

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER PAYUDARA DAN IDENTIFIKASI
SENYAWA AKTIF AKAR DAN DAUN ANTING-ANTING
(*Acalypha indica* L.)**

SKRIPSI

Oleh:
SITI KHODIJAH
NIM. 12630043



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER PAYUDARA DAN IDENTIFIKASI
SENYAWA AKTIF AKAR DAN DAUN ANTING–ANTING
(*Acalypha indica* L.)**

SKRIPSI

Oleh:
SITI KHODIJAH
NIM. 12630043

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S. Si)

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2017**

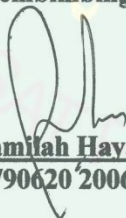
**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER PAYUDARA DAN IDENTIFIKASI
SENYAWA AKTIF AKAR DAN DAUN ANTING-ANTING
(*Acalypha indica* L.)**

SKRIPSI

Oleh:
SITI KHODIJAH
NIM. 12630043

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 14 Maret 2017

Pembimbing I



Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

Pembimbing II



Umaiyatus Syarifah, M.A
NIP. 19820925 200901 2 005



Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER PAYUDARA DAN IDENTIFIKASI
SENYAWA AKTIF AKAR DAN DAUN ANTING-ANTING
(*Acalypha indica* L.)**

SKRIPSI

Oleh:
SITI KHODIJAH
NIM. 12630043

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 14 Maret 2017

Penguji Utama	: Diana Candra Dewi, M.Si NIP. 19770720 200312 2 001	(.....)
Ketua Penguji	: Dewi Yuliani, M.Si NIDT. 19880711 20160801 2 067	(.....)
Sekretaris Penguji	: Elok Kamilah Hayati, M.Si NIP. 19790620 200604 2 002	(.....)
Anggota Penguji	: Umaiyatus Syarifah, M.A NIP. 19820925 200901 2 005	(.....)

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia



Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Siti Khodijah
NIM : 12630043
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antikanker Payudara dan Identifikasi Senyawa Aktif Akar dan Daun Aning-anting (*Acalypha indica* L.)

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

Malang, 14 Maret 2017

Yang membuat pernyataan,



Siti Khodijah
NIM. 12630043

MOTTO

ALLAH TIDAK AKAN MENGUJI HAMBANYA MELEBIHI KEMAMPUAN
HAMBANYA

PERCAYALAH, APA YANG KAMU INGINKAN SELAMA INI BUKAN SELAMANYA
YANG TERBAIK UNTUKMU. ALLAH LEBIH TAHU APA YANG TERBAIK UNTUKMU



LEMBAR PERSEMBAHAN

Kala fajar berganti senja

Ku pandangi langit yang menyinarakan sinar merah

Di ufuk barat

Ku anggap, semua bayangan yang ku fikir selama ini

Juga akan berubah menjadi suatu cita-cita ku nyata

Yang akan memberikan sinar ilmu

Kepada makhluk Allah yang lain

Meskipun ilmu itu tidak banyak dan sempurna

Trimakasih kepada Allah SWT

Yang telah memberikan kekuatan, kesabaran, dan kesehatan

Sehingga karya ini bisa terselesaikan

Teruntuk kedua orang tuaku, Bapak Amanuddin dan Ibu Khoiriyah (Almih)

Yang telah menuturkan do'anya dan memberikan semangat untukku

Trimakasih kepada dua mbk ku tersayang, mbk Masnunah dan Mashuroh, S.Pd.I

Yang selalu mengarahkan ku, memberikan motivasi, dan kasih sayang layaknya ibuku sendiri

Untuk kedua adikku tercinta, Durrotul Munawwaroh dan Afra Nayla Az-Zahra

Yang selalu menghiburku dan melukiskan senyum tulusnya untukku

Tak lupa trimakasih kepada Bapak/Ibu Dosen serta laboran, terutama Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, Ibu Dewi Yuliani, M.Si dan Ibu Umaiatus Syarifah, M.A

Yang telah membimbing sehingga karya ini bisa terselesaikan dengan baik

Trimakasih kepada teman-temanku, khususnya mbk ilmi, mbk lely dan habibah

Yang tak tega melihatku penelitian sendiri (hehehe..), sehingga mereka sering membantuku baik dalam penelitian dan penyelesaian karya ini

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah dengan rasa syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang maha pengasih lagi maha penyayang, yang mana dengan limpahan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan semaksimal mungkin, walaupun masih jauh dari kesempurnaan. Semoga dari apa yang kami upayakan ini dapat bermanfaat bagi kita.

Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad SAW yang karena ajaran beliau kita dapat menuju jalan yang lurus, jalan yang diridhoi Allah. Semoga Allah melimpahkan rahmat yang sesuai dengan keutamaan sebagai pahala atas amal perbuatan kepada Beliau, serta kepada semua keluarga, sahabat, para pengikut dan juga pecintanya yang senantiasa meneruskan perjuangan sampai saat ini hingga akhir zaman.

Penyusunan skripsi ini dimaksudkan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan tugas akhir di Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Dalam menyelesaikan penulisan laporan penelitian ini tidak lepas dari bimbingan, nasehat, petunjuk serta bantuan dari semua pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada.

1. Bapak Amanuddin dan Ibu Khoiriyah (Almh) tercinta, kedua kakak Siti Masnunah dan Mashuroh, S.Pd.I yang selalu memberi motivasi, serta kedua keponakan Durrotul Munawwaroh dan Afra Nayla Az-Zahra yang senantiasa melukiskan senyumnya untuk penulis.
2. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Hj. Bayyinatul M, drh, M.Si selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

5. Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku dosen pembimbing skripsi yang telah banyak meluangkan waktu untuk membimbing, memotivasi, mengarahkan dan memberi masukan dalam penulisan skripsi ini.
6. Umaiatus Syarifah, M.A selaku dosen pembimbing agama yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membimbing dalam penulisan skripsi ini.
7. Dewi Yuliani, M.Si selaku konsultan dalam penulisan skripsi ini.
8. Seluruh Dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana dan wawasannya, sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
9. Teman-teman Jurusan Kimia angkatan 2012 Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberi motivasi, informasi, dan masukan pada penulis dalam penulisan skripsi ini.
10. Kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah ikut memberikan bantuan dan motivasi selama penulisan skripsi ini sampai selesai disusun,.

Teriring do'a dan harapan semoga apa yang telah mereka berikan kepada penulis, mendapatkan balasan yang lebih baik dari Allah SWT. Aamiin. Akhirnya dengan segala kekurangan dari skripsi ini, sangat diharapkan saran dan kritik yang bersifat konstruktif dari semua pembaca demi sempurnanya skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita. Aamiin.

Malang, 14 Maret 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 LatarBelakang	1
1.2 RumusanMasalah	5
1.3 TujuanPenelitian	6
1.4 BatasanMasalah.....	6
1.5 ManfaatPenelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Tanaman Anting-Anting (<i>Acalypha indica</i> L.)	8
2.1.1 Morfologi Tanaman Anting-anting	8
2.1.2 Manfaat	10
2.1.3 Kandungan Senyawa Aktif	10
2.2 Ekstraksi Senyawa Aktif	11
2.2.1 Ekstraksi Maserasi	11
2.2.2 Ekstraksi Cair-Cair (Ekstraksi Partisi)	12
2.3 Kanker Payudara	13
2.3.1 Sel Kanker T47D	14
2.3.2 Uji Aktivitas Antikanker Secara <i>In Vitro</i> dengan Metode MTT	15
2.3.3 Senyawa Aktif Antikanker	16
2.3.4 Mekanisme Senyawa Antikanker	17
2.4 Identifikasi Pemisahan Senyawa Aktif	18
2.4.1 Kromatografi Lapis Tipis	18
2.4.2 Uji Fitokimia Senyawa Aktif	19
2.4.2.1 Flavonoid	19
2.4.2.2 Alkaloid	21
2.4.2.3 Steroid.....	22
2.4.2.4 Triterpenoid	24
2.4.2.5 Tanin	24
2.4.2.6 Saponin	25
2.4.3 Spektrofotometer FTIR	26

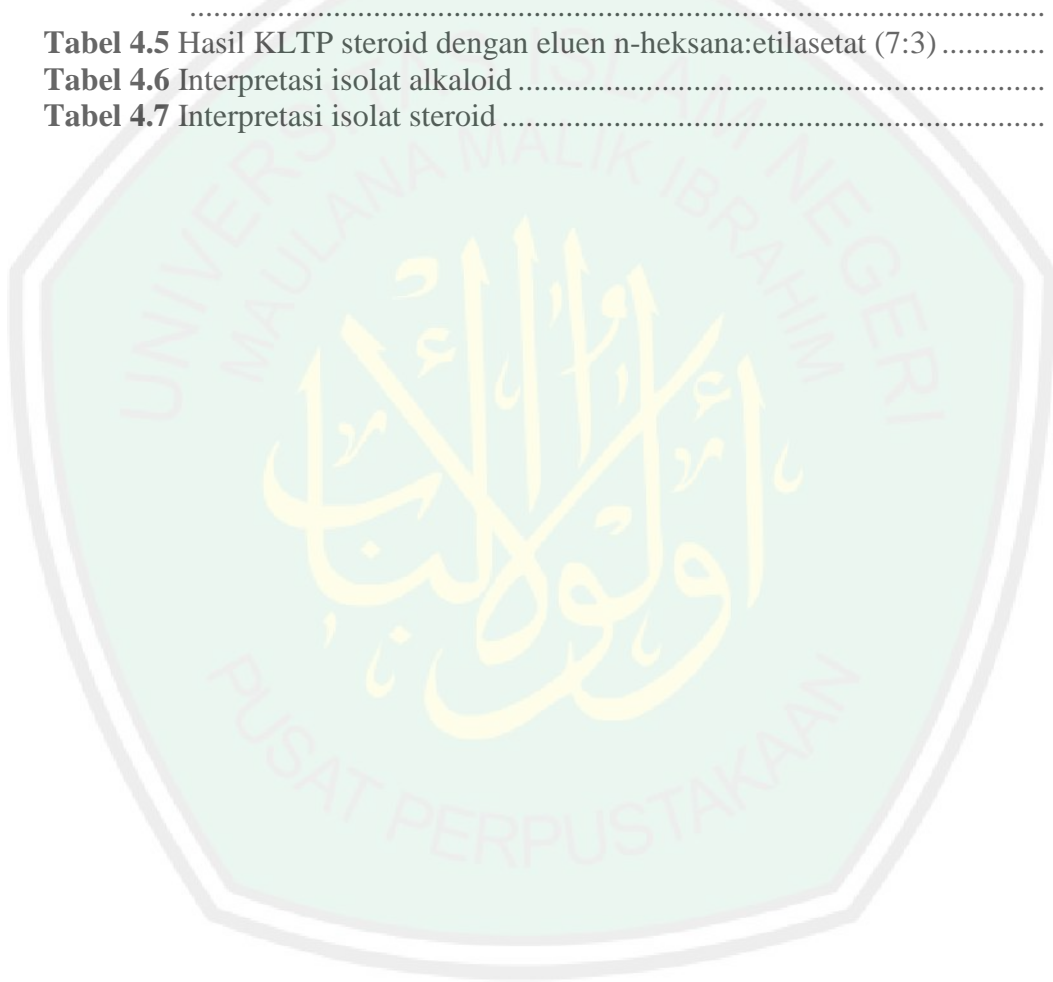
BAB III METODE PENELITIAN	28
3.1 Pelaksanaan Penelitian	28
3.2 Alat dan Bahan	28
3.2.1 Alat	28
3.2.2 Bahan	29
3.3 Tahapan Penelitian	29
3.4 Cara Kerja	30
3.4.1 Preparasi Sampel	30
3.4.2 Analisis Kadar Air	30
3.4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif	30
3.5 Uji Antikanker dengan Metode MTT	32
3.5.1 Penyiapan Sel	32
3.5.2 Perhitungan Sel Kanker	32
3.5.3 Peletakan Sel Pada <i>Plate</i>	33
3.5.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan sampel pada <i>plate</i>	33
3.5.5 Pemberian Larutan MTT	33
3.6 Uji Fitokimia Senyawa Aktif	34
3.6.1 Uji Flavonoid	34
3.6.2 Uji Alkaloid	34
3.6.3 Uji Tanin	34
3.6.4 Uji Triterpenoid dan Steroid	35
3.6.5 Uji Saponin	35
3.7 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Preparatif	35
3.8 Identifikasi Senyawa Aktif dengan Spektrofotometer FTIR	36
3.9 Analisis Data	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	37
4.1 Preparasi Sampel	37
4.2 Analisis Kadar Air	37
4.3 Ekstraksi senyawa Aktif	38
4.3.1 Ekstraksi Maserasi	38
4.3.2 Ekstraksi Cair-Cair	40
4.4 Uji Antikanker dengan Metode MTT	41
4.5 Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Daun Ating-ating	47
4.5.1 Uji Fitokimia	47
4.5.1.1 Alkaloid	48
4.5.1.2 Steroid	50
4.5.2 Pemisahan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)	52
4.5.2.1 Alkaloid	52
4.5.2.2 Steroid	54
4.5.3 Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan Spektrofotometer FTIR ...	55
4.5.3.1 Alkaloid	55
4.5.3.2 Steroid	56

BAB V PENUTUP	58
5.1 Kesimpulan	58
5.2 Saran.....	58
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN	68



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Interpretasi spektra FTIR senyawa tannin pada fraksi n-heksana	27
Tabel 2.2 Interpretasi spektra FTIR senyawa triterpenoid fraksi n-heksana.....	27
Tabel 4.1 Pengamatan ekstrak pekat daun dan akar anting-anting	39
Tabel 4.2 Nilai IC ₅₀ uji aktivitas antikanker akar, daun anting-anting	45
Tabel 4.3 Hasil kandungan senyawa aktif ekstrak etanol daun anting-anting ...	48
Tabel 4.4 Hasil KLTP alkaloid dengan eluen kloroform:metanol (9,5:0,5)	53
Tabel 4.5 Hasil KLTP steroid dengan eluen n-heksana:etilasetat (7:3)	54
Tabel 4.6 Interpretasi isolat alkaloid	55
Tabel 4.7 Interpretasi isolat steroid	57



DAFTAR GAMBAR

2.1	Anting-Anting (<i>Acalypha indica</i> Linn.)	8
2.2	Fisiologi Payudara	13
2.3	Sel Kanker T47D	14
2.4	Reaksi MTT Membentuk Formazan.....	15
2.5	Siklus Pembelahan Sel Transisi Fase G ₁ ke S	17
2.6	Reaksi Dugaan Antara Senyawa Flavonoid dengan Logam Mg dan HCl Peekat	20
2.7	Reaksi Dugaan Antara Senyawa Alkaloid dengan Pereaksi Dragendroff.....	21
2.8	Reaksi Dugaan Antara Senyawa Alkaloid dengan Pereaksi Mayer	22
2.9	Contoh Reaksi Fukosterol dengan Reagen Lieberman-Burcahrd	23
2.10	Reaksi Dugaan Antara Senyawa Tanin dengan FeCl ₃	25
2.11	Reaksi Dugaan Saponin dengan Uji Forth.....	26
4.1	Kenampakan Morfologi Sel T47D Setelah Diinkubasi 24 Jam.....	43
4.2	Reaksi MTT Membentuk Formazan.....	44
4.3	Reaksi Senyawa Alkaloid Dengan Pereaksi Dragendroff	49
4.4	Reaksi Senyawa Alkaloid Dengan Pereaksi Mayer.....	49
4.5	Reaksi β-sitosterol dengan reagen Lieberman-Burcahrd.....	51
4.6	Hasil Spektra FTIR Alkaloid	56
4.7	Hasil Spektra FTIR Steroid	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Diagram Alir Penelitian.....	68
Lampiran 2	Skema Kerja	69
Lampiran 3	Perhitungan dan Cara Pembuatan Reagen dan Larutan.....	77
Lampiran 4	Data dan Perhitungan Hasil Penelitian	83
Lampiran 5	Dokumentasi	102



ABSTRAK

Khodijah, S. 2016. Uji Aktivitas Antikanker Payudara dan Identifikasi Senyawa Aktif Akar dan Daun Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Elok Kamilah Hayati, M.Si.; Pembimbing II: Umayyatus Syarifah, M.A.; Konsultan: Dewi Yuliani, M.Si.

Kata Kunci : anting-anting (*Acalypha indica* L.), sel kanker payudara T47D, MTT, fitokimia, FTIR

Acalypha indica L. merupakan salah satu tumbuhan obat yang banyak ditemukan di Indonesia. Tujuan penelitian untuk mengetahui aktivitas antikanker payudara T47D dan identifikasi senyawa aktif pada ekstrak dan fraksi daun dan akar *Acalypha indica* L.. Ekstraksi senyawa aktif dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak etanol diekstraksi cair-cair menggunakan pelarut kloroform dan n-heksana. Ekstrak etanol, fraksi kloroform serta n-heksana daun dan akar *Acalypha indica* L. diuji aktivitas sitotoksik menggunakan metode MTT. Nilai IC_{50} yang diperoleh pada daun *Acalypha indica* L. ekstrak etanol, fraksi kloroform serta n-heksana berturut-turut adalah 122; 338; dan 255 $\mu\text{g/mL}$. Pada akar *Acalypha indica* L. diperoleh IC_{50} ekstrak etanol, fraksi kloroform serta n-heksana berturut-turut adalah 354; 215; dan 315 $\mu\text{g/mL}$. Aktivitas sitotoksik tertinggi adalah ekstrak etanol daun *Acalypha indica* L. yang mengandung senyawa steroid dan alkaloid. Hasil identifikasi adanya senyawa tersebut didukung dengan instrumentasi FTIR. Hasil identifikasi dugaan alkaloid dengan FTIR menunjukkan gugus spesifik berupa N-H, C-N, C=O dan C-H, sedangkan dugaan steroid menunjukkan gugus spesifik berupa =C-H siklik, C=C, C-H dan O-H.

ABSTRACT

Khodijah, S. 2016. Anticancer Activity Test of Breast and Identification of Active Compounds Anting-anting's (*Acalypha indica* L.) roots, leaves. Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Supervisor I: Elok Kamilah Hayati, M.Si.; Supervisor II: Umayyatus Syarifah, M.A.; Consultant: Dewi Yuliani, M.Si.

Keywords: anting-anting (*Acalypha indica* L.), breast cancer cells T47D, MTT, phytochemicals, FTIR

Acalypha indica L. is one of the herbal plants that can be found in Indonesia. This research aims to determine the anticancer activity of breast T47D and identify active compounds in extracts and fractions of *Acalypha indica* L.'s leaves and roots. Extraction of the active compound was conducted by maceration method using 96% ethanol. The concentrated extract of ethanol is conducted by liquid-liquid extraction using chloroform and n-hexane. The extract of ethanol, fraction of chloroform and n-hexane of the *Acalypha indica* L.'s leaves and roots tested cytotoxic activity using MTT method. IC_{50} value on *Acalypha indica* L.'s leaves obtained extract of ethanol, fractions of chloroform and n-hexane were 122; 338; and 255 mg/mL. *Acalypha indica* L.'s roots was obtained IC_{50} ethanol extract, fractions of chloroform and n-hexane were 354; 215; and 315 mg/mL. The highest cytotoxic activity was extract of ethanol of *Acalypha indica* L.'s leaves containing steroid compounds and alkaloids. Existence identification result of these compounds were supported by the use of FTIR instrumentation. Identification result of alkaloids assumption that did by the use of FTIR instrumentation indicated that, there are specific clusters such as N-H, C-N, C=O and C-H, whereas, the steroids assumption indicated that, there are specific clusters such as =C-H cyclic, C=C, C-H and O-H.

ملخص البحث

خديجة، سني. ٢٠١٦. تجريب نشاط مضادة لسرطان الثدي و تحديد نشاط مستحضر الجذور، اوراق النبات أنتيغ-أنتيغ، (*Acalypha indica* L.). البحث الجامعي. قسم الكيمياء كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة إسلامية حكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف الأول: إيلوك كاملة حياقي الماجستير، المشرف الثاني: امية الشريفة الماجستير، المستشار: ديوي يولياني الماجستير.

كلمات رئيسية: نبات أنتيغ-أنتيغ (*Acalypha indica* L.)، خلايا سرطان الثدي T47D، MTT, fitokimia, FTIR

النبات أنتيغ-أنتيغ هي النباتات البرية التي توجد كثيرا و سهلا في اندونيسيا. يهدف البحث لمعرفة نشاط مضادة لسرطان الثدي T47D و المستحضر النشط على الإستخراج و تقسيم الأوراق أو الجذور التي لديها قوة كمضادة للسرطان الأعظم. و يعمل استخراج المستحضر النشط بطريقة التغميس باستخدام مسيل الايثانول ٩٦٪. يستخرج الإستخراج الخاثر سائلا باستخدام مسيل الكلوروفورم و n-heksana. الإستخراج الخاثر الإيثانول، جزء الكلوروفورم و جزء n-heksana من الأوراق والجذور يتجرب نشاطها السيتوتوكسيك علي خلايا سرطان الثدي T47D باستخدام طريقة MTT. نتيجة IC₅₀ التي تستفاد على اوراق النبات أنتيغ-أنتيغ بإستخراج الأيثانول، والجزء من الكلوروفورم و n-heksana مترتبا هو ١٢٢, ٣٣٨ و ٢٥٥ µg/mL. في جذور نبات أنتيغ-أنتيغ يحصل IC₅₀ استخراج الايثانول، أجزاء من الكلوروفورم و n-heksana فهو ٣٥٤, ٢١٥ و ٣١٥ µg/mL. أفضل النشاط سيتوتوستيك هو استخراج الإيثانول من أوراق نبات أنتيغ-أنتيغ التي تحتوي على مستحضر الستيرويد والقلوانيات. تؤكد نتائج تحديد ذلك المستحضر بالتحليل المستخدم بالألة FTIR. نتيجة تحديد نظرية القلوانيات باستخدام FTIR تدل علي المجرة المعينة C-H, N-H, C-N, C=O و اما نظرية الستيرويد تدل علي المجرة المعينة C-H =O-H, Siklik, C=C, C-H.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kasus kanker payudara di Indonesia pada tahun 2004-2007 cenderung meningkat (Statistik Penderita Kanker Indonesia, 2015). Jumlah pasien kanker payudara berdasarkan Sistem Informasi Rumah Sakit (SIRS) pada tahun 2010 sebanyak 12014 orang (Arifin, dkk., 2014). Penderita kanker payudara mencapai 40 per 100000 perempuan (International Agency for Research on Cancer, 2012). Kanker payudara merupakan penyebab utama kematian pada wanita di Indonesia (Kementrian kesehatan Republik Indonesia, 2014).

Peningkatan kasus kanker payudara setiap tahun dapat berkurang dengan adanya pengobatan. Menurut Arifianti, dkk., (2014) pengobatan kanker payudara secara medis dapat dilakukan dengan tindakan bedah, radiasi dan kemoterapi. Kekurangan dari pengobatan tersebut adalah biaya mahal. Kekurangan lainnya dari pengobatan secara medis dapat memusnahkan sel-sel normal yang lain (Da'i, dkk., 2007). Herlina, dkk., (2012) menyatakan bahwa masyarakat lebih banyak menggunakan pengobatan tradisional. Hal ini dikarenakan pengobatan tradisional mudah didapat dan efek sampingnya rendah.

Pengobatan tradisional yang sering digunakan berasal dari tanaman. Di Indonesia terdapat 30000 spesies tanaman tetapi yang telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional hanya sekitar 7000 spesies (Hayati, dkk., 2012). Banyaknya keanekaragaman hayati di Indonesia yang kurang tereksplorasi mendorong pentingnya dilakukan pengembangan tanaman untuk dijadikan sebagai obat. Salah

satu usaha yang dapat dilakukan yaitu mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder di dalam tanaman. Tanaman yang berbeda memiliki senyawa metabolit sekunder yang berbeda pula sehingga pemanfaatannya beragam. Hal ini sesuai dengan al-Quran surat az-Zumar (39):21.

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنْبِيعَ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ
بِهِ زُرْعًا مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ ثُمَّ يَهِيَجُ فِتْرَتَهُ مُصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُ حُطَمًا إِنَّ فِي
ذَلِكَ لَذِكْرَى لِرَأْسِ الْأَلْبَابِ ﴿٢١﴾

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

Kata زُرْعًا berarti tanaman-tanaman. Maksud dari ayat ini menggambarkan hebatnya penciptaan Allah SWT yang dapat menumbuhkan tanaman yang beragam (Shihab, 2002). Kata مُخْتَلِفًا artinya bermacam-macam dan أَلْوَانُهُ yang berarti warnanya (Dasuki, dkk., 1990). Maksud dari tanaman tumbuh bermacam-macam dengan aneka warna dalam konteks ini berarti tanaman yang bermacam-macam memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang berbeda sehingga pemanfaatannya beragam. Salah satu manfaat tanaman yaitu sebagai obat. Departemen agama Republik Indonesia (2007) menyatakan bahwa air yang cukup banyak diserap oleh tanah akan tumbuh tanaman yang berdaun lebat dan subur. Hal ini berarti pada daerah yang berbeda, maka kemungkinan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman juga berbeda karena kesuburan tanahnya

berbeda. Salah satu usaha pencarian obat adalah mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman.

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat adalah anting-anting (*Acalypha indica* Linn). Anting-anting merupakan tanaman liar yang sering ditemukan di pinggir jalan, kebun, lapangan dan di lahan pertanian. Keberadaannya yang melimpah dan mudah diperoleh dapat memberikan peluang tanaman tersebut untuk ditingkatkan nilai gunanya (Hayati, dkk., 2012).

Kandungan senyawa metabolit sekunder tanaman anting-anting antara lain steroid, triterpenoid, flavonoid, alkaloid, dan saponin (Hayati dan Halimah, 2010; Tukiran, dkk., 2014). Flavonoid, monoterpen, seskuiterpen, triterpenoid, dan kuinon terdapat pada daun anting-anting (Febriyanti, dkk., 2014). Akar anting-anting mengandung alkaloid, saponin, dan tanin (Felicia, 2009). Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam anting-anting dapat berpotensi sebagai obat antikanker. Hal ini didukung dengan senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai obat antikanker yang terdapat pada tanaman lain yaitu triterpenoid, alkaloid, dan steroid pada daun ketapang (Restasari, dkk., 2009), saponin dan tanin pada sirih merah (Yulianti, dkk., 2010), dan flavonoid pada pacar air (Rahmawati, dkk., 2013).

Pengujian toksisitas juga dapat mendukung bahwa anting-anting memiliki potensi sebagai obat antikanker. Halimah (2010) dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) menyatakan bahwa pada ekstrak etanol, kloroform, dan n-heksana menghasilkan LC_{50} sebesar 71,54; 149,8; dan 58,88 ppm. Radji, dkk., (2008) juga menggunakan metode BSLT pada ekstrak etanol akar anting-anting menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 1,28 $\mu\text{g/mL}$. Restasari, dkk., (2009) menyatakan

harga $LC_{50} < 100$ ppm dikategorikan cukup toksik dan berkorelasi positif sebagai obat antikanker.

Metode yang umum digunakan untuk uji sitotoksik antikanker adalah metode MTT (*microtetrazolium*) (Muslimah, 2008). Prinsip uji MTT adalah mengukur aktivitas berdasarkan kemampuan enzim mitokondria reduktase dalam mereduksi garam MTT yang berwarna kuning membentuk kristal formazan berwarna biru (Mosman, 1983). Uji MTT digunakan untuk menunjukkan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi yang menghasilkan penghambatan poliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel (Abcam, 2007). Kelebihan dari metode MTT adalah relatif cepat, sensitif, akurat (Anggrianti, 2008). Penelitian uji sitotoksik dari daun anting-anting dilakukan oleh Febriyanti. Daun anting-anting toksik terhadap sel kanker payudara MCF-7. IC_{50} yang dihasilkan sebesar $225 \mu\text{g/mL}$ (Febriyanti, dkk., 2014).

Salah satu sel kanker payudara yang sering digunakan dalam penelitian secara *in vitro* adalah T47D. Kelebihan T47D adalah penanganan mudah, memiliki kemampuan replikasi tidak terbatas, dan homogenitas tinggi. Selain itu T47D mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Abcam, 2007). Uji aktivitas antikanker dengan metode MTT menggunakan sel uji T47D dilakukan oleh Yulianti, dkk., (2010) yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) berpotensi sebagai antikanker T47D dengan metode MTT yang memiliki nilai IC_{50} sebesar $123,2 \mu\text{g/mL}$. Ekstrak n-heksana herba pacar air (*Impatiens balsamina* Linn) terhadap sel kanker T47D memiliki harga IC_{50} sebesar $97,49 \mu\text{g/mL}$, sedangkan pada ekstrak metanol memiliki IC_{50}

sebesar 295,4 $\mu\text{g/mL}$ dengan menggunakan metode MTT (Rahmawati, dkk., 2013). Pebriana, dkk., (2008) melakukan ekstrak metanol daun kenikir (*Cosmos caudatus Kunth.*) dengan metode MTT terhadap sel kanker T47D memiliki IC_{50} sebesar 344,9 $\mu\text{g/ml}$.

Berdasarkan penjelasan yang telah dipaparkan tersebut, anting-anting memiliki potensi sebagai obat antikanker. Penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antikanker menggunakan metode MTT dari ekstrak etanol, fraksi kloroform dan n-heksana dari daunserta akar anting-anting secara *in vitro* terhadap sel kanker T47D. Ekstrak yang memiliki aktivitas antikanker paling optimal akan dilakukan uji fitokimia dan pemisahan golongan senyawa aktif dengan KLTP. Identifikasi golongan senyawa aktif menggunakan instrumentasi FTIR.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dari latar belakang diatas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah.

1. Bagaimana aktivitas antikanker T47D dari ekstrak etanol, fraksi kloroform dan n-heksana daun serta akar anting-anting?
2. Golongan senyawa apakah yang terkandung dalam ekstrak etanol,fraksi kloroform dan n-heksana dari daun serta akar anting-anting yang berpotensi sebagai antikanker paling optimal berdasarkan hasil identifikasi menggunakan FTIR?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka tujuan penelitian ini adalah.

1. Untuk mengetahui aktivitas antikanker T47D dari ekstrak etanol, fraksi kloroform dan n-heksana daun serta akar anting-anting.
2. Untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol, fraksi kloroform dan n-heksana dari daun serta akar anting-anting yang berpotensi sebagai antikanker paling optimal berdasarkan hasil identifikasi menggunakan FTIR.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah.

1. Sampel tanaman anting-anting yang digunakan adalah pada bagian daun dan akar yang diperoleh dari daerah Jombang, Jawa Timur.
2. Uji aktivitas antikanker dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode MTT.
3. Sel uji kanker payudara yang digunakan adalah T47D.
4. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dan ekstraksi cair-cair.
5. Pelarut yang digunakan adalah etanol, kloroform dan n-heksana.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai golongan senyawa antikanker dari ekstrak etanol, fraksi kloroform dan n-heksana dari daun serta akar anting-anting yang memiliki

aktivitas paling optimal. Hasil yang diperoleh tersebut diharapkan dapat dikembangkan menjadi obat antikanker.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn)

2.1.1 Morfologi Tanaman Anting-Anting

Anting-anting merupakan gulma yang sering ditemukan di pinggir sungai, rerumputan, dan di pinggir jalan (Tukiran, dkk., 2014). Tinggi tanaman mencapai 80 cm. Daun anting-anting berbentuk bulat telur sampai belah ketupat dengan tepi bergerigi, helaian daun tunggal dan letaknya berseling. Tanaman ini memiliki akar serabut (Wardah, 2012). Taksonomi tanaman anting-anting adalah sebagai berikut (Hutapea, 1993).

Kerajaan	: Plantae
Subkerajaan	: Tracheobionta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub kelas	: Rosidae
Bangsa	: Euphorbiales
Suku	: Euphorbiaceae
Marga	: <i>Acalypha</i>
Jenis	: <i>Acalypha indica</i> Linn



Gambar 2.1 Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) (Dokumentasi pribadi)

Allah SWT telah menciptakan tanaman dengan jenis yang berbeda. Allah SWT menegaskan bahwa dalam proses terciptanya tanaman-tanaman terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah SWT yang sangat teliti. Hal ini telah diterangkan oleh Allah SWT dalam al-Quran surat al-An'am (6):99.

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرَجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tanaman-tanaman maka Kami keluarkan dari tanaman-tanaman itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (QS. al-An'am:99).

Kata نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ memiliki makna Allah SWT menumbuhkan segala jenis tanaman (Imani, 2004). Dalam konteks ini, jenis berarti klasifikasi taksonomi tanaman. Gani, dkk., (1991) menyatakan perincian dari tanaman-tanaman yang beraneka ragam jenis diantaranya adalah rerumputan. Tanaman-tanaman jenis ini mengeluarkan buah yang berbentuk butiran-butiran kecil yang terhimpun dalam sebuah tangkai. Contoh dalam konteks ini adalah tanaman anting-anting.

2.1.2 Manfaat

Pemanfaatan akar tanaman anting-anting yaitu sebagai antibakteri (Radji, dkk., 2008), meningkatkan jumlah spermatozoa hidup (Yasmin, dkk, 2011), dan menurunkan kadar asam urat (Saputri dan Anita, 2011). Daunnya dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri Pratiwi (2009) dan dapat menurunkan kadar gula darah (Kawatu, dkk., 2013). Tanaman anting-anting juga memiliki aktivitas terhadap antimalaria (Hayati, dkk., 2012).

2.1.3 Kandungan Senyawa Aktif

Tanaman anting-anting mengandung banyak senyawa metabolit sekunder. Kandungan senyawa metabolit sekunder pada seluruh tanaman ini adalah senyawa flavonoid (Hayati dan Halimah, 2010; Pambudi, dkk., 2014), triterpenoid (Hayati dan Halimah, 2010; Sriwahyuni, 2010), tanin, steroid dan alkaloid (Hayati dan Halimah, 2010; Sriwahyuni, 2010; Hayati, dkk., 2012). Selain itu terdapat senyawa isoflavon, flavon, flavonol, flavanon, dihidroksiflavonol, khalkon, dan antosianidin di dalam tanaman ini (Pambudi, dkk., 2014).

Daun tanaman anting-anting mengandung senyawa flavonoid dan steroid (Febriyanti, dkk., 2014; Tukiran, dkk., 2014), tanin (Noriko, 2013), saponin dan alkaloid (Tukiran, dkk., 2014), monoterpen, seskuiterpen, dan triterpenoid (Febriyanti, dkk., 2014). Akar tanaman ini juga mengandung senyawa metabolit sekunder. Kandungan senyawa pada akar adalah alkaloid (Wardah, 2012) dan flavonoid (Yasmin, dkk., 2011).

2.2 Ekstraksi Senyawa Aktif

2.2.1 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat berdasarkan kelarutannya. Salah satu metode ekstraksi yaitu ekstraksi maserasi. Ekstraksi maserasi dilakukan dengan merendam serbuk sampel dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dikarenakan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh pelarut dengan konsentrasi rendah. Keuntungan maserasi adalah terjadinya kontak sampel dan pelarut yang cukup lama. Ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (Baraja, 2008).

Sifat kelarutan zat didasarkan pada prinsip *like dissolves like*, zat yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan zat yang bersifat nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar (Khopkar, 2008). Pemilihan pelarut yang sesuai merupakan faktor penting dalam proses ekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang dapat melarutkan sebagian besar metabolit sekunder yang diinginkan dalam sampel (Lenny, 2006).

Pelarut-pelarut golongan alkohol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam. Hal ini dikarenakan golongan alkohol dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder secara maksimal (Lenny, 2006). Salah satu pelarut alkohol yang digunakan untuk ekstraksi maserasi adalah etanol. Kelebihan etanol dapat menarik kandungan kimia yang bersifat polar dan non polar. Selain itu, ekstraksi dengan pelarut etanol lebih aman (Mahatrinny, dkk., 2014).

Febriyanti, dkk., (2014) melakukan ekstrak etanol dengan metode maserasi pada daun tanaman anting-anting. Kandungan senyawa metabolit sekundernya adalah flavonoid, polifenol, monoterpenoid, seskuiterpenoid, steroid, triterpenoid, dan kuinon. Pambudi, dkk., (2014) juga menggunakan pelarut etanol dengan metode maserasi untuk mengekstrak tanaman anting-anting, senyawa yang terkandung adalah isoflavon, flavon, flavonol, flavanon, dihidroksiflavonol, khalkon, dan antosianidin.

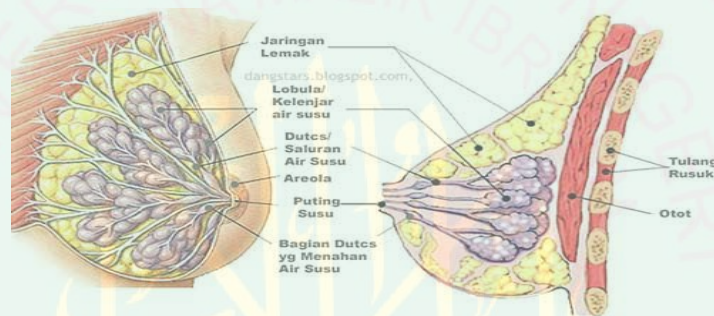
2.2.2 Ekstraksi Cair-Cair (Ekstraksi Partisi)

Prinsip metode ekstraksi cair-cair didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu. Hasil ekstraksi yang baik diperoleh dengan dilakukannya ekstraksi secara berulang-ulang dengan penambahan jumlah pelarut sedikit demi sedikit (Khopkar, 2008). Kelebihan metode ekstraksi cair-cair adalah dapat memperoleh komponen bioaktif yang lebih spesifik dan waktunya ujinya cepat (Dewi, dkk., 2010). Sampel yang mudah terekstrak dalam pelarut organik adalah molekul-molekul netral yang berikatan secara kovalen dengan senyawa yang bersifat nonpolar atau semi polar (Gandjar dan Rohman, 2007).

Daun tanaman anting-anting mengandung senyawa flavonoid, monoterpenoid, steroid dan triterpenoid. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi cair-cair dengan menggunakan pelarut n-heksana (Febriyanti, dkk., 2014). Tukiran, dkk., (2014) melakukan ekstraksi tanaman anting-anting dengan pelarut n-heksana dan kloroform. Pada ekstrak n-heksana senyawa yang terkandung yaitu triterpenoid, fenolik dan flavonoid. Senyawa steroid dan fenolik terkandung dalam ekstrak kloroform.

2.3 Kanker Payudara

Kanker payudara adalah salah satu jenis kanker yang menyerang jaringan payudara. Kanker payudara disebabkan oleh pertumbuhan sel yang tidak normal di daerah payudara, biasanya pada duktus dan lobulus. Duktus adalah saluran yang berfungsi untuk mengalirkan air susu ke dalam puting, sedangkan lobulus adalah kelenjar penghasil air susu (National Cancer Institute, 2009).



Gambar 2.2 Fisiologi payudara (<http://www.lusa.web.id>)

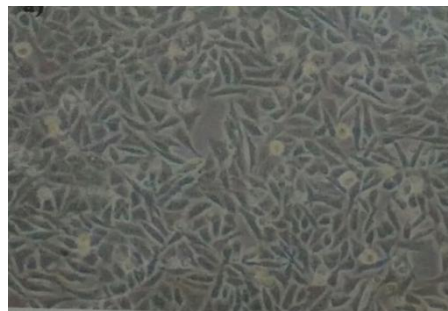
Sel kanker payudara dibentuk dari sel-sel normal dalam suatu proses transformasi, yang terdiri dari tahap perubahan secara genetik, hiperplasia, displasia, kanker *in situ* dan kanker menginvasif jaringan sekitar. Pada fase perubahan secara genetik, perkembangan sel kanker dimulai ketika sel mengalami mutasi genetik yang cenderung meningkat. Pada fase hiperplasia, sel telah mengalami perubahan genetik dan hal ini diteruskan keturunannya. Pada fase displasia, reproduksi sel yang diturunkan dalam bentuk abnormal diikuti terjadinya mutasi yang mengubah sifat-sifat sel. Pada fase kanker *in situ*, sel masih mengalami pertumbuhan yang abnormal tetapi belum menerobos batas-batas antar jaringan sehingga belum menyebar ke jaringan lain. Pada fase *invasif*,

sel kanker mulai menyebar ke jaringan lain melalui darah dan kelenjar getah bening. Hal ini memungkinkan terbentuknya tumor baru pada organ-organ penting dalam tubuh sehingga dapat menimbulkan kematian (Anggrianti, 2008).

2.3.1 Sel Kanker T47D

Sel kanker payudara yang digunakan dalam penelitian ini adalah T47D. T47D merupakan *continous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor *duktal* payudara seorang wanita berusia 54 tahun. *continous cell line* sering digunakan dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena penanganannya mudah, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi, serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi. *Cell line* adalah sel yang disubkultur dari *primary cultures*, yaitu sel dari organ atau jaringan yang dikultur dalam kondisi hormonal yang sesuai (Abcam, 2007).

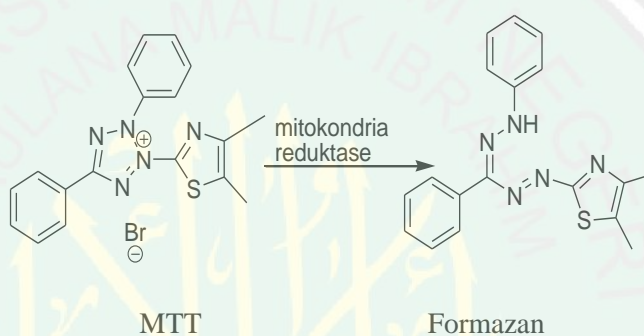
Media yang digunakan untuk menumbuhkan sel T47D adalah *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) 1640 serum. Kandungan media RPMI adalah nutrisi, seperti asam amino, vitamin, garam-garam anorganik, dan glukosa yang dibutuhkan sel untuk tumbuh. Komponen-komponen tersebut berguna untuk memberikan nutrisi yang cukup pada sel untuk bertahan hidup dan memperbanyak diri (Abcam, 2007).



Gambar 2.3 Sel kanker T47D (Dokumentasi pribadi)

2.3.2 Uji Aktivitas Antikanker Secara *In Vitro* dengan Metode MTT

Metode uji sitotoksik yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode MTT (*Methylthiazol Tetrazolium*). Prinsip MTT adalah mengukur aktivitas berdasarkan kemampuan enzim mitokondria reduktase dalam mereduksi garam MTT yang berwarna kuning membentuk kristal formazan berwarna biru (Mosman, 1983). Reaksi MTT ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Reaksi MTT membentuk formazan (Meiyanto,dkk., 1999)

MTT adalah suatu metode kolorimetri. Pereaksi MTT merupakan garam tetrazolium berwarna kuning. Kelebihan dari uji MTT yaitu relatif cepat, sensitif, akurat (Pamilih, 2009). Uji MTT digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi yang menghasilkan penghambatan poliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai IC_{50} dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut tidak toksik. Uji sitotoksik dapat memberikan informasi % sel yang mampu bertahan hidup. (Abcam, 2007).

Konsentrasi formazan yang berwarna biru dapat dibaca absorbansinya dengan menggunakan *Enzyme-linked Immunosorbent Assay (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). Tujuan dilakukannya ELISA yaitu untuk mendapatkan absorbansi yang akan digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} (Hidayati, dkk., 2011).

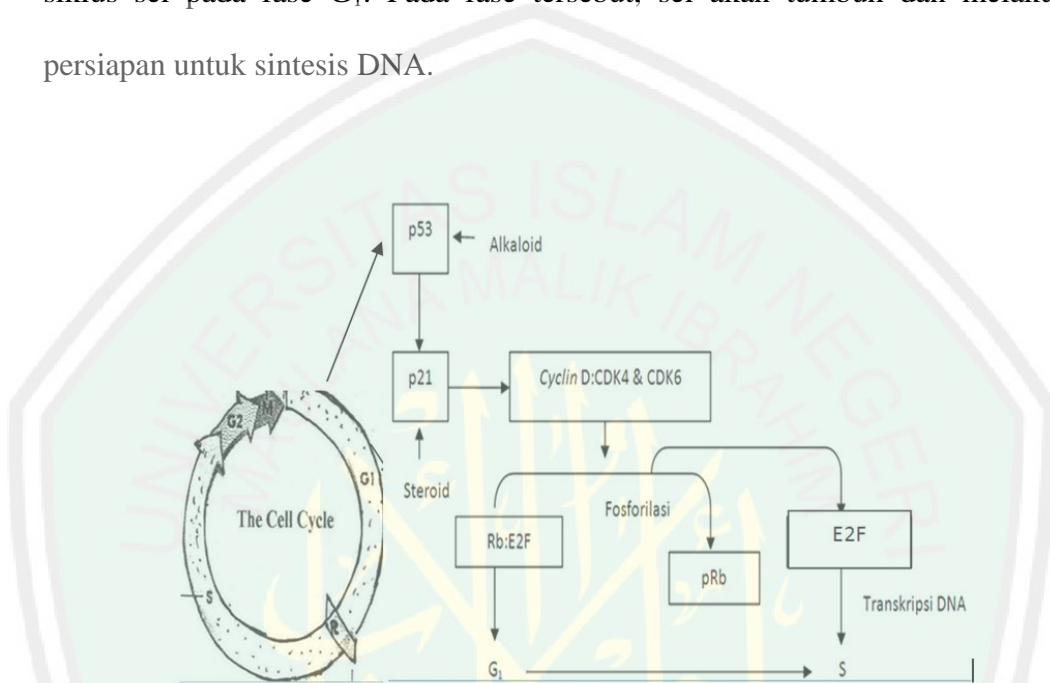
2.3.3 Senyawa Aktif Antikanker

Obat antikanker dapat diperoleh dari tanaman yang memiliki senyawa yang berpotensi sebagai antikanker (Multiawati, 2013). Herlina, dkk., (2012) menunjukkan bahwa senyawa turunan isoflavon dan steroid yang diperoleh dari kulit batang dadap atam (*E. Variegata*). Senyawa tersebut menunjukkan aktivitas antikanker T47D dengan nilai IC_{50} 3,0 $\mu\text{g/mL}$ dan 3,2 $\mu\text{g/mL}$.

Rahmawati, dkk., (2013) menunjukkan bahwa herba pacar air (*Impatiens balsamina* Linn) mengandung senyawa flavonoid dan terpenoid yang memiliki IC_{50} sebesar 97,493 $\mu\text{g/ml}$. Sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz dan Pav.) mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid yang berpotensi sebagai antikanker T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 123,18 $\mu\text{g/mL}$ (Yulianti, dkk., 2010). Restasari, dkk., (2009) menunjukkan bahwa daun ketapang (*Terminalia catappa* Linn) mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, triterpenoid dan steroid yang berpotensi sebagai antikanker dengan LC_{50} sebesar 3,22 ppm. Febriyanti, dkk., (2014) menunjukkan bahwa daun tanaman anting-anting mengandung senyawa flavonoid, polifenol, monoterpen, steroid dan triterpenoid yang memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker MCF-7.

2.3.4 Mekanisme Senyawa Antikanker

Senyawa alkaloid yang merupakan senyawa antikanker dapat menghambat pertumbuhan sel dengan memblokir fase G_1 pada siklus sel. Pada Gambar 2.5 siklus sel pada fase G_1 . Pada fase tersebut, sel akan tumbuh dan melakukan persiapan untuk sintesis DNA.



Gambar 2.5 Siklus pembelahan sel transisi fase G_1 ke S (Asmuddin, 2004)

Regulator utama pada fase G_1 ke fase S adalah kompleks *cyclin* D-CDK4 dan *cyclin* D-CDK6 yang ditunjukkan pada Gambar 4.5. Kompleks Rb-E2F dapat menghambat transkripsi dari beberapa gen yang terlibat dalam fase S (Asmuddin, 2004). Kompleks *cyclin* D-CDK4 dan *cyclin* D-CDK6 akan masuk ke dalam inti dan akan terjadi fosforilasi terhadap kompleks Rb-E2F menjadi protein *Retinoblastoma* (pRb) dan E2F. pRb merupakan penghambat transkripsi dan merupakan gen penekan tumor karena keberadaannya akan menonaktifkan E2F. E2F merupakan faktor transkrip yang akan memicu terjadinya transkrip gen yang akan digunakan pada fase S (Murti, dkk., 2007).

Cyclin Dependent Inhibitor (CDI) p53 dan p21 merupakan faktor penghambat siklus sel kanker. CDI berfungsi untuk menghambat pembentukan kompleks *cyclin* D-CDK4 dan *cyclin* D-CDK6. Kedua *inhibitor* tersebut yang meningkat menyebabkan tidak akan terbentuk kompleks *cyclin* D-CDK4 dan *cyclin* D-CDK6. Ketika kompleks tersebut tidak terbentuk, maka kompleks Rb-E2F tidak akan terfosforilasi (Murti, dkk., 2007).

Senyawa alkaloid sebagai senyawa antikanker akan memblokir fase G_1 melalui peningkatan p53 (Asmuddin, 2004), sedangkan senyawa BRs yang merupakan senyawa steroid meningkatkan inhibitor p21 (Hoffmannova, dkk., 2012). Jika p53 sebagai supresor kanker meningkat maka *inhibitor* p21 juga meningkat. Peningkatan *inhibitor* tersebut akan menghambat sel kanker untuk masuk ke fase S. Adanya peningkatan p53 dan p21 menyebabkan kompleks *cyclin* D-CDK4 dan *cyclin* D-CDK6 tidak terbentuk, sehingga kompleks Rb-E2F tidak terfosforilasi. Tidak adanya fosforilasi terhadap kompleks tersebut maka E2F non-aktif sehingga gen tidak mampu mentranskripsikan DNA dan akan tetap berada pada fase G_1 . Sel yang berhenti akan masuk ke G_0 dan diperbaiki. Jika sel tidak dapat diperbaiki maka sel akan mengalami apoptosis (Murti, dkk., 2007).

2.4 Identifikasi Pemisahan Senyawa Aktif

2.4.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan yang menggunakan fase diam dan fase gerak. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu jenis kromatografi yang didasarkan pada distribusi komponen sampel antara dua fase, yaitu fase diam dan gerak (Gandjar dan Rohman, 2007). Fase diam yang dapat digunakan adalah silika atau alumina yang dilapiskan pada lempeng kaca atau

aluminium. Fase gerak atau larutan pengembang biasanya digunakan pelarut organik atau bisa juga campuran pelarut organik-anorganik (Gritter, 1991).

Pemisahan KLT terjadi karena ada perbedaan kecepatan laju beberapa zat terlarut yang berbeda yang dibawa naik oleh eluen. Analisis secara kualitatif KLT digunakan untuk uji identifikasi senyawa. Identifikasi senyawa akan diambil dari jarak yang ditempuh oleh senyawa yang dipisahkan dibandingkan dengan laju pelarutnya. Parameter yang digunakan untuk uji identifikasi adalah nilai R_f (Gandjar dan Rohman, 2007). Harga-harga R_f untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga standar. Harga-harga R_f yang diperoleh hanya berlaku untuk campuran tertentu dari pelarut dan penyerap yang digunakan. Nilai R_f didefinisikan sebagai berikut (Sastrohamidjojo, 2007).

$$\text{Nilai } R_f = \frac{\text{Jarak yang digerakkan senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak yang digunakan pelarut dari titik asal}} \quad (2.1)$$

2.4.2 Uji Fitokimia Senyawa Aktif

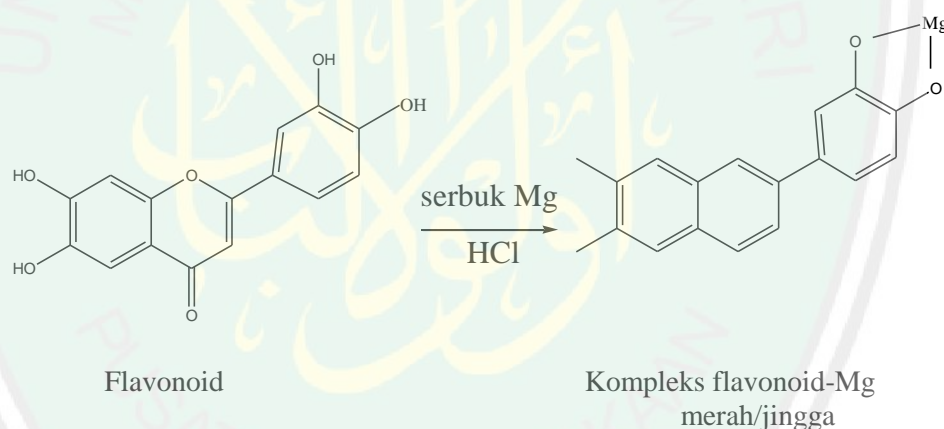
Uji fitokimia merupakan pengujian kandungan senyawa-senyawa metabolit sekunder di dalam tumbuhan. Tumbuhan pada umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, steroid dan saponin (Lenny, 2006).

2.4.2.1 Flavonoid

Kerangka karbon golongan senyawa flavonoid terdiri atas dua gugus C_6 (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Sesuai struktur kimianya yang termasuk flavonoid yaitu kalkon, flavanon, antosianidin, flavon, dan flavonol. Kebanyakan flavonoid merupakan senyawa antioksidan

yang poten. Beberapa flavonoid mempunyai sifat antikanker, antimikroba dan antivirus (Nahar, 2009).

Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenol yang bersifat polar dan memiliki banyak gugus $-OH$. Golongan senyawa ini mudah terekstrak dalam pelarut etanol yang memiliki sifat polar karena adanya gugus hidroksil, sehingga dapat terbentuk ikatan hidrogen (Harbone, 1987). Uji fitokimia flavonoid dapat dilakukan dengan metode Wilstater. Adanya flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna jingga (flavon), merah tua (flavonol/flavonon), oranye, merah, kuning, hijau sampai biru (aglikon/glikosida) (Dermawan, 2012).



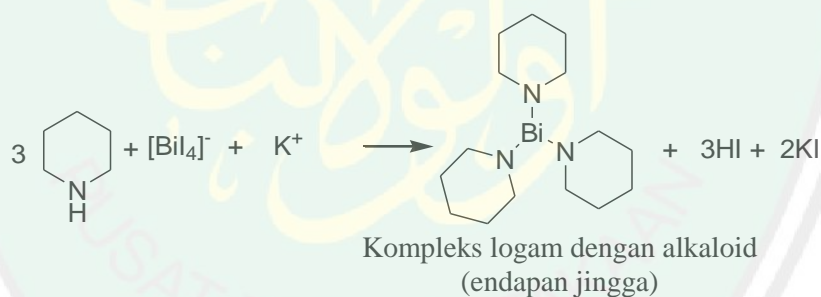
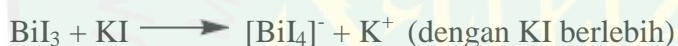
Gambar 2.6 Reaksi dugaan antara senyawa flavonoid dengan logam Mg dan HCl pekat (Hidayat, 2005)

Suyoso (2011) menyatakan bahwa identifikasi golongan flavonoid dengan KLT dari ekstrak etanol anting-anting menggunakan eluen methanol : kloroform (1:39). Identifikasi menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Hasil KLT menunjukkan 8 noda. Dari 8 noda ada 4 noda yang berwarna merah ungu dan 3 noda yang berwarna merah muda setelah diuapi dengan amoniak. Warna yang tampak tersebut menunjukkan adanya golongan flavonoid.

2.4.2.2 Alkaloid

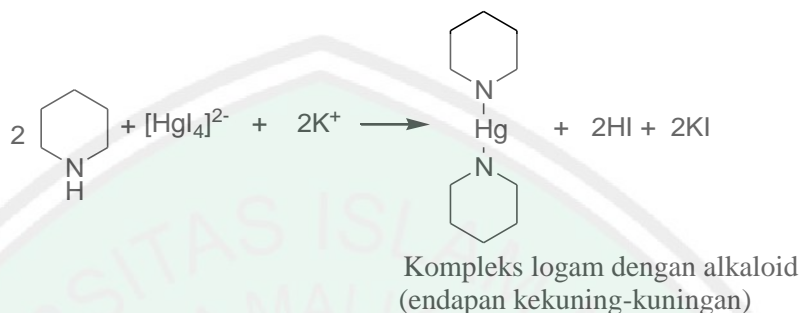
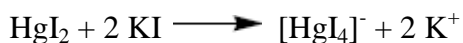
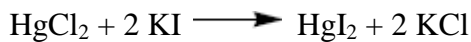
Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006).

Kandungan alkaloid dalam sampel dapat dideteksi dengan uji Dragendroff. Terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning pada uji Dragendroff menunjukkan adanya alkaloid. Reaksi dugaan adanya alkaloid dengan uji Dragendroff ditunjukkan pada Gambar 2.7 (Lutfillah, 2008).



Gambar 2.7 Reaksi dugaan antara senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendroff (Lutfillah, 2008)

Pereaksi Mayer (kalium tetraiodomercurat) adalah pereaksi yang paling banyak digunakan untuk mendeteksi alkaloid. Pereaksi ini dapat mengendapkan hampir semua alkaloid (Robinson, 1995). Hasil positif alkaloid terbentuknya endapan kekuning-kuningan pada reagen Mayer (Gambar 2.8) (Lutfillah, 2008).



Gambar 2.8 Reaksi dugaan antara senyawa alkaloid dengan pereaksi Mayer (Lutfillah, 2008)

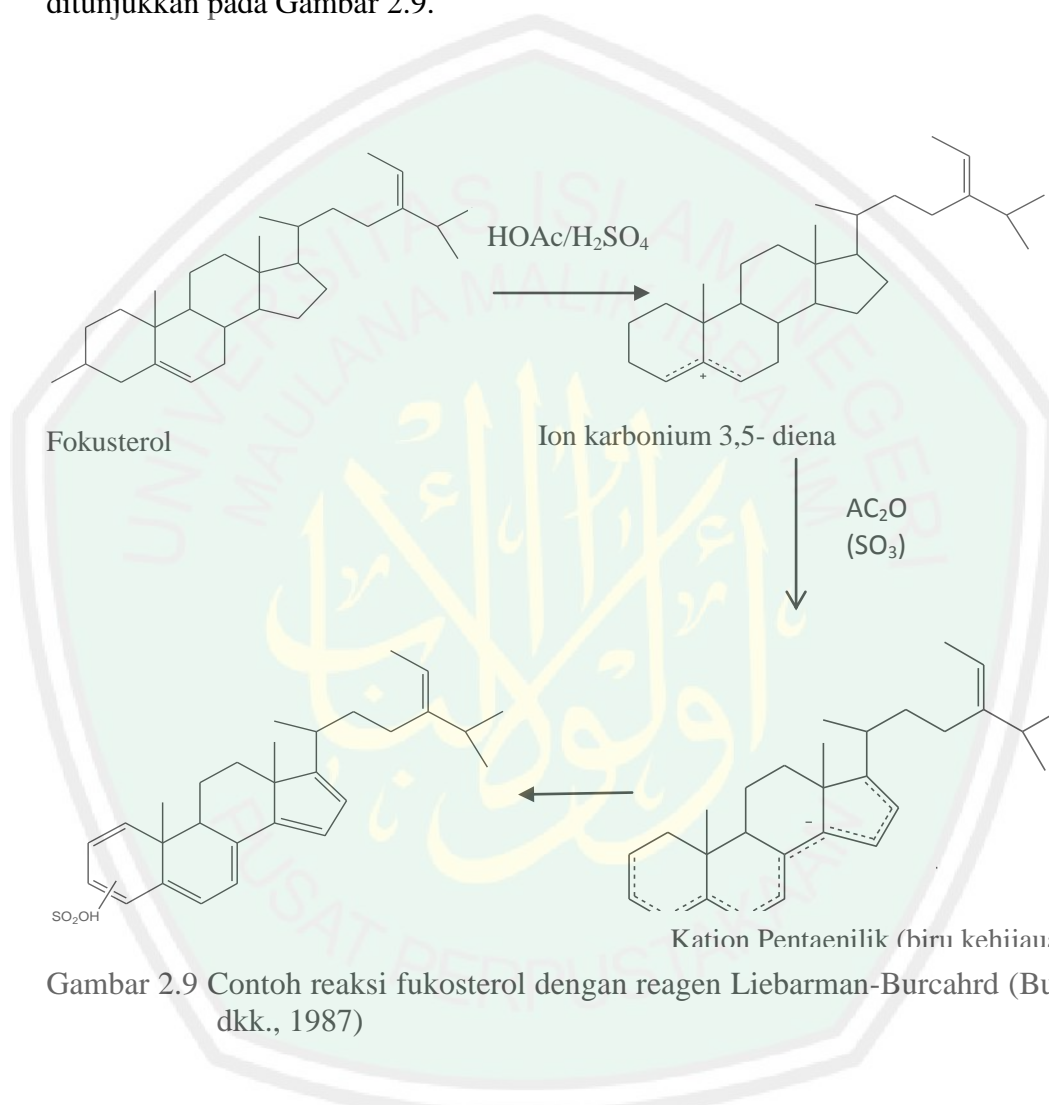
Rahmah (2014) menyatakan bahwa pada anting-anting dengan kromatografi lapis tipis mengandung senyawa alkaloid. Eluen yang digunakan adalah kloroform : metanol (9,5:0,5). Hasil dari KLT tersebut terbentuk 7 noda yang memberikan bercak berwarna kuning hingga coklat keunguan dengan nilai R_f antara 0,21-0,92 cm. Bercak tersebut menunjukkan hasil yang positif alkaloid.

2.4.2.3 Steroid

Steroid merupakan golongan lipid yang diturunkan dari senyawa jenuh yang dinamakan siklopentanoperhidrofenantrena. Steroid memiliki inti dengan 3 cincin sikloheksana dan 1 cincin siklopentana yang tergabung pada ujung cincin sikloheksana (Poedjiadi, 1994). Steroid tersusun dari isopren-isopren dari rantai panjang hidrokarbon yang menyebabkan sifatnya non-polar. Beberapa senyawa steroid mengandung gugus $-\text{OH}$ yang sering disebut dengan sterol, sehingga sifatnya yang cenderung lebih polar (Robinson, 1995).

Reagen yang digunakan untuk uji fitokimia pada senyawa golongan steroid adalah dengan menggunakan pereagen Liebermann-Buchard, Brieskorn dan Briner.

Pereagen Lieberman-Buchard menghasilkan warna hijau biru. Reagen Brieskorn dan Briner (asam klorosulfat dan Sesolvan NK) menghasilkan warna coklat (Robinson, 1995). Reaksi dugaan steroid dengan Lieberman-Burchard ditunjukkan pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Contoh reaksi fukosterol dengan reagen Liebarman-Burcahrd (Burke, dkk., 1987)

Auwaliyah (2015) menyatakan bahwa identifikasi senyawa steroid pada daun rumput bambu dapat menggunakan KLT dengan eluen heksana : etil asetat (7:3) dan disemprot dengan pereaksi Lieberman-Burchard menunjukkan terbentuknya noda berwarna hijau, merah muda sampai ungu. Noda yang terbentuk ada 17 noda dengan 9 noda yang menunjukkan positif adanya steroid.

2.4.2.4 Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa dengan kerangka karbon yang disusun dari 6 unit isoprena. Senyawa tersebut kebanyakan merupakan suatu alkohol, aldehida atau asam karboksilat (Sirait, 2007). Triterpenoid dapat dideteksi dengan pereaksi Lieberman-Burchard. Triterpenoid akan menghasilkan warna violet (Harbone, 1987). Bawa (2009) menyatakan bahwa isolat golongan senyawa triterpenoid dengan pereaksi Lieberman-Burchard yaitu akan terjadi perubahan warna yang spesifik dari warna hijau tua (warna isolat) menjadi warna ungu tua.

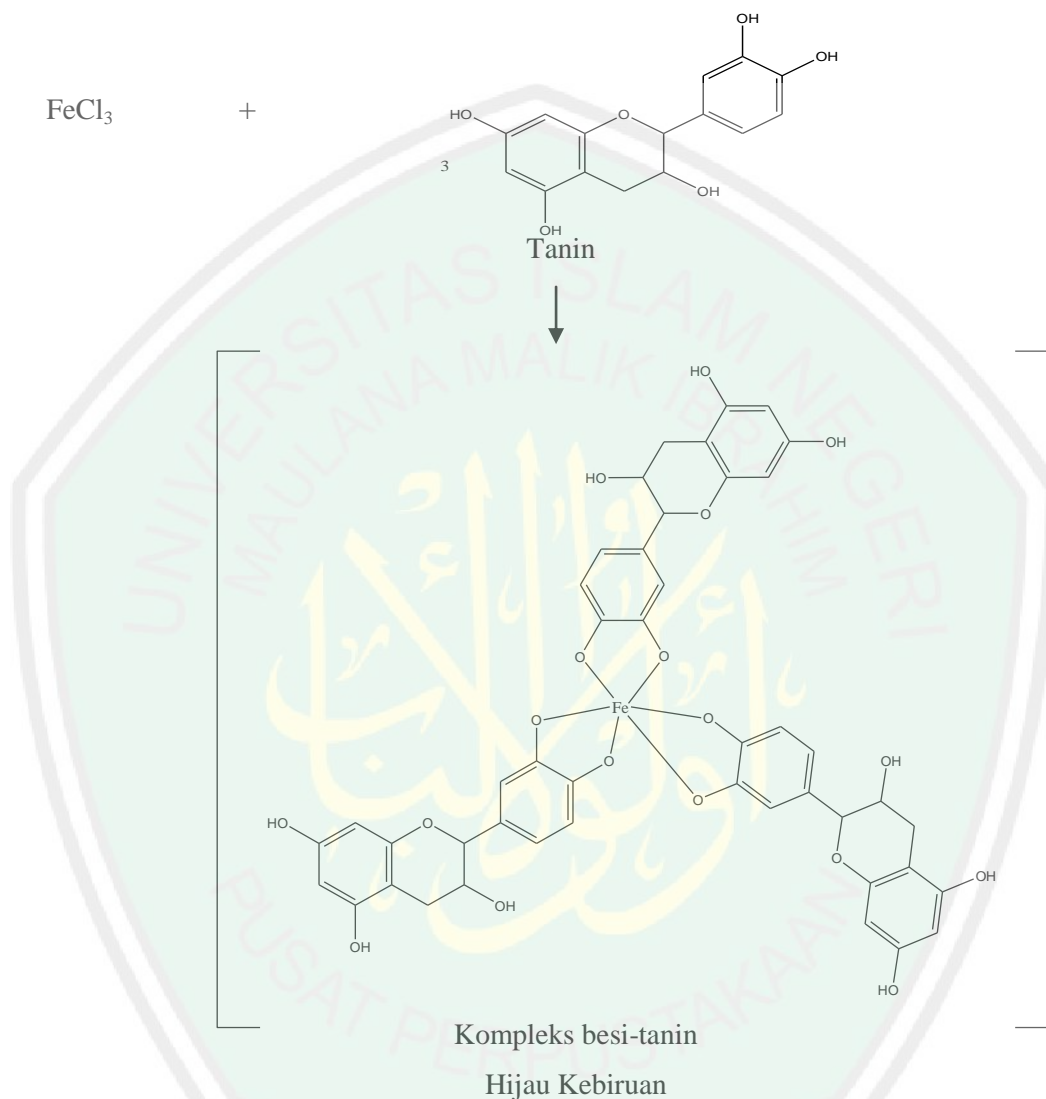
A'ilah (2015) dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis pada ekstrak akar rumput bambu menunjukkan adanya senyawa triterpenoid. Hasil tersebut muncul sebanyak 18 noda dengan 10 noda diantaranya positif adanya senyawa triterpenoid. Warna noda yang menunjukkan adanya triterpenoid adalah lembayung hingga ungu.

2.4.2.5 Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa fenol yang terdapat pada daun, buah yang belum matang. Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid (Robinson, 1995). Uji fitokimia dengan menggunakan reagen FeCl_3 . Reagen FeCl_3 digunakan untuk menentukan adanya gugus fenol dalam suatu sampel. Hasil positif adanya gugus fenol ditunjukkan dengan adanya warna hijau kehitaman atau biru tinta (Harbone, 1987). Reaksi dugaan tanin ditunjukkan pada Gambar 2.10.

Auwaliyah (2015) menyatakan bahwa identifikasi golongan tanin menggunakan KLT dari daun rumput bambu menggunakan eluen n-heksana : etil asetat (6:4) menunjukkan 11 noda di bawah sinar UV 366 nm. dari 11 noda ada 5

noda yang berwarna lembayung hingga ungu yang menunjukkan adanya senyawa tanin.

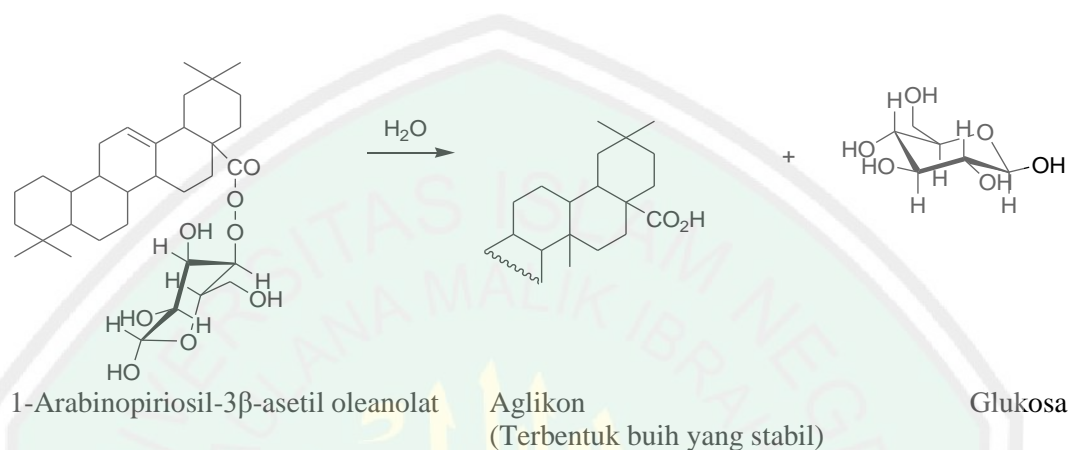


Gambar 2.10 Reaksi dugaan antara senyawa tanin dengan FeCl_3 (Dermawan, 2012)

2.4.2.6 Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dengan air. Saponin bisa berpotensi sebagai antimikroba. Dua jenis saponin yang dikenal yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid (Robinson, 1995). Uji fitokimia saponin dapat dilakukan dengan

uji forth. Saponin yang terkandung dapat ditunjukkan dengan terbentuknya buih dengan ketinggian 1 – 10 cm selama 10 menit dan saat ditambah HCl 2N, buih tidak hilang (Dermawan, 2012). Berikut adalah reaksi dugaan senyawa saponin.



Gambar 2.11 Reaksi dugaan saponin dengan uji Forth (Dermawan, 2012)

Hardiyanti (2015) menyatakan bahwa larutan pengembang yang menghasilkan resolusi terbaik pada KLT untuk senyawa saponin dari rumput bambu adalah campuran kloroform : metanol (95:5). Hasil noda yang diperoleh sebanyak 9. Noda yang positif menunjukkan adanya senyawa saponin sebanyak 5 noda.

2.4.3 Spektrofotometer FTIR

Prinsip spektrofotometer FTIR adalah adanya interaksi antara energi dengan materi. FTIR merupakan alat untuk mendeteksi gugus fungsional, mengidentifikasi senyawaan dan menganalisis campuran. Banyak pita absorpsi yang terdapat dalam daerah yang disebut daerah sidik jari spektrum. Spektrum FTIR suatu sampel dapat diketahui letak pita serapan yang dikaitkan dengan adanya suatu gugus fungsional tertentu (Day dan Underwood, 1999). Vibrasi yang

informatif untuk tujuan elucidasi struktur adalah pada daerah antara bilangan gelombang 4000 cm^{-1} hingga 400 cm^{-1} (Gandjar dan Rohman, 2007).

Tabel 2.1 Interpretasi spektra FTIR senyawa tanin pada fraksi n-heksana (A'ilah, 2015)

Pita serapan	Bilangan gelombang (cm^{-1})		Jenis vibrasi
	Isolat	Pustaka (Socrates, 1994)	
1	3460	3500 – 3200	-OH bending
2	2930	3000 – 2700	-C-H (SP^3), stretching alifatik
3	2863		
4	1639	1680 – 1620	-C=C, stretching aromatik
5	1384	1385 – 1365	-HC(CH_3) ₂
6	1098	1125 – 1085	C-O alkohol sekunder, Si-O-Si
7	974	~974	-Si-OH (silanol)
9	798	800 – 790	-Si-O-Si
10	467	470 – 460	-O-Si-O bending

Tabel 2.2 Interpretasi spektra FTIR senyawa triterpenoid pada fraksi n-heksana (A'ilah, 2015)

Pita serapan	Bilangan gelombang (cm^{-1})		Jenis vibrasi
	Isolat	Pustaka (Socrates, 1994)	
1	3459	3500 – 3200	-OH bending
2	2924	3000 - 2700	-C-H (SP^3), stretching alifatik
3	2856		
4	1737	~1700	-HC=C=CH ₂ alifatik
5	1634	1640 - 1475	-C=C aromatik
6			
7	1460	1470 - 1435	-OCH ₃ alifatik
8	1384	1386 - 1365	-CH ₃ bending (germinal dimetil)
9	1103	1120 - 1080	C-O alkohol sekunder, -Si-O-Si-
10	793	800 - 790	-Si-O-Si out of plane
11	671	690 - 590	C=CH out of plane bending
12	566	570 - 540	Monobranched alkanes (-CH ₃)

Bawa (2009) melakukan identifikasi golongan senyawa dari daging buah pare (*Momordica charantia* L.), dengan spektrofotometri FTIR dan UV-Vis menunjukkan bahwa isolat aktif merupakan golongan senyawa triterpenoid yang mempunyai karakteristik gugus fungsi C-H alifatik (CH_2 , CH_3), O-H terikat, C-O, C=C alifatik, dan C=O dan memberikan serapan pada panjang gelombang 274,2 dan 432,8 nm.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni-Desember 2016 di Laboratorium Kimia Organik dan Riset Kimia Analitik Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Uji aktivitas antikanker dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah blender, pisau, ayakan 90 mesh, loyang, cawan penguap, desikator, neraca analitik, oven, penjepit kayu, spatula, plat silika gel F₂₅₄, pipa kapiler, plat pengembang, dan lampu UV. Seperangkat alat gelas yang digunakan yaitu gelas arloji, batang pengaduk, corong gelas, gelas ukur 100 mL, dan beaker glass 100 mL. Pipet yang digunakan yaitu pipet tetes, pipet ukur 5 dan 10 mL.

Ekstraksi senyawa aktif menggunakan shaker incubator, klem dan statif merek Lokal, corong buchner merek Lokal, corong pisah merek Iwaki, bola hisap merek DNN, rotary evaporator dan botol vial merek Iwaki. Uji aktivitas antikanker payudara T47D menggunakan vortex merek Barnsted Thermolyne, pipet ukur 5 mL merek Iwaki, mikropipet 200 µL merek Nichipet EX, 1000 µL, 96-well plate merek Iwaki, Conical Tube Lokal, Yellow tip Lokal, Blue tip Lokal, cawan petri Lokal, inkubator merek Heraeus, mikroskop inverted merek Olympus,

Hemocytometer merek Neubauer dan *ELISA reader* merek Benchmark. Identifikasi senyawa menggunakan instrumentasi FTIR.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar dan daun tanaman anting-anting sebagai sampel. Etanol 96 %, n-heksana, kloroform, logam Mg, HCl pekat, HCl 2 %, reagen Dragendrof, reagen Meyer, asam asetat anhidrat, aquades, HCl 1 M, metanol, butanol, asam asetat, etil asetat, pereaksi Liebermann-burchard, H₂SO₄ 0,1 M, FeCl₃ 1 %, dan *aluminium foil*.

Bahan-bahan yang digunakan untuk uji antikanker adalah H₂SO₄ pekat, PBS (*Phosphate Buffered Saline*), tripsin-EDTA, media kultur RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*), DMSO (Dimethyl Sulfoxide), MTT 5 mg/mL (50 mg MTT dan 10 mL PBS), SDS (Sodium Dodecyl Sulfat)10 %, HCl 0,1 M untuk uji antikanker.

3.3 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut.

1. Preparasi sampel
2. Analisis kadar air sampel kering
3. Ekstraksi senyawa aktif
4. Uji antikanker dengan metode MTT
5. Uji fitokimia kandungan senyawa aktif
6. Pemisahan senyawa aktif dengan menggunakan KLT preparatif
7. Identifikasi golongan senyawa aktif dengan spektrofotometer FTIR
8. Analisis data

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Preparasi Sampel

Daun dan akar masing-masing 300 gram dicuci bersih selanjutnya dikeringkan di udara terbuka, kemudian sampel dipotong kecil-kecil. Sampel yang sudah kering dihaluskan dengan blender hingga halus (serbuk) dan diayak dengan ayakan 90 mesh. Hasilnya berupa serbuk daun dan serbuk akar tanaman anting-anting yang akan digunakan sebagai sampel penelitian.

3.4.2. Analisis Kadar Air (AOAC, 1995)

Langkah awal yang dilakukan untuk analisis kadar air yaitu dipanaskan cawan pada suhu 105°C selama ±15 menit. kemudian didinginkan di dalam desikator selama 10 menit. Cawan ditimbang dan diulangi perlakuan sampai diperoleh berat konstan. Sampel kering ditimbang sebanyak 5 g dan dipanaskan pada suhu 105°C selama 1 jam. Sampel kering kemudian didinginkan dalam desikator selama ±15 menit dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dihitung menggunakan rumus berikut.

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \quad (3.1)$$

Keterangan: a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

3.4.3. Ekstraksi Senyawa Aktif (Istiqomah, 2015)

Ekstraksi senyawa aktif dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol, kloroform dan n-heksana. Sebanyak 300 g masing-masing sampel dibagi menjadi 3 bagian yang sama yaitu 100 gram. Sampel 100 gram dimasukkan dalam

erlenmayer 500 mL. Kemudian diekstraksi dengan menggunakan 400 mL pelarut etanol 96 % selama 24 jam, lalu *dishaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 2 jam. Kemudian disaring dengan *corong Buchner* dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama sampai filtrat berwarna pucat. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum* hingga diperoleh ekstrak pekat etanol.

Hasil ekstrak pekat etanol kemudian dibagi menjadi 3 bagian yang sama yaitu.

1. Bagian pertama, ditimbang dan disimpan untuk uji selanjutnya.
2. Bagian kedua, ekstrak pekat etanol diekstraksi cair-cair dengan pelarut kloroform sebanyak 50 mL. Kemudian diletakkan di dalam corong pisah dan dikocok selama 15 menit. Ekstrak didiamkan beberapa saat sampai terbentuk 2 lapisan yaitu berupa fase air (etanol-air) dan fase organik. Fase air diekstraksi cair-cair lagi dengan pelarut yang sama sampai diperoleh filtrat yang berwarna pucat, kemudian fraksi yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum*.
3. Bagian ketiga, ekstrak pekat etanol diekstraksi cair-cair dengan pelarut n-heksana 50 mL. Kemudian diletakkan di dalam corong pisah dan dikocok selama 15 menit. Ekstrak didiamkan beberapa saat sampai terbentuk 2 lapisan yaitu berupa fase air (etanol-air) dan fase organik. Fase air diekstraksi cair-cair lagi dengan pelarut yang sama sampai diperoleh filtrat yang berwarna pucat, kemudian fraksi yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator vaccum*.

3.5 Uji Antikanker dengan Metode MTT (CCRC, 2012)

3.5.1 Penyiapan Sel

Sel kanker payudara T47D diambil dari koleksi Universitas Gajah Mada (UGM) di inkubator CO₂. Sel kanker diambil dari *frozen stock* pada suhu -80⁰C, kemudian dihangatkan pada suhu 37⁰C selama 2 - 3 menit. Setelah mencair, sel dipindahkan ke dalam *conical tube* yang telah berisi 10 mL media RPMI. Setelah itu disentrifugasi untuk memisahkan sel kanker (pelet) dengan media RPMI. Kemudian pelet dipindahkan ke cawan petri yang telah berisi 10 mL media RPMI, diinkubasi pada inkubator CO₂ selama 3 – 4 jam pada suhu 37⁰C. Sel diamati kondisinya untuk melihat sel yang melekat di dasar cawan petri, pelet yang terbentuk diamati dibawah mikroskop dan jika jumlah sel di dalam cawan petri mencapai 70 – 85 % (konfluen) dilakukan panen sel.

Langkah – langkah yang dilakukan ketika panen sel yaitu dicuci sel 2x dengan PBS, kemudian ditambahkan trispsin-EDTA secara merata dan diinkubasi selama 3 menit. Ditambahkan media RPMI 5 mL untuk menginaktifkan sel kemudian dilakukan resuspensi. Sel kemudian diamati dibawah mikroskop *inverted*, kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 24 jam.

3.5.2 Perhitungan Sel Kanker

Panen sel diambil 10 µL dan dipindahkan ke *hemacytometer*. Diamati sel tersebut dan dihitung di bawah mikroskop *inverted* dengan *counter*. Jumlah sel kanker dapat diketahui dengan perhitungan sebagai berikut.

$$\sum \text{sel} = \frac{\sum \text{sel kamar A} + \sum \text{sel kamar B} + \sum \text{sel kamar C} + \sum \text{sel kamar D}}{4} \times 10^4 \quad (3.2)$$

3.5.3 Peletakan Sel pada *Plate*

Peletakan sel pada *plate* harus diketahui berapa jumlah mL panen sel yang akan diletakkan pada setiap sumuran (persamaan 3.2). Selanjutnya sel diletakkan dan ditambahkan media RPMI sesuai perhitungan ke dalam *plate* 96-*well* dan diinkubasi kembali selama 24 jam dalam inkubator CO₂. Cara menghitung sel yang diletakkan di dalam *plate* menggunakan rumus (3.3).

$$\sum \text{mL panen sel yang ditransfer} = \frac{\sum \text{total sel yang diperlukan}}{\sum \text{sel terhitung /mL}} \quad (3.3)$$

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

Sel dari inkubator diambil dan dibuang media sel. Kemudian dicuci dengan 100 μL *buffer* PBS. Selanjutnya dibuat larutan sampel. Ekstrak pekat etanol, fraksi kloroform dan fraksi n-heksana masing- masing 10 mg dilarutkan dalam 100 μL DMSO dan divortex. Selanjutnya larutan sampel sebanyak 100 μL dimasukkan dalam *plate* dan dibuat variasi konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63 ppm dan diulang 3 kali (triplo). Selanjutnya *plate* diinkubasi kembali selama 24 jam.

3.5.5 Pemberian larutan MTT

Media sel dalam cawan petri dibuang dan dicuci dengan *buffer* PBS. Selanjutnya 100 μL larutan MTT ditambahkan ke setiap sumuran kecuali control sel dan diinkubasi selama 3 – 4 jam (sampai terbentuk formazan). Kemudian kondisi sel diamati dengan mikroskop *inverted*. Selanjutnya ditambahkan SDS

10% dalam HCl 0,1 N. Selanjutnya *plate* dibungkus dengan aluminium foil dan diinkubasi di tempat gelap pada suhu ruangan semalam.

Selanjutnya dibaca absorbansi sel menggunakan ELISA *reader* untuk mengetahui nilai IC₅₀ setiap sampel. Sampel dimasukkan ke ELISA *reader*, dan dibaca absorbansi masing-masing sumuran dengan panjang gelombang 595 nm. Kemudian dihitung prosentase sel hidup dengan persamaan sebagai berikut.

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{(\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media})}{(\text{absorbansi kontrol negatif} - \text{absorbansi kontrol media})} \times 100 \% \quad (3.4)$$

3.6 Uji Fitokimia Senyawa Aktif

3.6.1 Uji Flavonoid

Sampel sebanyak 2 mg dicampur dengan 3 mL etanol 70%, lalu dikocok, dipanaskan, dan dikocok lagi kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh, kemudian ditambah Mg 0,1 g dan 2 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna merah pada lapisan etanol menunjukkan adanya flavonoid (Harbone, 1987).

3.6.2 Uji Alkaloid

Sampel ekstrak anting-anting diambil 2 mg dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,5 mL HCl 2% dan larutan dibagi dalam dua tabung reaksi. Tabung satu ditambah 2-3 tetes reagen Dragendroff dan tabung dua ditambah 2-3 tetes reagen Mayer. Jika tabung satu terbentuk endapan jingga dan pada tabung dua menunjukkan endapan kekuningan menunjukkan adanya alkaloid (Harbone, 1987).

3.6.3 Uji Tanin

Sampel sebanyak 2 mg, ditambahkan 2 – 3 tetes FeCl₃ 1 %. Terbentuknya warna hijau kehitaman/biru tinta menunjukkan adanya tanin (Harbone, 1987).

3.6.4 Uji Triterpenoid dan Steroid

Sampel sebanyak 2 mg dimasukkan dalam tabung reaksi. Dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Ditambahkan 1 – 2 ml H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung. Terbentuknya cincin kecoklatan/violet menunjukkan adanya triterpenoid sedangkan hijau kehitaman menunjukkan adanya steroid (Harbone, 1987).

3.6.5 Uji Saponin

Ekstrak daun dan akar tanaman anting-anting 2 mg dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah air (1:1) sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan HCl 1 M sebanyak 2 tetes, busa yang terbentuk dapat bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1 – 3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin (Harbone, 1987).

3.7Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Preparatif

Uji fitokimia dengan KLT dilakukan terhadap golongan senyawa yang positif dari hasil uji fitokimia. Identifikasi dengan KLT digunakan plat silika gel F₂₅₄. Masing-masing plat dengan ukuran 10x20 cm. Noda-noda pada permukaan plat diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, kemudian diamati pada masing-masing hasil nodanya. Pengembang dan reagen penguji masing-masing golongan senyawa adalah sebagai berikut.

- 1) Golongan senyawa alkaloid: digunakan pengembang campuran fase gerak kloroform-metanol (9,5:0,5) (Rahmah, 2014; Hayati dan Halimah, 2010; Masfufah, 2017)

- 2) Golongan senyawa steroid: digunakan pengembang n-heksana: etil asetat (7:3) (Husna, 2011 dan Hayati, dkk., 2012).

Bercak noda yang dihasilkan pada plat KLT dikerok. Bercak noda dilarutkan dengan etanol, selanjutnya disentrifugasi untuk mengendapkan silikanya, dilakukan sampai plat silika berwarna putih. Supernatan yang diperoleh akan dilanjutkan identifikasi dengan instrumentasi FTIR.

3.8 Identifikasi Senyawa Aktif dengan Spektrofotometer FTIR

Identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR dilakukan terhadap isolat yang diperoleh dari KLT preparatif. Isolat kemudian ditambahkan pada pellet KBr, didiamkan, lalu dibaca spektrum FTIR pada rentang bilangan gelombang 4000 cm^{-1} – 400 cm^{-1} .

3.9 Analisis Data

Data yang dianalisis adalah data derajat ekstrak dan fraksi daun dan akar anting-anting terhadap sel T47D. Hubungan antara sampel dan sel adalah kematian sel dan konsentrasi. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS dengan menggunakan analisis probit.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel merupakan tahap analisis bahan alam yang meliputi pencucian, pengeringan dan penyerbukan. Tujuan pencucian untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada sampel (Baraja, 2008). Tujuan pengeringan untuk mengurangi air dalam sampel agar terhindar dari perkembangbiakan mikroorganisme dan dapat disimpan dalam waktu yang lama (Baraja, 2008). Sampel dikeringkan pada suhu ruang bertujuan agar senyawa aktif yang memiliki titik didih rendah tidak rusak.

Penyerbukan dilakukan menggunakan penggilingan 90 mesh untuk memperoleh serbuk sampel yang seragam. Voight (1995) menyatakan semakin kecil bentuk sampel maka semakin luas permukaannya sehingga kontak antara sampel dan pelarut semakin besar sehingga dapat mempercepat proses ekstraksi. Sampel serbuk dapat mempercepat proses adsorpsi pelarut terhadap sampel secara menyeluruh pada sel terutama dinding sel, sehingga penyerapan pelarut akan mudah. Sampel yang diperoleh adalah serbuk daun dan akar anting-anting.

4.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan pada sampel serbuk kering yang bertujuan untuk mengetahui kandungan air pada sampel. Kumala (2007) menyatakan bahwa kadar air dalam sampel yang tinggi akan mempengaruhi proses pemekatan ekstrak yang disebabkan oleh penguapan pelarut yang sulit karena titik didih pelarut yang

telah bercampur dengan air. Analisis kadar air dilakukan dengan pemanasan menggunakan oven pada suhu 100-105°C selama 1 jam hingga diperoleh berat konstan (Harjadi, 1993). Selisih berat sampel sebelum dan sesudah pengeringan menunjukkan banyaknya air yang telah diuapkan. Hasil analisis kadar air akar dan daun anting-anting adalah 6,487 dan 7,446%. Hal ini sesuai dengan Setyowati (2009) yang menyatakan bahwa kadar air maksimum yang disyaratkan untuk proses ekstraksi agar berlangsung cepat sebesar 10%.

4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif

4.3.1 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi maserasi merupakan pemisahan suatu zat dengan merendaman sampel dalam pelarut (Baraja, 2008). Serbuk daun dan akar anting-anting masing-masing digunakan 100 gram dengan dilakukan tiga kali ulangan. Tujuannya untuk meningkatkan efisiensi proses maserasi dan untuk memaksimalkan senyawa yang terekstrak. Sampel dimaserasi dengan pelarut etanol 96%. Effendi (2006) menyatakan bahwa etanol memiliki gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat non polar. Adanya dua gugus tersebut menyebabkan senyawa yang memiliki kepolaran berbeda dapat terekstrak oleh etanol.

Pengadukan menggunakan *shaker* berkecepatan 120 rpm selama 3 jam. Pengadukan diperlukan saat maserasi agar kejenuhan pelarut lebih cepat dan ekstrak lebih homogen (Vogel, 1978). Proses maserasi dilakukan dengan penggantian pelarut setiap hari hingga diperoleh filtrat bening yang mengindikasikan senyawa telah terekstrak secara maksimal (Voight, 1995).

Penyaringan dilakukan setelah sampel direndam selama 24 jam. Penyaringan menggunakan corong *buchner* karena dapat mempercepat proses

penyaringan. Corong *buchner* dilengkapi dengan pipa vakum sehingga tekanan di dalam corong lebih besar dari pada di luar yang menyebabkan filtrat tertarik lebih kuat dan cepat. Filtrat yang diperoleh disimpan sedangkan residu dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama sampai filtrat berwarna bening.

Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum* untuk mendapatkan ekstrak pekat. Prinsipnya penurunan tekanan dengan dipercepatnya putaran labu alas bulat sehingga pelarut akan menguap pada suhu di bawah titik didih (Vogel, 1978). Pelarut etanol 96% diuapkan agar didapatkan ekstrak pekat daun dan akar anting-anting.

Rendemen merupakan parameter yang digunakan untuk mengetahui ekstrak yang dihasilkan dari maserasi. Nilai rendemen ekstrak pekat akar lebih kecil dari pada ekstrak pekat daun. Hasil ekstrak pekat dan rendemen ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Pengamatan ekstrak pekat daun dan akar anting-anting

Serbuk sampel	Warna ekstrak pekat	Serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
Daun	Hijau pekat	300	22,70	9,081
Akar	Coklat pekat	300	17,23	6,891

Hasil ekstrak pekat masing-masing sampel dibagi menjadi 3 bagian yang sama. Ekstrak pekat daun sebanyak 22,70 gram dibagi menjadi 3 bagian yang sama, didapatkan 7,5 gram masing-masing bagian. Bagian pertama digunakan untuk uji selanjutnya, bagian ke dua digunakan untuk ekstraksi cair-cair fraksi kloroform dan bagian ke tiga digunakan untuk ekstraksi cair-cair fraksi n-heksana. Ekstrak pekat akar sebanyak 17,23 gram dibagi menjadi 3 bagian yang sama, didapatkan 5,7 gram masing-masing bagian. Bagian pertama digunakan untuk uji

selanjutnya, bagian ke dua digunakan untuk ekstraksi cair-cair fraksi kloroform dan bagian ke tiga digunakan untuk ekstraksi cair-cair fraksi n-heksana

4.3.2 Ekstraksi Cair-Cair

Senyawa yang terkandung dalam ekstrak pekat diduga terdiri dari beberapa senyawa yang memiliki kepolaran yang berbeda. Prinsip ekstraksi cair-cair pemisahan senyawa yang lebih spesifik sifat kepolarannya dalam dua pelarut yang berbeda. Ekstraksi cair-cair menggunakan variasi pelarut dengan kepolaran yang berbeda, yaitu kloroform dan n-heksana. Pemilihan pelarut dilakukan agar senyawa yang memiliki kepolaran berbeda dapat terekstrak ke dalam pelarut yang sesuai.

Fraksi kloroform dihasilkan dari ekstrak etanol yang dilarutkan menggunakan aquades dan ditambahkan kloroform dengan perbandingan aquades dan kloroform yaitu 1:1. Pada fraksi n-heksana dihasilkan dari ekstrak etanol yang dilarutkan menggunakan aquades dan ditambahkan n-heksana dengan perbandingan 1:1. Penambahan pelarut kloroform digunakan untuk mendapatkan senyawa yang sifatnya semipolar (Harborne, 1987). Penambahan pelarut n-heksana untuk mendapatkan senyawa yang bersifat non-polar.

Terbentuk dua lapisan pada ekstraksi cair-cair terhadap kloroform dan n-heksana setelah dikocok dengan corong pisah. Massa jenis yang lebih besar akan berada pada lapisan bawah. Massa jenis air, kloroform dan n-heksana yaitu sebesar 1; 1,483 dan 0,695 g/mL.

Ekstraksi cair-cair dengan pelarut kloroform dan n-heksana diulangi sebanyak 5 kali hingga berwarna bening. Hal ini dimungkinkan bahwa senyawa yang sifatnya sama dengan pelarut yang digunakan telah terambil. Fraksi

kloroform dan fraksi n-heksana yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum* hingga diperoleh ekstrak pekat. Nilai rendemen hasil fraksi daun kloroform dan n-heksana sebesar 9,814 dan 12,78%. Sedangkan nilai rendemen hasil fraksi akar kloroform dan n-heksana yaitu 6,692 dan 12,33%.

4.4 Uji Antikanker dengan Metode MTT

Ekstrak dan fraksi masing-masing diuji aktivitas antikanker secara *in vitro* menggunakan sel T47D dengan metode MTT. Pengujian antikanker untuk mengetahui aktivitas ekstrak dan fraksi daun serta akar anting-anting dalam menghambat atau membunuh sel kanker payudara T47D. Variasi konsentrasi yang digunakan yaitu 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; dan 15,625 $\mu\text{g/mL}$.

Reaksi MTT merupakan reaksi reduksi selular yang didasarkan pada perubahan warna dari kuning menjadi biru keunguan (Basmal, dkk., 2009). Metode perubahan warna tersebut digunakan untuk mendeteksi adanya proliferasi sel. Sel yang hidup akan berwarna ungu akibat terbentuknya kristal formazan (Depamede, dkk., 2009). Hasil dari metode MTT berupa absorbansi yang digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} adalah nilai yang digunakan untuk mengukur aktivitas penghambatan sel secara *in vitro*.

Tahap pengujian antikanker meliputi penyiapan, perhitungan dan pemanenan sel, pembuatan dan peletakan larutan sampel pada *plate*, serta pemberian larutan MTT. Tahap penyiapan sel kanker adalah penghidupan kembali sel yang telah inaktif. Sel ditumbuhkan hingga menjadi konfluen dengan penambahan media kultur RPMI. Konfluenitas sel ditandai dengan tumbuhnya sel secara homogen atau merata sebagai sel monolayer sampai menutupi cawan petri.

Sel dikatakan konfluen apabila sel tersebut telah menempel dan berkembang memenuhi wadah kultur (Djati, 2006). Media kultur berfungsi sebagai sumber nutrisi dan respirasi agar sel dapat bertahan hidup dan memperbanyak diri (Abcam, 2007). Pada penyiapan sel, sel diletakkan dalam *incubator* CO₂ 5% dengan suhu 37°C untuk menjaga kondisi sel. Penentuan waktu inkubasi 24 jam untuk mencegah berkurangnya ketersediaan nutrisi yang dikonsumsi oleh sel. Penggantian RPMI yang baru bertujuan untuk membuang sel yang mati. Sel kanker T47D yang konfluen dapat dilakukan pemanenan sel.

Panen sel merupakan tahapan perhitungan sel hidup. Perhitungan sel dilakukan menggunakan alat *hemocytometer* untuk mengetahui jumlah sel hidup yang telah diperoleh. Hasil perhitungan sel hidup diperoleh sebanyak 82×10^4 /mL yang dapat dilihat pada Lampiran 4.2. Perhitungan sel yang diletakkan pada *plate* didapatkan 1,22 mL sesuai dengan rumus pada Lampiran 4.3. Penambahan media RPMI pada sel dilakukan sampai volumenya 10 mL. Sel yang diletakkan pada masing-masing sumuran sebanyak 100 μ L.

Tahapan pembuatan larutan sampel dilakukan dengan menggunakan pelarut dimetil sulfoksida (DMSO), yang mampu melarutkan senyawa polar maupun nonpolar pada sampel (Morshed, dkk., 2012). Larutan sampel stok dibuat 100.000 μ g/mL dengan melarutkan 10 mg sampel dengan DMSO sebanyak 100 μ L (Lampiran 4.4). Dari 100.000 μ g/mL larutan sampel stok diambil 10 μ L yang akan diletakkan pada tahap pengenceran sesuai dengan perhitungan pada Lampiran 4.5.

Plate yang sudah berisi sel dan media RPMI dimasukkan larutan sampel. Larutan sampel yang diletakkan pada masing-masing sumuran sebanyak 100 μ L.

Inkubasi dilakukan selama 24 jam untuk memaksimalkan interaksi antara sel dengan sampel uji.

Hasil inkubasi sel dilakukan pengamatan morfologi yang digunakan untuk mengetahui sel yang telah bereaksi dengan sampel pada konsentrasi tertentu. Pada Gambar 4.1 (a) sel yang mati lebih banyak dibandingkan dengan (b) dan (c). Sel yang mati berbentuk bulat sedangkan sel yang hidup berbentuk lonjong. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel maka sel yang mati juga semakin banyak.

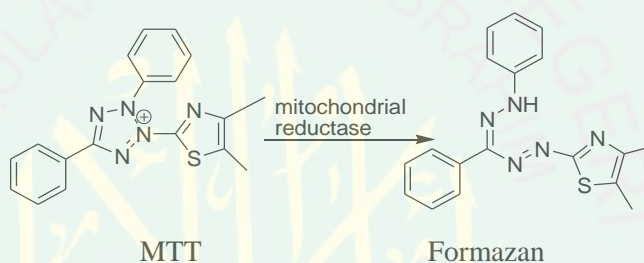


Gambar 4.1 Kenampakan morfologi sel T47D setelah diinkubasi 24 jam (a) sel kanker pada konsentrasi 1000 dan 500 ppm. (b) sel kanker pada konsentrasi 250 dan 125 ppm. (c) sel kanker pada konsentrasi 62,5; 31,25 dan 15,625 ppm.

Plate yang berisi sel dan larutan sampel ditambahkan larutan stok MTT sebanyak 100 μL pada semua sumuran termasuk kontrol sel dan media. Inkubasi dilakukan selama 3 jam setelah ditambahkan MTT dengan tujuan untuk memaksimalkan terbentuknya kristal formazan. Penambahan 100 μL SDS digunakan untuk melarutkan kristal formazan dan menghentikan reaksi antara reagen MTT dengan *enzim reduktase* yang terdapat pada mitokondria sel.

Pembentukan kristal formazan diukur absorbansinya menggunakan *ELISA reader* (CCRC, 2009).

MTT diabsorpsi oleh mitokondria sel hidup dan akan bereaksi dengan hidrogen yang berasal dari sistem reduktase yang dapat mengakibatkan pecahnya sistem suksinat tetrazolium reduktase. Sel yang hidup akan memecah garam tetrazolium (MTT) menjadi kristal formazan yang terdapat dalam jalur respirasi sel. Reaksi pembentukan kristal formazan dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Reaksi MTT membentuk formazan (Meiyanto,dkk., 1999)

Pengukuran absorbansi menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 595 nm. Intensitas warna dan absorbansi yang dihasilkan sebanding dengan jumlah sel yang hidup. Semakin pekat warna ungu sel maka semakin besar absorbansinya sehingga jumlah sel hidup yang bereaksi dengan reagen MTT semakin banyak (Meiyanto, dkk., 1999). Sebaliknya, jika warnanya semakin pudar (kuning), jumlah sel yang mati semakin banyak. Aktivitas sampel uji dianalisis menggunakan program SPSS 16 dengan analisis probit yang digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} pada setiap sampel.

Tabel 4.2 Nilai IC₅₀ uji aktivitas antikanker akar dan daun anting-anting

Sampel	IC ₅₀ (ppm)	
	Daun	Akar
Ekstrak etanol	122	355
Fraksi kloroform	338	215
Fraksi n-heksana	256	316

Berdasarkan hasil IC₅₀ pada Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun anting-anting memiliki nilai IC₅₀ terendah. Hal ini berarti pada konsentrasi 122 ppm ekstrak etanol daun mampu menghambat poliferasi sel sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka sampel tersebut semakin toksik. Sebagaimana telah dijelaskan oleh Allah SWT dalam al-Quran surat al-Qomar (54):49.

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

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

Kata قَدْرٌ berarti mengukur, memberi kadar (Shihab, 2002), sehingga pengertian ayat ini adalah memberi kadar/ukuran/batas-batas tertentu dalam kemampuan maksimalnya. Sebagaimana pemanfaatan daun dan akar anting-anting sebagai alternatif penghambatan dan pengobatan kanker dengan kadar tertentu akan menghambat pertumbuhan kanker dengan jumlah tertentu.

Aktivitas daun anting-anting pada penelitian ini lebih baik jika dibandingkan dengan aktivitas akar anting. Hal ini didukung dengan Solehah (2017) bahwa pada tanaman anting-anting keseluruhan memiliki aktivitas terbaik sebesar 308 ppm, sedangkan akar pada penelitian ini menunjukkan aktivitas sebesar 355 ppm. Menurut data tersebut dapat diketahui bahwa bagian tanaman

anting-anting yang dapat meningkatkan aktivitas antikanker adalah bagian daun. Aryanti (2004) menyatakan bahwa daun merupakan tempat asimilasi dan fotosintesis dari tanaman dan diperkirakan senyawa antikanker disintesis di bagian daun dan banyak terakumulasi pada bagian daun.

Perbedaan potensi suatu sampel dalam menghambat kanker dipengaruhi oleh kandungan senyawa dalam sampel tersebut. Hasil IC_{50} daun ekstrak etanol memiliki nilai yang paling bagus, hal ini dikarenakan pada ekstrak etanol daun mampu mengambil senyawa-senyawa polar maupun non polar. Pada fraksi kloroform hanya mengambil senyawa yang bersifat semi polar dan pada fraksi n-heksana mengambil senyawa yang bersifat non-polar. Menurut identifikasi secara fitokimia terdapat senyawa alkaloid yang merupakan senyawa non polar dan steroid yang merupakan senyawa semi polar pada daun ekstrak etanol. Senyawa-senyawa tersebut dimungkinkan senyawa yang memiliki aktivitas terhadap antikanker. Hal ini didukung dengan hasil isolasi senyawa steroid sebagai antikanker memiliki aktivitas sebesar 1,1 ppm (Afrianti, 2015) dan isolasi senyawa alkaloid sebagai antikanker memiliki aktivitas sebesar 25,12 ppm (Wikanta, dkk., 2013).

Solehah (2017) menyatakan bahwa fraksi kloroform anting-anting dengan uji fitokimia dan identifikasi LC-MS menunjukkan adanya senyawa steroid yang memiliki aktivitas sebesar 308 ppm. Pada penelitian ini ekstrak etanol mengandung senyawa steroid dan alkaloid memiliki aktivitas sebesar 122 ppm. Dari data tersebut dapat diketahui bahwa steroid dan alkaloid bekerja secara sinergis dalam menghambat sel kanker.

Sifat sitotoksik memiliki tiga tingkatan menurut *National Cancer Institute* (NCI), yaitu sangat aktif apabila nilai $IC_{50} < 30$ ppm, lemah apabila nilai $IC_{50} > 100$ ppm (NCI, 2009). Hasil nilai IC_{50} ekstrak etanol daun 122 ppm hal ini berarti ekstrak etanol daun anting-anting dapat digunakan sebagai obat antikanker akan tetapi keefektifannya lemah.

Senyawa alkaloid akan menghambat sel kanker T47D pada fase G_1 dengan meningkatkan p53 yang merupakan protein penghambat sel kanker (Asmuddin, 2004), sedangkan senyawa steroid menghambat sel kanker T47D pada fase G_1 dengan meningkatkan p21 yang merupakan protein penghambat sel kanker (Hoffmannova, dkk., 2012). Mekanisme penghambatan sel kanker ditunjukkan pada gambar 2.11.

4.5 Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Daun Anting-Anting

4.5.1 Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif golongan senyawa aktif pada ekstrak tanaman. Tujuan dilakukan uji fitokimia untuk mengetahui kandungan golongan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak etanol daun anting-anting. Prinsipnya adalah reaksi pengujian warna (*spot test*) dan busa dengan suatu pereaksi warna (Kristanti *et al*, 2008). Hasil uji kandungan senyawa aktif ekstrak etanol ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Berdasarkan uji fitokimia pada Tabel 4.3 diketahui bahwa ekstrak etanol daun anting-anting mengandung alkaloid dan steroid. Kandungan senyawa tersebut dapat memperkuat adanya dugaan terhadap aktivitas antikanker. Hal ini didukung dengan senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai obat

antikanker yang terdapat pada tanaman lain yaitu alkaloid dan steroid pada daun ketapang (Restasari, 2009).

Tabel 4.3 Hasil uji kandungan senyawa aktif ekstrak etanol daun anting-anting

Golongan Senyawa Aktif	Pereaksi	Ekstrak	Keterangan Hasil Positif
Alkaloid	Mayer	+++	Endapan kekuningan
	Dragendroff	+++	Endapan jingga
Flavonoid	Asam asetat dan HCl	-	-
Tanin	FeCl ₃	-	-
Saponin	HCl	-	-
Triterpenoid	Lieberman Burchard	-	-
Steroid	Lieberman Burchard	++	Hijau kebiruan

Keterangan: +++ = Mengandung senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)

++ = Mengandung senyawa (warna cukup pekat)

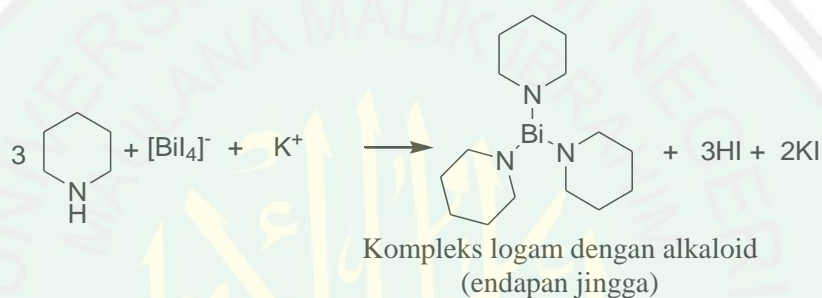
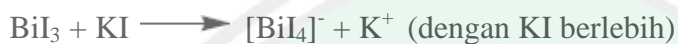
- = Tidak mengandung senyawa

4.5.1.1 Alkaloid

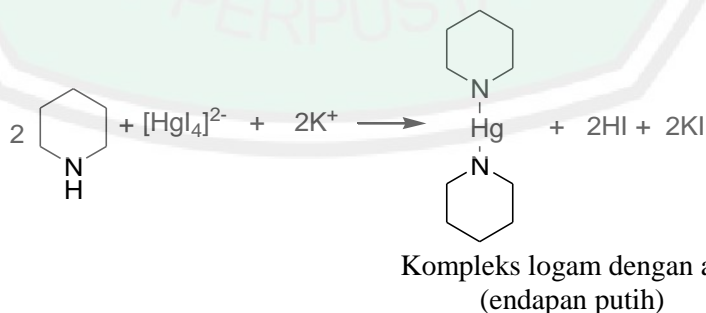
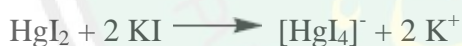
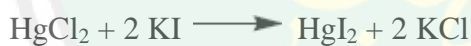
Hasil uji fitokimia daun anting-anting positif adanya alkaloid menggunakan reagen Dragendroff terbentuk endapan berwarna jingga dan Mayer terbentuk endapan kekuningan. Reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendroff akan membentuk tetraiodobismutat yang berwarna jingga (Vogel, 1978). Terbentuknya tetraiodobismutat dikarenakan alkaloid mampu bergabung dengan logam bismut (Sastrohamidjojo, 1996). Pereaksi Dragendroff dapat bereaksi dengan senyawa alkaloid dalam suasana asam. Alkaloid dalam suasana asam, gugus basa nitrogennya meng-ion berupa kation sehingga dapat bereaksi dengan anion iodobismutat sehingga menghasilkan endapan (Yuhernita dan Juniarti, 2011).

Uji alkaloid menggunakan reagen Mayer ditunjukkan dengan endapan berwarna kekuningan. Alkaloid mengandung atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion. Pada uji alkaloid diperkirakan nitrogen pada

alkaloid akan bereaksi dengan ion Hg dari kalium tetraiodomerkurat(II) membentuk kompleks merkuri-alkaloid yang mengendap. Mekanisme reaksi uji fitokimia dengan reagen Dragendroff dan Mayer ditunjukkan pada Gambar 4.3 dan 4.4 mengacu pada Lutfillah (2008).



Gambar 4.3 Reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendroff (Lutfillah, 2008)



Gambar 4.4 Reaksi senyawa alkaloid dengan pereaksi Mayer (Lutfillah, 2008)

4.5.1.1 Steroid

Hasil uji fitokimia steroid menunjukkan hasil positif terhadap ekstrak etanol daun anting-anting. Adanya senyawa steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kebiruan ketika diuji dengan reagen H_2SO_4 dan asam asetat anhidrat (Robinson, 1995). Adanya perubahan warna ini karena terjadi reaksi oksidasi pada golongan steroid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (senyawa pentaenilik). Senyawa steroid akan membentuk garam yang dapat memberikan reaksi warna dengan penambahan H_2SO_4 (Zahro, 2013). Mekanisme reaksi uji fitokimia ditunjukkan pada Gambar 4.5 mengacu pada Burke, dkk., (1987) yang telah melakukan uji fitokimia pada fokusterol.

Perintah Allah SWT kepada manusia untuk memperhatikan keajaiban tanaman dengan batas kemampuan maksimalnya telah tertulis dalam al-Quran surat asy-Syu'ara(26):7.

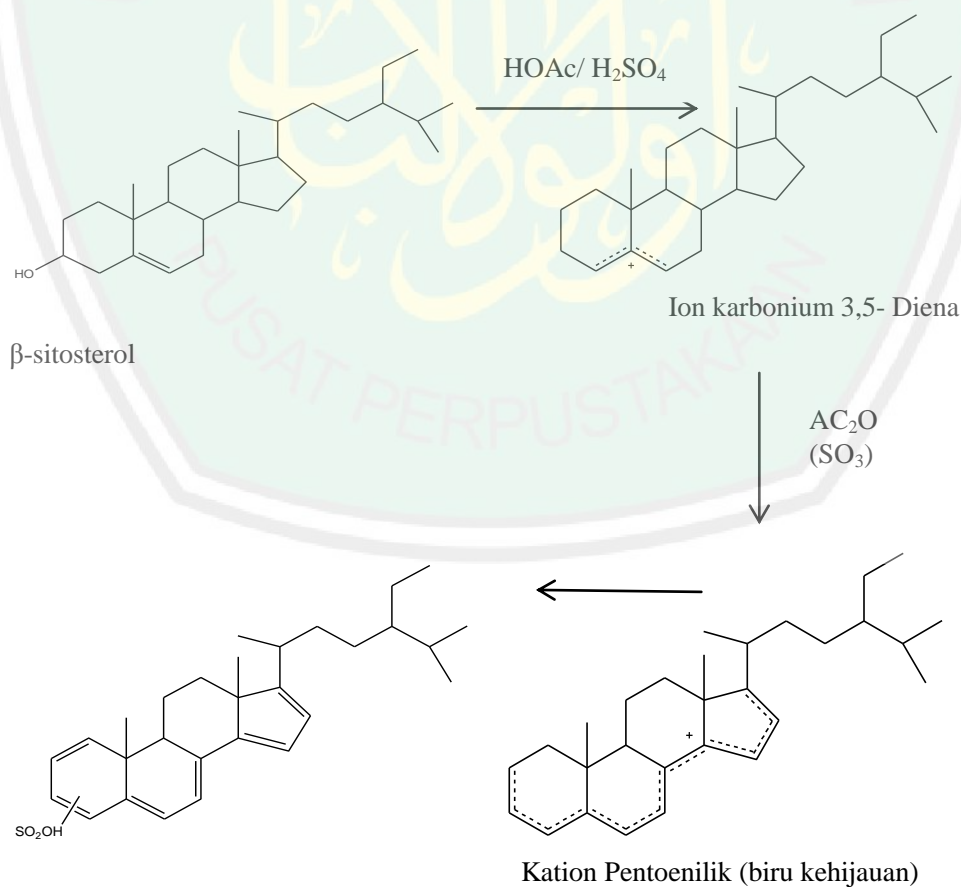
أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?” (QS. Asy-Syu'ara:7)

Kata *إلى* pada ayat ini merupakan makna batas akhir. *إلى* berfungsi memperluas arah pandangan hingga batas akhir, dengan demikian ayat ini memerintahkan manusia untuk mengarahkan pandangannya hingga batas kemampuannya. Dalam hal ini dapat ditunjukkan dengan dilakukannya identifikasi melalui uji fitokimia kandungan daun anting-anting. Kata *زوج* pada ayat ini berarti berpasangan. Dalam konteks ini, berpasangan berarti tanaman

mempunyai kelebihan dan kekurangan masing-masing. Salah satu kelebihan tanaman yaitu dapat dimanfaatkan sebagai obat antikanker, seperti halnya tanaman anting-anting. Kata *كريم* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tanaman yang baik, paling tidak adalah yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002).

Tanaman yang baik dalam hal ini adalah tanaman yang bermanfaat bagi makhluk hidup untuk pengobatan. Tanaman yang mampu digunakan sebagai obat dapat dilihat dari kandungan senyawanya. Senyawa yang terdapat pada daun tanaman anting-anting berdasarkan uji fitokimia mengandung steroid dan alkaloid yang dapat memperkuat adanya dugaan terhadap aktivitas antikanker.



Gambar 4.5 Reaksi β -sitosterol dengan reagen Liebarman-Burcahrd (Burke, dkk., 1987)

4.5.2 Pemisahan Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

4.5.2.1 Alkaloid

Pemisahan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) digunakan untuk memperoleh isolat senyawa alkaloid dalam ekstrak etanol daun anting-anting. Pemisahan ini terjadi karena adanya perbedaan kepolaran senyawa dengan fase diam dan fase gerak. KLTP menggunakan plat silika F₂₅₄ dengan ukuran 10x20 cm sebagai fase diam yang bersifat polar dan eluen sebagai fase gerak.

Eluen yang baik adalah eluen yang dapat memisahkan senyawa dalam bentuk noda yang banyak. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antar noda satu dengan noda yang lainnya jelas. Noda yang memiliki nilai R_f kecil lebih bersifat polar karena lebih tertahan ke dalam plat silika, sedangkan noda yang memiliki R_f besar memiliki sifat yang lebih non-polar karena ikut terbawa oleh eluen yang memiliki sifat lebih non polar.

Eluen yang digunakan dalam penelitian ini adalah kloroform:metanol (9,5:0,5). Eluen tersebut merupakan eluen terbaik yang digunakan untuk memisahkan senyawa alkaloid berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Hayati (2012) dan Masfufah (2017). Penjenuhan eluen dilakukan selama 1 jam sebelum elusi. Fungsi penjenuhan eluen untuk mempermudah proses elusi dengan adanya tekanan dari uap eluen. Penotolan sampel dilakukan dengan menotolkan larutan ekstrak 10.000 ppm pada plat silika sebanyak 20 kali total. Proses elusi dihentikan sampai eluen telah mencapai tanda batas atas.

Noda yang dihasilkan diamati dibawah lampu UV pada panjang gelombang (λ) 366 nm. Pada λ 366 nm noda akan berfluoresensi dan lempeng akan bewarna gelap. Timbulnya noda pada lampu UV 366 karena adanya daya interaksi antara

sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh auksokrom yang ada pada noda (Sudjadi, 1988). Hasil pemisahan KLTP senyawa alkaloid ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Berdasarkan Tabel 4.4 elusi senyawa dalam ekstrak etanol daun anting-anting diperoleh 9 noda yang terpisah. Noda yang diduga senyawa alkaloid adalah noda yang berwarna biru kehijauan dengan Rf 0,87. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Husna (2011) yang menunjukkan bahwa senyawa alkaloid dihasilkan noda biru kehijauan pada Rf 0,37-0,97. Hayati (2012) menggunakan eluen yang sama pada tanaman anting-anting dihasilkan noda berwarna hijau kebiruan pada Rf 0,58; 0,78 dan 0,87 yang diduga senyawa alkaloid. Rahmah (2014) melakukan isolasi alkaloid pada tanaman anting-anting diperoleh noda yang berwarna biru kehijauan. Masfufah (2017) melakukan isolasi alkaloid tanaman anting-anting diperoleh noda berwarna biru kehijauan. Deteksi adanya alkaloid pada λ 366 nm menunjukkan warna hijau kebiruan (Wagner, 1988).

Tabel 4.4 Hasil KLTP alkaloid dengan eluen kloroform:metanol (9,5:0,5)

No.	Nilai Rf	Warna noda di bawah sinar UV pada λ 366 nm	Dugaan Senyawa	Literatur
1.	0,07	Merah	Triterpenoid	Farnsworth (1996)
2.	0,28	Merah muda	Triterpenoid	
3.	0,51	Coklat	Flavonoid	Harborne (1987)
4.	0,58	Merah	Triterpenoid	Farnsworth (1996)
5.	0,74	Merah	Triterpenoid	
6.	0,85	Coklat	Flavonoid	Harborne (1987)
7.	0,87	Biru kehijauan	Alkaloid	Wagner (1988)
8.	0,90	Coklat	Flavonoid	Harborne (1987)
9.	0,91	Merah	Triterpenoid	Farnsworth (1996)

4.5.2.2 Steroid

Pemisahan dengan KLTP digunakan untuk memperoleh isolat senyawa steroid dalam ekstrak etanol daun anting-anting. Pemisahan senyawa steroid menggunakan KLTP digunakan eluen n-heksana:etil asetat (7:3). Eluen tersebut merupakan eluen terbaik yang digunakan untuk memisahkan senyawa steroid (Hayati dan Halimah, 2010; Hayati, 2012; Sharo, dkk., 2013; & Istiqomah, dkk., 2015). Hasil pemisahan KLTP senyawa alkaloid ditunjukkan pada Tabel 4.5.

Berdasarkan Tabel 4.5 elusi senyawa pada ekstrak etanol daun anting-anting diperoleh 12 noda yang terpisah. Noda yang diduga senyawa steroid adalah noda yang berwarna hijau terang dengan Rf 0,84. Hal ini sesuai dengan penelitian Hayati dan Halimah (2010) yang menunjukkan bahwa pemisahan senyawa steroid menggunakan eluen yang sama pada tanaman anting-anting dihasilkan noda berwarna hijau terang pada Rf 0,57-0,96. Hayati (2012) menggunakan eluen yang sama dihasilkan noda berwarna hijau yang merupakan steroid. Istiqomah, dkk., (2015) mengisolasi senyawa steroid diperoleh pada Rf 0,21-0,93.

Tabel 4.5 Hasil KLTP senyawa steroid dengan eluen n-heksana:etil asetat (7:3)

No.	Nilai Rf	Warna noda di bawah sinar UV pada λ 366 nm	Dugaan Senyawa	Literatur
1.	0,06	Merah	Triterpenoid	Farnsworth (1996)
2.	0,16	Merah muda	Triterpenoid	
3.	0,22	Merah muda	Triterpenoid	
4.	0,30	Merah muda	Triterpenoid	
5.	0,39	Merah	Triterpenoid	
6.	0,47	Merah	Triterpenoid	
7.	0,56	Merah	Triterpenoid	
8.	0,67	Merah	Triterpenoid	
9.	0,74	Merah	Triterpenoid	
10.	0,78	Ungu kebiruan	Tanin	Harborne (1987)
11.	0,81	Coklat	Flavonoid	
12.	0,84	Hijau terang	Steroid	Heftman, E. (1976)

4.5.3 Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Data yg diperoleh dari spektrofotometer FTIR merupakan data yang dapat memperkuat dugaan bahwa isolat hasil KLTP merupakan senyawa alkaloid dan steroid. Informasi yang didapatkan dari spektrofotometer FTIR dapat ditentukan gugus fungsi dari suatu senyawa berdasarkan perbedaan momen dipol.

4.5.3.1 Alkaloid

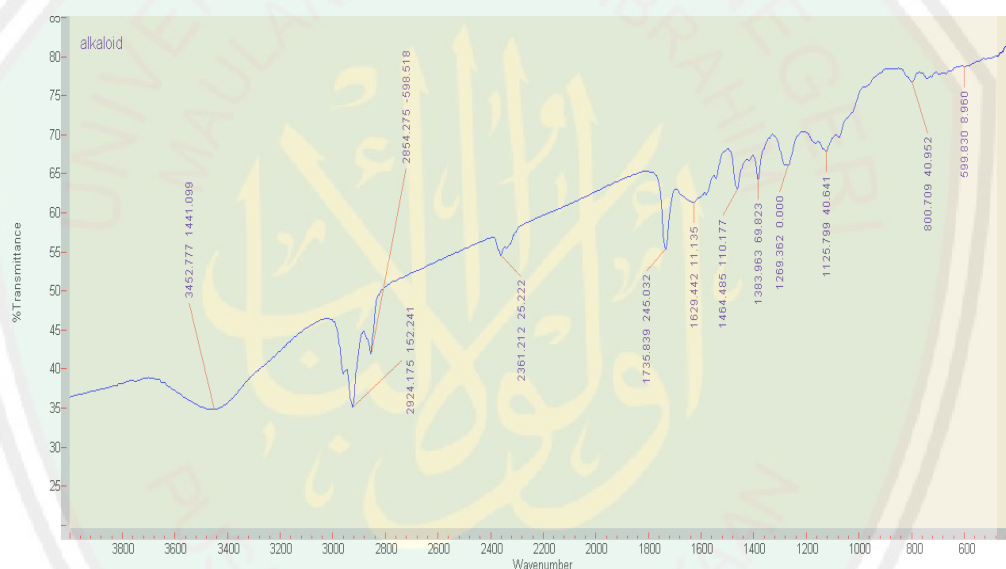
Hasil FTIR isolat alkaloid ditunjukkan dalam Gambar 4.3 dan interpretasinya disajikan pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Interpretasi isolat alkaloid

Isolat	Bilangan gelombang (cm^{-1})				Jenis vibrasi
	Range	Alkaloid			
	Fessenden & Fessenden, 1982	Fitriyani, dkk., 2016	Astutiningsih, dkk., 2012	Tengo, dkk., 2013	
3453	3700-3000	3453	3464	3312	Ulur N-H
2924	3300-2700	2927	2986	2922	Ulur -CH
2854		2860	2901	2851	
1736	1850-1650	1736	1744	1736	Ulur C=O
1629	1700-1550	1644	-	1641	Ulur C=C aromatik
1465	1480-1300	1460	1451	1468	Tekuk C-H
1384		1386	1373	1433	
1269	1460-1200	-	1242	1240	Tekuk O-H
1125	1300-900	1096	-	1130	Ulur C-N
801	1200-800	800	849	847	Ulur C-C
599	630-570	-	-	581	-N-C=O

Hasil interpretasi pada Tabel 4.6 menunjukkan beberapa gugus spesifik yang berada pada senyawa alkaloid. Gugus-gugus tersebut diantaranya pada bilangan gelombang 3453 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus N-H. Vibrasi C-H nampak pada 2924 dan 2854 cm^{-1} . Pita serapan 1736 cm^{-1} memberi indikasi bahwa -C=O tersebut sebagai -C=O terikat oleh suatu atom -N- terikat sebagai

gugus amida (-N-C=O). Gugus amida diperkuat pada pita serapan 599 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus N-C=O. Keberadaan gugus aromatik dipertegas dengan adanya serapan pada 1629 cm^{-1} yang merupakan serapan ulur dari -C=C- aromatik. Isolat dugaan alkaloid dapat diperkuat sebagai suatu senyawa aromatik yang mempunyai ikatan amida. Spektrum-spektrum seperti uraian di atas diduga merupakan golongan alkaloid (Astutiningsih, dkk., 2012; Wahyuono, dkk., 2013; Tenggo, dkk., 2013; & Fitriyani, dkk., 2016).



Gambar 4.6 Hasil spektra FTIR alkaloid

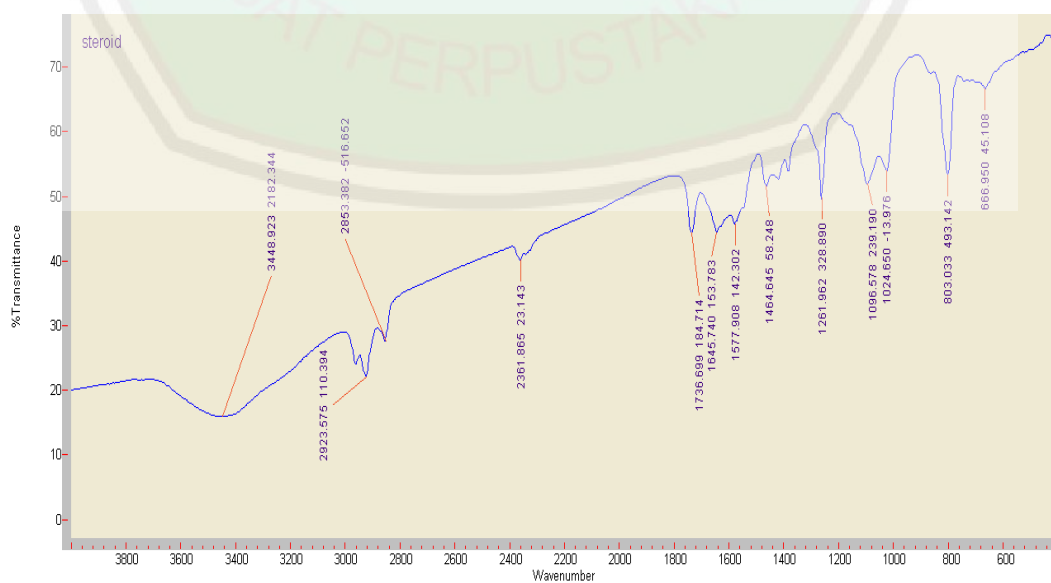
4.5.3.2 Steroid

Hasil FTIR isolat steroid ditunjukkan dalam Gambar 4.4 dan interpretasinya disajikan pada Tabel 4.7. Senyawa hasil isolasi memperlihatkan pita serapan pada bilangan gelombang 3449 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya serapan gugus O-H bebas. Adanya pita pada bilangan gelombang 2924 dan 2853 cm^{-1} merupakan ulur C-H yang diperkuat dengan adanya serapan bilangan gelombang 1465 dan 1262 cm^{-1} yang menunjukkan tekukan C-H serta pita serapan pada daerah bilangan

gelombang 1646 cm^{-1} ditimbulkan dari gugus $\text{C}=\text{C}$. Pada bilangan 667 cm^{-1} menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa siklik. Spektrum-spektrum seperti uraian di atas dimungkinkan merupakan senyawa golongan steroid (Pramana & Saleh, 2013; Salempa, 2014 & Quais, 2015).

Tabel 4.7 Interpretasi isolat steroid

Isolat	Bilangan gelombang (cm^{-1})				Jenis vibrasi
	Range	Steroid			
	Fessenden & Fessenden, 1982	Pramana & Saleh, 2013	Istiqomah, 2015	Quais, 2015	
3449	3700-3000	3433	3446	3436	Ulur O-H
2924	3300-2700	2966	2924	2923	Ulur -CH
2853		2866	2857	2853	alifatik
1737	1850-1650	-	1736	1734	Ulur $\text{C}=\text{O}$
1646	1700-1550	1641	1647	1647	Ulur $\text{C}=\text{C}$
1578			1557		
1465	1480-1300	1462	1457	1463	Tekuk C-H
1262	1460-1200	-	1384	-	Tekuk O-H
1097	1300-900	1056	1102	1074	Ulur C-O
1025					
803	1200-800	-	-	-	Ulur C-C
667	995-650	961	668	669	Tekuk $=\text{C}-\text{H}$ siklik



Gambar 4.7 Hasil spektra FTIR steroid

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi n-heksana daun anting-anting (*Acalypha indica* L.) memiliki nilai IC_{50} berturut-turut 122; 338; dan 256 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan akar memiliki nilai IC_{50} berturut-turut 355; 215 dan 316. Ekstrak etanol, fraksi kloroform dan fraksi n-heksana memiliki aktivitas sangat lemah dalam menghambat pertumbuhan sel kanker T47D.
2. Identifikasi senyawa aktif dilakukan pada ekstrak daun anting-anting menggunakan uji fitokimia, KLTP dan FTIR menunjukkan adanya senyawa alkaloid dan steroid sebagai senyawa antikanker.

5.2 Saran

Hasil pengujian aktivitas antikanker menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun anting-anting memiliki aktivitas terbesar. Pengujian lebih lanjut disarankan untuk mengisolasi senyawa aktif dengan pemisahan yang lebih baik lagi kemudian diujikan terhadap sel kanker payudara T47D lagi dan sel vero (sel sehat).

DAFTAR PUSTAKA

- A'ilah, A.F. 2015. Uji Aktivitas Antikanker Terhadap Sel Kanker Payudara T47D Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Dari Ekstrak dan Fraksi Akar Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* B.). *Skripsi*. Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Abcam. 2007. *T47D (Human Ductal Breast Epithelial Tumor Cell Line) Whole Cell Lysate*. (Online), (<http://www.abcam.com>), diakses 18 September 2015.
- Aksara, R., Musa, W.J.A., dan Alio, L. 2013. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Mangifera indica* L.). *Jurnal Entropi*, VIII(1): 514-519.
- Anggrianti, P. 2008. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Kemukus (*Piper cubeba* L.) Terhadap Sel Hela. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- AOAC. 1995. Official Method International of Analysis of AOAC International 16th ed. *AOAC International*. Arlington Virginia.
- Arifianti, L., Sukardiman., Studiawan, H., Rakhmawati., dan Megawati, L. 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Sel Kanker Mamalia Secara *In Vitro*. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 1(2):63-66.
- Arifin, H., Anggraini, N., Dian, H., dan Rasyid, R. 2014. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Eugenia cumini Merr. *Jurnal Sains Teknologi Farmasi*, 11(2):88-93.
- Asmuddin. 2004. Peran Gen *p16* Pada Siklus Sel Terhadap Pembentukan Kanker. *JKM*. 4(1): 63-73.
- Astutiningsih, C., Nuzulia, F., dan Suprijono, A. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl) Secara Spektrofotometri UV-Vis dan IR Serta Uji Toksisitas Akut Terhadap Larva *Artemia salina* Leach. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 9(2): 66-70.
- Auwaliyah, F. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Rumpun Bambu (*Lophatherum gracile* B.) dengan Metode DPPH dan Identifikasi Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus elastica* Nois ex Blume terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Basmal, J., Amini, S., Sugiyono., dan Murniyati. 2009. *Seminar Nasional Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Jakarta.
- Bawa, I. 2009. Isolasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Toksik dari Daging Buah Pare (*Momordica charantia* L.). *Jurnal Kimia*, 3(2): 1117-124.
- Burke, R.W., Diamondstone, B.A., Velapoidi. R.A., dan Menis O. 1974. Mechanisms of the Liebermann-Burchard and Zak Color Reaction for Cholesterol. *Clinical Chemistry Journal*, 20(7).
- CCRC. 2009. *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, UGM.
- Da'i, M., Fiveri, A., dan Meiyanto, E. 2007. Efek Sitotoksik Ekstrak Tanaman Keladi Tikus (*Typhonium divaricatum* L.) Terhadap Sel Hela. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 3(4):163-167.
- Dasuki, H. 1990. *Al Qur'an dan Tafsirnya* Jilid I. Yogyakarta: PT. Dana Bhakti Wakaf.
- Day, R.A., dan Underwood, A.L. 1999. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Terjemahan: Puja Atmaka, A.H. Edisi ke V. Jakarta: Erlangga.
- Depamede, S. N., dan Rosyidi, A. 2009. Penghambatan Poliferasse Limfosit Mencit Balb/C oleh Ekstrak Testis Sapi Bali: Peran TGF- β . *Media Peternakan*, 32(2).
- Departemen Agama Republik Indonesia. 2007. *Al-Qur'an dan Tafsirnya* Jilid VIII. Jakarta: Departemen Agama RI wakaf UII.
- Dermawan, R. 2012. Metode Analisis Uji Warna Senyawa Metabolit Sekunder. Makalah Kimia Organik Analisis. Makassar: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
- Dewi, S., Rahman, F., Handayani, N., dan Rahmawati, R. 2010. Penentuan Kandungan Kimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Buah Merah (*Pandanu sconoideus* Lam.). *Skripsi*. Lampung: Universitas Lampung.
- Djati, M.S. 2006. *Teknologi Manipulasi dan Kultur Sel Jaringan Hewan*. Malang: Universitas Brawijaya Press.

- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi Jilid I*. Malang: Banyu Media Publishing.
- Febriyanti, M., Supriyatna. dan Abdulah, R. 2014. Kandungan Kimia dan Aktivitas Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Herba Anting-Anting Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 7(1):19-26.
- Felicia. 2009. Efek Neuroterapi Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Terhadap Saraf M. Gastroknemius Katak. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Fessenden & Fessenden. 1982. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Jakarta: Erlangga.
- Fitriyani., Kusriani, D., dan Fachriyah, E. 2016. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sitotoksik Senyawa Alkaloid Dari Daun Mindi (*Melia azedarach* L.). *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 1(2): 33-40.
- Gandjar, I. B., dan Rohman. A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gani, B.A., dkk. 1990. *Al-Qu'an dan tafsirnya jilid III*. Yogyakarta: PT. Dana Bhakti Wakaf.
- Gritter, R.J. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung: Institut Teknologi Bandung Press.
- Halimah, N. 2010. Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Hardiyanti, D.H. 2015. Uji Antikanker Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Benalu Mangga (*Dendrophloe pentandra*) Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Harjadi, W. 1993. *Ilmu Kimia Analitik Dasar*. Jakarta: Gramedia.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan: Padmawinata K. dan Soedira, I. Bandung: Institut Teknologi Bandung Press.
- Hayati, E.K., dan Halimah, N. 2010. Phytochemical Test and Brine Shrimp Lethality Test Against *Artemia salina* Leach of Anting-anting (*Acalypha indica* Linn.) Plant Extract. *Alchemy*, 1(2):53-103.

- Hayati, E.K., Jannah, A., dan Ningsih, R. 2012. Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria *In Vivo* Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.). *Molekul*, 7(1):20-32.
- Heftman, E. 1976. *Chromatography of Steroids*. New York: Elsevier.
- Herlina, T. 2009. Senyawa Antikanker dari Dadap Ayam (*Erythrina variegata*). *Indonesian Journal of Cancer*, 3(4):151-154.
- Herlina, T., Syafruddin., dan Udin, Z. 2012. Senyawa Aktif Antikanker Payudara dan Antimalaria Dari Tumbuhan Dadap Ayam (*Erythrina variegata*) Secara *In Vitro*. *Jurnal Manusia Dan Lingkungan*, 19(1):30-36.
- Hidayat, M. B. C. 2005. Identifikasi Senyawa Flavonoid Hasil Isolasi dari Propolis Lebah Madu *Apis mellifera* dan Uji Aktivitasnya sebagai Antijamur *Candida albicans*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Hidayati, D.N., Arifin, I., dan Susilowati, S. 2011. Uji Sitotoksitas Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Herba Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D dan Sel Kanker Leher Rahim (Sel Hela) Serta Uji Kandungan Senyawa Kimianya. *Artikel*. Semarang: Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim.
- Hoffmannova, L., Oklestkova, J., Steigerova, J., Kahout, L., Kolar, Z. dan Strnad M. (2012). Anticancer activity of Brassinosteroid. *Brassinosteroid: Practical in Agriculture and Human Health*.
- Husna, N.A. 2011. Identifikasi Senyawa Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.) dan Uji Aktivitas Antimalaria *In Vivo* Pada Hewan Uji. *Skripsi*. Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Hutapea, J.R. 1993. Inventaris Tanaman Obat Indonesia III. Jakarta: Depkes RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
- International Agency for Research on Cancer (IARC). 2012. *GLOBOCAN 2008 Fast Stats. France: GLOBOCAN (IARC) Section of Cancer Information*. (Online), (<http://globocan.iarc.fr/factsheet.asp>), diakses 25 Januari 2016.
- Imani, F. 2004. *Tafsir Nurul Qur'an Jilid 2*. Jakarta: Al-Huda.
- Isparning, I.Y., Puspitasari, E., dan Pangaribowo, D.A. 2015. Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Daun (*Arcangelisia flava*) Pada Sel Kanker Payudara MCF-7. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

- Istiqomah, A. 2015. Uji Aktivitas Antikanker Terhadap Sel Kanker Payudara T47D dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Dari Ekstrak dan Fraksi Daun Rumput Bambu (*Lophaterum gracile* B.). *Skripsi*. Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Kawatu, C., Bodhi, W., dan Mongi J. 2013. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Kucing-Kucingan (*Acalypha indica* L.) Terhadap Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus Novergicus*). *Pharmacon*, 2(1): 81-86.
- Kementrian kesehatan Rapublik Indonesia. 2014. *Hilangkan Mitos Tentang Kanker*.(Online),(<http://www.depkes.go.id>), diakses 12 Desember 2015.
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M., dan Kurniai, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Kumala, I. D. 2007. Kajian Ekstrak Umbi Gadung (*Dioscoreae hispida*), Rerak (*Sapindus rasak*) dan Biji Sirsak (*Annona miricata* L.) Sebagai Bahan Pengawet Alami. *Skripsi*. Bandung: Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenilflavonoida dan Alkaloida. *Karya Ilmiah*. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Lutfillah, M. 2008. Karakterisasi Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi Dari Kulit Batang Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) Serta Uji Aktivitasnya Sebagai Antibakteri Secara *In vitro*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Lusa. 2009. *Pemeriksaan Payudara Sendiri (SADARI)*. (Online), (<http://www.lusa.web.id>), diakses 12 Juni 2016.
- Mahatriny, N.N., Payani, N.P.S., Oka, I.B.M., dan Astuti, K.W. 2014. Skinning Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Yang Diperoleh Dari Daerah Ubud Kabupaten Gianyar Bali. *Jurnal Farmasi Udayana*, 3(1).
- Masfufah, N.L. 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Senyawa Alkaloid dari Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) pada Sel Kanker Payudara T47D. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Meiyanto, M., Kudo, G., Lee, Y., Yang, T.J., Gelboin, H.V., dan Gonzalez, F.J. 1999. Targeted Disruption of the Microsomal Epoxide Hydrolase Gene. *The Journal of Biological Chemistry*, 274. 23963-23968.

- Morshed, H., Islam, Md.s, Parvin, S., Uddin, M.A., Mostofa, A.G.M., dan Sayyed, S.B. 2012. Antimicrobial and Cytotoxic Activity of the Methanol Extract of (*Peaderia foetida* Linn). *Journal of Applied Parmaceutical Science*, 2(1); 2012 : 77-80.
- Mosman, T. 1983. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Journal of Immunological Method*, 16(1-2): 55-63.
- Multiawati, P.A. 2013. Uji Efektivitas dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Biji Sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang Bersifat Bioaktif Insektisida Nabati Terhadap Hama Thrips. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Murti, H., Boediono, A., Setiawan, B., dan Sandra F. 2007. Regulasi Siklus Sel: Kunci Sukses *Somatic Cell Nuclear Transfer*. *Jurnal Cdk*. 34(6): 312-316.
- Muslimah, S. 2008. Uji Sitotoksik Fraksi Protein Daun Dan Bunga Kucing-Kucingan (*Acalypha indica* L.) Terhadap Sel Myeloma. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Nahar, S.D.S.L. 2009. *Kimia Untuk Mahasiswa Farmasi Bahan Kimia Organik, Alam dan Umum*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- National Cancer Institute (NCI), 2009, Measuring Cancer Death, Cited. (Online), (<http://www.cancer.gov/csr>), diakses 15 Februari 2015.
- Noriko, N. 2013. Potensi Daun Teh (*Camellia sinensis*) dan Daun Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Salmonella typhi*. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*, 2(2).
- Pambudi, A., Syaefudin. Noriko, N., Swandari, R., dan Azura, P.R. 2014. Identifikasi Bioaktif Golongan Flavonoid Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, 2(3): 178-187.
- Pamilih, H. 2009. *Uji Sitotoksik Ekstrak Etil Asetat Herba Bandotan (Ageratum conyzoides L.) Terhadap Sel Kanker Payudara (T47D) dan Profil Kromatografi Lapis Tipis*. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Pebriana, R.B., Wardhani, B.W.K., Widayanti, E., Wijayanti, N.L.S., Wijayanti, T.R., Riyanto, Sugeng. dan Meiyanto, E. 2008. Pengaruh Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) Terhadap Pemacuan Apoptosis Sel Kanker Payudara. *Pharmacon*, 9(1): 21-26.

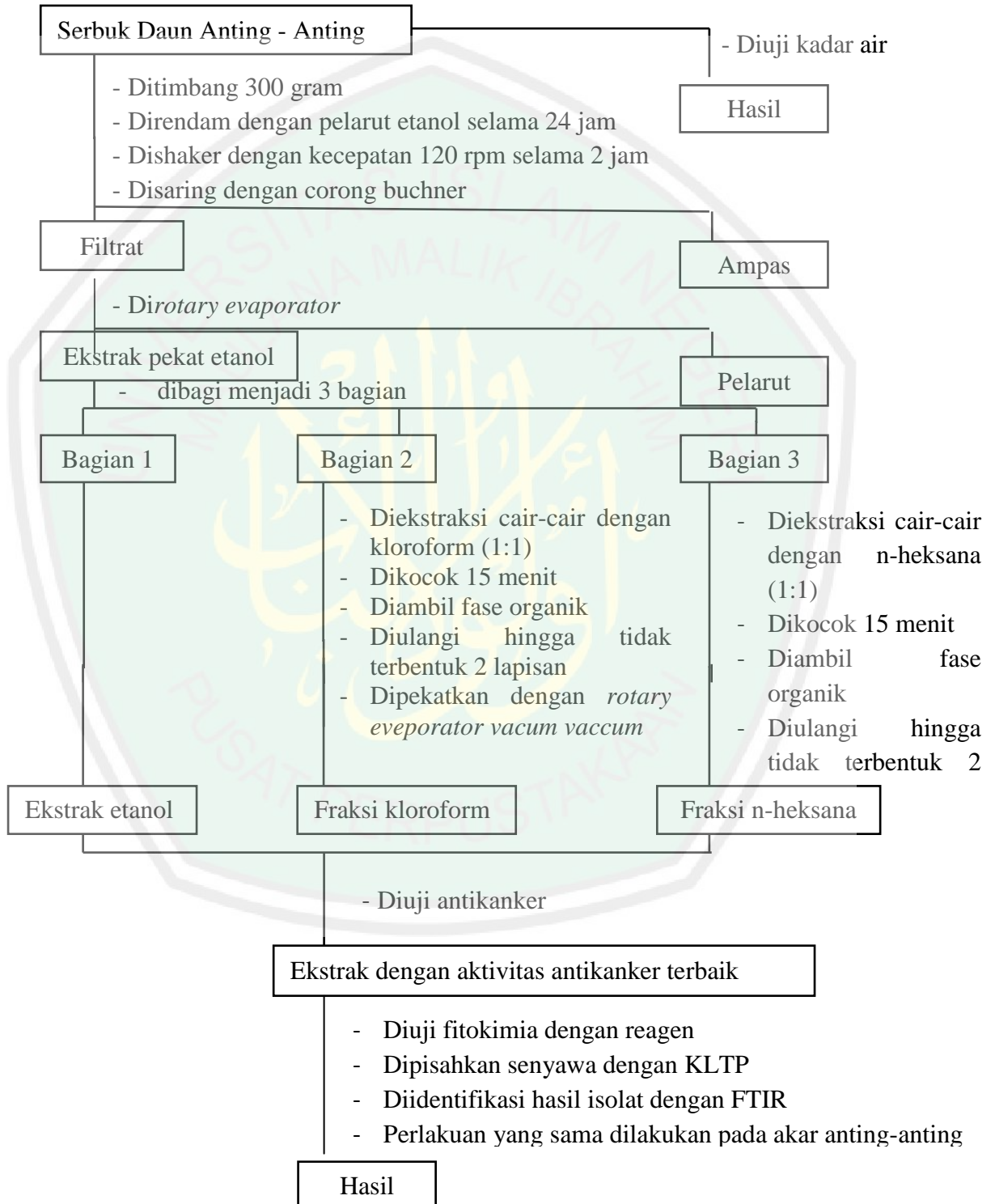
- Poedjiadi, A. dan Supriyanti, F. M. T. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Pramana, M.R.A., dan Saleh, C. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Steroid Pada Fraksi N-Heksana Dari Daun Kukang (*Lepisanthes amoena* (HAASK) LEENH.). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 10(2): 85-89.
- Pratiwi, I. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Kasar Daun *Acalypha indica* Linn. Terhadap Bakteri *Salmonella choleraesuis* dan *Salmonella typhimurium*. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Quais, K. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksana dan Identifikasi Senyawa Steroid Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile* B.). *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Radji, M., Sari, R.C., dan Sumiati, A. 2008. Uji Aktivitas Antimikroba dan Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Akar Tanaman Akar Kucing (*Acalypha indica* Linn), Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Sheff) Boerl) dan Sari Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam). *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 5(1): 40-46.
- Rahmah, R. 2014. Isolasi dan Uji Efektivitas Antimalaria Isolat Senyawa Alkaloid Tanaman Anting-anting Secara *In Vivo* Pada Mencit Jantan. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Rahmawati, E., Sukardiman., dan Muti, A.F. 2013. Aktivitas Antikanker Ekstrak n-Heksana dan Ekstrak Metanol Herba Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Media Farmasi*, 10(2): 47-55.
- Restasari, A., Kusri, K., dan Fachriyah, E. 2009. Isolasi dan Identifikasi Fraksi Teraktif dari Ekstrak Kloroform Daun Ketapang (*Terminalia catappa* Linn). *Skripsi*. Semarang: Jurusan Kimia Universitas Diponegoro.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung: Institut Teknologi Bandung Press.
- Salempa, P. 2014. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak n-Heksana Daun Tumbuhan Maja (*Aegle marmelos* Linn.) *Jurnal Sainsmat*, III(2): 185-190.

- Saputri dan Anita, A.D.A. 2011. Pengaruh Pemberian Kombinasi Ekstrak Air Akar Tanaman Akar Kucing (*Acalypha indica* Linn) dengan Ekstrak Etanol 70 % Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* Rosc.) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Tikus Putih Jantan. *Skripsi*. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Farmasi Universitas Indonesia.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Setyowati, E. 2009. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa-Senyawa Terpenoid dalam Minyak Atsiri Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedonica* (Berg.) Rosco). *Skripsi*. Malang : Jurusan Kimia Fakultas MIPA UB.
- Sharo, N.M., Ningsih, R., Hanapi, A., dan Nasichuddin, A. 2013. Uji Toksisitas dan Identifikasi Senyawa Ekstrak Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* L. *Alchemy* 2(3): 170-177.
- Shihab, M.Q. 2002. *Tafsir al-Mishbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Quran*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: Institut Teknologi Bandung Press.
- Socrates, G. 1994. *Infrared Characteristic Group Frequencies Tables and Charts*. 2nd Edition. New York: John Willey and Sons.
- Solehah, F.I. 2017. Uji Aktivitas Antikanker Payudara Dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Dan Fraksi Anting-Anting (*Acalypha indica* L.). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn) dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas Menggunakan Brine Shrimp (*Artemia selina* Leach). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Statistik Penderita Kanker, 2015. *Penderita Kanker Payudara di Indonesia*.(Online),(<https://www.deherba.com/statistik-penderita-kanker-di-indonesia.html>),diakses 20 Februari 2016.
- Suyoso, H.C. 2011. Uji Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Tanaman Anting-anting (*Acalypha indica* L.). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Tengo, N.A., Bialangi, N., dan Suleman, N. 2013. Isolasi Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Daun Alpukat (*Pesea americana* Mill). *Artikel*. Gorontalo: Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas MIPA Universitas Negeri Gorontalo.

- Tukiran, Suyatno, dan Hidayati, N. 2014. Skrining Fitokimia Ekstrak Heksana, Kloroform, dan Metanol Pada Tumbuhan Andong (*Cordyline fruticosa*), Anting-Anting (*Acalypha indica*), dan Alang Alang (*Imperata cylindrical*). *Jurnal Chemical*, 2(1):1-6.
- Vogel, A.L. 1978. *Textbook Of Practical Organic Chemistry*. New York: Longman Group.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soedani Noerono Soewandi, Apt. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada press.
- Wagner, H., dan Bladt, S. 1998. *Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas, Second Edition*. Berlin: Springer-Verlag.
- Wahyuono, S., Setiadi, J., Santosa, D., Hartati, M.S., Soekotjo., Muslimah, S., dan Prihatiningsih, W. Struktural Identification of Bioactive Compound Isolated From Akar Kuning (*Fibraurea chloroleuca* Miers.) (#03-sbk-029) Collected From Central Kalimantan Forest. *Artikel*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Wardah. 2012. Isolasi, Uji Penghambatan Aktivitas Xantin Oksidase dan Identifikasi Senyawa Aktif dari Fraksi Etil Asetat Pada Ekstrak Akar Tanaman *Acalypha indica* Linn. *Skripsi*. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Farmasi Universitas Indonesia.
- Yasmin, C., Eriani, K., dan Sari, W. 2011. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Akar Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Terhadap Kualitas Spermatozoa Mencit. *Jurnal Kedokteran Yarsi*, 18 (1): 029-037.
- Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara Sains*,15(1).
- Yulianti, E., Rahayu, T., dan Mercuriani, I.S. 2010. Potensi Ekstrak Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Antikanker. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pemerintah Provinsi DIY*,2(2):34-40.
- Zahro, F. 2013. Uji Aktivitas dan Identifikasi Ekstrak diklorometana Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus*) Sebagai Antimalaria Pada Mencit Betina Hamil (*Mus Mucullus*) yang Terinfeksi *Plasmodium berghei*. *Skripsi*. Malang : Program S1 UIN Maliki Malang.

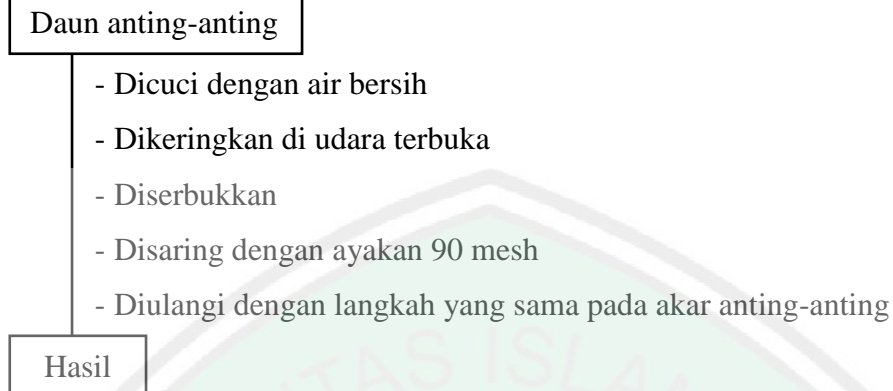
LAMPIRAN

L.1 Diagram Alir Penelitian

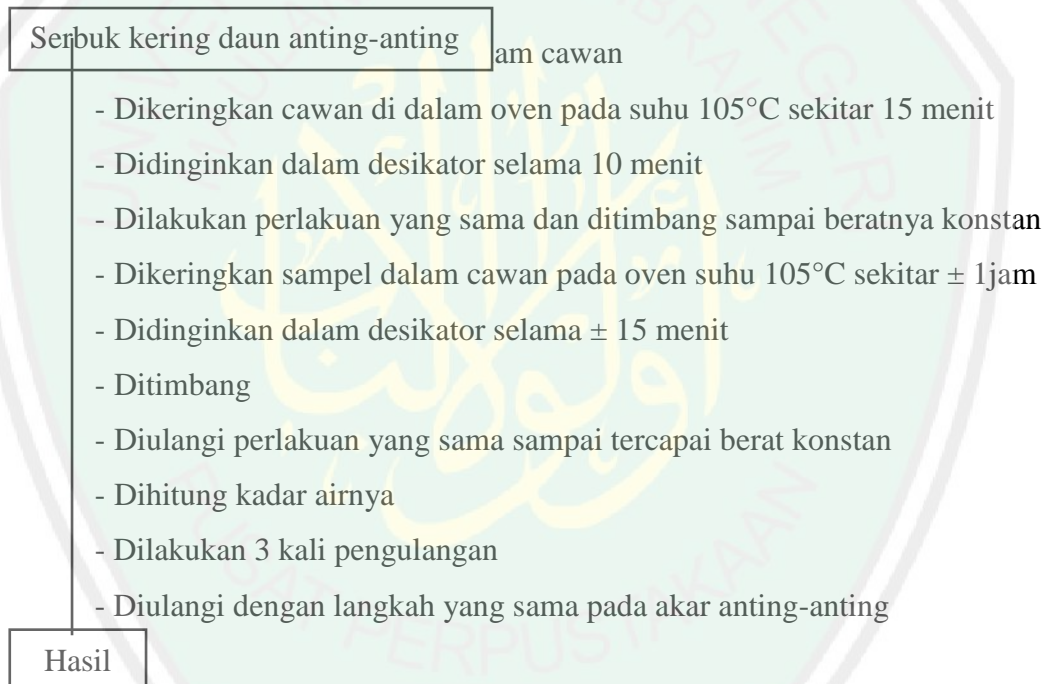


L.2 Skema Kerja

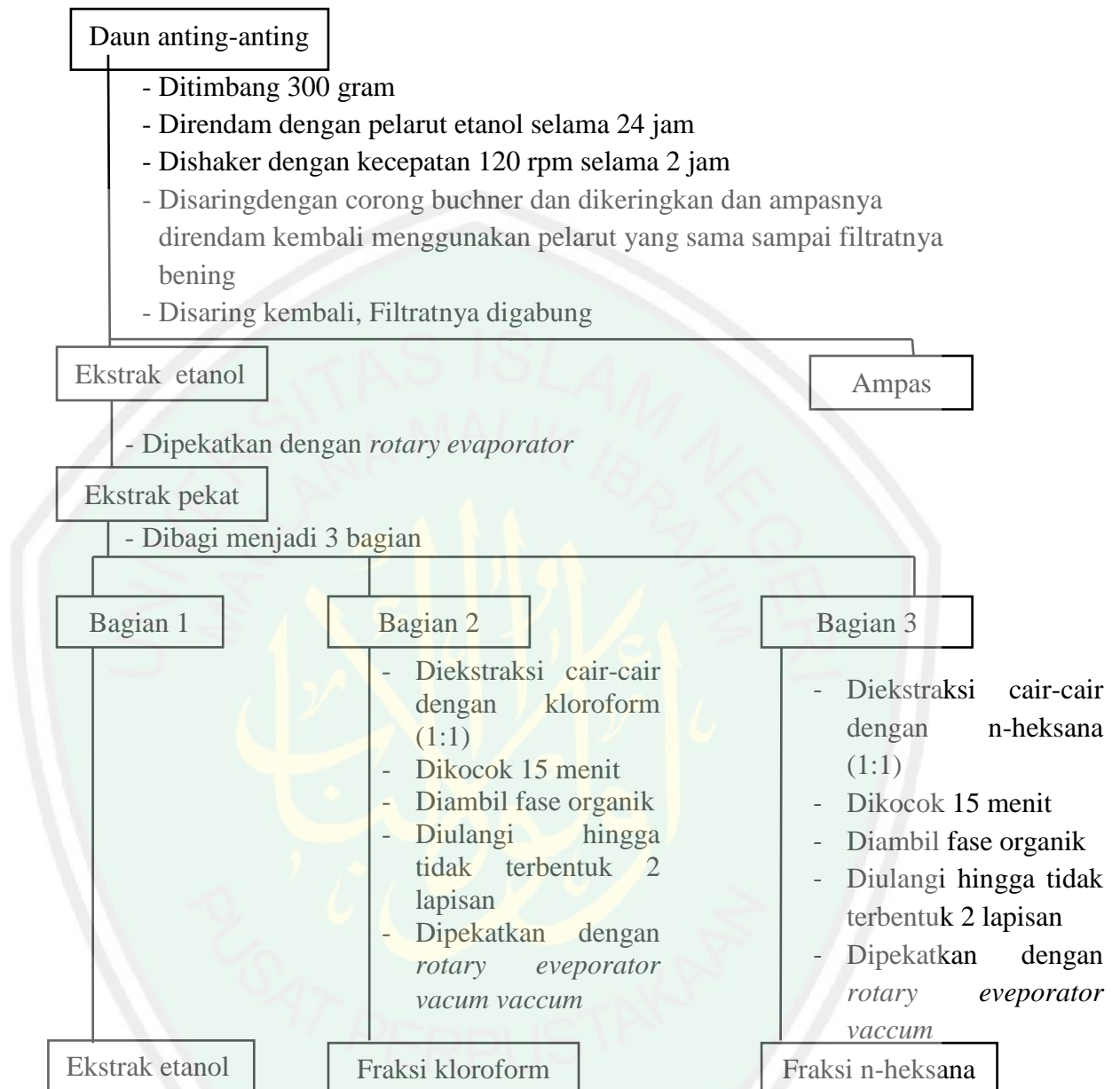
L.2.1 Preparasi sampel



L.2.2 Analisis Kadar Air

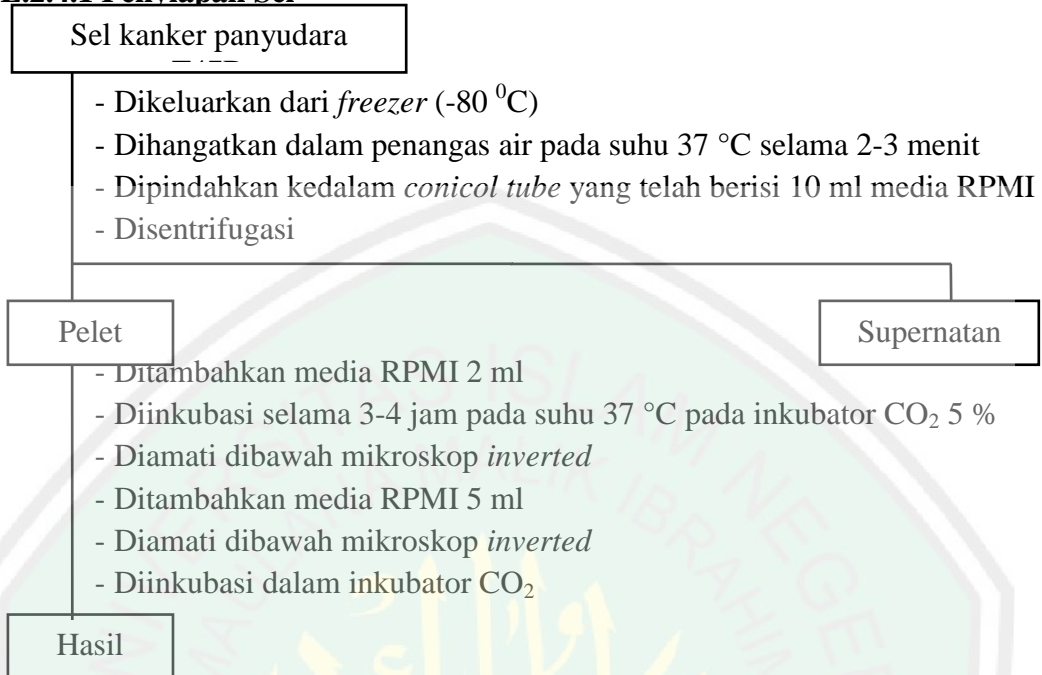


L.2.3 Ekstraksi dan Fraksinasi

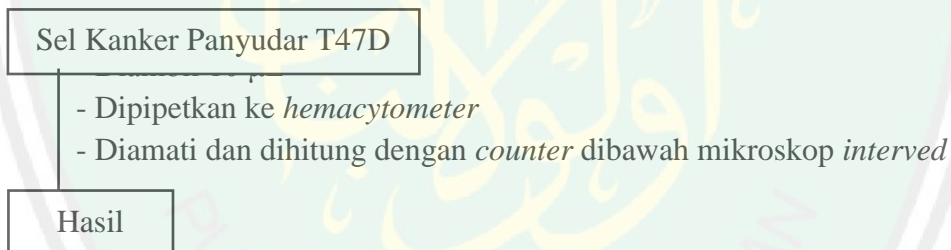


L.2.4 Uji Aktivitas Antikanker Dengan Metode MTT

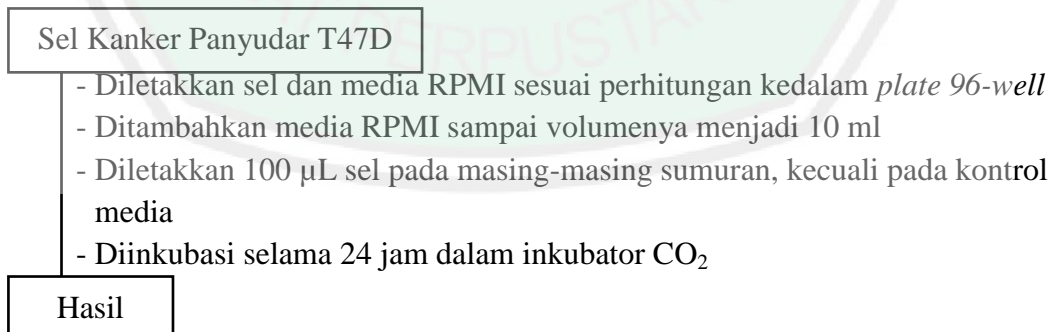
L.2.4.1 Penyiapan Sel



L.2.4.2 Pemanenan Sel Kanker



L.2.4.3 Peletakan Sel pada Plate 96-well



L.2.4.4 Pembuatan Larutan Sampel

Ekstrak dan fraksi

- Ditimbang 10 mg dan dimasukkan dalam tempat yang berbeda
- Dilarutkan masing-masing dengan 100 μ L DMSO
- Diaduk dengan vortex

Hasil

L.2.4.5 Pengenceran Larutan Sampel

Larutan sampel

- Dimasukkan media RPMI 500 μ L pada tabung konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 dan 15,625 μ g/mL
- Dihitung larutan sampel yang akan dimasukkan pada konsentrasi 1000 μ g/mL
- Diambil 10 μ L larutan sampel
- Dimasukkan pada konsentrasi 1000 μ g/mL
- Ditambahkan 490 μ L pada konsentrasi 1000 μ g/mL
- Diresuspensi dari konsentrasi tinggi sampai konsentrasi rendah

Hasil

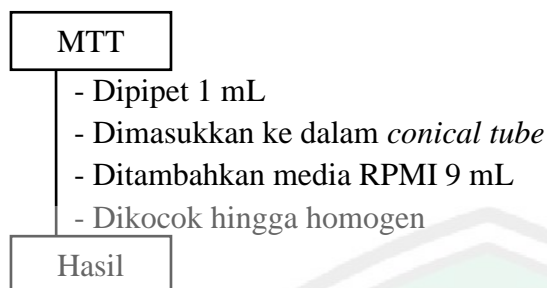
L.2.4.6 Penambahan Larutan Sampel pada Sel

Sel kanker payudara

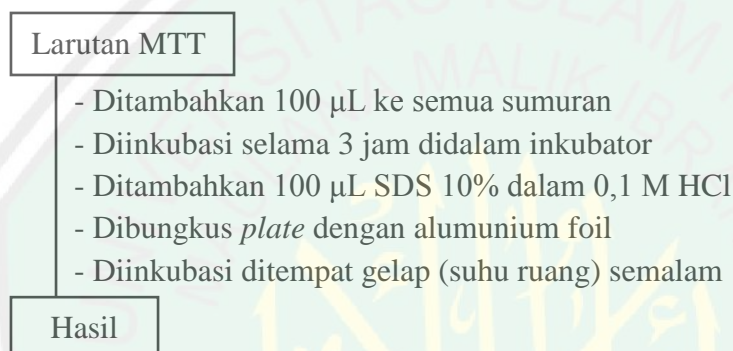
- Diambil sel dari inkubator
- Dibuang media RPMI dengan cara dibalikkan *plate* 180⁰C
- Dimasukkan larutan sampel sebanyak 100 μ L pada konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; dan 15,625 μ g/mL
- Dilakukan pengulangan penambahan larutan sampel pada masing-masing konsentrasi sebanyak 3 kali
- Diinkubasi selama 24 jam

Hasil

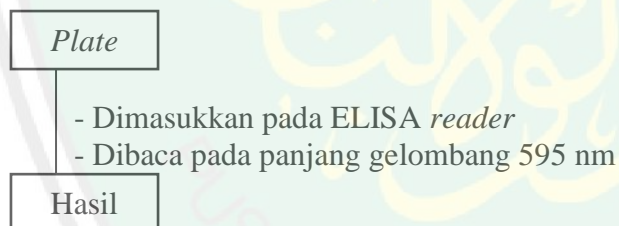
L.2.4.7 Pembuatan Larutan Stok MTT



L.2.4.8 Pemberian Larutan MTT



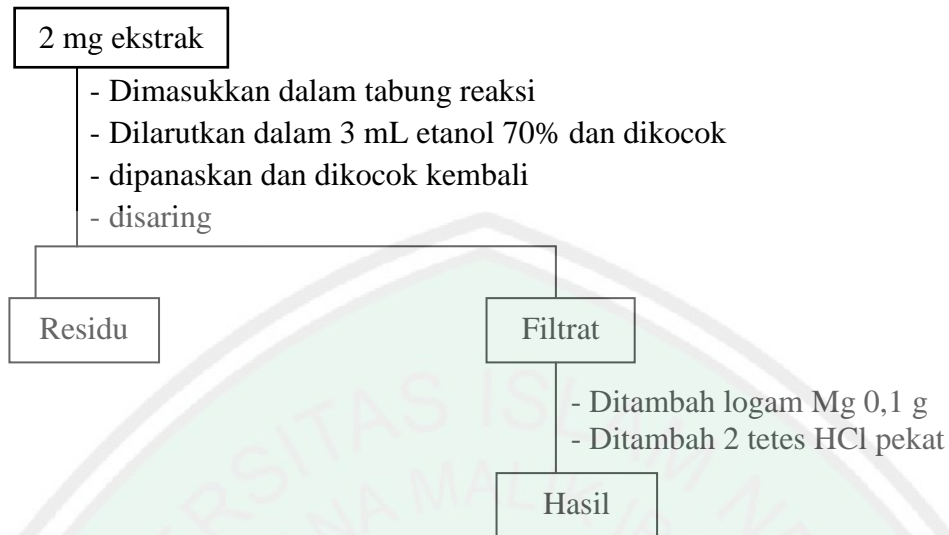
L.2.4.9 Pembacaan Absorbansi dengan ELISA reader



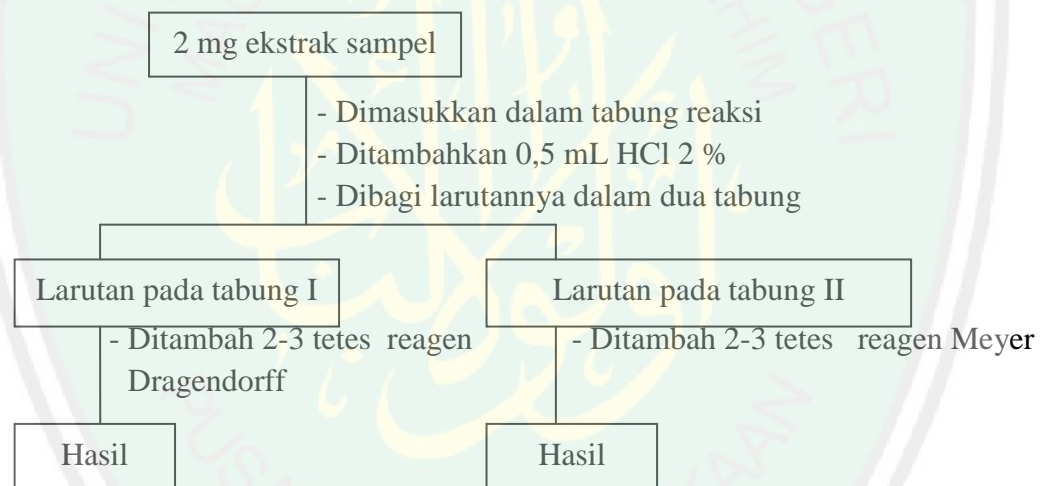
L.2.5 Uji Fitokimia dengan Uji Reagen

Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen. Diambil ekstrak 2 mg yang memiliki aktivitas antikanker yang paling tinggi. Dilarutkan dengan sedikit masing-masing pelarutnya. Dilakukan uji terhadap flavonoid, alkaloid, triterpenoid, steroid, dan saponin.

L.2.5.1 Uji Flavonoid



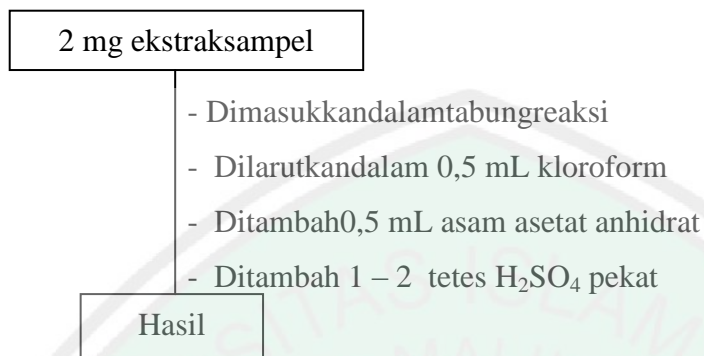
L.2.5.2 Uji Alkaloid



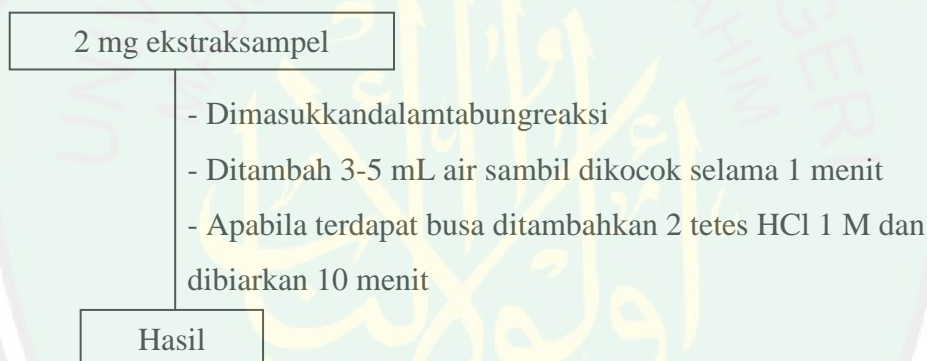
L.2.5.3 Uji Tanin



L.2.5.4 Uji Triterpenoid/Steroid

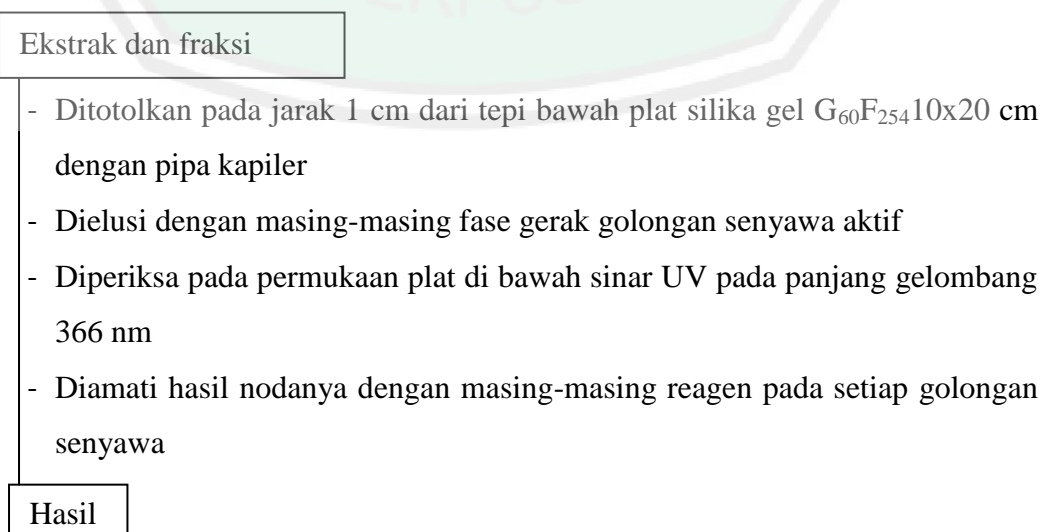


L.2.5.5 Uji Saponin



L.2.6 Pemisahan Senyawa dengan KLTP

Uji fitokimia dengan KLTP dilakukan terhadap golongan senyawa yang positif dari hasil uji fitokimia dengan uji reagen.



Golongan senyawa dan fase gerak yang digunakan dengan menggunakan eluen terbaik.

Golongan Senyawa	Fase Gerak	Referensi
Flavonoid	Butanol:Asam asetat:Air (4:1:5)	Halimah dan Hayati, 2010
Alkaloid	Kloroform : metanol (9,5:0,5)	Rahmah, 2014 Halimah dan Hayati, 2010 Masfufah, 2016
Tanin	n-heksana : etil asetat (6:4)	Auwaliyah, 2015
Triterpenoid	benzena : kloroform (3:7)	A'ilah, 2015
Steroid	n-heksana: etil asetat (7:3)	Husna, 2011; Hayati, 2012
Saponin	Kloroform : metanol (95:5)	Hayati dan Halimah, 2010

L.2.7 Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dengan Spektrofotometer FTIR

Isolat

- Ditambahkan sedikit pada serbuk KBr
- Dihaluskan atau digerus dengan mortar agate
- Dibentuk pelet dengan tekanan 8 ton pada holder
- Diidentifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR pada rentang panjang gelombang 4000-400 cm^{-1}

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan Reagen

L.3.1 Pembuatan larutan MTT (5 mg/mL)

Cara pembuatan larutan MTT 5 mg/mL yaitu ditimbang 50 mg serbuk MTT. Kemudian dilarutkan dalam 10 μ L PBS. Selanjutnya diaduk dengan vortex.

L.3.2 Pembuatan larutan ekstrak 10.000

$$\text{ppm}10.000 = \frac{10.000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{10.000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{50 \text{ mg (ekstrak)}}{5 \text{ mL (pelarut)}}$$

Cara pembuatannya yaitu ditimbang 50 mg ekstrak sampel. Kemudian dilarutkan dalam 5 mL pelarut. Selanjutnya diaduk hingga homogen.

L.3.3 Pembuatan larutan stok 1000 ppm

$$\text{Berat ekstrak} = 10 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pelarut} = 100 \text{ } \mu\text{L DMSO}$$

$$\text{Molaritas} = \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ } \mu\text{L}} = \frac{10.000 \text{ } \mu\text{g}}{0,1 \text{ mL}} = 100.000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

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

$$1 \text{ mL} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 100.000 \text{ } \mu\text{g/mL} \times V_2$$

$$V_2 = 0,01 \text{ mL}$$

$$V_2 = 10 \text{ } \mu\text{L}$$

Cara pembuatan larutan stok 1000 ppm yaitu diambil 10 μ L ekstrak yang telah dilarutkan dengan 100 μ L DMSO. Ditambahkan 990 μ L media kultur RPMI. Diresuspensi hingga homogen.

L.3.4 Pembuatan larutan SDS 10 %

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

Cara pembuatannya adalah 10 gram SDS dilarutkan dalam 80 mL aquades didalam beaker glass 100 mL. Diaduk hingga larut. Larutan dimasukkan dalam labu takar 100 mL dan ditandabatkan.

L.3.5 Pembuatan larutan etanol 70 %

$$\begin{aligned} C_1 \times V_1 &= C_2 \times V_2 \\ 96 \% \times V_1 &= 70 \% \times 50 \text{ mL} \\ V_1 &= 36,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah diisi labu takar 50 mL dengan 10mL aquades, lalu ditambahkan 36,5 mL etanol 96 % secara perlahan. Goyangkan sebentar. Ditambahkan aquades kembali hingga tanda batas. Dikocok hingga homogen.

L.3.6 Pembuatan larutan HCl 2 %

$$\begin{aligned} C_1 \times V_1 &= C_2 \times V_2 \\ 37 \% \times V_1 &= 2 \% \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah dipipet HCl pekat (37 %) sebanyak 0,5 mL. Dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang sudah berisi aquades \pm 5 mL. Ditambahkan aquades hingga tanda batas. Dikocok hingga homogen.

L.3.7 Pembuatan Reagen Dragendroff

Larutan I. 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL H_2O .

Larutan II. 6 g KI dalam 10 mL H_2O .

Cara pembuatan larutan I adalah ditimbang 0,6 g $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Serbuk dimasukkan dalam *beaker glass* 50 mL. Diambil larutan HCl pekat sebanyak 2 mL menggunakan pipet ukur 5 mL di dalam lemari asam. Dimasukkan 10 mL

aquades dan larutan HCl pekat 2 mL ke dalam *beaker glass* untuk melarutkan serbuk dengan dibantu pengadukan.

Cara pembuatan Larutan II adalah ditimbang 6 g KI. Dimasukkan ke dalam *beaker glass* 50 mL. Ditambahkan 10 mL aquades ke dalam *beaker glass* untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan.

Cara pembuatan reagen Dragendroff adalah kedua larutan I dan II dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL H₂O. Diaduk hingga homogen.

L.3.8 Pembuatan Reagen Mayer

Larutan I. HgCl₂ 1,358 g dalam aquades 60 mL

Larutan II. KI 5 g dalam aquades 10 mL

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan menimbang HgCl₂ 1,358 g dengan neraca analitik dan dimasukkan dalam gelas kimia 50 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades 60 mL untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Larutan II dibuat dengan menimbang KI 5 g dengan neraca analitik dan dimasukkan dalam gelas kimia 50 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades 10 mL untuk melarutkan serbuk dengan bantuan pengadukan. Kemudian larutan II dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan larutan I dituangkan ke dalam larutan II. Selanjutnya diencerkan dengan aquades sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL.

L.3.9 Pembuatan Larutan FeCl₃ 1 %

Cara pembuatan FeCl₃ 1 % adalah ditimbang serbuk FeCl₃.6H₂O sebanyak 1 g menggunakan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 mL. Kemudian ditambahkan aquades hingga 100 mL untuk melarutkan dan ditandabatkan.

L.3.10 Pembuatan larutan HCl 1 M

$$\rho \text{ larutan HCl pekat} = 1,19 \text{ g/mL}$$

$$\text{Konsentrasi HCl} = 37\% \text{ (b/b)}$$

$$\text{BM HCl} = 36,5 \text{ g/mol}$$

$$\rho \text{ larutan HCl} = \frac{m \text{ larutan HCl}}{v}$$

$$1,19 \text{ gr/mL} = \frac{100 \text{ gr}}{v}$$

$$V = \frac{100 \text{ gr}}{1,19 \text{ gr/mL}}$$

$$V = 84 \text{ mL} = 0,084 \text{ L}$$

$$M = \frac{n}{v}$$

$$M = \frac{m \text{ HCl}}{Mr \times v}$$

$$M = \frac{37 \text{ gr}}{36,5 \frac{\text{gr}}{\text{mol}} \times 0,084 \text{ mL}}$$

$$M = 12,06 \text{ M}$$

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

$$12,06 \text{ M} \times V_1 = 1 \text{ M} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,8 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan HCl pekat 37% sebanyak 0,8 mL menggunakan pipet ukur 10 mL dan pengambilannya dilakukan di dalam lemari asam, kemudian larutan tersebut dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang telah berisi ± 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.11 Pembuatan larutan HCl 0,1 M

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

$$12,06 \text{ M} \times V_1 = 0,1 \text{ M} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,08 \text{ mL} = 0,010 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya yaitu ditambahkan aquades 5 mL ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian diteteskan HCl pekat 37% sebanyak 2 tetes. Selanjutnya ditambahkan aquades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.12 Pembuatan larutan H₂SO₄ 0,1 M

Larutan H₂SO₄ di botol umumnya memiliki konsentrasi 98%.

$$\rho \text{ larutan H}_2\text{SO}_4 = 1,84 \text{ g/ml}$$

$$\text{Berat Molekul} = 98,08 \text{ g/mol}$$

Molaritas H₂SO₄ pekat, rumusnya :

$$\begin{aligned} \rho \text{ larutan H}_2\text{SO}_4 &= \frac{m \text{ larutan H}_2\text{SO}_4}{v} \\ 1,84 \text{ gr/mL} &= \frac{100 \text{ gr}}{v} \\ V &= \frac{100 \text{ gr}}{1,84 \text{ gr/mL}} \\ V &= 54 \text{ mL} = 0,054 \text{ L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} M &= \frac{n}{v} \\ M &= \frac{m \text{ H}_2\text{SO}_4}{M_r \times v} \\ M &= \frac{98 \text{ gr}}{98,08 \frac{\text{gr}}{\text{mol}} \times 0,054 \text{ mL}} \\ M &= 18,51 \text{ M} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 18,51 \text{ M} \times V_1 &= 0,1 \text{ M} \times 50 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,3 \text{ mL} \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan H₂SO₄ pekat 96% sebanyak 0,3 mL menggunakan pipet ukur 1 mL dan pengambilannya dilakukan di dalam lemari asam, kemudian larutan tersebut dimasukkan dalam labu ukur 50 mL yang telah berisi ± 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.13 Pembuatan Reagen Lieberman-Burchard

Asam sulfat = 5 mL

Asam asetat anhidrat = 5 mL

Etanol = 50 mL

Cara pembuatannya adalah asam sulfat pekat diambil sebanyak 5 mL dengan pipet volume 5 mL dan pengambilannya dilakukan di dalam lemari asap. Setelah itu, larutan asam sulfat dimasukkan ke dalam gelas kimia 100 mL. Kemudian diambil larutan asam asetat anhidrat sebanyak 5 mL di dalam lemari asap dan dimasukkan ke dalam gelas kimia yang telah berisi asam sulfat. Selanjutnya, diambil larutan etanol 50 mL di dalam lemari asap dan dicampurkan ke dalam asam sulfat dan asam asetat anhidrat. Kemudian, ketiga campuran larutan tersebut dipindahkan ke dalam botol kaca dan didinginkan di dalam lemari pendingin.

L.4 Data dan Perhitungan Hasil Penelitian

L.4.1 Perhitungan Kadar Air Sampel Kering Tanaman Anting-anting

(*Acalypha indica* L.)

➤ Berat Cawan Kosong

Ulangan perlakuan	Berat cawan kosong (g)					
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3	Cawan 4	Cawan 5	Cawan 6
P1	55,2564	49,9811	50,4251	57,4970	53,7503	56,9692
P2	55,2559	49,9802	50,4232	57,4952	53,7503	56,9673
P3	55,2559	49,9793	50,4231	57,4941	53,7486	56,9664
Rata-Rata Berat Konstan	55,2561	49,9802	50,4238	57,4954	53,7497	56,9676

➤ Berat Cawan+Sampel Sebanyak 5 gram Sebelum Dikeringkan

Sampel	Cawan	Cawan+sampel
Daun	1	60,2562
	2	54,9805
	3	55,4267
Akar	4	62,4978
	5	58,7533
	6	61,9699

➤ Berat Cawan+Sampel Setelah Dikeringkan

Ulangan perlakuan	Berat cawan+sampel (g)					
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3	Cawan 4	Cawan 5	Cawan 6
P1	59,8831	54,6051	55,0624	62,1734	58,4287	61,6506
P2	59,8814	54,6035	55,0612	62,1716	58,4267	61,6489
P3	59,8797	54,6019	55,0606	62,1701	58,4248	61,6476
Rata-rata berat konstan	59,8814	54,6035	55,0614	62,1717	58,4267	61,6490

➤ Perhitungan Kadar Air Sampel Kering Daun Anting-anting

Adapun rumus perhitungan kadar air adalah.

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \%$$

Keterangan:

a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

➤ **Ulangan ke 1**

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(60,2562 - 59,8814)}{(60,2562 - 55,2561)} \times 100 \% \\ &= \frac{0,3748}{5,0001} \times 100 \% \\ &= 7,496 \% \end{aligned}$$

➤ **Ulangan ke 2**

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(58,7533 - 58,4267)}{(58,7533 - 49,9802)} \times 100 \% \\ &= \frac{0,3266}{8,7731} \times 100 \% \\ &= 3,722 \% \end{aligned}$$

➤ **Ulangan ke 3**

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(55,4267 - 55,0614)}{(55,4267 - 50,4238)} \times 100 \% \\ &= \frac{0,3653}{5,0029} \times 100 \% \\ &= 7,302 \% \end{aligned}$$

➤ **Perhitungan Kadar Air Sampel Kering Akar Anting-anting**

Adapun rumus perhitungan kadar air adalah.

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \%$$

Keterangan:

a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

➤ **Ulangan ke 1**

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(62,4978 - 62,1717)}{(62,4978 - 57,4954)} \times 100 \% \\ &= \frac{0,3261}{5,0024} \times 100 \% \\ &= 6,519 \% \end{aligned}$$

➤ **Ulangan ke 2**

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(58,7533 - 58,4267)}{(58,7533 - 53,7497)} \times 100 \% \\ &= \frac{0,3266}{5,0036} \times 100 \% \\ &= 6,527 \% \end{aligned}$$

➤ **Ulangan ke 3**

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(61,9699 - 61,6490)}{(61,9699 - 56,9676)} \times 100 \% \\ &= \frac{0,3209}{5,0023} \times 100 \% \\ &= 6,415 \% \end{aligned}$$

Sampel	Kadar air yang terkandung dalam sampel anting-anting			
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-Rata
Daun	7,496 %	7,540 %	7,302 %	7,446 %
Akar	6,519 %	6,527 %	6,415 %	6,487 %

L.4.2 Perhitungan Rendemen

➤ **% Rendemen Daun Anting-anting**

1. Ekstrak Etanol 96 %

Berat sampel = 300 g

Berat ekstrak pekat = 22,7021 g

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{22,7021}{300} \times 100 \% \\ &= 7,567 \% \end{aligned}$$

2. Fraksi Kloroform

Berat sampel = 300 g

Berat ekstrak pekat = 0,687 g

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,687}{300} \times 100 \% \\ &= 0,229 \% \end{aligned}$$

3. Fraksi N-heksana

$$\text{Berat sampel} = 300 \text{ g}$$

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 0,6944 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,6944}{300} \times 100 \% \\ &= 0,232 \% \end{aligned}$$

➤ % Rendemen Akar Anting-anting

1. Ekstrak Etanol 96 %

$$\text{Berat sampel} = 300 \text{ g}$$

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 17,2273 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{17,2273}{300} \times 100 \% \\ &= 5,742 \% \end{aligned}$$

2. Fraksi Kloroform

$$\text{Berat sampel} = 300 \text{ g}$$

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 0,4015 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,4015}{300} \times 100 \% \\ &= 0,134 \% \end{aligned}$$

3. Fraksi N-heksana

$$\text{Berat sampel} = 300 \text{ g}$$

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 0,41 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,41}{300} \times 100 \% = 0,137 \% \end{aligned}$$

L.4.3 Perhitungan Data dan Hasil Uji Aktivitas Antikanker secara *In-Vitro*

- Pengamatan jumlah sel dengan *hemocytometer* dibawah mikroskop *inverted*

Kuadran A	Kuadran B
Kuadran C	Kuadran D

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

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\sum \text{sel kuadran A} + \sum \text{sel kuadran B} + \sum \text{sel kuadran C} + \sum \text{sel kuadran D}}{4} \times 10^4 \\
 &= \frac{78+88+90+72}{4} \times 10^4 \\
 &= 82 \times 10^4 / \text{mL}
 \end{aligned}$$

- Jumlah mL panen sel yang ditransfer

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{jumlah total sel yang diperlukan}}{\text{jumlah sel terhitung}} \\
 &= \frac{100 \times 10^4}{82 \times 10^4 / \text{mL}} \\
 &= 1,22 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Banyaknya sel yang dipanen 1,22 mL. Sel yang dipanen, ditambah RPMI hingga volumenya menjadi 10 mL. Jadi, RPMI yang ditambahkan yaitu 8,78 mL. Setiap sumuran akan diisi 100 μL RPMI yang berisi sel, sehingga total volume yang diperlukan untuk menanam sel pada *plate* yaitu $100 \mu\text{L} \times 100$ sumuran = 10.000 μL atau 10 mL.

➤ **Pembuatan larutan sampel stok**

$$\text{Ekstrak etanol} = 10 \text{ mg} = 10.000 \text{ } \mu\text{g}$$

$$\text{Larutan DMSO} = 100 \text{ } \mu\text{L} = 0,1 \text{ mL}$$

$$\text{Larutan sampel stok} = \frac{10 \text{ mg ekstrak etanol}}{100 \text{ } \mu\text{L DMSO}} = \frac{10.000 \text{ } \mu\text{g}}{0,1 \text{ mL}} = 100.000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; dan 15,625 $\mu\text{g/mL}$ dengan pengenceran bertingkat.

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

$$1 \text{ mL} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = V_2 \times 100.000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$1000 \text{ } \mu\text{L} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = V_2 \times 100.000 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$V_2 = \frac{1.000.000}{100.000} \text{ } \mu\text{L}$$

$$V_2 = 10 \text{ } \mu\text{L sampel}$$

Semua tabung pengenceran diisi RPMI 500 μL . Kemudian, untuk konsentrasi 1000 ditambah RPMI 490 μL dan larutan sampel 10 μL . Setelah itu diresuspensi. Pada konsentrasi 1000 diambil sebanyak 500 μL kemudian diletakkan pada konsentrasi 500 dan seterusnya. Perlakuan yang sama dilakukan juga pada fraksi kloroform dan n-heksana

➤ **Data absorbansi kontrol sel dan media pada daun ekstrak etanol, fraksi kloroform, n-heksana dan akar ekstrak etanol**

No.	Absorbansi kontrol sel	Absorbansi kontrol media
1.	0,903	0,084
2.	0,924	0,076
3.	1,021	0,079
4.	0,895	0,080
5.	0,855	0,080
6.	1,004	0,079
Rata-rata	0,934	0,080

➤ **Data absorbansi kontrol sel dan media pada akar fraksi kloroform dan n-heksana**

No.	Absorbansi kontrol sel	Absorbansi kontrol media
1.	0,947	0,082
2.	0,908	0,083
3.	0,948	0,086
Rata-rata	0,934	0,084

1. Daun Ekstrak Etanol

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup	IC ₅₀ (µg/mL)
	1	2	3			
1000	0,140	0,136	0,157	0,144	7,4942	
500	0,156	0,166	0,172	0,165	9,9532	
250	0,460	0,444	0,379	0,428	40,749	
125	0,683	0,727	0,702	0,704	73,068	122,347
62,5	0,742	0,759	0,762	0,754	78,923	
31,25	0,762	0,756	0,739	0,752	78,689	
15,625	0,656	0,713	0,624	0,664	68,384	

➤ **Perhitungan Prosentase Sel Hidup**

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

Keterangan : A = absorbansi perlakuan (sel + media kultur + sampel)

B = absorbansi kontrol media (media kultur)

C = absorbansi kontrol negatif (sel + media kultur)

– Konsentrasi 1000 → %Hidup = $\frac{0,144-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 7,4942\%$

– Konsentrasi 500 → %Hidup = $\frac{0,165-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 9,9532\%$

– Konsentrasi 250 → %Hidup = $\frac{0,428-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 40,749\%$

– Konsentrasi 125 → %Hidup = $\frac{0,704-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 73,068\%$

– Konsentrasi 62,5 → %Hidup = $\frac{0,754-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 78,923\%$

– Konsentrasi 31,25 → %Hidup = $\frac{0,752-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 78,689\%$

$$- \text{Konsentrasi } 15,625 \rightarrow \% \text{Hidup} = \frac{0,664 - 0,080}{0,934 - 0,080} \times 100\% = 68,384\%$$

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
	PROBIT ^a					
0.01	10268.596	1282.617	1.513E10	4.012	3.108	10.180
0.02	6110.383	937.420	1.808E9	3.786	2.972	9.257
0.03	4395.743	766.332	4.708E8	3.643	2.884	8.673
0.04	3431.088	657.400	1.714E8	3.535	2.818	8.234
0.05	2804.834	579.536	7.545E7	3.448	2.763	7.878
0.06	2362.707	519.982	3.757E7	3.373	2.716	7.575
0.07	2032.780	472.347	2.041E7	3.308	2.674	7.310
0.08	1776.660	433.014	1.182E7	3.250	2.637	7.073
0.09	1571.860	399.750	7205646.965	3.196	2.602	6.858
0.1	1404.274	371.090	4570948.742	3.147	2.569	6.660
0.15	880.514	269.766	701995.256	2.945	2.431	5.846
0.2	607.609	205.554	161304.688	2.784	2.313	5.208
0.25	441.982	159.320	46674.406	2.645	2.202	4.669
0.3	332.108	123.286	15754.807	2.521	2.091	4.197
0.35	254.834	93.631	5979.308	2.406	1.971	3.777
0.4	198.205	68.391	2514.316	2.297	1.835	3.400
0.45	155.424	46.824	1172.065	2.192	1.670	3.069
0.5	122.347	29.189	611.038	2.088	1.465	2.786
0.55	96.310	16.197	357.875	1.984	1.209	2.554
0.6	75.522	7.948	232.750	1.878	.900	2.367
0.65	58.739	3.468	163.831	1.769	.540	2.214
0.7	45.072	1.350	121.343	1.654	.130	2.084
0.75	33.867	.463	92.332	1.530	-.334	1.965
0.8	24.636	.136	70.745	1.392	-.868	1.850
0.85	17.000	.031	53.469	1.230	-1.503	1.728

0.9	10.659	.005	38.636	1.028	-2.314	1.587
0.91	9.523	.003	35.829	.979	-2.511	1.554
0.92	8.425	.002	33.044	.926	-2.726	1.519
0.93	7.364	.001	30.263	.867	-2.962	1.481
0.94	6.335	.001	27.466	.802	-3.227	1.439
0.95	5.337	.000	24.621	.727	-3.529	1.391
0.96	4.363	.000	21.685	.640	-3.885	1.336
0.97	3.405	.000	18.585	.532	-4.324	1.269
0.98	2.450	.000	15.178	.389	-4.908	1.181
0.99	1.458	.000	11.081	.164	-5.830	1.045

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

2. Daun Fraksi Kloroform

Konsentrasi(μ g/mL)	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup	IC ₅₀ (μ g/mL)
	1	2	3			
1000	0,150	0,164	0,158	0,157	9,0164	338,167
500	0,535	0,514	0,523	0,524	51,991	
250	0,723	0,664	0,730	0,706	73,302	
125	0,791	0,743	0,759	0,764	80,094	
62,5	0,769	0,777	0,771	0,772	81,030	
31,25	0,678	0,610	0,681	0,656	67,447	
15,625	0,708	0,851	0,818	0,792	83,372	

➤ Perhitungan Prosentase Sel Hidup

– Konsentrasi 1000 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,157-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 9,0164\%$

– Konsentrasi 500 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,524-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 51,991\%$

– Konsentrasi 250 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,706-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 73,302\%$

– Konsentrasi 125 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,764-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 80,094\%$

– Konsentrasi 62,5 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,771-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 81,030\%$

- Konsentrasi 31,25 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,656-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 67,447\%$
- Konsentrasi 15,625 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,856-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 83,372\%$

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a 0.01	1.463E5	4173.085	4.594E163	5.165	3.620	163.662
0.02	71839.460	2872.753	1.234E147	4.856	3.458	147.091
0.03	45748.470	2262.633	3.786E136	4.660	3.355	136.578
0.04	32579.437	1888.402	4.680E128	4.513	3.276	128.670
0.05	24718.277	1628.642	1.730E122	4.393	3.212	122.238
0.06	19540.824	1434.803	5.803E116	4.291	3.157	116.764
0.07	15901.672	1283.070	9.204E111	4.201	3.108	111.964
0.08	13222.273	1160.185	4.641E107	4.121	3.065	107.667
0.09	11179.568	1058.088	5.737E103	4.048	3.025	103.759
0.1	9579.390	971.561	1.451E100	3.981	2.987	100.162
0.15	5053.347	677.842	1.869E85	3.704	2.831	85.272
0.2	3039.662	503.579	2.769E73	3.483	2.702	73.442
0.25	1965.342	385.404	1.992E63	3.293	2.586	63.299
0.3	1328.503	298.399	1.575E54	3.123	2.475	54.197
0.35	924.192	230.385	5.921E45	2.966	2.362	45.772
0.4	654.960	174.423	6.198E37	2.816	2.242	37.792
0.45	469.382	125.971	1.247E30	2.672	2.100	30.096
0.5	338.167	81.628	3.720E22	2.529	1.912	22.571
0.55	243.633	39.286	1.495E15	2.387	1.594	15.175
0.6	174.602	5.480	1.557E8	2.242	.739	8.192
0.65	123.737	.001	6794.951	2.093	-3.002	3.832
0.7	86.080	.000	556.392	1.935	-10.453	2.745
0.75	58.187	.000	234.955	1.765	-19.291	2.371

0.8	37.622	.000	139.357	1.575	-29.324	2.144
0.85	22.630	.000	90.431	1.355	-41.094	1.956
0.9	11.938	.000	58.063	1.077	-55.948	1.764
0.91	10.229	.000	52.624	1.010	-59.540	1.721
0.92	8.649	.000	47.411	.937	-63.442	1.676
0.93	7.192	.000	42.380	.857	-67.735	1.627
0.94	5.852	.000	37.486	.767	-72.530	1.574
0.95	4.626	.000	32.680	.665	-77.999	1.514
0.96	3.510	.000	27.898	.545	-84.427	1.446
0.97	2.500	.000	23.047	.398	-92.331	1.363
0.98	1.592	.000	17.961	.202	-102.839	1.254
0.99	.782	.000	12.217	-.107	-119.405	1.087

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

3. Daun Fraksi n-Heksana

Konsentrasi(μ g/mL)	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup	IC ₅₀ (μ g/mL)
	1	2	3			
1000	0,138	0,145	0,147	0,143	7,377	255,983
500	0,254	0,386	0,459	0,366	33,490	
250	0,721	0,709	0,694	0,708	73,536	
125	0,744	0,773	0,760	0,759	79,508	
62,5	0,759	0,793	0,748	0,767	80,445	
31,25	0,693	0,701	0,839	0,744	77,752	
15,625	0,801	0,709	0,881	0,797	83,958	

➤ Perhitungan Prosentase Sel Hidup

$$\text{Konsentrasi 1000} \rightarrow \% \text{Hidup} = \frac{0,143 - 0,080}{0,934 - 0,080} \times 100\% = 7,377\%$$

$$\text{Konsentrasi 500} \rightarrow \% \text{Hidup} = \frac{0,366 - 0,080}{0,934 - 0,080} \times 100\% = 33,490\%$$

$$\text{Konsentrasi 250} \rightarrow \% \text{Hidup} = \frac{0,708 - 0,080}{0,934 - 0,080} \times 100\% = 73,536\%$$

$$\text{Konsentrasi 125} \rightarrow \% \text{Hidup} = \frac{0,759 - 0,080}{0,934 - 0,080} \times 100\% = 79,508\%$$

- Konsentrasi 62,5 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,767-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 80,445\%$
- Konsentrasi 31,25 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,744-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 77,752\%$
- Konsentrasi 15,625 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,797-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 83,958\%$

Confidence Limits

Prob abilit y	95% Confidence Limits for						
	95% Confidence Limits for konsentrasi			log(konsentrasi) ^b			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBI T ^a	0.01	30175.591	2696.395	4.531E11	4.480	3.431	11.656
	0.02	17255.441	1934.096	4.716E10	4.237	3.286	10.674
	0.03	12103.802	1563.726	1.124E10	4.083	3.194	10.051
	0.04	9269.802	1331.124	3.829E9	3.967	3.124	9.583
	0.05	7461.640	1166.670	1.595E9	3.873	3.067	9.203
	0.06	6203.324	1042.053	7.577E8	3.793	3.018	8.880
	0.07	5275.896	943.200	3.947E8	3.722	2.975	8.596
	0.08	4563.790	862.188	2.203E8	3.659	2.936	8.343
	0.09	3999.967	794.157	1.297E8	3.602	2.900	8.113
	0.1	3542.746	735.930	7.964E7	3.549	2.867	7.901
	0.15	2143.285	533.581	1.065E7	3.331	2.727	7.028
	0.2	1437.519	409.117	2175443.650	3.158	2.612	6.338
	0.25	1020.458	322.173	562885.981	3.009	2.508	5.750
	0.3	750.156	256.537	169403.723	2.875	2.409	5.229
	0.35	564.041	204.191	56638.136	2.751	2.310	4.753
	0.4	430.326	160.615	20502.563	2.634	2.206	4.312
	0.45	331.210	123.063	7936.728	2.520	2.090	3.900
	0.5	255.983	89.930	3284.030	2.408	1.954	3.516
	0.55	197.842	60.728	1470.501	2.296	1.783	3.167
	0.6	152.273	36.337	728.928	2.183	1.560	2.863
	0.65	116.174	18.512	407.396	2.065	1.267	2.610
	0.7	87.351	7.872	254.953	1.941	.896	2.406

0.75	64.213	2.779	173.092	1.808	.444	2.238
0.8	45.583	.799	122.715	1.659	-.098	2.089
0.85	30.573	.175	87.627	1.485	-.757	1.943
0.9	18.496	.025	60.396	1.267	-1.608	1.781
0.91	16.382	.015	55.495	1.214	-1.816	1.744
0.92	14.358	.009	50.704	1.157	-2.043	1.705
0.93	12.420	.005	45.991	1.094	-2.293	1.663
0.94	10.563	.003	41.318	1.024	-2.573	1.616
0.95	8.782	.001	36.636	.944	-2.893	1.564
0.96	7.069	.001	31.879	.849	-3.270	1.504
0.97	5.414	.000	26.940	.733	-3.735	1.430
0.98	3.797	.000	21.614	.579	-4.354	1.335
0.99	2.172	.000	15.367	.337	-5.333	1.187

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

4. Akar Ekstrak Etanol

Konsentrasi(μ g/mL)	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup	IC ₅₀ (μ g/mL)
	1	2	3			
1000	0,145	0,155	0,146	0,149	8,080	
500	0,459	0,461	0,472	0,464	44,965	
250	0,743	0,723	0,763	0,743	77,635	
125	0,790	0,791	0,836	0,806	85,012	354,486
62,5	0,811	0,788	0,787	0,795	83,724	
31,25	0,831	0,872	0,953	0,885	94,262	
15,625	0,878	0,937	0,856	0,890	94,848	

➤ Perhitungan Prosentase Sel Hidup

– Konsentrasi 1000 → %Hidup = $\frac{0,149-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 8,0800\%$

– Konsentrasi 500 → %Hidup = $\frac{0,464-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 44,965\%$

– Konsentrasi 250 → %Hidup = $\frac{0,743-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 77,635\%$

- Konsentrasi 125 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,806-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 85,012\%$
- Konsentrasi 62,5 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,795-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 83,724\%$
- Konsentrasi 31,25 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,885-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 94,262\%$
- Konsentrasi 15,625 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,890-0,080}{0,934-0,080} \times 100\% = 94,848\%$

Confidence Limits

Probabilit y	95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b					
	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a 0.01	11574.166	2419.054	2511103.705	4.063	3.384	6.400
0.02	7692.961	1843.956	992289.668	3.886	3.266	5.997
0.03	5936.649	1550.297	551238.376	3.774	3.190	5.741
0.04	4885.092	1359.569	354510.946	3.689	3.133	5.550
0.05	4168.707	1221.149	247710.630	3.620	3.087	5.394
0.06	3642.344	1113.958	182658.859	3.561	3.047	5.262
0.07	3235.806	1027.320	139899.027	3.510	3.012	5.146
0.08	2910.456	955.131	110221.092	3.464	2.980	5.042
0.09	2643.057	893.595	88763.468	3.422	2.951	4.948
0.1	2418.685	840.203	72746.610	3.384	2.924	4.862
0.15	1675.200	648.551	32038.070	3.224	2.812	4.506
0.2	1251.097	524.860	16793.819	3.097	2.720	4.225
0.25	973.932	435.138	9706.541	2.989	2.639	3.987
0.3	777.780	365.328	5971.532	2.891	2.563	3.776
0.35	631.465	308.335	3835.929	2.800	2.489	3.584
0.4	518.163	260.098	2543.694	2.714	2.415	3.405
0.45	427.931	218.100	1729.232	2.631	2.339	3.238
0.5	354.486	180.708	1200.351	2.550	2.257	3.079
0.55	293.646	146.892	849.302	2.468	2.167	2.929
0.6	242.511	116.126	612.406	2.385	2.065	2.787
0.65	198.998	88.357	450.233	2.299	1.946	2.653

0.7	161.562	63.941	337.305	2.208	1.806	2.528
0.75	129.023	43.411	256.611	2.111	1.638	2.409
0.8	100.440	27.146	196.639	2.002	1.434	2.294
0.85	75.012	15.138	149.589	1.875	1.180	2.175
0.9	51.954	7.002	109.939	1.716	.845	2.041
0.91	47.543	5.788	102.478	1.677	.763	2.011
0.92	43.175	4.701	95.076	1.635	.672	1.978
0.93	38.834	3.734	87.678	1.589	.572	1.943
0.94	34.500	2.883	80.217	1.538	.460	1.904
0.95	30.144	2.142	72.602	1.479	.331	1.861
0.96	25.723	1.509	64.699	1.410	.179	1.811
0.97	21.167	.978	56.284	1.326	-.010	1.750
0.98	16.334	.548	46.916	1.213	-.261	1.671
0.99	10.857	.219	35.406	1.036	-.660	1.549

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

5. Akar Fraksi Kloroform

Konsentrasi(μ g/mL)	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup	IC ₅₀ (μ g/mL)
	1	2	3			
1000	0,144	0,142	0,140	0,142	6,824	215,063
500	0,105	0,107	0,112	0,108	2,824	
250	0,485	0,611	0,561	0,552	55,059	
125	0,795	0,797	0,834	0,809	85,294	
62,5	0,867	0,861	0,905	0,878	93,412	
31,25	0,893	0,874	0,888	0,885	94,235	
15,625	0,867	0,922	0,955	0,915	97,765	

➤ Perhitungan Prosentase Sel Hidup

$$\text{Konsentrasi 1000} \rightarrow \% \text{Hidup} = \frac{0,142 - 0,084}{0,934 - 0,084} \times 100\% = 6,8240\%$$

$$\text{Konsentrasi 500} \rightarrow \% \text{Hidup} = \frac{0,108 - 0,084}{0,934 - 0,084} \times 100\% = 2,8240\%$$

$$\text{Konsentrasi 250} \rightarrow \% \text{Hidup} = \frac{0,552 - 0,084}{0,934 - 0,084} \times 100\% = 55,059\%$$

- Konsentrasi 125 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,809-0,084}{0,934-0,084} \times 100\% = 85,294\%$
- Konsentrasi 62,5 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,878-0,084}{0,934-0,084} \times 100\% = 93,412\%$
- Konsentrasi 31,25 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,885-0,084}{0,934-0,084} \times 100\% = 94,235\%$
- Konsentrasi 15,625 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,915-0,084}{0,934-0,084} \times 100\% = 97,765\%$

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a 0.01	1990.604	752.620	48628.602	3.299	2.877	4.687
0.02	1533.701	628.386	27043.621	3.186	2.798	4.432
0.03	1299.843	559.457	18669.590	3.114	2.748	4.271
0.04	1147.734	512.066	14143.435	3.060	2.709	4.151
0.05	1037.232	476.097	11293.661	3.016	2.678	4.053
0.06	951.600	447.175	9331.578	2.978	2.650	3.970
0.07	882.355	423.018	7898.406	2.946	2.626	3.898
0.08	824.641	402.290	6806.516	2.916	2.605	3.833
0.09	775.436	384.140	5947.921	2.890	2.584	3.774
0.1	732.743	367.997	5255.944	2.865	2.566	3.721
0.15	579.594	306.407	3166.703	2.763	2.486	3.501
0.2	481.054	262.746	2134.350	2.682	2.420	3.329
0.25	409.981	228.438	1533.777	2.613	2.359	3.186
0.3	355.151	199.768	1149.643	2.550	2.301	3.061
0.35	310.911	174.805	888.276	2.493	2.243	2.949
0.4	274.038	152.442	702.583	2.438	2.183	2.847
0.45	242.531	132.017	566.385	2.385	2.121	2.753
0.5	215.063	113.150	463.980	2.333	2.054	2.666
0.55	190.705	95.653	385.362	2.280	1.981	2.586
0.6	168.779	79.472	323.815	2.227	1.900	2.510

0.65	148.763	64.632	274.636	2.172	1.810	2.439
0.7	130.232	51.196	234.414	2.115	1.709	2.370
0.75	112.815	39.216	200.593	2.052	1.593	2.302
0.8	96.147	28.712	171.174	1.983	1.458	2.233
0.85	79.801	19.665	144.450	1.902	1.294	2.160
0.9	63.122	12.015	118.606	1.800	1.080	2.074
0.91	59.646	10.645	113.325	1.776	1.027	2.054
0.92	56.087	9.326	107.933	1.749	.970	2.033
0.93	52.419	8.057	102.382	1.719	.906	2.010
0.94	48.604	6.837	96.604	1.687	.835	1.985
0.95	44.592	5.664	90.503	1.649	.753	1.957
0.96	40.298	4.535	83.925	1.605	.657	1.924
0.97	35.583	3.445	76.605	1.551	.537	1.884
0.98	30.157	2.385	67.998	1.479	.378	1.832
0.99	23.235	1.331	56.569	1.366	.124	1.753

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

6. Akar Fraksi n-Heksana

Konsentrasi(μ g/mL)	Absorbansi			Rata-rata	% Hidup	IC ₅₀ (μ g/mL)
	1	2	3			
1000	0,218	0,157	0,162	0,179	11,177	
500	0,137	0,132	0,145	0,138	6,3530	
250	0,604	0,647	0,678	0,643	65,765	
125	0,951	0,909	0,911	0,924	98,824	315,559
62,5	0,934	1,007	0,915	0,952	102,118	
31,25	1,066	0,942	0,946	0,985	106,000	
15,625	0,913	0,960	0,975	0,949	101,765	

➤ Perhitungan Prosentase Sel Hidup

– Konsentrasi 1000 ➔ %Hidup = $\frac{0,179-0,084}{0,934-0,084} \times 100\% = 11,177\%$

– Konsentrasi 500 ➔ %Hidup = $\frac{0,138-0,084}{0,934-0,084} \times 100\% = 6,3530\%$

- Konsentrasi 250 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,643-0,084}{0,934-0,084} \times 100\% = 65,765\%$
- Konsentrasi 125 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,924-0,084}{0,934-0,084} \times 100\% = 98,824\%$
- Konsentrasi 62,5 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,952-0,084}{0,934-0,084} \times 100\% = 102,118\%$
- Konsentrasi 31,25 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,985-0,084}{0,934-0,084} \times 100\% = 106,000\%$
- Konsentrasi 15,625 \rightarrow %Hidup = $\frac{0,949-0,084}{0,934-0,084} \times 100\% = 101,765\%$

Confidence Limits

Prob abilit y	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a 0.01	1305.930	.	.	3.116	.	.
0.02	1105.705	.	.	3.044	.	.
0.03	994.901	.	.	2.998	.	.
0.04	918.927	.	.	2.963	.	.
0.05	861.429	.	.	2.935	.	.
0.06	815.332	.	.	2.911	.	.
0.07	776.948	.	.	2.890	.	.
0.08	744.115	.	.	2.872	.	.
0.09	715.462	.	.	2.855	.	.
0.1	690.063	.	.	2.839	.	.
0.15	594.148	.	.	2.774	.	.
0.2	527.521	.	.	2.722	.	.
0.25	476.347	.	.	2.678	.	.
0.3	434.637	.	.	2.638	.	.
0.35	399.254	.	.	2.601	.	.
0.4	368.346	.	.	2.566	.	.
0.45	340.722	.	.	2.532	.	.
0.5	315.559	.	.	2.499	.	.

0.55	292.254	.	.	2.466	.	.
0.6	270.336	.	.	2.432	.	.
0.65	249.409	.	.	2.397	.	.
0.7	229.105	.	.	2.360	.	.
0.75	209.044	.	.	2.320	.	.
0.8	188.765	.	.	2.276	.	.
0.85	167.597	.	.	2.224	.	.
0.9	144.302	.	.	2.159	.	.
0.91	139.179	.	.	2.144	.	.
0.92	133.820	.	.	2.127	.	.
0.93	128.165	.	.	2.108	.	.
0.94	122.131	.	.	2.087	.	.
0.95	115.596	.	.	2.063	.	.
0.96	108.363	.	.	2.035	.	.
0.97	100.088	.	.	2.000	.	.
0.98	90.058	.	.	1.955	.	.
0.99	76.250	.	.	1.882	.	.

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Dokumentasi



Preparasi Sampel



Maserasi



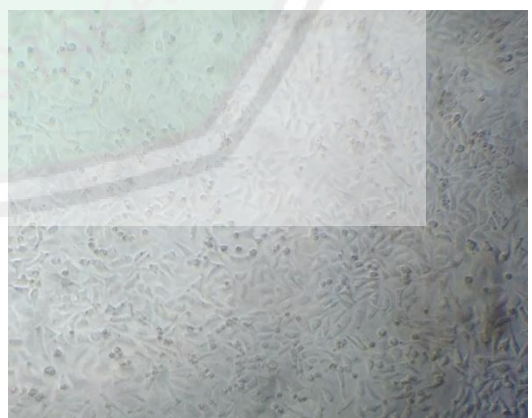
Pemekatan menggunakan Rotary Evaporator vacuum



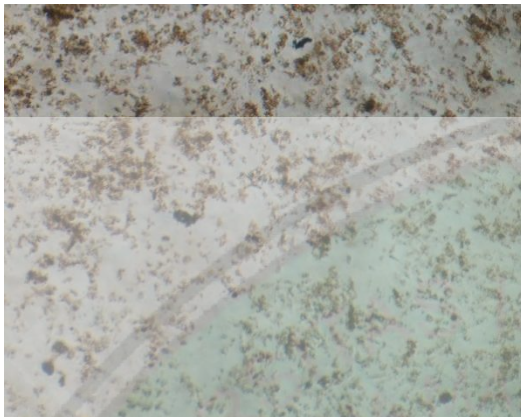
Partisi menggunakan Kloroform



Partisi menggunakan N-heksana



Sel Kanker Payudara T47D



Sel Kanker + ekstrak

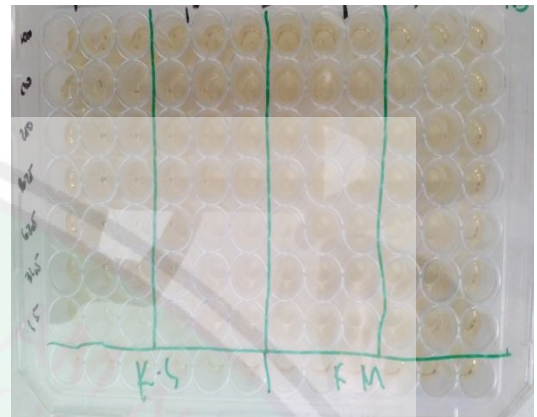


Plate Sebelum ditambah Ekstrak

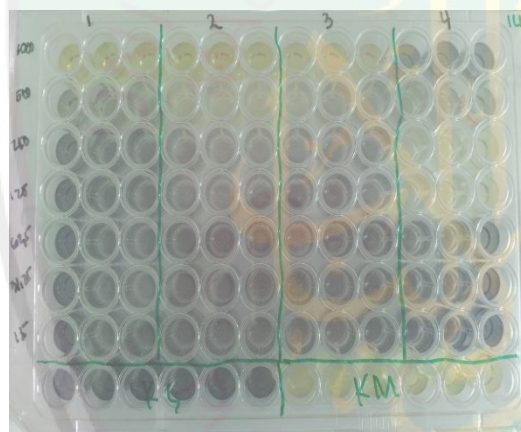
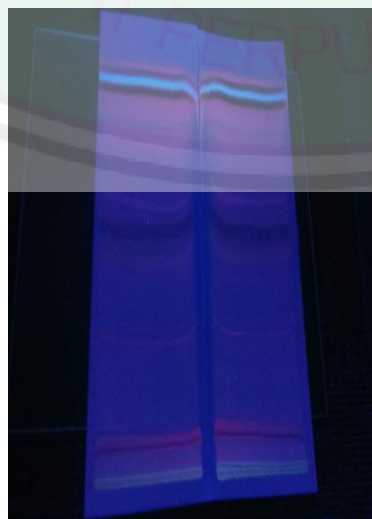


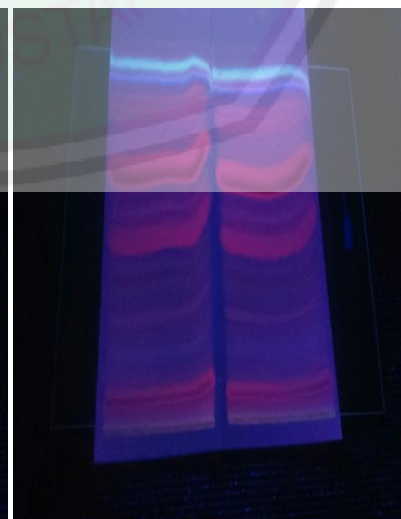
Plate Setelah Diuji Sitotoksik



Positif mengandung Steroid



Hasil KLTP Alkaloid



Hasil KLTP Steroid



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS KEDOKTERAN

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia

Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755

http://www.fk.ub.ac.id

e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 271 / EC / KEPK – S1 – UNISMA / 07 / 2016

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Uji Aktivitas Anti Kanker Senyawa 2-metoksi-4-((Fenilimino)metil)fenol, Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica L.*), Akar dan Daun Anting-anting Terhadap Sel Kanker Payudara T47D

PENELITI : Siti Khodijah
Khoirun Nisa N.A
Fadilatul Ilmi S

UNIT / LEMBAGA : S1 Kimia – Fakultas Sains dan Teknologi – Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Protho Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang, 21 JUL 2016

An, Ketua,
Koordinator Divisi I



Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H, MSc, SpPark
NIP. 19520410 198002 1 001

Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).