9.347	1.236
0.99	.200	.000	8.519	-.699	-11.335	.930

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

## 6. Doxorubicin

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbansi			% viabilitas sel hidup			Rata-rata
	1	2	3	1	2	3	
200	0,141	0,142	0,133	7,091	7,451	4,207	6,25
100	0,187	0,195	0,193	23,678	26,562	25,841	25,360
50	0,225	0,210	0,209	37,380	31,971	31,610	33,654
25	0,214	0,209	0,207	33,413	31,610	30,890	31,971
12,5	0,211	0,204	0,210	32,332	29,808	31,971	31,370
6,25	0,206	0,207	0,205	30,529	30,890	30,168	30,529
3,12	0,180	0,183	0,193	21,154	22,235	25,841	23,077

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

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,141-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 7,091$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,142-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 7,451$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,133-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 4,207$$

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

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,187-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 23,678$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,195-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 26,562$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,193-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 25,841$$

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

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,225-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 37,380$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,210-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 31,971$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,209-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 31,610$$

d. Konsentrasi 25 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,214-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 33,413$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,209-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 31,610$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,207-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 30,890$$

e. Konsentrasi 12,5 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,211-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 32,332$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,204-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 29,808$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,210-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 31,971$$

f. Konsentrasi 6,25 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,206-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 30,529$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,207-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 30,890$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,205-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 30,168$$

g. Konsentrasi 3,12 ( $\mu\text{g/mL}$ )

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,180-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 21,154$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,183-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 22,235$$

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{0,193-0,121}{0,398-0,121} \times 100 \% = 25,841$$



## Replikasi 1

Confidence Limits						
Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>						
0.01	4.587E11	.	.	11.662	.	.
0.02	1.813E10	.	.	10.258	.	.
0.03	2.334E9	.	.	9.368	.	.
0.04	4.994E8	.	.	8.698	.	.
0.05	1.425E8	.	.	8.154	.	.
0.06	4.898E7	.	.	7.690	.	.
0.07	1.921E7	.	.	7.283	.	.
0.08	8.307E6	.	.	6.919	.	.
0.09	3.876E6	.	.	6.588	.	.
0.1	1.921E6	.	.	6.284	.	.
0.15	1.052E5	.	.	5.022	.	.
0.2	10451.086	.	.	4.019	.	.
0.25	1441.715	.	.	3.159	.	.
0.3	243.399	.	.	2.386	.	.
0.35	46.820	.	.	1.670	.	.
0.4	9.798	.	.	.991	.	.
0.45	2.157	.	.	.334	.	.
0.5	.486	.	.	-.313	.	.
0.55	.110	.	.	-.960	.	.
0.6	.024	.	.	-1.617	.	.
0.65	.005	.	.	-2.296	.	.
0.7	.001	.	.	-3.012	.	.
0.75	.000	.	.	-3.785	.	.
0.8	.000	.	.	-4.645	.	.
0.85	.000	.	.	-5.648	.	.
0.9	.000	.	.	-6.910	.	.
0.91	.000	.	.	-7.214	.	.
0.92	.000	.	.	-7.545	.	.
0.93	.000	.	.	-7.909	.	.
0.94	.000	.	.	-8.316	.	.
0.95	.000	.	.	-8.780	.	.
0.96	.000	.	.	-9.324	.	.
0.97	.000	.	.	-9.994	.	.
0.98	.000	.	.	-10.884	.	.
0.99	.000	.	.	-12.287	.	.

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) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>						
0.01	2.360E11	.	.	11.373	.	.
0.02	9.790E9	.	.	9.991	.	.
0.03	1.300E9	.	.	9.114	.	.
0.04	2.845E8	.	.	8.454	.	.
0.05	8.271E7	.	.	7.918	.	.
0.06	2.890E7	.	.	7.461	.	.
0.07	1.149E7	.	.	7.060	.	.
0.08	5.033E6	.	.	6.702	.	.
0.09	2.375E6	.	.	6.376	.	.
0.1	1.190E6	.	.	6.076	.	.
0.15	68030.101	.	.	4.833	.	.
0.2	6997.619	.	.	3.845	.	.
0.25	994.370	.	.	2.998	.	.
0.3	172.407	.	.	2.237	.	.
0.35	33.992	.	.	1.531	.	.
0.4	7.282	.	.	.862	.	.
0.45	1.640	.	.	.215	.	.
0.5	.378	.	.	-.422	.	.
0.55	.087	.	.	-1.059	.	.
0.6	.020	.	.	-1.707	.	.
0.65	.004	.	.	-2.376	.	.
0.7	.001	.	.	-3.081	.	.
0.75	.000	.	.	-3.842	.	.
0.8	.000	.	.	-4.690	.	.
0.85	.000	.	.	-5.677	.	.
0.9	.000	.	.	-6.920	.	.
0.91	.000	.	.	-7.220	.	.
0.92	.000	.	.	-7.546	.	.
0.93	.000	.	.	-7.905	.	.
0.94	.000	.	.	-8.305	.	.
0.95	.000	.	.	-8.762	.	.
0.96	.000	.	.	-9.299	.	.
0.97	.000	.	.	-9.958	.	.
0.98	.000	.	.	-10.835	.	.
0.99	.000	.	.	-12.218	.	.

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) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>						
0.01	6.091E8	.	.	8.785	.	.
0.02	6.709E7	.	.	7.827	.	.
0.03	1.655E7	.	.	7.219	.	.
0.04	5.775E6	.	.	6.762	.	.
0.05	2.453E6	.	.	6.390	.	.
0.06	1.183E6	.	.	6.073	.	.
0.07	6.244E5	.	.	5.795	.	.
0.08	3.523E5	.	.	5.547	.	.
0.09	2.094E5	.	.	5.321	.	.
0.1	1.297E5	.	.	5.113	.	.
0.15	17839.353	.	.	4.251	.	.
0.2	3687.413	.	.	3.567	.	.
0.25	953.557	.	.	2.979	.	.
0.3	283.052	.	.	2.452	.	.
0.35	91.849	.	.	1.963	.	.
0.4	31.569	.	.	1.499	.	.
0.45	11.234	.	.	1.051	.	.
0.5	4.063	.	.	.609	.	.
0.55	1.470	.	.	.167	.	.
0.6	.523	.	.	-.281	.	.
0.65	.180	.	.	-.745	.	.
0.7	.058	.	.	-1.234	.	.
0.75	.017	.	.	-1.762	.	.
0.8	.004	.	.	-2.349	.	.
0.85	.001	.	.	-3.034	.	.
0.9	.000	.	.	-3.895	.	.
0.91	.000	.	.	-4.103	.	.
0.92	.000	.	.	-4.329	.	.
0.93	.000	.	.	-4.578	.	.
0.94	.000	.	.	-4.855	.	.
0.95	.000	.	.	-5.172	.	.
0.96	.000	.	.	-5.544	.	.
0.97	.000	.	.	-6.001	.	.
0.98	.000	.	.	-6.609	.	.
0.99	.000	.	.	-7.567	.	.

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

### L.5.6 Uji Normalitas

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50 2 weeks	.370	3	.	.787	3	.084
3 weeks	.368	3	.	.791	3	.092
4 weeks	.363	3	.	.802	3	.119
Doxorubicin	.376	3	.	.772	3	.049

a. Lilliefors Significance Correction

### L.5.7 Uji Homogenitas (Levene's Test)

Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8.172	3	8	.008

### L.5.8 Uji *Kruskal-Wallis*

Test Statistics<sup>a,b</sup>

	IC50
Chi-Square	8.231
df	3
Asymp. Sig.	.041

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:  
Kelompok

### L.5.9 Analisis LSD

#### Multiple Comparisons

IC50

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
2 weeks	3 weeks	-3.158342E3*	1.125343E3	.023	-5753.38787	-563.29546
	4 weeks	-1803.395333	1.125343E3	.148	-4398.44154	791.65087
	Doxorubicin	2893.774667*	1.125343E3	.033	298.72846	5488.82087
3 weeks	2 weeks	3158.341667*	1.125343E3	.023	563.29546	5753.38787
	4 weeks	1354.946333	1.125343E3	.263	-1240.09987	3949.99254
	Doxorubicin	6052.116333*	1.125343E3	.001	3457.07013	8647.16254
4 weeks	2 weeks	1803.395333	1.125343E3	.148	-791.65087	4398.44154
	3 weeks	-1354.946333	1.125343E3	.263	-3949.99254	1240.09987
	Doxorubicin	4697.170000*	1.125343E3	.003	2102.12379	7292.21621
Doxorubicin	2 weeks	-2.893775E3*	1.125343E3	.033	-5488.82087	-298.72846
	3 weeks	-6.052116E3*	1.125343E3	.001	-8647.16254	-3457.07013
	4 weeks	-4.697170E3*	1.125343E3	.003	-7292.21621	-2102.12379

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

## Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

### L.6.1 Sampel Buah *Prunus persica* L. Batsch



Umur 2 minggu

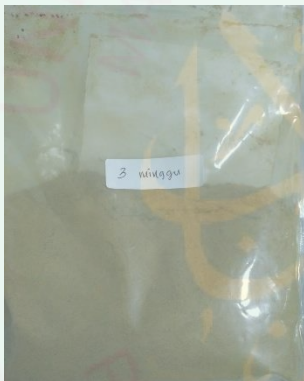


Umur 3 minggu



Umur 4 minggu

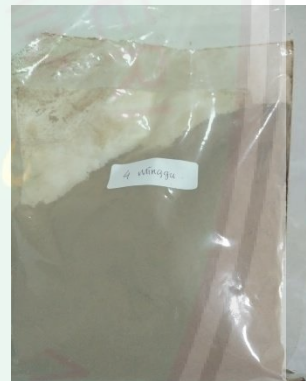
### L.6.2 Simplisia Buah *Prunus persica* L. Batsch



Umur 2 minggu

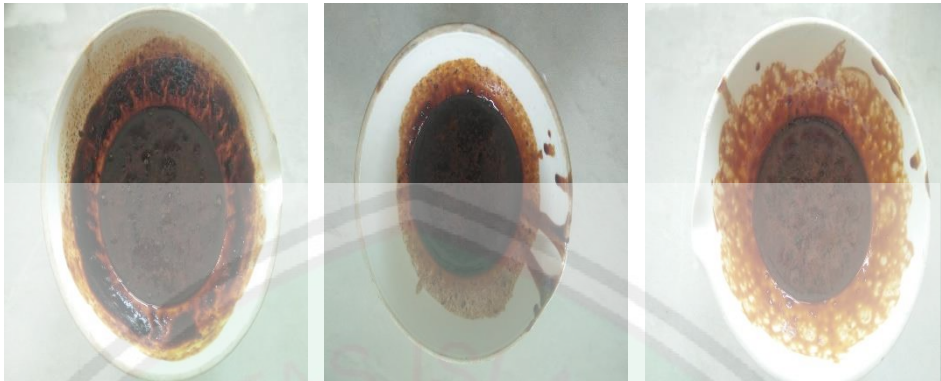


Umur 3 minggu



Umur 4 minggu

### JamL.6.3 Ekstrak Kental Ekstrak Etanol 96% Buah *Prunus persica* L. Batsch



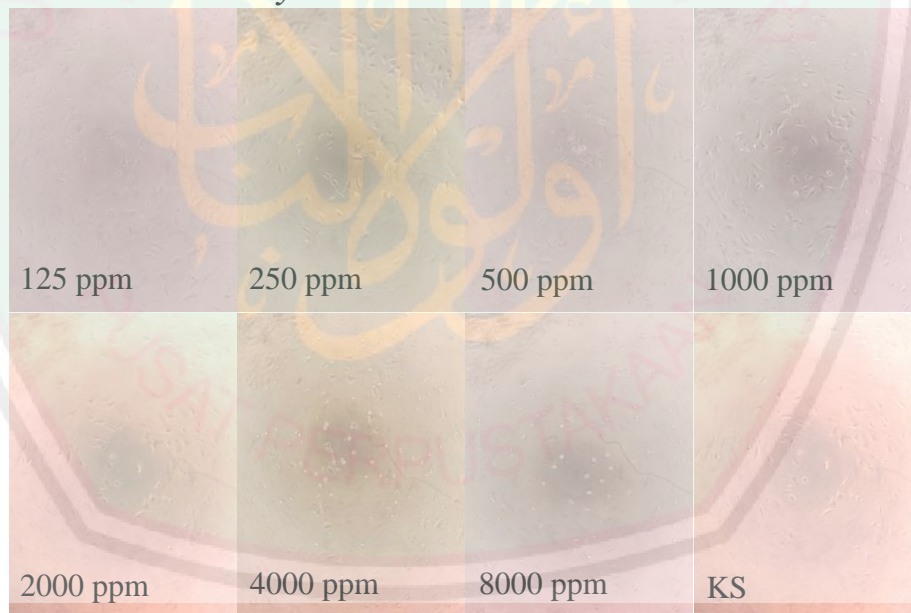
Umur 2 minggu

Umur 3 minggu

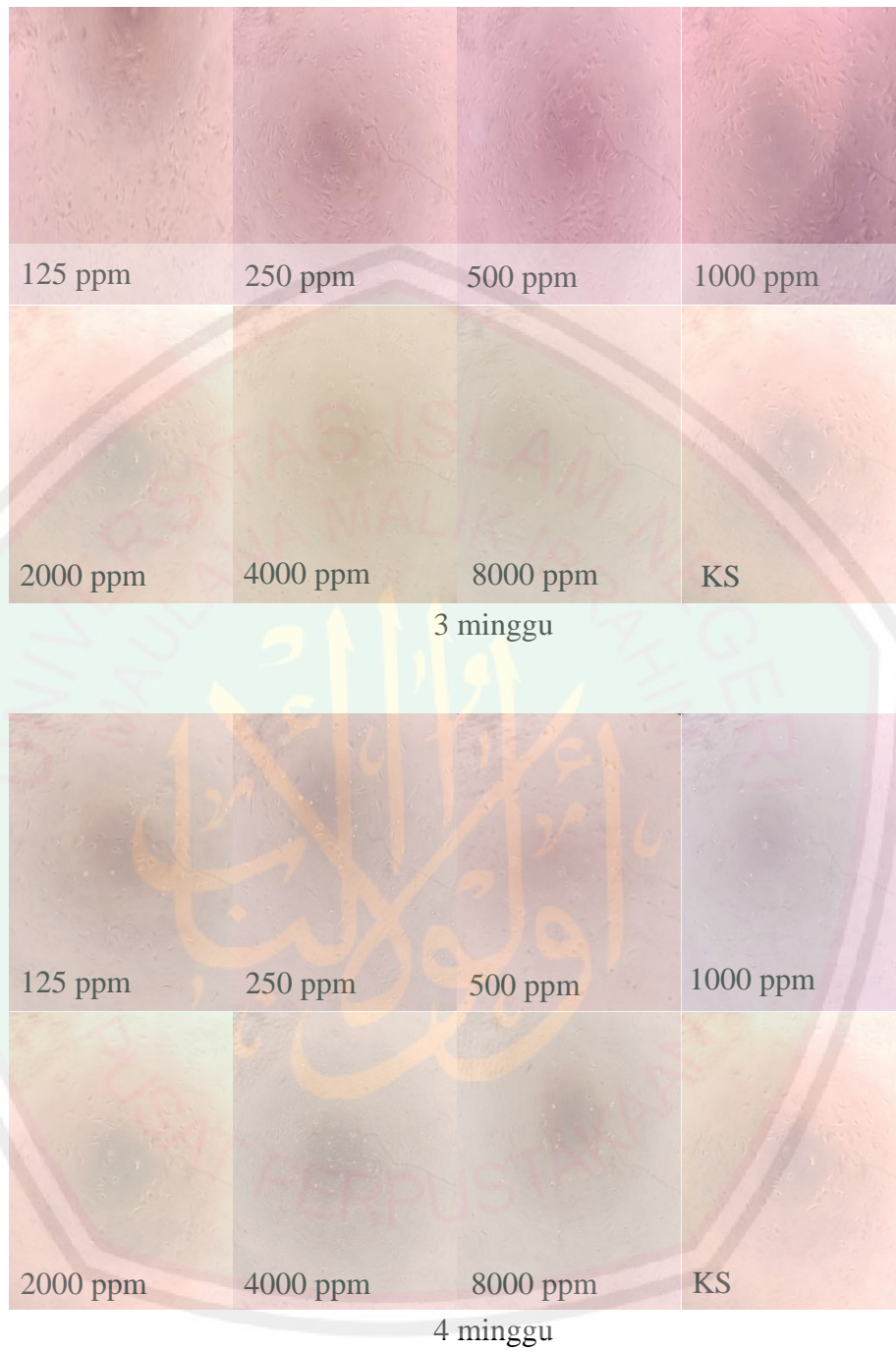
Umur 4 minggu

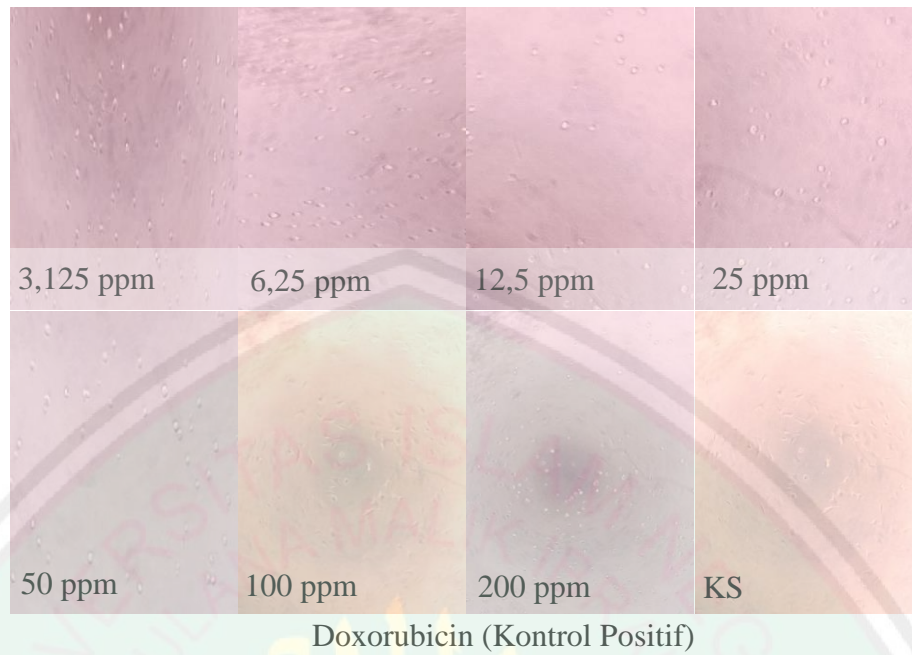
### L.6.4 Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol 96% Buah *Prunus persica* L. Batsch

#### 1. Sebelum MTT Assay

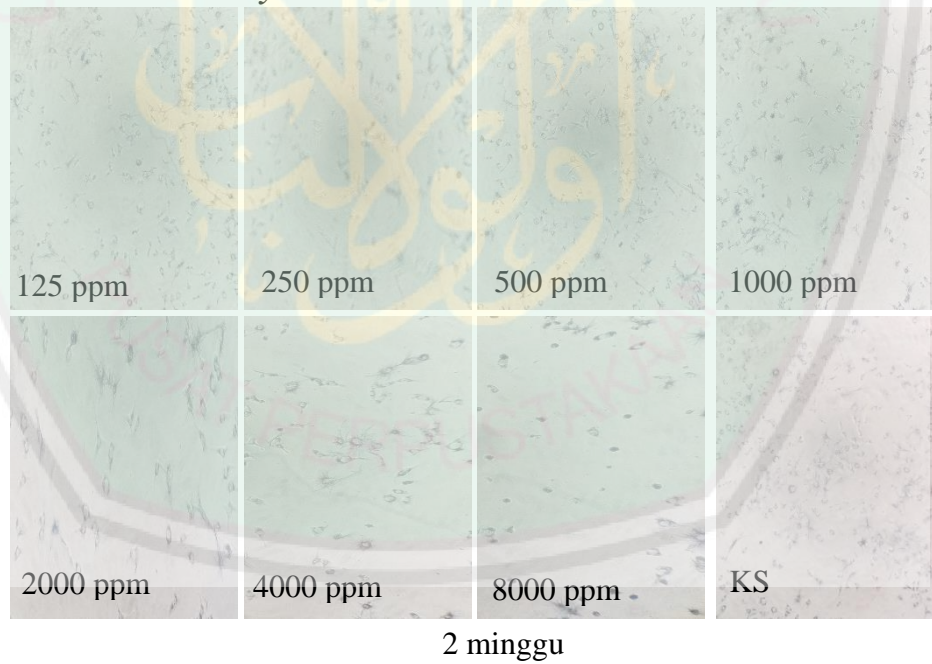


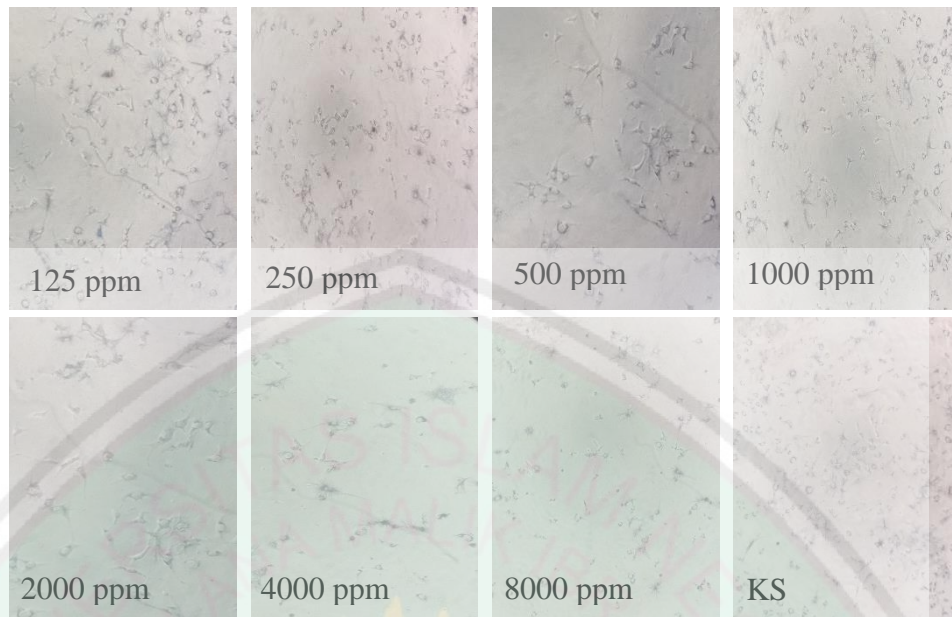
Umur 2 minggu



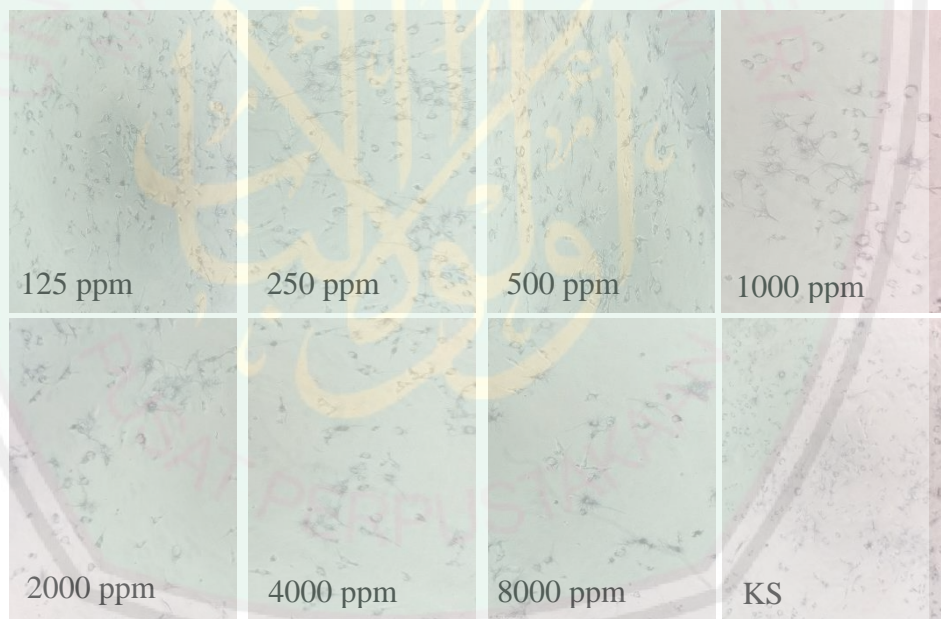


## 2. Setelah MTT Assay

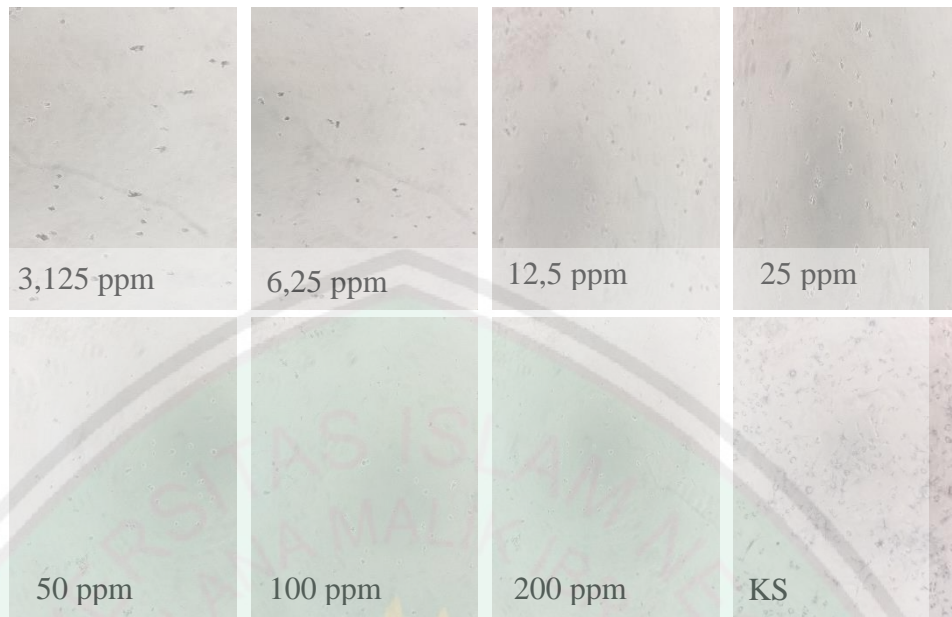




Umur 3 minggu



4 minggu



Doxorubicin

**3. Alat-Alat**



Neraca Analitik

Vortex

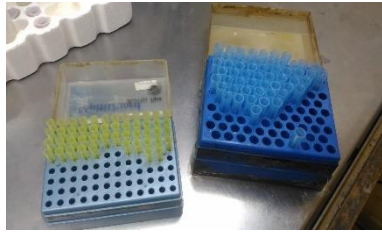
Centrifuge

Mikropipet



Mikroskop

Inkubator



Tap

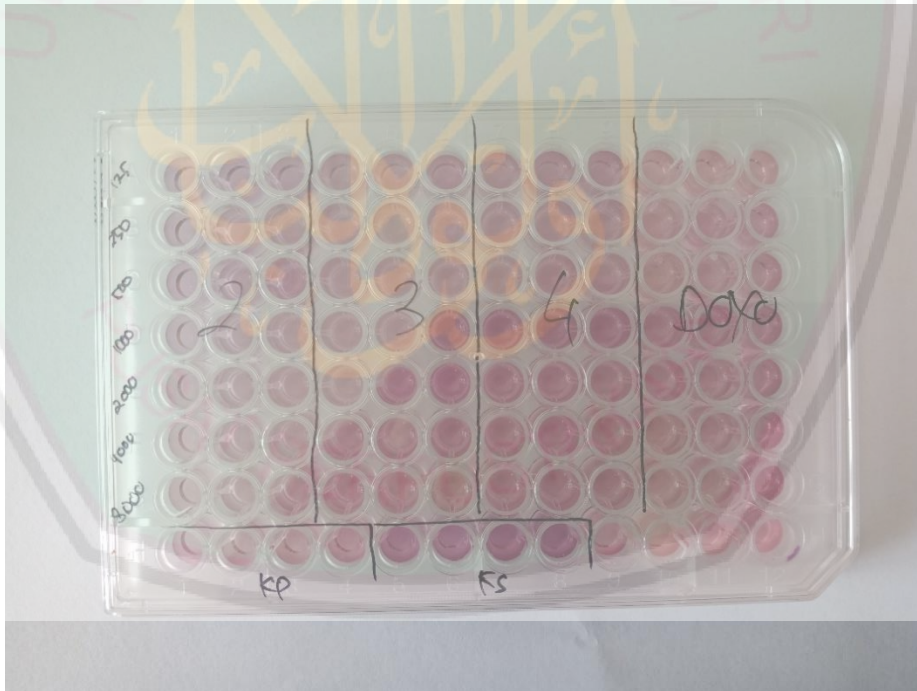


LAF



ELISA Reader

#### 4. *Platting*



## Lampiran 7. 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 Vadiyanto, 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 8. Hasil Pembacaan ELISA Reader

Sel T47D

Raw Data Report  
 Single Wavelength  
 Mes= F3, 595nm  
 Incubation= OFF

	1	2	3	
A	0.363	0.395	0.361	→ 125 bpm
B	0.334	0.336	0.339	→ <del>250</del> 250 ppm
C	0.346	0.342	0.345	→ <del>500</del> 500 ppm
D	0.314	0.339	0.323	→ <del>1000</del> 1000 ppm
E	0.271	0.273	0.281	→ <del>2000</del> 2000 ppm
F	0.215	0.238	0.247	→ 4000 ppm
G	0.210	0.228	0.220	→ 8000 ppm
H	0.180	0.149	0.148	

	4	5	6	
A	0.336	0.349	0.354	
B	0.344	0.337	0.338	
C	0.329	0.345	0.327	
D	0.319	0.312	0.353	
E	0.299	0.306	0.313	
F	0.264	0.276	0.289	
G	0.230	0.221	0.237	
H	0.158	0.349	0.361	B

	7	8	9	
A	0.355	0.358	0.343	
B	0.337	0.318	0.335	
C	0.305	0.314	0.327	
D	0.342	0.322	0.329	
E	0.256	0.268	0.245	
F	0.247	0.256	0.260	
G	0.228	0.270	0.273	
H	0.421	0.426	0.144	


	10	11	12	
A	0.141	0.142	0.133	
B	0.187	0.195	0.193	
C	0.225	0.210	0.209	
D	0.214	0.209	0.207	
E	0.211	0.204	0.210	
F	0.206	0.207	0.205	
G	0.180	0.183	0.193	
H	0.115	0.123	0.126	→ KAM

SPO

**Lampiran 9. Sertifikasi Kursus Kultur Jaringan Sel**



## Lampiran 10. Surat Ijin Penelitian



UNIVERSITAS GADJAH MADA  
 FAKULTAS KEDOKTERAN, KESEHATAN MASYARAKAT, DAN KEPERAWATAN  
**DEPARTEMEN PARASITOLOGI**  
 Gedung Prof. Drs. R. Radiopetro Lt. IV Sayap Timur, Sekip, Yogyakarta 55281  
 Telp. (0274) 546215, Fax. 546215, E-mail : parasitologi.fk@ugm.ac.id

22 Oktober 2019

Nomor : 487 /UN1/KU.3/PRST.2/LT/2019  
 Hal : Ijin Penelitian.

Kepada Yth.  
 MALA MILIYATNA  
 NIM: 15670065  
 Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
 Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim  
 Malang

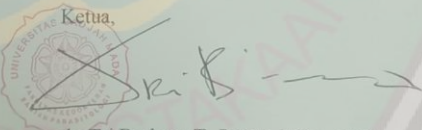
Dengan hormat,  
 Menanggapi surat saudara tertanggal 15 Oktober 2019 tentang ijin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Parasitologi yang berjudul:

“PROFIL AKTIVITAS SITOTOKSIK BERDASARKAN PERBEDAAN UMUR DARI EKSTRAK ETANOL 96% BUAH *Prunus persica* L. Batsch TERHADAP SEL T47D DENGAN METODE MTT Assay”

Kami dapat mengizinkan 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: Suprihatin, SE, MBA.
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. Suprihatin, SE, MBA

### Lampiran 11. 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 : parasitologi.fk@ugm.ac.id

**SURAT KETERANGAN**  
 No. 501/YUNI/KU.3/PRST.2/LT/2019

Yang bertanda tangan di bawah ini,

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

Nama : MALA MILIYATNA  
 NIM. : 15670065  
 Instansi: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
 Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim  
 Malang

Telah melakukan penelitian di Departemen Parasitologi FKMK UGM dengan judul :

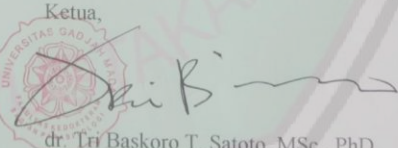
“PROFIL AKTIVITAS SITOTOKSIK BERDASARKAN PERBEDAAN UMUR DARI  
 EKSTRAK ETANOL 96% BUAH *Prunus persica* L. Batsch TERHADAP SEL T47D  
 DENGAN METODE MTT Assay”

Dibawah supervisi laboratorium: Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.  
 Waktu Penelitian: 28 Oktober 2019 sampai dengan 31 Oktober 2019

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, 4 Nopember 2019

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