

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER DAN IDENTIFIKASI  
SENYAWA AKTIF DARI FRAKSI UMBI BAWANG  
SABRANG (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.)  
TERHADAP SEL KANKER SERVIKS *HeLa***

**SKRIPSI**

**Oleh:**  
**TRIAN SIDHA MINGGARWATI**  
**NIM. 13670021**



**JURUSANFARMASI**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN**  
**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI**  
**MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**  
**2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER DAN IDENTIFIKASI  
SENYAWA AKTIF DARI FRAKSI UMBI BAWANG  
SABRANG (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.)  
TERHADAP SEL KANKER SERVIKS *HeLa***

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada:**

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

**JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI  
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER DAN IDENTIFIKASI SENYAWA  
AKTIF DARI FRAKSI UMBI BAWANG SABRANG  
(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) TERHADAP  
SEL KANKER SERVIKS *HeLa***

**SKRIPSI**

Oleh:

**TRIAN SIDHA MINGGARWATI**  
**NIM. 13670021**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:  
Tanggal: 12 Juli 2017

**Pembimbing I**

  
**Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt**  
NIP. 19800203 200912 2 001

**Pembimbing II**

  
**Hajar Sugihantoro, M.P.H., Apt**  
NIDT. 19851216 20160801 1 083

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Farmasi



**Begum Fauzivah, S.Si., M.Farm**  
NIP. 19830628 200912 2 004

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER DAN IDENTIFIKASI SENYAWA  
AKTIF DARI FRAKSI UMBI BAWANG SABRANG  
(*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) TERHADAP  
SEL KANKER SERVIKS *HeLa***

**SKRIPSI**

Oleh:  
**TRIAN SIDHA MINGGARWATI**  
**NIM. 13670021**

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Pengaji Skripsi  
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)  
Tanggal: 12 Juli 2017

Ketua Pengaji	: drg. Risma Aprinda K., M.Si NIP. 19822005 200912 2 001	(.....)
Anggota Pengaji	1. Siti Maimunah, M.Farm., Apt NIDT. 19870408 20160801 2 084 2. Hajar Sugihantoro, M.P.H., Apt NIDT. 19851216 20160801 1 083 3. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt NIP. 19800203 200912 2 001	(.....) (.....) (.....) (.....)

Mengesahkan,  
**Ketua Jurusan Farmasi**



**Begum Faiziyah, S.Si., M.Farm**  
NIP. 19830628 200912 2 004

**PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Trian Sidha Minggarwati  
NIM : 13670021  
Jurusan : Farmasi  
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan  
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antikanker dan Identifikasi Senyawa Aktif dari Fraksi Umbi Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) Terhadap Sel Kanker Serviks *HeLa*

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

Malang, Juli 2017

Yang Membuat Pernyataan,



Trian Sidha Minggarwati  
NIM. 13670021

## **MOTTO**

Man Jadda Wajada

Man Shabara Zhafira

Man Sara Ala Darbi Washala

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

(Soekarno)

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

(Trian Sidha Minggarwati /13670021)

## LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahhirobbil'aalamiin

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

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

1. Kedua orang tuaku, Ayahanda tercinta Drs. Sugeng Sunarbowo, M.Pd dan Ibunda tercinta Dra. Yuniarti. Terimakasih telah memberi doa, dukungan dalam segala bentuk, semangat, dan kasih sayang yang tak pernah putus sehingga saya dapat menempuh sarjana dengan lancar. Selalu memberikan yang terbaik untuk saya.
2. Kedua Kakakku Mas Weka Sidha Bhagawan dan Mbak Hanifia Istiqomah, terimakasih untuk perhatian, dukungan, doa, dan semangatnya selama ini.
3. Keluarga besar Mulyadi dan Janimun terimakasih atas barokah doanya, alhamdulillah.
4. Terimakasih kepada Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt, Ibu drg. Risma Aprinda Kristanti, M.Si atas dukungan moril maupun materil serta semangat dan doa nya. Terimakasih juga kepada Bapak Hajar Sugihantoro selaku pembimbing agama yang telah mengajarkan banyak ilmunya.
5. Terimakasih tak terhingga kepada sahabat, teman-teman tersayang Farmasi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang 2013 yang telah memberikan semangat dan warna selama menempuh perkuliahan. Teman-teman tim riset antikanker dan metabolomik, terimakasih untuk perjuangan, semua motivasi semangat selama ini. Tak cukup kata-kata untuk menggambarkan persahabatan kita, kecuali rasa syukur kuucapkan kepada Allah SWT karena telah mengenal kalian. Semoga kita selalu dipertemukan dalam kebaikan. Selamat dan sukses selalu buat kalian.
6. Kepada semua pihak yang telah membantu terselesaiinya skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu. (**Trian Sidha Minggarwati/ 13670021**)

## KATA PENGANTAR



Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Antikanker dan Identifikasi Senyawa Aktif dari Fraksi Umbi Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa”** ini dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang benar, yaitu jalan yang diridhai Allah SWT. Skripsi ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program S-1 (Strata-1) di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Seiring terselesaikannya penyusunan skripsi ini, dengan penuh kesungguhan dan kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis demi terselesainya skripsi ini.
2. Ibu drg. Risma Aprinda Kristanti, M.Si selaku konsultan yang selalu memberi semangat untuk tidak pernah berhenti mencoba.
3. Bapak Hajar Sugihantoro, M.PH., Apt selaku Pembimbing Agama
4. Ibu Siti Maimunah, M.Farm., Apt selaku Pengaji Utama.

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

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

1. Semua keluargaku, Bapakku Drs. Sugeng Sunarbowo, M.Pd dan Ibuku, Dra. Yuniarti yang senantiasa mendoakan dan memberi dukungan dalam segala bentuk.

Kakakku Mas Weka Sidha Bhagawan dan Mbak Hanifia Istiqomah yang telah memberi dukungan dan kasih sayang.

2. Bapak Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Bapak Bambang Pardjianto, Sp.B., Sp.BP-RE (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan, UIN Maliki Malang.
4. Ibu Begum Fauziyah, S.SI., M.Farm, selaku Ketua Jurusan Farmasi, UIN Maliki Malang yang telah memberikan arahan dan nasehat kepada penulis.
5. Para Dosen Pengajar dan staf di Jurusan Farmasi yang telah memberikan bimbingan dan membagi ilmunya kepada penulis selama berada di UIN Maliki Malang.
6. Sahabat serta teman-teman Farmasi angkatan 2013 khususnya Tim Riset Antikanker dan Metabolomik (Faiq, Olden, Atina, Astri) yang telah berbagi kebersamaannya dalam senang maupun susah, sehingga tetap terjaga persaudaran kita.
7. Semua dosen dan staf bagian Parasitologi FK UGM serta PUSLABFOR Jakarta yang telah membantu selama penelitian.
8. Semua rekan dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas segala bantuannya kepada penulis.

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

Malang, 7 Juni 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

### HALAMAN JUDUL

### HALAMAN PERSETUJUAN

### HALAMAN PENGESAHAN

### HALAMAN PERNYATAAN

### MOTTO

### HALAMAN PERSEMBAHAN

KATA PENGANTAR .....	i
----------------------	---

DAFTAR ISI.....	iii
-----------------	-----

DAFTAR TABEL .....	vi
--------------------	----

DAFTAR GAMBAR .....	vii
---------------------	-----

DAFTAR LAMPIRAN .....	viii
-----------------------	------

DAFTAR SINGKATAN .....	ix
------------------------	----

ABSTRAK .....	x
---------------	---

### BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang .....	1
--------------------------	---

1.2 Rumusan Masalah .....	7
---------------------------	---

1.3 Tujuan .....	7
------------------	---

1.4 Manfaat Penelitian .....	8
------------------------------	---

1.4.1 Manfaat Akademik .....	8
------------------------------	---

1.4.2 Manfaat Praktis .....	8
-----------------------------	---

1.5 Batasan Masalah .....	9
---------------------------	---

### BAB II TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan tentang Tumbuhan Bawang Sabrang

( <i>Eleutherine palmifolia</i> ) .....	10
---	----

##### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Tumbuhan Bawang Sabrang

( <i>Eleutherine palmifolia</i> ) .....	10
---	----

2.1.2 Daerah Persebaran Bawang Sabrang ( <i>Eleutherine palmifolia</i> ) .....	12
--	----

##### 2.1.3 Kandungan Senyawa dan Bioaktivitas Bawang Sabrang

( <i>Eleutherine palmifolia</i> ) .....	13
---	----

2.2 Ekstraksi Senyawa Aktif Umbi Bawang Sabrang <i>(Eleutherine palmifolia)</i> .....	16
2.2.1 Ekstraksi Maserasi Umbi Bawang Sabrang <i>(Eleutherine palmifolia)</i> .....	16
2.2.2 Fraksinasi Umbi Bawang Sabrang ( <i>Eleutherine palmifolia</i> ) .....	18
2.3 Kanker Serviks .....	19
2.3.1 Kanker .....	19
2.3.2 Deskripsi Kanker Serviks .....	20
2.3.3 Patofisiologi Kanker Serviks .....	23
2.4 Metode MTT .....	24
2.5 Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder dengan UPLC-MS.....	25
<b>BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS</b>	
3.1 Kerangka Konseptual .....	28
3.1.1 Bagan Kerangka Konseptual .....	28
3.1.2 Uraian Kerangka Konseptual .....	29
3.2 Hipotesis .....	30
<b>BAB IV METODE PENELITIAN</b>	
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian .....	31
4.2 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian .....	31
4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional .....	32
4.3.1 Variabel Penelitian .....	32
4.3.2 Definisi Operasional Variabel .....	32
4.4 Alat dan Bahan Penelitian .....	33
4.4.1 Alat .....	33
4.4.2 Bahan .....	33
4.5 Skema Kerja Penelitian .....	34
4.6 Prosedur Penelitian .....	35
4.6.1 Determinasi Tumbuhan .....	35
4.6.2 Preparasi Sampel .....	35
4.6.3 Analisis Kadar Air Serbuk Simplisia Umbi Bawang	

Sabrang ( <i>Eleutherine palmifolia</i> ).....	35
4.6.4 Ekstraksi Maserasi Umbi Bawang Sabrang ( <i>Eleutherine palmifolia</i> ).....	36
4.6.5 Fraksinasi Umbi Bawang Sabrang ( <i>Eleutherine palmifolia</i> ) .....	37
4.6.6 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT ( <i>Microtetrazolium</i> ).....	38
4.6.6.1 Penyiapan Sel.....	38
4.6.6.2 Penghitungan Sel Kanker.....	39
4.6.6.3 Peletakan Sel pada Plate 96-well .....	39
4.6.6.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada Plate 96-well .....	39
4.6.6.5 Pemberian Larutan MTT .....	40
4.7 Analisis Statistika.....	41
<b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
5.1 Preparasi Sampel.....	42
5.2 Analisa Kadar Air .....	43
5.3 Ekstraksi Maserasi dan Fraksinasi Umbi Bawang Sabrang ( <i>Eleutherine palmifolia</i> ) .....	44
5.4 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT ( <i>Microtetrazolium</i> ) .....	47
5.5 Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan UPLC-MS .....	55
5.6 Pemanfaatan Umbi Bawang Sabrang Berdasarkan Perspektif Islam.....	62
<b>BAB VI PENUTUP</b>	
5.1 Kesimpulan .....	66
5.2 Saran .....	66
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	67
<b>LAMPIRAN</b>	

**DAFTAR TABEL**

Tabel 5.1	Hasil maserasi ekstrak etanol 96% umbi bawang sabrang ( <i>Eleutherine palmifolia</i> ) .....	45
Tabel 5.2	Hasil fraksinasi dan rendemen masing-masing fraksi.....	47
Tabel 5.3	% viabilitas sel hidup fraksi pada tiap konsentrasi .....	51
Tabel 5.4	% viabilitas sel hidup perlakuan cisplatin pada berbagai konsentrasi.....	52
Tabel 5.5	Nilai IC <sub>50</sub> sampel terhadap sel kanker serviks <i>HeLa</i> dengan analisis probit .....	53
Tabel 5.6	Hasil analisis dugaan senyawa aktif.....	58

**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1	Tanaman <i>Eleutherine americana</i> ; batang (A), umbi (B), bunga (C).....	11
Gambar 2.1.2	Komponen Senyawa dari <i>Eleutherine americana</i> .....	15
Gambar 2.5	Reaksi reduksi MTT menjadi formazan .....	25
Gambar 3.1.1	Bagan Kerangka Konseptual .....	28
Gambar 4.5	Bagan Skema Kerja Penelitian.....	34
Gambar 5.1	Sel <i>HeLa</i> ; a) kontrol sel, b) perlakuan fraksi etil asetat konsentrasi 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , c) perlakuan cisplatin konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	50
Gambar 5.2	Grafik nilai % viabilitas sel hidup tiap konsentrasi fraksi .....	52
Gambar 5.3	Grafik nilai % viabilitas sel hidup tiap konsentrasi cisplatin .....	53
Gambar 5.4	Kromatogram UPLC-MS fraksi etil asetat umbi bawang sabrang .....	57
Gambar 5.5	Spektra massa senyawa isoliquiritigenin.....	60
Gambar 5.6	Spektra massa senyawa oxyresveratrol .....	62

## **DAFTAR LAMPIRAN**

- Lampiran 1 Skema Kerja
- Lampiran 2 Uji Kadar Air Sampel Kering Umbi Bawang Sabrang
- Lampiran 3 Perhitungan Rendemen
- Lampiran 4 Perhitungan Data dan Hasil Uji Aktivitas Antikanker Fraksi Umbi Bawang Sabrang
- Lampiran 5 Determinasi Tanaman Bawang Sabrang
- Lampiran 6 Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan UPLC-MS
- Lampiran 7 Dokumentasi Penelitian

**DAFTAR SINGKATAN**

APCI	: Atmospheric Pressure Chemical Ionization
APPI	: Atmospheric Pressure Photoionization
CCRC	: Cancer Chemoprevention Research Center
CE-MS	: Capillary Electrophoresis– Mass Spectrometry
DMEM	: Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	: Dimethyl Sulfoxide
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
DVL	: Dishevelled Homolog
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ESI	: Electrospray Ionization
FAB	: Fast Atom Bombardment
FBS	: Fetal Bovine Serum
FT-ICR	: Orbitrap And Fourier Transform Ion Cyclotron
FTIR	: Fourier Transform Infrared Spectroscopy
GC-MS	: Gas Chromatography- Mass Spectrometry
HPV	: Human Papilloma Virus
IC50	: Inhibitor Concentration 50%
LAF	: Laminar Air Flow
MC	: Moisture Content
MEM	: Minimum Essential Medium
MTT	: Microculture Tetrazolium Salt
NMR	: Nuclear Magnetic Resonance
P53	: Protein 53
PBS	: Phosphate Buffer Serum
PP2A	: Protein Phosphatase 2A
pRb	: Protein Retinoblastoma
QTOFMS	: Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry
RPMI	: Rosewell Park Memorial Institute
SDS	: Sodium Duodecyl Sulfate
SPSS	: Program for Social Science
TCF	: Transcription Factors
UPLC-MS	: Ultra Performance Liquid Chromatography- Mass Spectrometry
WHO	: World Health Organization

## ABSTRAK

Minggarwati, T. S. 2017. Uji Aktivitas Antikanker dan Identifikasi Senyawa Aktif dari Fraksi Umbi Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) Terhadap Sel Kanker Serviks *HeLa*.

Pembimbing: (I) Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt

(II) Hajar Sugihantoro, M.P.H., Apt

Bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) merupakan tanaman khas Kalimantan Tengah yang secara empiris telah digunakan oleh masyarakat Dayak sebagai obat berbagai jenis penyakit salah satunya adalah kanker. Tanaman tersebut diketahui mengandung senyawa dari golongan polifenol yang berpotensi digunakan sebagai antikanker. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui fraksi teraktif sebagai antikanker pada *cell line* kanker serviks *HeLa* serta mengetahui senyawa aktif dalam fraksi teraktif umbi bawang sabrang yang mampu menghambat pertumbuhan sel *HeLa*.

Pemisahan senyawa aktif umbi bawang sabrang dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi dengan *ultrasonic bath* menggunakan pelarut etanol 96% dan fraksinasi bertingkat menggunakan air, n-heksan, kloroform, dan etil asetat. Masing-masing fraksi diuji tingkat toksisitasnya terhadap *cell line* kanker serviks *HeLa* menggunakan metode MTT. Identifikasi golongan senyawa aktif menggunakan *Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (UPLC-MS).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC<sub>50</sub> fraksi etil asetat umbi bawang sabrang memiliki bioaktivitas paling tinggi. Nilai IC<sub>50</sub> fraksi n-heksan, kloroform, etil asetat, dan air berturut-turut adalah 250,774 µg/mL; 720,459 µg/mL; 44,335 µg/mL; >1000 µg/mL. Identifikasi senyawa aktif terhadap fraksi etil asetat menunjukkan bahwa senyawa isoliquiritigenin dan senyawa oxyresveratrol adalah senyawa mayor dan diduga sebagai senyawa *lead compound* aktivitas antikanker pada umbi bawang sabrang.

**Kata Kunci:** umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*), kanker serviks *HeLa*, UPLC-MS

## ABSTRACT

Minggarwati, T. S. 2017. Metabolite Profiling and Anticancer Activity of Ethyl Acetate Fraction From Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.) on Cervical Cancer Cell HeLa Cell Line

Advisor: (I) Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt  
(II) Hajar Sugihantoro, M.P.H., Apt.

Bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) is a typical plant of Central Kalimantan that has been used empirically by the Dayak people as a medicine of various types of diseases one of which is cancer. The plant is known to contain compounds of flavonoids that are potentially used as anticancer. Active compound of Bawang sabrang bulbs is done by maceration extraction method. The purpose of this study was to find out the most active fraction as an anticancer in the cervical cancer HeLa cell line and to know profiling of compounds on the most active fraction of Bawang sabrang bulbs.

Extraction with ultrasonic bath and partition fractionation using n-hexane, chloroform, and ethyl acetate. Each fraction was tested for toxicity level on cervical cancer HeLa cell line. Identification of active compounds using Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (UPLC-MS).

The results showed that the value of IC<sub>50</sub> ethyl acetate fraction of Bawang sabrang bulbs has the highest bioactivity. IC<sub>50</sub> values of n-hexane, chloroform, and ethyl acetate fractions were respectively 250.77 µg / mL; 720.46 µg / mL; 44.34 µg / mL; >1000 µg / mL. The identification of the active compound on the ethyl acetate fraction showed that the isoliquiritigenin and oxyresveratrol were major compounds and suspected as lead compound of anticancer activity on Bawang sabrang bulbs.

**Keywords:** *Bawang sabrang bulbs (Eleutherine palmifolia), cervical cancer HeLa, UPLC-MS*

## الملخص

منغرواتي، ت. س. 2017. التجربة نشاطية عن مضاد للسرطان وتحديد المركبات النشطة من درنة البصل سابرانج على خلية سرطان عنق الرحم هيلا.  
المشرفان: (1) الدكتور رائحة المطبيعة الماجستير  
(2) هاجر سوجيهانتورو الماجستير

البصل سابرانج هو نبات نموذجي من كاليمانتان الوسطى التي تم استخدامها تجريبياً من قبل المجتمع دياك كأدوية مختلفة لشفاء الأمراض منها السرطان. ومن المعروف أنه يحتوي على مركبات من مجموعات بوليفينولية التي يمكن أن تستخدم مضاداً للسرطان. وكان الغرض هذا البحث لتحديد الجزء الأكثر نشاطاً باعتباره مضاد للسرطان في خط الخلايا من سرطان عنق الرحم "هيلا" ولمعرفة المركبات النشطة في جزء من نشاط درنة البصل سابرانج الأكثر الذي قادر على تثبيط خلية "هيلا".

فصل المركب النشط لدرنة البصل سابرانج بواسطة طريقة استخراج التمايز مع موجات فوق الصوتية أثناء 96٪ من مذيب الإيثانول والتجزئة الطبقية باستخدام الماء، ن-هكسان، الكلوروفورم، وأسيتات الإيثيل. تم اختبار كل الجزء لمستوى السمية عن خط الخلية من سرطان عنق الرحم "هيلا". تحديد فئات مركب نشط باستخدام الأداء الفائق لسائل اللوني - قياس الطيف الكتلي.

وأظهرت النتائج أن قيمة IC<sub>50</sub> جزء إيثيل أسيتات من درنة البصل سابرانج لديها أعلى النشاط الحيوي. وكانت قيمة IC<sub>50</sub> من ن-الهكسان ، الكلوروفورم، أسيتات الإيثيل، وكسور المياه على التالى 250.774 ميكروغرام ؛ 459، 720 ميكروغرام ؛ 44،335 ميكروغرام ؛ <1000 ميكروغرام. وأظهر تحديد المركب النشط على جزء أسيتات الإيثيل أن مركبه الإيسوليكيبريتيجينينة و مركب الأوكسيرايسفيراترول هما مركبان رئيسيان ويشتبهان أنهما مضادان للسرطان في درنات البصل سابرانج.

**الكلمة الرئيسية:** درنات البصل سابرانج، خلية سرطان عنق الرحم هيلا، الأداء الفائق لسائل اللوني - قياس الطيف الكتلي.

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Kanker merupakan penyakit tidak menular yang menyebabkan kematian terbesar nomor dua setelah penyakit kardiovaskular (Kemenkes RI, 2012). Penyakit kanker menjadi salah satu masalah utama dalam kesehatan masyarakat dunia, terutama di negara berkembang seperti Indonesia. Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013, prevalensi kanker di Indonesia cukup tinggi, yaitu 1,4 per 1000 penduduk (Kemenkes RI, 2013).

Kanker serviks merupakan jenis kanker kedua yang paling sering diderita perempuan setelah kanker payudara dan penyebab kematian terbesar ketiga akibat kanker pada perempuan. *World Health Organization* atau WHO (2014) menyebutkan bahwa setiap tahun lebih dari 270.000 perempuan meninggal akibat kanker serviks, lebih dari 85% dari kematian ini terjadi di negara berkembang. Indonesia berada pada urutan keenam dari 50 negara di dunia dengan kematian akibat kanker serviks terbanyak, yaitu sebanyak 7.493 orang (WHO, 2013). Di Asia Tenggara, Indonesia berada di urutan keempat dalam hal jumlah penderita kanker serviks terbanyak setelah Kamboja, Myanmar, dan Thailand, yaitu sebanyak 17,3 per 100.000 perempuan per tahun (HPV Information Centre, 2014).

Infeksi HPV (*Human Papiloma Virus*) adalah penyebab kanker serviks pada leher rahim. Protein HPV E6 akan berikatan dengan protein p53 yang berperan menjaga sel dari mutasi genetik akibat kerusakan DNA, sedangkan

protein HPV E7 mengikat protein p105Rb yang berperan dalam *supressor* proliferasi sel. Ikatan tersebut berperan dalam peningkatan proliferasi sel *HeLa* (DeFilipis *et al.*, 2003). Pada leher rahim penderita kanker serviks terdapat sel-sel abnormal yang terbentuk oleh sel-sel jaringan dan berkembang terus menerus dan tidak terkendali (Nimas, 2012). Faktor resiko dari kanker leher rahim adalah hubungan seksual dengan pasangan yang sering berganti-ganti. Selain itu, status sosial ekonomi yang rendah, merokok, pemakaian kontrasepsi oral, paritas yang tinggi serta adanya riwayat penyakit menular juga merupakan faktor resiko kanker serviks (Prayitno dkk, 2005).

Pada wanita, kanker serviks dapat dicegah dengan mengikuti program skrining sitologi seperti tes *pap smear*, tes HPV DNA, dan tes molekular. Saat ini telah berkembang vaksin HPV, namun tidak semua negara dapat menggunakan vaksin HPV karena persediaanya terbatas dan mahal (Goldie *et al.*, 2005). Terapi umum penderita kanker serviks adalah operasi, radioterapi, dan kemoterapi. Salah satu agen kemoterapi yang paling sering digunakan dalam penanganan kanker serviks adalah cisplatin (Dipiro *et al.*, 2008). Cisplatin dapat menginduksi sitotoksitas dengan mengganggu proses transkripsi dan replikasi DNA, namun mempunyai efek samping yang tidak diinginkan seperti neurotoksisitas, toksisitas ginjal atau supresi sumsum tulang belakang, sehingga belum menyelesaikan masalah yang ada (Florea *and* Büsselberg, 2011).

Selain terapi menggunakan bahan kimia, dikenal pula pengobatan dengan herbal yang mampu melengkapi pengobatan dengan bahan kimia tersebut. Minat penderita kanker dengan obat-obat herbal dikarenakan pengobatan dengan agen

kemoterapi bersifat tidak selektif karena selain membunuh sel kanker, obat ini juga dapat merusak sel normal pada berbagai jaringan tubuh. Alasan lainnya adalah karena obat-obatan herbal memiliki efek samping yang lebih rendah serta sesuai untuk penyakit-penyakit metabolismik dan degenaratif (Katno dan Pramono, 2017). Obat-obatan herbal dapat diperoleh salah satunya dengan memanfaatkan tumbuhan-tumbuhan yang melimpah di sekitar kita.

Allah SWT menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang baik di atas muka bumi ini sebagaimana yang telah difirmankan di dalam Al-Qur'an surah Asy-Syu'araa' (26) ; 7 sebagai berikut:

أَوْ لَمْ يَرُوا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتَنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٌ ۖ

Artinya: "Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuhan yang baik?" (Asy-Syu'araa' : 07).

Kata *karim* digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Dalam tafsir ini diartikan bahwa tumbuhan yang baik itu paling tidak adalah tumbuhan yang subur dan memiliki manfaat. Allah menumbuhkan berbagai tumbuhan yang baik di atas muka bumi ini (Shihab, 2002). Banyak manfaat yang dapat diambil dari tumbuhan untuk digunakan sebagai obat-obatan yang bermanfaat untuk kehidupan manusia.

Hutan tropika Indonesia kaya akan spesies tumbuhan, sedikitnya sekitar 40.000 jenis yang telah didata mempunyai khasiat sebagai tumbuhan obat (Rosita dkk, 2007). Hingga tahun 2001 Laboratorium Konservasi Tumbuhan Fakultas Kehutanan IPB telah mendata dari berbagai laporan penelitian dan literatur tidak

kurang dari 2039 spesies tumbuhan obat yang berasal dari hutan Indonesia (Zuhud, 2008).

Sesuai dengan firman Allah dalam surah Luqman [31]:10

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ □ نَرَوْهُهَا وَالْأَرْضَ فِي الْأَرْضِ رَوَسِيَ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ □ وَأَنْزَلَنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً □ فَأَنْبَتَنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ □ كَرِيمٌ ١٠

Artinya: “Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang mulia”.

Menurut tafsir Jalalain sebagai berikut: “*Dan kami telah menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan disana segala macam tumbuh-tumbuhan yang mulia*”, maksudnya jenis tumbuh-tumbuhan yang baik (Junaidi, 2010).

Tumbuh-tumbuhan yang baik dapat dimaknai sebagai tumbuhan yang bermanfaat. Dari tumbuh-tumbuhan tersebut memiliki bagian-bagian yang telah Allah ciptakan dan memiliki manfaat untuk manusia, salah satunya adalah sebagai obat. Seperti bagian daun dari tumbuhan sambiloto (*Andrographis paniculata*) digunakan sebagai antidiare (Nuruzzakiyah, 2011), pelepas dan batang tanaman pisang ambon (*Musa paradisiacal var.sapientum*) memiliki aktivitas antibakteri (Hastari, 2012), buah dari tumbuhan pala (*Myristica fragan* houtt) telah diteliti mempunyai aktivitas antioksidan (Mitayani, 2010), bahkan bagian dari tumbuhan yang tidak terlihat dari luar seperti umbi yang tertutup tanah, juga memiliki potensi digunakan sebagai obat. Salah satunya adalah umbi dari bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.). Umbi bawang sabrang yang merupakan tanaman khas Kalimantan Tengah ini secara empiris telah digunakan oleh masyarakat Dayak sebagai obat berbagai jenis penyakit seperti kanker, hipertensi,

kencing manis, menurunkan kolesterol, obat bisul, mencegah stroke, dan mengurangi sakit perut setelah melahirkan (Galingging, 2009).

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol bawang sabrang memiliki efek sitotoksik terhadap karsinoma kolon HT29 dengan LC<sub>50</sub> sebesar 3,125 mg/ml dan mutan p53 dapat ditekan oleh senyawa triterpenoid, flavonoid, antraquinon, dan kumarin (Yusni, 2008). Berdasarkan penelitian Li *et al.* (2008) menunjukkan bahwa bawang sabrang mempunyai efek sitotoksik pada sel kanker kolon. Senyawa eleutherine dan elecanacin mampu menghambat transkripsi TCF/β-catenin dalam SW480 sel kanker kolon. Ekstrak ethyl asetat umbi bawang sabrang juga dapat menghambat siklus sel kanker payudara T47D dan apoptosis sel dengan IC<sub>50</sub> sebesar 147.124 µg/ml (Fitri *et al.*, 2014). Penelitian Listiyana dkk (2016) menunjukkan bahwa ekstrak etanolik bawang sabrang mampu menghambat pertumbuhan sel kanker serviks *HeLa* dengan IC<sub>50</sub> : 40,36 µg/ml.

Umbi Bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) diketahui mengandung senyawa dari golongan polifenol (Febrinda dkk, 2013). Polifenol dapat dibagi menjadi dua golongan utama yaitu flavonoid dan non flavonoid (Moga *et al.*, 2016). Flavonoid merupakan senyawa terbukti dapat menghambat proliferasi beberapa sel kanker (Mardianingsih dan Ismiyati, 2014). Kemampuan flavonoid dalam menghambat proliferasi sel dipengaruhi oleh kemampuan flavonoid dalam memodulasi *estrogen reseptor alpha* (Era) (Virgili *et al.*, 2014). Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Vanamala *et al.* (2010) membuktikan bahwa salah satu senyawa golongan non flavonoid yaitu resveratrol mampu menekan ekspresi

*Insulin Growth Factor-1* (IGF-1) dan melemahkan jalur Akt/Wnt yang berperan dalam proliferasi sel. Berdasarkan uraian di atas, peneliti ingin mengetahui aktivitas antikanker dan identifikasi senyawa aktif dari fraksi umbi bawang sabrang terhadap sel kanker serviks *HeLa*.

Pengujian aktivitas sitotoksik hasil fraksi ekstrak etanol umbi bawang sabrang menggunakan metode *Microtetrazolium* (MTT) terhadap *cell line* kanker serviks *HeLa* yang didasari pada perubahan larutan reagen MTT (*3-(4,5-dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazolium bromide*) yang berwarna kuning menjadi kristal formazan yang berwarna ungu (Mosmann, 1983). Keuntungan dari pengujian MTT ini adalah senyawa yang digunakan untuk pengujian ini relatif sedikit, selain itu waktu yang diperlukan lebih singkat dan dapat memberikan informasi mengenai efeknya secara langsung terhadap sel manusia yang telah dikultur (Ilhamy, 2013). Hasil yang diamati pada uji ini adalah perubahan warna yang dihasilkan akibat terbentuknya kristal formazan. Fraksi yang memiliki bioaktivitas paling tinggi (optimum) diidentifikasi senyawa aktifnya menggunakan instrumen *Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (UPLC-MS). Penelitian ini diharapkan dapat membuktikan bahwa fraksi n-heksan, kloroform, etil asetat, dan air dari umbi bawang sabrang memiliki potensi sebagai agen antikanker.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka masalah dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat, dan air umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) memiliki potensi antikanker terhadap *cell line* kanker serviks *HeLa*?
2. Apakah terdapat senyawa aktif dalam fraksi teraktif umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) yang dapat menghambat pertumbuhan sel *HeLa*?

## 1.3 Tujuan

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

1. Untuk mengetahui apakah fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat, dan air bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) memiliki potensi antikanker terhadap *cell line* kanker serviks (*HeLa*).
2. Untuk mengetahui apakah terdapat senyawa aktif dalam fraksi teraktif umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) yang dapat menghambat pertumbuhan sel *HeLa*.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Akademik**

#### **1. Bagi Ilmu Pengetahuan**

Memberikan kontribusi mengenai metodologi pengujian aktivitas *in vitro* umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) sebagai antikanker serta dapat dijadikan dasar teori untuk meningkatkan khasanah ilmu pengetahuan masyarakat dalam memanfaatkan umbi bawang sabrang sebagai agen terapi kanker serviks berbasis bahan alam.

#### **2. Bagi Penyusun**

Menambah wawasan dan motivasi untuk berpikir kritis dalam memberikan penjelasan secara ilmiah mengenai efek umbi bawang sabrang sebagai agen terapi kanker serviks.

### **1.4.2 Manfaat Praktis**

#### **1. Bagi Masyarakat**

Memberikan kontribusi informasi kepada masyarakat tentang pemanfaatan umbi bawang sabrang sebagai antikanker berbasis bahan alam.

#### **2. Bagi Peneliti Lain**

Memberikan kontribusi dasar pemikiran untuk dilakukan penelitian selanjutnya.

## 1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan adalah umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) diperoleh dari Materia Medica Batu.
2. Ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96 %.
3. Fraksinasi bertingkat menggunakan pelarut n-heksana, kloroform, etil asetat, dan air.
4. Uji antikanker secara *in vitro* terhadap *cell line* kanker serviks *HeLa* dengan metode MTT (*microtetrazolium*).
5. Tingkat sitotoksik ditunjukkan dengan nilai IC<sub>50</sub> yang diukur menggunakan analisis probit SPSS.
6. Pengujian *Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (UPLC-MS) dari fraksi umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) yang memiliki potensi sitotoksik terhadap *cell line* kanker serviks *HeLa*.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan tentang Tumbuhan Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia*)

##### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Tumbuhan Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia*)

Tumbuh-tumbuhan yang berada di muka bumi ini diciptakan oleh Allah SWT memiliki beberapa manfaat untuk kemaslahatan makhluk-Nya. Sebagaimana yang telah disebutkan dalam Al-Quran surat Thaha ayat 53:

الذِّي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًىٰ وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُّلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجَنَا بِهِ  
أَزْوَاجًا مِّنْ نَبَاتٍ شَتَّىٰ ٥٣

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

Allah SWT menurunkan air hujan dan menumbuhkan berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam. Lafadz *نباتٍ شَتَّىٰ* memiliki makna yakni tumbuhan yang diciptakan bermacam-macam jenis, bentuk, warna, rasa, dan manfaat (Shihab, 2002). Salah satu dari bermacam-macam tumbuhan yang bermanfaat tersebut adalah Bawang Sabrang, tanaman khas daerah Kalimantan Tengah yang secara empiris telah digunakan masyarakat suku Dayak untuk pengobatan.



Gambar 2.1 Tanaman *Eleutherine palmifolia*; batang (A), umbi (B), bunga (C).

Bawang Sabrang memiliki tinggi sekitar 30-40 cm. Batang bawang sabrang merupakan batang semu, membentuk umbi berlapis bulat telur merah menyerupai bawang merah. Berdaun tunggal berbentuk pita dengan ujung dan pangkal runcing tepi rata dan berwarna hijau. Tipe bunga majemuk berwarna putih yang terdapat di ujung batang, dan memiliki akar serabut berwarna coklat muda (Backer, 1965; Heyne, 1987). *Eleutherine palmifolia* mempunyai buah kotak berbentuk jorong dengan bagian ujungnya berlekuk. Jika masak merekah menjadi tiga rongga yang berisi banyak biji (LIPI, 1978). Sedangkan bijinya berbentuk bundar telur atau hampir bujur sangkar dan berwarna coklat hampir mendekati warna hitam (LIPI, 1978).

Klasifikasi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) dalam ilmu taksonomi adalah sebagai berikut (Cronquist, 1981; Backer and Brink, 1968):

Divisio : Magnoliophyta

Class : Liliopsida

Subclass : Liliidae  
Ordo : Liliales  
Genus : Eleutherine  
Family : Iridaceae  
Species : *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr.

### 2.1.2 Daerah Persebaran Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia*)

Tanaman bawang dayak berasal dari Amerika Selatan yang kemudian menyebar ke Afrika, Malaysia, Filipina, Kalimantan dan Jawa. Bawang dayak merupakan tanaman liar, tetapi di pulau Jawa dipelihara sebagai tanaman hias, dibudidayakan, dan dinaturalisasikan (Kasahara, 1995).

*Eleutherine palmifolia* secara umum dikenal dengan nama bawang kapal (Indonesia). Selain nama umum, tumbuhan bawang sabrang juga memiliki beberapa nama daerah yaitu bebawangan beureum, bawang sabrang, bawang siyem (Sunda), brambang sabrang, luluwan sapi, teki sabrang (Jawa), bawang tiwai (Kalimantan) (Heyne, 1987; Kasahara, 1995). Penyebaran tumbuhan bawang sabrang banyak ditemukan, mulai dari Semenanjung Malaysia hingga Filipina, Sumatera (bawang kapal), Kalimantan (bawang hantu, bawang makkah), Jawa (brambang sabrang, bawang siyem, luluwansapi, teki sabrang, bebawangan beureum), Sulawesi, Nusa Tenggara. Secara ekologis, tumbuhan bawang sabrang tumbuh di daerah pegunungan pada ketinggian 600 - 2000 m di atas permukaan laut (Sudarmawan, 2009).

### 2.1.3 Kandungan Senyawa dan Bioaktivitas Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia*)

Sebuah hadits telah menyebutkan bahwa Allah telah menciptakan segala penyakit itu sudah ada obatnya:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شَفَاءً

Artinya: “Sesungguhnya Allah tidak menurunkan penyakit, melainkan telah pula menurunkan obatnya” (H.R Bukhari Muslim) (Al-Jauziyah, 2008).

Hadits senada juga diriwayatkan oleh Imam Muslim dalam kitab shohihnya dari hadits Abu Zubair yang diriwayatkan dari Jabir bin Abdullah bahwa Nabi Muhammad SAW bersabda:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أَصَابَ الدَّوَاءُ الدَّاءَ، بَرَأً يَادْنَ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: “Setiap penyakit ada obatnya. Jika obat yang tepat diberikan, dengan izin Allah penyakit itu akan sembuh” (HR. Ahmad bin Hakim) (Al-Jauziyah, 2008).

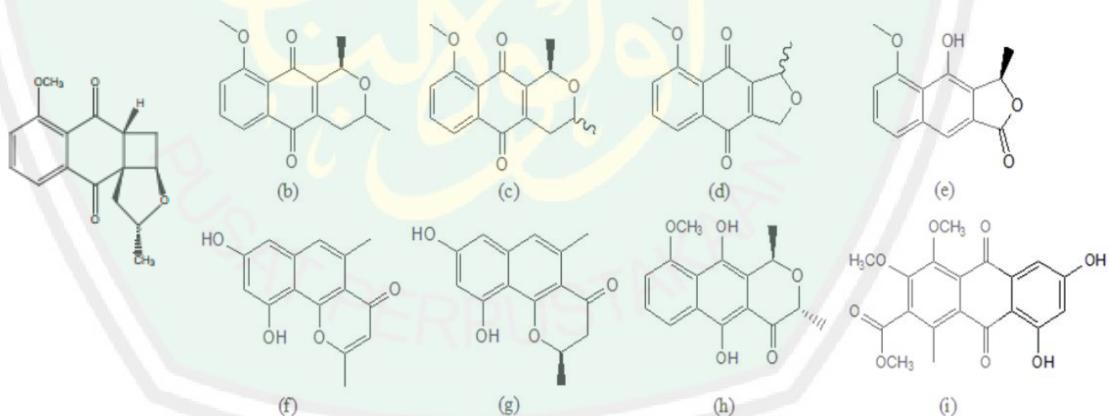
Kedua hadits tersebut menerangkan bahwa Allah menurunkan suatu penyakit pasti ada obatnya, dan jika penyakit tersebut berhasil disembuhkan itu atas izin Allah. Sehingga tugas kita adalah mencari alternatif pengobatan yang dapat digunakan untuk menyembuhkan penyakit.

Pengobatan dapat dilakukan salah satunya adalah dengan menggunakan obat. Penggunaan obat dalam pengobatan penyakit dapat menggunakan obat sintetis dan menggunakan tanaman obat atau obat tradisional (Katno dan Pramono, 2017). Tumbuhan sebagai obat dapat diperoleh dari kandungan kimia yang terkandung di dalamnya. Seperti alkaloid, glikosid, flavonoid, fenolik, steroid, dan tanin yang berpotensi dapat dikembangkan sebagai tanaman obat.

Alkaloid berfungsi sebagai antimikroba. Selain itu alkaloid, glikosid, dan flavonoid memiliki fungsi sebagai obat sakit perut (Galingging, 2007). Contoh lainnya adalah senyawa *naphtoquinones* yang memiliki bioaktivitas sebagai antikanker (Hara, 1997). Senyawa *naphtoquinones* banyak ditemukan dalam umbi bawang sabrang. Umbi bawang sabrang mengandung senyawa *naphtoquinonens* dan turunannya seperti *elecanacine*, *eleutherine*, *eleutherol*, *eleuthernone* (Hara, 1997). Selain itu, umbi bawang sabrang mengandung senyawa-senyawa turunan dari anthrakinon yang digunakan sebagai pencahar, yaitu senyawa *eleutheurin*, *isoeleutherin*, dan senyawa-senyawa sejenisnya. Senyawa lakton *eleutherol* dan senyawa turunan *pyron* yang disebut *eleutherinol* (Hara, 1997). Senyawa bioaktif yang terkandung dalam umbi bawang sabrang adalah senyawa alkaloid, steroid, glikosida, flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid, tanin, dan kuinon (Firdaus, 2006).

Penelitian yang dilakukan oleh Aulia (2011) menunjukkan bahwa umbi bawang sabrang mengandung senyawa *naphtoquinonens* dan turunannya seperti *elecanacine*, *eleutherol*, *eleuthernone*. Dalam umbi bawang sabrang juga terkandung alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, steroid dan tanin. Ieyama *et al.* (2011) telah melakukan penelitian secara *invitro* dengan menggunakan *enzyme assay* dan berhasil mengisolasi senyawa *eleutherinoside A* dalam bulbus bawang sabrang yang dapat menghambat  $\alpha$ -glukosidase pada diabetes mellitus. Umbi bawang sabrang dapat menurunkan kadar glukosa darah *postprandial* dengan menghambat  $\alpha$ -glukosidase dan memperbaiki sel  $\beta$ -pankreas (Febrinda *et al.*, 2008).

Berdasarkan penelitian Li *et al.* (2008) menunjukkan bahwa bawang sabrang mempunyai efek sitotoksik pada sel kanker kolon. Senyawa eleutherine dan elecanacin mampu menghambat transkripsi TCF/β-catenin dalam SW480 sel kanker kolon. Kedua senyawa tersebut juga menunjukkan aktivitas selektif sitotoksik pada kanker colorectal. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Adnyana *et al.* (2010) membuktikan bahwa *eleutherine* dan *isoeleutherine* potensial memiliki aktivitas antitumor terhadap *cell line* HT-1080 dan memiliki aktivitas yang mirip dengan 5-FU. Hasil penelitian Xu *et al.* (2005), *6,8-dihydroxy - 3,4 - dimethoxy - 1 - methyl anthraquinone - 2 - carboxylic acid methyl ester* menghambat proliferasi *cell line* kanker erythroleukimia K562. Struktur dari beberapa senyawa kimia bawang sabrang dapat dilihat pada gambar 2.1.2.



Gambar 2.2 Komponen senyawa dari *Eleutherine palmifolia*: (a) *Elecanacin*; (b) *Eleutherine*; (c) *Isoeleutherine*; (d) *Eleutherinone*; (e) *Eleutherol*; (f) *Eleutherinol*; (g) *Dihydroeleutherinol*; (h) *Hongconin*; dan (i) *6,8-dihydroxy-3,4-dimethoxy-1-methyl-anthraquinone-2-carboxylic acid methyl ester* (Amelia *et al.*, 2014; Insanu *et al.*, 2014).

## 2.2 Ekstraksi Senyawa Aktif Umbi Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia*)

### 2.2.1 Ekstraksi Maserasi Umbi Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia*)

Ekstraksi atau penyarian adalah suatu proses pemisahan zat yang terdapat dalam sel, ditarik oleh cairan penyari (pelarut) sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari. Pada umumnya penyarian akan bertambah bila permukaan serbuk sampel yang bersentuhan dengan penyari semakin luas. Metode dasar ekstraksi adalah infusasi, maserasi, perkolasii, soxhletasi. Pemilihan metode tersebut disesuaikan untuk memperoleh sari yang diinginkan (Baraja, 2008).

Maserasi (*macerace*= mengairi, melunakkan) merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana (Baraja, 2008). Teknik ini dilakukan dengan cara perendaman sampel dalam pelarut organik dan metode ini banyak digunakan untuk mencari bahan obat yang berupa serbuk atau simplisia halus. Penekanan utama dalam maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi karena memaksimalkan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Larutan yang konsentrasi tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Voight, 1995).

Metode maserasi mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas (Voight, 1995). Kelemahan metode

merasasi adalah pengerjaannya lama, dan penyaringannya kurang sempurna, pelarut yang digunakan lebih banyak (tidak efisien dan tidak efektif) dan tidak dapat digunakan untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras seperti benzoin, tiraks, dan lilin (Meloan, 1999). Saat ini telah diperkenalkan beberapa teknik ekstraksi alternatif untuk meminimalkan keterbatasan tersebut, diantaranya ekstraksi ultrasonik (Péres *et al.*, 2006).

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

Pemilihan pelarut untuk ekstraksi harus mempertimbangkan banyak faktor. Pelarut harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut: Sifat kelarutan zat didasarkan pada teori *like dissolve like*, zat yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan zat yang bersifat nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar (Khopkar, 2003). Pelarut yang digunakan untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Secara umum pelarut-pelarut golongan alkohol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh senyawa metabolit sekunder (Lenny, 2006).

Pelarut yang digunakan dalam mengekstrak senyawa aktif dalam umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) adalah etanol. Pelarut etanol merupakan pelarut universal golongan alkohol yang mudah melarutkan senyawaan yang sesuai dengan cukup cepat karena sifat kepolarannya yang tinggi, memiliki titik didih yang cukup rendah sehingga dapat mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat inert, serta memiliki harga yang terjangkau. Selain itu, ketoksikannya rendah daripada pelarut alkohol lainnya yakni memiliki nilai LC<sub>50</sub> 7060 mg/kg (Guenther, 2006).

### 2.2.2 Fraksinasi Umbi Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia*)

Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu kuantitas tertentu dari campuran (padat, cair, terlarut, suspensi atau isotop) dibagi dalam beberapa jumlah kecil (fraksi) komposisi perubahan menurut kelandaian. Pembagian atau pemisahan ini didasarkan pada bobot dari tiap fraksi, fraksi yang lebih berat akan berada paling dasar sedang fraksi yang lebih ringan akan berada diatas. Fraksinasi bertingkat biasanya menggunakan pelarut organik seperti eter, aseton, benzena, etanol, diklorometana, atau campuran pelarut tersebut. Asam lemak, asam resin, lilin, tanin, dan zat warna adalah bahan yang penting dan dapat diekstraksi dengan pelarut organik (Adjuwana dan Nur, 1989). Fraksinasi bertingkat umumnya diawali dengan pelarut yang kurang polar dan dilanjutkan dengan pelarut yang lebih polar. Tingkat polaritas pelarut dapat ditentukan dari nilai konstanta dielektrik pelarut (Lestari dan Pari, 1990).

Ekstraksi cair-cair merupakan salah satu metode fraksinasi. Tujuan dari ekstraksi ini adalah untuk memperoleh ekstrak yang lebih spesifik sifat

kepolarnya. Prinsip ekstraksi cair-cair adalah adanya distribusi komponen target pada dua pelarut yang tidak saling larut. Sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua (Khopkar, 2008).

### **2.3 Kanker Serviks**

#### **2.3.1 Kanker**

Kanker didefinisikan sebagai penyakit yang ditandai dengan pembelahan sel yang tidak terkendali dan kemampuan sel-sel tersebut untuk menyerang jaringan biologis lainnya, baik dengan pertumbuhan langsung di jaringan yang bersebelahan (invasi) atau dengan migrasi sel ke tempat yang jauh (metastasis). Pertumbuhan yang tidak terkendali tersebut disebabkan kerusakan DNA, menyebabkan mutasi di gen vital yang mengontrol pembelahan sel yang disebabkan oleh zat karsinogen (Krishna dan Hyashi, 2000).

Pemicu kanker (karsinogen) eksogen (dari luar) dan proses biologik endogen dapat menyebabkan mutasi pada untai DNA berupa delesi, insersi atau substitusi basa baik transisi maupun transversi. Mekanisme endogen kerusakan DNA tersebut adalah fenomena deaminasi 5-metilsitosin. Metilasi DNA merupakan mekanisme epigenetik yang melibatkan pengaturan ekspresi suatu gen. Studi spektrum mutasi menyatakan adanya corak khas dari perubahan DNA yang diinduksi oleh mutagen endogen dan eksogen tertentu pada gen yang berhubungan dengan kanker (Vakahangas *et al.*, 1992).

Katzung (1992) menyatakan bahwa kejadian dan jenis penyakit kanker erat hubungannya dengan berbagai faktor antara lain adalah jenis kelamin, usia, ras, dan paparan terhadap beberapa zat yang bersifat karsinogen. Zat yang bersifat

karsinogen ini dapat dibagi dalam beberapa kelompok baik yang sintetik maupun yang berasal dari alam.

Adanya riwayat keluarga yang mengidap kanker, terutama kanker dari satu jenis adalah faktor resiko tertinggi kanker. Kecenderungan genetik untuk karsinogenesis mungkin disebabkan oleh rapuhnya gen-gen regulator, kerentanan terhadap inisiator dan promoter tertentu, kesalahan enzim pengkoreksi, atau gagalnya fungsi sistem imun (Corwin, 2000).

Kanker dapat dibagi menjadi tiga bagian, yaitu karsinoma bila tumor berasal dari jaringan epitel; sarcoma jika berasal dari jaringan fibrous atau jaringan konektif dan pembuluh darah; leukemia dan limfoma yang timbul dalam sel darah dan masih ada jenis kanker lainnya (Aryani, 2003).

### **2.3.2 Deskripsi Kanker Serviks**

Kanker serviks adalah tumor ganas yang tumbuh di daerah leher rahim (serviks). Penyebaran (metastasis) sel kanker dapat melalui pembuluh darah maupun pembuluh getah bening. Sel penyakit kanker dapat berasal dari semua unsur yang membentuk suatu organ, dalam perjalanan selanjutnya tumbuh dan menggandakan diri sehingga membentuk masa tumor (Depkes RI, 2009). Menurut Departemen Kesehatan (2010) kanker leher rahim adalah keganasan yang terjadi pada leher rahim (serviks) yang merupakan bagian terendah dari rahim yang menonjol ke puncak liang senggama (vagina). Kanker biasanya tumbuh secara lambat dan tidak memiliki gejala, namun dapat dideteksi dengan melakukan pemeriksaan *Pap smear*.

Berdasarkan penelitian, kanker serviks merupakan keganasan yang paling banyak ditemukan di Indonesia. Setiap satu jam perempuan Indonesia meninggal dunia karena kanker dalam tiga dasa warsa terakhir. Tingginya angka kematian itu akibat terlambatnya penanganan, sekitar 70% datang dengan kondisi stadium lanjut. Kanker leher rahim biasanya menyerang wanita berusia 35-55 tahun (Prawirohardjo, 2008 dalam Romadhoni, 2012). Sebanyak 90% dari kanker leher rahim berasal dari sel skuamosa yang melapisi serviks dan 10% sisanya berasal dari sel kelenjar penghasil lendir pada saluran servikal yang menuju ke rahim (Hacker, 2000).

Infeksi HPV (*Human Papiloma Virus*) merupakan penyebab utama kanker serviks. Virus ini bersifat spesifik dan hanya akan tumbuh di dalam sel manusia terutama pada epitel mulut rahim atau sel-sel lapisan permukaan. Virus HPV yang paling sering menyebabkan kanker serviks adalah virus HPV tipe 16 dan 18 yang mempunyai peranan penting dalam replikasi virus melalui sekuensi gen E6 dan E7 dengan mengkode pembentukan protein-protein yang penting (Sinta *et al.*, 2010).

### 2.3.3 Patofisiologi Kanker Serviks

Secara seluler, mekanisme terjadinya kanker serviks berhubungan dengan siklus sel yang diekspresikan oleh HPV. Protein utama yang terkait dengan karsinogen adalah E6 dan E7. Bentuk genom HPV serkuler jika terintegrasi akan menjadi linier dan terpotong diantara gen E2 dan E1. Integrasi antara genom HPV dengan DNA manusia menyebabkan gen E2 tidak berfungsi sehingga akan merangsang E6 berikatan dengan p53 dan E7 berikatan dengan pRb (Sinta *et al.*, 2010).

Ikatan antara protein E6 dan gen p53 akan menyebabkan p53 tidak berfungsi sebagai gen supresi tumor yang bekerja di fase G1. Gen p53 akan menghentikan siklus sel di fase G1 dengan tujuan agar sel dapat memperbaiki kerusakan sebelum berlanjut ke fase S. Mekanisme kerja p53 adalah dengan menghambat kompleks cdk-cyclin yang akan merangsang sel memasuki fase selanjutnya. Sehingga jika E6 berikatan dengan p53 maka sel terus bekerja sehingga sel akan terus membelah dan menjadi abnormal (Sinta *et al.*, 2010).

Protein retinoblastoma (pRb) dan gen lain yang menyerupai pRb (p130 dan p107) berfungsi mengontrol ekspresi sel yang diperantai oleh E2F. Ikatan pRb dengan E2F akan menghambat gen yang mengatur sel keluar dari fase G1. Jika protein berikatan dengan protein E7 dari HPV maka E2F tidak terikat sehingga menstimulasi proliferasi sel yang melebihi batas normal sehingga sel tersebut menjadi sel karsinoma (Sinta *et al.*, 2010).

Sel kanker serviks atau disebut juga sel *HeLa* terjadi akibat infeksi Human Papillomavirus (HPV 18) sehingga mempunyai sifat yang berbeda dengan sel serviks normal. Sel kanker serviks yang diinfeksi HPV diketahui mengekspresikan 2 onkogen, yaitu E6 dan E7. Protein E6 dan E7 terbukti dapat menyebabkan sifat imortal pada kultur primer keratinosit manusia, namun sel yang imortal ini tidak bersifat tumorigenik hingga suatu proses genetik terjadi. Jadi, viral onkogen tersebut tidak secara langsung menginduksi pembentukan tumor, tetapi menginduksi serangkaian proses yang pada akhirnya dapat menyebabkan sifat kanker (Goodwin and DiMaio, 2000). Sifat immortal tersebut disebabkan karena kedua viral onkogen tersebut dapat menghambat ekspresi gen

p53 (Prayitno dkk, 2005). Gen p53 adalah gen yang mengendalikan apoptosis (Anggarwal *et al.*, 2003).

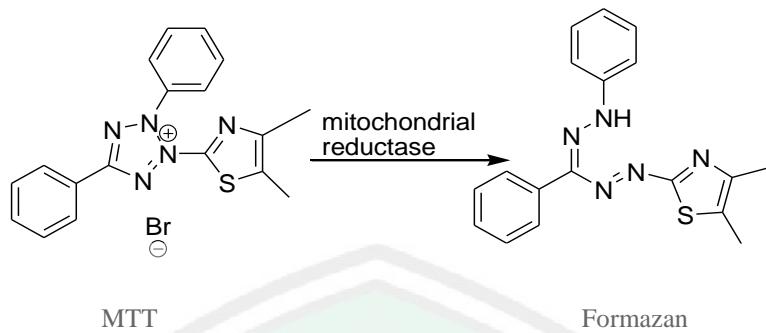
Sel *HeLa* adalah sel yang berasal dari sel-sel kanker serviks yang diambil dari seorang penderita kanker serviks bernama Henrietta Lacks. Sel ini bersifat imortal dan produktif sehingga banyak digunakan dalam penelitian ilmiah (Rahbari *et al.*, 2009; Capes *et al.*, 2010; Watts and Denise, 2010). Sel *HeLa* melakukan proliferasi dengan sangat cepat dibandingkan dengan sel kanker lainnya. Rebecca Skloot's dalam *The Immortal Life of Henrietta Lacks* menjelaskan bahwa sel *HeLa* mempunyai telomerase aktif selama pembelahan sel, sehingga mencegah pemendekan telomere yang menyangkut penuaan dan kematian sel (Sharrer, 2006). Transfer gen horizontal dari human papillomavirus 18 (HPV18) ke sel serviks manusia menghasilkan genom *HeLa* yang berbeda dari genom induk dengan berbagai cara termasuk jumlah kromosomnya (Macville *et al.*, 1999).

Sel kanker serviks yang diinfeksi HPV diketahui mengekspresikan 2 onkogen, yaitu E6 dan E7. Protein E6 dan E7 dari HPV memodulasi protein seluler yang mengatur daur sel. Protein E6 berikatan dengan tumor suppressor protein p53 dan mempercepat degradasi p53 yang diperantara oleh ubiquitin. Protein E6 juga menstimulasi aktivitas enzim telomerase. Sedangkan protein E7 dapat mengikat bentuk aktif terhipofosforilasi dari p105Rb dan anggota lain dari famili Rb. Ikatan ini menyebabkan destabilisasi Rb dan pecahnya kompleks Rb/E2F yang berperan menekan transkripsi gen yang diperlukan untuk cell cycle progression (DeFilippis *et al.*, 2003). Sebagian besar sel kanker serviks, termasuk

sel *HeLa*, mempunyai gen p53 dan p105Rb dalam bentuk *wild type*. Jadi, gen pengatur pertumbuhan yang aktif dalam sel normal ini juga terdapat dalam sel kanker serviks. Namun, aktivitasnya dihambat oleh ekspresi protein E6 dan E7 dari HPV (Goodwin dan DiMaio, 2000).

#### 2.4 Metode MTT

MTT *assay* merupakan metode yang penggunaannya sudah banyak diaplikasikan dalam berbagai bidang. Metode MTT relatif cepat, sensitif, akurat, digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya bisa untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan (Doyle and Griffiths, 2000). Metode ini berdasarkan pada perubahan garam tetrazolium (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida) (MTT) menjadi formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup. Tetrazolium (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida) diabsorbsi ke dalam sel hidup dan dipecah melalui reaksi reduksi oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi mitokondria menjadi formazan yang terlarut dalam SDS 10% berwarna ungu (Doyle and Griffiths, 2000). Konsentrasi formazan yang berwarna ungu dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif (Mosmann, 1983). Semakin besar absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel yang hidup. Reaksi reduksi MTT dapat dilihat pada gambar berikut (Meiyanto, 1999):



Gambar 2.3 Reaksi reduksi MTT menjadi formazan (Meiyanto, 1999)

Uji MTT digunakan untuk menentukan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitory Concentration*). Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel serta menunjukkan suatu senyawa berpotensi sebagai sitostatik. Semakin besar harga  $IC_{50}$  maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Meiyanto dkk, 2009; Padmi, 2008).

## 2.5 Identifikasi Golongan Senyawa Metabolit Sekunder dengan UPLC-MS

Teknik analisis yang dapat digunakan dalam identifikasi metabolit antara lain adalah LC-MS, GC-MS, CE-MS, NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*), dan spektroskopi FT-IR (Lee *et al.*, 2012). Dibandingkan dengan GC-MS, analisis dengan LC-MS lebih fleksibel. Hal ini berkaitan dengan rentang massa yang lebih luas dan memungkinkan untuk mentargetkan beberapa golongan senyawa yang tidak terdeteksi oleh GC-MS. Selain itu, tidak diperlukan derivatisasi yang rumit, dan memungkinkan elusidasi struktur metabolit yang tidak dikenal dengan adanya analisis komposisi komponen dan penentuan massa yang akurat. Diantara

berbagai platform LC yang bervariasi, adanya pengembangan material partikel kolom menyebabkan munculnya teknologi pemisahan kromatografi baru, yaitu *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC) yang memungkinkan pemisahan, resolusi dan sensitivitas yang baik, dan deteksi dengan kecepatan tinggi dengan sampel biologis yang kompleks, seperti obat tradisional. Dengan ditambah *Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry* (QTOFMS), UPLC/QTOFMS digunakan untuk memperoleh profil metabolit yang komprehensif dan *reliable* (Xie *et al.*, 2008).

*Mass spectrometry* (MS) sering digabungkan dengan kromatografi untuk memberikan dimensi lain dari pemisahan sampel dan meningkatkan rasio *signal-to-noise*. Setelah sampel diinjek ke dalam instrumen, sampel akan mengalami pemisahan dalam LC. Selama pemisahan tersebut, sampel kemudian dipaksa oleh tekanan tinggi untuk menuju kolom yang dipacking dengan fase diam. Senyawa yang berbeda dalam larutan sampel terelusi dalam kolom pada waktu yang berbeda. Waktu tertentu dimana senyawa terelusi keluar dari kolom disebut waktu retensi. Waktu retensi senyawa ditentukan oleh kekuatan interaksi dengan fase diam, dan sering mengalami variasi yang besar tergantung pada kondisi penelitian. Karena hanya sejumlah kecil metabolit yang memiliki waktu retensi yang sama atau mirip, maka LC dapat mengurangi kompleksitas sampel dan *background noise* dalam deteksi MS (Zhou, 2011).

Setelah proses elusi dari LC, senyawa menuju ke dalam MS. Pada dasarnya, MS terdiri dari tiga bagian utama, yaitu *ion source*, *mass analyzer*, dan detektor. *Ion source* mengubah senyawa netral dalam sampel menjadi *molecular*

*ions* yang bermuatan. Beberapa contoh *ion source* adalah *electrospray ionization* (ESI), *atmospheric pressure chemical ionization* (APCI), *atmospheric pressure photoionization* (APPI), *fast atom bombardment* (FAB). ESI merupakan metode yang paling banyak digunakan karena dapat mengionisasi metabolit-metabolit dalam cakupan yang luas dengan berbagai berat molekul dan polaritas senyawa. Secara khusus, ESI merupakan pendekatan *soft ionization* yang umumnya membentuk *molecular ions* utuh, sehingga membantu identifikasi awal metabolit (Zhou, 2011).

*Mass analyzer* memisahkan ion-ion berdasarkan harga m/z-nya dengan menggunakan medan listrik atau magnet. Beberapa *mass analyzer* yang umum digunakan adalah *quadrupole*, *ion trap*, *time-of-flight* (TOF), *Orbitrap and Fourier transform ion cyclotron* (FT-ICR). Meskipun resolusi dan akurasinya berbeda secara signifikan, namun prinsip kerjanya sama. Selain itu, lebih dari satu *mass analyzer* sering digunakan dalam MS modern untuk melakukan penelitian *tandem mass spectrometry*, yang sangat diperlukan dalam identifikasi metabolit (Zhou, 2011).

Detektor mengubah kelimpahan ion *mass analyzer* menjadi sinyal listrik melalui perekaman muatan yang diinduksi atau arus yang dihasilkan ketika sebuah ion melewati detektor. Misalkan, detektor *micro channel plate* (MCP) dikombinasi dengan converter *time-to-digital* (TDC) umumnya digunakan untuk TOF *analyzer* (Zhou, 2011).

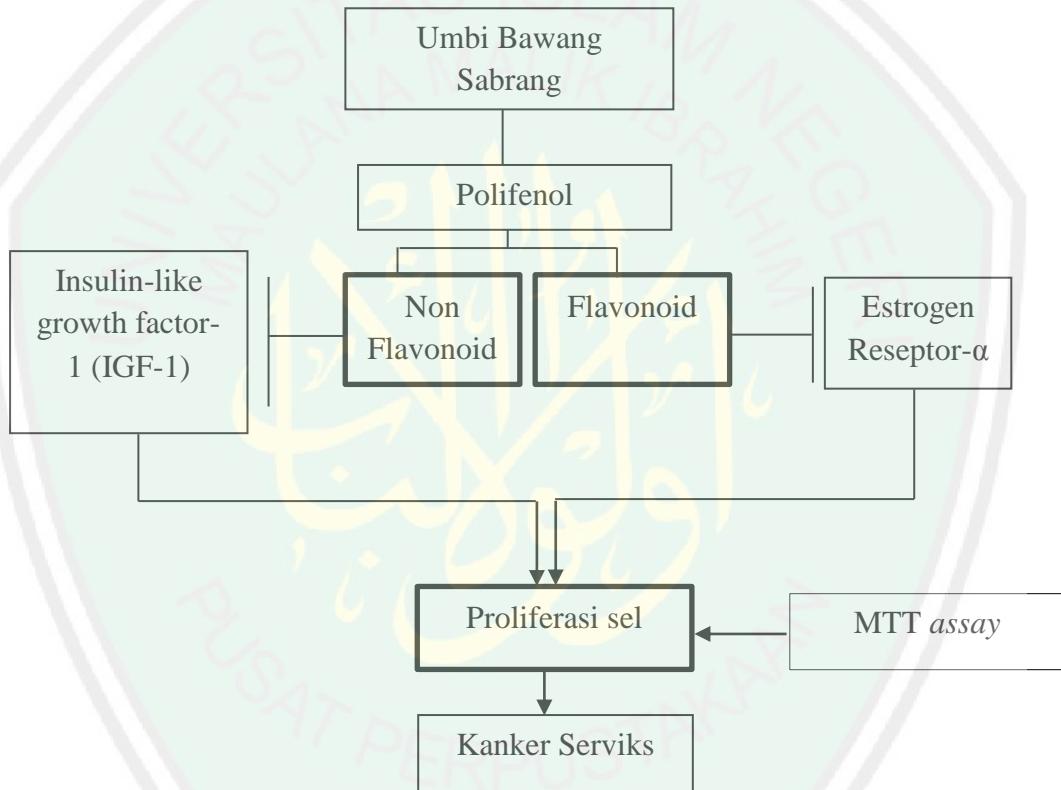
## BAB III

### KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

#### 3.1 Kerangka Konseptual

##### 3.1.1 Bagan Kerangka Konseptual

Adapun kerangka konseptual dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 3.1. Bagan Kerangka Konseptual

Keterangan:

- : tidak diteliti
- : diteliti
- : memicu
- ↓ : menghambat

### 3.1.2 Uraian Kerangka Konseptual

Bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) diketahui mengandung senyawa dari golongan polifenol (Febrinda dkk, 2013). Polifenol dapat dibagi menjadi dua golongan utama yaitu flavonoid dan non flavonoid (Moga *et al.*, 2016).

Berdasarkan hasil penilitian yang dilakukan oleh Virgili *et al.* (2004) menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dapat menghambat pertumbuhan sel kanker serviks dengan aktivitas antiestrogenik. Senyawa flavonoid mempunyai suatu mekanisme antiproliferatif. Kemampuan flavonoid dalam menghambat proliferasi sel dipengaruhi oleh kemampuan flavonoid dalam memodulasi *estrogen reseptor alpha* (Era). Reseptor estrogen adalah salah satu anggota reseptor inti yang memperantara aksi hormon estrogen (17 $\beta$ -estradiol) di dalam tubuh, seperti pertumbuhan, perkembangan, dan homeostasis dari berbagai organ dan jaringan (Nilsson *et al.*, 2001).

Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Vanamala *et al.* (2010) membuktikan bahwa salah satu senyawa golongan non flavonoid yaitu resveratrol mampu menekan ekspresi *Insulin Growth Factor-1* (IGF-1) dan melemahkan jalur Akt/Wnt yang berperan dalam proliferasi sel. Menurut *National Cancer Institute* (2012) mengemukakan bahwa mekanisme yang berhubungan dengan peningkatnya risiko kanker adalah jaringan lemak yang memproduksi banyak hormon estrogen yang berhubungan langsung dengan peningkatan kanker payudara, kanker endometrial dan beberapa kanker lainnya. Orang yang obesitas terjadi peningkatan IGF-1 di dalam darahnya (akibatnya terjadi hiperinsulinemia atau resistensi insulin), dimana berkembang untuk terjadinya tumor. Penentuan

proliferasi sel kanker serviks dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan uji *microtetrazolium* (MTT).

### **3.2 Hipotesis Penelitian**

Berdasarkan kerangka konsep di atas, dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

1. Fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat, dan air bawang sabrang memiliki aktivitas antikanker terhadap sel kanker *HeLa*.
2. Terdapat senyawa aktif dalam umbi bawang sabrang yang dapat menghambat pertumbuhan sel *HeLa*.

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorik dengan membandingkan hasil yang didapatkan setelah perlakuan pada kontrol positif dan kontrol negatif. Desain penelitian menggunakan *post-test only control group design* yaitu perlakuan terhadap semua sampel dilakukan secara bersamaan dan setelah perlakuan dilakukan pengamatan secara bersama-sama pula (Notoatmodjo, 2002).

#### **4.2 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari sampai April 2017, bertempat di:

- a. Laboratorium Kimia Dasar Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- b. Laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- c. Laboratorium Instrumentasi Teknologi Farmasi Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
- d. Laboratorium Protho, Parasitologi Jurusan Kedokteran Umum Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

### 4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

#### 4.3.1 Variabel Penelitian

##### a. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, dan fraksi air umbi bawang sabrang.

##### b. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel kanker serviks *HeLa*.

##### c. Variabel kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah suhu pada saat inkubasi, lingkungan aseptis saat kultur sel.

#### 4.3.2 Definisi Operasional Variabel

- Bawang Sabrang (*Elaeutherine palmifolia*) yang digunakan adalah bagian umbinya dan diperoleh dari Balai Materia Medika Batu, Jawa Timur. Bawang sabrang ditanam di daerah Batu, pada ketinggian ± 800 di atas permukaan laut. Diekstraksi dengan pelarut etanol 96%, difraksinasi dengan pelarut n-heksan, kloroform, etil asetat, dan air.
- Sel Kanker serviks *HeLa* diambil dari koleksi Universitas Gadjah Mada (UGM). Sel *HeLa* adalah sel yang berasal dari sel-sel kanker serviks yang diambil dari seorang penderita kanker serviks bernama Henrietta Lacks. Sel ini bersifat imortal dan produktif sehingga banyak digunakan dalam penelitian ilmiah (Rahbari *et al.*, 2009; Capes *et al.*, 2010; Watts and Denise, 2010).

## 4.4 Alat dan Bahan Penelitian

### 4.4.1 Alat

Alat-alat utama yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya *moisture analyzer*, *rotary evaporator*, *96-well plate*, *ELISA reader*, Instrumen *Ultra Performance Liquid Chromatography- Mass Spectrometry* (UPLC-MS) yaitu A Waters ACQUITY UPLC (Waters) yang ditandom dengan MS tandem *quadropole system* dengan kondisi sebagai berikut:

Kolom : Acquity UPLC HSS C18 1.8  $\mu\text{m}$ , 2.1x50 mm

Fase gerak : Campuran dari 0.1% asam formiat dalam air dan 0.1% asam formiat dalam asetonitril

Mode : Positif

Source : ESI

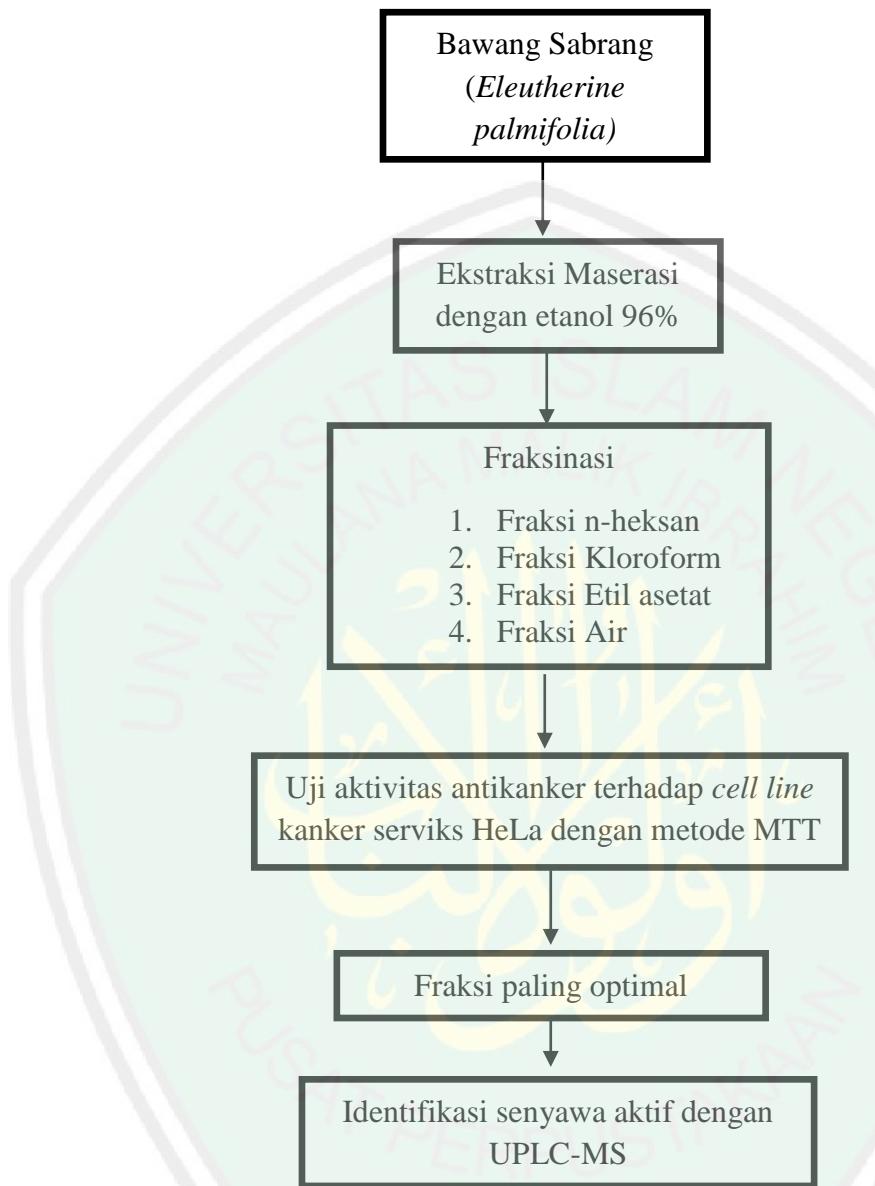
Volume injek : 5  $\mu\text{L}$

Semua analisis dilakukan dengan menggunakan MassLynx software version 4.1.

### 4.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi Bawang Sabrang yang diambil dari *Materia Medica* Batu, etanol 96 %, aquades, n-heksana, kloroform, etil asetat, phospat buffer saline 1x, media kultur DMEM, DMSO, MTT 5 mg/mL PBS (50 mg MTT dan 10 mL PBS), SDS 10 % dalam 0,1 N HCl, tissue makan, dan aluminium foil.

#### 4.5 Skema Kerja Penelitian



Gambar 4.5 Bagan Skema Kerja Penelitian

## 4.6 Prosedur Penelitian

### 4.6.1 Determinasi Tumbuhan

Determinasi tumbuhan dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi.

### 4.6.2 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah bagian umbi dari bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*). Umbi bawang sabrang kemudian dicuci, dipotong kecil-kecil, dan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 30 – 37 °C selama ± 5 jam. Selanjutnya umbi diblender hingga terbentuk serbuk, diayak dengan ayakan ukuran 60 mesh agar diperoleh serbuk yang kecil-kecil dan seragam. Serbuk halus yang diperoleh dianalisis kadar air, diekstraksi maserasi dan difraksinasi.

### 4.6.3 Analisis Kadar Air Serbuk Simplisia Umbi Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia*)

Analisis kadar air dalam serbuk simplisia digunakan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam bahan. Serbuk simplisia diukur kadar airnya menggunakan *Moisture Analyzer*. Setelah alat *Moisture Analyzer* dinyalakan dan layar menunjukkan tampilan 0,000 g, penutup alat dibuka dan *sample pan* kosong dimasukkan ke dalam *sample pan handler*. Penutup alat diturunkan dan secara otomatis alat akan menara atau menunjukkan tampilan 0,000 pada layar. Kemudian sejumlah ± 0,500 gram

serbuk simplisia dimasukkan ke dalam *sample pan* dan penutup alat diturunkan. Secara otomatis, alat akan memulai pengukuran hingga terbaca hasil pengukuran %MC pada layar.

Untuk proses ini kadar air yang dimiliki dalam simplisia harus di bawah 10% (Menteri Kesehatan RI, 1994). Proses di atas dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

#### 4.6.4 Ekstraksi Maserasi Umbi Bawang Sabrang (*Eleutherin palmifolia*)

Ekstraksi golongan senyawa aktif dari umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) dilakukan dengan cara ekstraksi ultrasonik yaitu dengan cara serbuk simplisia umbi bawang sabrang ditambahkan pelarut etanol dengan perbandingan 1:10 (b:v) (Yuswi, 2017). Pemilihan pelarut etanol 96 % karena lebih mudah dalam melarutkan semua zat yang bersifat polar, semipolar, dan non polar (Indradmojo, 2016).

Serbuk umbi bawang sabrang ditimbang sebanyak 350 gram yang kemudian dibagi masing-masing 50 gram. Sebanyak 50 gram sampel dimasukkan dalam labu erlenmeyer, kemudian ditambah pelarut etanol 96% sesuai dengan rasio bahan. Diekstraksi dengan *ultrasonic bath* frekuensi 40 kHz selama 2 menit dan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Kemudian disaring dengan kertas saring halus sehingga diperoleh filtrat yang bebas ampas. Selanjutnya dilakukan perlakuan yang sama terhadap jumlah sampel sebanyak 350 gram. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan untuk selanjutnya dipekarkan. Pemekatan ekstrak

dilakukan pada suhu dan tekanan rendah menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

#### 4.6.5 Fraksinasi Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia*)

Fraksinasi dilakukan dengan cara ekstrak pekat etanol umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) dilarutkan dalam air, disaring kemudian difraksinasi dengan n-heksana dalam corong pisah dengan perbandingan 1:1, dikocok secukupnya. Dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan n-heksana dan lapisan air. Perlakuan ini dilakukan beberapa kali pengulangan sampai lapisan n-heksana terlihat jernih sehingga diperoleh fraksi n-heksana. Perlakuan untuk lapisan air ini dilakukan seperti perlakuan di atas dengan beberapa kali pengulangan fraksinasi menggunakan pelarut kloroform, etil asetat, perbandingan 1:1. Hasil fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat, dan air diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan fraksi kental. Selanjutnya masing-masing fraksi pekat ditimbang sampai diperoleh berat konstan untuk meyakinkan bahwa pelarut telah menguap dan didiamkan selama  $\pm$  2 hari dengan ditutup *aluminium foil* yang dilubangi.

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

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

#### **4.6.6 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT (*Microtetrazolium*) (CCRC, 2009; Ilhamy, dkk, 2013)**

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

##### **4.6.6.1 Penyiapan Sel**

Sel kanker serviks *HeLa* diambil dari koleksi Universitas Gadjah Mada (UGM). Sel kanker dikeluarkan dari *freezer* (-80 °C), dihangatkan dalam penangas air pada suhu 37 °C selama 2 – 3 menit. Setelah mencair, sel dipindahkan ke dalam *conical tube* yang telah berisi 10 ml media DMEM, diinkubasi selama 3 – 4 jam pada suhu 37 °C/ 5% CO<sub>2</sub>, kemudian disentrifugasi untuk memisahkan sel kanker (pelet) dengan media DMEM. Pelet yang terbentuk diamati dibawah mikroskop untuk melihat apakah sel melekat di dasar *culture dish* dan bila jumlah sel di dalam *culture dish* mencapai 70 – 85 % (konfluen), dilakukan panen sel.

Tahapan panen sel yakni, dicuci sel 2 kali dengan PBS, ditambahkan trispsin-EDTA secara merata dan diinkubasi selama 3 menit, ditambahkan media DMEM 5 mL untuk menginaktifkan sel serta dilakukan resuspensi, diamati dibawah mikroskop *inverted*, kemudian diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> selama 24 jam.

#### **4.6.6.2 Penghitungan Sel Kanker**

Diambil 10 µL panenan sel dan dipipetkan ke *hemacytometer*. Diamati dan dihitung dibawah mikroskop inverted dengan *counter*. Jumlah sel kanker dapat diketahui dengan perhitungan sebagai berikut :

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

#### **4.6.6.3 Peletakan Sel pada *Plate 96-well***

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

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

Diletakkan sel dan ditambahkan media DMEM sesuai perhitungan ke dalam *plate 96-well* dan diinkubasi kembali selama 24 jam dalam inkubator CO<sub>2</sub>.

#### **4.6.6.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada Plate 96-well**

Ditimbang masing-masing sampel fraksi yakni fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etil asetat, dan fraksi air, serta cisplatin yang digunakan sebagai kontrol positif sebanyak 10 mg dalam wadah yang berbeda, dilarutkan masing-masing ekstrak pekat dalam 100  $\mu$ L DMSO dan diaduk dengan vortex agar lebih cepat dalam melarutkan sampel, diambil sel dari inkubator, kemudian dibuang media sel dengan cara dibalikkan *plate* 96-well 180° diatas tempat buangan dan ditekan secara perlahan diatas tissue untuk meniriskan sisa cairan, dimasukkan 100  $\mu$ L PBS kedalam semua sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali, lalu dimasukkan larutan sampel sebanyak 100  $\mu$ L dengan konsentrasi 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125; 3,906 ppm dan diulang sebanyak tiga kali (triplo), diinkubasi kembali selama 24 jam.

#### **4.6.6.5 Pemberian Larutan MTT**

Dibuang media sel dan dicuci dengan PBS, ditambahkan larutan MTT 100  $\mu$ L ke setiap sumuran kecuali kontrol sel. Inkubasi kembali selama 3 – 4 jam di dalam inkubator (sampai terbentuk formazan). Apabila formazan telah terbentuk diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted*, lalu ditambahkan *stopper* SDS 10% dalam 0,1 N HCl, dibungkus *plate* dengan kertas tertutup dan diinkubasi kembali di tempat gelap (suhu ruangan) semalam.

Langkah selanjutnya yakni pembacaan nilai absorbansi dengan ELISA *reader* untuk mengetahui nilai IC<sub>50</sub> setiap fraksi. Tahapan awalnya ini dihidupkan

ELISA *reader* dan ditunggu hingga *progressing* selesai, dibuka pembungkus *plate* kemudian dimasukkan ke ELISA *reader*, dibaca absorbansi masing-masing sumuran dengan panjang gelombang 550 – 600 nm, dimatikan kembali ELISA *reader*. Dengan menggunakan data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran, dapat ditentukan persentase sel yang terhambat dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Dari hasil persentase sel hidup kemudian dimasukkan ke dalam aplikasi SPSS di analisis menggunakan *probit analysis* dicari nilai IC<sub>50</sub> dari masing-masing fraksi. Fraksi yang mempunyai potensi aktifitas antikanker yang paling optimum selanjutnya diidentifikasi senyawa metabolit sekunder dengan instrumen UPLC-MS. Kemudian dilakukan analisis data.

#### 4.7 Analisis Statistika

Hasil pengukuran dianalisis secara statistik dengan menggunakan program SPSS 16,0 for Windows 7. Dilakukan uji *probit analysis* untuk mendapatkan nilai IC<sub>50</sub>. Menurut National Cancer Institute (NCI) dalam Rahmawati (2013) suatu ekstrak dinyatakan aktif memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki nilai IC<sub>50</sub> < 30 µg/ml, moderat aktif apabila memiliki nilai IC<sub>50</sub> ≥ 30 µg/ml dan IC<sub>50</sub> < 100 µg/ml, dan dikatakan tidak aktif apabila nilai IC<sub>50</sub> > 100 µg/ml.

## **BAB V**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh fraksi n-heksan, kloroform, etil asetat, dan air dari umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) terhadap viabilitas sel kanker serviks *HeLa*. Penelitian ini dilakukan dalam lima tahap yaitu preparasi sampel, analisis kadar air umbi bawang sabrang, ekstraksi maserasi dan fraksinasi umbi bawang sabrang, uji antikanker dengan metode MTT, serta identifikasi senyawa aktif dari fraksi yang paling aktif terhadap *cell line* kanker serviks *HeLa* menggunakan instrumentasi *Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (UPLC-MS).

#### **5.1 Preparasi Sampel**

Penelitian ini menggunakan sampel yaitu umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*). Determinasi tumbuhan bawang sabrang bertujuan untuk membuktikan bahwa tanaman yang dilakukan dalam penelitian memang benar tanaman yang dimaksud yaitu *Eleutherine palmifolia*. Bagian tanaman yang digunakan untuk determinasi adalah seluruh bagian tanaman dari bawang sabrang. Hasil determinasi dibuktikan dengan surat keterangan yang dikeluarkan dari unit determinasi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Purwodadi dengan nomor No.0065/IPH.6/HM/I/2017 yang menyatakan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan *Eleutherine palmifolia* (Lampiran5).

Tahap selanjutnya adalah dilakukan pencucian, pengeringan, dan penyerbukan. Pencucian ini dilakukan untuk menghilangkan kotoran berupa tanah yang menempel pada umbi bawang sabrang. Pengeringan dilakukan untuk mengeringkan dan menghilangkan kadar air dalam sampel. Selanjutnya dilakukan penyerbukan dengan menggunakan blender. Perlakuan ini bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan sehingga mempermudah pada saat ekstraksi. Serbuk yang diperoleh kemudian diayak dengan ayakan 60 mesh untuk menyeragamkan ukuran. Hasil yang diperoleh kemudian disebut sebagai sampel umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*). Pada penelitian ini sampel yang dipreparasi sebanyak 370 gram. Selanjutnya serbuk yang telah diperoleh dilakukan analisis kadar air.

## 5.2 Analisa Kadar Air

Simplisia yang telah mengalami proses pengeringan dan penyerbukan perlu dilakukan penetapan kadar air serbuk untuk mengetahui kandungan air yang terdapat dalam serbuk simplisia yang telah dikeringkan. Kandungan air yang tinggi dalam simplisia dapat menjadi media pertumbuhan kapang dan jamur. Selain itu, kandungan air yang tinggi juga dapat terjadi reaksi enzimatik yang mampu menguraikan zat aktif pada simplisia (Salamah dan Widyasari, 2015). Standar kadar air dari simplisia adalah kurang dari 10% (Menteri Kesehatan RI, 1994).

Analisa kadar air dilakukan pada sampel kering umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) yang telah dipreparasi. Penetapan kadar air dilakukan

dengan menggunakan alat *Moisture Analyzer*. Prinsip kerja dari alat *Moisture Analyzer* berdasarkan gravimetri. Pada penelitian ini, untuk dapat diperoleh nilai %MC dari sampel dibutuhkan waktu sekitar tiga menit dan dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Sampel yang dimasukkan dalam *sample pan* sebanyak ±0,500 gram.

Berdasarkan pengukuran kadar air sampel kering umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) yakni sebesar 7,37% (Lampiran 3) diketahui bahwa kadar air yang diperoleh menghasilkan nilai di bawah rentang maksimal yang ditetapkan. Semakin kecil kadar air suatu sampel, maka semakin mudah pelarut untuk mengekstrak komponen senyawa aktif, sehingga akan diperoleh rendemen semakin besar. Sampel yang telah dihilangkan kadar airnya cenderung mudah menyerap air sehingga perlu disimpan dalam tempat yang kedap udara (Kumala, 2007).

### 5.3 Ekstraksi Maserasi dan Fraksinasi Umbi Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia*)

Pada tahap ini dilakukan ekstraksi umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) dengan tujuan untuk mendapatkan ekstrak dari umbi bawang sabrang. Ekstraksi merupakan metode pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutan terhadap dua cairan yang tidak saling larut (Khopkar, 2008).

Pemilihan metode ekstraksi sangat penting dilakukan karena hasil ekstraksi akan mencerminkan tingkat keberhasilan metode tersebut. Metode konvensional memiliki kekurangan karena membutuhkan waktu ekstraksi yang

lama, membutuhkan banyak pelarut serta hasil ekstrak yang didapatkan kurang maksimal (Handayani dkk, 2016). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi dengan menggunakan ultrasonik. Metode ultrasonik atau yang biasa dikenal dengan *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) merupakan teknik ekstraksi yang cepat, lebih sedikit mengkonsumsi energi, dan memungkinkan pengurangan pelarut, sehingga menghasilkan produk yang murni (Ardianti dkk, 2014). Metode ultrasonik menggunakan gelombang ultrasonik yaitu gelombang akustik dengan frekuensi lebih besar dari 16-20 kHz (Handayani dkk, 2016).

Hasil ekstrak pekat ditunjukkan pada tabel 5.1 dengan perhitungan rendemen pada Lampiran 4.

Tabel 5.1 Hasil maserasi ekstrak etanol 96% umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*)

Pelarut	Serbuk + pelarut yang digunakan	Warna ekstrak pekat	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%) (b/b)
Etanol 96%	350 gram + 3500 mL	Coklat pekat	27,7208	7,920

Menurut Warsono dkk (2013) rendemen digunakan sebagai salah satu parameter untuk mengetahui seberapa besar produk yang dihasilkan dari proses produksi, yang dinyatakan dengan perbandingan antara jumlah produk yang dihasilkan dengan jumlah bahan yang digunakan. Nilai rendemen ekstrak etanol pekat umbi bawang sabrang dalam penelitian ini adalah 7,920%.

Setelah diperoleh ekstrak pekat kemudian dilakukan proses selanjutnya yaitu fraksinasi. Fraksinasi merupakan proses pemisahan antara zat cair dengan zat cair. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari non polar, semi polar, dan polar. Senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar dan yang bersifat polar akan larut kedalam pelarut polar (Harborne, 1987). Proses fraksinasi ini dilakukan dengan menggunakan corong pisah. Pada fraksinasi ini pelarut yang memiliki massa jenis lebih tinggi akan berada di lapisan bawah, dan yang memiliki massa jenis lebih kecil akan berada di lapisan atas. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak akan terpisah sesuai dengan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan.

Fraksinasi pertama adalah antara filtrat air ekstrak etanol dengan pelarut n-heksan perbandingan 1:1 dan terbentuk dua lapisan yaitu lapisan atas fraksi n-heksan dan lapisan bawah fraksi air. Perbedaan massa jenis pelarut menyebabkan fraksi n-heksan berada di atas karena massa jenis n-heksan (0,655 g/ml) lebih kecil daripada massa jenis air (1 g/ml). Fraksinasi kedua antara fraksi air dengan pelarut kloroform terbentuk dua fase yaitu fase atas fraksi air dan fase bawah fraksi kloroform. Fraksi kloroform berada di bawah karena kloroform memiliki massa jenis (1,498 g/mL) lebih besar daripada massa jenis air. Pada fraksinasi terakhir antara fraksi air dengan pelarut etil asetat perbandingan (1:1) terbentuk dua lapisan yaitu lapisan atas fraksi etil asetat dan lapisan bawah fraksi air. Fraksi etil asetat berada di atas karena etil asetat mempunyai massa jenis 0,894 g/mL lebih kecil daripada massa jenis air. Hasil fraksinasi ditunjukkan pada tabel 5.2 dengan perhitungan rendemen pada Lampiran 4.

Tabel 5.2 Hasil fraksinasi dan rendemen masing-masing fraksi

Pelarut	Serbuk + pelarut yang digunakan	Perubahan Warna Filtrat	Warna ekstrak	Berat ekstrak pekat	Rendemen (%) (b/b)
Air	21,1 gram + 50 mL	Merah tua sampai merah kecoklatan	Coklat kehitaman	15,119 gram	5,832%
N-heksan	200 mL	Merah pekat sampai kuning keorangean	Coklat kekuningan	3,18 gram	1,1936%
Kloroform	200 mL	Kuning keorangean sampai kuning bening	Kuning	1,1244 gram	0,496%
Etil asetat	200 mL	Merah tua sampai merah bening	Coklat kemerahan	0,5707 gram	0,226%

#### 5.4 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT (*Microtетrazolium*)

Masing-masing fraksi dilakukan uji sitotoksik secara *in vitro* dengan menggunakan metode MTT. Uji sitotoksik bertujuan untuk mengetahui ketoksikan suatu senyawa dengan melihat penurunan viabilitas sel. Metode MTT

merupakan metode kolorimetrik yang didasarkan pada perubahan garam tetrazolium [*3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide*] (MTT) menjadi formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup (Doyle and Griffiths, 2000). MTT akan dipecah menjadi formazan yang berwarna ungu. Jumlah kristal formazan yang terbentuk berkorelasi dengan viabilitas sel.

Uji dilakukan terhadap sel kanker serviks *HeLa*. Kultur sel *HeLa* atau *HeLa cell line* merupakan *continuous cell line* yang diturunkan dari sel epitel kanker leher rahim seorang wanita bernama Henrietta Lacks yang meninggal akibat kanker pada tahun 1951. Kultur sel ini memiliki sifat semi melekat dan digunakan sebagai model sel kanker dan untuk mempelajari sinyal transduksi seluler (Anggrianti, 2008). Sel *HeLa* merupakan sel manusia yang umum digunakan untuk kepentingan kultur sel.

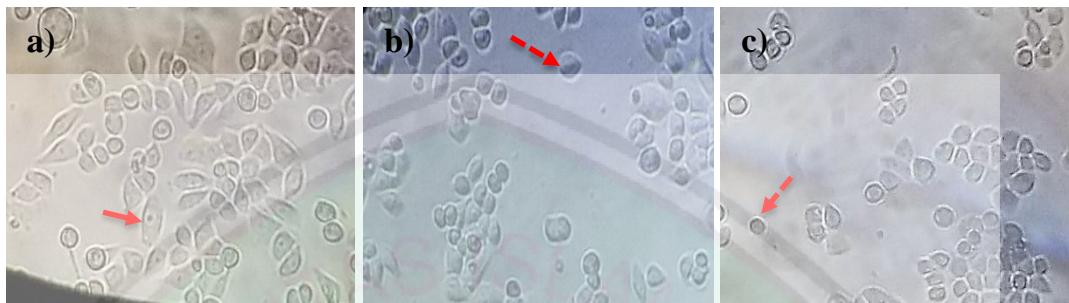
Sel *HeLa* dapat tumbuh dengan agresif dalam media kultur. Kultur sel adalah teknik yang biasa digunakan untuk mengembangkan sel di luar tubuh (*in vitro*). Keuntungan penggunaan kultur sel adalah lingkungan tempat hidup sel dapat dikontrol dan diatur sehingga kondisi fisiologis dari kultur relatif konstan (Winarno, 2011). Sel *HeLa* ditumbuhkan dalam media DMEM 1640. Medium tersebut merupakan modifikasi dari *Basal Medium Eagle* (BME) yang mengandung konsentrasi asam amino dan vitamin empat kali lipat lebih banyak. Asam amino dan vitamin yang ditambahkan dalam media berfungsi sebagai suplemen tambahan. Kadar glukosa yang tinggi pada media DMEM sesuai digunakan untuk sel tumor yang memungkinkan pertumbuhan sel lebih cepat (Yang and Xiong, 2012). Media DMEM mengandung 10% v/v Fetal Bovine

Serum (FBS). FBS merupakan suplemen peningkat pertumbuhan yang efektif untuk sel kanker karena kompleksitas dan banyaknya faktor pertumbuhan, perlindungan sel dan faktor nutrisi yang dikandungnya (Winarno, 2011). Media DMEM juga mengandung penisillin-streptomisin  $100 \mu\text{g/mL}$  yang merupakan antibiotik yang tidak bersifat toksik dan digunakan untuk menghindari adanya kontaminasi. Selanjutnya sel diinkubasi dalam inkubator  $\text{CO}_2$  pada suhu  $37^\circ\text{C}$  dengan aliran 5%  $\text{CO}_2$  (Maruti dkk, 2011).

Pada penelitian ini jumlah sel kanker dalam suspensi yang digunakan dalam kultur adalah  $150 \times 10^4$  sel/mL. Jumlah sel tersebut merupakan hasil perhitungan menggunakan *hemocytometer*. Berdasarkan perhitungan tersebut diambil sel sebanyak  $700 \mu\text{L}$  kemudian ditambah media kultur ad 10 ml. Sel sebanyak  $10^4$  sel/sumuran ditanam ke 96 *well plate*. Diletakkan sel dan media DMEM sesuai perhitungan kedalam plate 96-well. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam.

Sebanyak 1 mg fraksi (n-heksan, kloroform, etil asetat, dan air) dilarutkan dalam  $100 \mu\text{L}$  *Dimetil sulfoksida* (DMSO). DMSO digunakan sebagai *buffer agar* fraksi dapat larut dengan baik. Larutan tersebut digunakan sebagai stok. Selanjutnya fraksi dibuat dengan seri dosis 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125; dan 3,90625 ppm. Serta dibuat seri konsentrasi cisplatin yaitu 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; dan 1,5625 ppm sebagai kontrol positif, dan diulang sebanyak 3x (triplo). Hal ini bertujuan untuk mengetahui signifikan peningkatan dosis konsumsi dengan efek peningkatan proliferasi sel yang dihasilkan.

Setelah inkubasi 24 jam, sel diamati kemudian siap untuk dilakukan *treatment* menggunakan larutan uji yaitu fraksi n-heksan, fraksi kloroform, fraksi



etil asetat, fraksi air, dan cisplatin. Kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam.

Setelah diinkubasi, sel diamati dibawah mikroskop *inverted*.

Gambar 5.1 Sel *HeLa* ; a) kontrol sel, b) perlakuan fraksi etil asetat konsentrasi  $125 \mu\text{g/mL}$  , c) perlakuan cisplatin konsentrasi  $100 \mu\text{g/mL}$ . : Sel hidup : Sel mati

Dari gambar di atas terdapat perbedaan antara kontrol sel dengan perlakuan sampel fraksi etil asetat konsentrasi  $125 \mu\text{g/mL}$  dan cisplatin konsentrasi  $100 \mu\text{g/mL}$ . Sel *HeLa* yang hidup normal berbentuk poligonal (Hutomo dkk, 2016). Pada kelompok kontrol sel *HeLa* berbentuk poligonal dengan inti sel yang tampak jelas. Kelompok perlakuan fraksi etil asetat  $125 \mu\text{g/mL}$  dan kelompok perlakuan cisplatin  $100 \mu\text{g/mL}$  mempengaruhi perubahan morfologi sel menjadi lebih bulat dan kepadatan sel menjadi lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Menurut Hutomo dkk (2016) perubahan morfologi sel *HeLa* ditandai dengan sel yang mengalami pengkerutan (*shrinkage*) dan hilangnya kontak dengan sel-sel disekitarnya. Sel tampak berukuran lebih kecil dikarenakan sebagian proscessus sitoplasma menghilang. Rasio sitoplasma juga

berkurang. Kerusakan seluler ditandai dengan perubahan morfologi sel menjadi bulat.

Pada akhir inkubasi sel *HeLa*, sumuran ditambahkan dengan 100 µL MTT. Selanjutnya plate diinkubasi selama 4 jam hingga terbentuk kristal formazan. Setelah inkubasi selama 4 jam, sel diamati dengan mikroskop, reaksi MTT dihentikan dengan penambahan reagen *stopper Sodium Dodesil Sulfat (SDS)*. SDS digunakan sebagai detergen yang dapat melisiskan membran sel dan mendenaturasi protein (Maulana dkk, 2010). Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar dan ditutup dengan kertas tertutup. Intensitas absorbansi warna ungu yang terbentuk dibaca menggunakan ELISA *reader* dengan panjang gelombang 595 nm. Data yang diperoleh berupa absorbansi selanjutnya dikonversikan ke dalam % viabilitas sel hidup pada Lampiran 4.

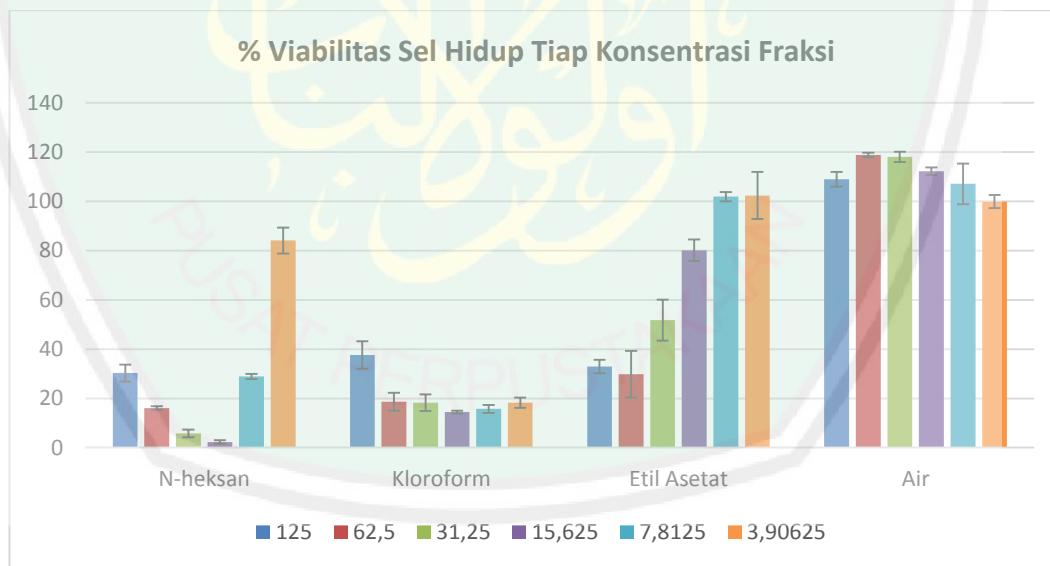
Tabel 5.3 % Viabilitas sel hidup pada tiap konsentrasi

Konsentrasi (µg/mL)	Persen Viabilitas Sel Hidup (%) ± SD			
	N-heksan ± SD	Kloroform ± SD	Etil asetat ± SD	Air ± SD
125	30,2891 ± 3,4040	37,5723 ± 5,5635	32,948 ± 2,6939	100 ± 0
	16,0694 ± 0,7219	18,6128 ± 3,6704	29,8266 ± 9,6484	100 ± 0
62,5	5,7804 ± 1,5893	18,266 ± 3,3446	51,7919 ± 8,3260	100 ± 0
	2,3122 ± 0,6936	14,4509 ± 0,6007	80,1155 ± 4,3364	100 ± 0
31,25	28,9018 ± 1,0595	15,7226 ± 1,6390	99,9229 ± 0,13356	99,4605 ± 0,9345
	84,0462 ± 5,2521	18,266 ± 2,1096	97,6108 ± 4,13829	98,9209 ± 0,99679

Tabel 5.4 % Viabilitas sel hidup perlakuan cisplatin pada berbagai konsentrasi

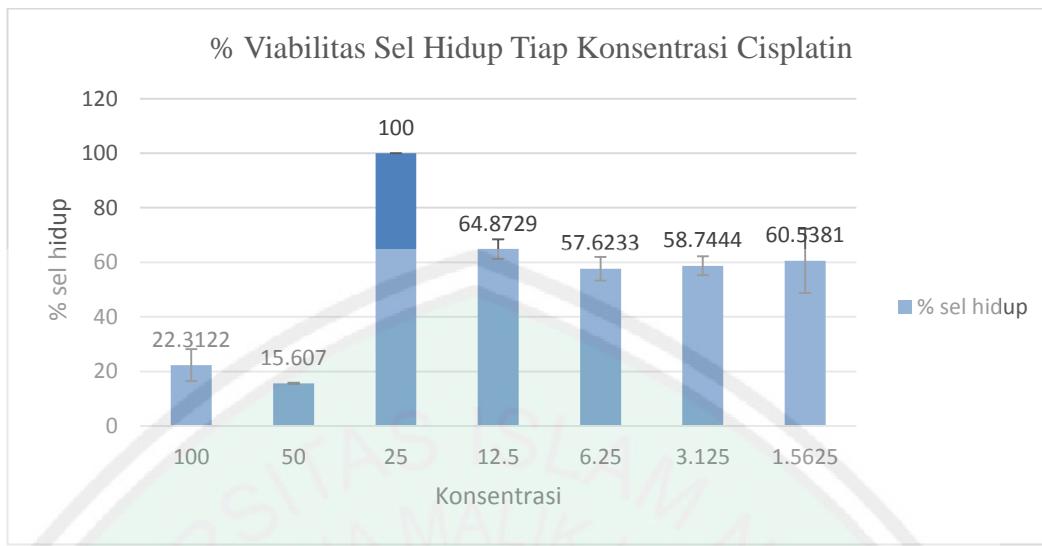
Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Persen Viabilitas Sel Hidup (%) $\pm$ SD
100	$22,3122 \pm 5,89934$
50	$15,607 \pm 0,20024$
25	$100 \pm 0$
12,5	$64,8729 \pm 3,56166$
6,25	$57,6233 \pm 4,36501$
3,125	$58,7444 \pm 3,45175$
1,5625	$60,5381 \pm 11,7857$

Dari tabel 5.3 dapat dibuat grafik % viabilitas sel hidup pada tiap konsentrasi larutan uji terhadap sel uji.



Gambar 5.2 Grafik nilai % viabilitas sel hidup tiap konsentrasi fraksi

Dari tabel 5.4 dapat dibuat grafik % viabilitas sel hidup pada tiap konsentrasi cisplatin terhadap sel uji.



Gambar 5.3 Grafik nilai % viabilitas sel hidup tiap konsentrasi cisplatin

Hasil % viabilitas masing-masing sampel yang telah diperoleh kemudian dianalisis menggunakan analisis probit SPSS. Analisis probit digunakan untuk mendapatkan nilai  $IC_{50}$  dari masing-masing sampel. Nilai  $IC_{50}$  dari masing-masing sampel terhadap sel kanker serviks *HeLa* adalah ditunjukkan pada tabel 5.5 dan Lampiran 4.

Tabel 5.5 Nilai  $IC_{50}$  sampel terhadap sel kanker serviks *HeLa* dengan analisis probit.

Sampel Uji	Nilai $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ ) $\pm$ SD
Fraksi n-heksan	$250,774 \pm 19,012$
Fraksi kloroform	$720,459 \pm 429,383$
Fraksi etil asetat	$44,335 \pm 9,451$
Fraksi air	$>1000$
Cisplatin	$19,769 \pm 7,158$

Hasil nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel dari fraksi etil asetat dan cisplatin memiliki nilai  $IC_{50}$  terendah.  $IC_{50}$  dari fraksi etil asetat adalah 44,335  $\mu\text{g/mL}$  dan cisplatin sebagai kontrol positif adalah 19,769  $\mu\text{g/mL}$ . Nilai  $IC_{50}$  suatu ekstrak yang diperoleh di bawah 100 mengindikasikan adanya potensi untuk dijadikan sebagai agen kemopreventif (Suzery dan Cahyono, 2014; Meiyanto dkk, 2008). Sehingga fraksi etil asetat dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai agen kemopreventif. Sedangkan berdasarkan ketetapan NCI (*National Cancer Institut*) (NCI, 2001 dalam Rahmawati, 2013) bahwa suatu ekstrak dinyatakan aktif memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki nilai  $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$ , moderat aktif apabila memiliki nilai  $IC_{50} \geq 30 \mu\text{g/mL}$  dan  $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ , dan dikatakan tidak aktif apabila nilai  $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ . Berdasarkan hasil di atas dapat diketahui bahwa fraksi etil asetat umbi bawang sabrang termasuk kategori moderat aktif, sedangkan sampel fraksi n-heksan, kloroform dan air umbi bawang sabrang dikatakan tidak aktif atau tidak memiliki aktivitas antikanker. Fraksi air umbi bawang sabrang memiliki % viabilitas 100 sehingga nilai tidak diperoleh nilai  $IC_{50}$ . Hal tersebut menandakan bahwa fraksi air umbi bawang sabrang tidak memiliki aktivitas antikanker terhadap *cell line* kanker serviks *HeLa*.

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Fitri *et al.* (2014) menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat umbi bawang sabrang dapat menghambat siklus sel kanker payudara T47D dengan  $IC_{50}$  sebesar 147,124  $\mu\text{g/ml}$  dan apoptosis sel pada fase G1-G2 sebesar 40,88%. Serupa dengan hal itu, Listiyana dkk (2016) membuktikan bahwa ekstrak etanolik bawang sabrang mampu

menghambat pertumbuhan sel kanker serviks *HeLa* dengan  $IC_{50}$  40,36  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh dengan penelitian Listiyana dkk (2016) menunjukkan hasil yang tidak berbeda jauh. Sedangkan jika dibandingkan dengan kontrol positif yaitu obat cisplatin maka nilai  $IC_{50}$  dari fraksi etil asetat masih jauh dibandingkan dengan kontrol obat cisplatin. Hal ini dikarenakan kemampuan cisplatin dalam menginduksi sitotoksitas dengan mengganggu proses transkripsi dan replikasi DNA (Dipiro *et al.*, 2008), sehingga kemampuan cisplatin lebih spesifik dalam mengganggu proses terjadi sel kanker. Tetapi dengan mekanisme mengganggu transkripsi dan replikasi DNA ini cisplatin juga dapat mengganggu pertumbuhan sel normal. Sementara itu dibandingkan dengan penelitian Fitri *et al.* (2014) yang menggunakan pelarut etil asetat pada sel kanker payudara T47D nilai  $IC_{50}$  pada penelitian ini jauh lebih rendah.

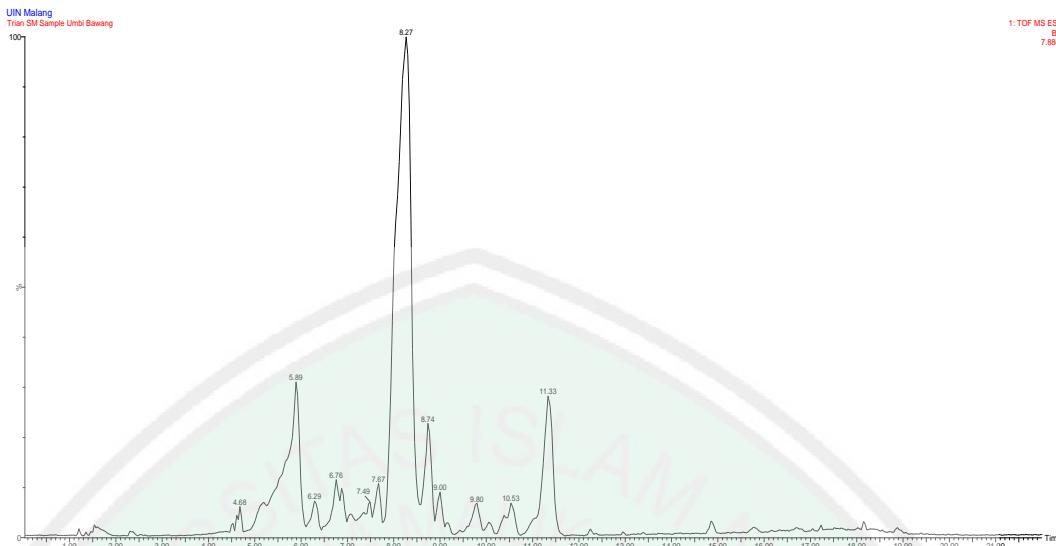
Dari hasil uji aktivitas antikanker yang mempunyai potensi sitotoksik terhadap *cell line* kanker serviks *HeLa* dilihat dari nilai  $IC_{50}$  yang paling kecil sehingga diambil fraksi etil asetat dengan nilai  $IC_{50}$  44,335  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Selanjutnya fraksi etil asetat umbi bawang sabrang dilakukan identifikasi senyawa aktif dengan menggunakan instrumen *High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (UPLC-MS).

#### **5.4 Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan UPLC-MS**

Fraksi yang telah diketahui memiliki aktivitas antikanker terhadap *cell line* kanker serviks *HeLa* paling optimal yaitu fraksi etil asetat kemudian dilakukan analisis kandungan senyawanya menggunakan UPLC-MS. LC-MS adalah teknik

analisis kimia yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dari *Liquid Chromatography* (LC) dengan kemampuan analisis massa dari *Mass Spectrometry* (MS). Pemisahan senyawa terjadi pada sistem *Liquid Chromatography* (LC) menggunakan fase gerak berupa cairan yang terikat secara halus (fase diam) dan berupa cairan (fase gerak) yang dipaksa mengalir dengan laju terkendali menggunakan tekanan tinggi. Setelah terjadi pemisahan, senyawa dalam larutan diubah menjadi gas dan dideteksi oleh detektor spektrometri massa (Cahyadi, 2013).

Identifikasi senyawa aktif dilakukan dengan menggunakan instrumen UPLCMS tipe ACQUITY UPLC (*Waters*). Fasa diam yang digunakan adalah C18. Fase diam jenis C18 atau ODS (*Octa Desil Silica*) digunakan karena mampu memisahkan senyawa dengan tingkat kepolaran tinggi, sedang dan rendah (Aulia dkk, 2016). Fase gerak yang digunakan adalah campuran dari 0.1% asam formiat dalam air dan 0.1% asam formiat dalam asetonitril. Kombinasi fase gerak air dan asetonitril biasanya digunakan dalam pemisahan mode gradien. Sedangkan modifikasi penggunaan seperti asam formiat ditambahkan untuk menghindari *tailing* pada puncak (Chen *et al.*, 2012). Hasil kromatogram UPLC-MS fraksi etil asetat umbi bawang sabrang ditampilkan dalam gambar 5.4.



Gambar 5.4. Kromatogram UPLC-MS fraksi etil asetat umbi bawang sabrang.

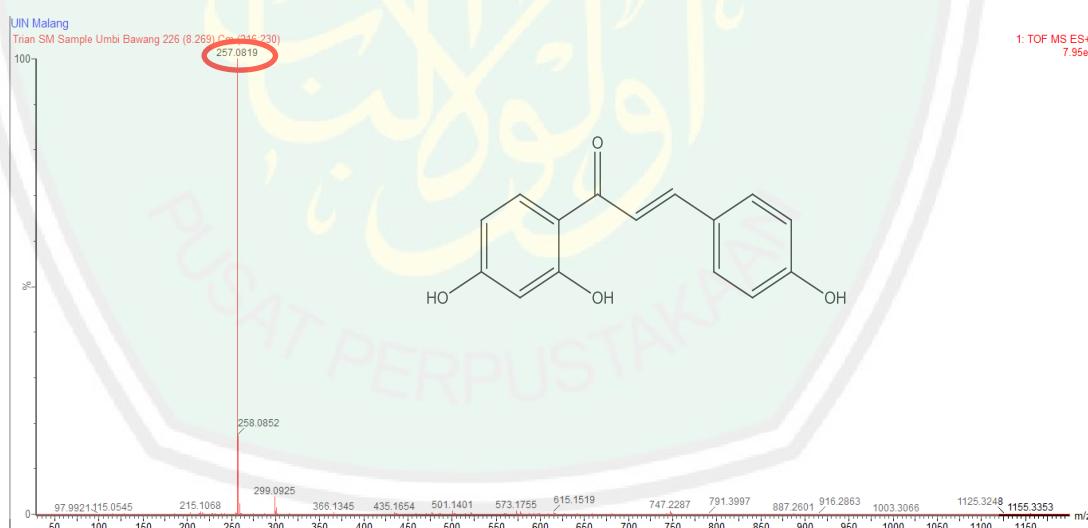
Hasil identifikasi menunjukkan adanya 28 puncak. Dari hasil kromatogram tersebut masih terdapat banyak pengotor, sehingga puncak yang muncul bervariasi. Analisis data dilakukan melalui beberapa tahapan dengan menggunakan program yaitu *software Masslynk* versi 4.1. Hasil analisis dugaan senyawa aktif ditunjukkan pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 Hasil Analisis Dugaan Senyawa Aktif

Rt (min)	M/Z terukur	Calculate d M/Z	%Area	Formula Nama Senyawa	Golongan
1.352	103,0997	103,0997	0,054366	C <sub>5</sub> H <sub>13</sub> NO L-(+)-Valinol	Alkaloid
1.535	290,0791	290,0790	0,687898	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub> D-(+)-Catechin	Flavonoid
2.301	123,0321	123,0320	0,156738	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub> Isonicotinic acid	Alkaloid (piridin)
2.552	267,2495	267,2495	0,047131	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> N <sub>9</sub> N-(1H-Benzotriazol-1-ylmethyl)tetrazolo[1,5-b]pyridazin-6-amine	Alkaloid
3.764	290,075	290,0750	0,008249	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub> N,N'-(1S,2S)-1,2-Cyclohexanediylibis(im idodicarbonic acid)	Alkaloid
4.382	290,0791	290,0790	0,141652	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub> D-(+)-Catechin	Flavonoid
4.679	290,0804	290,0804	0,877137	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> 3-(2-Pyridyl)-5,6-bis(2-furyl)-1,2,4-triazine	Terpen
5.891	419,1355	-	14,68425	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> UNKNOWN	UNKNOWN
6.291	244,0736	244,0736	1,161828	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub> Oxyresveratrol	Polifenol
6.760	234,0892	234,0892	2,81839	C <sub>13</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> 4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-4-hydroxycyclohexanone	Terpen
7.057	256,11	256,1099	0,246105	C <sub>16</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub> Pterostilbene / (3,5-dimethoxy-4'-hydroxystilbene)	Polifenol
7.492	258,0892	258,0892	0,753431	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> Menbutone / 4-(4-Methoxy-1-naphthyl)-4-oxobutanoic acid	Naphtalene
7.674	434,1577	434,1577	1,294673	C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> O <sub>9</sub> 3,3'-[Oxybis(2,1-ethanediyoxy-2,1-ethanediyoxy)]dibenzoic acid	Terpen
8.269	256,0736	256,0736	51,52892	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> O <sub>4</sub> Isoliquiritigenin / (2E)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-on	Flavonoid (khalkon)

8.738	680,2105	680,2105	5,218695	$C_{35}H_{36}O_{14}$ Furo[3',4':6,7]naphtho[ 2,3-d]-1,3-dioxol- 6(5aH)-one, 5,8,8a,9- tetrahydro-5-(4- hydroxy-3,5- dimethoxyphenyl)-9- [[4,6-O-[(4- methoxyphenyl)methyl ene]hexopyranosyl]oxy ]-	Naphtoquinon e
9.001	725,2082	-	1,771227	$C_{36}H_{36}O_{16}$ UNKNOWN	UNKNOWN
9.435	392,1247	392,1246	0,08817	$C_{20}H_{12}N_{10}$ 8,8'-[Benzene-1,4-diyl- di(ethyne-2,1- diyl)]diadenine	Alkaloid
9.801	244,0736	244,0736	1,796609	$C_{14}H_{12}O_4$ Oxyresveratrol  4-[(E)-2-(3,5- Dihydroxyphenyl)vinyl ]-1,3-benzenediol	Polifenol
10.053	259,0984	-	0,457752	$C_{16}H_{10}N_4$ UNKNOWN	UNKNOWN
10.533	359,0767	-	2,058625	$C_{18}H_{14}O_8$ UNKNOWN	UNKNOWN
11.333	244,0736	244,0736	9,924906	$C_{14}H_{12}O_4$ Oxyresveratrol  4-[(E)-2-(3,5- Dihydroxyphenyl)vinyl ]-1,3-benzenediol	Polifenol (stilbene)
12.248	514,4584	-	0,199644	$C_{29}H_{59}N_3O_4$ UNKNOWN	UNKNOWN
14.855	300,1335	300,1335	0,483956	$C_{14}H_{16}N_6O_2$ 1-(4,6- dimethylpyrimidin-2- yl)-3-(4-methyl-3- nitrophenyl)guanidine	Guanidine
15.769	514,4584	-	0,25148	$C_{29}H_{59}N_3O_4$ UNKNOWN	UNKNOWN
16.169	120,1025	-	0,046703	$C_5H_{13}NO_2$ UNKNOWN	UNKNOWN
16.352	120,1025	-	0,146883	$C_5H_{13}NO_2$ UNKNOWN	UNKNOWN
17.233	415,1447	-	0,203259	$C_{28}H_{18}N_2O_2$ UNKNOWN	UNKNOWN
18.879	101,0299	101,0299	0,354673	$C_4H_7NS$ 2-Pyrrolidinethione	Alkaloid

Berdasarkan profil kromatogram tersebut, dari 28 puncak yang muncul terdapat 3 puncak yang memiliki kelimpahan tertinggi yaitu puncak dengan waktu retensi berturut-turut 8,269; 5,89; dan 11,333 menit. Pada puncak dengan waktu retensi 8,269 menit dengan luas area 51,52892 menunjukkan ion molekul  $m/z$  256,0736 (*measured mass*) dan massa terhitung (*calculated mass*) berdasarkan perhitungan *chemdraw* adalah 256,0736. Nilai antara *measured mass* dengan *calculated mass* menunjukkan kesesuaian. Dikatakan memiliki kesesuaian apabila nilai antara *measured mass* dan *calculated mass* dari *chemdraw* menunjukkan nilai yang sama atau memiliki selisih kurang dari 0,0005. Sehingga dapat diketahui bahwa rumus molekul dari senyawa adalah  $C_{15}H_{11}O_4$  dengan nama senyawa isoliquiritigenin yang merupakan golongan dari flavonoid.



Gambar 5.5 Spektra massa dan rumus struktur senyawa Isoliquiritigenin

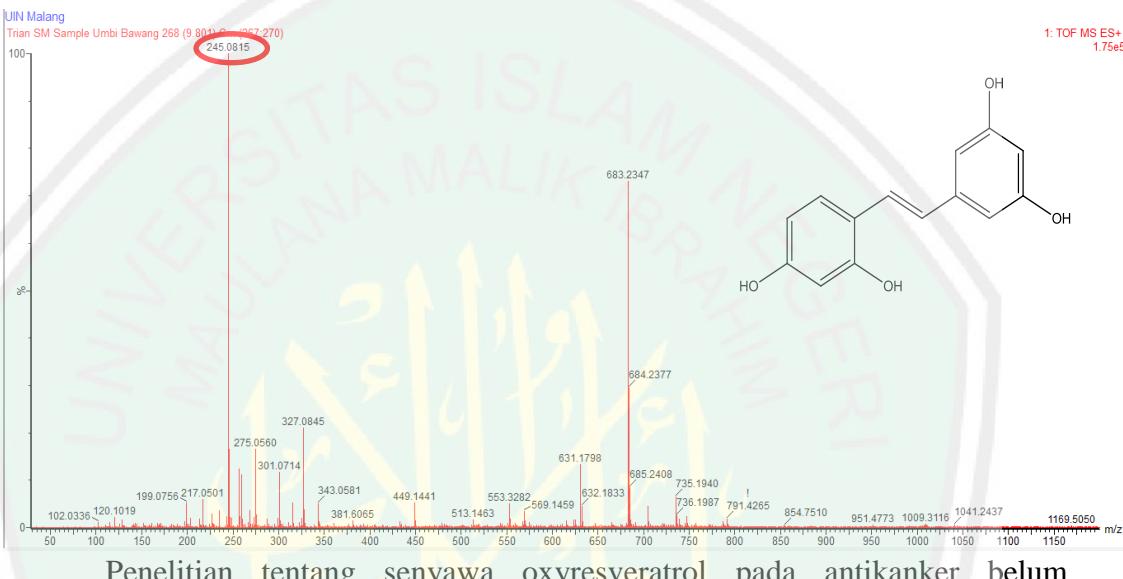
Wang *et al.* (2010) menjelaskan bahwa *Eleutherine palmifolia* yang merupakan spesies dari famili *Iridaceae* memiliki banyak kandungan metabolit

sekunder terutama flavonoid. Berdasarkan penelitian sebelumnya membuktikan bahwa senyawa isoliquiritigenin dari golongan flavonoid mempunyai aktivitas antikanker terhadap beberapa tipe sel kanker. Menurut Iwashita *et al.* (2000) isoliquiritigenin mampu menghambat proliferasi sel dan menginduksi apoptosis sel melanoma B16. Isoliquiritigenin (ILTG) juga dapat menekan pertumbuhan sel kanker kolon pada mencit yang diinduksi *azoxymethane* (AOM) (Takahashi *et al.*, 2004). Selain itu penelitian *in vivo* yang dilakukan oleh Wang *et al.* (2013) membuktikan bahwa isoliquiritigenin mampu menghambat pertumbahan sel kanker payudara dan *neoangiogenesis* dengan cara menekan jalur VEGF/VEGFR-2, menginduksi apoptosis, dan memiliki efek toksisitas yang rendah. *Synthetic isoliquiritigenin* (S-ISL) mempunyai aktivitas antikanker pada karsinoma sel skuamosa lidah (Hou *et al.*, 2017).

Pada puncak yang memiliki waktu retensi 5,891 dan luas area 14,68425, diketahui merupakan senyawa *unknown* dengan rumus molekul  $C_{22}H_{18}N_4O_5$ . Selanjutnya pada puncak dengan waktu retensi 11,333, luas area 9,924906 menunjukkan ion molekul  $m/z$  244,0736 (*measured mass*) dan massa terhitung (*calculated mass*) berdasarkan perhitungan *chemdraw* adalah 244,0736. Dari nilai *measured mass* dan *calculated mass* memiliki jumlah yang sama. Sehingga dapat disimpulkan bahwa *measured mass* dan *calculated mass* memiliki kesesuaian. Dikatakan memiliki kesesuaian apabila nilai antara *measured mass* dan *calculated mass* dari *chemdraw* menunjukkan nilai yang sama atau memiliki selisih kurang dari 0,0005. Jadi dapat diketahui rumus molekul dari senyawa adalah  $C_{14}H_{12}O_4$  yang merupakan senyawa oxyresveratrol dari golongan polifenol stilbene.

Stilbene merupakan golongan senyawa yang banyak terdapat pada sejumlah famili termasuk famili *Iridacea* yang dikenal memiliki banyak kandungan stilben yang tinggi (Shen *et al.*, 2007).

Gambar 5.6 Spektra massa dan rumus struktur senyawa oxyresveratrol



Penelitian tentang senyawa oxyresveratrol pada antikanker belum ditemukan tetapi penelitian yang dilakukan oleh Chatsumpun *et al.* (2016) menunjukkan bahwa derivat dari oxyresveratrol yaitu 3',5'-Diacetoxy-2,4-diisopropoxystilbene selektif sitotoksik terhadap sel kanker serviks *HeLa*.

## 5.5 Pemanfaatan Umbi Bawang Sabrang Berdasarkan Perspektif Islam

Penelitian ini membahas tentang pemanfaatan umbi bawang sabrang sebagai agen kemopreventif serta mengkaji senyawa aktif yang terkandung di dalamnya yang dapat digunakan sebagai antikanker. Mempelajari lebih lanjut mengenai ciptaan Allah SWT merupakan salah satu bentuk ibadah kepada Allah SWT. Allah memberikan gelar *ulul albab* atau orang yang berakal yaitu kepada

orang yang melakukan dua hal, yakni *tazakur* atau mengingat Allah dengan ucapan dan atau hati dalam situasi dan kondisi apapun, serta *tafakkur* memikirkan ciptaan Allah, yakni kejadian di alam semesta. Dengan melakukan dua hal tersebut, seseorang diharapkan mampu mengetahui, memahami, menghayati bahwa dibalik fenomena alam dan segala sesuatu yang ada didalamnya menunjukkan adanya sang pencipta, Allah SWT (Ulum, 2011).

Sebagaimana firman Allah dalam surat al Imran ayat 190:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَآخْرَافِ الْأَيَّلِ وَالنَّهَارِ لَذِكْرٌ لِّلْوَلِي أُلْلَبَبٍ ۖ ۱۹۰

Artinya: “Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal”.

*Ulul albab* adalah orang-orang yang menggunakan pikirannya dalam mengambil faedah serta hidayah-Nya, memikirkan tentang kejadian langit dan bumi beserta manfaat dan rahasia yang terkandung di dalamnya yang menunjukkan betapa sempurnanya ilmu Allah, serta mampu mengambil hikmah dari segala ciptaan Allah (al Maraghi, 1992). Sesungguhnya penciptaan langit dan bumi, serta pergantian siang dan malam semuanya tidaklah terjadi dengan sendirinya, melainkan ada yang menciptakan yakni Allah SWT. Sebagai seorang mukmin sudah seharusnya menggunakan akal pikirannya untuk berfikir dan mempelajari ciptaan-ciptaan Allah SWT yang mengandung hikmah-hikmah dan maslahat-maslahat yang besar bagi kehidupan.

Maha sempurna Allah atas segala yang diciptakannya di bumi hanya untuk kemaslahatan hidup manusia. Segala sesuatu di bumi diciptakan oleh Allah untuk

dimanfaatkan sebaik-baiknya termasuk tumbuh-tumbuhan. Tumbuh-tumbuhan dapat dimanfaatkan untuk kemaslahatan manusia yaitu dengan memanfaatkannya sebagai obat. Tumbuhan yang tersedia melimpah di alam dan dapat digunakan sebagai obat salah satunya adalah bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*). Tumbuhan tersebut dapat digunakan sebagai obat jika manusia itu berfikir. Sebagai *ulul albab* sudah seharusnya kita mengkaji apa yang terdapat di dalam tumbuhan yang dapat menjadikannya sebagai obat. Maka dalam penelitian ini tidak hanya mengkaji mengenai aktivitas antikanker tetapi juga mengkaji kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam umbi bawang sabrang yang mampunyai aktivitas antikanker.

Firman Allah dalam surat al Furqon (25) ayat 2:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ قُدْرَةً تَقْدِيرًا

Artinya: “Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu bagi-Nya dalam kekuasaan(Nya), dan dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya”.

Berdasarkan ayat tersebut dapat diketahui bahwa segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah mempunyai kapasitas atau ukurannya masing-masing. Seperti halnya dalam aktifitas antikanker yang dihasilkan dari umbi bawang sabrang. Umbi bawang sabrang mempunyai kapasitas dalam menghambat *cell line* kanker serviks *HeLa* ditunjukkan dengan IC<sub>50</sub> yaitu 44,335 ppm. Menurut Suzery dan Cahyono (2014) serta Meiyanto dkk (2008) suatu ekstrak dikatakan

berpotensi sebagai agen kemopreventif apabila nilai IC<sub>50</sub> kurang dari 100 ppm. Berdasarkan penjelasan tersebut dapat diketahui bahwa bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) mengindikasikan adanya potensi untuk dijadikan sebagai agen kemopreventif.



## BAB VI

### PENUTUP

#### 6.1 Kesimpulan

1. Fraksi etil asetat dari umbi bawang sabrang mempunyai potensi antikanker terhadap *cell line* kanker serviks *HeLa* dengan  $IC_{50}$  44,335  $\mu\text{g/mL}$ . Sedangkan fraksi n-heksan, kloroform, dan air tidak memiliki potensi antikanker terhadap *cell line* kanker serviks *HeLa* dengan  $IC_{50}$  berturut-turut 250,774  $\mu\text{g/mL}$ ; 720,459  $\mu\text{g/mL}$ ; >1000  $\mu\text{g/mL}$ .
2. Terdapat senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi etil asetat umbi bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia*) yang memiliki potensi antikanker terhadap *cell line* kanker serviks *HeLa* yaitu isoliquiritigenin dari golongan flavonoid dan oxyresveratrol dari golongan polifenol.

#### 6.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan, peneliti menyarankan untuk dilakukan induksi apoptosis serta ditingkatkan pengujian pada tahap *in vivo*. Selain itu juga perlu dilakukan pengujian terhadap sel kanker lainnya karena berdasarkan identifikasi menggunakan UPLC-MS didapatkan senyawa isoliquiritigenin yang merupakan senyawa golongan flavonoid yang dilaporkan memiliki aktivitas antikanker pada beberapa jenis sel kanker.

## DAFTAR PUSTAKA

- [Depkes] Departemen Kesehatan. 2009. *Buku Saku Pencegahan Kanker Leher Rahim dan Kanker Payudara*. Jakarta: Ditjen PP & PL.
- [Kemenkes RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2012. *Profil Kesehatan Indonesia 2012*. Jakarta: Kemenkes RI.
- [Kemenkes RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Riset Kesehatan Dasar Tahun 2013*. Jakarta.
- [LIPI] Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. 1978. *Tumbuhan Obat*. Bogor: Lembaga Biologi Nasional-LIPI.
- [Menkes] Departemen Kesehatan Nasional. 1994. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 661/MENKES/SK/VII/1994 tentang Persyaratan Obat Tradisional. Jakarta.
- [Menkes] Departemen Kesehatan Nasional. 2007. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 430/MENKES/SK/IV/2007 tentang Pedoman Pengendalian Penyakit Kanker.Jakarta.
- [Menkes] Departemen Kesehatan Nasional. 2010. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 796 tahun 2010 tentang Pedoman Teknis Pengendalian Kanker Payudara dan Kanker Leher Rahim. Jakarta.
- [WHO] World Health Organization. 2012. *Globocan 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012*. International Agency for Research on Cancer.
- [WHO] World Health Organization. 2013. *WHO Guidance Note: Comprehensive Cervical Cancer Prevention and Control: A Healthier Future for Girls and Women*. Geneva: WHO Press.
- Adjuwana, Nur M.A. 1989. *Teknik Spektroskopi dalam Analisis Biologi*. Bogor: Pusat Antar Universitas IPB.
- Adnyana dkk. 2010. Anti Tumor and Immunostimulant Activities of Eleutherine Americana Extract and Isolation of Its Active Components. *From Research to Community Services*: ITB.
- Al-Jauziyah, Ibnu Qayyim. 2008. *Praktek Kedokteran Nabi SAW*. Yogyakarta: Hikam Pustaka.

- Al-Maraghi, Ahmad Musthofa. 1992. *Terjemah Tafsir al-Maraghi*. Semarang: CV Toha. Putra.
- Amelia, Tasia dkk. 2014. *In Silico Study of The Component of Eleutherine americana MERR. on Human Estrogen Reseptor Alpha as Potential Anti-Breast Cancer*. Di dalam: *3rd International Conference on Computation for Science and Technology (ICCST-3)*; Bandung, 30 November 2014. Bandung: School of Pharmacy, Bandung Institute of Technology.
- Anggarwal *et al.* 2003. Anticancer Potential of Curcumin. *Preclinical and Clinical Studies, Anticancer Research*. Volume 23: 363- 398.
- Anggrianti, Padmi. 2008. *Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Kemukus (Piper cubeba L.) Terhadap Sel HeLa*. [skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Ardianti, Anik dan Kusnadi, Joni. 2014. Ekstraksi Antibakteri Daun Berenuk. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Volume 2, Nomor 2:28-35.
- Aryani, Diah Chandra. 2003. Kajian Aktifitas Antiproliferasi Sel Kanker K-562 (Chronic Myelogenous Leukemia) dari Susu Substandar yang Difermentasi dengan Isolasi Klinis Bakteri Asam Laktat [skripsi]. Bogor: Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Ashariati, A. 2004. *Adjuvant Chemotherapy of Colorectal Cancer*. In: Recent Advances and Challenges In General Surgeons in Indonesia. Surabaya.
- Aulia dkk. 2016. Penetapan Kadar Simvastatin Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (CKCT). *Farmaka*. Volume 4, Nomor 4: 1-10.
- Aulia, Mustika. 2011. Kapasitas Antioksidan Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) dalam Bentuk Segar, Simplisia dan Keripik, pada Pelarut Nonpolar, Semipolar, dan Polar. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor: 3-4.
- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus elastic* Nois ex Blume terhadap Artemia salina Leach dan Profil Kromatografi lapis Tipis. [skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Becker, C. A., & Van den Brink, R. C. B., 1968. *Flora of Java (Spermatophytes only) vol II*. Groningen-The Netherlands: Wolters-Noordhoff.

- Bello, Omar *et al.* 2015. Regulation of the Wnt/β-Catenin Signaling Pathway by Human Papillomavirus E6 and E7 Oncoproteins. *Viruses*. Volume 7: 4734-4755.
- Capes, D., Theodosopoulos G., dan Atkin I. 2010. Check your cultures! A list of cross-contaminated or misidentified cell lines. *Int J Cancer*. Volume 127, Nomor 1: 1–8.
- CCRC. 2009. *CDK8, the Recently-Discovered Colon Cancer Oncogene*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- CCRC. 2009. *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, UGM.
- Chakrabarti, O and Krishna, S. 2003. Molecular Interaction of “High Risk Human Papillomaviruses E6 and E7 Oncoproteins: Implications for Tumour Progression”. *J.Biosci*. Volume 28, Nomor 3:337-348.
- Chatsumpun, Nutputson *et al.*, 2016. Oxyresveratrol: Structural Modification and Evaluation of Biological Activities. *Molecules*. Volume 21, Nomor 489.
- Chen *et al.*, 2012. Determination of Phenolic Acids and Flavonoids in Taraxacum formosanum Kitam by Liquid ChromatographyTandem Mass Spectrometry Coupled with a Post-Column Derivatization Technique. *International Journal of Molecular Sciences*. Volume 13: 260-285.
- Chung *et al.* 2010. Estrogen and Era: Culprits in Cervical Cancer?. *Trends Endocrinol Metab*. Volume 21. Nomor 8: 504-511.
- Corwin, Elizabeth J. 2000. *Buku Saku Patofisiologi (Handbook of Pathophysiology)*. Jakarta: EGC.
- Cronquist, A. 1981. *An Intergrated System of Clasification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- De la Fuente, S., E. Riera, and J.A. Gallego. 2004. Effect of Power Ultrasound on Mass Transfer in Food Processing. *Proceedings of 18th International Congress on Acoustics*. Kyoto, Japan: International Congress on Acoustics: 1853–1854.
- DeFillippis, R.A., Goodwin, E.C., Wu, L., dan DiMaio, D. 2003. Endogenous Human Papillomavirus E6 and E7 Proteins Differentially Regulate Proliferation, Senescence, and Apoptosis in *HeLa* Cervical Carcinoma Cells. *Journal of Virology*. Volume 77, Nomor 2: 1551-1563.

- Dipiro, Joseph T *et al.* 2008. *Pharmacoterapy: A Pathophysiologic Approach Seventh Edition*. New York: Mc-Graw Hill.
- Doyle, A., dan Griffiths, J. B. 2000. *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. John Willey and Sons Ltd. : New York.
- Febrinda *et al.* 2014. Hyperglycemic Control and Diabetes Complication Preventive Activities of Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia* L. Merr.) Bulbs Extracts in Alloxan-Diabetic Rats. *International Food Research Journal*. Volume 21, Nomor 4: 1405-1411.
- Firdaus, R. 2006. Telaah Kandungan Kimia Ekstrak Metanol Umbi bawang Tiwai (*Eleutherine Americana* (Aubl.) Merr.) [skripsi]. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Fitri *et al.* 2014. Effects of Inhibition Cell Cycle and Apoptosis of Sebrang Onion Extract (*Eletheurine bulbosa* (Mill.) Urb.) on Breast Cancer Cell. *International journal of PharmTech research*. Volume 6
- Florea, Ana Maria and Dietrich Büsselberg. 2011. Cisplatin as an Anti-Tumor Drug: Cellular Mechanisms of Activity, Drug Resistance and Induced Side Effects. *Cancers* 2011. Volume 3: 1351-1357.
- Galingging, R.Y. 2009. Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia*) sebagai Tanaman Obat Multifungsi. *Warta Penelitian dan Pengembangan*. Volume 15, Nomor 3: 2-4.
- Galingging, RY. 2007. Potensi Plasma Nutfah Tanaman Obat sebagai Sumber Biofarmaka di Kalimantan Tengah. *Jurnal Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian*. Volume 10, Nomor 1: 76-83.
- Goldie, S. J *et al.* 2005. Cost-Effectiveness of Cervical-Cancer Screening in Five Developing Countries. *The New EnglandJournal of Medecine*. Volume 353, Nomor 20: 2158-2168.
- Goodwin, E.C., DiMaio, D., 2000. Repression of Human Papillomavirus Oncogenes in *HeLa* Cervical Carcinoma Cells Causes the Orderly Reactivation of Dormant Tumor Suppressor Pathways. *Biochemistry*. Volume 97, Nomor 23.
- Guenther, F. 2006. *Kombucha-Healthy Beverage and Natural Remedy from the Far East: Its Correct Preparation and Use*. German: Ennsthaler gesellschaftschaft GmbH & Co KG.
- Hacker, N.F. 2000. *Principle of cancer Therapy*, dalam *Essentials of obstetrics and Gynecology*, Edisi 2. USA: Saunders w.b Company.

- Handayani, Hana., Sriherfyna, Feronika H., dan Yunianta. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode *Ultrasonic Bath* (Kajian Rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Volume 4, Nomor 1: 262-272.
- Hara *et al.* 1997. Elecanicin, a Novel Naphtoquinone from the Bulb of *Eleutherine americana*. *Chem. Pharm. Bull.* Volume. 45, Nomor 10: 1714-1716.
- Hastari, Rizka. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Pelepas dan Batang Tanaman Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var.*sapientum*) terhadap *Staphylococcus aureus*. Di dalam: *Laporan Hasil Karya Tulis Ilmiah*. Semarang. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid I*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Departemen Kehutanan.
- Hidayati, Nisa Devi. 2012. 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. Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang.
- Hou *et al.* 2017. Synthetic Isoliquiritigenin Inhibits Human Tongue Squamous Carcinoma Cells through Its Antioxidant Mechanism. *Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1-11.
- HPV Information Centre. 2014. *Human Papillomavirus and Related Disease Report: INDONESIA*. Barcelona: ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre).
- Hutomo, dkk. 2016. Perubahan morfologi sel HeLa setelah paparan ekstrak etanolik *Curcuma longa*. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. Volume 2, Nomor 1: 1-5.
- Ieyama *et al.* 2011.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors from the Bulb of *Eleutherine americana*. *Food Chem.* Volume 128: 308-311.
- Ilhamy, Yonny Fajar. 2013. Uji Efek Sitotoksik Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Akar Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) Terhadap sel kanker Payudara T47D dengan Metoda MTT. *Prosiding Seminar Nasional Perkembangan Terkini Sains Farmasi dan Klinik III*. ISSN 2339-2592.
- Indradmojo, Christyaji. 2016. Aktivitas Antikanker dan Mekanisme Farmakologi Ekstrak dan Fraksi Benalu Nangka (*Macrosolen cochinchinensis*) pada

- Sel Kanker Payudara T47D. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Insanu *et al*, 2014. Recent Studies on Phytochemicals and Pharmacological Effects of *Eleutherine americana* Merr. *Procedia Chemistry*: Volume 13: 221-228.
- Iwashita, Keiko *et al.*, 2000. Flavonoids Inhibit Cell Growth and Induce Apoptosis in B16 Melanoma 4A5 Cells. *Biosci. Biotchnol. Biochem.* Volume 64, Nomor 9: 1813-1820.
- Junaidi, Najib. 2010. *Edisi Indonesia Tafsir Jalalain*. Surabaya: Pustaka eLBA.
- Kasahara, S. & S. Hemmi. 1995. *Medicinal Herbs Index in Indonesia*, 2<sup>nd</sup> ed. Jakarta: PT. EISAI.
- Katno dan Pramono S. 2017. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Balai Penelitian Obat Tawangmangu. Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada [press release]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Katzung, B.G. 1992. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kerrie B., Bouker and Leena, Hilakivi-Clarke. 2000. *Genistein : Does it Prevent or Promote Breast Cancer?*. Environ Health Perspect 108(8): 701-708.
- Khopkar, S. M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Terjemahan A. Saptohardjo. Jakarta: UI Press.
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta : UI Press.
- Khrisna, G. & Hyashi, M. 2000. In Vivo Rodent Micronucleus Assay: Protocol, Conduct and Data Interpretation. *Mulation Research*. Volume 455: 155-166.
- King, S. B. 1996. *Cancer Biology second edition*. Pearson Education : London.
- Kumala, L.D. 2007. Kajian Ekstrak Umbi Gadung (*Dioscorea hispida*), Rerak (*Sapindus rarak*) dan Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai Bahan Pengawet Alami Kayu [skripsi]. Bandung: Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.
- Kumala, L.D. 2007. *Kajian Ekstrak Umbi Gadung (Dioscorea hispida)*, Rerak (*Sapindus rarak*) dan Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai Bahan

- Pengawet Alami Kayu. Skripsi.* Bandung: Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.
- Kwan, H.T *et al.* 2012. AMPK Activators Suppress Cervical Cancer Cell Growth through Inhibition of DVL3 Mediated Wnt/β-Catenin Signaling Activity. *PloS ONE*. Volume 8, Nomor 1: 1-10.
- Leahy, K.M., Ornberg, R.L., Wang, Y., Zweifel, B.S., Koki, A.T., dan Masferrer, J.L. 2002. Cyclooxygenase-2 Inhibition by Celecoxib Reduces Proliferation and Induces Apoptosis in Angiogenic Endothelial Cells in Vivo. *Cancer Res.* Volume 62: 625–631.
- Lee *et al.* 2012. Mass Spectrometry-Based Metabolite profiling and Bacterial Diversity Characterization of Korean Traditional *Meju* During Fermentation. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. Volume. 22, Nomor 11: 1523-1531.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoid, Fenilpropanoida dan Alkaloida*. Jakarta: Hipokrates.
- Lestari, S.B., Pari G. 1990. Analisis kimia beberapa jenis kayu Indonesia. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan Pusat Penelitian dan Pengembangan Hasil Hutan*. Volume 7, Nomor 3: 96-100.
- Li *et al.* 2008. New Wnt/β-Catenin Signaling Inhibitors Isolated from Eleutherine palmifolia. *Chemistry An Asian Journal*. Volume 4: 540-547.
- Listiyana, Anik; Suryadinata, Arief dan Muti'ah, Roihatul. 2016. Aktivitas dan Mekanisme Kombinasi Ekstrak Benalu Belimbing (*Macrosolen cochinensis*) dan Bawang Sabrang (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) pada Sel Kanker Serviks *HeLa*. (Belum Dipublikasi).
- Lumongga, F. 2008. Apoptosis. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Macville *et al.* 1999. Comprehensive and Definitive Molecular Cytogenetic Characterization of *HeLa* Cells by Spectral Karyotyping. *Cancer Res.* Volume 59, Nomor 1: 141–150.
- Mardianingsih dan Ismiyati. 2014. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanolik Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Pada Sel Kanker Leher Rahim *HeLa*. *Traditional Medicine Journal*. Volume 19. Nomor 1: 24-28.
- Maruti, dkk. 2011. Sinergisitas efek sitotoksik kombinasi arekolin dan doxorubicin pada sel kanker serviks *HeLa*. *Majalah Farmasi Indonesia*. Volume 22, Nomor 4: 265-272.

- Maulana, R., dkk. 2010. *Isolasi Tanaman dan Elektroforesis DNA*. Jakarta: Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia.
- Meiyanto, dkk. 2008. Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (*Areca catechu* L.) mampu menghambat proliferasi dan memacu apoptosis sel MCF-7. *Majalah Farmasi Indonesia*. Volume 19, Nomor 1: 12-19.
- Meiyanto, M., Kudo, G., Lee, Y., Yang, T.J., Gelboin, H.V., Gonzalez, F.J. 1999. Targeted Disruption of the Microsomal Epoxide Hydrolase Gene. *The Journal of Biological Chemistry*. Volume 274: 23963-23968.
- Mitayani, Gigih. 2010. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Buah Pala (*Myristica fragrans* Houtt) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) [skripsi]. Semarang. Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
- Moelan, C. E. 1999. *Chemical Separations: Principles, Techniques and Experiments*. New York: Jhon Willey and Sons, Inc.
- Moga *et al.* 2016. The Role of Natural Polyphenols in the Preventions and Treatment of Cervical Cancer-An Overview. *Molecules*. Volume 21. Nomor 1055: 1-22.
- Mosmann, T. 1983. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival : Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Journal of Immunological Method*. Volume 16: 55-63.
- Nilsson *et al.* 2001. Mechanisms of Estrogen Action. *Physiol*. Volume 81: 1535–1565.
- Nimas, dkk. 2012. Kualitas Hidup Pada Penderita Kanker Serviks Yang Menjalani Pengobatan Radioterapi. *Jurnal Psikologi Klinis dan Kesehatan Mental* Volume 1, Nomor 02.
- Notoatmodjo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Nuruzzakiyah, Kiki. 2011. Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) pada Mencit Jantan Galur BALB-C yang Diinduksi Oleum Ricini [skripsi]. Jember. Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Padmi, 2008. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Kemuskus (*Piper cubeba* L) Terhadap Sel *HeLa* [skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

- Péres, V.L., J *et al.* 2006. Comparison of Soxhlet, Ultrasound-assisted and Pressurized Liquid Extraction of Terpenes, Fatty Acids and Vitamin E from *Piper gaudichaudianum* Kunth. *Journal of Chromatography A* 1105: 115–118.
- Plasencia, C.P., Gonzales, A.D., Tavera, B.A. 2008. Second Hit in Cervical Carcinogenesis Process: Involvement of Wnt/Beta Catenin Pathway. *Intarchmed*. Volume 1, Nomor 10:1-8.
- Pourhossein, A., M. Madani, and M. Shahlaei. 2009. Valuation of an Ultrasound-assisted Digestion Method for Determination of Arsenic and Lead in Edible Citric Acid Samples by ETAAS. *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy*. Volume 54, Nomor 1: 39–44.
- Prawirohardjo, Sarwono. 2008. *Ilmu Kandungan*. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka.
- Prayitno, dkk. 2005. Ekspresi Protein p53, Rb, dan c-myc pada Kanker Serviks Uteri dengan Pengecatan Immunohistokimia. *Jurnal Biodiversitas*. Volume 6, Nomor 3: 157-159.
- Radji, dkk. 2010. Penggunaan Obat Herbal Pada Pasien Kanker Serviks. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. Volume 8, Nomor 1: 33-39.
- Rahbari *et al.* 2009. A novel L1 Retrotransposon Marker for *HeLa* Cell Line Identification. *Biotechniques*. Volume 46, Nomor 4: 77–84.
- Rahmawati, Emma, dkk. 2013. Aktivitas Antikanker Ekstrak n-Heksana dan Ekstrak Metanol Herba Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn) terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *Media Farmasi*. Volume 10, Nomor 2.
- Rang *et al.* 2003. *Pharmacology*. 5th ed. Churchill Livingstone: New York.
- Romadhoni, dkk. 2012. Penyerapan Pengetahuan Tentang Kanker Serviks Sebelum dan Sesudah Penyuluhan. *Jurnal Kedokteran Muhammadiyah*. Volume 1, Nomor 1: 38-42.
- Rosita dkk. 2007. Penggalian IPTEK Etnomedisin di Gunung Gede Pangrango. *Bul Litro*. Volume 18, Nomor 1: 13-28.
- Salamah, Nina dan Widyasari Erlinda. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria Longan* (L) Steud.) dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1-Pikrilhidrazil. *Pharmaciana*. Volume 5, Nomor 1:25-34.
- Sharrer, T. 2006. *HeLa Herself*. *The Scientist*. Volume 20, Nomor 7: 22.

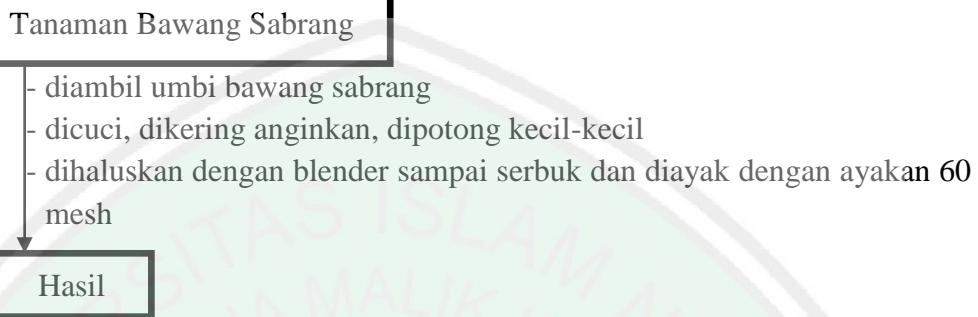
- Shen, T., Wang, X.N., Lou, H.X., 2009. Natural stilbenes: an overview. *Natural Prod.* Volume 26: 916–935.
- Shihab, Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah (Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an)*. Jakarta: Lentera Hati.
- Simmons, D.L., Moore, B.C. 2000. COX-2 Inhibition, Apoptosis, and Chemoprevention by Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs. *Curr Med Chem*. Volume 7: 1131-1144.
- Sinta *et al.* 2010. *Kanker Serviks dan Infeksi Human Pappiloma Virus (HPV)*. Jakarta: Javamedia.
- Sudarmawan, Ivan. 2009. Pengaruh Pemberian Fraksi Etanolik dan Petroleum Eter Ekstrak Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia* (L), Merr) Terhadap Ekspresi P53 Mutan Galur Sel Kanker Payudara T47d [karya ilmiah akhir]. Surakarta: Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Suzery, Meiny dan Cahyono, Bambang. 2014. Evaluation of Cytotoxicity Effect of *Hyptis pectinata* Poit (Lamiaceae) extracts using BSLT and MTT methods. *Jurnal Sains dan Matematika*. Volume 22, Nomor 3: 84-88.
- Takahashi *et al.* 2004. Isoliquiritigenin, a Flavonoid from Licorice, Reduce Prostaglandin E<sub>2</sub> and Nitric Oxide, Causes Apoptosis, and Suppress Aberrant Crypt Foci Development. *Cancer Sci.* Volume 95, Nomor 5: 448-453.
- Ulum, Miftahul. 2011. Konsep Ulul Albab Q.S Ali-Imron Ayat 190-195 dan Relevansinya dengan Tujuan Pendidikan Islam. [skripsi]. Semarang: Fakultas Tarbiyah Institut Agama Islam Negeri Walisongo.
- Vakahangas *et al.* 1992. Mutations of p53 and Ras Genes in Randon-Associated Lung Cancer from Uranium Miners. *The Lancet*. Volume 339: 576-580.
- Vanamala *et al.* 2010. Resveratrol Suppresses IGF-1 Induced Human Colon Cancer Cell Proliferation And Elevates Apoptosis Via Suppression of IGF-1R/Wnt and Activation of p53 Signaling Pathways. *BMC Cancer*. Volume 10, Nomor 238.
- Virgili *et al.* 2004. Nutritionals Flavonoids Modulate Estrogen Receptor  $\alpha$  Signaling. *IUBMB Life*. Volume 56, Nomor 3: 145-151.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soedani Noerono Soewandi, Apt. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada press.

- Wang H, Cui Y, Zhao C. 2010. Flavonoids of The Genus Iris (*Iridaceae*). *Mini-Rev Med Chem.* Volume 10: 643-661.
- Wang *et al.* 2013. Dietary Compound Isoliquiritigenin Inhibits Breast Cancer Neoangiogenesis Via VEGF/VEGFR-2 Signaling Pathway. *Plos One.* Volume 8, Nomor 7.
- Warsono, Lukas Budi, dkk. 2013. Ekstraksi Cashew Nut Shell Liquid (CNSL) dari Kulit Biji Mete dengan menggunakan Metode Pengepresan. *Jurnal Teknosains Pangan.* Volume 2, Nomor 2.
- Watts, Denise Watson. 2010. *HeLa* Cancer Cells Killed Henrietta Lacks. Then They Made Her Immortal. *The VirginianPilot.* Volume 1: 12–14.
- Winarno, Eko. 2011. *Uji Sitotoksik Ekstrak Kapang Aspergillus sp. Terhadap Sel Kanker Payudara T47D.* [skripsi]. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Xie *et al.* 2008. Application of Ultra-Performance LC-QTOF MS Metabolite Profiling Techniques to the Analysis of Medicinal Panax herbs. *Metabolomics.* Volume 4: 248-260.
- Xu, F *et al.* 2005. New Bioactive Constituents from *Eleutherine Americana*. *Chem. J. Chinese. U.* Volume 26, Nomor 11.
- Yusni, M.A. Perbedaan Pengaruh Pemberian Fraksi Etanolik Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* L. Merr) dengan 5-Fluorourasil Terhadap Penghambatan Pertumbuhan Galur Sel Karsinoma Kolon HT29 Dan Ekspresi p53 Mutan [tesis]. Surakarta. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Yuswi dkk. 2017. Ekstraksi Antioksidan Bawang Dayak. *Jurnal Pangan dan Agroindustri.* Volume 5, Nomor 1: 71-79.
- Zhou, B., 2011. Computational Analysis of LC-MS/MS Data for Metabolite Identification [tesis]. Arlington : Engineering Faculty of Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Zuhud, E.A.M. 2008. Potensi Hutan Tropika Indonesia Sebagai Penyangga Bahan Obat Alam untuk Kesehatan Bangsa. Bogor. Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.

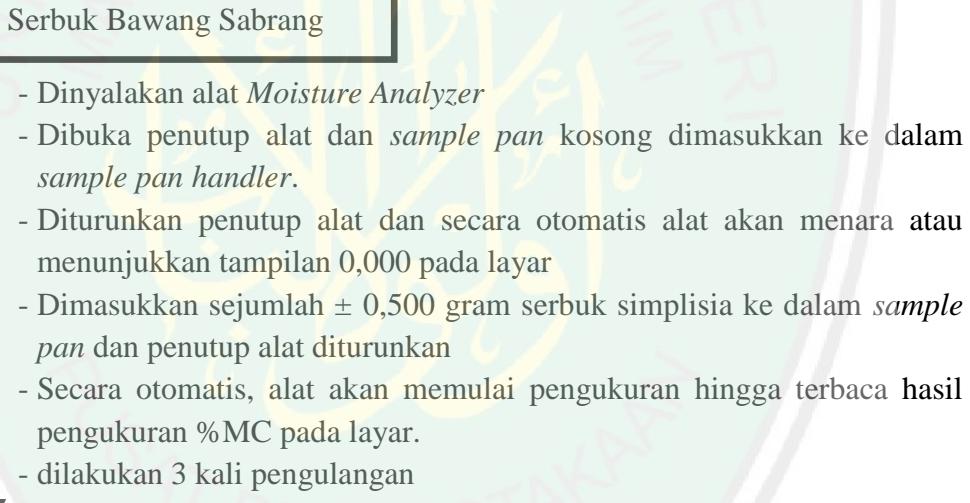
## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Skema Kerja

#### L.1.1 Preparasi Sampel

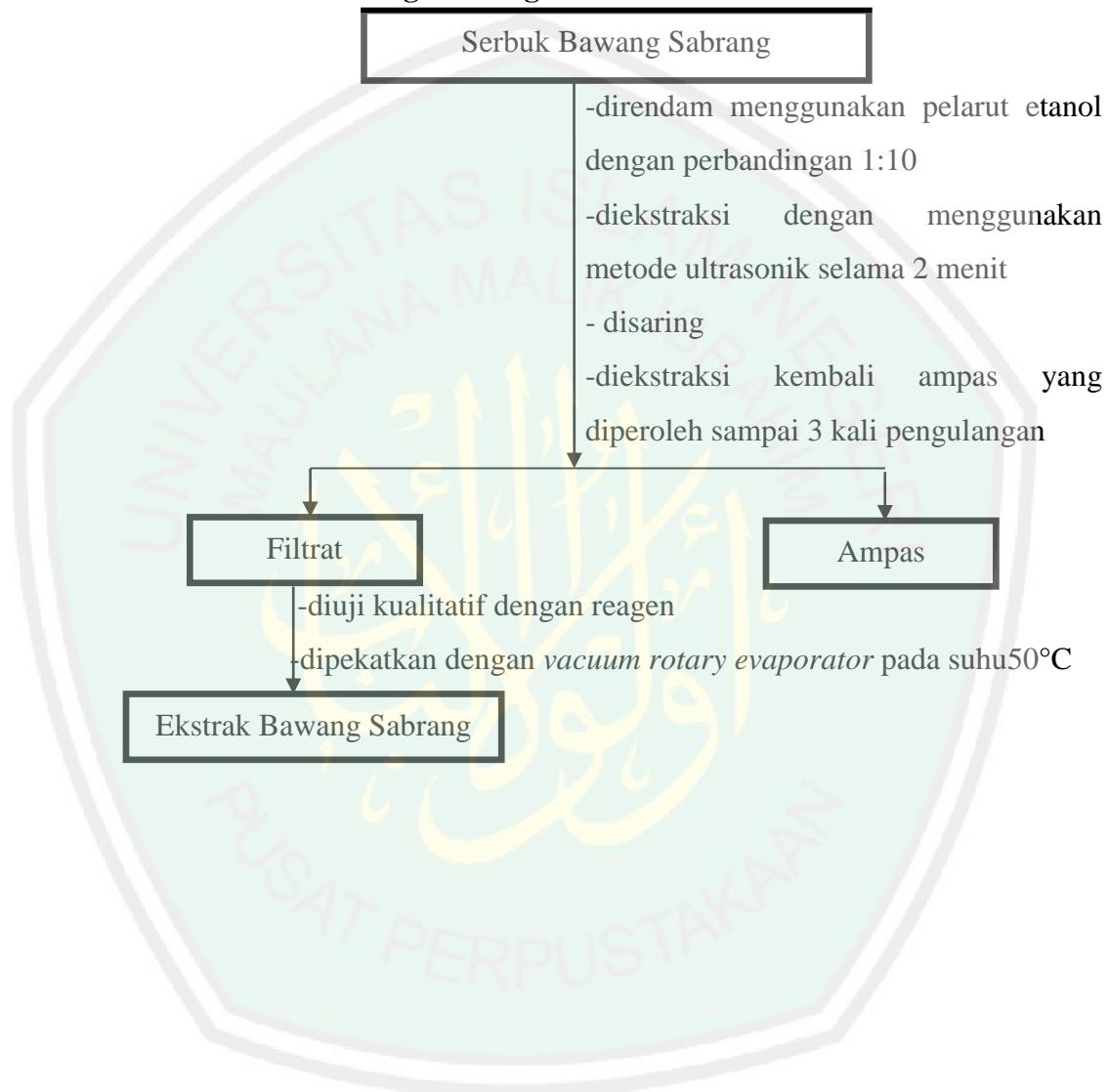


#### L.1.2 Analisa Kadar Air

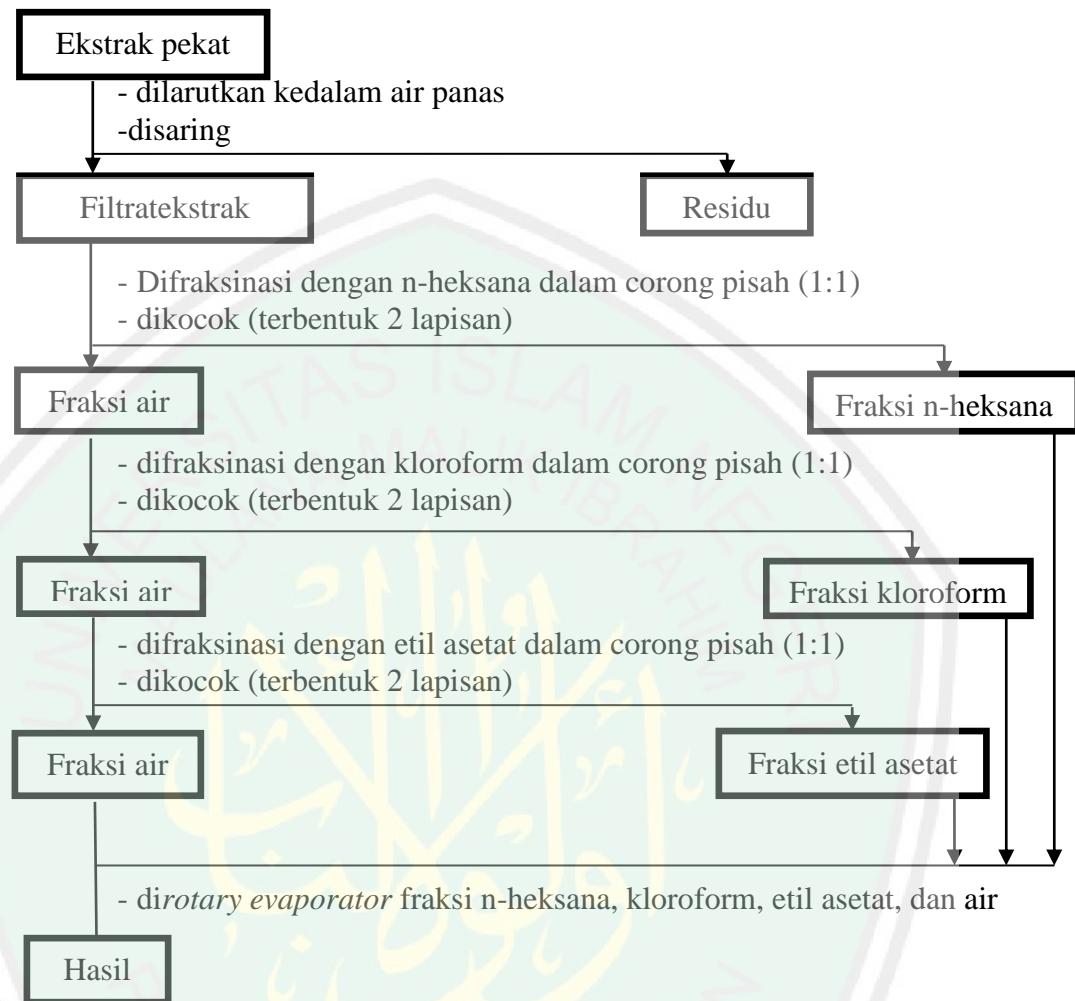


### L.1.3 Ekstraksi Komponen Aktif

#### L. 1.3.1 Ekstraksi Bawang Sabrang

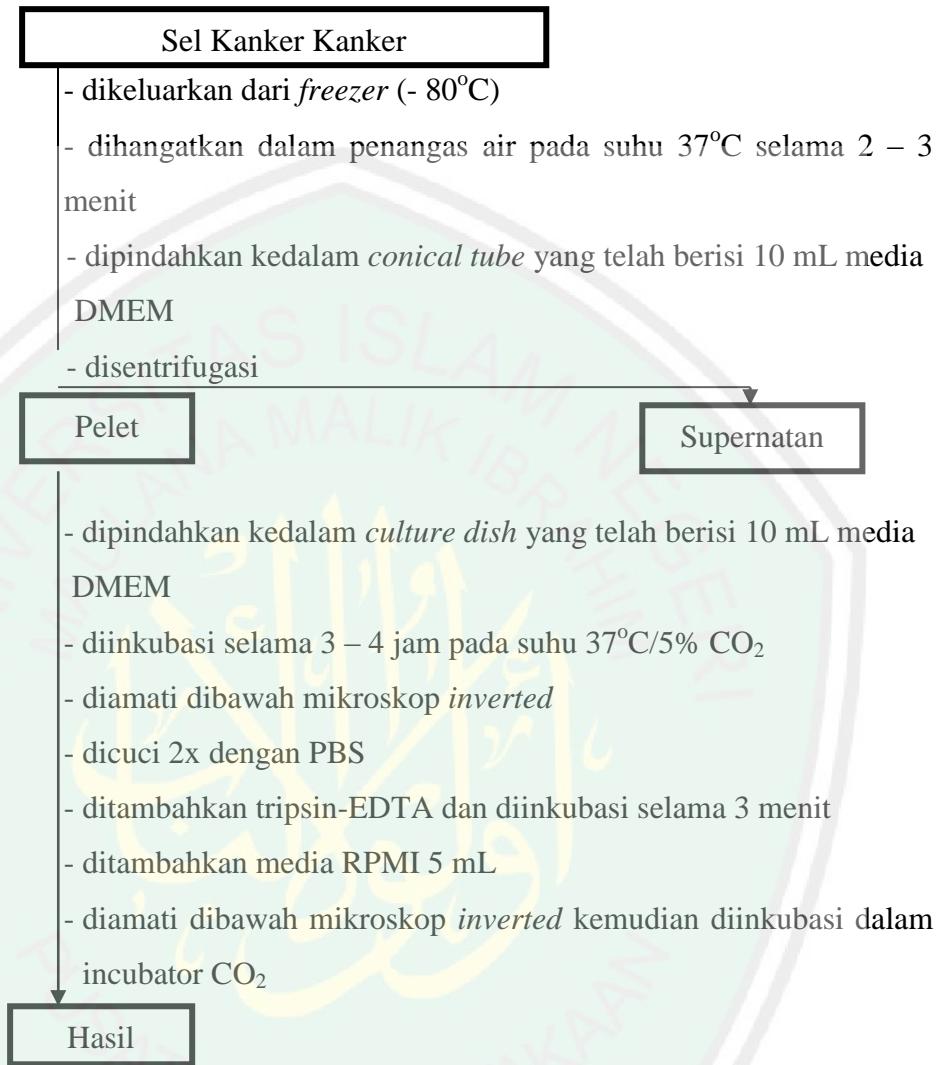


### L.1.3.2 Fraksinasi Bawang Sabrang

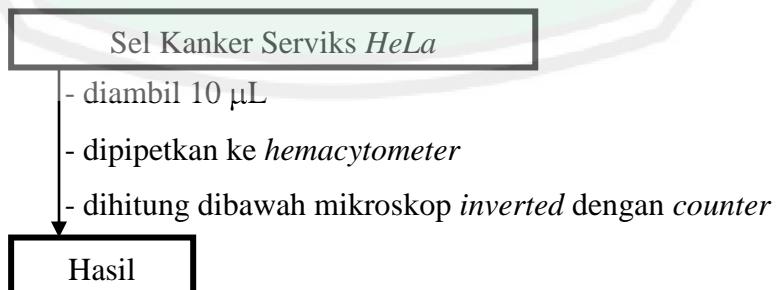


### L.1.6 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

#### L.1.6.1 Penyiapan Sel



#### L.1.6.2 Penghitungan Sel Kanker



#### L.1.6.3 Peletakan Sel pada Plate

##### Sel Kanker Serviks *HeLa*

- diletakkan sel dan media DMEM sesuai perhitungan kedalam *plate 96-well*. Disisakan 12 sumuran bagian bawah untuk control sel dan media
- diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO<sub>2</sub>

Hasil

#### L.1.6.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada Plate

##### Masing-Masing Sampel Fraksi

- ditimbang 10 mg dan dimasukkan dalam wadah yang berbeda
- dilarutkan masing-masing dalam 100 µL DMSO
- diambil sel dari inkubator
- dibuang media sel dengan cara dibalikkan *plate* 180°
- dimasukkan 100 µL PBS kedalam semua sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali
- dimasukkan sampel sebanyak 100 µL dengan konsentrasi 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125; 3,90625 ppm
- dilakukan pengulangan penambahan konsentrasi sampel sebanyak 3x
- diinkubasi kembali selama 24 jam

Hasil

#### L.1.6.6 Pemberian Larutan MTT

Sel Kanker Serviks *HeLa*

- dibuang media sel dan dicuci dengan PBS
- ditambahkan larutan MTT 100  $\mu\text{L}$  kesetiap sumuran kecuali kontrol sel
- diinkubasi selama 3 – 4 jam di dalam inkubator
- apabila formazan telah terbentuk diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted*
- ditambahkan *stopper SDS* 10 % dalam 0,1 N HCl
- dibungkus *plate* dengan kertas tertutup
- diinkubasi kembali di tempat gelap (suhu ruangan) semalam
- dibaca nilai absorbansi dengan ELISA *reader*

Hasil

### Lampiran 2. Uji Kadar Air Sampel Kering Umbi Bawang Sabrang

a) Ulangan 1

Jumlah sampel : 0,547 gram

%MC : 7,31 %

b) Ulangan 2

Jumlah sampel : 0,534 gram

%MC : 7,30 %

c) Ulangan 3

Jumlah sampel : 0,532 gram

%MC : 7,52%

$$Kadar\ air\ simplisia = \frac{\text{ulangan}\ 1 + \text{ulangan}\ 2 + \text{ulangan}\ 3}{3} \times 100\%$$

$$Kadar\ air\ simplisia = \frac{7,31 + 7,30 + 7,52}{3} \times 100\%$$

$$Kadar\ air\ simplisia = 7,37\%$$

### Lampiran 3. Perhitungan Rendemen

#### L.3.1 Perhitungan Rendemen Serbuk Umbi Bawang Sabrang

Berat umbi bawang sabrang sebelum diserbukkan : 1,166 kg

Berat umbi bawang sabrang setelah diserbukkan : 350 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat sampel setelah diserbukkan}}{\text{berat sampel sebelum diserbukkan}} \times 100\% = \frac{350 \text{ g}}{1166 \text{ g}} \times 100 \% = 30,01\%$$

#### L.3.2 Perhitungan Rendemen Hasil Maserasi

Berat serbuk umbi bawang sabrang = 350 gram

Berat ekstrak kental umbi bawang sabrang = 27,7208 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% = \frac{27,7208 \text{ g}}{350 \text{ g}} \times 100 \% = 7,92\%$$

#### L.3.3 Perhitungan Rendemen Hasil Fraksi n-Heksana

Berat fraksi n-heksan = 3,18 gram

Berat sampel = 21,1 gram

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat fraksi}}{\text{berat sampel}} \times \text{rendemen awal \%} = \frac{3,18 \text{ g}}{21,1 \text{ g}} \times 7,902\% = 1,1936\%$$

#### L.3.4 Perhitungan Rendemen Hasil Fraksi Kloroform

Berat fraksi kloroform = 1,1244 gram

Berat sampel = berat sampel awal – berat sampel fraksi

$$= 21,1 \text{ gram} - 3,18 \text{ gram}$$

$$= 17,92 \text{ gram}$$

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat fraksi}}{\text{berat sampel}} \times \text{rendemen awal \%} = \frac{1,1244 \text{ g}}{17,92 \text{ g}} \times 7,902\% = 0,496\%$$

### L.3.5 Perhitungan Rendemen Hasil Fraksi Etil Asetat

Berat fraksi etil asetat = 0,5707 gram

$$\begin{aligned}\text{Berat sampel sebelumnya} &= \text{berat sampel awal} - \text{berat sampel fraksi} \\ &= 21,1 \text{ gram} - 1,1244 \text{ gram} \\ &= 19,9756 \text{ gram}\end{aligned}$$

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat fraksi}}{\text{berat sampel}} \times \text{rendemen awal \%} = \frac{0,5707 \text{ g}}{19,9756 \text{ g}} \times 7,902\% = 0,226\%$$

### L.3.6 Perhitungan Rendemen Hasil Fraksi Air

Berat fraksi air = 15,119 gram

$$\begin{aligned}\text{Berat sampel sebelumnya} &= \text{berat sampel awal} - \text{berat sampel fraksi} \\ &= 21,1 \text{ gram} - 0,5707 \text{ gram} \\ &= 20,5293 \text{ gram}\end{aligned}$$

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat fraksi}}{\text{berat sampel}} \times \text{rendemen awal \%} = \frac{15,119 \text{ g}}{20,5293 \text{ g}} \times 7,902\% = 5,832\%$$

**Lampiran 4.** Perhitungan Data dan Hasil Uji Aktivitas Antikanker Fraksi Umbi Bawang Sabrang

**L.4.1 Perhitungan Konsentrasi Sel**

Kamar A = 149

Kamar B = 151

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

$$\begin{aligned}\sum \text{sel yang dihitung} &= \frac{\sum \text{sel kamar A} + \sum \text{sel kamar B}}{2} \times 10^4 \\ &= \frac{149+151}{2} \times 10^4 \\ &= 150 \times 10^4 / \text{mL}\end{aligned}$$

➤ Jumlah mL Panenan Sel yang Ditransfer (Konsentrasi Sel)

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 150 \cdot 10^4 = 10 \times 10^5$$

$$1,5 V_1 = 0,1 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,70 \text{ mL} = 700 \mu\text{L ad 10 ml}$$

Volume panenan sel yang ditransfer sebanyak 700  $\mu\text{L}$ , ditambahkan hingga 10 ml media kultur DMEM karena setiap sumuran akan diisi 100  $\mu\text{L}$  MK berisi sel, sehingga total volume yang diperlukan untuk memanen sel = 100  $\mu\text{L}$  x 100 sumuran = 10000  $\mu\text{L}$  atau 10 mL.

**L.4.2 Perhitungan IC<sub>50</sub> menggunakan *probit analysis* SPSS**

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

**Kontrol Sel**

<b>Ulangan 1</b>	<b>Ulangan 2</b>	<b>Ulangan 3</b>	<b>Jumlah</b>	<b>Rata-rata</b>
0,375	0,373	0,394	1,142	0,3807
0,287	0,293	0,338	0,918	0,306

**Kontrol Media**

<b>Ulangan 1</b>	<b>Ulangan 2</b>	<b>Ulangan 3</b>	<b>Jumlah</b>	<b>Rata-rata</b>
0,118	0,078	0,081	0,277	0,0923
0,128	0,6	0,61	1,338	0,446

**1. Fraksi n-heksan**

<b>Konsentrasi</b>	<b>Absorbansi</b>			<b>% viabilitas</b>		
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
125	0,1740	0,1740	0,1910	28,32375	28,32375	34,21969
62,5	0,1370	0,1380	0,1410	15,49141	15,83823	16,87869
31,25	0,1050	0,1080	0,1140	4,393169	5,433629	7,514549
15,625	0,0990	0,0970	0,1010	2,312249	1,618609	3,005889
7,8125	0,1790	0,1750	0,1730	30,05785	28,67057	27,97693
3,90625	0,3520	0,3280	0,3240	90,05771	81,73403	80,34675

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1740-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 28,32375\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1370-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 15,49141\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1050-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 3,005889\%$

b. Konsentrasi 62,5 ( $\mu\text{g/mL}$ )

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1370-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 15,83823\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1380-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 16,87869\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1410-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 16,87869\%$

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1050-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 4,393169\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1080-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 5,433629\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1140-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 7,514549\%$

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,0990-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 2,3122\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,0970-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 1,618609\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1010-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 3,005889\%$

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1790-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 30,05785\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1750-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 28,67057\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1730-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 27,97693\%$

f. Konsentrasi 3,90625 ( $\mu\text{g/mL}$ )

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,3520-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 90,05771\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,3280-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 81,73403\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,3240-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 80,34675\%$

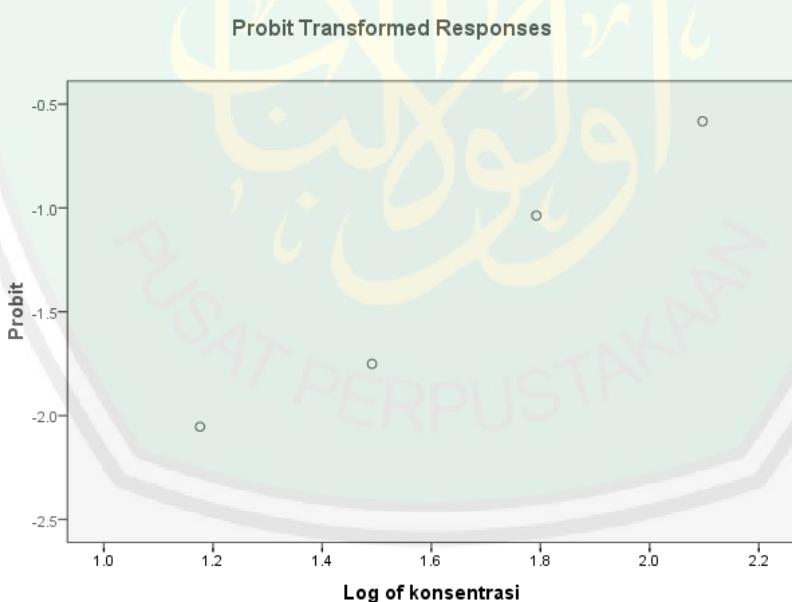
## Replikasi 1

**Confidence Limits**

	Probabil ity	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for $\log(\text{konsentrasi})^a$		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	0.01	11.889	4.636	19.272	1.075	.666	1.285
	0.02	17.135	7.999	25.573	1.234	.903	1.408
	0.03	21.607	11.273	30.694	1.335	1.052	1.487
	0.04	25.724	14.555	35.299	1.410	1.163	1.548
	0.05	29.646	17.876	39.642	1.472	1.252	1.598
	0.06	33.452	21.246	43.855	1.524	1.327	1.642
	0.07	37.188	24.663	48.025	1.570	1.392	1.681
	0.08	40.887	28.122	52.214	1.612	1.449	1.718
	0.09	44.569	31.612	56.475	1.649	1.500	1.752
	0.1	48.251	35.121	60.852	1.684	1.546	1.784
	0.15	67.024	52.518	85.701	1.826	1.720	1.933
	0.2	87.028	69.121	117.695	1.940	1.840	2.071
	0.25	108.887	85.215	158.636	2.037	1.931	2.200
	0.3	133.158	101.476	210.191	2.124	2.006	2.323
	0.35	160.453	118.472	274.720	2.205	2.074	2.439
	0.4	191.510	136.676	355.603	2.282	2.136	2.551
	0.45	227.268	156.554	457.602	2.357	2.195	2.660
	0.5	268.972	178.633	587.507	2.430	2.252	2.769
	0.55	318.328	203.576	755.217	2.503	2.309	2.878
	0.6	377.766	232.272	975.654	2.577	2.366	2.989
	0.65	450.885	265.988	1272.282	2.654	2.425	3.105
	0.7	543.310	306.632	1684.060	2.735	2.487	3.226
	0.75	664.415	357.284	2280.444	2.822	2.553	3.358
	0.8	831.293	423.365	3197.906	2.920	2.627	3.505

0.85	1079.411	515.683	4745.397	3.033	2.712	3.676
0.9	1499.376	660.537	7802.189	3.176	2.820	3.892
0.91	1623.240	701.179	8798.531	3.210	2.846	3.944
0.92	1769.425	748.145	10025.946	3.248	2.874	4.001
0.93	1945.403	803.397	11574.499	3.289	2.905	4.064
0.94	2162.711	869.908	13588.918	3.335	2.939	4.133
0.95	2440.332	952.465	16318.454	3.387	2.979	4.213
0.96	2812.364	1059.461	20234.841	3.449	3.025	4.306
0.97	3348.333	1207.516	26362.242	3.525	3.082	4.421
0.98	4222.159	1436.676	37475.599	3.626	3.157	4.574
0.99	6084.986	1888.888	65256.442	3.784	3.276	4.815

a. Logarithm base = 10.



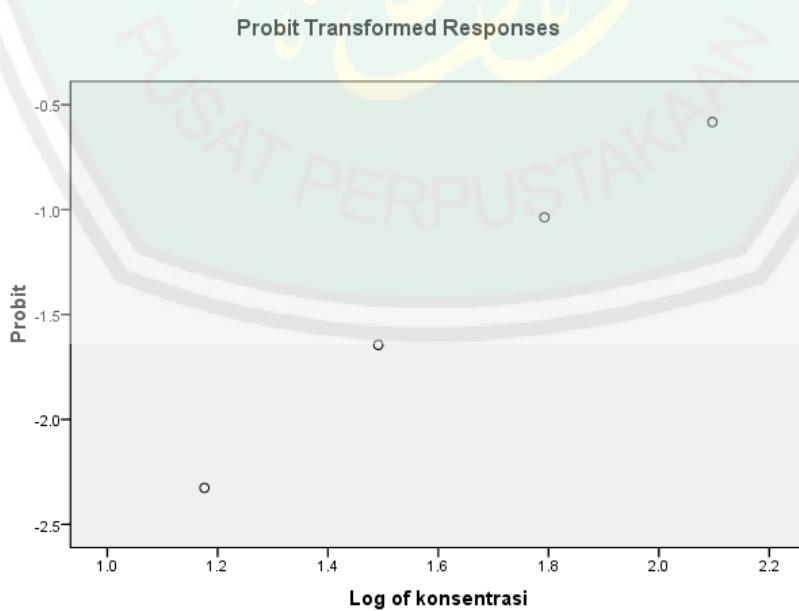
## Replikasi 2

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) <sup>a</sup>		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	0.01	12.997	5.373	20.572	1.114	.730	1.313
	0.02	18.399	8.983	26.953	1.265	.953	1.431
	0.03	22.938	12.412	32.083	1.361	1.094	1.506
	0.04	27.076	15.793	36.661	1.433	1.198	1.564
	0.05	30.988	19.170	40.949	1.491	1.283	1.612
	0.06	34.759	22.562	45.085	1.541	1.353	1.654
	0.07	38.441	25.973	49.154	1.585	1.415	1.692
	0.08	42.068	29.401	53.219	1.624	1.468	1.726
	0.09	45.663	32.840	57.330	1.660	1.516	1.758
	0.1	49.243	36.282	61.526	1.692	1.560	1.789
	0.15	67.308	53.203	84.923	1.828	1.726	1.929
	0.2	86.285	69.233	114.296	1.936	1.840	2.058
	0.25	106.776	84.657	151.173	2.028	1.928	2.179
	0.3	129.294	100.115	196.852	2.112	2.001	2.294
	0.35	154.378	116.148	253.152	2.189	2.065	2.403
	0.4	182.666	133.198	322.675	2.262	2.124	2.509
	0.45	214.959	151.693	409.085	2.332	2.181	2.612
	0.5	252.310	172.109	517.564	2.402	2.236	2.714
	0.55	296.150	195.032	655.612	2.472	2.290	2.817
	0.6	348.506	221.246	834.434	2.542	2.345	2.921

0.65	412.366	251.859	1071.478	2.615	2.401	3.030
0.7	492.369	288.531	1395.402	2.692	2.460	3.145
0.75	596.202	333.927	1856.707	2.775	2.524	3.269
0.8	737.791	392.720	2553.326	2.868	2.594	3.407
0.85	945.800	474.178	3703.595	2.976	2.676	3.569
0.9	1292.764	600.710	5917.283	3.112	2.779	3.772
0.91	1394.119	635.974	6626.893	3.144	2.803	3.821
0.92	1513.252	676.612	7494.788	3.180	2.830	3.875
0.93	1656.030	724.273	8581.143	3.219	2.860	3.934
0.94	1831.472	781.451	9981.989	3.263	2.893	3.999
0.95	2054.361	852.154	11861.422	3.313	2.931	4.074
0.96	2351.123	943.379	14527.235	3.371	2.975	4.162
0.97	2775.332	1068.938	18640.512	3.443	3.029	4.270
0.98	3460.023	1261.946	25968.082	3.539	3.101	4.414
0.99	4897.957	1638.948	43799.463	3.690	3.215	4.641

a. Logarithm base = 10.



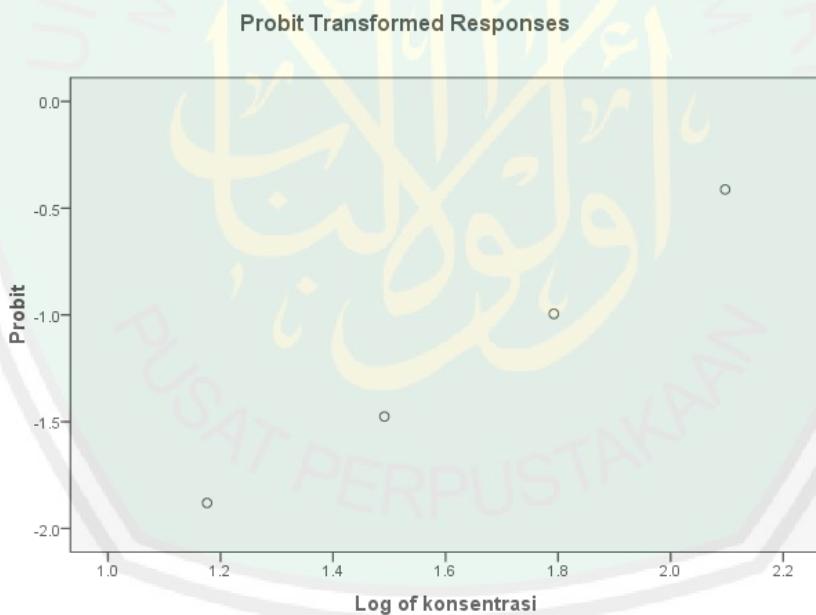
### Replikasi 3

**Confidence Limits**

	Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) <sup>a</sup>		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	0.01	9.095	3.494	15.142	.959	.543	1.180
	0.02	13.287	6.058	20.351	1.123	.782	1.309
	0.03	16.899	8.568	24.607	1.228	.933	1.391
	0.04	20.251	11.101	28.438	1.306	1.045	1.454
	0.05	23.461	13.682	32.044	1.370	1.136	1.506
	0.06	26.592	16.320	35.527	1.425	1.213	1.551
	0.07	29.679	19.018	38.953	1.472	1.279	1.591
	0.08	32.746	21.775	42.368	1.515	1.338	1.627
	0.09	35.810	24.588	45.809	1.554	1.391	1.661
	0.1	38.882	27.450	49.306	1.590	1.439	1.693
	0.15	54.674	42.236	68.560	1.738	1.626	1.836
	0.2	71.685	57.156	92.725	1.855	1.757	1.967
	0.25	90.440	71.944	123.732	1.956	1.857	2.092
	0.3	111.430	86.963	163.077	2.047	1.939	2.212
	0.35	135.205	102.703	212.596	2.131	2.012	2.328
	0.4	162.439	119.625	274.886	2.211	2.078	2.439
	0.45	194.000	138.191	353.634	2.288	2.140	2.549
	0.5	231.041	158.926	454.119	2.364	2.201	2.657
	0.55	275.154	182.490	584.060	2.440	2.261	2.766
	0.6	328.614	209.771	755.110	2.517	2.322	2.878
	0.65	394.808	242.038	985.619	2.596	2.384	2.994
	0.7	479.046	281.212	1306.084	2.680	2.449	3.116
	0.75	590.225	330.408	1770.938	2.771	2.519	3.248
	0.8	744.645	395.134	2487.270	2.872	2.597	3.396
	0.85	976.331	486.442	3697.852	2.990	2.687	3.568

0.9	1372.858	631.425	6094.818	3.138	2.800	3.785	
0.91	1490.661	672.425	6877.278	3.173	2.828	3.837	
0.92	1630.122	719.963	7841.842	3.212	2.857	3.894	
0.93	1798.573	776.091	9059.650	3.255	2.890	3.957	
0.94	2007.364	843.928	10645.091	3.303	2.926	4.027	
0.95	2275.234	928.515	12795.309	3.357	2.968	4.107	
0.96	2635.960	1038.720	15883.731	3.421	3.016	4.201	
0.97	3158.723	1192.186	20721.892	3.500	3.076	4.316	
0.98	4017.541	1431.675	29511.414	3.604	3.156	4.470	
0.99	5869.276	1910.041	51537.643	3.769	3.281	4.712	

a. Logarithm base = 10.



## 2. Fraksi Kloroform

<b>Konsentrasi</b>	<b>Absorbansi</b>			<b>% viabilitas</b>		
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
125	0,1840	0,2020	0,2160	31,79195	38,03471	42,89019
62,5	0,1380	0,1580	0,1420	15,83823	22,77463	17,22551
31,25	0,1560	0,1380	0,1410	22,08099	15,83823	16,87869
15,625	0,1330	0,1330	0,1360	14,10413	14,10413	15,14459
7,8125	0,1340	0,1430	0,1360	14,45095	17,57233	15,14459
3,90625	0,1520	0,1420	0,1410	20,69371	17,22551	16,87869

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1840-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 31,79195 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,2020-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 38,03471 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,2160-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 42,89019 \%$

b. Konsentrasi 62,5 ( $\mu\text{g/mL}$ )

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1380-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 15,83823 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1580-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 22,77464 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1420-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 17,22551 \%$

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1560-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 22,08099 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1380-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 15,83823 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1410-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 16,87869 \%$

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1330-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 14,10413 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1330-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 14,10413 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1360-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 15,14459 \%$

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1340-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 14,45095 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1430-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 17,57233 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1360-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 15,14459 \%$

f. Konsentrasi 3,90625 ( $\mu\text{g/mL}$ )

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1520-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 20,69371\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1420-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 17,22551\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1410-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 16,87869\%$



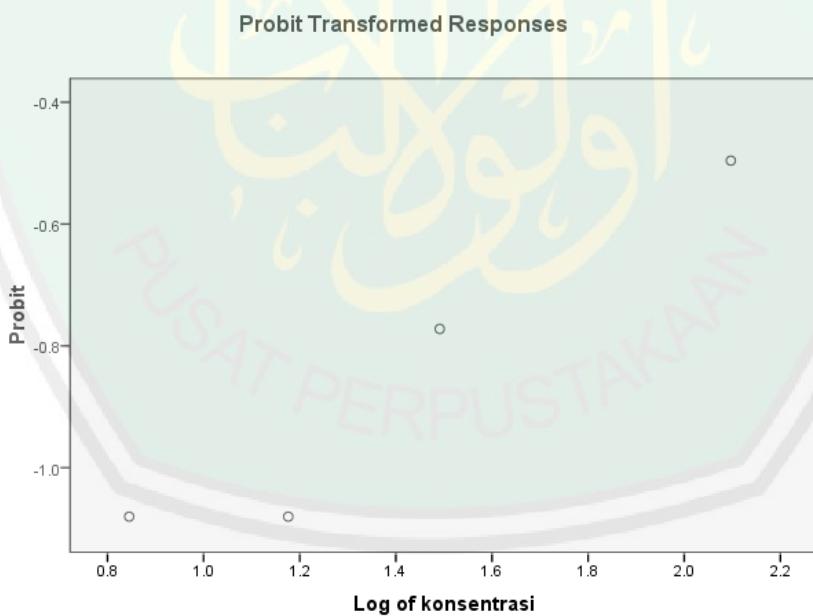
## Replikasi 1

**Confidence Limits**

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) <sup>a</sup>			
	Estimate	Lower	Upper Bound	Estimate	Lower	Upper	
		Bound	Bound		Bound	Bound	
PROBIT	.01	.034	.000	.440	-1.467	-5.700	-.357
	0.02	.116	.000	.961	-.936	-4.410	-.017
	0.03	.252	.000	1.583	-.598	-3.593	.199
	0.04	.453	.001	2.309	-.344	-2.979	.363
	0.05	.728	.003	3.146	-.138	-2.481	.498
	0.06	1.092	.009	4.103	.038	-2.058	.613
	0.07	1.557	.021	5.192	.192	-1.688	.715
	0.08	2.139	.044	6.425	.330	-1.358	.808
	0.09	2.856	.087	7.821	.456	-1.059	.893
	0.1	3.727	.164	9.404	.571	-.785	.973
	0.15	11.211	2.073	21.707	1.050	.317	1.337
	0.2	26.904	11.623	56.542	1.430	1.065	1.752
	0.25	57.011	30.185	217.212	1.756	1.480	2.337
	0.3	111.902	53.982	958.408	2.049	1.732	2.982
	0.35	209.045	85.541	4101.514	2.320	1.932	3.613
	0.4	378.243	128.847	16744.903	2.578	2.110	4.224
	0.45	671.331	189.175	66115.875	2.827	2.277	4.820
	0.5	1180.733	274.231	257135.566	3.072	2.438	5.410
	0.55	2076.667	395.907	1004145.814	3.317	2.598	6.002
	0.6	3685.805	573.369	4019451.965	3.567	2.758	6.604
	0.65	6669.059	839.066	1.689E7	3.824	2.924	7.228
	0.7	12458.471	1251.334	7.680E7	4.095	3.097	7.885
	0.75	24453.906	1923.607	3.942E8	4.388	3.284	8.596
	0.8	51818.865	3101.358	2.440E9	4.714	3.492	9.387
	0.85	1.243E5	5405.645	2.044E10	5.095	3.733	10.310

0.9	3.741E5	10862.037	2.969E11	5.573	4.036	11.473
0.91	4.881E5	12854.068	5.666E11	5.688	4.109	11.753
0.92	6.516E5	15433.341	1.144E12	5.814	4.188	12.058
0.93	8.954E5	18869.375	2.476E12	5.952	4.276	12.394
0.94	1.277E6	23616.922	5.866E12	6.106	4.373	12.768
0.95	1.914E6	30503.269	1.569E13	6.282	4.484	13.196
0.96	3.079E6	41196.140	4.986E13	6.488	4.615	13.698
0.97	5.525E6	59599.592	2.066E14	6.742	4.775	14.315
0.98	1.202E7	97356.118	1.367E15	7.080	4.988	15.136
0.99	4.091E7	210912.89	2.688E16	7.612	5.324	16.429

a. Logarithm base = 10.



## Replikasi 2

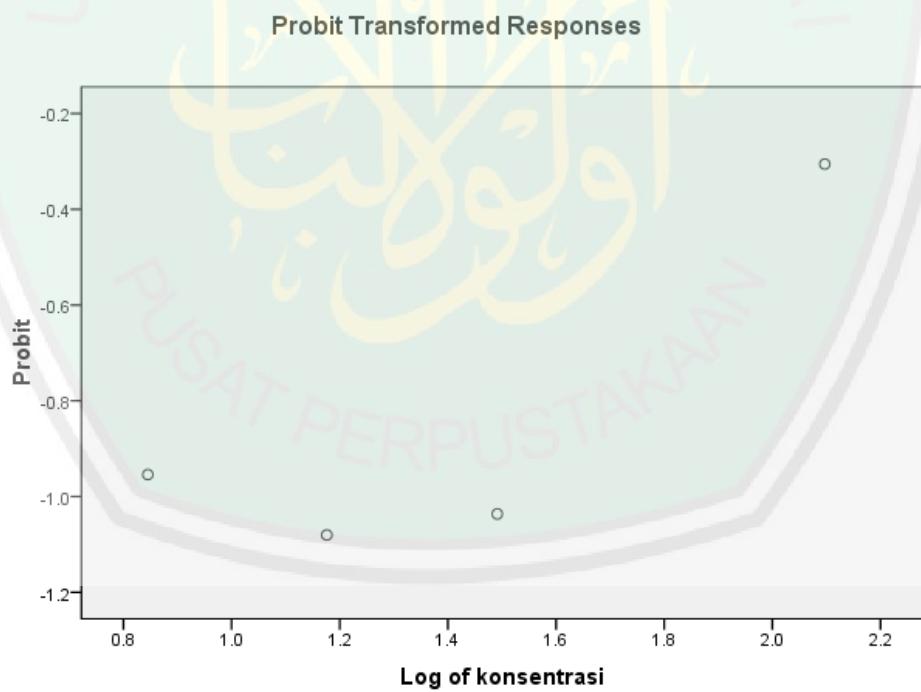
**Confidence Limits**

Probabil ity	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for $\log(\text{konsentrasi})^b$		
	Estimate	Lower	Upper	Estimate	Lower	Upper
		Bound	Bound		Bound	Bound
PROBIT <sup>a</sup>	.01	.077	.	-.116	.	.
	.02	.221	.	-.656	.	.
	.03	.433	.	-.364	.	.
	.04	.718	.	-.144	.	.
	.05	1.084	.	.035	.	.
	.06	1.538	.	.187	.	.
	.07	2.092	.	.320	.	.
	.08	2.754	.	.440	.	.
	.09	3.536	.	.549	.	.
	.1	4.452	.	.649	.	.
	.15	11.547	.	1.062	.	.
	.2	24.632	.	1.391	.	.
	.25	47.180	.	1.674	.	.
	.3	84.574	.	1.927	.	.
	.35	145.253	.	2.162	.	.
	.4	242.667	.	2.385	.	.
	.45	398.708	.	2.601	.	.
	<b>0.5</b>	<b>649.951</b>	.	<b>2.813</b>	.	.
	.55	1059.511	.	3.025	.	.
	.6	1740.803	.	3.241	.	.
	.65	2908.272	.	3.464	.	.
	.7	4994.850	.	3.699	.	.
	.75	8953.710	.	3.952	.	.
	.8	17150.060	.	4.234	.	.
	.85	36582.820	.	4.563	.	.

0.9	94896.202			4.977	
0.91	1.195E5			5.077	
0.92	1.534E5			5.186	
0.93	2.020E5			5.305	
0.94	2.746E5			5.439	
0.95	3.898E5			5.591	
0.96	5.882E5			5.770	
0.97	9.756E5			5.989	
0.98	1.912E6			6.281	
0.99	5.518E6			6.742	

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.



### Replikasi 3

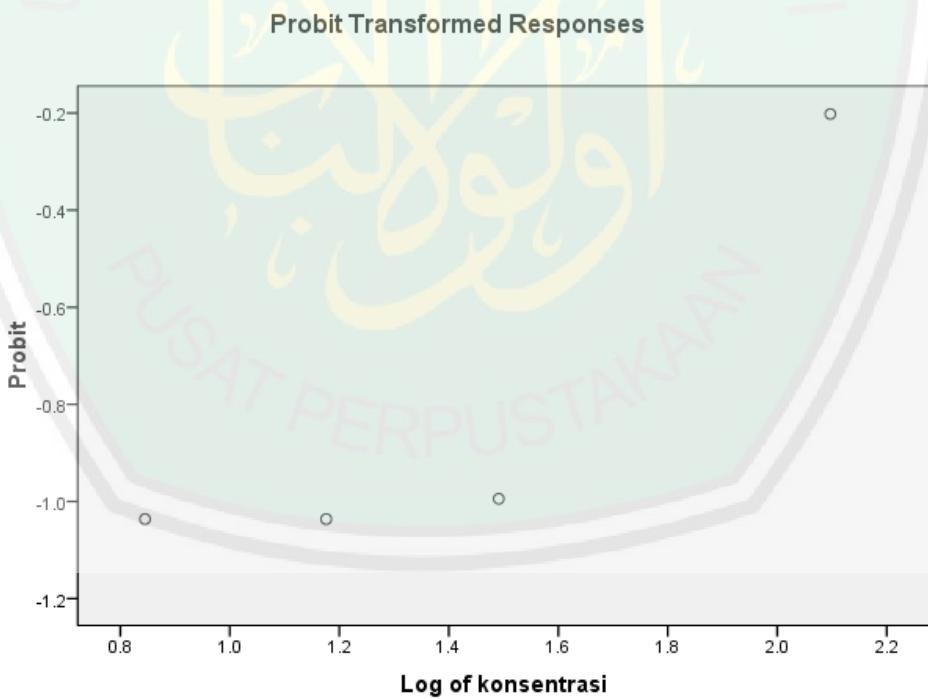
**Confidence Limits**

Probabil ity	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for $\log(\text{konsentrasi})^b$		
	Estimate	Lower	Upper	Estimate	Lower	Upper
		Bound	Bound		Bound	Bound
PROBIT <sup>a</sup>	.212	.	.	-.675	.	.
0.01	.501	.	.	-.300	.	.
0.02	.865	.	.	-.063	.	.
0.03	1.306	.	.	.116	.	.
0.04	1.824	.	.	.261	.	.
0.05	2.426	.	.	.385	.	.
0.06	3.114	.	.	.493	.	.
0.07	3.894	.	.	.590	.	.
0.08	4.771	.	.	.679	.	.
0.09	5.753	.	.	.760	.	.
0.1	12.487	.	.	1.096	.	.
0.15	23.117	.	.	1.364	.	.
0.2	39.209	.	.	1.593	.	.
0.25	63.017	.	.	1.799	.	.
0.3	97.815	.	.	1.990	.	.
0.35	148.455	.	.	2.172	.	.
0.4	222.280	.	.	2.347	.	.
0.45	330.694	.	.	2.519	.	.
0.5	491.986	.	.	2.692	.	.
0.55	736.644	.	.	2.867	.	.
0.6	1118.020	.	.	3.048	.	.
0.65	1735.396	.	.	3.239	.	.
0.7	2789.090	.	.	3.445	.	.
0.75	4730.691	.	.	3.675	.	.
0.8	8757.710	.	.	3.942	.	.
0.85						

0.9	19007.448	4.279
0.91	22919.588	4.360
0.92	28087.283	4.449
0.93	35123.964	4.546
0.94	45086.039	4.654
0.95	59940.013	4.778
0.96	83756.543	4.923
0.97	1.264E5	5.102
0.98	2.183E5	5.339
0.99	5.169E5	5.713

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.



### **3. Fraksi Etil Asetat**

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas		
	1	2	3	1	2	3
125	0,1960	0,1850	0,1810	35,95379	32,13877	30,75149
62,5	0,1910	0,1970	0,1470	34,21969	36,30061	18,95961
31,25	0,2690	0,2320	0,2240	61,27165	48,43931	45,66475
15,625	0,3360	0,3230	0,3110	84,50859	79,99993	75,83809
7,8125	0,3870	0,3800	0,3910	100	99,76867	100
3,90625	0,4150	0,3870	0,3600	100	100	92,83227

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

  - Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1960-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 35,95379 \%$
  - Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1850-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 32,13877 \%$
  - Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1810-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 30,75149 \%$

b. Konsentrasi 62,5 ( $\mu\text{g/mL}$ )

  - Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1910-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 34,21969 \%$
  - Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1970-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 36,30061 \%$
  - Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1470-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 18,95961 \%$

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

  - Persentase sel hidup =  $\frac{(0,2690-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 61,27165 \%$
  - Persentase sel hidup =  $\frac{(0,2320-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 48,43931 \%$
  - Persentase sel hidup =  $\frac{(0,2240-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 45,66475 \%$

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

  - Persentase sel hidup =  $\frac{(0,3360-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 84,50859 \%$
  - Persentase sel hidup =  $\frac{(0,3230-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 79,99993 \%$
  - Persentase sel hidup =  $\frac{(0,3110-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 75,83809 \%$

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

  - Persentase sel hidup =  $\frac{(0,3870-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$
  - Persentase sel hidup =  $\frac{(0,3800-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 99,76867 \%$
  - Persentase sel hidup =  $\frac{(0,3910-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$

f. Konsentrasi 3,90625 ( $\mu\text{g/mL}$ )

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,4150-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,3870-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,3600-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 92,83227 \%$

### Replikasi 1

Confidence Limits

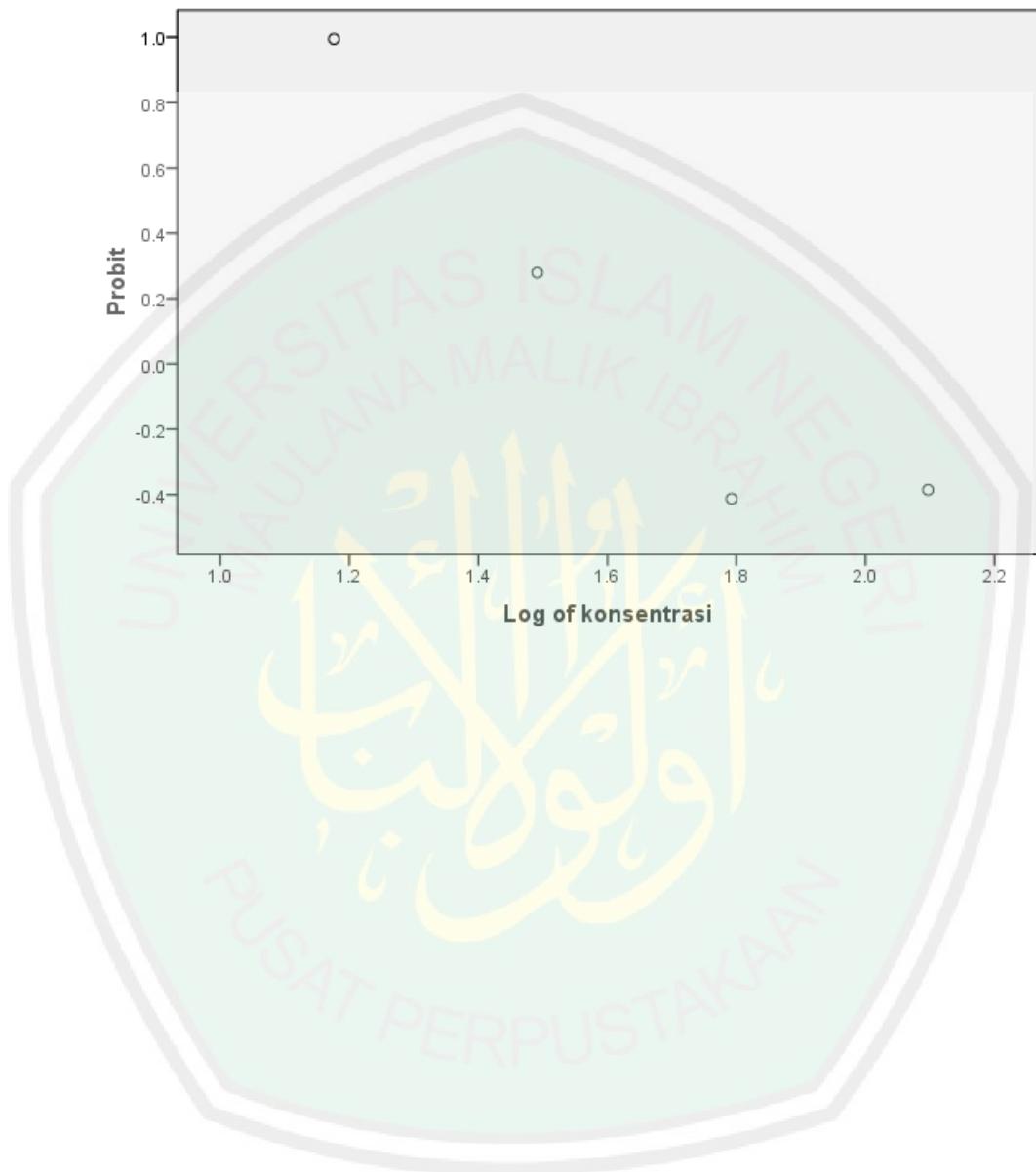
Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) <sup>b</sup>			
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	
PROBIT <sup>a</sup>	0.01	813.863	276.479	17384.475	2.911	2.442	4.240
	0.02	590.987	221.454	9293.547	2.772	2.345	3.968
	0.03	482.396	192.181	6252.332	2.683	2.284	3.796
	0.04	414.070	172.632	4643.234	2.617	2.237	3.667
	0.05	365.695	158.131	3646.819	2.563	2.199	3.562
	0.06	329.000	146.696	2970.233	2.517	2.166	3.473
	0.07	299.868	137.306	2481.938	2.477	2.138	3.395
	0.08	275.979	129.371	2113.880	2.441	2.112	3.325
	0.09	255.910	122.521	1827.255	2.408	2.088	3.262
	0.1	238.729	116.506	1598.298	2.378	2.066	3.204
	0.15	179.036	94.292	921.102	2.253	1.974	2.964
	0.2	142.437	79.313	597.298	2.154	1.899	2.776
	0.25	117.063	68.035	413.967	2.068	1.833	2.617
	0.3	98.153	58.955	299.477	1.992	1.771	2.476
	0.35	83.368	51.298	223.279	1.921	1.710	2.349
	0.4	71.403	44.610	170.286	1.854	1.649	2.231
	0.45	61.464	38.606	132.258	1.789	1.587	2.121
	0.5	53.034	33.100	104.339	1.725	1.520	2.018
	0.55	45.761	27.979	83.488	1.660	1.447	1.922
	0.6	39.391	23.195	67.691	1.595	1.365	1.831
	0.65	33.738	18.752	55.533	1.528	1.273	1.745

0.7	28.656	14.692	45.981	1.457	1.167	1.663
0.75	24.027	11.070	38.254	1.381	1.044	1.583
0.8	19.747	7.927	31.759	1.295	.899	1.502
0.85	15.710	5.277	26.026	1.196	.722	1.415
0.9	11.782	3.106	20.622	1.071	.492	1.314
0.91	10.991	2.727	19.535	1.041	.436	1.291
0.92	10.192	2.366	18.433	1.008	.374	1.266
0.93	9.380	2.022	17.305	.972	.306	1.238
0.94	8.549	1.696	16.140	.932	.229	1.208
0.95	7.691	1.386	14.920	.886	.142	1.174
0.96	6.793	1.093	13.618	.832	.038	1.134
0.97	5.831	.814	12.188	.766	-.089	1.086
0.98	4.759	.550	10.535	.678	-.260	1.023
0.99	3.456	.295	8.400	.539	-.530	.924

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Probit Transformed Responses



## Replikasi 2

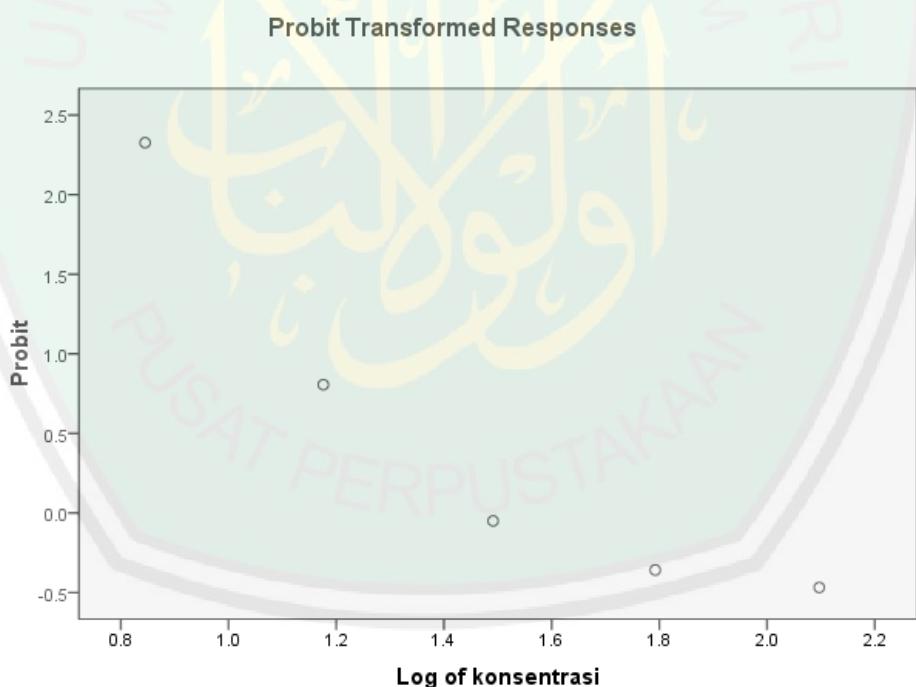
**Confidence Limits**

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower	Upper	Estimate	Lower	Upper
		Bound	Bound		Bound	Bound
PROBIT <sup>a</sup>	817.207	252.729	31061.057	2.912	2.403	4.492
0.01	582.867	200.773	15278.097	2.766	2.303	4.184
0.02	470.385	173.295	9751.357	2.672	2.239	3.989
0.03	400.318	155.016	6961.419	2.602	2.190	3.843
0.04	351.097	141.498	5295.254	2.545	2.151	3.724
0.05	314.000	130.863	4197.235	2.497	2.117	3.623
0.06	284.713	122.149	3424.906	2.454	2.087	3.535
0.07	260.815	114.799	2855.816	2.416	2.060	3.456
0.08	240.827	108.463	2421.591	2.382	2.035	3.384
0.09	223.785	102.909	2081.133	2.350	2.012	3.318
0.1	165.145	82.459	1115.724	2.218	1.916	3.048
0.15	129.712	68.729	683.927	2.113	1.837	2.835
0.2	105.439	58.419	452.266	2.023	1.767	2.655
0.25	87.538	50.131	314.156	1.942	1.700	2.497
0.3	73.674	43.148	225.990	1.867	1.635	2.354
0.35	62.555	37.050	166.988	1.796	1.569	2.223
0.4	53.397	31.580	126.154	1.728	1.499	2.101
0.45	45.695	26.580	97.194	1.660	1.425	1.988
0.5	39.103	21.966	76.264	1.592	1.342	1.882
0.55	33.379	17.720	60.879	1.523	1.248	1.784
0.6	28.341	13.870	49.348	1.452	1.142	1.693
0.65	23.853	10.470	40.477	1.378	1.020	1.607
0.7	19.803	7.560	33.415	1.297	.879	1.524
0.75	16.097	5.155	27.545	1.207	.712	1.440
0.8	12.644	3.237	22.409	1.102	.510	1.350
0.85						

0.9	9.330	1.770	17.609	.970	.248	1.246
0.91	8.670	1.526	16.649	.938	.184	1.221
0.92	8.006	1.299	15.677	.903	.113	1.195
0.93	7.334	1.086	14.685	.865	.036	1.167
0.94	6.650	.889	13.662	.823	-.051	1.136
0.95	5.947	.707	12.594	.774	-.150	1.100
0.96	5.216	.540	11.459	.717	-.268	1.059
0.97	4.439	.387	10.216	.647	-.413	1.009
0.98	3.582	.248	8.786	.554	-.606	.944
0.99	2.555	.122	6.950	.407	-.912	.842

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.



### Replikasi 3

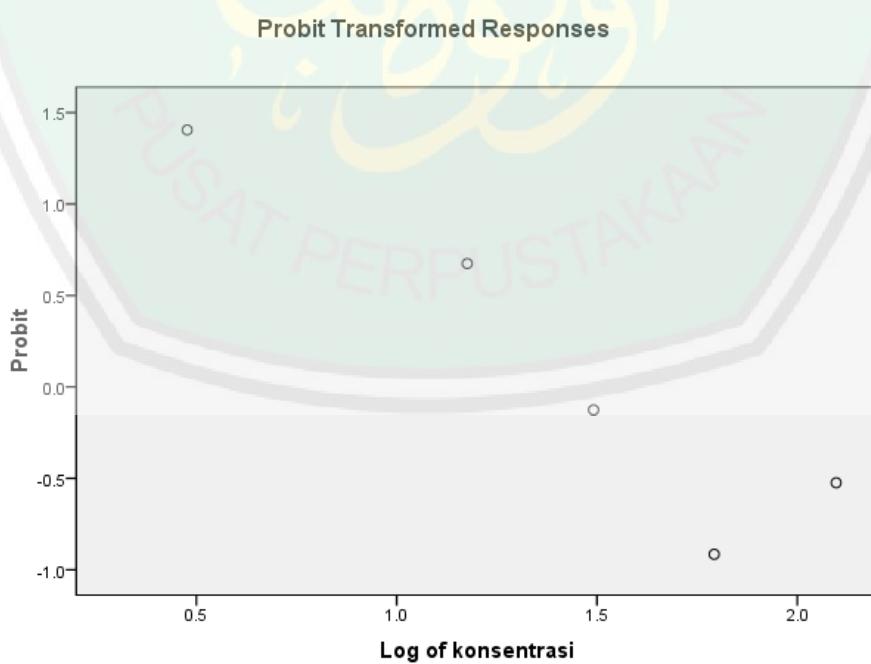
**Confidence Limits**

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower	Upper	Estimate	Lower	Upper
		Bound	Bound		Bound	Bound
PROBIT <sup>a</sup>	838.294	187.814	1350882.785	2.923	2.274	6.131
0.01	577.260	148.294	424620.501	2.761	2.171	5.628
0.02	455.588	127.410	204140.381	2.659	2.105	5.310
0.03	381.276	113.521	117813.100	2.581	2.055	5.071
0.04	329.865	103.250	75407.052	2.518	2.014	4.877
0.05	291.605	95.168	51619.518	2.465	1.978	4.713
0.06	261.728	88.544	37050.165	2.418	1.947	4.569
0.07	237.583	82.954	27548.690	2.376	1.919	4.440
0.08	217.565	78.133	21052.790	2.338	1.893	4.323
0.09	200.632	73.904	16445.034	2.302	1.869	4.216
0.1	143.453	58.296	5954.670	2.157	1.766	3.775
0.15	109.880	47.753	2685.186	2.041	1.679	3.429
0.2	87.414	39.770	1372.016	1.942	1.600	3.137
0.25	71.182	33.284	761.110	1.852	1.522	2.881
0.3	58.844	27.751	448.357	1.770	1.443	2.652
0.35	49.121	22.860	277.211	1.691	1.359	2.443
0.4	41.245	18.439	178.924	1.615	1.266	2.253
0.45	34.728	14.415	120.392	1.541	1.159	2.081
0.5	29.241	10.806	84.483	1.466	1.034	1.927
0.55	24.553	7.692	61.791	1.390	.886	1.791
0.6	20.496	5.159	46.920	1.312	.713	1.671
0.65	16.943	3.239	36.702	1.229	.510	1.565
0.7						

0.75	13.797	1.886	29.267	1.140	.276	1.466
0.8	10.976	.999	23.507	1.040	.000	1.371
0.85	8.407	.463	18.734	.925	-.334	1.273
0.9	6.011	.171	14.464	.779	-.766	1.160
0.91	5.543	.134	13.630	.744	-.872	1.134
0.92	5.076	.103	12.791	.706	-.987	1.107
0.93	4.608	.077	11.941	.664	-1.114	1.077
0.94	4.136	.055	11.072	.617	-1.257	1.044
0.95	3.656	.038	10.170	.563	-1.420	1.007
0.96	3.163	.024	9.218	.500	-1.612	.965
0.97	2.647	.014	8.185	.423	-1.849	.913
0.98	2.089	.007	7.006	.320	-2.166	.845
0.99	1.439	.002	5.507	.158	-2.666	.741

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.



#### 4. Fraksi Air

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas		
	1	2	3	1	2	3
125	0,415	0,406	0,398	100	100	100
62,5	0,437	0,436	0,432	100	100	100
31,25	0,427	0,439	0,432	100	100	100
15,625	0,416	0,42	0,411	100	100	100
7,8125	0,404	0,423	0,376	100	100	98,38139
3,90625	0,389	0,375	0,377	100	98,03457	98,72821

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,415-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,406-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,398-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$

b. Konsentrasi 62,5 ( $\mu\text{g/mL}$ )

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,437-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,436-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,432-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,427-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,439-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,432-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,416-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,420-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,411-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,404-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,423-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 100 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,376-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 98,38139 \%$

f. Konsentrasi 3,90625 ( $\mu\text{g/mL}$ )

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,389-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 100\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,375-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 98,03457\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,377-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100\% = 98,72821\%$



## 5. Cisplatin

Konsentrasi	Absorbansi			% viabilitas		
	1	2	3	1	2	3
100	0,1500	0,1760	0,1440	20,00007	29,01739	17,9191
50	0,1370	0,1380	0,1370	15,49141	15,83823	15,49141
25	0,0990	0,1190	0,1550	100	100	100
12,5	0,1480	0,1470	0,1750	66,81614	67,04036	60,76233
6,25	0,1670	0,2040	0,1960	62,55605	54,26009	56,05381
3,125	0,1710	0,1800	0,2010	61,65919	59,64126	54,93274
1,5625	0,1220	0,1790	0,2270	72,64574	59,86547	49,10314

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1500-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 20,00007 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1760-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 29,01739 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1440-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 17,9191 \%$

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1370-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 15,49141 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1380-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 15,83823 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1370-0,0923)}{(0,3807-0,0923)} \times 100 \% = 15,49141 \%$

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,0990-0,446)}{(0,306-0,446)} \times 100 \% = 100 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1190-0,446)}{(0,306-0,446)} \times 100 \% = 100 \%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1550-0,446)}{(0,306-0,446)} \times 100 \% = 100 \%$

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1480-0,446)}{(0,306-0,446)} \times 100 \% = 66,81614 \%$

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1470-0,446)}{(0,306-0,446)} \times 100\% = 67,04036\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,750-0,446)}{(0,306-0,446)} \times 100\% = 60,76233\%$

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

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1670-0,446)}{(0,306-0,446)} \times 100\% = 62,55605\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,2040-0,446)}{(0,306-0,446)} \times 100\% = 54,26009\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1960-0,446)}{(0,306-0,446)} \times 100\% = 56,05381\%$

f. Konsentrasi 3,125 ( $\mu\text{g/mL}$ )

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1710-0,446)}{(0,306-0,446)} \times 100\% = 61,65919\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1800-0,446)}{(0,306-0,446)} \times 100\% = 59,64126\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,2010-0,446)}{(0,306-0,446)} \times 100\% = 54,93274\%$

g. Konsentrasi 1,5625 ( $\mu\text{g/mL}$ )

- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1220-0,446)}{(0,306-0,446)} \times 100\% = 72,64574\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,1790-0,446)}{(0,306-0,446)} \times 100\% = 59,86547\%$
- Persentase sel hidup =  $\frac{(0,2270-0,446)}{(0,306-0,446)} \times 100\% = 49,10314\%$

## Replikasi 1

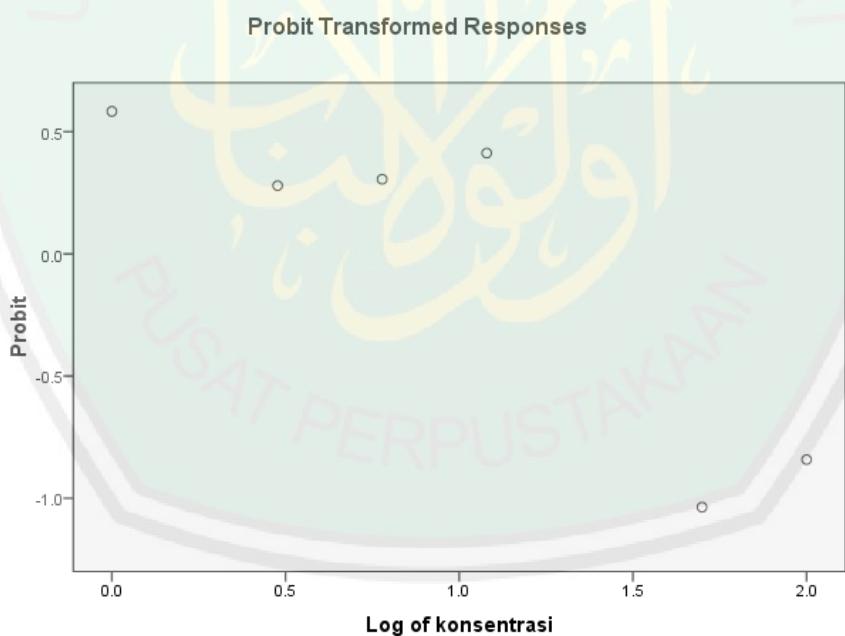
**Confidence Limits**

Probabil ity	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower	Upper	Estimate	Lower	Upper
		Bound	Bound		Bound	Bound
PROBIT <sup>a</sup>	0.01	1.722E5		5.236		
	0.02	60380.868		4.781		
	0.03	31055.140		4.492		
	0.04	18832.422		4.275		
	0.05	12537.430		4.098		
	0.06	8867.701		3.948		
	0.07	6545.486		3.816		
	0.08	4987.338		3.698		
	0.09	3894.808		3.590		
	0.1	3101.988		3.492		
	0.15	1208.902		3.082		
	0.2	571.654		2.757		
	0.25	300.670		2.478		
	0.3	168.850		2.228		
	0.35	98.922		1.995		
	0.4	59.560		1.775		
	0.45	36.456		1.562		
	0.5	22.489		1.352		
	0.55	13.873		1.142		
	0.6	8.491		.929		
	0.65	5.113		.709		
	0.7	2.995		.476		
	0.75	1.682		.226		
	0.8	.885		-.053		
	0.85	.418		-.378		

0.9	.163		-.788
0.91	.130		-.887
0.92	.101		-.994
0.93	.077		-1.112
0.94	.057		-1.244
0.95	.040		-1.394
0.96	.027		-1.571
0.97	.016		-1.788
0.98	.008		-2.077
0.99	.003		-2.532

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.



## Replikasi 2

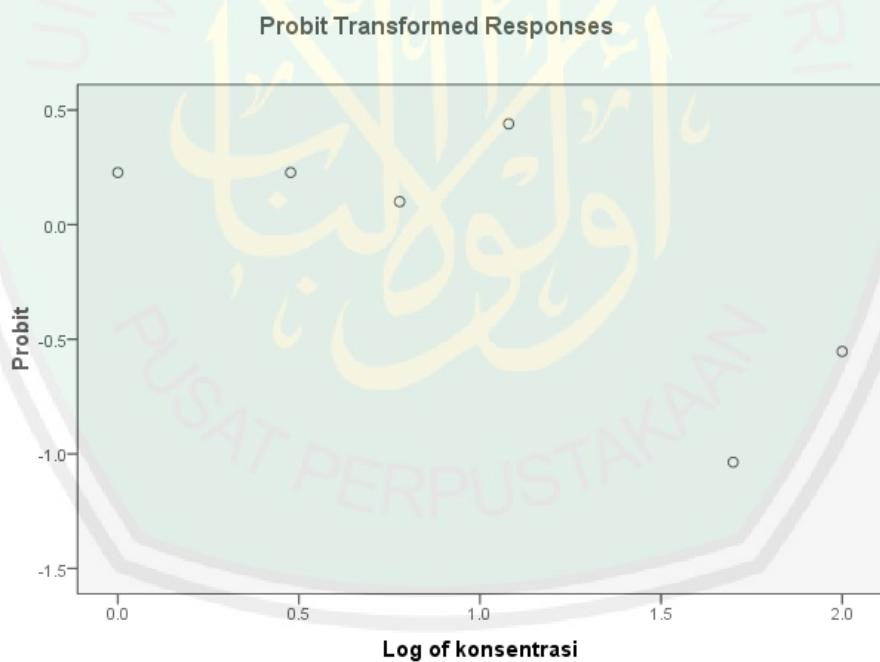
**Confidence Limits**

Probabil ity	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower	Upper	Estimate	Lower	Upper
		Bound	Bound		Bound	Bound
PROBIT <sup>a</sup>	9.569E7			7.981		
0.01	1.621E7			7.210		
0.02	5.256E6			6.721		
0.03	2.252E6			6.353		
0.04	1.131E6			6.053		
0.05	6.288E5			5.798		
0.06	3.759E5			5.575		
0.07	2.372E5			5.375		
0.08	1.560E5			5.193		
0.09	1.061E5			5.026		
0.1	21497.057			4.332		
0.15	6044.487			3.781		
0.2	2035.325			3.309		
0.25	765.793			2.884		
0.3	309.548			2.491		
0.35	131.053			2.117		
0.4	57.055			1.756		
0.45	25.169			1.401		
0.5	11.103			1.045		
0.55	4.834			.684		
0.6	2.046			.311		
0.65	.827			-.082		
0.7	.311			-.507		
0.75	.105			-.980		
0.8	.029			-1.531		
0.85						

0.9	.006	-2.224
0.91	.004	-2.391
0.92	.003	-2.573
0.93	.002	-2.773
0.94	.001	-2.997
0.95	.001	-3.252
0.96	.000	-3.551
0.97	.000	-3.919
0.98	.000	-4.408
0.99	.000	-5.179

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.



### Replikasi 3

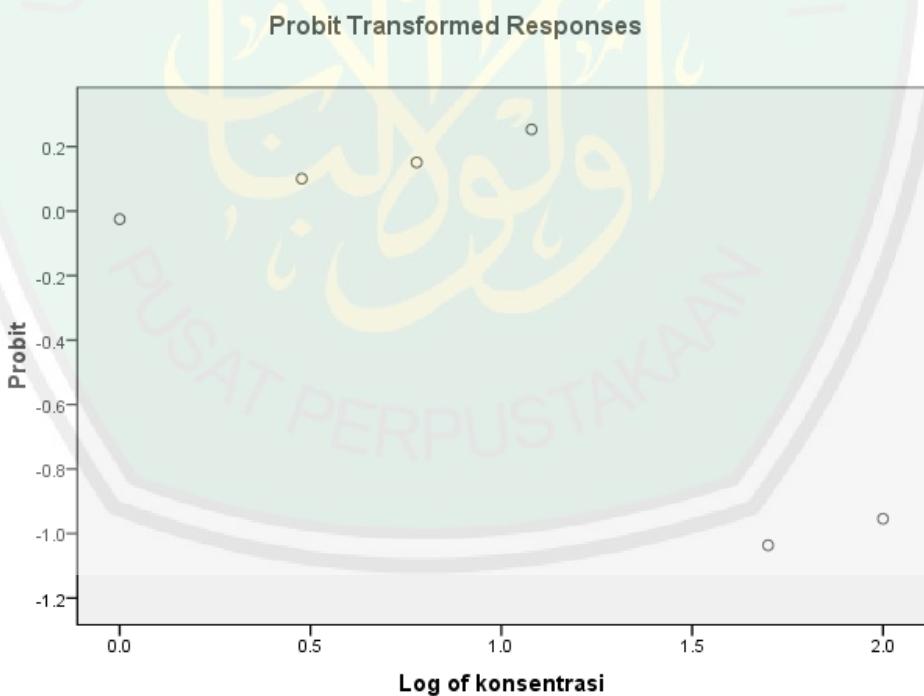
**Confidence Limits**

Probabil ity	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) <sup>b</sup>		
	Estimate	Lower	Upper	Estimate	Lower	Upper
		Bound	Bound		Bound	Bound
PROBIT <sup>a</sup>	8.438E7			7.926		
0.01	1.326E7			7.122		
0.02	4.096E6			6.612		
0.03	1.693E6			6.229		
0.04	8.254E5			5.917		
0.05	4.477E5			5.651		
0.06	2.619E5			5.418		
0.07	1.620E5			5.210		
0.08	1.047E5			5.020		
0.09	70039.321			4.845		
0.1	13259.727			4.123		
0.15	3532.403			3.548		
0.2	1135.614			3.055		
0.25	409.870			2.613		
0.3	159.414			2.203		
0.35	65.067			1.813		
0.4	27.343			1.437		
0.45	11.649			1.066		
0.5						
0.55	4.963			.696		
0.6	2.086			.319		
0.65	.851			-.070		
0.7	.331			-.480		
0.75	.119			-.923		
0.8	.038			-1.415		
0.85	.010			-1.990		

0.9	.002		-2.713
0.91	.001		-2.887
0.92	.001		-3.077
0.93	.001		-3.286
0.94	.000		-3.518
0.95	.000		-3.784
0.96	.000		-4.096
0.97	.000		-4.480
0.98	.000		-4.990
0.99	.000		-5.794

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.



## Lampiran 5. Determinasi Tanaman Umbi Bawang Sabrang



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

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



### SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 0065 /IPH.6/HM/I/2017

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

Trian Sidha Minggarwati, NIM : 13670021

Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 10 Januari 2017, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume III, tahun 1968, halaman 150 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Eleutherina*

Species : *Eleutherina palmifolia* (L.) Merr.

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

Divisio : *Magnoliophyta*

Class : *Liliopsida*

Subclass : *Liliidae*

Ordo : *Liliales*

Family : *Iridaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 19 Januari 2017

An. Kepala

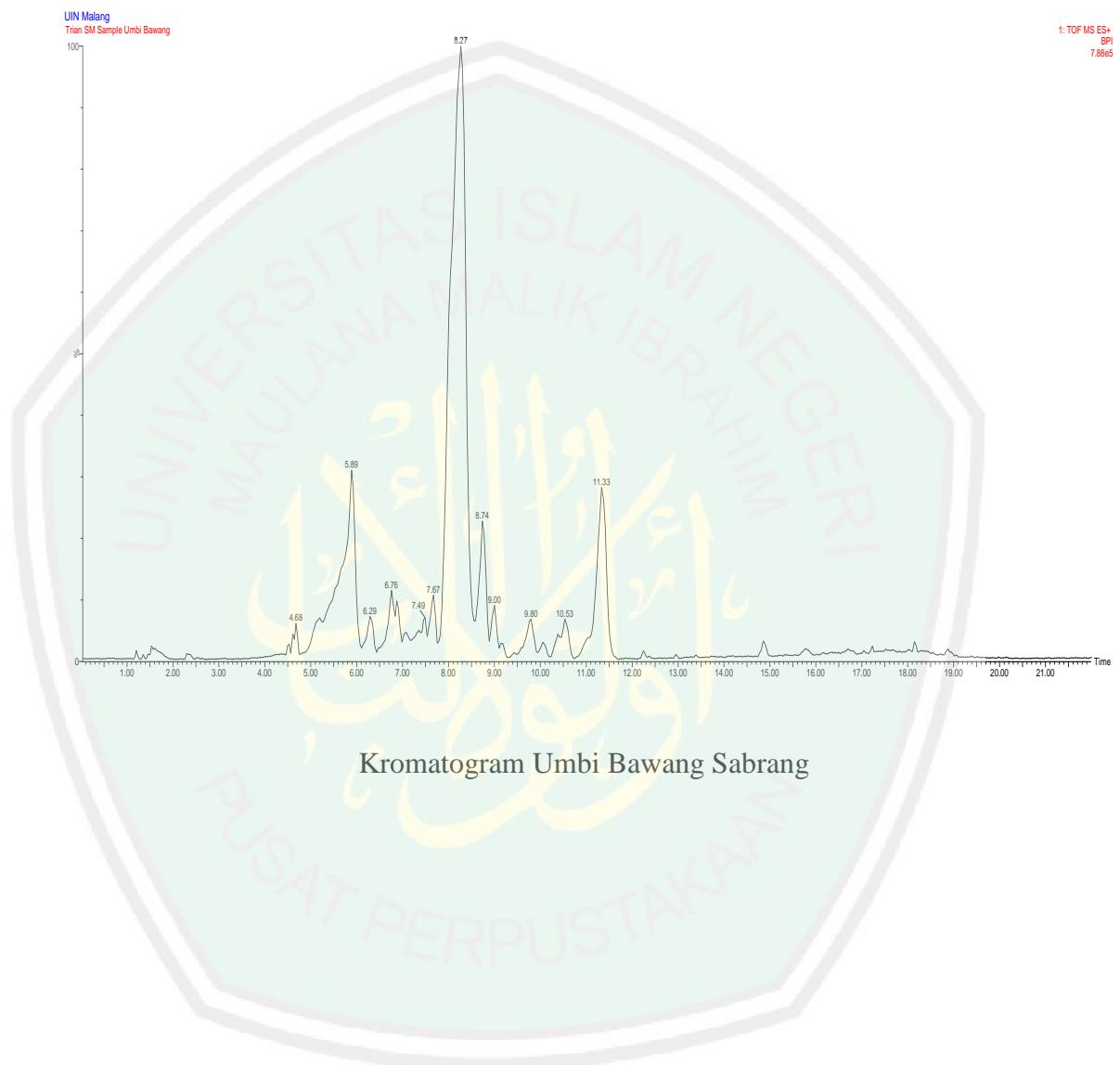
Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



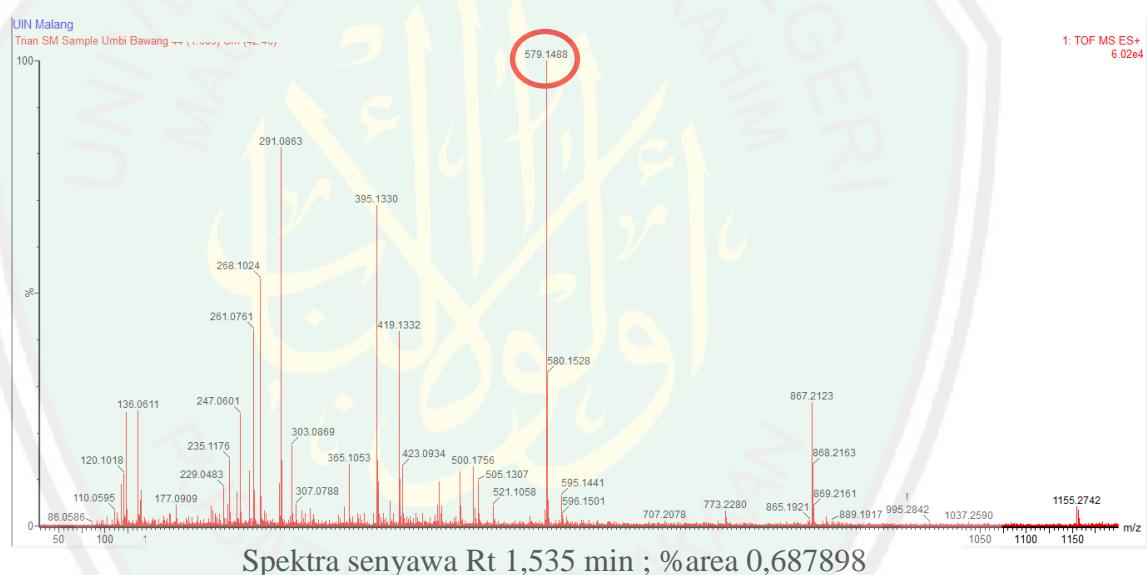
Bekti Mauliana, S.Hut, M.Si

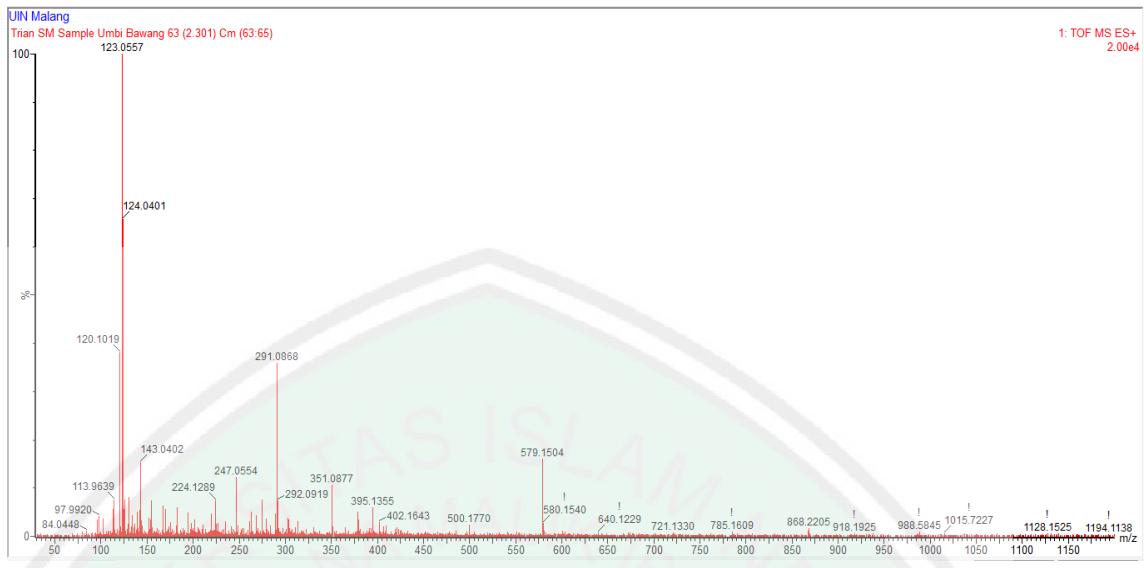
## Lampiran 6. Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan UPLC-MS

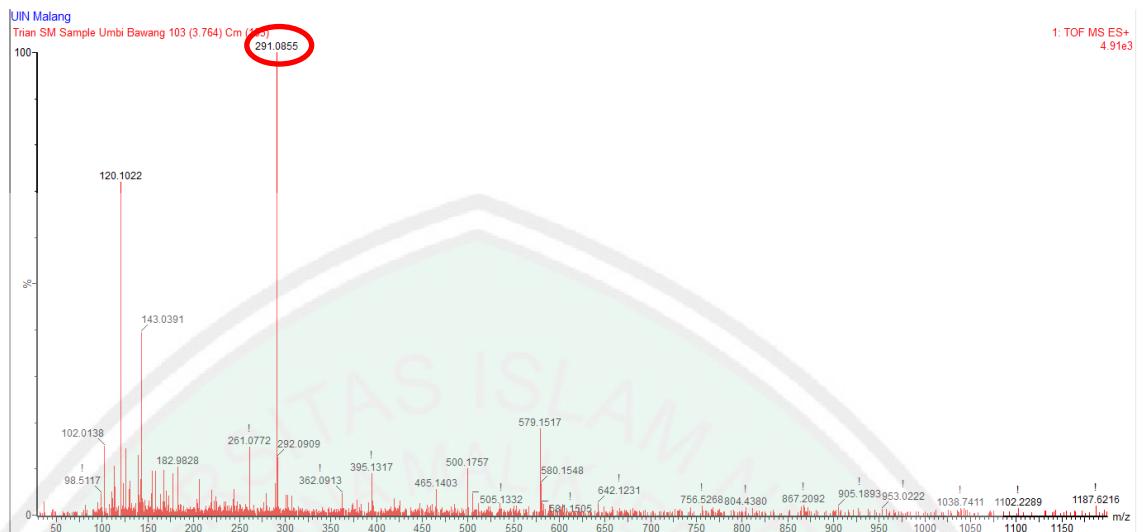
### L.6.1 Hasil Kromatogram Umbi Bawang Sabrang



## L.6.2 Hasil Spektra Senyawa Umbi Bawang Sabrang



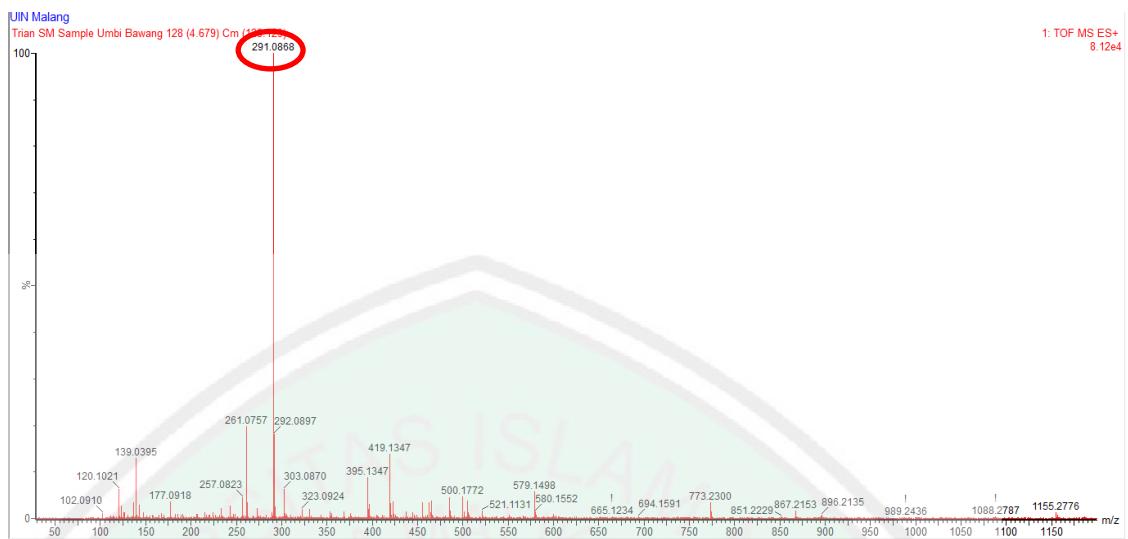




Spektra senyawa Rt 3,764 min ; % area 0,008249



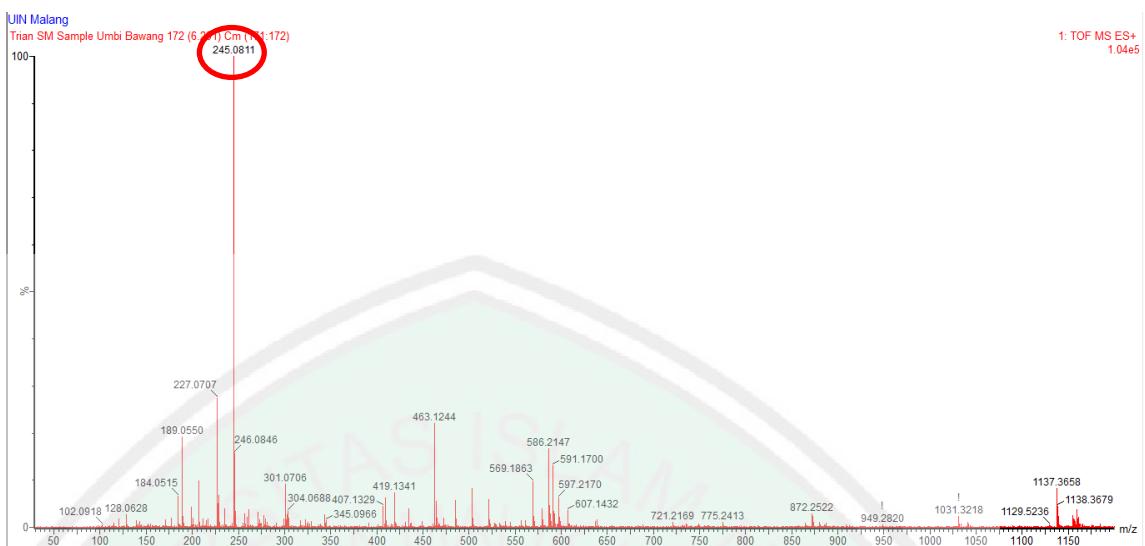
Spektra senyawa Rt 4,382min ; % area 0,141652



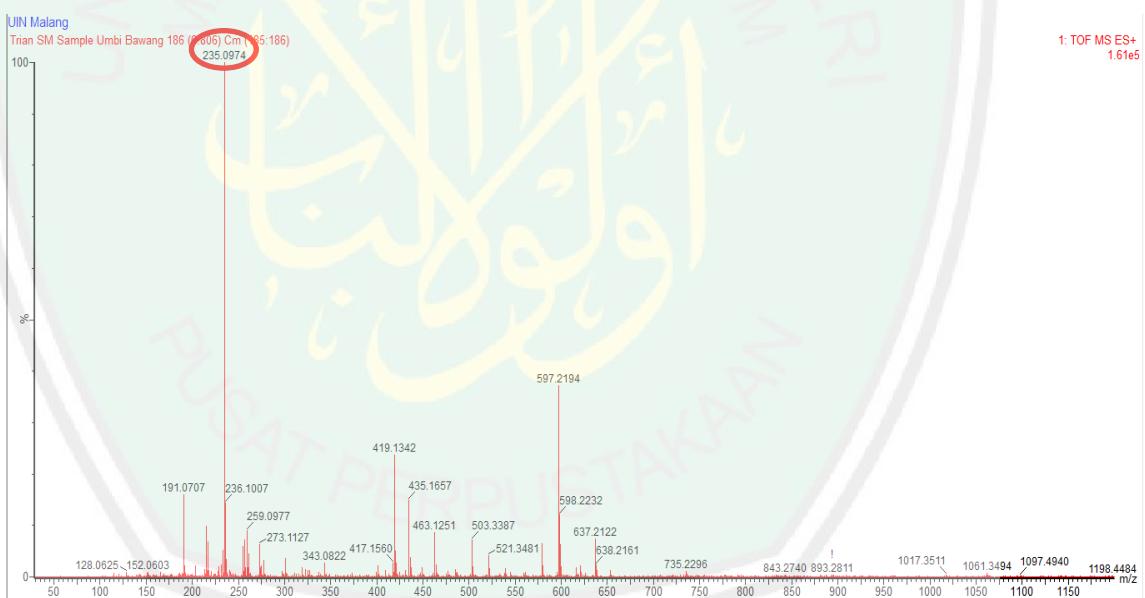
Spektra senyawa Rt 4,679 min ; % area 0,877137



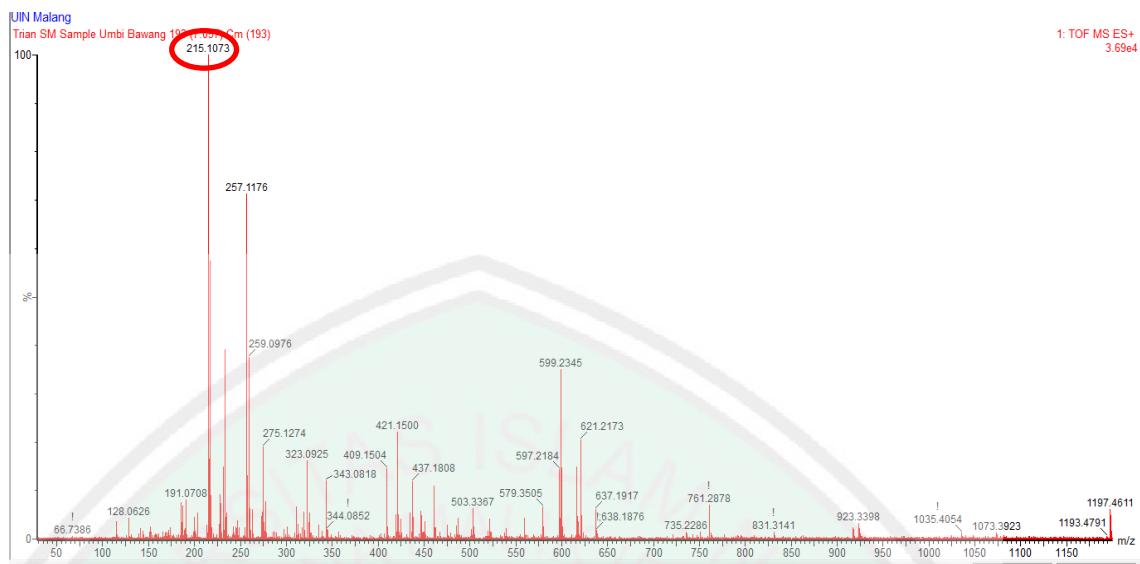
Spektra senyawa Rt 5,891 min ; % area 14,68425



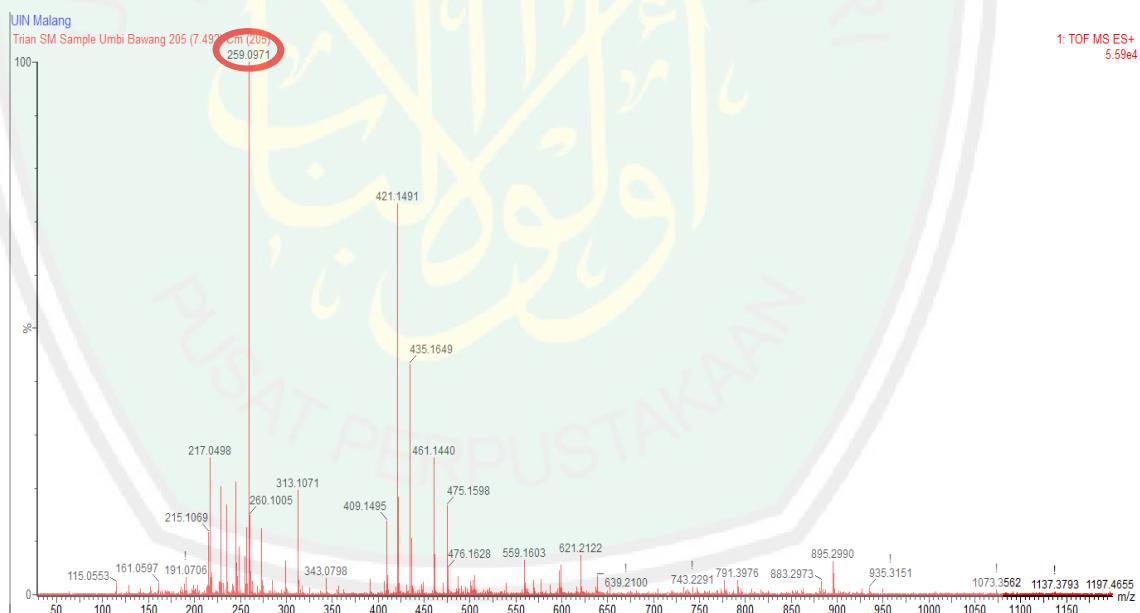
Spektra senyawa Rt 6,291 min ; %area 1,161828



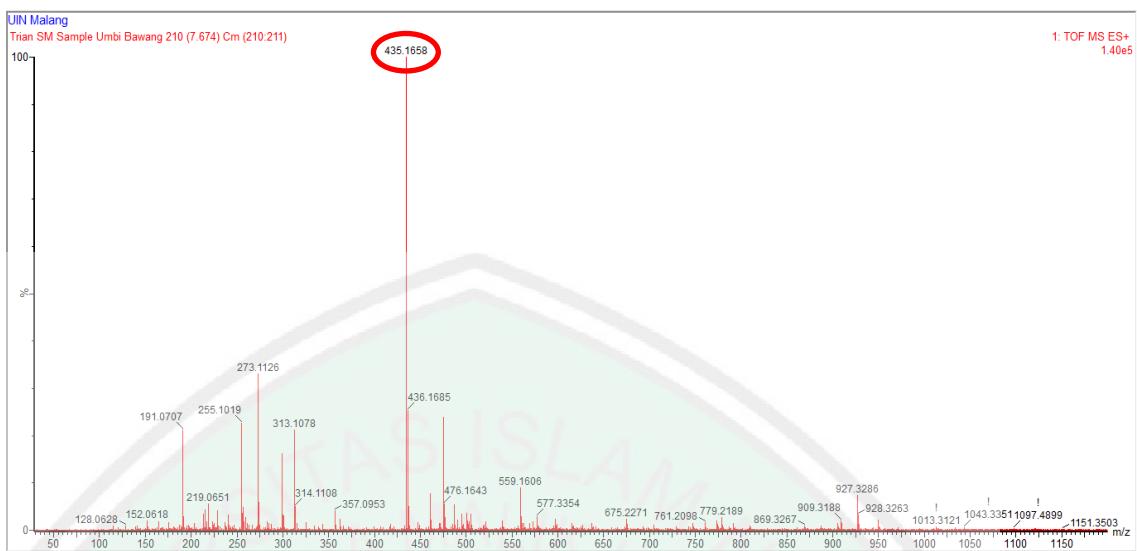
Spektra senyawa Rt 6,760 min ; %area 2,81839



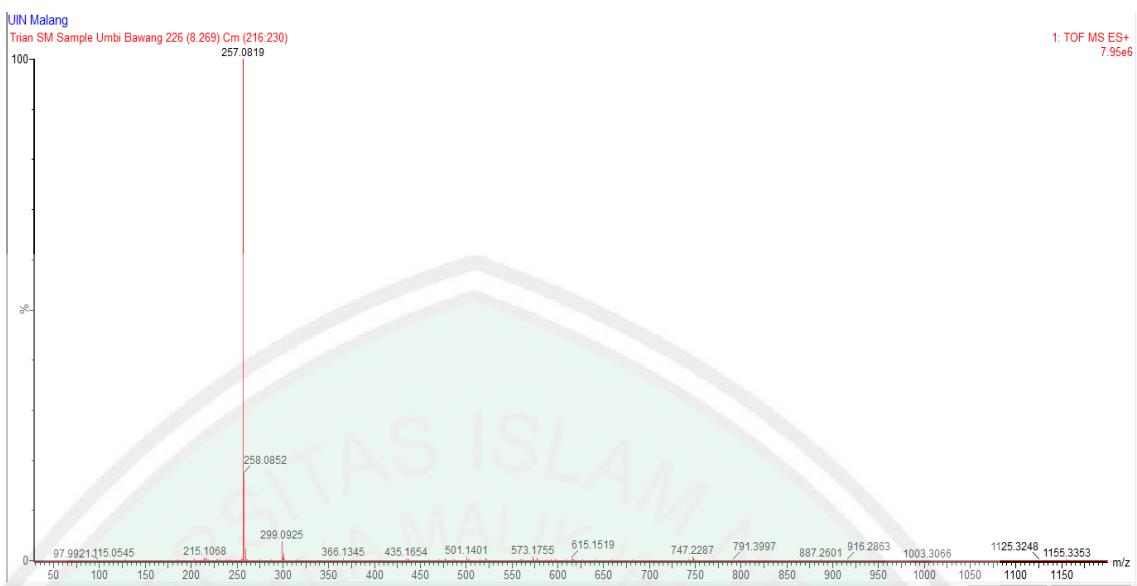
O Spektra senyawa Rt 7,057 min ; %area 0,246105



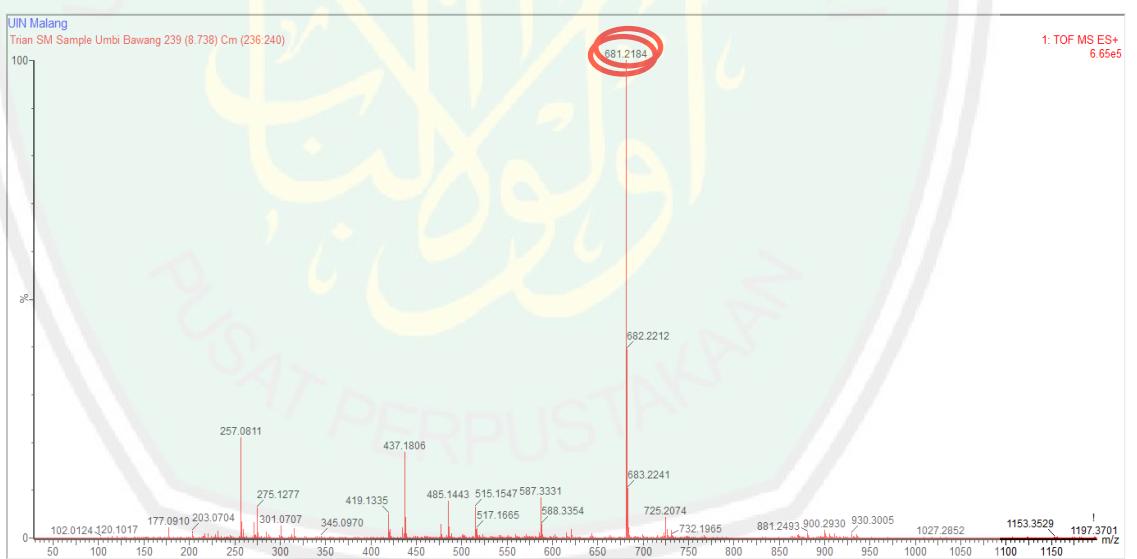
Spektra senyawa Rt 7,492 min ; %area 0,753431



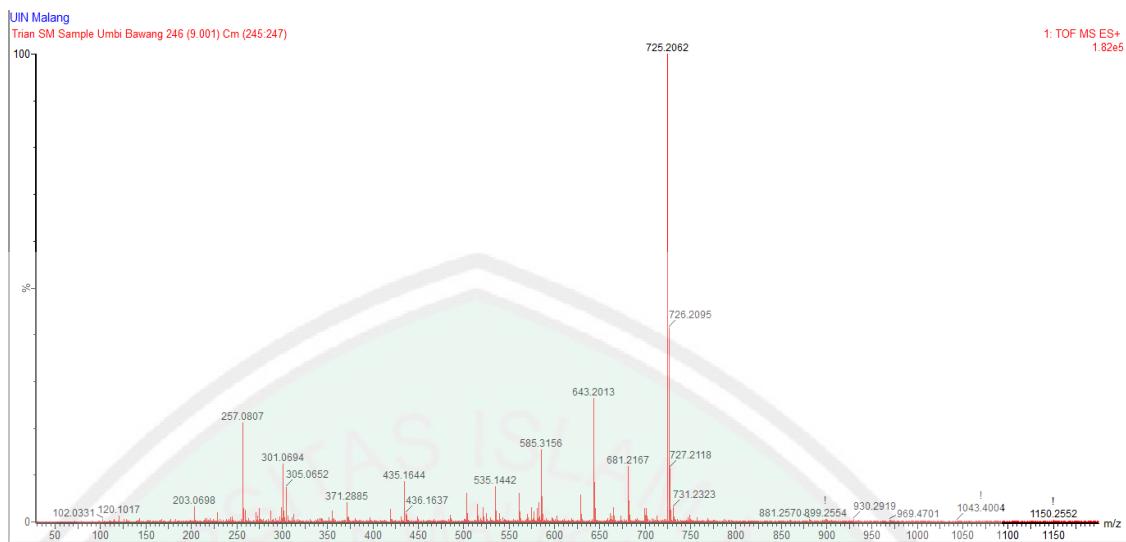
Spektra senyawa Rt 7,674 min ; % area 1,294673



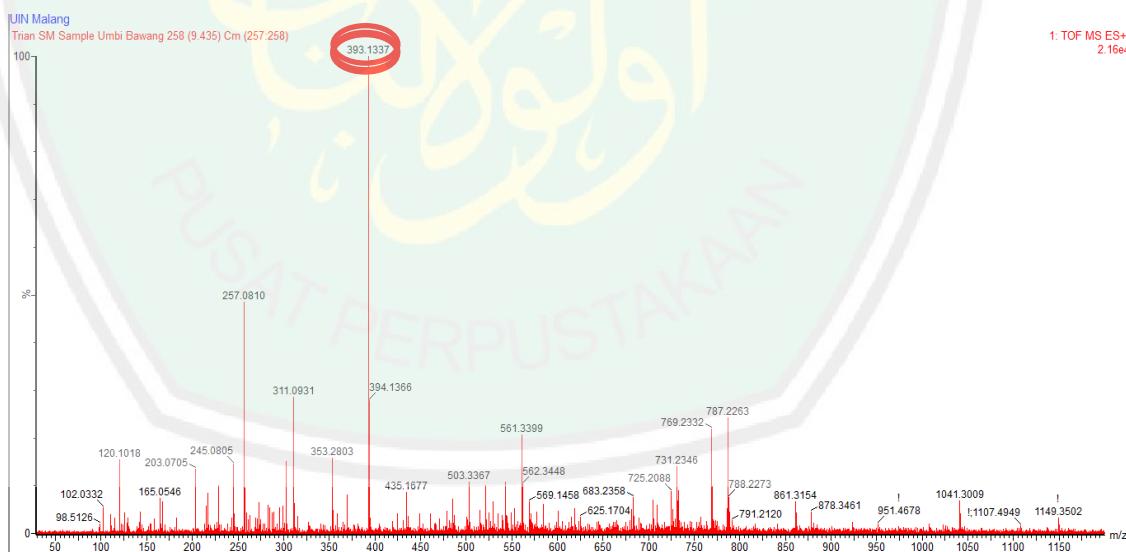
Spektra senyawa Rt 8,269 min ; % area 51,52892



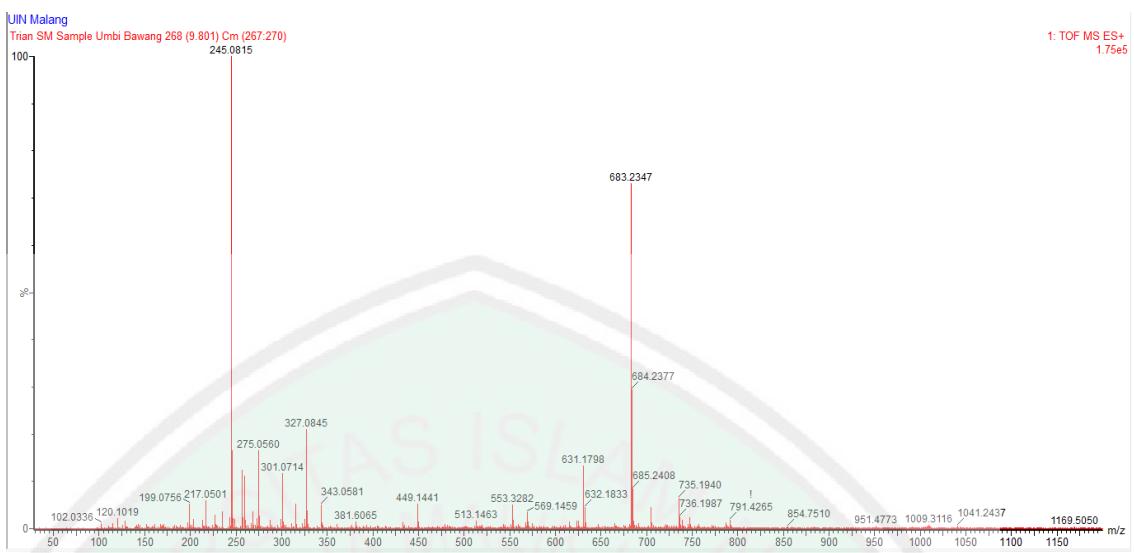
Spektra senyawa Rt 8,738 min ; % area 5,218695

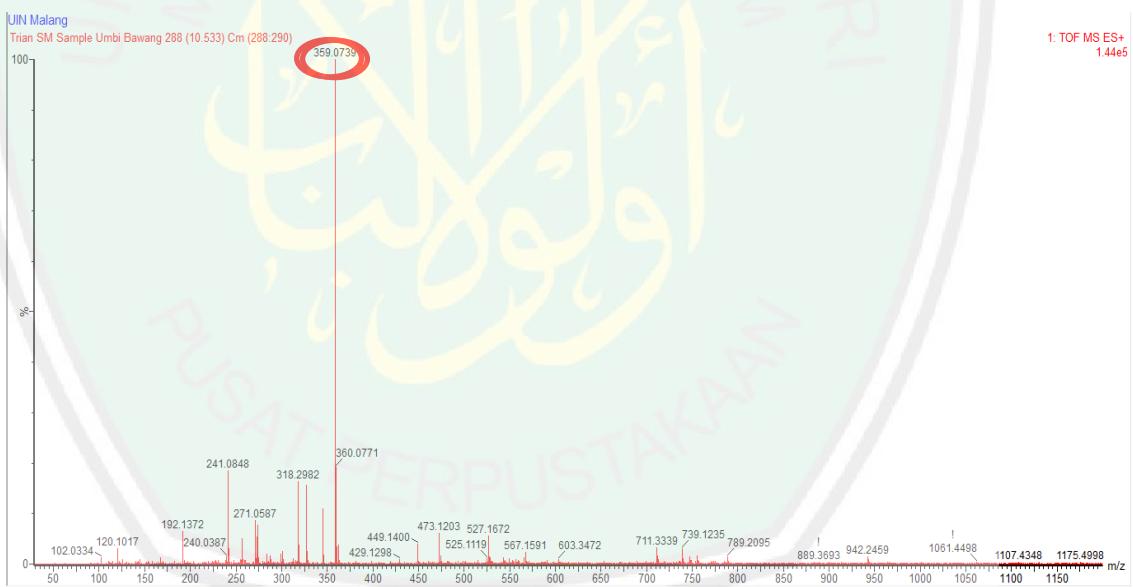
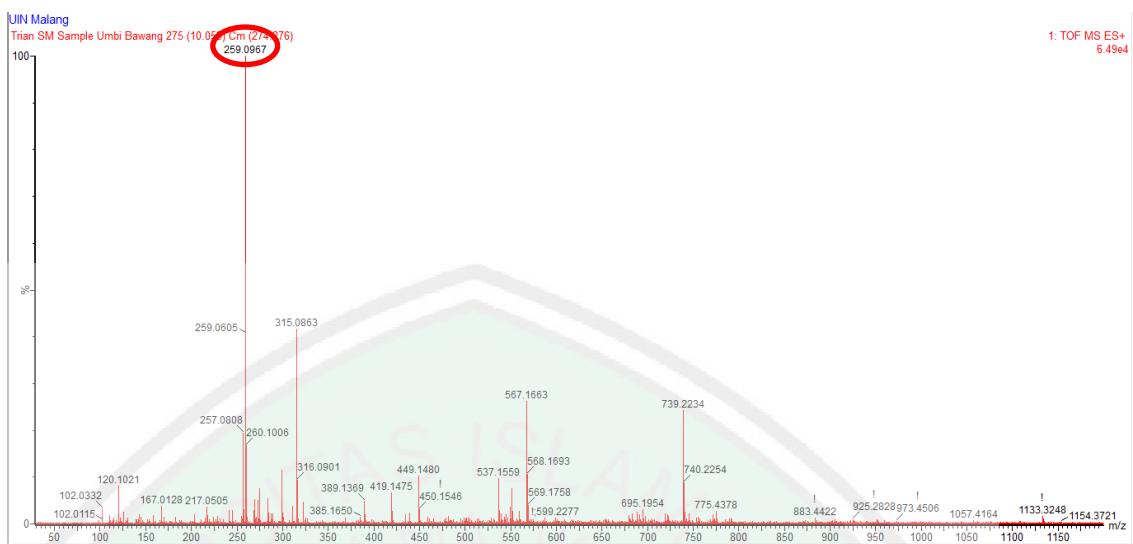


Spektra senyawa Rt 9,001 min ; % area 1,771227

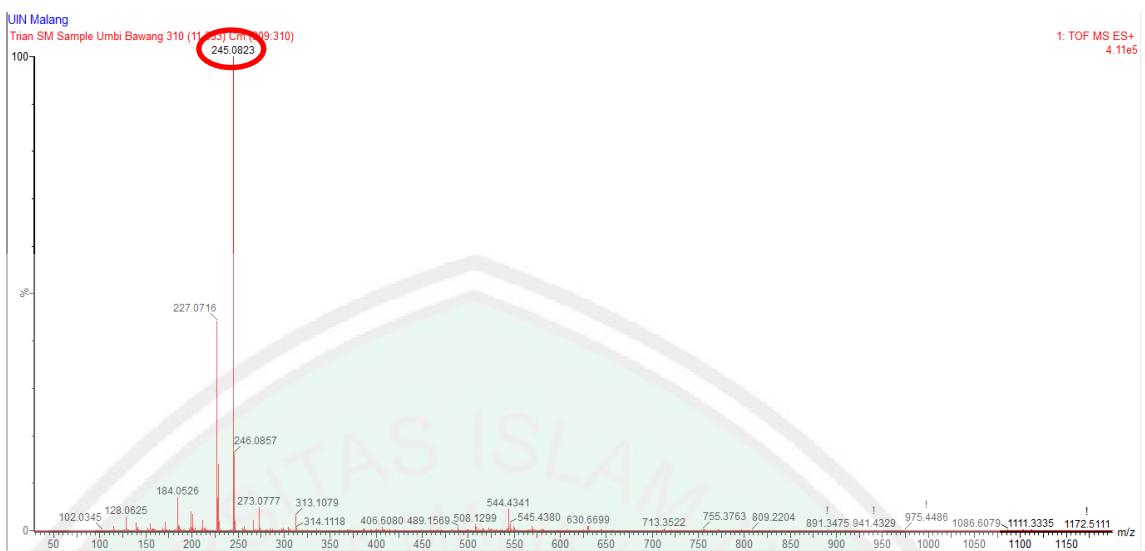


Spektra senyawa Rt 9,435 min ; % area 0,08817

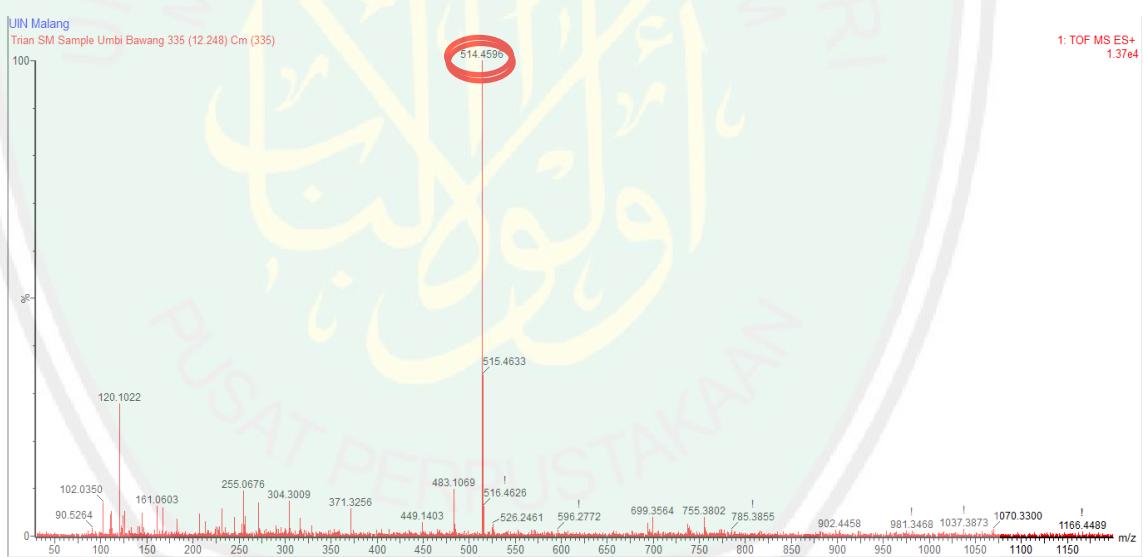




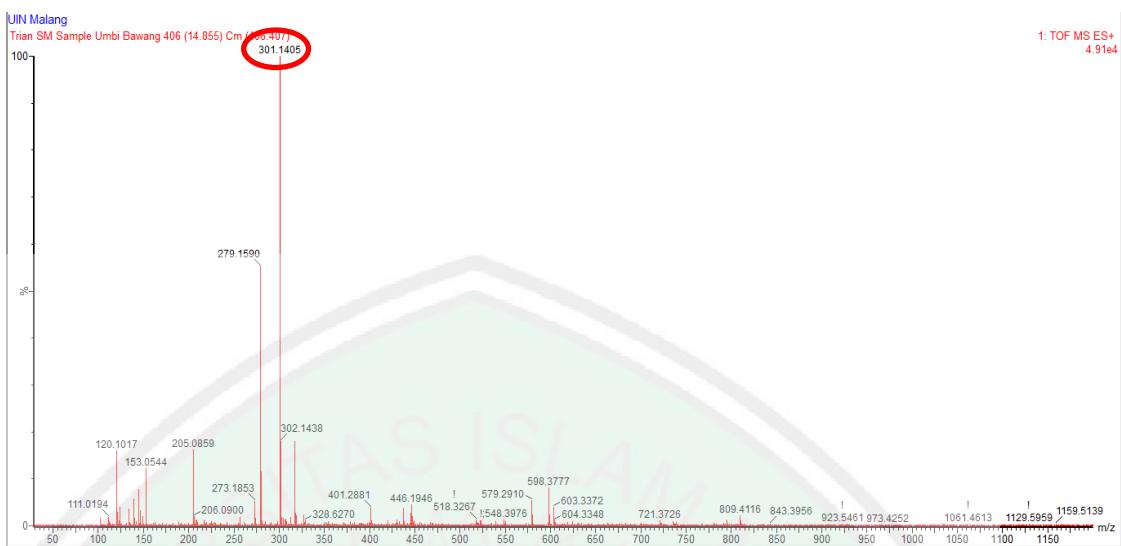
Spektra senyawa Rt 10,533 min ; % area 2,058625



Spektra senyawa Rt 11,333 min ; %area 9,924906



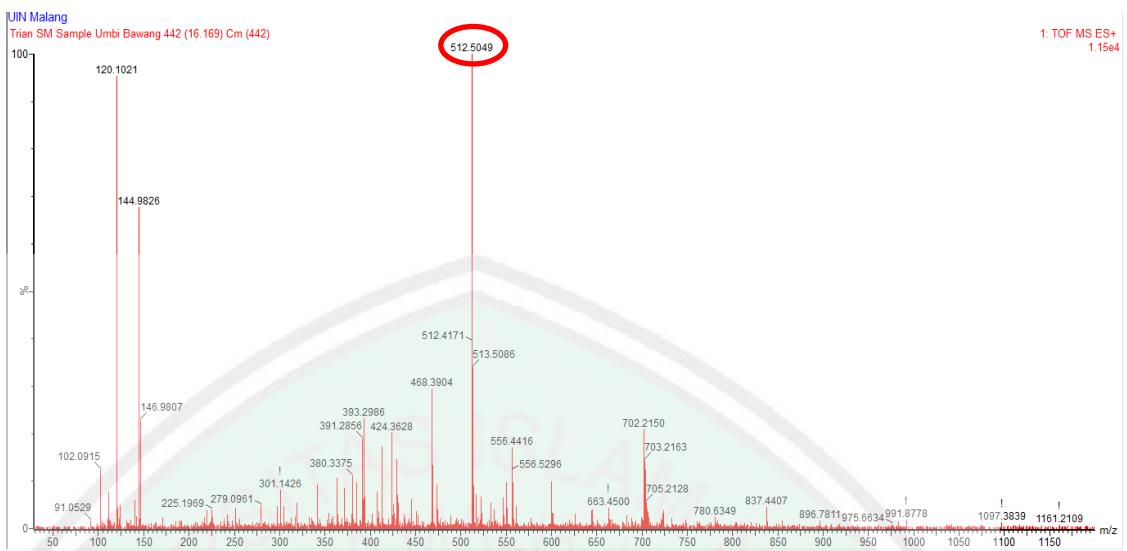
Spektra senyawa Rt 12,248 min ; %area 0,199644



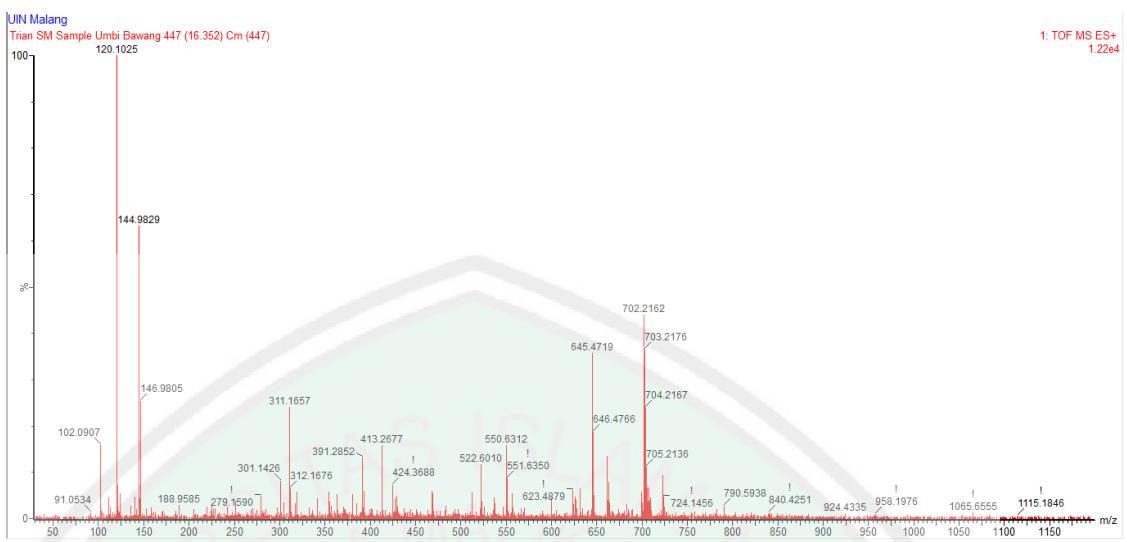
Spektra senyawa Rt 14,855 min ; % area 0,483956

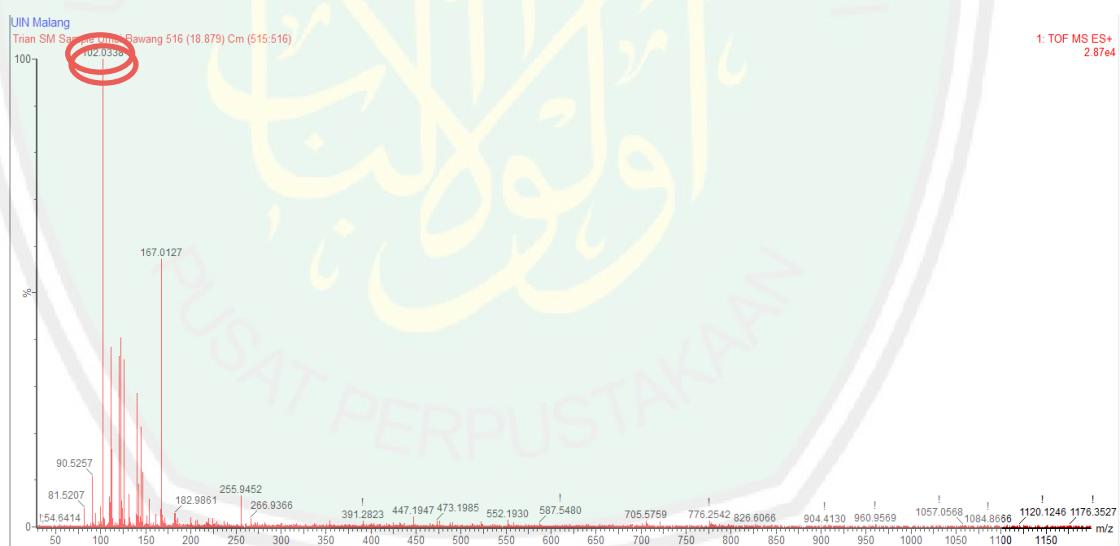
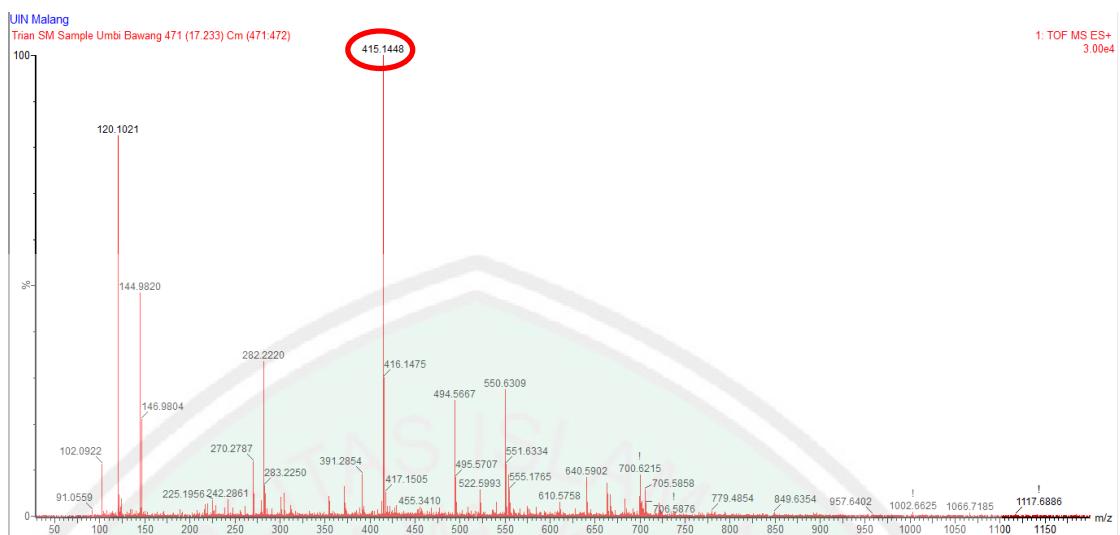


Spektra senyawa Rt 15,769 min ; % area 0,25148



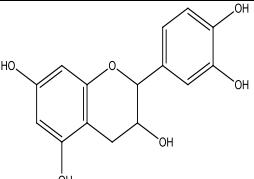
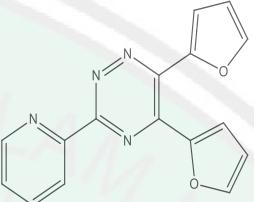
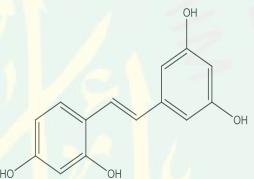
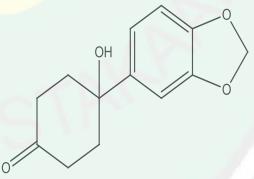
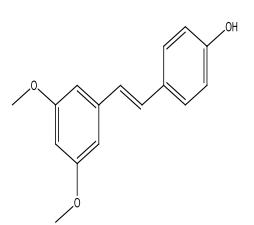
Spektra senyawa R<sub>t</sub> 16,169 min ; % area 0,046703

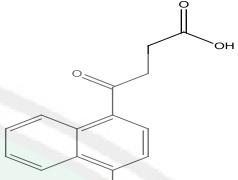
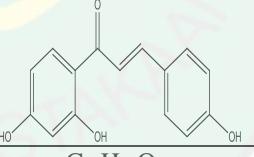


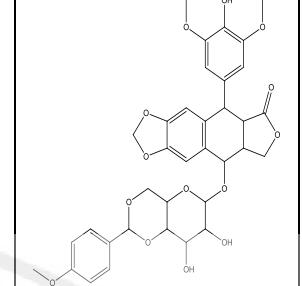
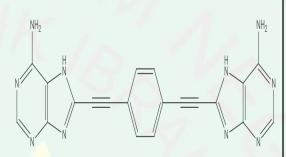
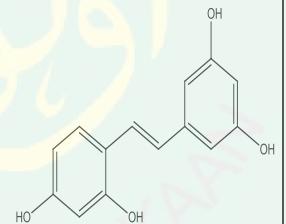
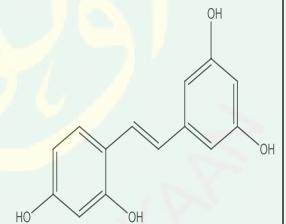


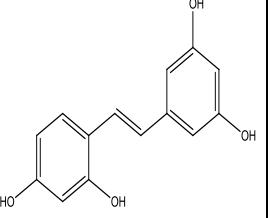
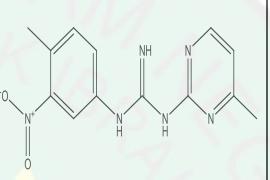
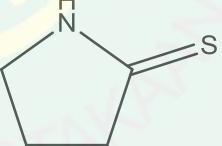
### L.6.3 Hasil Analisis Dugaan Senyawa Aktif

Rt (min)	M/Z terukur	Calculated M/Z	% Area	Formula Nama Senyawa Struktur	Golongan
1.352	103,0997	103,0997	0,054366	C <sub>5</sub> H <sub>13</sub> NO L-(+)-Valinol 	Alkaloid
1.535	290,0791	290,0790	0,687898	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub> D-(+)-Catechin 	Flavonoid
2.301	123,0321	123,0320	0,156738	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub> Isonicotinic acid 4-Pyridinecarboxylic acid 	Alkaloid (piridin)
2.552	267,2495	267,2495	0,047131	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> N <sub>9</sub> N-(1H-Benzotriazol-1-ylmethyl)tetrazolo[1,5-b]pyridazin-6-amine 	Alkaloid
3.764	290,075	290,0750	0,008249	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub> N,N'-(1S,2S)-1,2-Cyclohexanediylibis(imidodicarbonic acid) 	Alkaloid
4.382	290,0791	290,0790	0,141652	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub> D-(+)-Catechin 	Flavonoid

					
4.679	290,0804	290,0804	0,877137	$C_{16}H_{10}N_4O_2$ 3-(2-Pyridyl)-5,6-bis(2-furyl)-1,2,4-triazine 	Terpen
5.891	419,1355	-	14,68425	$C_{22}H_{18}N_4O_5$ UNKNOWN	UNKNOWN
6.291	244,0736	244,0736	1,161828	$C_{14}H_{12}O_4$ Oxyresveratrol 	Polifenol (stilbene)
6.760	234,0892	234,0892	2,81839	$C_{13}H_{14}O_4$ 4-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-4-hydroxycyclohexanone 	Terpen
7.057	256,11	256,1099	0,246105	$C_{16}H_{16}O_3$ Pterostilbene / (3,5-dimethoxy-4'-hydroxystilbene) 	Polifenol (stilbene)

7.492	258,0892	258,0892	0,753431	$C_{15}H_{14}O_4$ Menbutone / 4-(4-Methoxy-1-naphthyl)-4-oxobutanoic acid 	Naphtalene
7.674	434,1577	434,1577	1,294673	$C_{22}H_{26}O_9$ 3,3'-[Oxybis(2,1-ethanediyoxy-2,1-ethanediyoxy)]dibenzoic acid 	Terpen
8.269	256,0736	256,0736	51,52892	$C_{15}H_{11}O_4$ Isoliquiritigenin / (2E)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-on 	Flavonoid (khalkon)
8.738	680,2105	680,2105	5,218695	$C_{35}H_{36}O_{14}$ Furo[3',4':6,7]naphtho[2,3-d]-1,3-dioxol-6(5aH)-one, 5,8,8a,9-tetrahydro-5-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-9-[[4,6-O-[(4-methoxyphenyl)methylene]hexopyranosyl]oxy]-	Naphtoquinone

					
9.001	725,2082	-	1,771227	C <sub>36</sub> H <sub>36</sub> O <sub>16</sub> UNKNOWN	UNKNOWN
9.435	392,1247	392,1246	0,08817	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub> N <sub>10</sub> 8,8'-[Benzene-1,4-diyl-di(ethyne-2,1-diyl)]diadenine 	Alkaloid
9.801	244,0736	244,0736	1,796609	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub> Oxyresveratrol 4-[(E)-2-(3,5-Dihydroxyphenyl)vinyl]-1,3-benzenediol 	Polifenol (stilbene)
10.053	259,0984	-	0,457752	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> UNKNOWN	UNKNOWN
10.533	359,0767	-	2,058625	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>8</sub> UNKNOWN	UNKNOWN
11.333	244,0736	244,0736	9,924906	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub> Oxyresveratrol 4-[(E)-2-(3,5-Dihydroxyphenyl)vinyl]-1,3-benzenediol 	Polifenol (stilbene)

					
12.248	514,4584	-	0,199644	C <sub>29</sub> H <sub>59</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> UNKNOWN	UNKNOWN
14.855	300,1335	300,1335	0,483956	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub> N <sub>6</sub> O <sub>2</sub> 1-(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)-3-(4-methyl-3-nitrophenyl)guanidine 	Guanidine
15.769	514,4584	-	0,25148	C <sub>29</sub> H <sub>59</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> UNKNOWN	UNKNOWN
16.169	120,1025	-	0,046703	C <sub>5</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub> UNKNOWN	UNKNOWN
16.352	120,1025	-	0,146883	C <sub>5</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub> UNKNOWN	UNKNOWN
17.233	415,1447	-	0,203259	C <sub>28</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> UNKNOWN	UNKNOWN
18.879	101,0299	101,0299	0,354673	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NS 2-Pyrrolidinethione 	Alkaloid

## Lampiran 7 Dokumentasi Penelitian

### L.7.1 Preparasi Sampel



Preparasi Sampel

### L.7.2 Analisis Kadar Air



Analisis kadar air dengan *mouisture analyzer*

### L.7.3 Ekstraksi

#### L.7.3.1 Ekstraksi Maserasi Umbi Bawang Sabrang dengan Pelarut Etanol 96% menggunakan Ultrasonik



#### L.7.3.2 Fraksinasi Bertingkat Ekstrak Etanol 96%



Fraksi N-heksan

Fraksi Kloroform

Fraksi Etil Asetat

Fraksi Air



Berturut-turut: Fraksi etil asetat, fraksi kloroform, fraksi air, fraksi n-heksan

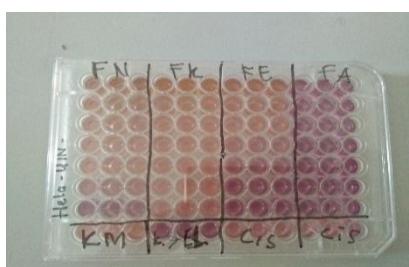
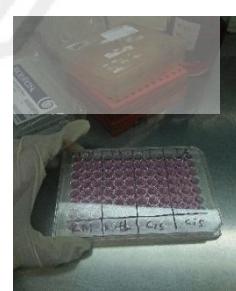
### L.7.3.3 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT



Sel HeLa (sel kanker serviks)

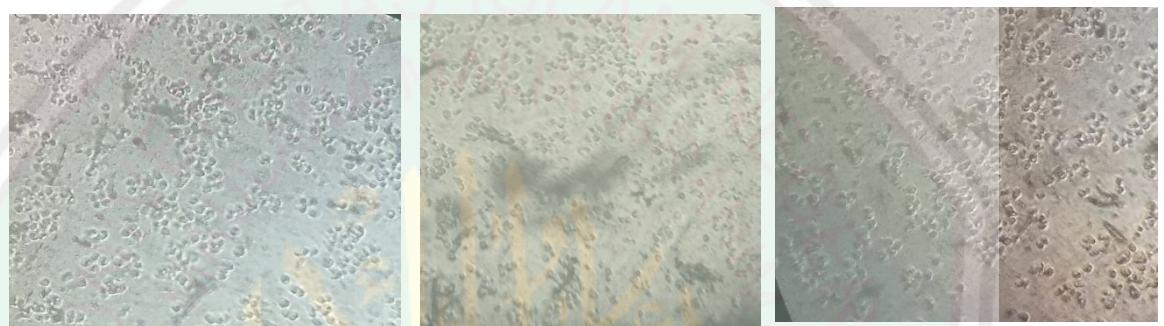


Perhitungan sel menggunakan hemocytometer





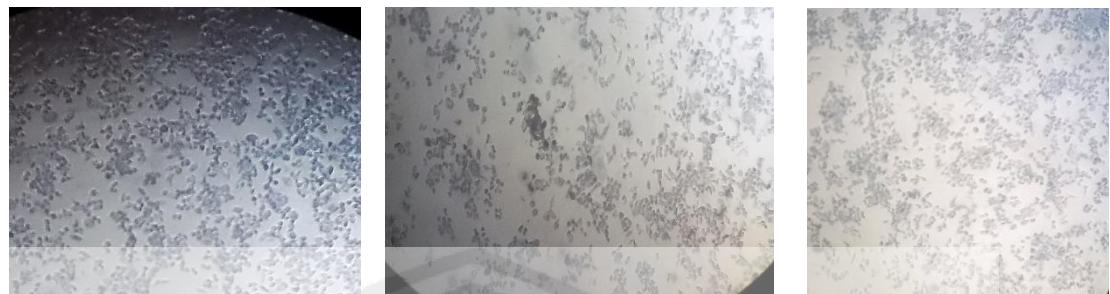
Fraksi n-heksan konsentrasi 125; 31,25; 3,90625  $\mu\text{g/mL}$



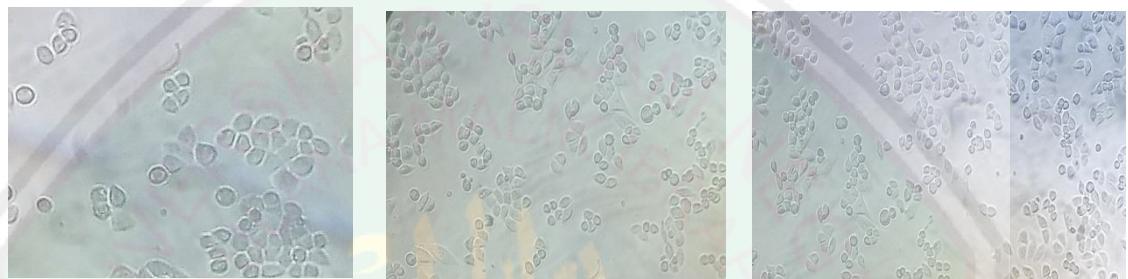
Fraksi kloroform konsentrasi 125; 31,25; 3,90625  $\mu\text{g/mL}$



Fraksi etil asetat konsentrasi 125; 31,25; 3,90625  $\mu\text{g/mL}$



Fraksi air konsentrasi 125; 31,25; 3,90625  $\mu\text{g/mL}$



Cisplatin konsentrasi 100; 12,5; 1,5625  $\mu\text{g/mL}$

# SERTIFIKAT

Diberikan kepada

Trian Sidha Minggarwati

Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

sebagai

Peserta

Kursus Singkat Kultur Jaringan Yang diselenggarakan pada tanggal 31 Agustus 2015  
sampai dengan 3 September 2015 di Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada  
Yogyakarta

Yogyakarta, 3 September 2015

Penyelegara  
Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada



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



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. 49 / EC / KEPK – S1 / 02 / 2017

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

- JUDUL** : Uji Aktivitas Antikanker Fraksi bawang Sabrang (*Eleutherine americana* (L.) Merr.) dan Pengaruh Kombinasi Ekstrak Bawang Sabrang (*Eleutherine americana* (L.) Merr.) dengan Doktorubisin terhadap Apoptosis Sel kanker Serviks Hela.
- PENELITI** : Trian Sidha Minggarwati  
Faiqotul Choiroh
- UNIT / LEMBAGA** : Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- TEMPAT PENELITIAN** : Laboratorium Kimia Universitas Islam Negeri Maulana malik Ibrahim Malang, Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Islam Negeri Maulana malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Protho Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang, 21 FEB 2017



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).



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA  
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)  
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN  
KEBUN RAYA PURWODADI  
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163  
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 4266046  
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 0065 /IPH.6/HM/I/2017

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

Trian Sidha Minggarwati, NIM : 13670021

Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang,  
datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 10  
Januari 2017, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen  
van den Brink jr., volume III, tahun 1968, halaman 150 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Eleutherina*  
Species : *Eleutherina palmifolia* (L.) Merr.

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

Divisio : *Magnoliophyta*  
Class : *Liliopsida*  
Subclass : *Liliidae*  
Ordo : *Liliales*  
Family : *Iridaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 19 Januari 2017

An. Kepala  
Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Deden Muallana, S.Hut, M.Si



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

Gedung Prof. Drs. R. Radiopoetro Lt. IV Sayap Timur, Sekip, Yogyakarta 55281.

Telp. (0274) 546215. Fax. 546215. E-mail : parasitfkugm@yahoo.com

Nomor : UGM/KU/Prst/200/M/05/07 17 April 2017  
H a l : Ijin Penelitian.

Kepada Yth. : TRIAN SIDHA MINGGARWATI  
Jurusan Farmasi  
Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Dengan hormat,  
Menanggapi surat saudara tertanggal 4 Maret 2017 tentang ijin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Parasitologi yang berjudul:

## “UJI AKTIVITAS ANTI KANKER DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF DARI FRAKSI UMBI BAWANG SABRANG (*Eleutherine americana* (L.) Merr.) TERHADAP SEL KANKER SERVIKS *HeLa*”

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

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

Atas perhatian dalam hal ini kami ucapkan terima kasih.

Kepala,  
UNIVERSITAS GADJAH MADA  
Dr. Tri Baskoro T. Satoto, MSc., PhD.  
NTB 19580412 198601 1 001

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