

AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL 96% BUAH *Prunus persica* (L.) Batsch BERDASARKAN TINGKAT KEMATANGANNYA TERHADAP SEL VERO

SKRIPSI

Oleh :

SRI PATIMAH

NIM. 15670043



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

2021

AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL 97% BUAH *Prunus persica* (L.) Batsch BERDASARKAN TINGKAT KEMATANGANNYA TERHADAP SEL VERO

SKRIPSI

**Oleh:
SRI PATIMAH
NIM. 15670043**

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

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL 96% BUAH *Prunus persica* (L.) Batsch BERDASARKAN TINGKAT KEMATANGANNYA
TERHADAP SEL VERO**

SKRIPSI

Oleh :
SRI PATIMAH
NIM. 15670043

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal : 8 Januari 2020

Pembimbing I

Pembimbing II



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



Dr. apt. Burhan Ma'arif ZA, M.Farm.
NIP. 19900221 201801 1 001

Mengetahui,
Ketua Program studi Farmasi



apt. Irfan Hakim, M.P.I, M. Farm.
NIP. 19761214 200912 1 002

AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL 96% BUAH *Prunus persica* (L.) Batsch BERDASARKAN TINGKAT KEMATANGANNYA TERHADAP SEL VERO

SKRIPSI

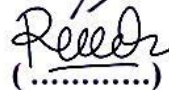
Oleh :
SRI PATIMAH
NIM. 15670043

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal: 8 Januari 2020**

Ketua Penguji : Dr. apt.Burhan Ma'arif ZA, M. Farm.
NIP. 19900221 201801 1 001


(.....)

Sekretaris Penguji : Prof. Dr. apt.Roihatul Muti'ah, M.Kes.
NIP. 19800203 200912 2 003


(.....)

Anggota Penguji : 1. apt.Wirda Anggraini, M. Farm.
NIP. 19930718 20180201 2 205



(.....)

2. apt.Hajar Sugihantoro, M.P.H.
NIP. 19851216 20160801 1 083


(.....)

Mengesahkan,
Ketua Program studi Farmasi




Apt. H. H. Hakim, M.P.I, M. Farm.
NIP. 19761214 200912 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sri Patimah

NIM : 15670043

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian : Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol 96% Buah *Prunus persica* (L.) Batsch Berdasarkan Tingkat Kematangannya Terhadap Sel Vero

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

Malang, 8 Januari 2020
Yang Membuat pernyataan



Sri Patimah

15670043

MOTTO

“SETIAP ORANG ADA MASANYA, SETIAP MASA ADA ORANGNYA”

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'aalamiin

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

Dengan rasa syukur yang mendalam, saya persembahkan tulisan sederhana ini kepada bsaya, keluarga sapak Sutrisno selaku ayah saya, Ibu Sarti selaku ibu saya, Kakak Sri Rahyu saya, Abang Agus Santoso, Keponakan saya tercinta Miftahul Sholehah dan semua keluarga yang telah mendukung saya selama ini. Berikutnya kepada Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M. Kes., Apt selaku dosen pembimbing I, Bapak Burhan Ma'arif ZA., M.Farm., selaku dosen pembimbing II, Ibu Wirda Anggraini, M. Farm., Apt, selaku dosen penguji, Bapak Hajar Suguhantoro, M.P.H, Apt selaku dosen pembimbing Agama., dan tak lupa kepada Pak Yuwono, S.Sos., selaku Admin Jurusan yang telah banyak membantu. Tak lupa kepada papa Weka yang telah memberikan arahan dan juga motivasi sejak awal penelitian. Selain itu, kepada semua teman-teman saya, Kaka Choi, Amee, Mak Wen, Ihda, Mbak Nyda, Mama Cimol, Antum, yang selalu membantu, mensupport, dan menemani. Terakhir tulisan ini saya persembahkan untuk diri saya sendiri, terima kasih kepada Titim telah berusaha, telah bertahan, jangan lupa untuk selalu bersyukur dan bahagia. ☺

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol *Prunus persica* (L.) Batsch Terhadap Sel Vero Berdasarkan Tingkat Kematangannya”** ini dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa tecurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang benar, yaitu jalan yang diridhai Allah SWT.

Penulis sadar bahwa proposal skripsi ini tidak akan terwujud tanpa bantuan, pengarahan, dan motivasi dari berbagai pihak. Untuk itu, dengan segala kerendahan hati penulis menyampaikan ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya, serta penghargaan yang tak terhingga kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Bapak Prof. Dr. dr. Yuyun Yuniewati PW, M.Kes., Sp.Rad (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu apt. Abdul Hakim, M.P.I, M. Farm. selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, bimbingan, dan motivasi kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

5. Bapak Dr. apt. Burhan Ma'arif ZA., M.Farm. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, bimbingan, dan motivasi kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
6. Ibu apt. Wirda Anggraini., M.Farm. selaku penguji utama pada ujian skripsi ini.
7. Bapak apt. Hajar Sugihantoro, M.P.H. selaku penguji agama pada ujian skripsi ini.
8. Ayah, Ibu, serta sanak keluarga yang selalu memberikan dukungan, nasihat, dan doa kepada penulis.
9. Semua rekan-rekan farmasi yang selalu memberikan motivasi kepada penulis.
10. Serta semua pihak secara langsung maupun tidak langsung telah ikut memberikan bantuan dan motivasi selama penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari adanya kekurangan dan keterbatasan dalam penulisan proposal skripsi ini. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi penyempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga proposal skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, 8 Januari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERYATAAN.....	v
MOTTO.....	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN DAN SIMBOL.....	xv
ABSTRAK.....	xvii
ABSTRACK.....	xviii
صلىٰتسسم نجللا.....	xix
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
1.5 Batasan Masalah.....	8
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Etnofarmasi.....	9
2.2 <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch.....	11
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	11
2.2.2 Kandungan dan Manfaat.....	12
2.3 Tingkat Kematangan.....	13
2.4 Ekstraksi.....	14
2.5 Kanker Payudara.....	18
2.5.1 Prevalensi Kanker Payudara.....	18
2.5.2 Patofisiologi Kanker Payudara.....	19
2.5.3 Mekanisme Kanker Payudara.....	20
2.5.4 Tatalaksana Kanker Payudara.....	24
2.6 Sel Vero.....	25
2.7 MTT <i>assay</i>	26
2.8 ELISA <i>reader</i>	28
BAB III. KERANGKA KONSEPTUAL	
3.1 Kerangka Konseptual.....	30
3.1.1 Bagan Kerangka Konseptual.....	30
3.1.2 Uraian Kerangka Konseptual.....	31
3.2 Hipotesis Penelitian.....	32
BAB IV. METODE PENELITIAN	
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	33
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	33
4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	33
4.3.1 Variabel Penelitian.....	33

4.3.2 Definisi Operasional.....	34
4.4 Alat dan Bahan Penelitian.....	35
4.4.1 Alat.....	35
4.4.2 Bahan.....	35
4.5 Prosedur Penelitian.....	35
4.5.1 Preparasi Sampel.....	37
4.5.2 Analisis Kadar Air Serbuk <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch.....	37
4.5.3 Ekstraksi Serbuk Buah <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch.....	38
4.5.4 Uji Sitotoksik dengan Metode MTT.....	38
4.6 Analisis Data.....	42
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Determinasi Tanaman.....	43
5.2 Preparasi Sampel.....	44
5.3 Analisis Kadar Air Serbuk Buah <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch.....	47
5.4 Ekstraksi Serbuk Buah <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch.....	47
5.5 Uji Sitotoksik dengan MTT <i>assay</i>	50
5.5.1 Peenyiapan Sel.....	50
5.5.2 Perhitungan Sel.....	53
5.5.3 Peletakan Sel Pada Plate.....	54
5.5.4 Pemberian Larutan MTT.....	57
5.5.5 Perhitungan LC ₅₀ dan Statistik Data.....	58
5.6 Pemanfaatan <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch dalam Al-Quran.....	65
BAB VI. PENUTUP	
6.1 Kesimpulan.....	68
6.2 Saran.....	68
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN	78

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah <i>P. persica</i>	12
Gambar 2.2 Mekanisme Metastatis Kanker Payudara.....	23
Gambar 2.3 Metabolisasi MTT Menjadi Garam Formazan.....	27
Gambar 4.1 Alur Rencana Penelitian.....	36
Gambar 5.1 Sampel Buah <i>P. persica</i>	46
Gambar 5.2 Serbuk Simplisia Buah <i>P. persica</i>	47
Gambar 5.3 Ekstrak Etanol 96% Buah <i>P. persica</i>	50
Gambar 5.4 Morfologi Sel Vero Setelah Perlakuan.....	56
Gambar 5.5 Grafik % Viabilitas Sel Hidup	59
Gambar 5.6 Hasil analisa data LSD dari LC_{50} sel vero pada ekstrak etanol 96% buah <i>P.persica</i>	63

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 <i>Well-plate Mapping</i> Uji Toksisitas Ekstrak Etanol <i>P. persica</i>	40
Tabel 5.1 Perbedaan Morfologi Buah <i>P. persica</i>	45
Tabel 5.2 Hasil Penentuan Kadar Air Buah <i>P. persica</i>	48
Tabel 5.3 Hasil Rendemen Ekstraksi Buah <i>P. persica</i>	50
Tabel 5.4 Tabel Konversi Absorbansi Menjadi % Viabilitas Sel Hidup	59
Tabel 5.5 Nilai LC ₅₀ Sel Vero Pemberian Ekstrak Etanol <i>P. persica</i>	60
Tabel 5.6 Hasil Uji Normalitas.....	62
Tabel 5.7 Hasil Uji Homogenitas	62
Tabel 5.8 Hasil ANOVA- <i>OneWay</i>	63

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi

Lampiran 2. Perhitungan Rendemen Ekstrak Buah *P. persica*

Lampiran 3. Penentuan Kadar Air dengan *Moisture Content Analysis*

Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian Ekstraksi dan Uji Sitotoksik

Lampiran 5. Perhitungan Bahan Uji Aktivitas Sitotoksik Metode MTT *assay*

Lampiran 6. Perhitungan Viabilitas Sel

Lampiran 7. Analisis Data SPSS

Lampiran 8. Dokumen Penelitian

DAFTAR SINGKATAN DAN SIMBOL

°	=	Derajat
>	=	Lebih dari
<	=	Kurang dari
≤	=	Kurang dari sama dengan
G	=	Gram
Nm	=	Nanometer
C	=	Celcius
Cm	=	Sentimeter
Rf	=	Faktor retensi
µg	=	Mikrogram
µl	=	Mikroliter
ml	=	Mililiter
b/v	=	Bobot/Volume
M199	=	Medium 199
PBS	=	<i>Phosphate Buffer Saline</i>
MTT	=	((3-(4,5dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid)
kHz	=	Kilohertz
mHz	=	Megahertz
KLT	=	Kromatografi Lapis Tipis
TLC	=	<i>Thin Layer Chromatrography</i>
CCRC	=	Cancer Chenoprevention Research Center
HCl	=	<i>Hidroclorid Acid</i>
SDS	=	<i>Sodium deodesil Sulfate</i>
ELISA	=	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
SPSS	=	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
LC ₅₀	=	<i>Lethal Concentration</i>
IC ₅₀	=	<i>Inhibit Concentration</i>
ANOVA	=	<i>Analysis of variance</i>
LSD	=	<i>Least Significance Difference</i>
DNA	=	<i>Deoxyribonucleic acid</i>

IV	=	<i>Intravena</i>
FBS	=	<i>Fetal Bovine Serum</i>
DMSO	=	<i>Dimethyl Sulfoksida</i>
WHO	=	<i>World Health Organization</i>

ABSTRAK

Patimah, Sri. 2020. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol 96% Buah *Prunus persica* (L.) Batsch Berdasarkan Tingkat Kematangannya Terhadap Sel Vero. Skripsi. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes.; Pembimbing II: Dr. apt. Burhan Ma'arif ZA, M.Farm.

Buah *Prunus persica* (L.) Batsch digunakan sebagai anti diare bagi masyarakat Suku Tengger, aktivitas farmakologi ini dikarenakan kandungan yang terkandung didalam buah *Prunus persica* (L.) Batsch. Salah satu kandungannya adalah flavonoid, yang kadarnya dipengaruhi tingkat kematangan buah. Flavonoid memiliki aktivitas sebagai anti kanker. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui perbedaan aktivitas sitotoksik ektstrak etanol 96% buah *Prunus perisca* (L.) Batsch pada tingkat kematangan 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu terhadap sel vero. Pemilihan tingkat kematangan buah dilihat dari perbedaan tampilan morfologi buah. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dan *Ultrasonic Assisted Extraction* menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10 (b/v). Aktivitas sitotoksik terhadap sel vero dari ekstrak dilakukan dengan metode MTT *assay* yang akan membentuk kristal formazan berwarna ungu. Kristal formazan yang terbentuk dilihat absorbansinya dengan menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 595 nm. Dihitung nilai LC_{50} menggunakan SPSS berdasarkan data absorbansi yang didapatkan. Nilai LC_{50} pada buah 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu berturut-turut sebagai berikut; 23.916,67 $\mu\text{g/ml}$ 7.559,621 $\mu\text{g/ml}$, dan 38.660,65 $\mu\text{g/ml}$. Terdapat perbedaan bermakna antara buah 3 minggu dan 4 minggu, sementara buah 2 minggu tidak memiliki perbedaan bermakna dengan buah 3 minggu dan 4 minggu.

Kata kunci: *ELISA-reader*, Lc_{50} , MTT *assay*, *Prunus persica* (L.) Batsch, Sel Vero.

ABSTRACT

Patimah, Sri. 2020. Cytotoxic Activity of 96% Ethanol Extract *Prunus persica* (L.) Batsch Based on its Maturity Level Against Vero Cells. Thesis. Department of Pharmacy Faculty of Medicine and Health Sciences Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Advisor I: Prof. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M. Kes.; Advisor II: apt. Burhan Ma'arif ZA, M.Farm.

Prunus persica (L.) Batsch is a plant used as an antidiarrheal for the Tengger Tribe, this pharmacological activity is due to the content of compounds present in the fruit of *Prunus persica* (L.) Batsch. One of the compounds contained in it is a flavonoid, which content are influenced by maturity level. Flavonoid acted as an anticancer activity. The aim of this research was to determine differences in the cytotoxic activity of 96% ethanol extract *Prunus persica* (L.) Batsch at maturity level in 2 weeks, 3 weeks and 4 weeks on vero cells. The selection of fruit maturity level is seen from the differences in the morphological appearance of the fruit. The extraction was done by maceration method and Ultrasonic Assisted Extraction using 96% ethanol solvent with a ratio of 1:10 (w / v). Cytotoxic activity against vero cells from extracts was carried out by the MTT method assay which would form purple formazan crystals. Formazan crystals formed absorbance seen by using an ELISA reader at a wavelength of 595 nm. LC50 values were calculated using SPSS based on absorbance data obtained. LC50 values in fruit 2 weeks, 3 weeks, and 4 weeks respectively as follows; 23.916,67 ppm 7.559,621 ppm and 38.660,65 ppm. There was a significant difference between fruit 3 weeks and 4 weeks, while fruit 2 weeks had no significant difference with fruit 3 weeks and 4 weeks.

Keywords: ELISA-reader , Lc₅₀ , MTT assay, *Prunus persica* (L.) Batsch, , Vero cells.

مستخلص البحث

فاطمة , سري . 2020. النشاط السام للخلايا من مستخلص الكاحول 96 بالمئة لفاكهة البرقوق أو الخوج على مستوى النضج باعتبار خلية فيرو. البحث الجامعي. قسم علم الصيدالية كلية الطبية والصحية جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانق. المشرفة الأولى : دكتور رائحة متيعة, الماجستير (علم الصحية)
المشرف الثاني : دكتور برهان معارف زي, الماجستير (علم الصيدالية).

تستخدم فاكهة البرقوق أو الخوج كأحد مضادات الإسهال في دائرة تنجير، ويرجع هذا النشاط الدوائي إلى محتوى المركبات الموجودة في فاكهة البرقوق أو الخوج من أحد المركبات الموجودة فيه هو الفلافونويد، والذي يتحمل أن يكون مضاد للسرطان. كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد الاختلافات في نشاط السمية الخلوية لمستخلص الإيثانول 96 % من البرقوق أو الخوج. الخفافيش على مستوى النضج من 2 أسابيع, 3 أسابيع, و 4 أسابيع ضد خلايا فير. وينظر إلى اختيار مستوى نضج الفاكهة من الاختلافات في المظهر المورفولوجي للثمرات. تم الاستخراج باستخدام طريقة التمييع والاستخراج بالموجات فوق الصوتية بمساعدة 96% من مذيب الإيثانول بنسبة 1:10 (وزن / حجم). وكمل تأدية نشاط سام للخلايا ضد خلايا فيرو من المستخلصات بواسطة طريقة الفحص يسمى *MTT assay* والتي ستشكل بلورات فورزان أرجوانية. شكلت بلورات فورزان الامتصاصية المرئية باستخدام *ELISA reader* بطول موجة 595 نانومتر. وكمل حساب قيم LC50 باستخدام SPSS بناء على بيانات الامتصاصية التي تم الحصول عليها. قيم LC50 في الفاكهة 2 أسابيع, 3 أسابيع, و 4 أسابيع على التوالي على النحو التالي: 23916,67 جزء في المليون 79.662 جزء في المليون و 38660.85 جزء في المليون. هناك فرق كبير بين الفاكهة 3 أسابيع و 4 أسابيع, في حين أن الفاكهة 2 أسابيع لا يوجد فرق كبير مع الفاكهة 3 أسابيع و 4 أسابيع.

الكلمة الأساسية: البرقوق أو الخوج, *MTT essay*, *ELISA reader*, LC50, خلية فيرو.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker adalah pertumbuhan sel abnormal yang cenderung menyerang jaringan di sekitarnya dan menyebar ke organ tubuh lain karena proliferasi sel yang tidak terkontrol (Sari *et al.*, 2012). Di dunia, kanker menjadi penyebab utama kematian di negara berkembang, termasuk Indonesia (Torre *et al.*, 2015). Kanker juga menjadi penyebab utama kematian nomor dua setelah kardiovaskuler dan diperkirakan insiden kanker pada 2030 mencapai 26 juta dan 17 juta diantaranya meninggal dunia (Wiskuarini *et al.*, 2018). *World Health Organization* (WHO) dan Bank Dunia memperkirakan setiap tahunnya 12 juta orang di seluruh dunia menderita kanker dan 7,6 juta diantaranya meninggal dunia (Prastiwi, 2012). Jenis kanker yang banyak diderita dan ditakuti oleh perempuan adalah kanker payudara (Mulyani, 2013).

Kanker payudara terjadi karena keganasan pada sel-sel yang terdapat pada jaringan payudara, bisa berasal dari komponen kelenjarnya (epitel saluran ataupun lobulusnya) maupun komponen selain kelenjar seperti jaringan lemak, pembuluh darah, dan persyarafan jaringan payudara (Sari *et al.*, 2012). Tahun 2013 angka kejadian kanker payudara di Amerika Serikat sebanyak 232.340, dimana 39.620 wanita dan 310 pria, diantaranya meninggal dunia (Fita *et al.*, 2015). Di Indonesia kanker payudara merupakan penyakit kanker tertinggi kedua setelah kanker serviks sebanyak 61.682 penderita, dengan kecenderungan akan meningkat setiap tahunnya (Sari *et al.*, 2012).

Insiden kanker yang terus meningkat memicu perkembangan pengobatan untuk antikanker, antara lain pembedahan, kemoterapi, radioterapi, terapi dengan hormon atau dengan terapi antibodi monoklonal (Smith *et al.*, 2006). Namun demikian, masing-masing pengobatan memiliki kelemahan sehingga pengobatan antikanker hingga saat ini belum memuaskan (Wijaya and Muchtaridi, 2017). Terapi dengan pembedahan umumnya tidak efektif lagi untuk sel yang telah menyebar (metastatis) (Septananda, 2011). Terapi kanker dengan kemoterapi salah satunya menggunakan (CAF) cyclophosphamide, doxorubisin, dan 5-Fluorouracil, penggunaan doxorubisin cenderung memicu efek samping toksik pada jaringan normal serta resistensi sel kanker (Xu *et al.*, 2014). Radioterapi dapat menyebabkan luka bakar, meninggalkan bekas luka dan merusak sel, jaringan, maupun organ sehat lainnya (Sudewo, 2012). Idealnya pengobatan antikanker ialah memiliki toksisitas selektif, dimana dapat menghancurkan sel kanker tanpa merusak sel jaringan normal (Kurnijasanti *et al.*, 2008).

Kriteria ideal dari obat antikanker berdasarkan pengobatan yang ada sejauh ini masih belum sesuai. Efek samping yang tinggi dan juga harga yang cenderung mahal membuat sulit untuk dijangkau masyarakat (Kurnijasanti *et al.*, 2008). Sehingga perlu dikembangkan obat baru, yang mengobati kanker dengan minimal efek samping dan harga yang terjangkau. Akhir-akhir ini minat penggunaan obat tradisional sebagai antikanker meningkat, hal ini dikarenakan biaya yang relatif murah, lebih mudah di dapatkan, memiliki efek samping yang relatif kecil dan dapat diramu sendiri (Mangan, 2003). Meskipun terlihat lebih mudah namun dalam pembuatan obat tradisional harus memenuhi kualitas kontrol

yang meliputi efikasi, kualitas dan keamanan (Indrayanto, 2018). Alternatif menggunakan obat tradisional sebagai antikanker didukung dengan tingginya keanekaragaman hayati yang ada di Indonesia (Falah, 2016).

Indonesia memiliki biodiversitas yang tinggi, tidak hanya keanekaragaman tanamannya, namun juga keanekaragaman suku dengan pengetahuan pengobatan tradisionalnya (Windadri *et al.*, 2006; Liina *et al.*, 2017). Pemanfaatan tumbuhan sebagai obat-obatan telah berlangsung ribuan tahun lalu, tetapi penggunaannya belum terdokumentasikan dengan baik (Hidayat, 2012). Kurangnya dokumentasi dan peningkatan modernisasi akibat kebudayaan dari luar akan menyulitkan pelestarian dan melunturkan pengetahuan lokal dari masyarakat suku itu sendiri (Ningsih, 2016). Dilakukan pendekatan etnofarmasi sebagai upaya dalam mengetahui khasiat suatu tumbuhan berdasarkan pengetahuan masyarakat terkait pengobatan tradisional secara turun temurun (Pieroni *et al.*, 2002).

Berdasarkan etnofarmasi yang telah dilakukan oleh Hidayat *et al.* (2011), pada Suku Tengger di Kecamatan Seduro, Kabupaten Lumajang, Desa Argosari telah terinventarisasi 12 jenis tanaman obat yang direkomendasikan untuk dilakukan uji bioaktivitas atau etnofarmakologi lebih lanjut. Salah satunya ialah buah muda Jambu Wer (*Prunus persica* (L.) Batsch), yang merupakan tanaman khas di kecamatan Poncokusumo, Kabupaten Malang. Menurut kepercayaan masyarakat Suku Tengger buah *P. persica* muda memiliki khasiat sebagai obat diare, meningkatkan nafsu makan, disentri, meningkatkan daya tahan tubuh dan juga pengobatan-pengobatan lainnya (Batoro *et al.*, (2012). Berdasarkan dari

kehasiatan yang ada, dimungkinkan masih ada kehasiatan-kehasiatan lain yang masih belum diketahui. Sebagaimana firman Allah dalam QS An-Nahl : 11

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

Artinya :” Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir.”

Menurut Tafsir al-Misbah QS An-Nahl (16): 11 menyatakan bahwa air yang diturunkan dari langit itu dapat menumbuhkan tanaman-tanaman yang menghasilkan biji-bijian, zaitun, kurma, dan sejenis buah-buahan lainnya. Sesungguhnya di dalam penciptaan hal-hal di atas terdapat tanda bagi kaum yang mempergunakan akal mereka dan selalu memikirkan kekuasaan pencipta-Nya. Manusia diharapkan mencari tahu sendiri pemanfaatan dari tiap-tiap tanaman. Termasuk pula buah *P. persica* yang memiliki kehasiatan bagi manusia yang memikirkan terkait kehasiatannya.

Senyawa yang terkandung dalam *P. persica* diantaranya flavonoid, antosianin, alkaloid, saponin, phlobatanin, prunasin, dan kaempferol (Lee *et al.*, 2008; Abidi *et al.*, 2011; Edrah *et al.*, 2013; Bhagawan, 2017). Salah satu kehasiatan potensi dari penggunaan flavonoid ialah menurunkan risiko antikanker, studi *in vitro* flavonoid dapat melawan sel kanker, salah satunya kanker payudara, dengan

mekanisme yang dimungkinkan menghambat karsinogenesis dalam tahap *initiation, promotion, dan progression* sel (Ren *et al.*, 2003).

Penelitian yang telah dilakukan, beberapa flavonoid seperti quercetin, luteolin, daidzein dan genistein menunjukkan memiliki aktivitas antikanker terhadap kanker payudara (Chahar *et al.*, 2011). Namun saat ini masih minim penelitian terkait keamanannya terhadap sel normal, karena idealnya antikanker menghancurkan sel kanker tanpa merusak sel normal (Kurnijasanti *et al.*, 2008). Salah satu cara menguji tingkat keamanan terhadap sel normal menggunakan *microculture tetrazolium salt (MTT) assay*, yang mengukur sel yang hidup setelah pengobatan melalui nilai absorbansi dari intensitas warna yang didapatkan (Meerlo *et al.*, 2011).

Flavonoid dan metabolit sekunder lainnya dalam buah dipengaruhi tingkat kematangan buah. Perbedaan umur buah muda akan mempengaruhi metabolit sekundernya yang disebabkan oleh ekspresi gen dan aktivitas enzim di dalam buah yang berbeda (Zhang, 2011). Perbedaan kandungan ini dapat dilihat dari tampilan warna buah, kandungan flavonoid pada buah yang berwarna semakin merah maka kandungan flavonoidnya semakin meningkat pula (Hua *et al.*, 2018).

Berdasarkan uraian di atas, penelitian dilakukan penelitian aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol 96% buah *persica* (L.) Batsch terhadap sel normal (sel vero) secara *in vitro*. Ekstrak didapatkan dari proses ekstraksi dengan metode maserasi dan *Ultrasound Assited Extraction* menggunakan pelarut etanol 96% yang merupakan pelarut universal, dapat melarutkan senyawa polar, semipolar, dan non polar. Penggunaan sel vero direkomendasikan sebagai sel model dalam

mempelajari karsinogenesis secara *in vitro*, sel vero merupakan sel *non tumorigenic* yang sensitif (Goncalves *et al.*, 2006).

Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode MTT *assay* karena relatif lebih cepat, sensitif, akurat, dan banyak sampel dapat diuji (Marbawati, 2015). Prinsip MTT dengan mengukur aktivitas kemampuan mitokondria dalam mereduksi garam MTT, dengan melihat absorbansi dari intensitas warna ungu pada panjang gelombang 595 nm. Semakin (Meerlo *et al.*, 2011). Semakin tinggi nilai absorbansi yang diperoleh mengindikasikan mortalitas yang rendah (Chueahongthong *et al.*, 2011).

Tingkat kematangan buah yang berbeda berefek terhadap kandungan senyawa dan aktivitasnya, pada buah *P. persica* 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu dari perbungaan memiliki perbedaan kandungan flavonoid yang membuat perbedaan aktivitas sitotoksiknya terhadap sel vero. Penelitian ini diharapkan dapat membuktikan bahwa ekstrak etanol buah *P. persica* aman bagi sel normal, saat digunakan sebagai terapi antikanker payudara. Selain itu juga informasi terkait buah pada tingkat kematangan berapakah yang memiliki aktivitas sitotoksik minimal sebagai terapi antikanker payudara tanpa merusak sel normal, sehingga dapat dijadikan obat tradisional yang bermutu dengan memenuhi kualitas kontrol.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan dari penelitian ini yaitu

1. Apakah ada aktivitas sitotoksik ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* (L.) Batsch terhadap sel vero.

2. Apakah ada perbedaan aktivitas sitotoksik buah *Prunus persica* (L.) Batsch berdasarkan tingkat kematangannya terhadap sel vero.

1.3 Tujuan penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, tujuan dari penelitian ini yaitu

3. Untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* (L.) Batsch terhadap sel vero.
4. Untuk mengetahui perbedaan aktivitas sitotoksik buah *Prunus persica* (L.) Batsch berdasarkan tingkat kematangannya terhadap sel vero.

1.4 Manfaat penelitian

Manfaat dari penelitian ini terbagi menjadi dua, yaitu manfaat secara teoritis dan manfaat secara praktis.

1.4.1 Manfaat Teoritis

Secara teoritis, hasil penelitian diharapkan dapat dijadikan referensi perkembangan pengobatan antikanker payudara yang tidak merusak sel normal dari buah *Prunus persica* (L.) Batsch.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah nilai aktivitas sitotoksik terhadap sel normal dari buah *P. persica* berdasarkan tingkat kematangannya, lebih lanjut dapat dapat dijadikan referensi untuk mendapatkan produk fitofarmaka antikanker yang memiliki keamanan yang dapat dipertanggungjawabkan.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. Sampel yang digunakan adalah buah *Prunus persica* (L.) Batsch yang diambil pada tingkat kematangan 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu setelah perbungaan.
2. Ekstraksi dengan metode maserasi dan ultrasonik menggunakan pelarut etanol 96%.
3. Uji sitotoksik secara *in vitro* terhadap *cell line* yaitu sel vero yang dilakukan dengan menggunakan metode MTT *assay*.
4. Penelitian dilakukan untuk mengetahui perbedaan aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol 96% buah *P. persica* berdasarkan tingkat kematangannya menggunakan *One-way ANOVA* bila data parametrik.
5. Aktivitas sitotoksik ekstral etanol 96% buah *P. persica* ditunjukkan dengan nilai LC_{50} yang diukur dengan menggunakan *Probit Analysis*.
6. Penelitian ini membahas tentang sampel pada tingkat kematangan manakah yang memiliki aktivitas sitotoksik paling rendah terhadap sel normal.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Etnofarmasi

Indonesia memiliki lebih dari 500 entri atau lema dalam kategori sosial budaya. Lema-lema itu sendiri bervariasi dalam kategori suku bangsa, sub suku bangsa, kelompok sosial masyarakat yang khas, komunitas masyarakat yang mendiami suatu pulau dan lain lain (Melalatoa, 1995). Biodiversitas inilah yang membuat Indonesia menjadi nomor 2 tertinggi biodiversitas setelah Brazil. Ratusan suku yang ada memiliki sistem pengobatan tradisional yang khas (Moelyono, 2014).

Setiap suku memiliki pengetahuan lokal serta tradisional dalam memanfaatkan tumbuhan obat, mulai dari spesies tumbuhan, bagian yang digunakan, cara pengobatan, sampai penyakit yang dapat disembuhkan dimana memiliki kespesifikkan dari tiap suku sesuai dengan kondisi lingkungan dari tempat tinggal masing masing suku (Muktiningsih, 2001). Namun kurangnya dokumentasi dan juga tingkat modernisasi akibat kebudayaan dari luar menyulitkan pelestarian dan melunturkan pengetahuan local dari masyarakat suku itu sendiri (Ningsih, 2016).

Langkah awal yang membantu untuk mengetahui suatu tumbuhan berkhasiat obat adalah dari pengetahuan masyarakat tradisional secara turun temurun (Dharma, 2001). Salah satu upaya pendekatan yang bisa dilakukan untuk mengetahui khasiat suatu tumbuhan berdasarkan pengetahuan masyarakat terkait pengobatan tradisional secara turun temurun dengan metode etnofarmasi.

Etnofarmasi ialah ilmu terdisiplin yang mempelajari tentang bahan-bahan obat, dalam kaitannya dengan penggunaan bahan-bahan obat tersebut sebagai penciri budaya dalam suatu kelompok masyarakat (Pieroni *et al.*, 2002). Etnofarmasi merupakan sebuah kajian multidisipliner yang melibatkan berbagai bidang keilmuan seperti farmakognosi, farmakologi, farmasetika, penghantaran obat, toksikologi, bioavailabilitas dan metabolomik, farmasi klinik, etnobotani, etnozooologi, etnofarmakologi, dan antropologi medis (Heinrich, 2008; Moelyono, 2014).

Etnofarmasi mempelajari hubungan antara kebudayaan suatu kelompok yang dilihat berdasarkan dari sisi farmasinya. Beberapa penelitian etnofarmasi yang telah dilakukan diantaranya oleh Windadri *et al.*, (2006), pada suku Muna di Desa Wantulas, Meleui, Irigasi, dan Labuan Belanda, Kecamatan Wakarumba Utara, oleh Indrayaningsih *et al.*, (2015), pada suku Buton di Desa Kampokampo, Langongga, Jaya Makmur, One-one dan Maokoro.

Penelitian etnofarmasi pada suku Tengger di Kecamatan Senduro, Kabupaten Lumajang, khususnya di Desa Argosari dan Ranupani (Hidayat *et al.*, (2011), dan di Kecamatan Poncokusumo, Kabupaten Malang (Batoro, 2012), Dimana hasil studi dari suku Tengger telah terinventarisasi 12 jenis tanaman obat yang direkomendasikan untuk dilakukan uji bioktivitas atau etnofarmakologi lebih lanjut, salah satunya tumbuhan *Prunus persica* (L.) Batsch, yang buah mudanya memiliki khasiat sebagai obat disentri, diare, penambah nafsu makan, meningkatkan daya tahan tubuh dan juga pengobatan-pengobatan lainnya.

2.2 *Prunus persica* (L.) Batsch

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Klasifikasi tumbuhan *Prunus persica* (L.) Batsch berdasarkan surat keterangan identifikasi No. 1865/IPH.6/HM/XI/2016 kepala UPT Balai Konversi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi yaitu sebagai berikut:

Genus : *Prunus*

Species : *Prunus persica* (L.) Batsch

Divisio : *Magnoliophyta*

Class : *Magnoliopsida*

Subclass : *Rosidae*

Ordo : *Rosales*

Family : *Rosaceae*

Tanaman *P. persica* termasuk dalam tipe pohon gugur dengan tinggi antara 5 m sampai 10 m. banyak dibudidayakan di Asia Barat, Eropa, Himalaya dan juga India. Tanaman ini dapat tumbuh hingga pada ketinggian mencapai 1000 kaki. Berdasarkan dari keluarga Rosaceae ada sekitar 3000 spesies dengan 100 marga. Untuk marga *Prunus* diantaranya tanaman Persik, Aprikot, Nectarin, Plum, Cherry dan lain-lain. *P. persica* dalam masyarakat Suku Tengger dikenal dengan nama Jambu Wer (Hidayat *et al.*, 2011).



Gambar 2.1. Buah *P. persica* (Bhagawan, 2017).

2.2.2 Kandungan dan Manfaat

Kandungan senyawa kimia dari tanaman *Prunus Persica* (L.) Batsch menurut Lee *et al.*, (2008), diantaranya termasuk glikosida sianogenik seperti amygladin dan prunasin, gula; seperti sorbitol dan sukrosa, gliserida, sterol, emulsion, dan banyak antioksidan seperti kaemferol, quercetin, prunetin, asam askorbat, asam sitrat, α -dan γ -tokoferol, dan β -karoten. Kandungan yang ada dalam buah *P. persica* menurut Abidi *et al.*, (2011), vitamin, mineral, antosianin, flavonoid dan juga vitamin C. Dari setiap 100 g berat buah terkandung 2,1 hingga 7,2 mg Vitamin C, 22,5 hingga 49,2 mg total fenolik, 1,2 hingga 9,5 antosianin, dan juga 5,9 hingga 33,8 mg flavonoid. Dimana flavonoid memiliki total kandungan lebih banyak dari komponen yang lainnya, bahkan nilainya mendekati total fenolik yang ada.

Buah muda *P. persica* berdasarkan hasil penelitian Hidayat (2011), menunjukkan bahwa mengandung alkaloid dan juga flavonoid. Hasil penelitian

Edrah *et al.*, (2013), daun *P. Persica* memiliki kandungan kimia *saponin*, *phlobatanin* dan *flavonoid*. Selain itu juga ekstrak kulit batang *P. persica* memiliki aktivitaas terhadap antibakteri seperti bakteri *E. Coli* dan *S. Aureus* (Aziz and Rahman,2012).

Biji dari tanaman *P. persica* menurut penelitian Lee *et al.*, (2008), memiliki aktivitas sebagai hematopoietik, antimutagenik, antiinflamasi, antioksidan, dan antitumor. Sementara dalam etnofarmasi oleh masyarakat suku tengger, buah muda *P. persica* memiliki aktivitas sebagai antidiare, obat disentri, penambah nafsu makan, meningkatkan daya tahan tubuh dan juga pengobatan-pengobatan lainnya (Hidayat *et al.*, 2011; Batoro *et al.*, 2017). Berdasarkan penelitian yang dilakukan, kemungkinan efek antitumor yang ditimbulkan karena kandungan senyawa flavonoid. Flavonoid sendiri menurut Chahar *et al.*, (2010), aktivitasnya memiliki potensi sebagai antikanker.

2.3 Tingkat Kematangan

Kandungan senyawa yang terdapat dalam suatu bahan menentukan aktivitas bioaktif yang dihasilkan, selain itu juga tergantung dari egologi/agroklimat tempat tumbuhnya. Perbedaan komponen kimia penyusun dipengaruhi beberapa faktor seperti varietas, keadaan iklim tempat tumbuh, pemeliharaan tanaman, cara panen, tingkat kematangan, waktu panen, dan kondisi penyimpanan (Ahmadi *et al.*, 2011). Buah merupakan hasil perkembangan bakal biji buah (*ovary*) yang di dalamnya terdapat biji. Secara umum buah mentah dikenal dengan karakteristik

berwarna hijau, tekstur keras, rasa masam dan tidak berasa sama sekali seperti tepung yang tawar, aromanya sedikit atau tanpa aroma (Abidin, 1991).

Selama pematangan, buah mengalami beberapa perubahan nyata dalam warna, tekstur, dan bau. Hal ini menunjukkan terjadinya perubahan-perubahan dalam komponen penyusunnya (Ahmadi *et al.*, 2011). Pelunakan pada buah matang karena adanya hidrolisis polisakarida pada dinding sel, termasuk terhidrolisnya protopektin menjadi pectin yang larut sehingga daya rekat antar sel berkurang dan buah menjadi lunak (Fitriningrum *et al.*, 2013).

Pada proses pemasakan buah, metabolit sekunder menghasilkan perubahan warna, teksturnya dan rasa buah. Metabolit sekunder relevan dengan warna, rasa, atau kekhasan jaringan, perubahan perkembangan buah ini berkaitan erat dengan kandungan metabolit sekunder (Tohge *et al.*, 2014). Tingkat kematangan buah akan mempengaruhi metabolit sekunder disebabkan oleh ekspresi gen dan aktivitas enzim yang ada di dalam buah (Zhang *et al.*, 2011). Beberapa penelitian menunjukkan terjadi perubahan kandungan dari tingkat kematangan buah, seperti glukosa, polifenol, antosianin, vitamin C, dan juga flavonoid. Menurut Hua *et al.*, (2018), perubahan warna pada bahan/buah mempengaruhi kadar flavonoid yang terkandung. Umumnya flavonoid banyak ditemui pada buah/bahan yang berwarna merah ataupun ungu.

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Dalam

mengekstraksi bahan alam, terdapat beberapa metode yang menggunakan pelarut organik atau pelarut mengandung air yang dapat diterapkan (Depkes, 2000). Tujuan ekstraksi yaitu untuk mendapatkan atau memisahkan komponen-komponen senyawa yang terdapat di dalam simplisia yang dapat dijadikan sebagai bahan untuk membuat obat-obatan (Syamsuni, 2006). Ekstrak sendiri adalah sediaan kering, kental, atau cair dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung (Depkes, 1979). Beberapa metode yang banyak digunakan untuk ekstraksi bahan alam antara lain (Depkes, 2000):

1. Cara Dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (suhu kamar). Prosedurnya dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup. Pengadukan sesekali ataupun konstan dapat meningkatkan kecepatan ekstraksi. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai keseimbangan antara konsentrasi metabolit dalam ekstrak dan dalam bahan tanaman (Depkes, 2000).

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana, mudah melakukannya dan tidak perlu pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai (Susanty and Bachmid, 2016). Dasar dari maserasi ialah melarutnya bahan kandungan simplisia sel yang rusak, yang terbentuk pada saat penghalusan, ekstraksi bahan kandungan dari sel yang masih

utuh. Selesai waktu dari maserasi, adalah saat terjadinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi dan pada bagian sel yang masuk ke dalam cairan telah tercapai, maka proses difusi segera berakhir. Pengocokan berulang membantu pencapaian keseimbangan lebih cepat. Pada saat keadaan diam dalam maserasi akan menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengekstraksi, maka akan semakin banyak hasil yang diperoleh (Voigh, 1994).

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses mengekstraksi senyawa terlarut dari jaringan selular simplisia dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Perkolasi cukup sesuai, baik untuk ekstraksi pendahuluan maupun dalam jumlah besar (Depkes, 2000).

2. Cara Panas

a. Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes, 2000).

b. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk ekstraksi sempurna.

Kekurangan yang utama dari metode ini adalah terdegradasinya komponen yang tidak tahan panas (Depkes, 2000).

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar) yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50 °C (Depkes, 2000).

d. Infusa

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperature penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih), temperatur terukur (96°-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes, 1979).

e. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dengan temperatur sampai titik didih air (Depkes, 2000).

f. *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE)

Ultrasonik adalah salah satu bentuk dari energi yang dihasilkan dari gelombang suara dengan frekuensi diatas deteksi telinga manusia, yaitu antara 20kHz - 50mHz (Maria, 2008). Ekstraksi ultrasonik menimbulkan efek kavitasi yang memecah dinding sel bahan sehingga senyawa aktif keluar dengan mudah dan didapatkan hasil ekstrak yang maksimal dengan proses ekstraksi yang lebih singkat (Kuldikole, 2002). Akibat dari gangguan fisik pada dinding sel ataupun membran sel biologis dan juga penurunan ukuran partikel, sehingga berefek pada penetrasi pelarut yang lebih baik terhadap material sel yang pada akhirnya akan

meningkatkan laju perpindahan masa pada jaringan serta memfasilitasi perpindahan senyawa aktif dari sel ke pelarut (Novak *et al.*, 2008).

Ekstraksi menggunakan ultrasonik merupakan metode yang paling optimal untuk mengekstraksi suatu bahan, karena menghasilkan kandungan yang tinggi dalam waktu yang relatif singkat (Rahmawati *et al.*, 2013). Ekstraksi ultrasonik dapat mempercepat langkah preparasi, seperti pelarutan, *fusi* dan *leaching*. Hal ini karena efek dari gelombang ultrasonik yang membentuk *local high temperature* dan gerakan mekanik antarmuka zat padat dan zat cair, sehingga mempercepat laju perpindahan massanya (Pourhossein *et al.*, 2009).

2.5 Kanker Payudara

2.5.1 Prevalensi Kanker Payudara

Kanker payudara adalah pertumbuhan sel yang abnormal pada jaringan payudara seseorang. Payudara wanita terdiri dari lobulus (kelenjar susu), duktus (saluran susu), lemak dan jaringan ikat, pembuluh darah dan *limfe*. Sebagian besar kanker payudara bermula pada sel-sel yang melapisi duktus (kanker duktal), beberapa bermula di lobulus (kanker lobular) serta sebagian kecil bermula di jaringan lain (Novianti and Purnami, 2012). Kanker payudara disebut juga dengan *carcinoma mammae* yaitu merupakan tumor ganas yang tumbuh dalam jaringan payudara. Tumor ini dapat tumbuh dalam kelenjar jaringan susu maupun pada jaringan ikat payudara. Meskipun tidak tumbuh dengan cepat tapi sangat berbahaya (National Cancer Institute, 2009; Suryaningsih, 2009).

Kanker payudara merupakan penyakit degeneratif yang paling sering terjadi pada wanita di negara maju dan merupakan 29% dari seluruh kanker yang didiagnosis setiap tahunnya. Penderita kanker payudara mencapai 40 per 100.000 perempuan di dunia. Angka kejadian kanker payudara di Amerika Serikat pada tahun 2013 sebanyak 232.340, dimana 39.620 wanita dan 410 pria di antaranya meninggal dunia. Menurut data terbaru, di Eropa tercatat 421.000 kasus baru dan hampir 90.000 jiwa melayang akibat kanker payudara (Sari *et al.*, 2012; Fita *et al.*, 2015).

Kanker payudara di Indonesia menjadi insiden tertinggi ke dua setelah kanker serviks dengan kecenderungan meningkat tiap tahunnya. Data yang dipublikasikan oleh WHO menyatakan bahwa pada tahun 2011 kematian akibat kanker payudara di Indonesia mencapai 20.052 atau 1,4% dari total kematian. Jumlah penderita kanker payudara di Indonesia sekitar 200 juta populasi atau 23.140 kasus baru tiap tahunnya (Sari *et al.*, 2012; Fita *et al.*, 2015).

2.5.2 Patofisiologis Kanker Payudara

Kanker payudara yang invasif disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel epitel payudara yang berlebih dan tidak terkendali (Stopeck., 2015). Mula-mula terjadi hiperplasia sel-sel dengan perkembangan sel-sel atipik. Sel-sel ini akan berlanjut menjadi karsinoma *in situ* dan menginvasi stroma. Proliferasi sel yang berlebih ini dapat disebabkan oleh mutasi gen, tidak aktifnya gen supresor tumor, gangguan apoptosis, dan gangguan perbaikan DNA sehingga terjadi aktivasi onkogen yang pada akhirnya menjadi sel kanker yang invasif. Selain itu, reseptor estrogen dan

progesteron yang berada di inti sel yang terdapat pada beberapa kanker payudara dapat mendorong replikasi DNA, pembelahan sel dan pertumbuhan sel kanker ketika hormon yang sesuai berikatan pada reseptor tersebut (Kosir, 2013). Pertumbuhan sel ini dapat muncul pertama kali di duktus maupun lobulus payudara yang kemudian menyebar ke jaringan sekitar melalui infiltrasi, invasi, dan penetrasi progresif. Sel kanker dapat menyebar melalui aliran *limfe* dan sirkulasi darah yang mengakibatkan metastasis ke organ tubuh lain. Metastasis sel kanker bisa ke viseral seperti paru, hati, otak dan non viseral seperti tulang dan jaringan lunak (Sjamsuhidaat, 2010).

2.5.3 Mekanisme Kanker Payudara

Mekanisme pembentukan neoplasma atau tumor ganas disebut dengan karsinogenesis. Karsinogenesis merupakan suatu proses multi-tahap. Proses karsinogenesis melalui beberapa tahap, yaitu dimulai dari inisiasi, promosi, progresi, sampai terjadi invasive dan metastasis. Sel dikendalikan pula oleh mekanisme kematian sel terprogram (apoptosis), yaitu bertujuan menyingkirkan sel-sel yang sudah tidak dikehendaki. Proses transformasi sel normal menjadi sel ganas melalui displasi terjadi melalui mekanisme yang sangat rumit, tetapi secara umum mekanisme karsinogenesis ini terjadi melalui empat tahap (Campbell *et al.*, 2007; Muliarta *et al.*, 2011) yaitu:

1. Tahap Inisiasi

Tahap inisiasi merupakan tahap pertama karsinogenesis yang bersifat *irreversible*, dimana gen pada sel normal bertransformasi menjadi malignan. DNA

dirusak oleh zat-zat inisiator seperti radiasi dan radikal bebas dapat mengganggu proses reparasi normal, sehingga terjadi mutasi DNA dengan kelainan pada kromosomnya. Kerusakan DNA ini diturunkan pada anak-anak sel dan seterusnya. Tahap inisiasi berlangsung dalam satu sampai beberapa hari (Campbell *et al.*, 2007).

2. Tahap Promosi

Pada proses proliferasi sel terjadi pengulangan siklus sel tanpa hambatan dan secara *continue* terus mengulang. Diteruskan dengan proses metastasis dimana penyebab utama dari kenaikan morbiditas dan mortalitas pada pasien dengan keganasan. Dalam berlangsungnya proses ini melibatkan interaksi kompleks, tidak hanya ditentukan oleh jenis sel kanker itu sendiri, namun matriks ekstraseluler, membran basal, reseptor endotel serta respon kekebalan *host* yang berpartisipasi. Mekanisme metastasis merupakan indikasi bahwa mekanisme pertahanan pasien kanker gagal untuk mengatasi dan memblokir penyebaran sel kanker. Setelah itu terjadi lagi proses *neoangiogenesis* (Campbell *et al.*, 2007).

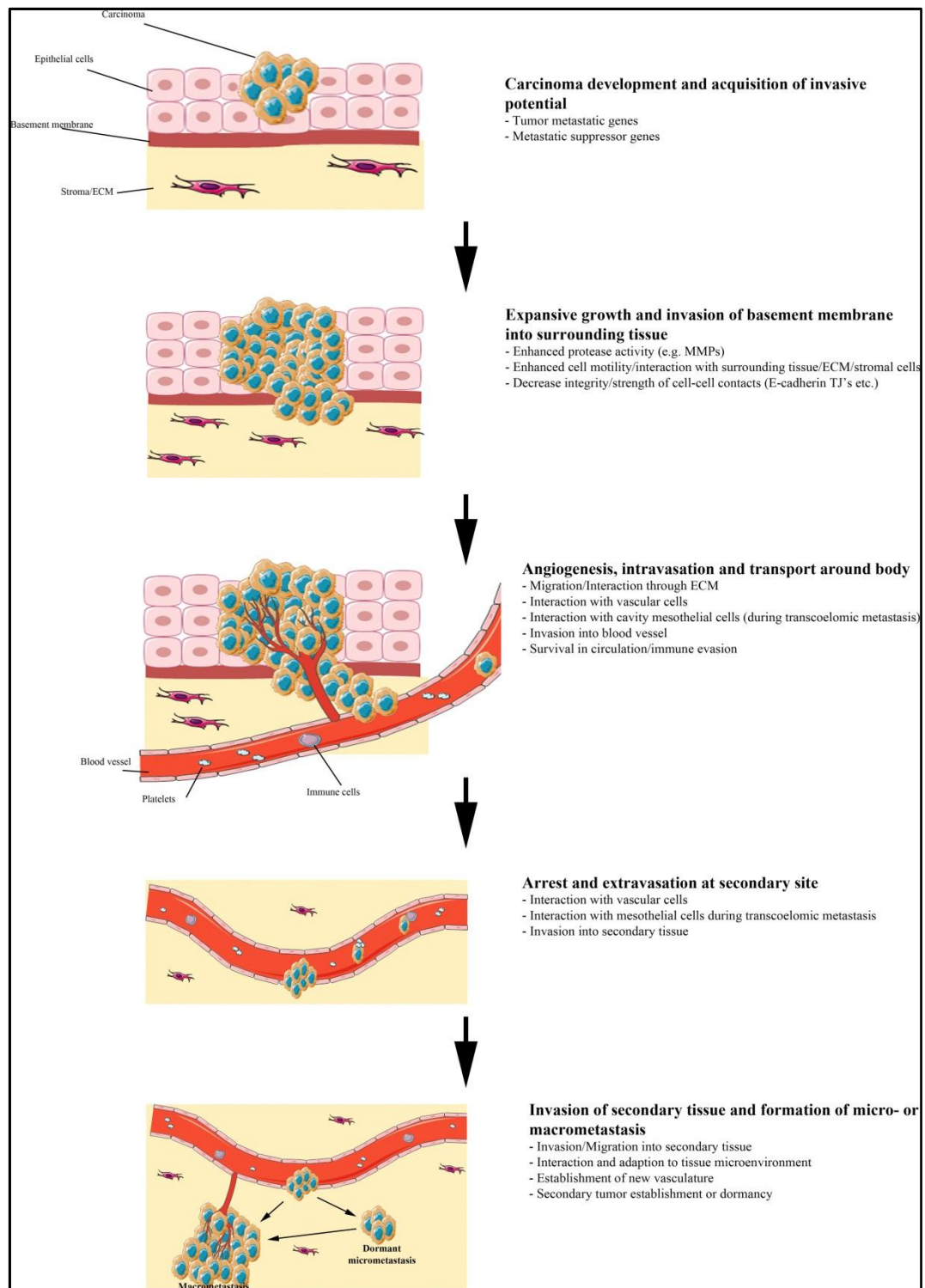
3. Tahap angiogenesis

Tahap angiogenesis adalah proses pembentukan pembuluh darah baru yang terjadi secara normal dan sangat penting dalam proses pertumbuhan dan perkembangan. Angiogenesis juga terlibat dalam proses penyembuhan, seperti pembentukan jaringan baru setelah cedera. Angiogenesis juga merupakan tahap yang sangat penting dalam karsinogenesis atau pertumbuhan sel kanker sehingga terjadi perkembangan sel kanker yang tidak terkendali dan bersifat ganas (Campbell *et al.*, 2007).

Angiogenesis dapat berkembang menjadi sesuatu yang bersifat patologis dan berhubungan dengan kanker, inflamasi, penyakit kulit dan penyakit mata. Kondisi patologi angiogenesis ini diawali oleh pembentukan pembuluh darah baru dan penghancuran sel normal yang ada di sekitarnya. Berbeda dengan angiogenesis fisiologis, angiogenesis patologi ini dapat berlangsung lama sampai beberapa tahun dan biasanya berhubungan dengan beberapa gejala klinis (Campbell *et al.*, 2007).

4. Tahap Progresif

Pada tahap progresif gen-gen pertumbuhan yang diaktivasi oleh kerusakan DNA mengakibatkan mitosis dipercepat dan pertumbuhan liar dari sel-sel ganas. Terjadi aktivasi, mutasi atau hilangnya gen. Pada tahap progresi ini timbul perubahan benigna menjadi pra-malignan dan malignan. Metastasis kanker terjadi akibat penyebaran sel kanker utama dan terjadi pembentukan tumor di tempat baru yang jauh dari sel kanker utama. Pada awalnya kanker primer harus memiliki akses ke sirkulasi, baik melalui pembuluh darah maupun sistem limfatik, setelah sel kanker mampu menembus saluran tersebut, sel kanker harus mampu bertahan hidup dan pada akhirnya sel kanker tersebut akan menyebar ke organ dan membentuk jaringan baru. Selanjutnya sel kanker harus bisa memulai pertumbuhan jaringan baru dengan membentuk vaskularisasi baru untuk suplai oksigen dan nutrisi (Brunicardi *et al.*, 2010).



Gambar 2.2 Mekanisme metastatis kanker payudara (Jiang *et al.*, 2015).

2.5.4 Talaksana Kanker Payudara

Terapi pada kanker payudara sangat ditentukan luasnya penyakit atau stadium dan ekspresi dari agen biomolekuler atau biomolekuler-signaling. Terapi pada kanker payudara selain mempunyai efek terapi yang diharapkan, juga mempunyai beberapa efek yang tak diinginkan (*adverse effect*), sehingga sebelum memberikan terapi haruslah dipertimbangkan untung ruginya dan harus dikomunikasikan dengan pasien dan keluarga. Selain itu juga harus dipertimbangkan mengenai faktor usia, *co-morbid*, *evidence-based*, *cost effective*, dan kapan menghentikan seri pengobatan sistemik termasuk *end of life issues*.

Terapi Sistemik (Kemoterapi)

Beberapa kombinasi kemoterapi yang telah menjadi standar lini pertama (*first line*) adalah :

❖ CMF

- Cyclophosphamide 100 mg/m², hari 1 s/d 14 (oral) (dapat diganti injeksi cyclophosphamide 500 mg/m², hari 1 & 8).
- Methotrexate 50 mg / m² IV, hari 1 & 8.
- 5 Fluoro-uracil 500 mg/m² IV, hari 1 & 8.

Interval 3-4 minggu, 6 siklus.

❖ CAF

- Cyclophosphamide 500 mg/m², hari 1.
- Doxorubin 50 mg / m², hari 1.
- 5 Fluoro-uracil 500 mg/m², hari 1.

Interval 3 minggu/21 hari, 6 siklus.

❖ CEF

- Cyclophosphamide 500 mg/m², hari 1.
- Epirubicin 70 mg / m², hari 1.
- 5 Fluoro-uracil 500 mg/m², hari 1.

Interval 3 minggu/ hari, 6 siklus.

2.6 Sel Vero

Sel Vero merupakan sel monolayer berbentuk poligonal dan pipih yang diisolasi dari sel ginjal monyet hijau Afrika oleh Yasumura dan Kawakita di universitas Chiba, Jepang. Sel ini merupakan tipe sel *immortal, non tumorigenic fibroblastic cell* (Goncalves *et al.*, 2006).

Sel Vero memiliki jumlah interferon yang lebih sedikit dibandingkan dengan sel mamalia normal. Sel ini tidak memiliki kemampuan untuk mensekresikan interferon tipe 1 ketika diinfeksi oleh virus. Kekurangan interferon pada sel vero mengakibatkan sel ini sangat sensitif jika terinfeksi oleh berbagai jenis virus (Goncalves *et al.*, 2006).

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

Sel vero dikultur pada kondisi yang sama dengan *P. falciparum* secara *in vitro* kecuali 5% *human serum* digantikan dengan 5% *fetal bovine serum*. Sel vero

dikultur menggunakan media M199 yang telah ditambahkan 10% FBS, 2% penisilin-streptomisin dan 0,5-1% fungison (Turalely *et al.*, 2012). Sedangkan dalam penelitian Nugroho *et al.*, (2013) sel vero tumbuh di media M199 yang mengandung 10% fetal bovine serum, 1% penisilin, 1% streptomycin dan 0,5% fungison di dalam wadah dengan kelembapan atmosfer 5% CO₂ pada suhu 37°C.

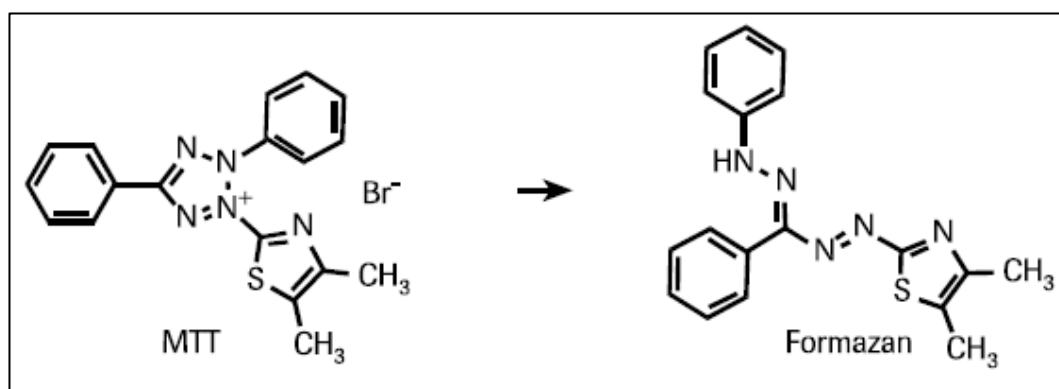
2.7 MTT assay

MTT adalah molekul larut berwarna kuning, yang dapat digunakan untuk menilai aktifitas enzimatis selular, didasarkan pada kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam MTT (Meizarini *et al.*, 2005). Tujuan umum MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 Diphenyl tetrazolium bromide) assay adalah untuk mengukur sel yang layak dengan keefektifan yang relatif tinggi (96-well plates) tanpa perlu penghitungan sel yang rumit (Meerlo *et al.*, 2011). Kelebihan metode MTT yaitu relatif cepat, sensitif, akurat dan banyak sampel dapat diuji (Marbawati, 2015).

Dasar uji enzimatis MTT adalah mengukur kemampuan sel hidup berdasarkan aktivitas mitokondria dari kultur sel dilihat dari kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam MTT. Prinsip *assay* ini adalah pemecahan cincin tetrazolium *MTT* oleh adanya dehidrogenase pada mitokondria yang aktif, menghasilkan produk formazan biru keunguan yang tidak larut, mengendap pada sel. Mekanismenya adalah garam tetrazolium berwarna kuning tersebut akan direduksi di dalam sel yang mempunyai aktifitas metabolik. Mitokondria dari sel hidup yang berperan penting dalam hal ini adalah yang menghasilkan

dehydrogenase (Meizarini *et al.*, 2005). Mekanisme ini melibatkan pirimidin nukleotida kofaktor NADH dan NADPH yang hanya dikatalisis oleh sel hidup, sehingga jumlah formazan yang terbentuk sama dengan jumlah sel yang hidup. Semakin banyak sel yang hidup, semakin banyak kristal formazan yang terbentuk, semakin tinggi nilai absorbansi yang diperoleh dan mengindikasikan mortalitas yang rendah (Chueahongthong *et al.*, 2011).

MTT mengukur aktivitas kemampuan mitokondria dalam mereduksi garam MTT. Aktivitas mitokondria sel-sel tercermin dari konversi MTT garam tetrazolium menjadi kristal formazan, yang dapat dilarutkan untuk homogen pengukuran. Dengan demikian, setiap peningkatan atau penurunan jumlah sel yang layak dapat dideteksi dengan mengukur konsentrasi formazan tercermin dalam *optical density* (OD) menggunakan pembaca pelat di 540 dan 720 nm (Meerlo *et al.*, 2011). Pengukuran ini didasarkan pada kapasitas enzim mitokondria *succinate dehydrogenase* dari sel hidup untuk merubah MTT menjadi produk formazan. Jumlah formazan yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel yang hidup dari berbagai variasi tipe sel (Marbawati, 2015).



Gambar 2.3 Metabolisasi MTT menjadi garam formazan oleh sel hidup (Sigma-Aldrich, 2016)

2.8 ELISA Reader

Direct ELISA merupakan jenis ELISA yang digunakan untuk mendeteksi dan mengukur konsentrasi suatu antigen. Antigen yang akan dideteksi akan berikatan langsung (*direct*) dengan antibodi *detector* (antibodi yang telah dilabeli oleh enzim reporter). Antibodi yang digunakan pada teknik *direct* ELISA berjumlah satu buah. Kelebihan dari *direct* ELISA yaitu Cepat dan tidak terdapat Cross Reaksi dengan antibodi sekunder. Akan tetapi, *direct* ELISA memiliki kekurangan yaitu harga pelabelan antibodi primer yang mahal, tidak ada fleksibilitas pemilihan antibodi primer, dan sinyal amplifikasinya sedikit (Walker and Rapley, 2008).

Indirect ELISA merupakan jenis ELISA yang digunakan untuk mendeteksi dan mengukur konsentrasi antigen atau antibodi. Teknik tersebut memiliki karakteristik yaitu antigen tidak menempel langsung pada antibody *detector* (*Indirect*). Antigen akan berikatan dengan antibodi lain terlebih dahulu. Antibodi tersebut kemudian akan berikatan dengan antibodi yang telah dilabeli. Kelebihan *indirect* ELISA yaitu memiliki sensitivitas tinggi dan sinyal amplifikasi yang tinggi. Kekurangan *indirect* ELISA yaitu membutuhkan waktu yang lama dan terjadi cross reaksi (Walker and Rapley, 2008).

Sandwich ELISA merupakan jenis ELISA yang dapat digunakan untuk mengukur antigen maupun antibodi. Karakteristik khas dari *sandwich* ELISA adalah menggunakan antibodi penangkap atau primer antibodi. Antigen yang akan dideteksi dan diukur konsentrasinya berikatan terlebih dahulu dengan antigen penangkap. Antigen akan berikatan kembali dengan antibody sesuai

jenis *sandwich* ELISA yang digunakan. *Sandwich* ELISA dibagi menjadi dua jenis yaitu *sandwich direct* ELISA dan *sandwich indirect* ELISA (Crowther, 2003).

Sandwich direct ELISA menggunakan dua antibodi yaitu antibodi penangkap dan antibodi yang dilabeli enzim. Antigen yang telah berikatan dengan antibodi penangkap akan berikatan kembali dengan antibodi yang dilabeli enzim. *Sandwich indirect* ELISA menggunakan tiga antibodi yaitu antibodi penangkap, antibodi detektor, dan anti-antibodi yang dilabeli enzim. Antigen yang telah berikatan dengan antibodi penangkap akan berikatan dengan antibodi detektor dan anti-antibodi yang dilabeli enzim (Crowther, 2003). Antigen dalam *sandwich* ELISA tidak perlu dimurnikan sebelum digunakan. *Sandwich* ELISA sangat spesifik sehingga tidak semua antibodi dapat digunakan.

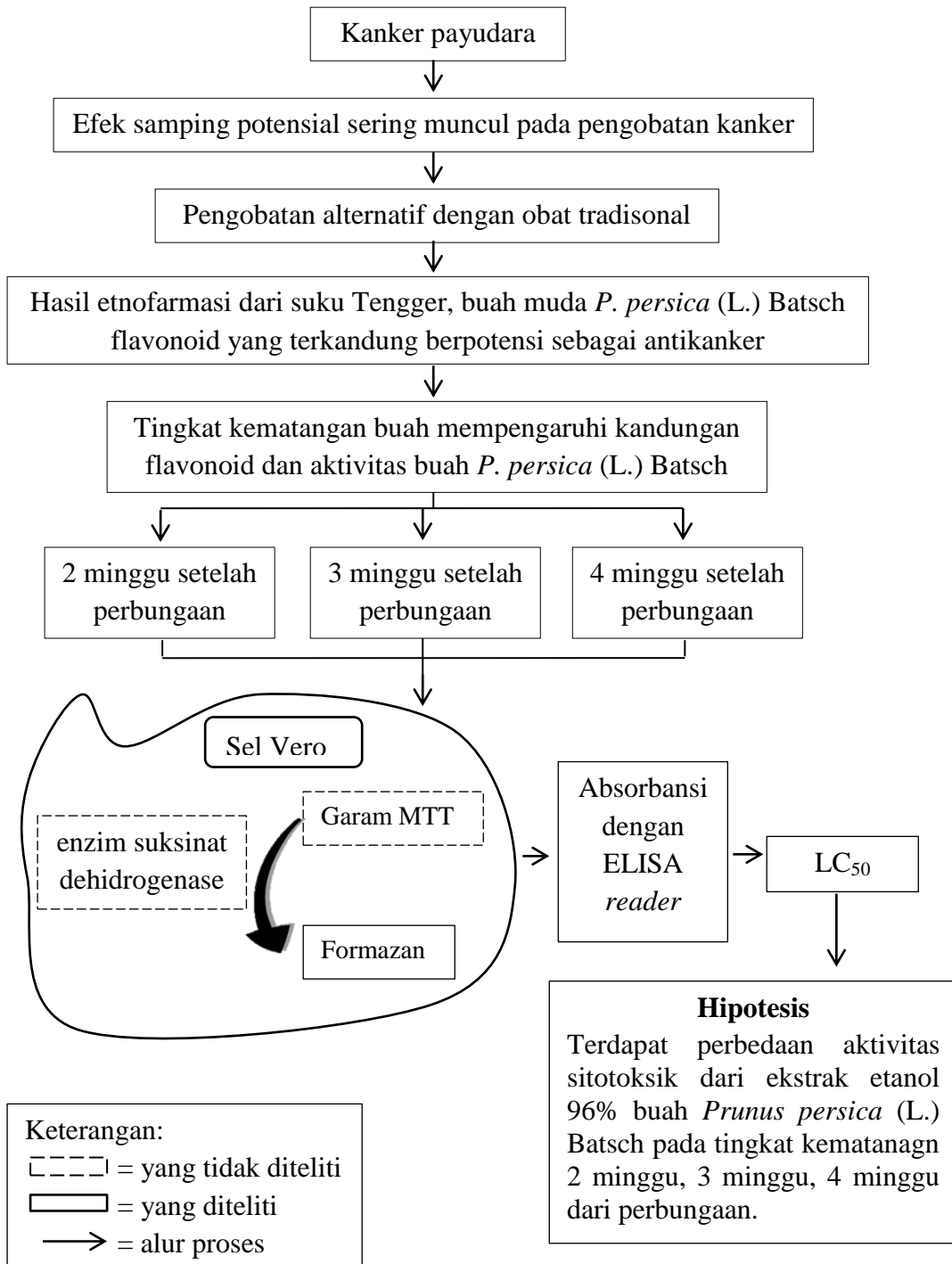
Konsentrasi formazan yang berwarna absorbansinya menggunakan ELISA *reader*. Panjang gelombang yang digunakan 595 nm. Absorbansi yang dihasilkan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif (Mosman, 1983).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

3.1.1 Bagan Kerangka Konseptual



3.1.2 Uraian Kerangka Konseptual

Kanker merupakan penyakit yang marak terjadi di dunia, pilihan terapi telah banyak dilakukan dalam upaya pengobatan kanker, namun terapi ini memiliki banyak efek samping. Salah satu pilihan terapi yang dapat digunakan dengan obat tradisional. Etnofarmasi yang dilakukan sebagai upaya pendekatan terhadap masyarakat untuk melestarikan pengobatan tradisional yang telah turun temurun di suku Tengger mendapatkan bahwa buah muda *Prunus persica* (L.) Batsch digunakan sebagai pengobatan antidiare, disentri, meningkatkan nafsu makan, menongkatkan daya tahan tubuh, suplemen dan flavonoid yang terkandung pada buah *P. persica* berpotensi sebagai antikanker. Kandungan senyawa flavonoid pada buah dipengaruhi oleh tingkat kematangan buah, selain itu tingkat kematangan buah juga mempengaruhi aktivitas buah.

Tingkat kematangan yang digunakan pada penelitian ini adalah 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu dari perbungaan. Terkait aktivitas buah *P. persica* sebagai antikanker, perlu diketahui keamanan penggunaannya. Salah satu uji keamanan obat tradisional secara *invitro* menggunakan MTT *assay* terhadap sel vero yang mereferensikan sel normal pada manusia. Sel vero yang hidup akan mereduksi garam MTT dengan enzim suksinat dehidrogenase yang ada di mitokodria, sehingga berubah menjadi kristal formazan yang berwarna ungu. Intensitas warna dari terbentuknya kristal formazan akan dibaca absorbansinya dengan ELISA *reader*. Hasil absorbansi akan dilanjutkan dengan analisis data untuk mendapatkan nilai LC_{50} yang akan menunjukkan konsentrasi yang dapat membunuh 50% dari sel.

3.2 Hipotesis Penelitian

Terdapat perbedaan aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* (L.) Batsch pada tingkat kematangan 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu dari perbungaan.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan *True Experimental Design* menggunakan jenis *Control Group Posttest Only Design*. Populasi dalam penelitian ini adalah buah *Prunus persica* (L.) Batsch, dengan sampel buah yang memiliki tingkat kematangan 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari-Agustus tahun 2019 di Laboratorium Fitokimia, Kimia Dasar, dan Teknologi Formulasi dan Sediaan Likuid & Solid Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang dan di Laboratorium Protho, Parasitologi Jurusan Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada (UGM).

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Penelitian

Ada tiga macam variable dalam penelitian ini, yaitu:

1. Variabel bebas: Tingkat kematangan buah *Prunus persica* (L.) Batsch.
2. Variabel tergantung: Intensitas warna kristal formazan yang terbentuk.
3. Variable terkontrol: Pelarut, dosis, suhu, waktu inkubasi, sel vero.

4.3.2 Definisi Operasional

1. Buah *Prunus persica* (L.) Batsch yang digunakan memiliki tingkat kematangan 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu dari perbungaan.
2. Tingkat kematangan buah *P. persica* adalah waktu dari masa perbungaan hingga buah diambil, untuk dijadikan sampel.
3. Ekstrak etanol 96% buah *P. persica* adalah simplisia yang diekstrak dengan menggunakan pelarut etanol 96% menggunakan metode maserasi dan UAE.
4. Dosis adalah konsentrasi ekstrak etanol 96% buah *P. persica* dari berbagai tingkat kematangan dalam $\mu\text{g/ml}$ yang digunakan untuk menguji aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol 96% *P. persica*.
5. Sel vero adalah sel yang digunakan sebagai subjek efek sitotoksik dari buah *P. persica* untuk melihat tingkat kemanannya sebagai alternatif terapi pada kanker payudara.
6. LC_{50} adalah konsentrasi yang dapat menimbulkan kematian sel, sebanyak 50%. Perhitungan LC_{50} menggunakan *Probit Analysis*, dengan nilai akhir dari masing-masing tingkat kematangan buah.
7. Viabilitas sel dilihat dari absorbansi kristal formazan ungu MTT, yang dibaca dengan *ELISA reader*. Kristal formazan diperoleh dari reduksi oleh enzim suksinat dehidrogenase di mitokondria sel hidup yang mereduksi MTT, sehingga MTT menjadi berwarna ungu. Semakin tinggi intensitas warna absorbansi, maka viabilitas sel semakin tinggi.

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1 Alat

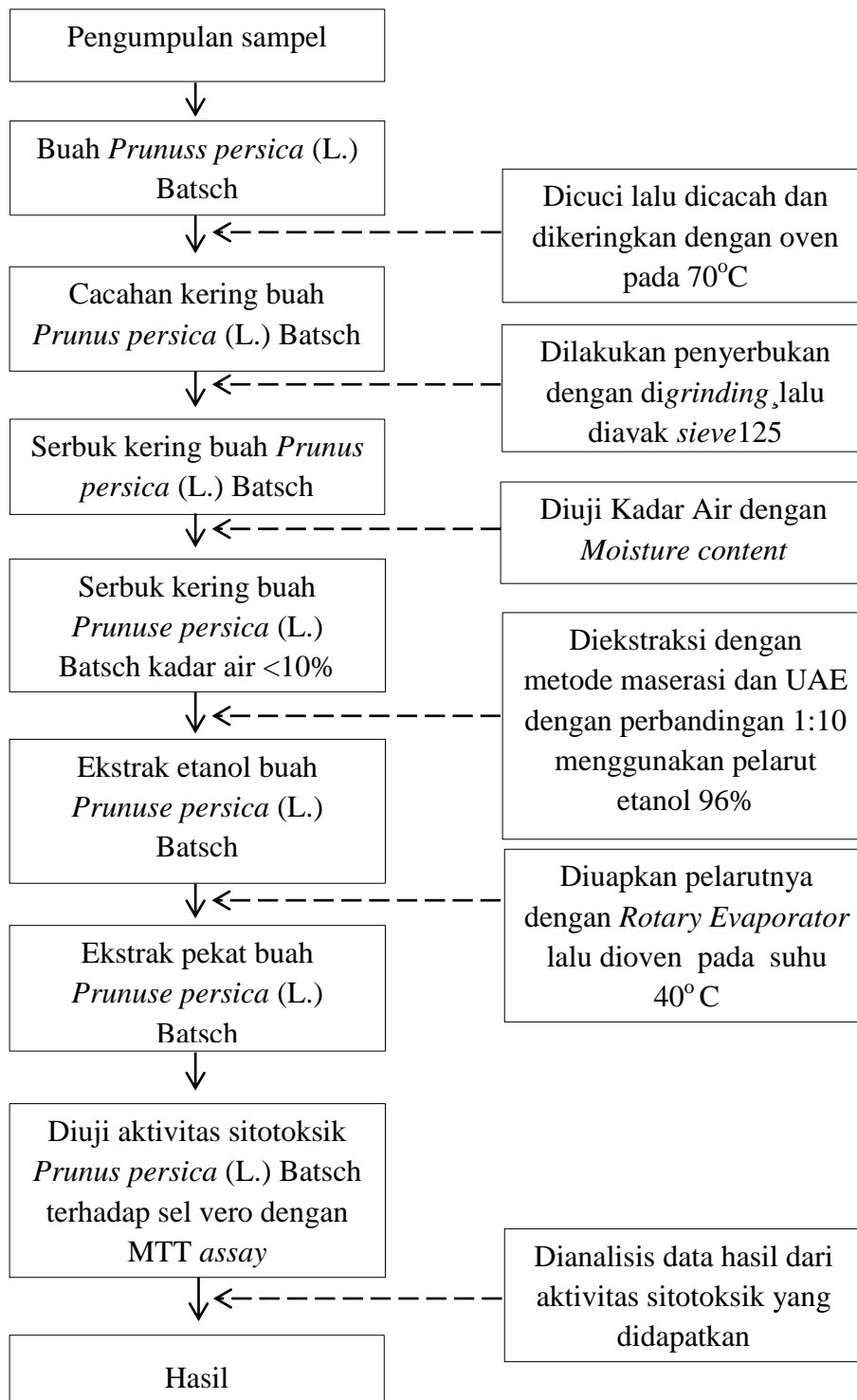
Alat-alat yang digunakan proses preparasi diantaranya blender, oven, gunting, dan ayakan *sieve* ukuran No.125, *Moisture Content Analyzer*, neraca analiti, kaca arloji, spatula, pengaduk, Erlenmeyer 500 ml, gelas beaker 100 ml, kertas saring whatman, *rotary evaporator*, *Ultrasonic Assisted Extraction*, corong gelas. mikropipet 200,1000 μ l, tabung reaksi kecil, rak tabung kecil, *96-well plate*, *Conica Tube*, *Yellow tip* dan *Blue tip*, *hemacytometer*, *incubator*, *LAF Hood*, *microscop inverted*, dan *ELISA reader*.

4.4.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah *Prunus persica* (L.) Batsch yang diambil pada tingkat kematangan 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi ultrasonik adalah etanol 96%. Bahan yang digunakan dalam uji sitotoksik dengan metode MTT yaitu sel vero, media kultur M199, *Dimetil Sulfoksida* (DMSO), MTT 5 mg/ml *phosphate buffer saline* (PBS) (50 mg MTT dan 10 ml PBS), *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) 10 % dalam 0,1 N HCl, tissue makan, dan *aluminium foil*.

4.5 Prosedur Penelitian

Penelitian yang dilakukan dalam melihat aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* (L.) Batsch meliputi bagan alur dibawah ini:



Gambar 4.1 Alur rencana penelitian

4.5.1 Preparasi Sampel

Simplisia buah *Prunus persica* (L.) Batsch sebanyak 1 kg, dicuci menggunakan air, dilanjutkan dengan perajangan lalu pengeringan di dalam oven selama 3 x 24 jam pada suhu 55° C. Rajangan yang telah kering dilakukan penyerbukan menggunakan blender hingga didapatkan serbuk dengan derajat kehalusan sesuai. Serbuk lalu diayak menggunakan ayakan *sieve* ukuran No.125, serbuk yang lolos digunakan sebagai bahan baku, yang tertinggal dilakukan penyerbukan ulang (Bhagawan, 2017).

4.5.2 Analisis Kadar Air Serbuk Buah *Prunus persica* (L.) Batsch

Analisa kadar air dilakukan dengan menggunakan *moistire content analyzer*. *Moisture content analyzer* dinyalakan hingga layar menunjukkan tampilan 0,005 g. Dilanjutkan dengan membuka penutup alat dan *sample pan* kosong dimasukkan ke dalam *sample pan handler*. Penutup alat lalu diturunkan dan secara otomatis alat akan menara atau menunjukkan tampilan 0,000 pada layar. Kemudian dimasukkan serbuk simplisia yang telah lulus preparasi sampel sebanyak $\pm 0,500$ gram ke dalam *sample pan* dan penutup alat diturunkan. Secara otomatis alat akan menunjukkan nilai pengukuran kadar air berupa % MC pada layar. Nilai kadar air pada simplisia tidak lebih dari 10%, jika nilai lebih dari 10 % maka dilakukan penegringan ulang. Analisis ini dilakukan sebanyak 3 kali (Depkes, 1979).

4.5.3 Ekstraksi Serbuk Buah *Prunus persica* (L.) Batsch

Serbuk buah *Prunus persica* (L.) Batsch sebanyak 1 kg di rendam dengan 5 Liter etanol 96% selama 24 jam, 10 menit terakhir di ekstraksi dengan *Ultrasonic-Assiste Extraction*. Residu dari maserasi pertama di maserasi kembali dengan 2,5 Liter etanol 96% Selama 24 jam, lalu 10 menit terakhir di ekstraksi dengan *Ultrasonic-Assiste Extraction*. Residu dari maserasi kedua di ambil dan di maserasi kembali dengan etanol 96% sebanyak 2,5 Liter selama 24 jam, pada 10 menit terakhir di ekstraksi dengan *Ultrasonic-Assisted Extraction*. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring dan corong. Hasil yang didapatkan dipekatkan menggunakan Rotary evaporator pada suhu 70°C sampai pelarut menguap dan hanya tersisa ekstrak kental saja (Bhagawan, 2017).

4.5.4 Uji Sitotoksik dengan Metode MTT

Metode ini didasarkan pada reaksi reduksi reagen 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) yang dikatalis oleh enzim suksinat dehidrogenase yang dikandung oleh sel hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan *reagen stopper* (bersifat detergenik) akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak (CCRC, 2009).

4.5.4.1 Penyiapan Sel

Sel Vero diambil dari koleksi Laboratorium Protho, Parasitologi Jurusan Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada (UGM). Sel dikeluarkan dari *freezer* (-80° C), dihangatkan dalam penangas air pada suhu 37⁰C selama 2 – 3 menit. Setelah mencair, sel dipindahkan ke dalam *conical tube* yang telah berisi 10 ml media M199, diinkubasi selama 3 – 4 jam pada suhu 37⁰C/ 5% CO₂, kemudian disentrifugasi untuk memisahkan sel vero (pelet) dengan media M199. Pelet yang terbentuk diamati dibawah mikroskop untuk melihat apakah sel melekat di dasar *culture dish* dan bila jumlah sel di dalam *culture dish* mencapai 70 – 85 % (konfluen), dilakukan panen sel yakni, dicuci sel 2 kali dengan PBS, ditambahkan trypsin-EDTA secara merata dan diinkubasi selama 3 menit, ditambahkan media M199 5 ml untuk menginaktifkan trypsin serta dilakukan resuspensi, diamati dibawah mikroskop *inverted*, kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO₂ (CCRC, 2009).

4.5.4.2 Perhitungan Sel

Panen sel diambil 10 µL dan dipipetkan ke *hemacytometer*, diamati dan dihitung dibawah mikroskop *inverted* dengan *counter*. Jumlah sel vero dapat diketahui dengan perhitungan sebagai berikut (CCRC, 2009):

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

4.5.4.3 Peletakan Sel pada Plate

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






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

Sel diletakkan dan media M199 ditambahkan sesuai perhitungan kedalam *plate* 96-well dan diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 37⁰C/ 5% CO₂, akan tetapi 6 sumuran bagian bawah disisakan untuk kontrol sel dan kontrol media (CCRC, 2009). Gambaran peletan sel di *plate* 96-well ialah sebagai berikut:

Tabel 4.1. *Well-plate mapping* untuk aktivitas sitotoksik ekstrak etanol dari *P. persica*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1000 µg/ml				1000 µg/ml				1000 µg/ml			
B	500 µg/ml				500 µg/ml				500 µg/ml			
C	250 µg/ml				250 µg/ml				250 µg/ml			
D	125 µg/ml				125 µg/ml				125 µg/ml			
E	62,5 µg/ml				62,5 µg/ml				62,5 µg/ml			
F	Kontrol Sel				Kontrol Media							
G												
H												

Keterangan :

-  = Sampel 2 minggu dari perbungaan
-  = Sampel 3 minggu dari perbungaan
-  = Sampel 4 minggu dari perbungaan
-  = Kontrol sel
-  = Kontrol media

4.5.5.4 Pemberian Larutan MTT

Media sel dibuang dengan cara dibalik *plate* dan dicuci dengan *Phosphate Buffered Saline* (PBS), larutan MTT (reagen 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide) berwarna kuning sebanyak 100 µl ditambahkan kesetiap sumuran. Inkubasi kembali selama 3 – 4 jam didalam inkubator pada suhu 37⁰C/ 5% CO₂ (sampai terbentuk kristal formazan atau perubahan warna menjadi biru). Apabila kristal formazan telah terbentuk diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted*, selanjutnya *stopper Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) 10% ditambahkan dalam 0,1 N HCl, *plate* dibungkus dengan aluminium foil dan diinkubasi kembali di tempat gelap (suhu ruangan) semalam (CCRC, 2009).

Langkah selanjutnya yakni pembacaan nilai absorbansi dengan ELISA *reader* untuk mengetahui nilai LC₅₀ setiap ekstrak. Tahapan awalnya ini dihidupkan ELISA *reader* dan ditunggu hingga *proccessing* selesai, pembungkus *plate* dibuka kemudian dimasukkan ke ELISA *reader*, absorbansi masing-masing sumuran dibaca dengan panjang gelombang 550 – 600 nm (595 nm), dimatikan kembali ELISA *reader*. Dihitung prosentase sel hidup dengan persamaan sebagai berikut (CCRC, 2009):

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(A - B)}{(C - D)} \times 100\%$$

Keterangan :

- A= absorbansi perlakuan (sel+ media kultur + media kultur + sampel)
- B= absorbansi control media (media kultur)
- C= absorbansi control negatif (sel + media kultur)
- D= absorbansi control media (media kultur)

Data dari presentase sel hidup kemudian dianalisis untuk mengetahui nilai LC_{50} dengan *Probit Analysis*.

4.6 Analisis Data

Potensi ekstrak *Prunus persica* (L.) Batsch dalam merusak sel vero (sel normal) dapat diketahui dengan melakukan uji LC_{50} , menggunakan analisa *Probit Analysis* untuk masing-masing konsentrasi, 1000; 500; 250; 125; dan 62,5 $\mu\text{g/ml}$. Penggunaan data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran, dapat ditentukan persentase sel yang hidup dengan menggunakan rumus:

$$\text{Presentase sel hidup} = \frac{(A - B)}{(C - D)} \times 100\%$$

Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan data yang terinput merupakan data hubungan antara konsentrasi dengan persentase sel hidup. Menuju ke statistik data, data terlebih dahulu di uji normalitas dan homogenitas, uji normalitas menggunakan *saphiro-wilk*. Uji normalitas untuk melihat apakah data terdistribusi normal atau tidak. Uji homogenitas dilakukan untuk melihat kesamaan atau homogenitas suatu varian.

Hasil pengujian menunjukkan data normal dan homogen dilanjutkan uji parametrik untuk mengetahui perbedaan perlakuan antara kelompok kontrol menggunakan uji statistik *one way ANOVA*. Namun, apabila data tidak terdistribusi normal dan homogen, maka dilakukan pengujian non-parametrik dengan *kruskall-wallis*. Penelitian dikatakan bermakna apabila $p \leq 0,05$, dilanjutkan dengan *Least Significance Difference* (LSD) untuk melihat kelompok yang menunjukkan perbedaan signifikan.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* (L.) Batsch terhadap sel vero berdasarkan tingkat kematangannya. Pembuktian bahwa buah *P. persica* tidak bersifat toksik terhadap sel normal tubuh. Sampel buah *P. perica* yang digunakan memiliki tingkat kematangan yang berbeda, yaitu 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu dari perbungaan. Perbedaan tingkat kematangan yang dipilih bertujuan untuk untuk mengetahui pengaruh tingkat kematangan buah terhadap aktivitas sitotoksiknya terhadap sel normal. Tahapan pada penelitian ini meliputi preparasi sampel, analisis kadar air pada simplisia serbuk, ekstraksi simplisia serbuk, dan uji aktivitas sitotoksik menggunakan metode MTT *assay*.

5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk mendapatkan kebenaran identitas dengan jelas dari tanaman sampel dan menghindari kesalahan dalam pelaksanaan pengumpulan sampel yang akan digunakan (Diniatik, 2015). Bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan determinasi ialah buah dari tanaman jambu wer. Hasil determinasi berupa surat keterangan yang dikeluarkan oleh unit determinasi. Lembaga Unit Pengetahuan Indonesia (LIPI) Purwodadi dengan No. 1865/IPH.6/HM/XI/2016 yang menyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ialah tanaman *Prunus persica* (L.) Batsch, seperti dalam lampiran1.

5.2 Preparasi Sampel

Preparasi sampel merupakan langkah awal pada penelitian ini. Proses ini meliputi pengumpulan sampel, penyortiran, pencucian, pengeringan, dan penyerbukan. Sampel yang adalah buah *Prunus persica* (L.) Batsch yang didapatkan dari tanaman liar di Desa Ngadas dalam wilayah Taman Nasional Bromo Tengger Semeru Malang. Sampel yang digunakan memiliki tingkat kematangan yang berbeda, yaitu 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu. Tingkat kematangan buah memiliki pengaruh terhadap kandungan kimia buah, yang akan memberi perbedaan dalam perubahan aktivitas buah (Ahmadi *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2011). Kematangan buah memberikan perubahan secara biokimia, fisiologis, dan struktural. Kematangan buah yang berubah akan terjadi modifikasi dalam struktural, perubahan komposisi polisakarida dinding sel, perubahan warna dan tekstur pada buah. Perubahan pada buah meliputi hidrolisis pati, akumulasi gula, degradasi klorofil, produksi asam organik, antosianin, dan juga zat fenolik (Sumolang *et al.*, 2018). Perubahan pada pematangan buah didorong oleh ekspresi terkoordinasi dari gen yang berkaitan dengan gen pematangan buah. (Bouzayen *et al.*, 2010). Semakin matang maka kandungan antioksidan, total fenol dan asam askorbat buah akan meningkat (Yang *et al.*, 2011).

Pengumpulan sampel dimulai dari pemberian tanda tanggal pada buah yang terbentuk setelah masa perbungaan, 2 minggu dari tanggal penandaan buah di ambil, 1 minggu kemudian di ambil buah lainnya, dan buah diambil 1 minggu setelah pengambilan kedua. Buah yang tidak terjangkau dalam penandaan, disesuaikan tampilan morfologinya dengan buah yang memiliki tanda waktu.

Pengumpulan buah dilakukan secara bertahap, bersesuai dengan waktu kematangan buah. Buah mentah memiliki tekstur keras berwarna hijau, seiring masa pematangan buah mengalami perubahan nyata dalam warna juga teksturnya, yang menunjukkan perubahan pada komponen penyusunnya (Abidin, 1991; Ahmadi *et al.*, 2011). Berikut tabel perbedaan morfologi buah *P. persica* pada tingkat kematangan 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu.

Tabel 5.1 Perbedaan morfologi buah *P. persica* 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu.

	Warna	Diameter Buah	Tekstur Buah, dan biji
2 Minggu	Hijau, kulit buah berbulu halus	±2cm	Keras, biji lunak berwarna putih
3 Minggu	Hijau dengan sebagian sisi kemerahan	±4 cm	Keras, biji telah terbentuk dan keras
4 Minggu	Putih dengan sebagian sisi merah	±6 cm	Lunak, biji berwarna merah dan berserabut.

Buah yang telah disortir berdasarkan tingkat kematangannya lalu di cuci hingga bersih (bulu-bulu halus di kulit buah hilang) untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada buah, lalu buah ditiriskan untuk mengurangi kadar air setelah pencucian. Selanjutnya buah dicacah dengan tujuan mengecilkan ukuran buah, sehingga mempermudah pengeringan buah. Pencacahan buah tingkat kematangan 2 minggu dilakukan lebih perlahan untuk menghindari keikutsertaan biji buah, dikarenakan biji buah masih muda/lunak. Buah yang telah dicacah lalu mulai dikeringkan menggunakan oven pada suhu 55° Celcius selama 3x24 jam. Pengeringan menggunakan lebih dipilih dibandingkan pengeringan sinar matahari langsung atau diangin-anginkan karena lebih menguntungkan. Pengeringan dengan oven dapat meurunkan kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang

singkat, selain itu juga pengeringan menggunakan sinar matahari langsung membuat sampel terkena sinar ultraviolet langsung yang dapat menyebabkan kerusakan kandungan kimia bahan yang dikeringkan (Winangsih *et al.*, 2013).

Pengeringan dilakukan pada suhu 55°C selama 3 x 24 jam, yang merupakan suhu optimum untuk mendapatkan simplisia yang memiliki kadar air sesuai dengan standar ($\leq 10\%$), sehingga simplisia dapat tahan lama dan tidak mudah terkontaminasi dengan jamur atau bakteri. Seperti dilakukan oleh Atisanto *et al.*,(2017), pengeringan buah kelusi pada suhu 55°C dengan pelarut etanol memiliki nilai rendeman lebih tinggi daripada saat pengeringan 60° dan 65°C. Cacahan buah kering dilanjutkan dengan penggrindingan untuk mendapatkan simplisia serbuk. Hal ini akan memudahkan dalam proses pembuatan ekstrak buah, karena semakin kecil ukuran serbuk, akan memperluas permukaan serbuk sehingga memudahkan kontak antara pelarut dengan serbuk simplisia.



Gambar 5.1 Sampel buah *P. Persica* ; A) buah 2 minggu, B) buah 3 minggu, C) buah 4 minggu



Gambar 5.2 Serbuk kering simplisia buah *P. persica* yang diuji kadar airnya; A) serbuk simplisia buah 2 minggu, B) serbuk simplisia buah 3 minggu, C) serbuk simplisia buah 4 minggu.

5.3 Analisis Kadar Air Serbuk Buah *Prunus persica* (L.) Batsch

Analisa kadar air dilakukan untuk mengetahui kadar air yang terkandung dalam simplisia. Kandungan kadar air yang berlebih akan mempercepat pertumbuhan mikroba dan juga rentan terhidrolisa kandungan kimianya yang akan menurunkan mutu dari simplisia (Handayani dan Sriherfyna ,2016). Alat yang digunakan ialah *Moisture Content Analyzer* Mettler Toledo HC103. Alat ini berkerja dengan prinsip perbedaan berat sampel sebelum dan setelah pengeringan dengan penyerapan gelombang Inframerah (Mettler Toledo, 2015).

Sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram, lalu dipanaskan dengan suhu 105° C, saat selesai akan muncul % kadar air dari sampel pada layar instrumen. Hasil penentuan kadar air pada Tabel 5.1, hasil ini menunjukkan bahwa sampel pada masing-masing tingkat kematangan memiliki rata-rata kurang dari 10%, seperti yang terlihat dalam tabel 5.2. Hal ini menunjukkan bahwa kadar air simplisia termasuk dalam rentang standar. Sebagaimana dinyatakan Menteri Kesehatan (1994), standar kandungan kadar air dalam simplisia tidak lebih dari 10%.

Tabel 5.2 Hasil Penentuan Kadar Air Buah *Prunus persica* (L.) Batsch

Tingkat Kematangan Buah	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata
2 Minggu	4,13%	4,69%	5,14%	4,653%
3 Minggu	4,66%	3,77%	5,04%	4,49%
4 Minggu	6,82%	4,57%	4,93%	5,44%

Berdasarkan hasil uji kadar air pada buah *P. persica* dapat dilihat bahwa buah dengan tingkat kematangan 4 minggu memiliki nilai kadar air yang tertinggi daripada buah 2 minggu dan 3 minggu. Buah yang lebih matang memiliki kadar air lebih tinggi karena terjadi perombakan pati menjadi gula (Harefa dan Pato, 2017). Namun buah 3 minggu memiliki kadar air lebih rendah dari 2 minggu, hal ini bisa terjadi dikarenakan pati buah 3 minggu tidak hanya dibentuk menjadi gula namun juga digunakan untuk bahan respirasi atau untuk dikonversi ke bentuk senyawa lain seperti asam organik (Fitriiningrum, 2012).

5.4 Ekstraksi Serbuk Buah *Prunus persica* (L.) Batsch

Ekstraksi maserasi merupakan ekstraksi yang murah dan mudah dilakukan tanpa pemanasan (Susanty dan Bachmid, 2016., Pemilihan ekstraksi menggunakan metode maserasi dan sonikasi dikarenakan untuk memaksimalkan senyawa yang dapat didapatkan dari simplisia buah *P. persica*. Ekstraksi maserasi akan membuat pelarut memasuki sitoplasma dan menimbulkan pembengkakan pada sel karena perbedaan tekanan di luar dan di dalam sel (Lenny, 2006). Dilanjutkan dengan proses sonikasi yang akan memberikan gelombang suara yang melalui proses pemecahan dinding sel sehingga mengeluarkan pelarut yang telah membawa senyawa dalam sel. Selain itu juga terjadi penipisan lapisan antara

cairan dan partikel sehingga meningkatkan laju penetrasi pelarut, hal ini akan meningkatkan efisiensi dari ekstraksi (Li *et al.*, 2010).

Buah *P. persica* diekstraksi maserasi ultrasonik dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:10. Perbandingan ini merupakan perbandingan optimum untuk melarutkan senyawa sehingga mendapat rendemen maksimal (Handayani dan Sriherfyna, 2016). Waktu dalam ultrasonik yaitu 3 x 2 menit, merupakan waktu optimum untuk menarik senyawa, sebagaimana penelitian yang dilakukan Oktavia (2011), bahwa ekstraksi sonikasi dengan rendemen terbanyak pada waktu terendah. Waktu maserasi 3x 24 jam merupakan waktu optimum untuk menarik senyawa dalam ekstrak (Yusuf *et al.*, 2018).

Ekstrak cair yang didapatkan dilanjutkan pengentalan dengan menguapkan pelarut, menggunakan *rotary evaporator* yang berkerja dengan prinsip pemisahan ekstrak dengan cairan penyari dengan pemanasan yang dipercepat perputaran labu, dan tekanan yang membuat cairan penyari dapat menguap 5-10 °C dari titik didihnya (Vogel, 1985). Dilanjutkan pengovenan pada suhu 40° untuk menguapkan sisa-sisa pelarut dalam ekstrak hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak yang telah kental lalu ditimbang untuk menghitung nilai rendemen ekstrak yang didapatkan.

Rendemen ialah perbandingan jumlah (kuantitas) minyak yang dihasilkan dari ekstraksi tanaman. Rendemen memiliki satuan persen (%). Rendemen menjadi parameter seberapa banyak produk yang dihasilkan dari ekstrak dengan membandingkan antara jumlah produk yang dihasilkan dengan bahan awal yang digunakan (Warsono *et all.*, 2013). Semakin tinggi nilai rendemen yang

dihasilkan menandakan semakin banyak senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Hasil rendemen merujuk pada jumlah produk reaksi yang dihasilkan pada reaksi kimia (Vogel, 1996). Sampel buah 2 minggu memiliki rendemen sebanyak, 30,044 %, sementara sampel 3 minggu memiliki rendemen 31,356%, dan sampel 4 minggu memiliki rendemen 33,655%. Semakin tinggi tingkat kematangan buah, semakin tinggi rendemen yang didapatkan. Sebagaimana terlihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.3 Hasil rendemen ekstraksi buah *P. persica* dengan etanol 96%

Tingkat kematangan sampel	Simplisia serbuk <i>P. Persica</i>	Ekstrak kental yang dihasilkan	Rendemen
2 minggu	240 g	75,11 g	30,044 %
3 minggu	250 g	78.39 g	31,356 %
4 minggu	400 g	134,62 g	33,655 %



A



B



C

Gambar 5.3 Ekstrak etanol 96% buah *P. persica*; A) buah 2 minggu. B) buah 3 minggu, C) buah 4 minggu

5.5 Uji Sitotoksik dengan MTT assay

5.5.1 Penyiapan Sel

Sel yang digunakan dalam uji adalah sel vero yang didapatkan dari penyimpanan lab parasitologi berkerjasama dengan CCRC Universitas Gadjah

Mada Yogyakarta. Sel diambil dari penyimpanan dari *freezer* pada suhu -80°C , sel yang beku dicairkan dengan memanaskan pada suhu 37°C selama 2-3 menit. Penyimpanan sel dalam *freezer* -80°C dikarenakan agar sel dapat tetap hidup untuk beberapa tahun, biasanya diberi cairan DMSO 5% sebagai bahan krioprotektan untuk melindungi sel dari kerusakan (Ma'at, 2011). Pemanasan pada suhu 37°C yang merupakan suhu optimal sel yang juga merupakan suhu tubuh manusia (Rosdiana dan Hadisaputri, 2017).

Sel dipindahkan ke *conical tube* yang telah berisi media komplet M199 dan disentrifugasi. Media komplet M199 merupakan campuran antara *Fetal Bovine Serum* (FBS) yang digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan *cell line*, Penstrep (*Penicillin-Streptomycin*) yang digunakan sebagai antibiotik, *Amphotericin-B* sebagai anti jamur, dan M199 yang memiliki perbandingan nutrisi yang sesuai sebagai media pertumbuhan sel vero. Penggunaan Media M199 digunakan sesuai dengan pedoman CCRC, setiap media memiliki nutrisi yang menunjang pertumbuhan sel, sel dapat tumbuh dalam lebih dari satu media namun memiliki optimal tumbuh dalam media tertentu (CCRC, 2009). Sentrifugasi dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan DMSO dari sel (Ma'at, 2017). Hasil sentrifugasi terbentuk supernatan dan pelet. Pelet merupakan substansi yang memiliki bobot jenis lebih tinggi, berada di lapisan terbawah. Sementara supernatan ialah substansi yang memiliki bobot jenis lebih rendah, berada dilapisan atas. Supernatan yang terbentuk di buang, sementara pelet dilanjutkan ke proses berikutnya. Hal ini dikarenakan sel yang masih hidup akan memiliki bobot jenis lebih tinggi dan terletak di dasar dari *conical tube* (pelet).

Pelet yang terbentuk dipindahkan ke dalam *culture dish* yang berisi 10 ml media komplet M199 dan kemudian diinkubasi selama 3-4 jam pada suhu 37°C 5% CO₂. Suhu inkubasi 37°C dikarenakan suhu 37°C merupakan suhu tubuh manusia, selain untuk keberlangsungan hidup sel juga untuk menyesuaikan dengan serum yang terdapat dalam media komplet (Rosdiana dan Hasdiaputri, 2017). Inkubasi pada suhu rendah akan menurunkan tingkat pertumbuhan sel dan mempengaruhi perkembangan embrio (Wang *et al.*, 2017). Inkubasi dengan CO₂ 5% untuk mengubah makanan dari medium menjadi energi, sehingga sel dapat tumbuh dan memperbanyak diri (Rosdiana dan Hadisaputri, 2017).

Sel diamati dibawah mikroskop *inverted* untuk melihat sel apakah telah konfluen. Mikroskop inverted ialah mikroskop yang bekerja terbalik, dimana sumber cahaya dan lensa berada dibawah, dengan kelebihan dapat untuk melihat sampel dengan lebih dari ssatu layer. Sel dipanen saat sel konfluen 70-80%, dimana sel telah berkembang biak dan memiliki jumlah yang cukup untuk menyebar dalam dish. Sel yang konfluen adalah saat sel tumbuh homogen dan sel merata sebagai *monolayer* hingga menutupi *cover glass* (Wulandari, 2003). Sel lalu dicuci dengan PBS sebanyak 2 kali. PBS merupakan *buffer* dengan pH 7-8 yang digunakan untuk mmepertahankan pH untuk tetap konstan serta menjaga osmolaritas dan konsentrasi ion (Rosdiana dan Hadisaputri, 2017). Pencucian dengan PBS bertujuan untuk menghilangkan serum yang ada dalam medium. Serum harus dihilangkan agar tidak mengganggu kinerja tripsin (Hsiang *et al.*, 2010).

Sel selanjutnya ditambahkan tripsin-EDTA sekitar 3 ml lalu diinkubasi selama 3 menit. Penambahan tripsin untuk memisahkan sel dari permukaan dish, tripsin memiliki aktivitas proteolitik yang dapat menyebabkan kerusakan protein pada membran sel. Inkubasi dilakukan selama 3 menit karena waktu inkubasi yang lama akan menyebabkan kerusakan membran sel akibat degradasi membran protein oleh tripsin (Hsiang *et al.*, 2010). Sel diinaktivasi dari tripsin-EDTA dengan menambahkan medium komplit 5 ml. Trispsin harus diinaktivasi dikarenakan sisa dari larutan tripsin dapat merusak sel. Menggunakan media komplit untuk menginaktivasi dikarenakan media komplit mengandung serum yang bisa menginaktivasi tripsin (Hsiang *et al.*, 2010). Sel diresuspensi dengan mikropipet untuk melepaskan kembali ikatan antar sel dalam dish, diamati di mikroskop *inverted* hingga tidak ada sel yang menggerombol. Hasil sel panen dipindahkan ke *conical tube* baru dan dilakukan penghitungan sel.

5.5.2 Perhitungan Sel

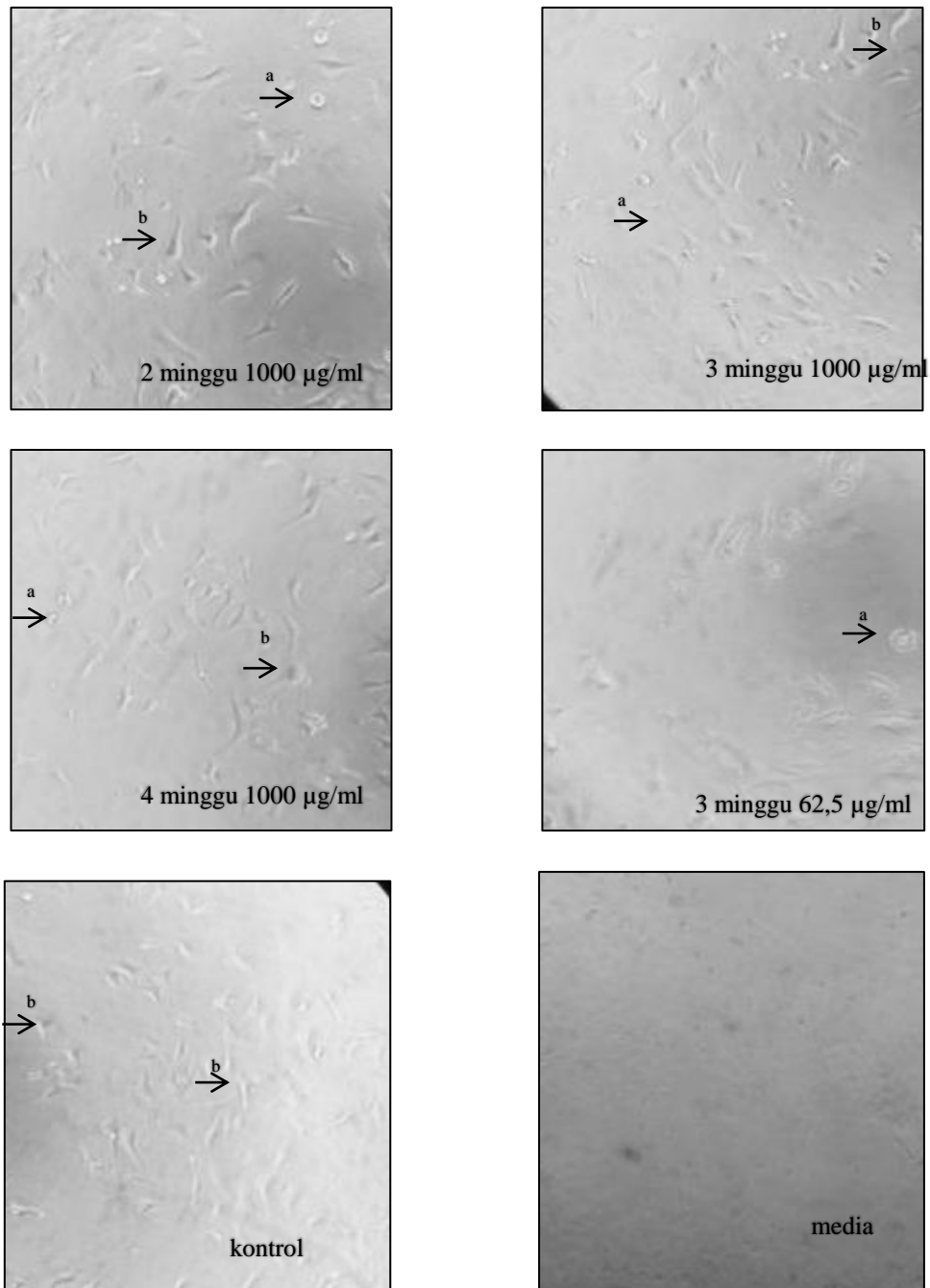
Perhitungan sel dilakuka dengan *haemocytomete* , diambil sel sebanyak 10 μ l diletakkan pada *haemocytometer* lalu ditutup. *Haemocytometer* adalah perangkat yang awalnya digunakan sebagai perhitungan sel darah dan saat ini digunakan untuk perhitungan sel (Mikapin, 2012). *Haemocytometer* dengan bantuan *hand counter* untuk memudahkan perhitungan sel secara mikroskopis (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Sel yang dihitung ialah sel yang sehat, dengan ciri-ciri berpendar becahaya, sementara sel yang gelap dan mengkerut tidak dihitung karena merupakan sel yang telah mati.

Hasil perhitungan ruang A sebanyak 139 sel, ruang B sebanyak 107 sel, ruang C 102 sel, dan ruang D sebanyak 125 sel. Dilakukan perhitungan jumlah sel dengan mencari mean dari ruang A, B, C, dan D dikalikan dengan 10^4 . Dilanjutkan dengan perhitungan sel yang dibutuhkan untuk penanaman pada *plate well-96*, per *well* membutuhkan 10.000 sel, dengan total *well* 96 (dibulatkan menjadi 100). Hasil perhitungan, yang diambil ialah sebanyak 845 μl , lalu ditambahkan dengan media komplit ad 10 ml.

5.5.3 Peletakkan Sel pada Plate

Penanaman sel dilakukan dengan mentransfer sel sebanyak 100 μl per *well* dan diinkubasi pada suhu 37°C / 5% CO_2 selama 24 jam. Hasilnya diamati dibawah mikroskop *inverted* untuk memastikan tidak ada kontaminasi pada sel. Preparasi sampel dimulai dengan membuat larutan stock buah *P. persica* dengan menimbang ekstrak sebanyak 10 mg dan dilautkan dalam 100 μl dimetil sulfosida (DMSO) 1% kemudian di vortex hingga semua ekstrak terlarut. Pemilihan DMSO sebagai pelarut ekstrak dikarenakan DMSO dapat melarutkan senyawa polar maupun nonpolar, biasanya digunakan untuk pengencer ekstrak dengan konsentrasi <10% karena tidak bersifat toksik terhadap sel (Machana *et al.*, 2011; Assidqi *et al.*, 2012). Dibuat seri konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$, 500 $\mu\text{g/ml}$, 125 $\mu\text{g/ml}$, 62,5 $\mu\text{g/ml}$, dari larutan stock 10.000 $\mu\text{g/ml}$ yang telah dibuat. Pembuatan seri konsentrasi tersebut ialah dikarenakan telah mencakup konsentrasi yang poten untuk ekstrak bersifat sebagai antikanker, konsentrasi yang lebih dari 1000 $\mu\text{g/ml}$ sudah tidak poten sebagai antikanker (Prayong *et al.*, 2008).

Pemberian ekstrak dilakukan dengan membuang media dari *well* dan mengisi *well* dengan sampel seri konsentrasi yang telah dibuat sebanyak 100 μl /*well*. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C / 5% CO₂. Hasilnya diamati pada mikroskop *inverted* untuk melihat hasil perlakuan sampel terhadap sel. Pengamatan menunjukkan kondisi morfologi sel yang telah diberi perlakuan, sel yang telah mati akan mengecil dan membulat, sementara sel yang hidup akan berbentuk sesuai morfologi sel vero yaitu poligonal dan pipih. Viabilitas sel yang tinggi menunjukkan bahwa ekstrak tidak bersifat toksik terhadap sel vero.



a= sel yang mati
b= sel yang masih hidup

Gambar 5.4 Morfologi sel vero setelah pemberian ekstrak etanol 96% buah *P. persica* pada konsentrasi 1000 µg/ml, dan 62,5 µg/ml pada tingkat kematangan 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu. Sel yang mati membulat dan mengecil (a) sementara sel yang hidup berbentuk poligonal dan pipih (b). Tidak ada perbedaan makna seiring pertambahan konsentrasi.

5.5.4 Pemberian Larutan MTT

Pemberian larutan MTT dimulai dengan membuang media pada *platewell* dan menggantinya dengan media yang telah berisi MTT sebanyak 100 μl / *well*. Prinsip MTT diawali dengan pemecahan cincin tetrazolium MTT oleh adanya enzim dehidrogenase pada mitokondria yang aktif pada sel hidup, menghasilkan produk formazan biru keunguan yang tidak larut air (Mostman, 1983). Dilakukan inkubasi pada 37°C/ 5% CO₂ selama 4 jam. Setelah inkubasi selama 4 jam, dilihat sel dengan mikroskop *inverted* untuk melihat sel telah bereaksi dengan garam MTT dengan membentuk kristal formazan. Inkubasi selama 4 jam merupakan waktu kerja garam MTT mereduksi sel yaitu antara 3-6 jam, inkubasi lebih dari 6 jam akan menyebabkan perubahan warna (CCRC, 2009). Kristal formazan dapat ditandai dengan sel yang berserabut.

Selama 4 jam inkubasi terjadi reaksi antara garam MTT dengan mitokondria sel yang masih hidup, kemudian reaksi dihentikan dengan menggunakan larutan *stopper*. Larutan *stopper* ialah larutan yang digunakan untuk melarutkan kristal formazan berwarna ungu dalam sel dengan melisiskan sel sehingga cairan sel yang mengandung formazan berwarna ungu keluar dari sel dan dapat diukur absorbansinya (CCRC, 2009). Larutan *stopper* yang digunakan ialah larutan Natrium Dodesil Sulfat (SDS) 10% dalam 0,1 N HCl. SDS digunakan sebagai larutan *stopper* mengacu pada penelitian Siregar dan Hadijono (2000), bahwa SDS memiliki nilai absorbansi proporsional dengan pendiaman 1 malam tanpa harus mengangkat semua medium. SDS dengan konsentrasi <5% tidak dapat melarutkan formazan dengan sempurna (Kusuma *et al.*, 2010).

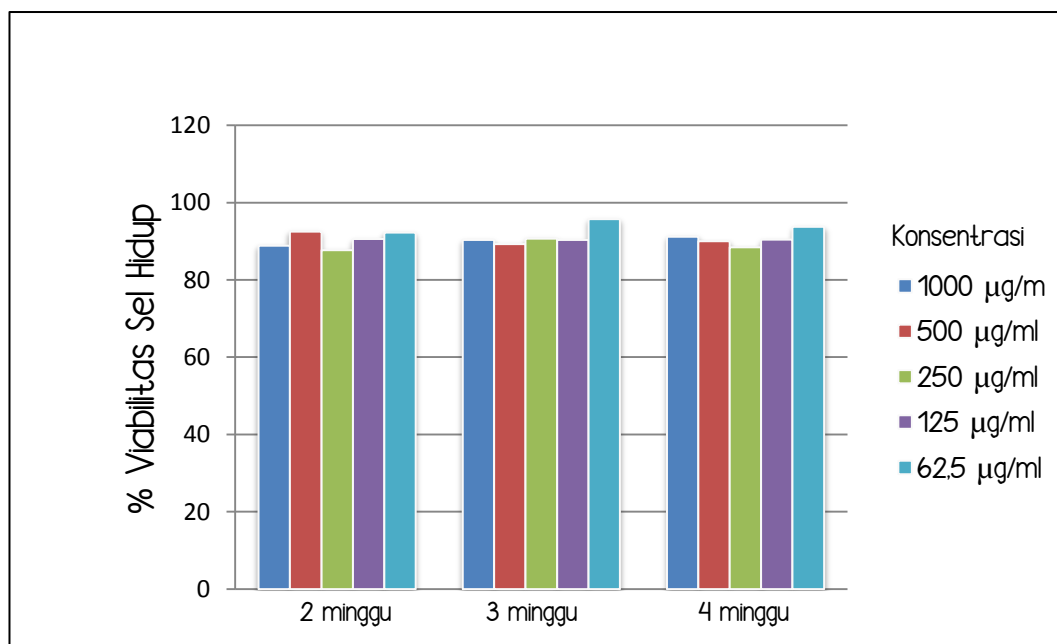
Larutan *stopper* melisiskan membran sel, sehingga melarutkan garam formazan yang terbentuk keluar sel sehingga dapat dibaca absorbansinya dengan ELISA *reader*. Pembacaan absorbansi dengan ELISA akan memiliki nilai absorbansi semakin tinggi seiring dengan banyaknya sel yang masih hidup. Sel hidup akan memecah cincin tertrazolium MTT dengan enzim suksinat dehidrogenase yang ada dalam mitokondria sel. Pemecahan ini menghasilkan kristal formazan berwarna biru keunguan, perbandingan antara nilai absorbansi dengan ELISA berbanding lurus dengan jumlah kristal formazan yang terbentuk.

5.5.5 Perhitungan LC₅₀ dan Statistik Data

Data hasil absorbansi menggunakan ELISA *reader* dikonversikan menjadi % viabilitas sel (% sel hidup). Persen viabilitas sel digunakan mencari nilai LC₅₀ melalui *Probit Analysis* dalam SPSS. Penggunaan LC₅₀ dibandingkan IC₅₀ dikarenakan, sel yang digunakan ialah sel vero (normal). IC 50 merupakan konsentrasi menghambat, sementara LC₅₀ konsentrasi yang dapat mematikan. IC50 biasa digunakan untuk perhitungan pada sel kanker, karena sifat sel kanker yang berpoliferasi terus menerus. Penggunaan LC₅₀ karena sel vero tidak berpoliferasi terus menerus, dibutuhkan konsentrasi yang dapat membunuh sel. Pada perhitungannya dalam SPSS, nilai ini berbeda pada penentuan transformnya, IC₅₀ dengan *log base 10*, sementara nilai LC₅₀ menggunakan transform *none*. nilai LC₅₀ yang diperoleh digunakan untuk mencari perhitungan statistik data.

Tabel 5.4 Tabel konversi nilai absorbansi menjadi % viabilitas sel hidup dari ekstrak etanol 96% buah *P. persica* tingkat kematangan 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu

Konsentrasi (µg/ml)	Rata-rata % Viabilitas Sel hidup & ± SD		
	Ekstrak 2 Minggu	Ekstrak 3 Minggu	Ekstrak 4 minggu
1000	88,831 ± 2,895	90,347 ± 1,722	91,175 ± 0,977
500	92,554 ± 1,151	89,313 ± 0,315	90,003 ± 1,853
250	87,727 ± 0,520	90,692 ± 0,901	88,417 ± 0,947
125	90,623 ± 2,092	90,347 ± 0,861	90,485 ± 2,159
62.5	92,278 ± 0,725	95,725 ± 4,055	93,726 ± 0,860



Gambar 5.5 Grafik % viabilitas sel vero pada konsentrasi 1000;500;250;125;62,5 µg/ml ekstrak etanol 96% buah *P. persica* tingkat kematangan 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu.

Berdasarkan Tabel dan Grafik di atas diketahui bahwa semua perlakuan kelompok sampel pada tingkat kematangan buah 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu, untuk semua varian konsentrasi memiliki persen hidup sel vero lebih

dari 50%. Hal ini menunjukkan sel vero yang tetap hidup setelah diberi perlakuan oleh sampel lebih dari 50%. Hasil menunjukkan bahwa pada masing-masing tingkat kematangan yang memiliki jumlah sel hidup lebih tinggi pada dosis pemberian terendah yaitu 62,5 µg/ml. Berdasarkan hasil perhitungan rata-rata viabilitas sel vero menunjukkan hasil yang tidak linear dengan tingkat kematangannya, dimana buah 3 minggu memiliki viabilitas lebih tinggi daripada buah 2 minggu dan 4 minggu. Hal ini dikarenakan perbedaan kandungan farmakologi dari buah 3 minggu dengan buah 2 minggu dan 4 minggu, seperti hasil dari *metabolite profiling* dengan menggunakan UPLC-QtoF MS-MS.

Hasil dari data % viabilitas sel hidup pada masing-masing sampel ekstrak buah *P. persica* 2 minggu, 3 minggu, 4 minggu digunakan untuk mencari nilai LC₅₀ dengan menggunakan program SPSS. Penghitungan nilai LC₅₀ menggunakan nilai persen viabilitas sel hidup dengan replikasi 3 kali. Hasil nilai LC₅₀ dari ekstrak etanol 96% buah *P. persica* pada tingkat kematangan 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu, tercantum dalam tabel berikut :

Tabel 5.5 Nilai LC₅₀ sel vero pada pemberian ekstrak etanol 96% buah *P. persica* pada tingkat kematangan 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu.

Tingkat kematangan buah	LC50
2 minggu	23.916,67
3 minggu	7.559,621
4 minggu	38.660,85

Nilai LC₅₀ yang didapatkan dari masing-masing ekstrak etanol buah *P. persica* lebih dari 1000 µg/ml yang menyatakan bahwa ekstrak tidak bersifat toksik terhadap sel vero (sel normal) (Meyer *et al.*, 1982). Dengan nilai LC₅₀ tertinggi pada buah 4 minggu sebesar 38.660,85 µg/ml, disusul dengan tingkat

kematangan 2 minggu sebesar 23.916,67 $\mu\text{g/ml}$, lalu nilai terendah dari LC_{50} pada buah dengan tingkat kematangan 3 minggu, yaitu sebesar 7.559,621 $\mu\text{g/ml}$. Nilai ini menunjukkan bahwa semua ekstrak etanol 96% buah *P. persica* pada tingkat kematangan 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu aman, tidak bersifat toksik terhadap sel vero (sel normal). Nilai LC_{50} yang diperoleh bervariasi, tidak linear, dimana buah 2 minggu memiliki nilai LC_{50} tertinggi, terjadi penurunan pada minggu ke 3 dan meningkat kembali pada minggu ke 4. Ketidaklinearan ini dimungkinkan karena pemilihan usia buah yang bias. Buah tidak diketahui dengan pasti waktu berapa hari usianya, dikarenakan buah yang tinggi tidak dapat ditandai dan dipisahkan berdasarkan tampilan morfologi buahnya.

Peristiwa ketidaklinearan hasil bisa disebut dengan NMDR (*Non-Monotonic Dose Response*). NMDR sangat mungkin untuk terjadi pada saat uji sitotoksik secara *in vitro*, hal ini dikarenakan aktivitas sitotoksik berhubungan dengan pengamatan hormon dapat bersifat toksik pada dosis tinggi dan belum mengubah titik akhir biologis pada dosis rendah. Selain itu, karena perbedaan selektivitas reseptor-afinitas terhadap reseptor pada setiap zat. Bisa juga, karena kompetensi reseptor EDC bersaing dengan hormon alami ke tempat pengikatan reseptor (Ramos, 2017).

Analisa data menggunakan nilai LC_{50} , dimulai dengan tes normalitas *shapiro wilk* dengan menggunakan program IBM SPSS Versi 25. Uji normalitas dilihat dari nilai p yang diperoleh, jika $p > 0,05$ maka data terdistribusi normal, namun jika $p < 0,05$ maka data tidak terdistribusi normal. Hasil tes normalitas pada

penelitian ini menunjukkan nilai $p > 0,05$, yang menyatakan bahwa data terdistribusi normal.

Tabel 5.6 Hasil uji normalitas

X	Tests of Normality			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Y 2 minggu	.178	3	.	.999	3	.951
3 minggu	.266	3	.	.952	3	.579
4 minggu	.195	3	.	.996	3	.881

a. Lilliefors Significance Correction

Selanjutnya dilakukan uji homogenitas menggunakan uji *levene*. Hasil uji homogenitas dilihat dari nilai p yang diperoleh, apabila nilai $p > 0,05$ maka varian kelompok perlakuan homogen, begitu juga sebaliknya apabila nilai $p < 0,05$ maka varian kelompok perlakuan tidak homogen. Hasil dari uji homogenitas yang dilakukan pada penelitian ini menunjukkan nilai $p > 0,05$. Hasil ini menunjukkan bahwa data bersifat parametric.

Tabel 5.7 Hasil uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Y	Based on Mean	1.718	2	6	.257
	Based on Median	1.476	2	6	.301
	Based on Median and with adjusted df	1.476	2	4.083	.329
	Based on trimmed mean	1.705	2	6	.259

Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan data terdistribusi normal dan varian kelompok homogen. Sehingga dilanjutkan uji beda menggunakan ANOVA-*One*. Hasil dari uji ANOVA-*OneWay* diperoleh

signifikanso $>0,05$ yaitu sebesar $p=0,101$, hasil ini menunjukkan bahwa tidak ada beda antara kelompok penelitian. Tidak adanya perbedaan signifikan ini bisa dimungkinkan karena data objek yang digunakan sebagai sampel penelitian tidak dapat membuktikan adanya hubungan antara tingkat kematangan buah dengan aktivitas sitotoksiknya. Uji selanjutnya melihat perbedaan nilai beda dari masing-masing varian sampel ekstrak menggunakan *post hoc* dengan menggunakan LSD (*Least Significant Difference*).

Tabel 5.8 Hasil uji ANOVA-OneWay

ANOVA

Y

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1452230400.148	2	726115200.074	3.436	.101
Within Groups	1268008024.971	6	211334670.828		
Total	2720238425.119	8			

Multiple Comparasion

	2 Minggu	3 Minggu	4 Minggu
2 Minggu		0,217	0,261
3 Minggu	0,217		0,040*
4 Minggu	0,261	0,040*	

*. The mean difference is sinificant at the 0.05 level

Gambar 5.6 Hasil analisa data LSD dari LC_{50} sel vero pada ekstrak etanol 96% buah *P.persica*

Data dikatakan memiliki perbedaan signifikan apabila nilai signifikansi $p < 0,05$. Berdasarkan tabel 5.4. dapat dilihat bahwa sampel yang memiliki perbedaan signifikan yaitu buah tingkat kematangan 3minggu dengan 4 minggu,

dan antara buah tingkat ematanagn 4 minggu dengan 3 minggu. Hasil data menunjukkan bahwa buah 2 minggu tidak memiliki perbedaan signifikan dengan buah 3 minggu dan 4 minggu. Perbedaan yang tidak signifikan ini bukan berarti tidak berpengaruh. Salah satu alasannya dimungkinkan karena sampel yang digunakan tidak dapat mewakili variabel.

Ekstrak etanol buah *P. persica* memiliki nilai LC_{50} yang lebih dari 1000 ppm, hal menunjukkan bahwa bahwa buah *P. persica* aman atau tidak bersifat toksik terhadap sel normal. Namun, dapat dikatakan buah buah *P. persica* tidak memiliki aktiitas sitotoksik terhadap sel vero, dikarenakan menurut Mardany *et.al.*, (2016), nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm. Tidak adanya aktivitas sitotoksik dapat dimungkinkan karena senyawa farmakologi dalam buah yang memiliki aktivitas sebagai antikanker dalam konsentrasi yang sedikit, sehingga tidak dapat memberikan antivitas secara maksimal.

Buah *P. persica* jika memiliki konsentrasi flavonoid lebih banyak, dapat memberikan aktivitas sitotoksik terhadap sel vero, dengan menggunakan mekanisme yang dapat terjadi menurut Ravishankar *et al.*, (2013), flavonoid secara efektif menghambat enzim seperti *xanthine oxidase* , COX (*cyclooxygenase*), dan LOX (*lipoxigenase*) yang terlibat dalam peradangan dan patologi kanker. Flavonoid menghambat aktivitas isoenzim P450, dimana cenderung memiliki peran protektif terhadap induksi kerusakan seluler dengan aktivasi karsinogen. Metabolisme lainnya menginduksi enzim pada fase II yang akan mendetokfikasi dan menghilangkan karsinogen dari tubuh (Sharma *et al.*, 2011). Prediksi flavonoid dalam menghambat enzim COX₂ dimana gugus 5-OH

dan 7-OH pada cincin sinamoil berinteraksi dengan residu dari glisin A192, fenil alanin A518, histidin A90, dan arginin A513. Selain itu juga gugus 3-OH dan 4-OH pada cincin benzoil berinteraksi dengan residu tirosin A385 dan serin A530 (Kartasasmita *et al.*, 2009).

Prediksi ikatan yang terjadi antara flavonoid dengan reseptor *Human Estrogen Alpha Binding* (HER α) yang merupakan reseptor hormon estrogen yang berperan dalam perkembangan, dan proliferasi kanker payudara. Senyawa flavonoid yang digunakan adalah genistein yang telah diteliti dapat digunakan sebagai terapi kanker payudara. Perkiraan ikatan yang terjadi merupakan ikatan hidrogen antara gugus 7-OH pada cincin A genistein dengan residu histidin 524, gugus 4-OH cincin A genistein dengan residu asam glutamat 353 dan arginin 394. Gugus farmakofor yang bertanggung jawab sebagai inhibitor hormon estrogen pada kanker payudara Er α + yaitu gugus karboksil (gugus 4-OH pada cincin A, gugus 7-OH dan 5-OH pada cincin C), dan gugus karbonil (C=O pada cincin B) (Zein *et al.*, 2013).

5.6. Pemanfaatan *Prunus persica* (L.) Batsch dalam Al-Quran

. Allah SWT yang Berkuasa atas segala sesuatu yang memegang segala kendali bagi segala makhluk ciptaan-Nya. Dengan segala kekuasaannya-Nya Allah menciptakan semesta raya sedemikian luas dengan segala manfaatnya. Allah mengajak manusia untuk berpikir dan mencari tahu tentang rahasia dibalik segala ciptaan-Nya dan memerintahkan manusia untuk memanfaatkan kekayaan alam untuk kesejahteraan hidupnya (Afzalur, 2007). Rasa keingintahuan manusia

tentang alam semesta, tidak hanya membaca Al-Quran, melainkan memperhatikan dengan seksama tanda-tanda kekuasaan Allah SWT yang ada di alam untuk menggugah daya pikir dan mata hati dalam menerima kebenaran

Maha besar Allah SWT dengan segala ciptaan-Nya, segala sesuatu ciptaan-Nya untuk dimanfaatkan sebaik-baiknya, termasuk didalamnya tumbuh-tumbuhan. Tumbuhan dapat dimanfaatkan salah satunya sebagai bahan obat. Bagian tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah bagian daun, batang, akar, rimpang, bunga, buah, dan bijinya (Evika, 2008). Allah SWT dalam wahyu-Nya tidak membuat pernyataan yang saintik. Tetapi menunjukkan tanda-tanda (ayat-ayat) berupa fenomena alam dan ciptaan. Jika dipahami secara benar akan mengantarkan kepada kebenaran tertinggi, yaitu Allah SWT (Imrun, 2008). Sebagaimana dalam QS At-Thaha (20):53

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ
أَنْبَاتًا مِنْ تَبَاتٍ شَقَى . (٥٣)

Artinya : *Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan meurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam (QS. At-Thaha (20) :53)*

Berdasarkan Hidayatul Insan bi Tafsiril Quran, Jilid 2, dikutip dalam ww.tafsir.web.id QS. At-Thaha ayat 53 memiliki tafsir yaitu “Wahai Fir’aun, Allah adalah tuhan yang telah menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu, juga

bagi seluruh manusia, dan menjadikan jalan-jalan yang rata dan lebar di atasnya bagimu agar kamu mudah berpergian, dan Dia pula yang menurunkan air hujan dari langit untuk menyuburkan tanah disekitarmu. Allah berdalih menggunakan kalimat langsung dari-Nya ‘kemudian, kami tumbuhkan dengannya, yakni dengan air hujan itu, berjenis-jenis tumbuh-tumbuhan dengan beragam bentuk, rasa, dan kegunaan. Kami telah menganugerahkan kepadamu berjenis-jenis tumbuhan, maka makanlah dan gembalakanlah hewan-hewanmu. Sesungguhnya yang demikian itu terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang yang berakal” (Marwan, 2020).

Berdasarkan ayat di atas dapat dilihat bahwa Allah SWT menciptakan alam semesta dengan segala isinya memiliki manfaat yang beraneka ragam. Segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT tidak sia-sia, memiliki manfaat bagi manusia yang memikirkannya. Seperti halnya buah *P. persica* yang digunakan sebagai obat untuk antidiare bagi masyarakat Suku Tengger. Buah *P. persica* juga diduga berpotensi sebagai salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai antikanker. Penelitian yang dilakukan merupakan aktivitas sitotoksik buah *P. persica* terhadap sel vero (sel normal) berdasarkan tingkat kematangan yang berbeda. Hasil yang menunjukkan bahwa buah *P. persica* tidak bersifat toksik terhadap sel normal dalam penggunaannya sebagai antikanker. Hal ini dapat dilihat dari nilai $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/ml}$.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan kesimpulan yang dapat diambil yaitu:

1. Tidak terdapat aktivitas sitotoksik ekstrak etanol 96% buah *Prunus persica* (L.) Batsch terhadap sel vero berdasarkan nilai LC₅₀. Nilai LC₅₀ tertinggi pada buah 2 minggu yaitu 38.660,85 µg/ml , disusul dengan tingkat kematangan 4 minggu sebesar 23.916,67 µg/ml, lalu nilai terendah dari LC₅₀ pada buah dengan tingkat kematangan 3 minggu, yaitu sebesar 7.559,621 µg/ml, yang menunjukkan bahwa buah *P. persica* aman untuk sel normal (vero).
2. Ada perbedaan signifikan antara buah 3 minggu dan buah 4 minggu. Sementara buah 2 minggu tidak memiliki perbedaan bermakna dengan buah 3 minggu dan 4 minggu.

6.2 Saran

Penelitian selanjutnya dengan menggunakan tingkat kematangan, diharapkan menggunakan kalender atau hitungan waktu yang pasti. Karena dengan menggunakan perbandingan morfologi buah tidak dapat menjamin bahwa buah benar-benar memiliki tingkat kematangan yang sama.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidi, W., Jimenez, S., Moreno, M. A., and Gorgocena, Y. 2011. Evaluation of Antioxidant Compounds and Total Sugar Content in a Nectarine [*Prunus persica* (L.) Batsch] Progeny. *Int. J. Mol. Sci.* 2011, 12.
- Abidin, Z. 1991. *Dasar-Dasar Pengetahuan Ilmu Tanaman*. Bandung: Angkasa.
- Afzalur, R. 2007. *Ensklopedia Ilmu dalam Al-Qur'an*. Cet I. Bandung: PT. Mizan Pustaka.
- Ahmadi, N, E., Mangunwidajaj, D., Suparno, O., and P. Dyah. I. 2011. Pengaruh Tingkat Kematangan Buah Terhadap Aktivitas Larva dan Sifat Fisiko-Kimia Minyak Kamandrah (*Croton tiglium* L.). *Jurnal Littri* (17) (4).
- Assidqi, K., Tjahjaningsih, W., and Sigit, S. 2012. Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Sebagai Antibakteri Terhadap *Aeromonas Hydrophila* Secara *IN VITRO*. *Jpurnal of Marine and Coastal Science*. 1(2), 113-124,2012.
- Atisanto, V.S., Mulyani, S., Triani, I.G.A.L. 2017. Pengeringan Pada Buah Kelusi Pada Suhu 55°C
- Aziz, S. and Habib-ur-Rahman, 2013. Biological activities of *Prunus persica* L. batch. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(15), pp.947–951.
- Batoro, J. 2012. Etnobiologi Masyarakat Tengger Di Bromo Tengger Semeru Jawa Timur. *Disertasi*. Institut Pertanian Bogor. Dharma, A. 2001. Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder. *Makalah Workshop Peningkatan Sumberdaya Alam Hayati dan Rekayasa Bioteknologi*. FMIPA UNAND, Padang.
- Bhagawan, W. S. 2017. Skrining Etnofarmakologi Berbagai Ekstrak Buah Jambu Wer (*Prunus persica* Zieb&Zucc.) pada Bakteri *Escherichia coli* dan *Shigella dysentery* sebagai Antidiare. *Laporan Penelitian Kompetitif Tahun 2017*. UIN Malang.
- Bouzayen, M., Latché, A., Nath, P., and Pech, J. C. 2010. "Mechanism of Fruit Ripening" in *Plant Developmental Biology-Biotechnological Perspective*. Vol. 1, Chapter. 16. New York: Springer.
- Brunicardi F.C., Andersen D.K., Billiar T.R., Dunn D.L. 2010. *Schwartz's Principles of Surgery*. 9th ed. pp: 159-167. The McGraw-Hill Companies. Philadelphia.

- Campbell, N. A., J. B. Reece, and L. G. Mitchell. 2007. Pro-apoptotic effects of 1'-acetoxychavicol acetate in human breast carcinoma cells. *Elsevier*, 173(3), pp.151–160.
- CCRC. 2009. *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta : Farmasi, UGM. Chahar, M. K., Sharma, N., Dobhal, M. P., and Joshi, Y. C. 2011. Flavonoid: A Versatile Source of Anticancer Drugs. *Pharmacognosy Reviews / Vol 5 | Issue 9*.
- Chueahongthong, F., Ampasavate, C., Okonogi, S., Tima, S., and Anuchapreeda, S., 2011. Cytotoxic effects of crude kaffir lime (*Citrus hystrix*, DC.) leaf fractional extracts on leukemic cell lines. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(14), 3097–3105.
- Crowther., J. R. 2003. *The Elisa Guide Book Methods In Molecular Biology*. Vol 149. By huma press.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Edisi III*. Jakarta: Diktorat Jendral POM-Depkes RI.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Diktorat Jendral POM-Depkes RI.
- Dharma, A. 2001. Uji Bioaktifitas Metabolit Sekunder. *Makalah Workshop Peningkatan Sumberdaya Alam Hayati dan Rekayasa Bioteknologi*. FMIPA UNAND, Padang.
- Diniatik. 2015. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daut Kepel (*Stelechocharpus burahol* (BI.) Hook L & Th.) dengan Metode Spektrofotometri. *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi*, Jun 2015,3 (1), 1-5.
- Edrah S., Alafid F., and Kumar A. 2013. Preliminary Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Pistacia atlantica* and *Prunus persica* Plants of Libyan Origin. *International Journal of Science and Research (IJSR)* 2319-7064.
- Evika, S. S. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Prespektif Islam*. Malang: UIN Malang Press.
- Falah, S., Haryadi, D., Kurniatin, P. A., and Syaefudin. 2015. Komponen Fitokimia Ekstrak Daun Suren (*Toona sinensis*) serta Uji Sitotoksitasnya terhadap Sel Vero dan MCF-7. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 13, No. 2.

- Fita, E. F., Listianingsih, D., Hapsari, Y. A., Pradana, R. G., S. Erika, I., and Arifin, I. 2015. Efek Sitotoksis Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* K) dan Doksorubisin Terhadap Sel Kanker Payudara T47D Secara In-Vitro dan In-Silico. *Prosiding Seminar Nasional Peluang Herbal Sebagai Alternatif Medicine*.
- Fitriningrum, R., Sugiyarto, and Susilowati, A. 2013. Analisa Kandungan Karbohidrat Pada Berbagai Tingkat Kematangan Buah Kaarika (*Carica pubescens*) di Kejajar dan Sembungan, Dataran Tinggi Dieng, Jawa Tengah. *Bioeknologi* 10 (1).
- Goncalves, E.M., Ventura, C. A., Yano, T., Macedo, M. L.D., and Ganeri, S. C. 2006. Morphological and growth alterations in vero cells transformed by cysplatin. *Cell biol* 30: 485-494.
- Handayani, H., and Sriherfyna, F. H. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode *Ultrasonic Bath* (Kajian Rasio Bahan: Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 4 No. 1 p.262-272.
- Harefa, W, and Pato, U. 2017. Evaluasi Tingkat Kematangan Buah Terhadap Mutu Tepung Pisang Kepok yang Dihasilkan. *Jom FAPERTA*. Vol. 4 No. 2.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., and Williamson, E. M. 2009. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Jakarta: EGC.
- Hidayat, A., Bhagawan, WS., and Umiyah. 2011. *Etnofarmasi Suku Tengger Kecamatan Senduro Kabupaten Lumajang*. Presented at Simposium Nasional Kimia Bahan Alam XIX, 11-12 Oktober 2011, Samarinda.
- Hsiang, L. H., Hsiang W. H., Tzu, C. L., Yi, W. C., Tian, R. L., Hsin, T. C., Ping, C. L., et al. 2010. Trypsin-Induced Proteome Alteration During Cell Subculture in Mammalian Cell. *Jornal of Biomedical Science*. 211 (3); 300-317.
- Hua, Q., Chen, C., Zur, N. T., Wang, H., Wu, J., Chen, J., Zhang, Z., Zhao, J., Hu, G., and Qin, Y. 2018. Metabolomic Characterization of Pitaya Fruit from Three Red-skinne Cultivars wih Different Pulp Colors. *Plant Physiology and Biochemistry* 126, 1117-125.
- Imrun, R. 2008. *Fenomena Flora dan Fauna dalam Prespektif Al-Quran*. Malang: UIN Malang Press.
- Indrayaningsih, W. O. I., Ibrahim, N., and Anam, S. 2015. Studi Etnofarmasi Tumbuhan Berkhasiat Obat Pada Suku Buton di Kecamatan Binongko

Kabupaten Wakatobi Sulawesi Tenggara. *GALENIKA Journal of Pharmacy* Vol. 1 (2) : 79 – 84.

Indrayanto, G. 2018. Chapter Five - Validation of Chromatographic Methods of Analysis: *Application for Drugs That Derived From Herbs*. Vol 43.

Isnansetyo, A., dan Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton*. Yogyakarta: Kanisius.

Jiang, W. G., Sanders, A. J., Katoh, M., Ungefroren, H., Gieseler, F., Prince, M., Thompson, S. K., Zollo, M., Spano, D., Dhawan, P., Sliva, D., Subbarayan, P. R., Sarkar, M., Honoki, K., Fujii, H., Georgakilas, A. G., Amedei, A., Niccolai, E., *et al.* 2015. Tissue Invasion and Metastasis: Molecular, Biological and Clinical Prespective. *Seminars in Cancer Biology*. Volume 35, Supplement, December 201, Pages S244-S275.

Kartasamita, R.E., Herowati, R., Harmastuti, N., dan Gusdinar, T. 2009. Quercetin Derivates Docking Based on Study of Flavonoids in Interaction to Cyclooxygenase-2. *Indo.J.Chem.* 2009, 9 (2), 297-302.

Kosir, M. A. 2013. Breast Cancer. Usa: Merck. <http://www.Merckmanuals.com/professional/gynecology-and-obstetrics/breast-disorders/breast-cancer#v10065837>.

Kuldikole, J. 2002. Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatments on Enzym Activity and Quality Indicators of Fruit and Vegetables Juices. Berlin: *Dissetation der Techischen Universitas Berlin*.

Kurnijasanti, R., Hamid, I. W., and Rahmawati, K. 2008. Efek Sitotoksik In Vitro dari Ekstrak Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpai*) Terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma. *Jurnal Penelitian Med. Eksakta*. Vol. 7. No. 1.

Kusuma, A. W., Nurlita, N. A., and Hartanti, D. 2010. Efek Sitotoksik dan Poliferatif Kuersetin pada Sel Kanker Kolon WiDr. *PHARMACY*. Vol. 07. No. 03.

Lee, C. K., Park, K. K., Hwang, J. K., Lee, S. K., and Chung, W. Y. 2008. The Pericarp Extract of *Prunus persica* Attenuates Chemotherapy-Induced Acute Nephrotoxicity and Hepatotoxicity in Mice. *Journal of Medicinal Food*. Vol. 11. No. 2.

Liina, A. S. A., Fauziah, H. A., and Nurmiyati. 2017. Studi Etnobotani Tumbuhan Upacara Ritual Adat Kelahiran di Desa Banmati, Kecamatan Tawang Sari, Kabupaten Sukoharjo. *BIOSFER, J.Bio. & Pend.Bio*. Vol.2, No.2.

Ma'at, S. 2011. *Kultur Sel*. Surabaya: Airlangga Press.

- Machana, Sasipawan, Weerapreeyald, Nathida, Sapahat, B., Apiyada, N., dan Bungurn, S. 2011. Cytotoxic and Apoptotic Effects of Six Herbal Plants Against The Human Hepatocarcinoma (HepG2) Cell Line. *Biomed Central*. Volume 6. No. 39.
- Mangan, 2003, *Cara Bijak Menaklukan Kanker*, Agremedia, Jakarta.
- Marbawati, D., and Srjiman. 2015. Konsentrasi Aman Kurkumin dan PV-0 Terhadap Sel Vero Berdasarkan Hasil Uji Sitotoksik. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. Vol. 5. No. 2.
- Mardany, M. P., Linus, Y. C., Aditya, K. K. 2016. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Sitotoksik dari Tumbuhan Sarang Semut (*Myrmecodia beccari* Hook.f.) Asal Kabupaten Merauke. *JURNAL BIOLOGI PAPUA*. Vol 8, No 1, Halaman 13-22.
- Maria van Iersel, M. 2008. Sensible Sonochemistry. *Doctor of Philosophy Dissertation*, Eindhoven: Eindhoven University of Technology.
- Meerlo, J. V., Kaspers, G. J. L., and Cloos, J. 2011. Cell Sensitivity Assays: The MTT Assay. *Cancer Cell Culture: Methods and Protocols, Second Edition, Methods in Molecular*.
- Meizarini, A., Munadzirah, E., and Rachmadi, P. 2005. Sittotoksitas Bahan Restorasi *Cyanoacrylate* dengan Variasi Pebandingan *Powder* dan *Liquid* Menggunakan *MTT assay*. *Jurnal Penelitian Medika Eksakta* Vol. 6 No. 1 April 2005: 16–25.
- Melalatoa, M.Y. 1995. *Ensiklopedi Suku Bangsa di Indonesia* jilid 1 & 2. Jakarta: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.
- Mikapin. 2012. Tes Jurnal Praktikum Mikrobiologi Jilid VI (Penghitungan Jumlah Mikroba dengan Ruang Hitung). *Artikel*. Teknis Kimia.
- Moelyono M.W. 2014. *Etnofarmasi*. Jogjakarta: Deepublish.
- Mosman, T. 1983. Rapid Colorimetric Assay for Celluler Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Journal of Immunological Method*. Vol 16. No 1-2. 55-63.
- Muktiningsih, S.R., Syahrul, M., Harsana, I.W., Budhi, M., and Panjaitan, P. 2001. Review tanaman obat yang digunakan oleh pengobat tradisional di Sumatra Utara, Sumatra Selatan, Bali, dan Sulawesi Selatan. *Media Litbang Kesehatan*, 11(4):25.

- Muliartha., Irawan, W., Armenia, F., and Asnah. 2011. Pengaruh Ekstrak Akar *Taraxacum officinale* (Dandelion) dalam Mengaktifkan Gen Retenoid Acid Reseptor β_2 untuk Menekan Pertumbuhan Kanker Payudara Melalui Proses Demetilasi sehingga Menginduksi Proses Apoptosis. *Indonesian Journal of Cancer* . Vo. 5. No. 2.
- Mulyani NS. 2013. *Kanker Payudara dan PMS Pada Kehamilan*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Ningsih, I. Y. 2016. Studi Etnofarmasi Penggunaan Tumbuhan Obat Oleh Suku Tengger Kabupaten Lumajang dan Malang Jawa Timur. *Pharmacy*. Vol. 13. No. 01.
- Novak, I., P. Janeiro, M. Seruga, and A. M. Oliveira-Brett. 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* 630 (2008): 107–115.
- Novianti, F. A., and Purnami, S. W. 2012. Analisis Diagnosis Pasien Kanker Payudara Menggunakan Regresi Logistik dan *Support Vector Machine* (SVM) Berdasarkan Hasil Mamografi. *JURNAL SAINS DN SENI ITS* Vol. 1, No. 1, (Sept. 2012).\
- Nugroho, A.E., Hermawan, A., Putri, D.D.P., Novika, A., and Meiyanto, E. 2013. Combinational Effects of Hexane Insoluble Fraction of *Ficus septica* Burm.F. and Doxorubicin Chemotherapy on T47D Breast Cancer Cells. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*.
- Oktavia, J. D. 2011. Pengoptimuman Ekstraksi Flavonoid Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) dan Analisis Sidik Jari dengan Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Jurusan Kimia. Bogor: Fakultas dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Pieroni, A., Quave, C., Nebel, S., and Henrich, M. 2002. Ethnopharmacy of the Ethnic Albanians (Arbereshe) of Northern Basilicata, Italy. *Fitoterapia*. 72 (2002): 217- 241.
- Pourhossein, A., M. Madani, and M. Shahlaei. "Valuation of an Ultrasound–assisted Digestion Method for Determination of Arsenic and Lead in Edible Citric Acid Samples by ETAAS." *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy* 54 (1) (2009): 39–44.
- Prastiwi, T. F. 2012. Kualitas Hidup Penderita Kanker. *Developmental and Clinical Psychology*. Vo. 1. No. 1.

- Prayong, P., Barusrux, S., and Weerapreeyakul, N. 2008. Cytotoxic Activity Screening of Some Indigenous Thai Plants. *Fitoterapia*, 79 (7-8), 598-601.
- Rahmawati, A., and Widya, P. 2013. The Characteristic of Pamellofruit Peel Extract Used Ultrasonic Bath Assisted Method (Study of Blanching And Ekstraction Time). *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Volume. Nomor 1.
- Ravishankar, D., Rajora, A.K., Greco, F., Osborn, H.M.I. 2013. Flavonoids as Prospective Compounds for Anti-cancer Therapy. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 30:1-11.
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., and Zhang, L. 2003. Flavonoid: Promising Anticancer Agents. *Medicinal Research Reviews*, Vol. 23, No. 4, 519-534, 2003.
- Rosdiana, A., dan Hadisaputri, Y. E. 2017. Review Artikel: Studi Pustaka Tentang Prosedur Kultur Sel. *FARMAKA. Suplemen* Volume 14 Nomor 1.
- Sajmsuhidat de Jong. 2010. *Buku Ajar Ilmu Bedah* (Edisi 3). Jakarta: EGC.
- Sari, M., Dewi, Y. I., and Utami, A. 2012. Hubungan Dukungan Keluarga Terhadap Motivasi Pasien Kanker Payudara dalam Menjalani Kemotrapi di Ruang Cendrawasih I RSUD Arifin Achmad Provinsi Riau. *Jurnal Ners Indonesia*. Vo. 2. No. 2.
- Septananda, E. 2011. Potensi Ekstrak Batang Benalu Randu (*Dendrothoepentandra*) Terhadap Penurunan Ekspresi Protein p53 Mutan pada Sel Kanker Serviks (Sel HeLa) secara *In Vitro*. *Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya*.
- Sigma-Aldrich. 2016. *Cell Proliferation Kit 1 (MTT) Version 19*. Cat. No. 11 465 007 001.
- Siregar, D., dan Hadijono, B. S. 2000. Uji Sitotoksisitas dengan Esei MTT. *JKGUI*. 200:7, 28-32.
- Smith, L., Watson, M.B., O’Kane, S.L., Drew, P.J., and Lind, M.J., 2006, The Analysis of Doxorubicin Resistance in Human Breast Cancer Cell Using Antibody Microarray, *Molecular Cancer Therapy*, 5(8), 2115-2120.
- Stopeck, A.T. 2015. *Breast Cancer*. <http://emedicine.medscape.com/article/1947145-overview#a5>.
- Sudewo, B. 2012. *BASMI KANKER dengan Herbal*. Jakarta: Transmedia Pustaka.




- Sumolang, D., Pontoh, J., and Abidjulu, J. 2018. Analisis Komponen Kimia pada Berbagai Tingkat Umur Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Menggunakan Kromatografi Gas. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. Vol. 7 No.2 Mei 2018.
- Suryaningsih Kori Endang.2009. *Kupas tuntas kanker payudara*. Yogyakarta: Paradigm Indonesia.
- Susanty and Bachmid, F. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *KONVERSI* Vol. 5 No. 2.
- Syamsuni, H. A. 2006. *Ilmu Resep*. Jakarta: Kedokteran EGC.
- Tohge, T., Alseekh, S., and Fernie, A. R. 2014. On the Regulation And Function of Secondary Metabolism during Fruit Development and Ripening. *Journal of Experimental Botany*, Volume 65, Issue 16.
- Torre, L. A., Bray, F., Siegel, R. L. 2015. Global cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer J Clin*, 65, 87-108.
- Turaalely, R., Hadanu, R., and Mahulete, F. 2012. *Uji Aktivitas Sitotoksik dan Analisis Fitokimia Ekstrak Daun Kapur (Harmsiopanax Aculeatus Hamrs)*. Program Study Pendidikan Kimia. FKIP Universitas Pattimura.
- Voight. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi 5. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Walker, J. M. and R. Rapley. 2008. *Moleculer Biomethods Handbook*. Newe York: Springer Science.
- Wang, J., Wei, Y., Zhao, S., zhou, Y., He, W., Zhang, Y., and Deng, W. 2017. The Analysis of Viability for Mammalian Cell Trated at Different Temperature and Its Application In Cell. *Plos ONE. Public Library of Science*. 12(4).
- Wijaya, C. A and Muchtaridi, M. 2017. Pengobatan Kanker Melalui Metode Gen Terapi. *Farmaka*. Volume 15 Nomor 1.
- Wiksuarini, E., Rochmawati, E., and Rahmah. 2018. Spiritualitas dan Kualitas Hidup pada Pasien Kanker. *Dinamika Kesehatan*, Vol 9 No. 2. 301-312.
- Windadri, F. I., Rahayu, M. R., Uji, T., and Rustiami, H. 2006. Pemanfaatan Tumbuhan Sebagai Bahan Obat Oleh Masyarakat Lokal Suku Muna di

Kecamatan Wakarumba Kabupaten Muna Sulawesi Utara.
BIODIVERSITAS. Vol. 7. No. 4.

- Wulandari, W. 2003. *Perbedaan Konfluensitas dan Viabilitas Sel Kultur Sel Primer Fibroblas dari Jaringan Daun Telinga Rusa Bawean (Axis kuhlii) pada Medium TCM 1999 dan MEM*. Surabaya: UNAIR Press.
- Xu, F., Wang, F., Yang, T., Sheng, Y., Zhong, T., and Chen, Y., 2014, Differential Drug Resistance Acquisition to Doxorubicin and Paclitaxel in Breast Cancer Cells, *Cancer Cell Internasional*, 14(142), 1-13.
- Yang, J., R. Gadi dan T. Thomson. 2011. Antioxidant Capacity, Total Phenol and Ascorbic Acid Content of Noni (*Morinda citrifolia*) Fruits and Leaves at Various Stages of Maturity. *Micronesia*. 41: 167-176.
- Yusuf, M., Indriati, S., and Attahmid, N. F. U. 2018. Karakterisasi Antosisanin Kubis Merah Sebagai Indikator pada Kemasan Cerdas. *Jurnal Galung Tropika*, 7 (1) April 2018, hlmn. 46-55.
- Zein, F.M., Andriani, R., Damayanti, S. 2013. Analisis in Silico Genistein dan Analognya Sebagai Inhibitor Kanker Payudara Reseptor Estrogen AlfaPositif (E α +). *Journal Farmasi Galenika*. Volume 2. No 2.
- Zhang, J., Wang, X., Yu, O., Tang, J., Gu, X., Wan, X., and Fang, F. 2011. Metabolic Profiling of Strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) during Fruit Development and Maturation. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 62, No. 3, pp. 1103-1118.

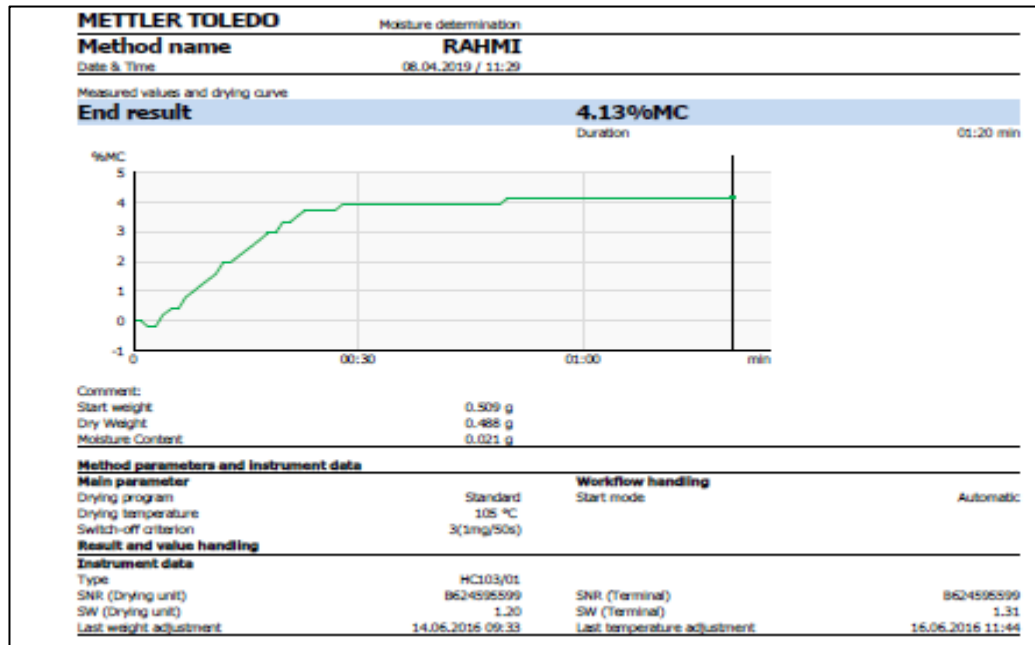
LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi

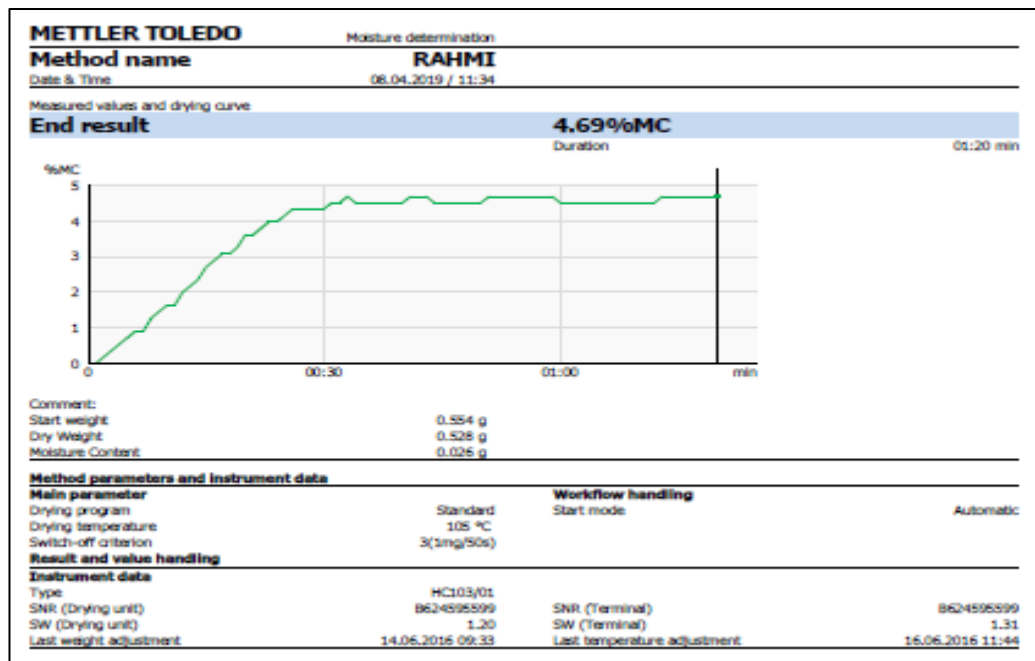
	LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA (INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES) UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN KEBUN RAYA PURWODADI	
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163 Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 4266046 website : http://www.krpurwodadi.lipi.go.id		
<hr/> <u>SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI</u> No. 1365 /IPH.6/HM/XI/2016		
<p>Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh :</p>		
<p><u>Ubaidillah Abdel Barsyaif, NIM : 13670049</u> <u>Muhammad Zulkhaq Vadiyanto, NIM : 13670004</u></p>		
<p>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</p>		
<p>nama ilmiahnya adalah :</p>		
Genus	: <i>Prunus</i>	
Species	: <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch	
<p>Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XV, klasifikasinya adalah</p>		
<p>sebagai berikut :</p>		
Divisio	: <i>Magnoliophyta</i>	
Class	: <i>Magnoliopsida</i>	
Subclass	: <i>Rosidae</i>	
Ordo	: <i>Rosales</i>	
Family	: <i>Rosaceae</i>	
<p>Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.</p>		
<p>Purwodadi, 01 Desember 2016 An. Kepala Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,</p>		
		
<p>Deden Mudiana, S.Hut, M.Si</p>		

Lampiran 2. Penentuan Kadar Air dengan *Moisture Content Analysis*

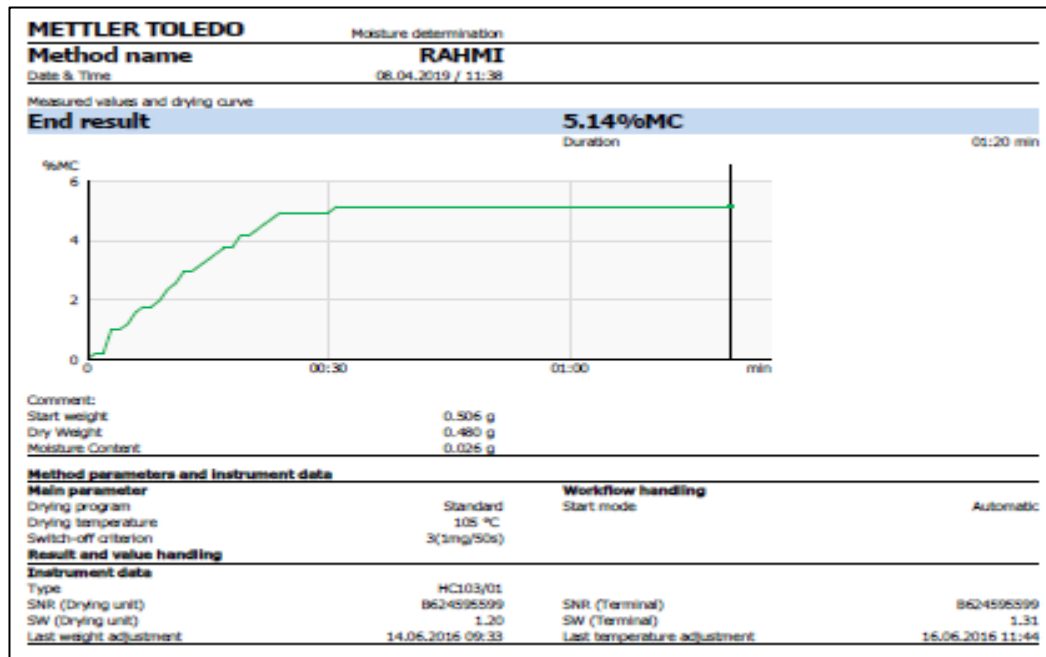
2 Minggu Replikasi 1



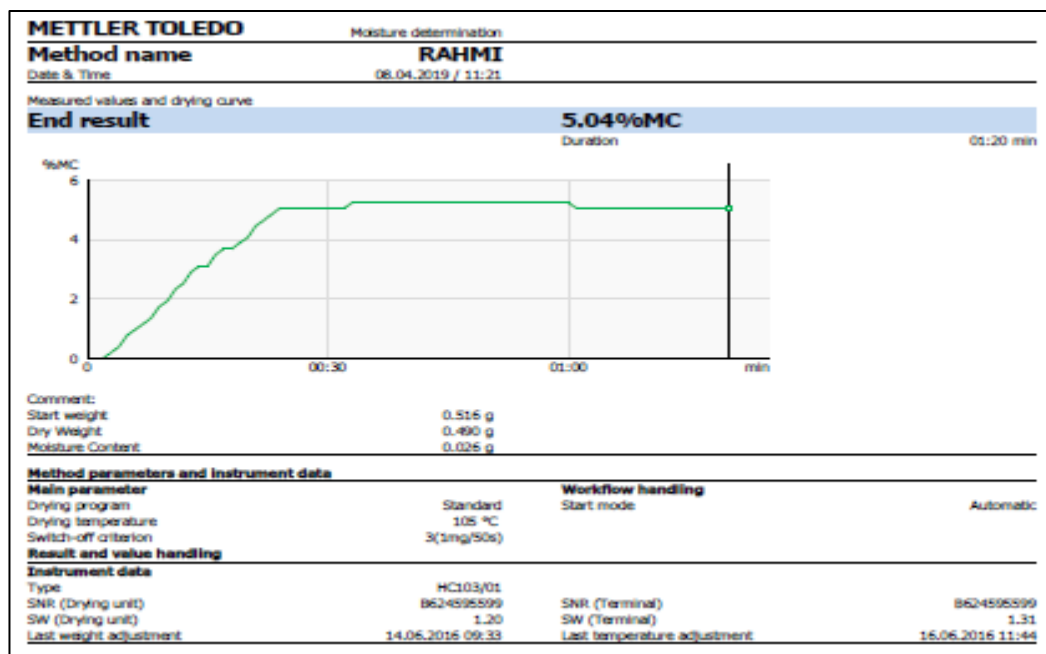
2 Minggu Replikasi 2



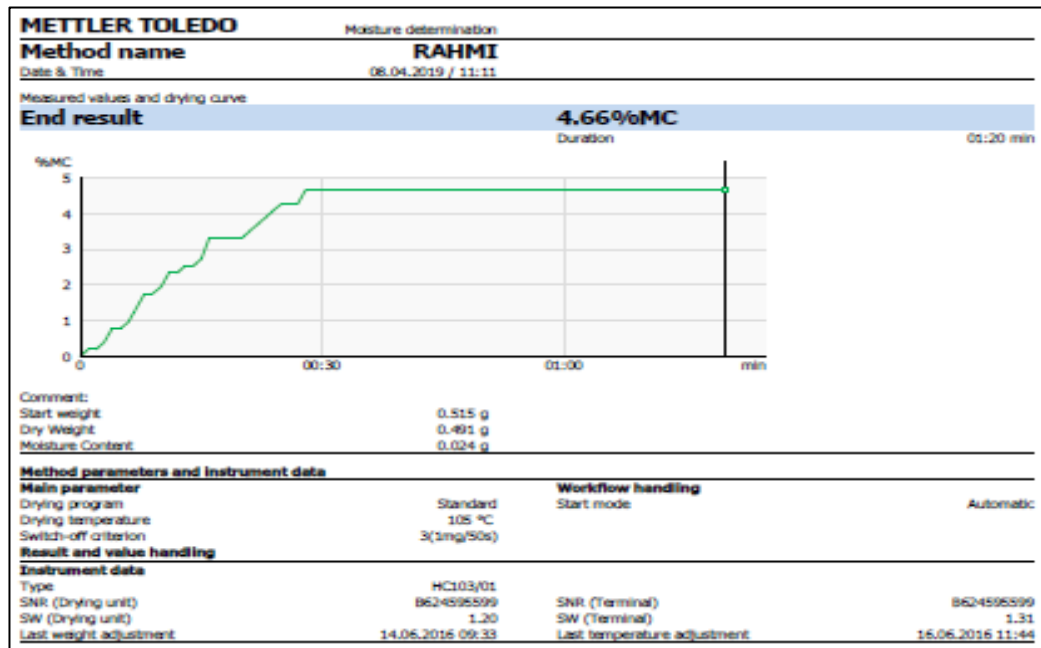
2 Minggu Replikasi 3



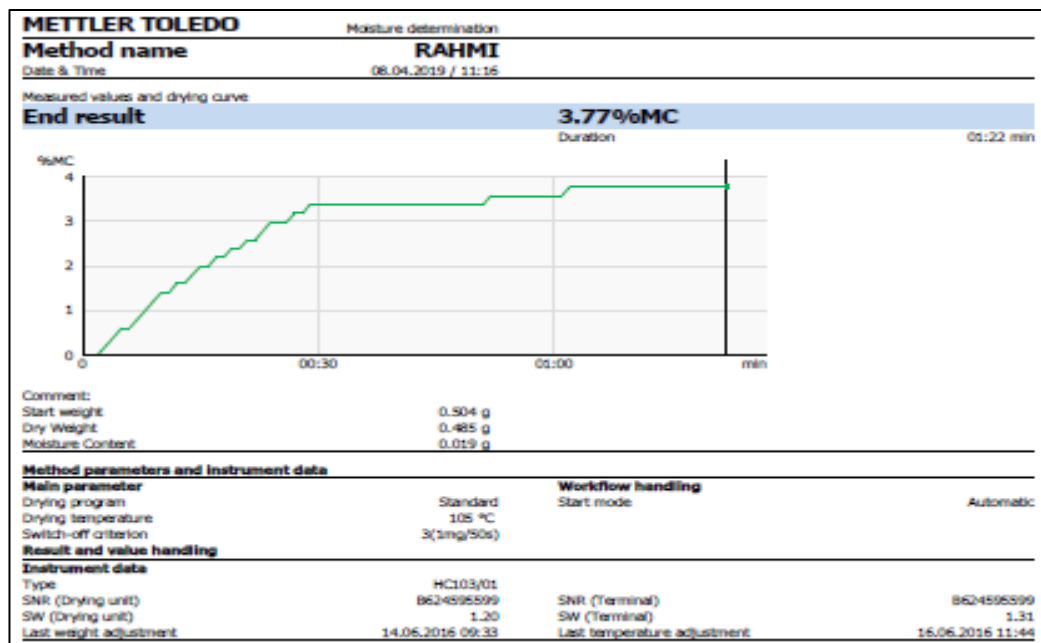
3 Minggu Replikasi 1



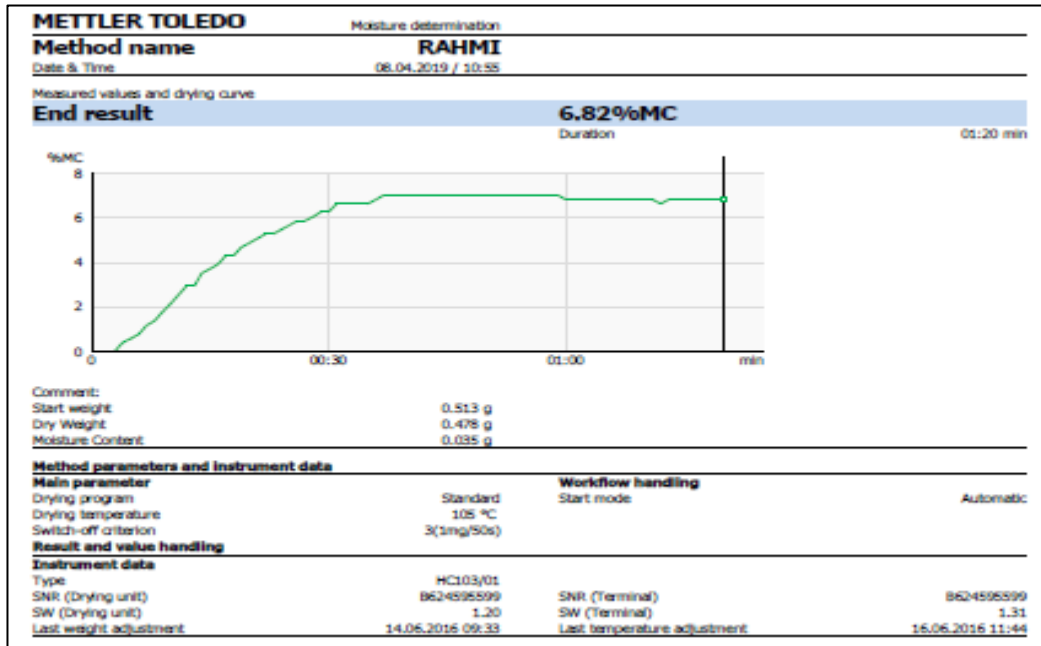
3 Minggu Replikasi 2



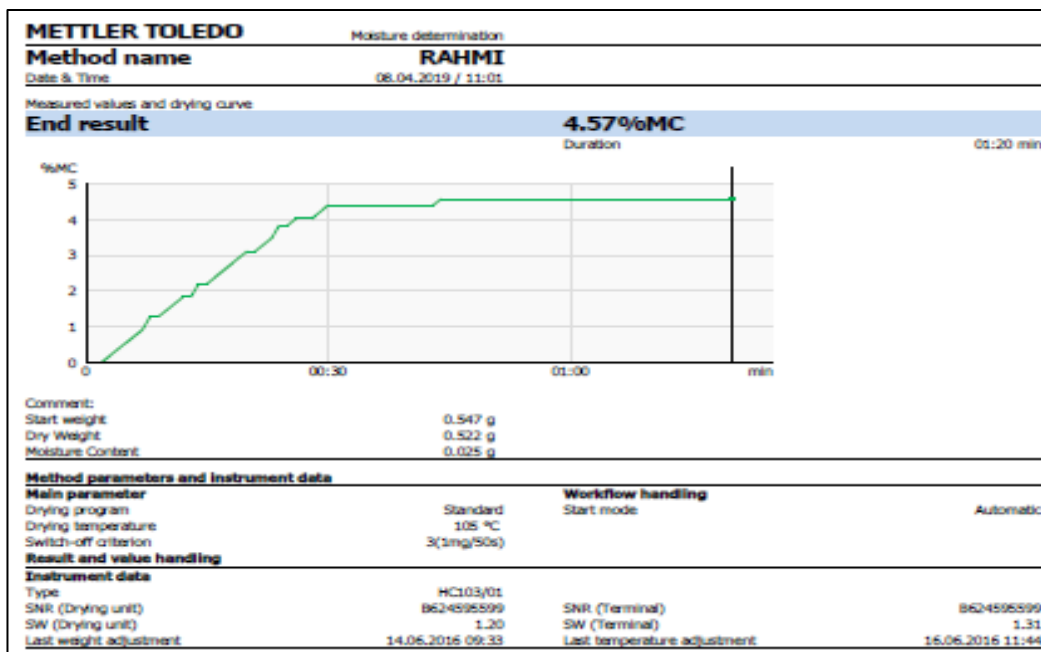
3 Minggu Replikasi 3



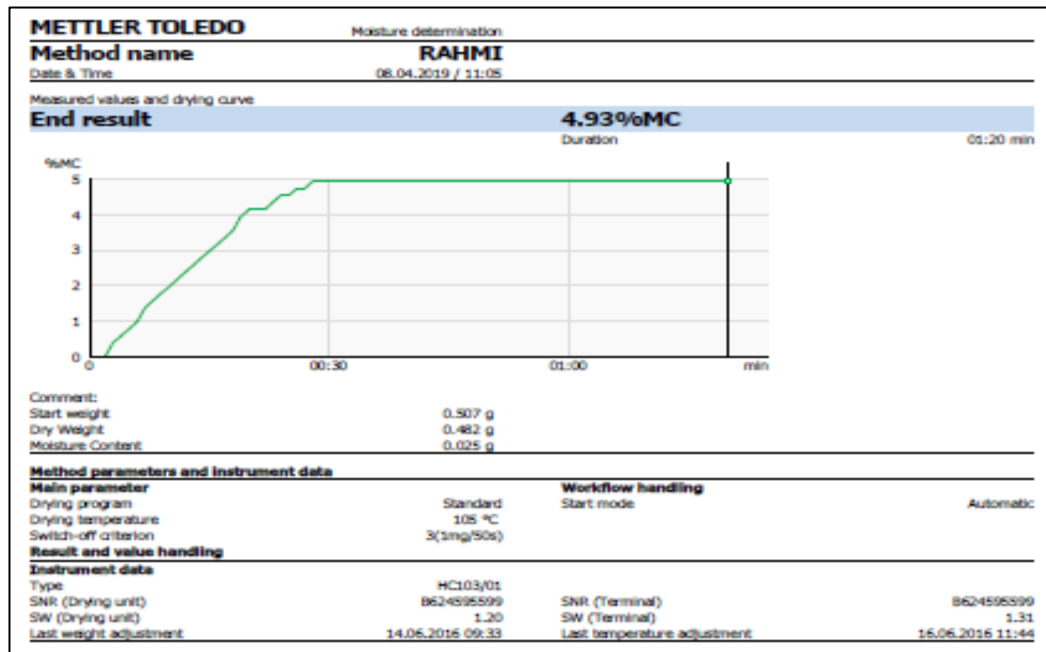
4 Minggu Replikasi 1



4 Minggu Replikasi 2



4 Minggu Replikasi 3



Lampiran 3. Perhitungan rendemen ekstrak buah *P. persica*

3.1 Buah *P. persica* 2 minggu

Berat simplisia serbuk : 240 gr

Berat ekstrak kental : 75,11 gr

$$\% \text{ Rendeman} : \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat simplisia serbuk}} \times 100\%$$

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

3.2 Buah *P. persica* 3 minggu

Berat simplisia serbuk : 250 gr

Bert ekstrak kental : 78,39 gr

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

3.3 Buah *P. persica* 4 minggu



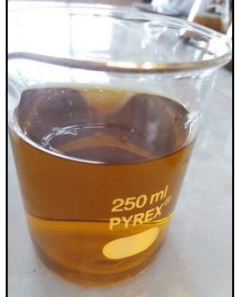


Berat simplisia serbuk : 400 gr

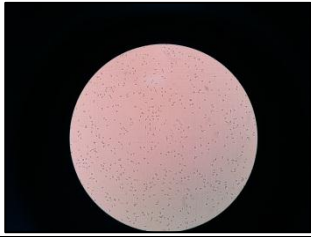



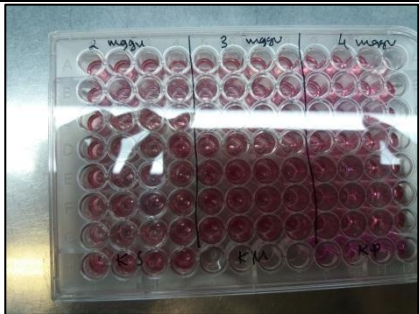
Berat ekstrak kental : 134,62 gr


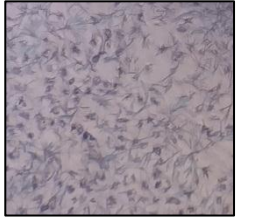

$$\% \text{ Rendeman} : \frac{134,62 \text{ gr}}{400 \text{ gr}} \times 100\% = 33,65 \%$$

Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian Ekstraksi dan Uji Sitotoksik

NO	Gambar	Keterangan
1		Proses pengumpulan sampel buah <i>P.persica</i>
2		Buah di sortir dan dilakukan pencacahan
3		Pengeringan dan di grinding, hingga didapatkan serbuk simplisia kering

4		Simplisia serbuk dimaserasi 23 jam 40 menit.
5		Hasil maserasi di sonikasi selama 3 x 2 menit
6		Ekstrak disaring hingga didiapat ekstrak cair bening
7		Dilakukan pengentalan dengan rotary evaporator
8		Lanjut dioven hingga didapatkan ekstrak kental menuju jering

9		Proses penyiapan sel hingga perhitungan sel
10		Inkubasi selama 24 jam
11		Penimbangan ekstrak yang akan digunakan untuk perlakuan
12		Ekstrak divortex dalam DMSO hingga terlarut
13		Ekstrak diberikan dalam plate-well 96 sesuai umur dan konsentrasinya

14		Proses pemberian larutan MTT
15		Tampilan morfologi sel yang telah terbentuk formazan
16		Plate-well 96 dimasukkan dalam ELISA reader lalu dibaca absorbansinya

Lampiran 5. Perhitungan Bahan Uji Aktivitas Sitotoksik Metode MTT assay

5.1. Pembuatan larutan stock MTT 5 mg/ml

Ditimbang MTT sebanyak 0,05 gram, dilarutkan dalam 10 ml PBS. Divortex hingga terlarut, dan disimpan pada suhu -20°C (dibungkus aluminium foil).

5.2. Pembuatan larutan SDS 10%

Ditimbang SDS sebanyak 10 mg, ditambahkan HCl pekat sebanyak 85 μl , lalu ditambahkan aquadest ad 100 ml. Diaduk dengan stirer hingga terlarut, dan disimpan pada suhu kamar.

5.3. Pembuatan larutan stock 1000 µg/ml buah *P. persica*

Berat ekstrak : 10 mg

Volume pelarut : 100 µl (DMSO)

$$M : \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ µl}} = \frac{10000 \text{ µg}}{0,1 \text{ mL}} = 100000 \text{ µg/ml}$$

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

$$100000 \text{ µg/ml} \times V_1 = 1000 \text{ µg/ml} \times 1000 \text{ µl}$$

$$= 10 \text{ µl}$$

Diambil larutan stock buah *P. persica* yang telah dilarutkan dalam DMSO sebanyak 10 µl. Ditambahkan media M199 990 µl hingga homogen. Untuk konsentrasi dibawah 1000 µg/ml dilakukan pengenceran dari larutan stock 1000 µg/ml.

5.4. Perhitungan konsentrasi sel

Kamar A : 139

Kamar B : 107

Kamar C : 102

Kamar D : 125

Jumlah sel yang dihitung (ml⁻¹)

Σ sel yang dihitung

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

$$\begin{aligned} \Sigma \text{ sel yang dihitung} &= \frac{139 + 107 + 102 + 125}{4} \times 10^4 = \frac{473}{4} \times 10^4 \\ &= 118,25 \times 10^4 / \text{mL} \end{aligned}$$

Jumlah ml panen sel yang ditransfer (konsentrasi sel)

$$\Sigma \text{panen sel yang ditransfer} = \frac{\Sigma \text{total sel yang diperlukan}}{\Sigma \text{sel terhitung /ml}} = \frac{100 \times 10^4}{118,25 \times 10^4 / \text{mL}}$$

$$= 0,845 \text{ mL}$$

Volume panen sel yang diambil sebanyak 845 μl , ditambahkan media M199 ad 10 ml. Setiap *well* berisi 100 μl , ada 96 *well* yang digenapkan menjadi 100 *well* sehingga volume total yang diperlukan untuk memanen sel sebanyak $100 \mu\text{l} \times 100 \text{ well} = 10000 \mu\text{l}$ atau 10 ml.

Lampiran 6. Perhitungan Viabilits Sel

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

Kontrol Sel

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
0,597	0,559	0,588	0,588

Kontrol Media

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
0,102	0,102	0,110	0,104

1. Ekstrak 2 Minggu

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi			% Sel Hidup		
	1	2	3	1	2	3
1000	0,544	0,540	0,518	90,899	90,072	85,522
500	0,547	0,558	0,551	91,520	93,795	92,347
250	0,526	0,531	0,529	87,176	88,210	87,797
125	0,548	0,549	0,531	91,726	91,933	88,210
62.5	0,554	0,551	0,547	92,967	92,347	91,520

a. Konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$

$$1 \text{ Presentase sel hidup} = \frac{(0,544 - 0,1045)}{(0,588 - 0,1045)} \times 100\% = 90,899\%$$

$$2 \text{ Presentase sel hidup} = \frac{(0,540 - 0,1045)}{(0,588 - 0,1045)} \times 100\% = 90,072\%$$

$$3 \text{ Presentase sel hidup} = \frac{(0,518-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 85,522\%$$

a. Konsentrasi 500 µg/ml

$$1 \text{ Presentase sel hidup} = \frac{(0,547-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 91,520\%$$

$$2 \text{ Presentase sel hidup} = \frac{(0,558-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 93,795\%$$

$$3 \text{ Presentase sel hidup} = \frac{(0,551-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 92,347\%$$

b. Konsentrasi 250 µg/ml

$$1 \text{ Presentase sel hidup} = \frac{(0,526-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 87,176\%$$

$$2 \text{ Presentase sel hidup} = \frac{(0,531-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 88,210\%$$

$$3 \text{ Presentase sel hidup} = \frac{(0,529-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 87,797\%$$

c. Konsentrasi 125 µg/ml

$$1 \text{ Presentase sel hidup} = \frac{(0,548-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 91,726\%$$

$$2 \text{ Presentase sel hidup} = \frac{(0,549-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 91,933\%$$

$$3 \text{ Presentase sel hidup} = \frac{(0,531-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 88,210\%$$

d. Konsentrasi 62,5 µg/ml

$$1 \text{ Presentase sel hidup} = \frac{(0,554-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 92,967\%$$

$$2 \text{ Presentase sel hidup} = \frac{(0,551-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 92,347\%$$

$$3 \text{ Presentase sel hidup} = \frac{(0,547-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 91,520\%$$

2. Ekstrak 3 Minggu

Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi			% Sel Hidup		
	1	2	3	1	2	3
1000	0,548	0,544	0,532	91,726	90,899	88,417
500	0,538	0,536	0,535	89,658	89,245	89,038
250	0,541	0,548	0,540	90,279	91,726	90,072
125	0,546	0,538	0,540	91,313	89,658	90,072
62.5	0,588	0,565	0,549	100	95,243	91,933

a. Konsentrasi 1000 µg/ml

$$1 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,548-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 91,726\%$$

$$2 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,544-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 90,899\%$$

$$3 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,532-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 88,417\%$$

b. Konsentrasi 500 µg/ml

$$1 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,538-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 89,658\%$$

$$2 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,536-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 89,245\%$$

$$3 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,535-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 89,038\%$$

c. Konsentrasi 250 µg/ml

$$1 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,541-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 90,279\%$$

$$2 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,548-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 91,276\%$$

$$3 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,540-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 90,072\%$$

d. Konsentrasi 125 µg/ml

$$1 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,546-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 91,312\%$$

$$2 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,538-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 91,726\%$$

$$3 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,540-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 90,072\%$$

e. Konsentrasi 62,5 µg/ml

$$1 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,588-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 100\%$$

$$2 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,565-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 95,243\%$$

$$3 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,549-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 91,933\%$$

3. Ekstrak 4 Minggu

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi			% Sel Hidup		
	1	2	3	1	2	3
1000	0,547	0,549	0,540	91,520	91,933	90,072
500	0,535	0,550	0,534	89,038	92,140	88,831
250	0,531	0,537	0,528	88,210	89,451	87,590
125	0,547	0,549	0,530	91,520	91,933	88,004
62.5	0,553	0,559	0,561	92,761	94,002	94,415

a. Konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$

$$1 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,547-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 901,520\%$$

$$2 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,549-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 91,933\%$$

$$3 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,540-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 90,072\%$$

b. Konsentrasi 500 $\mu\text{g/ml}$

$$1 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,535-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 89,038\%$$

$$2 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,550-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 92,140\%$$

$$3 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,534-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 88,831\%$$

c. Konsentrasi 250 $\mu\text{g/ml}$

$$1 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,531-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 88,210\%$$

$$2 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,537-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 89,451\%$$

$$3 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,528-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 87,590\%$$

d. Konsentrasi 125 $\mu\text{g/ml}$

$$1 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,547-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 91,520\%$$

$$2 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,549-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 91,933\%$$

$$3 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,530-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 88,004\%$$

e. Konsentrasi 62,5 $\mu\text{g/ml}$

$$1 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,553-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 92,761\%$$

$$2 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,559-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 92,002\%$$

$$3 \quad \text{Presentase sel hidup} = \frac{(0,561-0,1045)}{(0,588-0,1045)} \times 100\% = 94,415\%$$

Lampiran 7. Analisis Data SPSS

Lampiran 7.1 LC₅₀ buah 2 minggu replikasi 1

Confidence Limits				
	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	113552.279	.	.
	.020	105120.268	.	.
	.030	99770.427	.	.
	.040	95745.951	.	.
	.050	92472.349	.	.
	.060	89686.000	.	.
	.070	87242.917	.	.
	.080	85055.428	.	.
	.090	83065.994	.	.
	.100	81234.716	.	.
	.150	73652.739	.	.
	.200	67626.823	.	.
	.250	62457.125	.	.
	.300	57814.575	.	.
	.350	53512.561	.	.
	.400	49430.371	.	.
	.450	45480.804	.	.
	.500	41593.857	.	.
	.550	37706.909	.	.
	.600	33757.343	.	.
	.650	29675.152	.	.
	.700	25373.138	.	.
	.750	20730.589	.	.
	.800	15560.890	.	.
	.850	9534.975	.	.
	.900	1952.997	.	.
	.910	121.720	.	.
	.920	-1867.714	.	.
.930	-4055.203	.	.	
.940	-6498.286	.	.	
.950	-9284.635	.	.	
.960	-12558.237	.	.	
.970	-16582.714	.	.	
.980	-21932.554	.	.	
.990	-30364.566	.	.	

Lampiran 7.2 LC₅₀ uah 2 minggu replikasi 2

Confidence Limits				
	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	62832.591	.	.
	.020	58212.343	.	.
	.030	55280.943	.	.
	.040	53075.765	.	.
	.050	51282.023	.	.
	.060	49755.267	.	.
	.070	48416.601	.	.
	.080	47217.984	.	.
	.090	46127.891	.	.
	.100	45124.458	.	.
	.150	40969.978	.	.
	.200	37668.130	.	.
	.250	34835.437	.	.
	.300	32291.592	.	.
	.350	29934.340	.	.
	.400	27697.539	.	.
	.450	25533.407	.	.
	.500	23403.588	.	.
	.550	21273.768	.	.
	.600	19109.637	.	.
	.650	16872.835	.	.
	.700	14515.584	.	.
	.750	11971.738	.	.
	.800	9139.046	.	.
	.850	5837.197	.	.
	.900	1682.717	.	.
	.910	679.284	.	.
	.920	-410.809	.	.
	.930	-1609.425	.	.
	.940	-2948.092	.	.
.950	-4474.848	.	.	
.960	-6268.590	.	.	
.970	-8473.767	.	.	
.980	-11405.167	.	.	
.990	-16025.416	.	.	

Lampiran 7.3 LC₅₀ buah 2 minggu replikasi 3

Confidence Limits				
	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	18757.141	.	.
	.020	17350.457	.	.
	.030	16457.962	.	.
	.040	15786.572	.	.
	.050	15240.448	.	.
	.060	14775.611	.	.
	.070	14368.040	.	.
	.080	14003.108	.	.
	.090	13671.218	.	.
	.100	13365.712	.	.
	.150	12100.836	.	.
	.200	11095.553	.	.
	.250	10233.110	.	.
	.300	9458.609	.	.
	.350	8740.919	.	.
	.400	8059.901	.	.
	.450	7401.008	.	.
	.500	6752.562	.	.
	.550	6104.116	.	.
	.600	5445.223	.	.
	.650	4764.205	.	.
	.700	4046.515	.	.
	.750	3272.014	.	.
	.800	2409.571	.	.
	.850	1404.288	.	.
	.900	139.412	.	.
	.910	-166.094	.	.
	.920	-497.984	.	.
	.930	-862.916	.	.
	.940	-1270.487	.	.
.950	-1735.324	.	.	
.960	-2281.448	.	.	
.970	-2952.837	.	.	
.980	-3845.333	.	.	
.990	-5252.017	.	.	

Lampiran 7.4 LC₅₀ buah 3 minggu replikasi 1

Confidence Limits				
	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	.010	12413.333	.	.
	.020	11546.344	.	.
	.030	10996.268	.	.
	.040	10582.467	.	.
	.050	10245.871	.	.
	.060	9959.376	.	.
	.070	9708.175	.	.
	.080	9483.255	.	.
	.090	9278.699	.	.
	.100	9090.405	.	.
	.150	8310.818	.	.
	.200	7691.226	.	.
	.250	7159.672	.	.
	.300	6682.320	.	.
	.350	6239.982	.	.
	.400	5820.246	.	.
	.450	5414.147	.	.
	.500	5014.487	.	.
	.550	4614.827	.	.
	.600	4208.728	.	.
	.650	3788.992	.	.
	.700	3346.654	.	.
	.750	2869.302	.	.
	.800	2337.748	.	.
	.850	1718.157	.	.
	.900	938.569	.	.
	.910	750.275	.	.
	.920	545.719	.	.
	.930	320.799	.	.
	.940	69.599	.	.
.950	-216.897	.	.	
.960	-553.492	.	.	
.970	-967.294	.	.	
.980	-1517.370	.	.	
.990	-2384.359	.	.	

Lampiran 7.5 LC₅₀ buah 3 minggu replikasi 2

Confidence Limits				
	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	25093.483	.	.
	.020	23268.851	.	.
	.030	22111.181	.	.
	.040	21240.310	.	.
	.050	20531.925	.	.
	.060	19928.977	.	.
	.070	19400.310	.	.
	.080	18926.951	.	.
	.090	18496.451	.	.
	.100	18100.175	.	.
	.150	16459.484	.	.
	.200	15155.516	.	.
	.250	14036.827	.	.
	.300	13032.210	.	.
	.350	12101.282	.	.
	.400	11217.923	.	.
	.450	10363.262	.	.
	.500	9522.152	.	.
	.550	8681.042	.	.
	.600	7826.382	.	.
	.650	6943.023	.	.
	.700	6012.095	.	.
	.750	5007.478	.	.
	.800	3888.789	.	.
	.850	2584.821	.	.
	.900	944.130	.	.
	.910	547.854	.	.
.920	117.353	.	.	
.930	-356.005	.	.	
.940	-884.672	.	.	
.950	-1487.620	.	.	
.960	-2196.006	.	.	
.970	-3066.876	.	.	
.980	-4224.546	.	.	
.990	-6049.178	.	.	

Lampiran 7.6 LC₅₀ buah 3 minggu replikasi 3

Confidence Limits				
	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	22254.871	.	.
	.020	20601.166	.	.
	.030	19551.943	.	.
	.040	18762.654	.	.
	.050	18120.627	.	.
	.060	17574.162	.	.
	.070	17095.019	.	.
	.080	16666.004	.	.
	.090	16275.832	.	.
	.100	15916.678	.	.
	.150	14429.683	.	.
	.200	13247.867	.	.
	.250	12233.974	.	.
	.300	11323.467	.	.
	.350	10479.746	.	.
	.400	9679.137	.	.
	.450	8904.540	.	.
	.500	8142.223	.	.
	.550	7379.906	.	.
	.600	6605.308	.	.
	.650	5804.699	.	.
	.700	4960.979	.	.
	.750	4050.471	.	.
	.800	3036.578	.	.
	.850	1854.762	.	.
	.900	367.768	.	.
	.910	8.613	.	.
.920	-381.559	.	.	
.930	-810.574	.	.	
.940	-1289.717	.	.	
.950	-1836.182	.	.	
.960	-2478.208	.	.	
.970	-3267.498	.	.	
.980	-4316.721	.	.	
.990	-5970.426	.	.	

Lampiran 7.7 LC₅₀ buah 4 minggu replikasi 1

Confidence Limits				
	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	154234.966	.	.
	.020	142724.469	.	.
	.030	135421.427	.	.
	.040	129927.634	.	.
	.050	125458.856	.	.
	.060	121655.225	.	.
	.070	118320.184	.	.
	.080	115334.053	.	.
	.090	112618.287	.	.
	.100	110118.419	.	.
	.150	99768.299	.	.
	.200	91542.351	.	.
	.250	84485.221	.	.
	.300	78147.699	.	.
	.350	72275.041	.	.
	.400	66702.463	.	.
	.450	61310.930	.	.
	.500	56004.877	.	.
	.550	50698.823	.	.
	.600	45307.290	.	.
	.650	39734.712	.	.
	.700	33862.054	.	.
	.750	27524.532	.	.
	.800	20467.402	.	.
	.850	12241.454	.	.
	.900	1891.334	.	.
	.910	-608.534	.	.
	.920	-3324.300	.	.
	.930	-6310.431	.	.
	.940	-9645.472	.	.
.950	-13449.103	.	.	
.960	-17917.881	.	.	
.970	-23411.674	.	.	
.980	-30714.715	.	.	
.990	-42225.213	.	.	

Lampiran 7.8 LC₅₀ buah 4 minggu replikasi 2

Confidence Limits				
	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	105806.300	.	.
	.020	98090.253	.	.
	.030	93194.668	.	.
	.040	89511.910	.	.
	.050	86516.271	.	.
	.060	83966.511	.	.
	.070	81730.871	.	.
	.080	79729.122	.	.
	.090	77908.611	.	.
	.100	76232.828	.	.
	.150	69294.637	.	.
	.200	63780.384	.	.
	.250	59049.645	.	.
	.300	54801.295	.	.
	.350	50864.566	.	.
	.400	47128.995	.	.
	.450	43514.787	.	.
	.500	39957.881	.	.
	.550	36400.975	.	.
	.600	32786.767	.	.
	.650	29051.196	.	.
	.700	25114.467	.	.
	.750	20866.118	.	.
	.800	16135.379	.	.
	.850	10621.125	.	.
	.900	3682.935	.	.
	.910	2007.152	.	.
	.920	186.641	.	.
	.930	-1815.108	.	.
	.940	-4050.749	.	.
.950	-6600.508	.	.	
.960	-9596.148	.	.	
.970	-13278.905	.	.	
.980	-18174.490	.	.	
.990	-25890.538	.	.	

Lampiran 7.9 LC₅₀ buah 4 minggu replikasi 3

Confidence Limits				
	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	55993.416	.	.
	.020	51778.065	.	.
	.030	49103.560	.	.
	.040	47091.634	.	.
	.050	45455.088	.	.
	.060	44062.130	.	.
	.070	42840.778	.	.
	.080	41747.203	.	.
	.090	40752.641	.	.
	.100	39837.144	.	.
	.150	36046.744	.	.
	.200	33034.255	.	.
	.250	30449.807	.	.
	.300	28128.893	.	.
	.350	25978.220	.	.
	.400	23937.442	.	.
	.450	21962.965	.	.
	.500	20019.793	.	.
	.550	18076.621	.	.
	.600	16102.145	.	.
	.650	14061.367	.	.
	.700	11910.694	.	.
	.750	9589.780	.	.
	.800	7005.332	.	.
	.850	3992.842	.	.
	.900	202.442	.	.
	.910	-713.054	.	.
	.920	-1707.617	.	.
	.930	-2801.192	.	.
	.940	-4022.543	.	.
.950	-5415.501	.	.	
.960	-7052.048	.	.	
.970	-9063.974	.	.	
.980	-11738.479	.	.	
.990	-15953.829	.	.	

Lampiran 7.10 Nilai LC₅₀ masing-masing tingkat kematangan buah

Kelompok	LC 50				
	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rata-rata	SD
2 minggu	41593,857	23403,588	6752,562	23916,67	17426,31
3 minggu	5014,487	9522,152	8142,223	7559,621	2309,617
4 minggu	56994,877	39957,881	20019,793	38660,85	18027,57

Lampiran 7.11 Hasil Uji Normalitas

Tests of Normality						
X	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Y 2 minggu	.178	3	.	.999	3	.951
3 minggu	.266	3	.	.952	3	.579
4 minggu	.195	3	.	.996	3	.881

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran 7.12 Hasil Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Y	Based on Mean	1.718	2	6	.257
	Based on Median	1.476	2	6	.301
	Based on Median and with adjusted df	1.476	2	4.083	.329
	Based on trimmed mean	1.705	2	6	.259

Lampiran 7.13 Hasil Tes ANOVA-OneWay

ANOVA					
Y					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1452230400.148	2	726115200.074	3.436	.101
Within Groups	1268008024.971	6	211334670.828		
Total	2720238425.119	8			

Lampiran 7.14. Hasil Tes Post Hoc-Least Significant Difference (LSD)

Multiple Comparisons						
Y						
LSD						
(I) X	(J) X	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
2 minggu	3 minggu	16357.04833	11869.70010	.217	-12687.0615	45401.1582
	4 minggu	-14744.18133	11869.70010	.261	-43788.2912	14299.9285
3 minggu	2 minggu	-16357.04833	11869.70010	.217	-45401.1582	12687.0615
	4 minggu	-31101.22967*	11869.70010	.040	-60145.3395	-2057.1198
4 minggu	2 minggu	14744.18133	11869.70010	.261	-14299.9285	43788.2912
	3 minggu	31101.22967*	11869.70010	.040	2057.1198	60145.3395

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

Lampiran 8. Dokumen penelitian

Lampiran 8.1 Surat izin penelitian

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

Nomor : 362 /JN1/KU.3/PRST.2/LT/2019
Hal : Ijin Penelitian

6 Agustus 2019

Kepada Yth.
SRI PATIMAH
NIM. 15670043
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
Malang

Dengan hormat,
Menanggapi surat saudara tertanggal 2 Agustus 2019 tentang ijin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Parasitologi yang berjudul:

"AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL 96% BUAH *Prunus persica* (L.) Batsch BERDASARKAN TINGKAT KEMATANGANNYATERHADAP SEL VERO"

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

1. Menikuti 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. 195804121986011001.

Tembusan Yth. :
1. Prof. dr. Supargiyono, DTM&H, SU, PhD, SpParK.
2. Suprihatin, SE, MBA.

Lampiran 8.2 Sertifikat Pelatihan Kultur Sel



Lampiran 8.3 Ethical Clearance Penelitian

	MEDICAL AND HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE (MHREC) FACULTY OF MEDICINE, PUBLIC HEALTH AND NURSING UNIVERSITAS GADJAH MADA – DR. SARDJITO GENERAL HOSPITAL	
ETHICS COMMITTEE Exemption Letter		
Ref. No. : KE/FK/0845 /EC/2019		
Title of the Research Protocol	: Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol 96% Buah <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch Berdasarkan Tingkat Kematangannya Terhadap Sel Vero	
Document(s) and version	: Study Protocol version 01 2019	
Principle Investigator	: Sri Patimah	
Participating investigator(s)	: 1. Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt. 2. Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm., Apt.	
Institution(s)/place(s) of research	: 1. Laboratorium Fitokimia, Kimia Dasar, dan Teknologi Formulasi dan Sediaan Likuid & Solid Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang 2. Laboratorium Protho, Parasitologi Jurusan Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada (UGM)	
<p>The Medical and Health Research Ethics Committee (MHREC) states that the document(s) above meet The Office for Human Research Protections (OHRP) under the requirements of the U.S. Department of Health and Human Services (HHS) regulations at 45 CFR part 46 for exempt review.</p>		
Yogyakarta, 23 JUL 2019		
		
Dr. dr. Eti Nurwening Sholikhah, M.Kes., M.Med.Ed. Panel's Vice Chairperson	dr. Rizka Humardewayanti A., Sp.PD-KPTL Panel's Secretary	
<hr/> <i>Recognized by Forum for Ethical Review Committees in Asia and the Western Pacific (FERCAP)</i> 22-Jul-19		

Lampiran 8.4. Surat Bebas Tanggungan Penelitian



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

SURAT KETERANGAN No. 3757/UNI/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 : SRI PATIMAH
NIM : 15670043
Institusi : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
Malang

Telah melakukan penelitian di Departemen Parasitologi FKKMK UGM dengan judul :

"AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL 96% BUAH *Prunus persica* (L) Batsch
BERDASARKAN TINGKAT KEMATANGANNYATERHADAP SEL VERO"

Dibawah supervisi laboratorium: Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.
Waktu Penelitian: 6 Agustus 2019 sampai dengan 14 Agustus 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, 15 Agustus 2019



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