

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN BENALU MANGGA
(*Dendrothoe pentandra*) DARI BEBERAPA LOKASI DI INDONESIA
TERHADAP *CELL LINE* KANKER PAYUDARA T47D**

SKRIPSI

Oleh:
ASTRI ERDIANI PUTRI
NIM. 13670051



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

2017

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN BENALU MANGGA
(*Dendrothoe pentandra*) DARI BEBERAPA LOKASI DI INDONESIA
TERHADAP *CELL LINE* KANKER PAYUDARA T47D**

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 EKSTRAK ETANOL DAUN BENALU MANGGA
(*Dendrothoe pentandra*) DARI BEBERAPA LOKASI DI INDONESIA
TERHADAP CELL LINE KANKER PAYUDARA T47D**

SKRIPSI

Oleh:
ASTRI ERDIANI PUTRI
NIM. 13670051

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 10 Juli 2017

Pembimbing I

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

Pembimbing II

Dr. H. Ahmad Barizi, M. A
NIP. 19731212 199803 1 001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi



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

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN BENALU MANGGA
(*Dendrothoe pentandra*) DARI BEBERAPA LOKASI DI INDONESIA
TERHADAP CELL LINE KANKER PAYUDARA T47D**

SKRIPSI

Oleh:
ASTRI ERDIANI PUTRI
NIM. 13670051

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal: 10 Juli 2017

Ketua Penguji : Weka Sidha Bhagawan, M.Farm., Apt (.....) NIDT. 1988112420160801 1 085

Anggota Penguji 1. Dr. Erna Susanti, M.Biomed., Apt (.....) NIDN. 0713087402

2. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt (.....) NIP. 19800203 200912 2 003

3. Dr. H. Ahmad Barizi, M.A (.....) NIP. 19731212 199803 1 001

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Farmasi

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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Astri Erdiani Putri

NIM : 13670051

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan


Judul Penelitian : “Uji Antikanker Ekstrak Etanol Daun Benalu Mangga
(*Dendrophthoe pentandra*) Dari Beberapa Lokasi Di Indonesia
Terhadap *Cell Line* Kanker Payudara T47D”

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

Malang, 10 Juli 2017

Yang Membuat Pernyataan,




Astri Erdiani Putri
NIM. 13670051

MOTTO

مَنْ خَرَجَ فِي طَلَبِ الْعِلْمِ فَهُوَ فِي سَبِيلِ اللَّهِ

“Barang siapa keluar untuk mencari ilmu maka dia berada di jalan Allah”

(HR.Turmudzi)

"Berotak London, Berhati Masjidil Haram

(KH. Musta'in Romly, Pengasuh PP Darul Ulum)

Religion Without Knowledge is like a bird without wings

Be The First

Be The Different

Be The Best

(Astri Erdiani Putri/ 13670051)

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'aalamiin

Dengan senantiasa memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT beserta Nabi Muhammad sehingga bisa terselesaikannya tulisan karya sederhana ini. Dengan rasa syukur yang mendalam, kupersembahkan tulisan karya sederhanaku ini kepada:

Kedua orang tuaku, Bapak Gesang Mukayat dan Ibu Rasmuning yang selalu mendoakan, membimbing, serta mendukung proses belajar hingga saya dapat menyelesaikan studi ini. Kakaku Setiadi Rachman, Anis Yayiyatul Mahfudah yang selalu mendoakan dan memberi dukungan moril maupun materil serta mengisi hidup dengan penuh kasih sayang dan canda.

Terima kasih kepada Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes, Apt dan bapak Weka Sidha Bhagawan, M.Farm, Apt yang telah membimbing dan memberikan semangat, baik moril maupun materil. Dan juga kepada bapak Dr. H. Ahmad Barizi, M.A selaku dosen Pembimbing Integrasi Agama dan Sains yang telah mengajarkan ilmu agama.

Karya ini tidak akan tercipta tanpa orang-orang disekitarku yang mendukungku. Keluarga besarku terima kasih atas barokah doanya, alhamdulillah lulus dan semoga ilmunya bermanfaat. Amiin...

Teruntuk semua yang telah mendukung terselesainya karya tulisan ini, khususnya Achmad Ainul Yaqin, dan saudara-saudaraku kos Angel (Lisa Damayanti, Ziyana Walidah, Fahda Dina Mufidah, Eka Diana Rahmawati, Jauharatul Husniyah dan Nur Imamah) sahabat-sahabatku seperjuangan (Atina Wulandari, Trian Sidha Minggarwati, Olden Mayazakka Amalia, Faiqotul Choirroh, Nur Miya Zakia, Diana Khalida, Wulan Maratul,) serta teman-teman Farmasi angkatan 2013. Tak cukup kata-kata untuk menggambarkan persahabatan kita, kecuali rasa syukur kuucapkan kepada Allah SWT karena telah mengenal kalian.

(Astri Erdiani Putri/ 13670051

KATA PENGANTAR



Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul “ **Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dari Beberapa Lokasi Di Indonesia Terhadap Cell Line Kanker Payudara T47D**” 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.

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

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp. B, Sp. BP- RE (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, UIN Malang.
3. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes. Apt selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis demi terselesainya skripsi ini.
4. Weka Sidha Bhagawan, M. Farm., Apt selaku konsultan yang selalu memberi semangat untuk tidak pernah berhenti mencoba.
5. Dr. H. Ahmad Barizi, M. A selaku Pembimbing Integrasi Sains dan Agama

6. Dr. Erna Susanti, M.Biomed., Apt selaku Penguji Utama.
7. Seluruh Dosen Pengajar di Jurusan Farmasi yang telah memberikan bimbingan dan membagi ilmunya kepada penulis selama berada di UIN Malang.
8. Semua rekan-rekan Farmasi yang selalu memberikan motivasi 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. Dan dapat dilaksanakan sebagai mana mestinya untuk penelitian yang lain nantinya. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Malang, 10 Juli 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian	7
1.4 Manfaat Masalah.....	8
1.5 Batasan Penelitian	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Pemanfaatan Tanaman Dalam Perspektif Islam	10
2.2 Benalu Mangga (<i>Dendrophthoe pentandra</i>)	13
2.2.1 Morfologi Benalu Mangga (<i>D.pentandra</i>).....	13
2.2.2 Klasifikasi Benalu Mangga (<i>D.pentandra</i>).....	14
2.2.3 Kandungan Senyawa dan Bioaktivitas.....	14
2.2.4 Aktivitas antikanker Benalu <i>D.pentandra</i>	16
2.3 Flavonoid	17
2.4 Kanker	20
2.4.1 Kanker Payudara	21
2.4.2 Apoptosis sel.....	21
2.5 Metode MTT.....	22
2.6 Ekstraksi	23
2.7 Kondisi Lokasi Geografi.....	24
2.7.1 Ketinggian Tempat	24
2.7.2 Tanah dan Unsur Hara	25
2.7.3 Iklim	31
2.8 Lokasi Sampling ..	32
2.8.1 Kabupaten Kediri	33
2.8.2 Kota Pekalongan	35
2.8.3 Provinsi Bali	36
2.8.4 Pulau Sumatra	38

2.8.5 Pulau Kalimantan	40
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL.....	42
3.1 Bagan Kerangka Konseptual.....	42
3.2 Uraian Kerangka Konseptual	43
3.3 Hipotesis Kerangka Konseptual.....	45
BAB IV METODE PENELITIAN	46
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	46
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	47
4.3 Populasi dan Sampel	47
4.4 Variabel penelitian	48
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	49
4.5.1 Alat.....	49
4.5.1.1 Preparasi Sampel.....	49
4.5.1.2 Analisis Kadar Air.....	50
4.5.1.3 Ekstraksi Maserasi Ultrasonik Daun Benalu Mangga (<i>D. pentandra</i>).....	50
4.5.1.4 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT.....	50
4.5.2 Bahan Penelitian	50
4.6 Prosedur Penelitian	51
4.6.1 Determinasi Daun Benalu Mangga (<i>D. pentandra</i>).....	51
4.6.2 Preparasi Sampel.....	52
4.6.3 Analisis Kadar Air	52
4.6.4 Ekstraksi Maserasi Ultrasonik Daun Benalu Mangga (<i>D. pentandra</i>).....	53
4.6.5 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT (<i>Microtetrzolium</i>)	53
4.6.5.1 Penyiapan Sel	53
4.6.5.2 Penghitungan Sel Kanker.....	54
4.6.5.3 Peletakan Sel pada <i>Plate 96-well</i>	54
4.6.5.4 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada <i>Plate 96-well</i>	55
4.6.5.5 Pemberian Larutan MTT.....	56
4.7 Analisis Data	57
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	58
5.1 Pengumpulan Sampel	58
5.2 Preparasi Sampel	60
5.3 Analisis Kadar Air.....	60
5.4 Ekstraksi Maserasi Ultrasonik Daun Benalu Mangga (<i>D. pentandra</i>).....	62
5.5 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT (<i>Microtetrzolium</i>)	66

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	82
6.1 Kesimpulan	82
6.2 Saran	82
DAFTAR PUSTAKA	83
LAMPIRAN 1.....	93
LAMPIRAN 2.....	94
LAMPIRAN 3.....	100
LAMPIRAN 4.....	102
LAMPIRAN 5.....	103
LAMPIRAN 6.....	105
LAMPIRAN 7.....	125
LAMPIRAN 8.....	128
LAMPIRAN 9.....	132



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Nama dan luas kecamatan Kota Pekalongan.....	35
Tabel 4.1	Karakteristik lokasi pengambilan sampel.....	51
Tabel 5.1	Kadar air daun benalu Mangga (<i>Dendrophthoe pentandra</i>)	61
Tabel 5.2	Hasil ekstraksi ultrasonik etanol 96 % daun benalu Mangga (<i>D. pentandra</i>)	64
Tabel 5.3	% viabilitas sel hidup tiap konsentrasi larutan uji	72
Tabel 5.4	Nilai IC ₅₀ ekstrak dari 5 lokasi.....	74
Tabel 5.5	Hasil analisis <i>pearson correlation</i> dari kadar air, rendemen dan IC ₅₀	76
Tabel 5.6	Hasil Uji one way anova.....	77
Tabel 5.7	Karakteristik dari 5 lokasi sampling.....	79
Tabel 5.8	Karakteristik ideal untuk pertumbuhan benalu mangga.....	80

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Benalu Mangga (<i>Dendrophthoe pentandra</i>)	13
Gambar 2.2	Senyawa kuersetin (3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone)	16
Gambar 2.3	Struktur Inti senyawa Flavonoid (Robinson, 1995)	18
Gambar 2.4	Reaksi reduksi MTT menjadi formazan (Meiyanto,1999)	23
Gambar 2.5	Peta Indonesia.....	33
Gambar 5.1	Morfologi tumbuhan daun benalu mangga hasil pengumpulan sampel.....	59
Gambar 5.2	Morfologi sel T47D akibat perlakuan ekstrak.....	70
Gambar 5.3	Grafik profil % viabilitas sel	73
Gambar 5.4	Grafik profil aktivitas antikanker	74



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian.....	93
Lampiran 2. Skema Kerja	94
Lampiran 3. Perhitungan.....	100
Lampiran 4. Perhitungan Kadar Air.....	102
Lampiran 5. Perhitungan Rendemen.....	103
Lampiran 6. Perhitungan Data dan Hasil Uji Aktivitas Antikanker	105
Lampiran 7. Analisis statistic one way	125
Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian.....	128
Lampiran 9. Prosedur pengambilan sampel.....	132



ABSTRAK

Putri, A. 2017. Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dari Beberapa Lokasi Di Indonesia Terhadap *Cell Line* Kanker Payudara T47D. Skripsi. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Roihatul Mutiah, M. Kes. Apt; Pembimbing II: Weka Sidha Bhagawan, M. Farm, Apt; Pembimbing Agama: Dr. H. Ahmad Barizi, M.A.

Pembimbing: (I) Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
(II) Dr. H. Ahmad Barizi, M. A

Di Indonesia ada berbagai jenis spesies benalu, salah satu tumbuhan benalu yang memiliki potensi antikanker adalah benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil aktivitas antikanker secara *invitro* terhadap sel T47D pada ekstrak daun benalu mangga (*D. pentandra*) dari beberapa lokasi di Indonesia. Profil aktivitas antikanker tersebut dapat digunakan sebagai salah satu pemenuhan pedoman kualitas dari produk fitofarmaka.

Pemisahan senyawa aktif daun benalu Mangga dilakukan dengan metode maserasi ultrasonik menggunakan pelarut etanol 96 %. Masing-masing ekstrak yang berasal dari 5 lokasi yaitu Kediri Jawa Timur, Pekalongan Jawa Tengah, Denpasar Bali, Lampung Sumatra Selatan dan Bulungan Kalimantan Utara di uji tingkat toksisitasnya terhadap *cell line* kanker payudara T47D dengan metode MTT Assay. Uji *statistic one way analysis of variance* (Anova) dengan *software* SPSS versi 16.0 digunakan untuk menilai apakah ada perbedaan secara signifikan aktivitas antikanker (IC₅₀) ekstrak daun benalu mangga dari lima lokasi tersebut.

Hasil penelitian menunjukkan nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun benalu mangga dari lokasi Kediri, Pekalongan, Denpasar, Lampung dan Bulungan berturut-turut adalah 304.79 µg/ml, 4646.34 µg/ml, 417.01 µg/ml, 540.91 µg/ml, dan 287.39 µg/ml. Hasil analisis statistik Anova menunjukkan bahwa ada perbedaan signifikan antar lokasi Kediri-Pekalongan, Bulungan-Pekalongan, Denpasar-Pekalongan dan Lampung-Pekalongan. Ekstrak daun benalu mangga (*D. pentandra*) yang berpotensi sebagai antikanker adalah ekstrak dari lokasi Bulungan, Kediri dan Denpasar.

Kata Kunci: Antikanker, Daun benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*), Lokasi, kanker payudara T47D

ABSTRACT

Putri, A. 2017. Screening of Anticancer Activity in the Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) Leaves Extract from Several Location in Indonesia against Breast Cancer T47D Cell Line. Supervisor I : Dr. Roihatul Mutiah, M. Kes. Apt; Supervisor II: Weka Sidha Bhagawan, M. Farm, Apt; Religious Preceptor: Dr. H. Ahmad Barizi, M.A.

Supervisor: (I) Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
(II) Dr. H. Ahmad Barizi, M. A

Indonesia has so many kind of benalu (mistletoe), one of them wich has potential anticancer activity is benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*). This research aims to determine the profile of anticancer activity of benalu mangga leaves extract from several locations in Indonesia against T47D cell line using invitro technique. The profile of anticancer activity can be used as one of the Requirement developed to be fitofarmaka.

The separation of the active compound from leaves mistletoe mango do with ultrasonic maseration extraction method using a solvent of ethanol 96%. Each extract derived from 5 locations i.e. Kediri East Java, Pekalongan Central Java, Denpasar Bali, Lampung Sumatra and Bulungan Kalimantan at test level of toxicity against the *cell line* T47D breast cancer by MTT method *Assay*. Test *statistic one way analysis of variance* (Anova) with *software* SPSS version 16.0 used assess whether there is a difference significantly anticancer activity (IC₅₀) leaf extract mistletoe mango from five locations.

The results showed that the IC₅₀ value of ethanol extracts of leaves mistletoe mango from the Kediri, Pekalongan, Denpasar, Lampung and Bulungan are 304.79 µg/ml, 4646.34 µg/ml, 417.01 µg/ml, 540.91 µg/ml, and 287.39 µg/ml. The results of the Anova statistical analysis shows that there are significant differences between the location of Kediri-Pekalongan, Bulungan-Pekalongan, Pekalongan and Denpasar-Lampung-Sumatra. The extracts of leaf mistletoe mango (*D. pentandra*) from Bulungan, Kediri and Denpasar location are potential to be anticancer agent

Keywords : Anticancer, Benalu Mangga Leaves (*Dendrophthoe pentandra*), location, T47D breast cancer

مستخلص البحث

بوتري، أستري أربياني. ٢٠١٧. اختبار نشاط مضاد السرطان من منزوع الإيثانول (Etanol) ورق متطفل المانجو (*Dendrophthoe pentandra*) من الأمكنة المختلفة في إندونيسيا إلى خلية سرطان الثدي T47D. المشرفة الأولى: الدكتورة رائحة المطيعة، المشرف الثاني: الدكتور أحمد بارزي، المستشار: ويكا سيدا باغاوان الماجستير.

الكلمات المفتاحية: مضاد السرطان؛ ورق متطفل المانجو (*Dendrophthoe pentandra*)؛ الأمكنة المختلفة في إندونيسيا؛ خلية سرطان الثدي T47D

هناك أنواع مختلفة من المتطفل بإندونيسيا، وواحد منها هو متطفل المانجو الذي له نشاط مضاد السرطان. الأهداف من هذا البحث هي معرفة قدر نشاط مضاد السرطان خارج الجسم إلى خلية سرطان الثدي T47D من منزوع ورق متطفل المانجو من الأمكنة المختلفة في إندونيسيا.

وقد أجرى تفريق مجموعة المركبات من ورق متطفل المانجو بطريقة الانتزاع النقاقي الصوت الفوقي باستخدام الإيثانول ٩٦% وكل من منزوعات الورق المتطفل من كديري جاوى الشرقية، وبكالوعان جاوى الوسطى، ودنباسر بالي، ولامبونج سومطرة الجنوبي، وبولوعان كالماتان الشمالي. ثم اختبر كل المنزوعات إلى خلية سرطان الثدي T47D. والطريقة لهذا الاختبار هي الإحصائي بتحليل المتغيرات باتجاه واحد لتقييم هل هناك الفرق التي يمتاز بها.

وأظهرت نتيجة البحث أن IC_{50} منزوع الإيثانول من ورق متطفل المانجو من كديري، وبكالوعان، ودنباسر، ولامبونج، وبولوعان هي $304,79 \mu g/ml$ ، $4646,34 \mu g/ml$ ، $417,01 \mu g/ml$ ، $540,91 \mu g/ml$ ، و $284,39 \mu g/ml$. وأظهرت نتيجة الإحصائي أن هناك فرقا يمتاز بين كل من ورق متطفل المانجو بين كديري وبكالوعان، وبين بولوعان وبكالوعان، وبين دنباسر وبكالوعان، وبين لامبونج وبكالوعان. أن أحسن منزوع ورق متطفل المانجو هو من بكالوعان، وكديري، ودنباسر.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kanker merupakan penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel yang abnormal. Data World Health Organization (WHO) tahun 2010 menyebutkan bahwa kanker merupakan penyebab kematian nomor dua setelah penyakit kardiovaskuler (Depkes, 2012). Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar, 2007 prevalensi kanker di Indonesia adalah 4.3 setiap 1000 penduduk.

Salah satu jenis kanker yang menjadi penyebab kematian terbanyak di dunia adalah kanker payudara (Maharani, 2009). Berdasarkan data kanker di Indonesia tahun 2010 diperkirakan angka kejadiannya di Indonesia adalah 12/100.000 wanita, sedangkan di Amerika adalah sekitar 92/100.000 wanita dengan mortalitas yang cukup tinggi yaitu 27/100.000 atau 18 % dari kematian yang dijumpai pada wanita (Kemenkes, 2014). Di Indonesia, lebih dari 80% kasus ditemukan berada pada stadium yang lanjut, dimana upaya pengobatan sulit dilakukan (Kemenkes, 2014).

Beberapa usaha pengobatan terhadap kanker telah dilakukan secara intensif yaitu dengan pembedahan, radioterapi, kemoterapi, imunoterapi, pengobatan dengan hormone, dan tranplantasi organ (Maharani, 2009). Diantara beberapa terapi tersebut, kemoterapi merupakan pilihan pengobatan yang paling banyak digunakan. Kemoterapi adalah cara pengobatan dengan menggunakan senyawa kimia yang bekerja langsung pada sel kanker (Maharani, 2009). Kegagalan yang

sering terjadi dalam usaha pengobatan kanker utamanya melalui kemoterapi lebih dikarenakan rendahnya selektifitas obat-obat anti kanker dan sensitivitas sel kanker itu sendiri terhadap agen kemoterapi (Balunas and Kinghorn, 2005).

Usaha penemuan pengobatan baru yang aman dan selektif untuk pertumbuhan kanker perlu untuk dilakukan. Obat baru tersebut mungkin bisa didapatkan dari senyawa tumbuhan. Senyawa antikanker yang berasal dari tumbuhan dan sampai saat ini masih digunakan dalam pengobatan yaitu alkaloida vinka (*Catharanthus*), *epipodophyllotoxins*, *taxanes*, *flavonoid* dan *camptothecins* (Balunas and Kinghorn, 2005).

Sesungguhnya hanya Allah SWT Dzat Yang Maha Tunggal. Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu bermacam-macam, termasuk berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang memiliki banyak manfaat. Di dalam Quran Surat Yaasin (36) ayat 36 Allah SWT berfirman:

سُبْحَانَ الَّذِي خَلَقَ الْأَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْأَرْضُ وَمِنْ أَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُونَ

Artinya: “Maha Suci (Allah) yang menciptakan (makhluk) bermacam-macam seluruhnya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka maupun dari apa yang tidak mereka ketahui”.

Mahasuci Allah yang telah menciptakan segala sesuatu secara berpasangan, jantan dan betina, baik dalam dunia tumbuh-tumbuhan, diri mereka sendiri dan hal-hal yang tidak diketahui oleh manusia. Kata *min* dalam ayat ini berfungsi sebagai penjelas. Yakni, bahwa Allah telah menciptakan pejantan dan betina pada semua makhluk ciptaan-Nya, baik berupa tumbuh-tumbuhan, hewan, manusia dan makhluk

hidup lainnya yang tak kasat mata dan belum diketahui manusia (Shihab, 2012). *Al-Azwaaj* dalam ayat ini dijelaskan oleh para Ulama' maknanya adalah bermacam-macam atau berjenis-jenis.

Maha suci Allah SWT yang begitu Maha Pemurah. Allah telah menciptakan segala sesuatu dengan bermacam-macam dengan tujuan untuk mempermudah kehidupan manusia. Diantara yang bermacam-macam adalah tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang bermanfaat adalah daun benalu mangga yang digunakan sebagai obat antikanker, dan yang bisa mengetahuinya hanyalah orang-orang yang mau berfikir dan mencari.

Dalam perkembangan saat ini begitu banyak tumbuhan yang diteliti agar bisa menjadi suatu obat baru, salah satunya adalah tumbuhan benalu. Menurut Artanti dkk., (2003) salah satu agen antikanker dari bahan alam yang cukup menjanjikan dan masih membutuhkan eksplorasi lebih lanjut adalah benalu. Di dalam Al-Quran Allah SWT juga telah menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan tumbuhan yang dapat bermanfaat untuk makhluknya sebagai obat. Dalam Quran Surat As-Syuara (26) ayat 7 Allah SWT berfirman:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: "Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?" (QS. Al-Syuara: 7)

Pada ayat diatas kita dapat mengetahui bahwa Allah SWT telah menciptakan bumi dan menumbuhkan berbagai jenis tumbuh-tumbuhan yang baik.

Kata *نبتنا* memiliki arti “(kami) telah tumbuhkan” dapat dimaknai bahwa Allah SWT telah menumbuhkan banyak tumbuh-tumbuhan, salah satunya adalah tumbuhan benalu mangga yang memiliki banyak manfaat diantaranya sebagai obat kanker.

Benalu mengandung senyawa flavonoid, tanin dan asam amino (Ikawati dkk., 2008). Mekanisme flavonoid sebagai antikanker dibuktikan dengan kemampuan untuk memodulasi CYP1 (sitokrom P450 1) dan kelompok protein ABC (*ATP-binding cassette*) yang terlibat dalam karsinogenesis (Carlos *et al.*, 2014). Flavonoid juga dapat menginduksi apoptosis dan siklus sel serta dapat mengatur jalur sinyal lain yang terlibat dalam pengembangan dan perkembangan kanker (Carlos *et al.*, 2014).

Menurut Rosidah dkk., (1999), senyawa flavonoid dalam benalu diduga memiliki aktivitas antikanker yaitu kuersetin. Kuersetin merupakan senyawa flavonoid utama yang terkandung dalam benalu (Anonim, 1996). Salah satu mekanisme kerja senyawa kuersetin adalah memiliki kemampuan dalam menstabilkan radikal bebas yang dibentuk oleh senyawa karsinogen seperti radikal oksigen, peroksida dan superoksida (Gordon, 1990). Menurut Rosidah dkk., (1999) senyawa flavonoid dalam benalu diduga memiliki aktivitas antikanker yaitu kuersetin sebagai inhibitor enzim DNA topoisomerase sel kanker.

Benalu teh (*Scurrula oortiana*) merupakan salah satu dari daftar tumbuhan yang telah diajukan sebagai tumbuhan calon fitofarmaka antikanker (Santoso, 1993). Selain benalu teh, benalu mangga juga memiliki potensi sebagai antikanker dibuktikan dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan. Penelitian yang telah

dilakukan oleh Darmawan dkk., (2006) ekstrak metanol daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) memiliki aktivitas menangkap radikal bebas dengan IC₅₀ 23,944 µg/ml. Hasil penelitian Artanti dkk., (2006) isolasi dari fraksi heksan: etil asetat ekstrak etanol daun benalu mangga (*D. pentandra*) adanya kuersetin 3-O-rhamnosida yang merupakan senyawa flavonol mempunyai aktivitas penangkap radikal bebas dengan IC₅₀ 5.19 µg/ml. Penelitian yang telah dilakukan oleh Helda (2015) hasil uji sitotoksisitas fraksi-fraksi dari daun benalu mangga (*D. pentandra*) terhadap *cell line* kanker payudara T47D yang menunjukkan fraksi paling aktif adalah fraksi klorofom dengan nilai IC₅₀ 88.533 µg/ml. Dari penelitian-penelitian tersebut dapat menjadi dasar acuan bahwa daun benalu mangga (*D. pentandra*) berpotensi sebagai agen antikanker dan juga memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi produk fitofarmaka.

Pengembangan bahan baku tumbuhan obat menjadi produk fitofarmaka mengalami kendala yang salah satunya disebabkan bervariasinya kandungan senyawa multikomponen pada tumbuhan. Faktor yang menyebabkan variasi ini dapat dibedakan menjadi dua yaitu faktor internal dan eksternal (Verma and Shikla, 2015). Salah satu faktor eksternal yang sangat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder dari tumbuhan adalah perbedaan lokasi tumbuh. Adanya perbedaan lokasi tumbuh dari tumbuhan akan membuat perbedaan komposisi atau jumlah kandungan metabolit senyawa yang berperan dalam aktivitas biologis tertentu yang pada akhirnya akan membuat perbedaan potensi aktivitasnya.

Bukti perbedaan lokasi tumbuh dapat membuat perbedaan kandungan metabolit sekunder tumbuhan dapat diketahui dari penelitian Kim *et al.*, (2011)

terdapat perbedaan kandungan kimia, terutama kadar sitrat dan malat pada akar *Angelica gigas* yang ditanam pada 3 lokasi berbeda di Korea Selatan akibat perbedaan kondisi geografis dan iklim. Pada penelitian yang dilakukan Banerjee and Bonde (2011) diketahui bahwa ekstrak kulit batang *Bridelia retusa* yang diperoleh dari daerah Maharashtra (India) memiliki kandungan polifenolik total yang lebih besar dibandingkan ekstrak yang diperoleh dari Andhra Pradesh, sehingga aktivitas penangkapan radikal bebasnya lebih besar. Dari beberapa penelitian tersebut dapat diketahui bahwa perbedaan lokasi tumbuh yang berbeda memungkinkan terjadinya perbedaan komposisi kandungan kimia tumbuhan, baik secara kualitatif maupun kuantitatif, sehingga dapat menyebabkan perbedaan aktivitas. Hal ini dapat mempengaruhi kualitas calon produk fitofarmaka. Penentuan kriteria kualitas calon produk fitofarmaka penting untuk menjamin *safety* dan *efficacy* (Kim *et al.*, 2011).

Penelitian tentang perbandingan aktivitas antikanker antar ekstrak etanol daun benalu mangga (*D. pentandra*) dari beberapa lokasi tumbuh di Indonesia belum pernah dilakukan sebelumnya. Dalam rangka pemenuhan kriteria kualitas calon produk fitofarmaka yang dilihat dari kekuatan potensi aktivitas antikanker dan jaminan *safety*, maka dirasa penting untuk mengetahui profil aktivitas antikanker secara invitro terhadap sel T47D pada ekstrak daun benalu mangga (*D. pentandra*) dari beberapa lokasi di Indonesia. Dengan mengetahui profil aktivitas antikanker ekstrak daun benalu mangga (*D. pentandra*) dari beberapa lokasi di Indonesia, maka dapat mengetahui apakah terdapat perbedaan aktivitas antikanker

antar ekstrak dan dari lokasi manakah yang memiliki aktivitas antikanker paling berpotensi sehingga pemenuhan kualitas calon produk fitofarmaka dapat terpenuhi.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan penelitian :

1. Apakah terdapat perbedaan bermakna aktivitas antikanker antar ekstrak etanol daun benalu mangga (*D. pentandra*) dari 5 lokasi tumbuh yaitu di Desa Sumbergayam Kediri Jawa Timur (222 mdpl), Desa Tondono Pekalongan Jawa Tengah (8 mdpl), Desa Nangka Utara Denpasar Bali (51 mdpl), Desa Gunung Batin Lampung tengah Sumatra (27 mdpl), Desa Semangka Bulungan Kalimantan Utara (80 mdpl) terhadap *cell line* kanker Payudara T47D ?
2. Ekstrak etanol daun benalu mangga (*D. pentandra*) dari lokasi mana yang paling berpotensi sebagai agen antikanker terhadap *cell line* kanker payudara T47D?

1.3 Tujuan Penelitian

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

1. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna aktivitas antikanker antar ekstrak etanol daun benalu mangga (*D. pentandra*) dari 5 lokasi tumbuh yaitu Desa Sumbergayam Kediri Jawa Timur (222 mdpl),

Desa Tondono Pekalongan Jawa Tengah (8 mdpl), Desa Nangka Utara Denpasar Bali (51 mdpl), Desa Gunung Batin Lampung tengah Sumatra (27 mdpl), Desa Semangka Bulungan Kalimantan Utara (80 mdpl) terhadap *cell line* kanker Payudara T47D

2. Untuk mengetahui ekstrak etanol daun benalu mangga (*D. pentandra*) dari lokasi mana yang paling berpotensi sebagai agen antikanker terhadap *cell line* kanker payudara T47D

1.4 Manfaat penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1.4.1 Manfaat bagi Peneliti

1. Manfaat bagi peneliti adalah dapat mengetahui ada atau tidaknya perbedaan aktivitas antikanker antar ekstrak etanol daun benalu mangga (*D. pentandra*) dari 5 lokasi tumbuh yang berbeda yaitu Kediri Jawa Timur, Pekalongan Jawa Tengah, Denpasar Bali, Lampung Sumatra Selatan Bulungan Kalimantan Utara terhadap *cell line* kanker Payudara T47D. Jika memang ada perbedaan maka dapat ditarik kesimpulan sementara untuk tumbuhan lain, bahwa memang perbedaan lokasi tumbuh juga akan memiliki perbedaan aktivitasnya.

1.4.2 Manfaat terapan

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan dasar bahwa dilokasi yang memiliki aktivitas antikanker terbaik, kemungkinan memiliki faktor-faktor seperti kandungan tanah, intensitas cahaya, kondisi iklim yang

baik untuk menghasilkan metabolit sekunder sehingga dapat dilakukan kegiatan budidaya tanaman di lokasi tersebut.

1.5 Batasan Masalah

Batasan Masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Lokasi yang dipilih adalah dalam penelitian ini hanya Jawa Timur, Jawa Tengah, Bali, Sumatra dan Kalimantan, dipilih berdasarkan suhu tempat yang sama dan banyaknya dijumpai tumbuhan mangga di lokasi tersebut
2. Inang dari tumbuhan benalu adalah Pohon mangga Gadung
3. Ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96 %
4. Uji antikanker secara *in vitro* terhadap *cell line* kanker payudara T47D dengan metode MTT (*microtetrazolium salt*)
5. Penelitian ini hanya melihat aktivitas antikanker dengan parameter IC50 tanpa melihat faktor-faktor apa yang menyebabkan perbedaan dari aktivitas antikanker

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Tanaman dalam Perspektif Islam

Ketika Allah berkehendak lembut kepada Hamba-Nya dengan menciptakan penyakit dan obat, pada saat yang sama Allah menciptakan tumbuhan dan rumput-rumputan yang mengandung keistimewaan yang dapat berfungsi sebagai pencegahan dan penyembuhan penyakit. Artinya Allah tidak menciptakan sesuatu tanpa makna dan arti. Akan tetapi Allah menciptakan sesuatu dengan hikmah-hikmah tertentu.

Al Quran mengajarkan kepada manusia agar selalu berfikir dan mempelajari segala kekuasaan dan kebesaran Allah SWT. Salah satunya adalah tentang tumbuh-tumbuhan baik yang telah diciptakan oleh Allah SWT yang memiliki banyak manfaat. Sebagaimana Firman Allah SWT dalam QS. As-Syuara' (26) ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: "Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?" (QS. As-Syuara: 7)

Kata *الرُّضِ* dalam Q.S As-Syuara' tersebut memiliki arti "permukaan bumi" jika dihubungkan dengan tumbuhan dapat diartikan bahwa Allah SWT telah menciptakan bumi yang mana didalam bumi terdapat tumbuh-tumbuhan yang baik yang banyak manfaatnya. Kata *أَنْبَتْنَا* memiliki arti "(kami) telah tumbuhkan" dapat dimaknai bahwa Allah SWT telah menumbuhkan banyak tumbuh-tumbuhan, salah

satunya adalah tumbuhan benalu mangga yang memiliki banyak manfaat diantaranya sebagai obat kanker. Kata *زَوْج* berarti pasangan, tumbuh-tumbuhan pun memiliki pasangan untuk perkembangan dan pertumbuhan. Kata *كريم* memiliki kata sifat yang bermakna baik. Kata tersebut menggambarkan sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifati. Objek yang disifati adalah tumbuhan, sehingga dapat diartikan tumbuhan yang baik salah satunya adalah tumbuhan benalu mangga yang dapat dimanfaatkan sebagai obat kanker. Tumbuhan yang baik merupakan tumbuhan yang subur dan manfaat (Shihab, 2002).

Dari ayat diatas dapat disimpulkan bahwa Allah SWT menciptakan tumbuh-tumbuhan yang baik dan pasti memiliki manfaat. Salah satu manfaat dari tumbuhan adalah digunakan sebagai tanaman obat seperti halnya sabda Nabi Muhammad SAW dalam HR. Ibnu Majah dibawah ini:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: *“Allah tidak menciptakan sesuatu suatu penyakit tanpa menciptakan pula obat untuknya”*. (HR. Ibnu Majah)

Kanker merupakan penyakit mematikan ke dua setelah kardiovaskuler. Namun dengan merujuk pada hadist yang diriwayatkan Ibnu Majah tersebut dapat membuka pikiran dan hati bahwa Allah begitu maha Adil. Allah menurunkan penyakit namun Allah juga pasti memberikan obatnya. Allah senantiasa menyediakan dan menunjukkan penawarnya (obat) bagi mereka yang berfikir dengan keimanannya (Fattah, 2010). Melalui pengetahuan, manusia akan dituntun untuk menemukan obat-obat yang telah tersedia di alam. Melalui pengetahuan pula segala sesuatu yang awalnya masalah akan berubah menjadi berkah.

Salah satu bagian tumbuhan yang dapat dimanfaatkan menjadi obat adalah daun benalu mangga. Allah SWT Maha Mengetahui atas segala sesuatu yang ada di langit dan yang di bumi. Allah SWT mengetahui segala manfaat semua yang diciptakan-Nya termasuk Daun yang dapat digunakan sebagai tanaman obat. Sebagaimana Firman Allah SWT dalam Surat Al-An'am (6) ayat 59.

وَعِنْدَهُ مَفَاتِحُ الْغَيْبِ لَا يَعْلَمُهَا إِلَّا هُوَ وَيَعْلَمُ مَا فِي الْبُرِّ وَالْبَحْرِ وَمَا تَسْقُطُ مِنْ وَرَقَةٍ إِلَّا يَعْلَمُهَا وَلَا حَبَّةٌ فِي ظِلْمَةٍ الْأَرْضِ وَلَا رَطْبٍ وَلَا يَابِسٍ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ

Artinya: "Dan pada sisi Allah-lah kunci-kunci semua yang ghaib; tak ada yang mengetahuinya kecuali Dia sendiri, dan Dia mengetahui apa yang di daratan dan di lautan, dan tiada sehelai daun pun yang gugur melainkan Dia mengetahuinya (pula), dan tidak jatuh sebutir bijipun dalam kegelapan bumi dan tidak sesuatu yang basah atau yang kering, melainkan tertulis dalam kitab yang nyata (Lauh Mahfuzh)". (QS. Al-An'aam: 59)

Dari ayat tersebut kita dapat mengetahui bahwa pengetahuan Allah Yang Maha Mulia meliputi yang semua alam yang wujud ini, baik yang ada di daratan maupun dilautan, tidak ada satupun darinya yang sama bagi Allah sebesar zarahpun di bumi, tidak pula yang ada di langit. Dan tiada sehelai daun pun yang gugur melainkan Dia mengetahuinya pula. Tidak ada sebuah pohon pun baik di daratan maupun dilautan melainkan ada malaikat yang menjaganya. Malaikat mencatat daun-daun yang gugur dari pohonnya.

2.2 Tinjauan Tumbuhan Benalu Mangga (*D. pentandra*)

2.2.1 Morfologi Tumbuhan Benalu Mangga (*D. pentandra*)

Salah satu tumbuhan yang dikenal sebagai parasit namun ternyata memiliki banyak manfaat adalah benalu. Benalu dengan inang mangga spesies *D. pentandra* yang termasuk dalam family *Loranthaceae*. Akar tumbuh intensif, menjalar pada inang, acapkali tumpang tindih, dapat tumbuh anakan, warna akar kecoklatan, pelekatan kuat. Batang agak tegak, panjang, bulat, rapuh, berwarna kusam. Cabang banyak, panjang dan membentuk banyak ranting, ruas tua dan membesar. Daun daun tersebar atau sedikit berhadapan, menjorong, panjang 6-18 cm dan lebar 1,5-8 cm, pangkal menirus-membaji, ujung tumpul-runcing, panjang tangkai daun 5-20 mm. Perbungaan pada ruas-ruas, tandan dengan 6-12 bunga. Mahkota bunga 5 meruas, menyudut atau bersayap dibagian bawah dan menyempit dibagian leher, warna hijau atau kuning-orange, panjang tabung bunga 6-12 mm. Kepala sari panjang 2-5 mm dan tumpul. Buah buni, seperti peluru, dalam tandan, sewaktu muda berwarna hijau, setelah tua berwarna kuning. Biji sebesar biji papaya, bentuk seperti peluru senapan angin, terdiri dari dua bagian, yaitu lembaga berwarna hijau dan bagian yang lain berwarna putih, diliputi oleh gelatin. Habitus ditemukan pada pohon *Spondias dulcis* (*kedondong*) dan *Mangifera indica* (*mangga*) (Samiran, 2005).



Gambar 2.1 Tumbuhan benalu mangga (*D. pentandra*); batang (a), Daun (b), bunga (c) (Samiran, 2005)

2.2.2 Klasifikasi Tumbuhan

Klasifikasi benalu mangga sebagai berikut (Samiran, 2005).

Divisi: Magnoliophyta

Kelas: Magnoliopsida

Subkelas: Rosidae

Ordo: Santalales

Famili: Loranthaceae

Genus: *Dendrophthoe*

Spesies: *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.

2.2.3 Kandungan Senyawa Dan Bioaktivitas

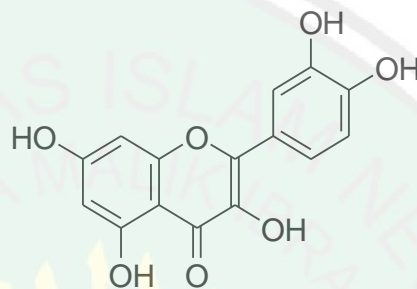
Kandungan kima yang terdapat dalam benalu adalah flavonoid, tanin, asam amino, karbohidrat, alkaloid dan saponin (Anonim, 1996). Menurut Ikawati (2008), daun benalu mangga (*D. pentandra*) mengandung flavonoid, tanin, asam amino, karbohidrat, alkaloid, dan saponin. Penelitian tersebut diperkuat dengan penelitian Khakim (2000) kandungan dalam ekstrak air daun benalu mangga (*D. pentandra*)

yaitu Flavonoid, Tanin, Asam amino, Karbohidrat, Alkaloid, Kuersetin dan Saponin.

Flavonoid telah menunjukkan perannya sebagai antioksidan, antimutagenik, antineoplastik dan aktifitas vasodilatator (Miller, 1996). Struktur dan reaktivitas senyawa flavonoid memungkinkan untuk bekerja sebagai agen antioksidan dan phytoestrogen, modulator sinyal estrogen dan metabolisme untuk menginduksi respon keseluruhan anti-proliferasi (Carlos *et al.*, 2014). Mekanisme flavonoid sebagai antikanker dibuktikan dengan kemampuan untuk memodulasi CYP1 (sitokrom P450 1) dan kelompok ABC (*ATP-binding cassette*) protein, terlibat dalam karsinogenesis (Carlos, *et al.*, 2014). Flavonoid juga dapat menginduksi apoptosis dan siklus sel serta sebagai jalur sinyal lain yang terlibat dalam pengembangan dan perkembangan kanker (Carlos *et al.*, 2014).

Berdasarkan penelitian Rosidah dkk (1999) senyawa flavonoid dalam benalu diduga memiliki aktivitas antikanker yaitu kuersetin. Kuersetin merupakan molekul flavanol yang terdapat pada benalu mangga (Hansen *et al.*, 1997). Mekanisme senyawa kuersetin sebagai antioksidan adalah pada tahap inisiasi kuersetin mampu menstabilkan radikal bebas yang dibentuk oleh senyawa karsinogen seperti radikal oksigen, peroksida dan superoksida (Gordon, 1990). Kuersetin menstabilkan senyawa-senyawa tersebut melalui reaksi hidrogenasi maupun pembentukan kompleks (Ren *et al.*, 2003). Melalui reaksi tersebut radikal bebas diubah menjadi bentuk yang lebih stabil sehingga tidak mampu mengoksidasi DNA.

Hasil penelitian Indriadmojo (2016) mekanisme kerja dari fraksi etil asetat daun benalu nangka (*Macrosolen chinensis*) terhadap *cell line* kanker payudara T47D dengan metode *flowcytometry* adalah dengan menghambat siklus sel khususnya pada fase G₀-G₁ and S, dan juga menginduksi apoptosis sel pada fase M1.



Gambar 2.2 Senyawa kuersetin (3,3'.4'.5.7-pentahydroxyflavone) (Fitokimia, 2010)

2.2.4 Aktivitas Antikanker

Penelitian tentang uji aktivitas antikanker ekstrak etanol daun benalu mangga (*D. pentandra*) menunjukkan bahwa dari uji sitotoksitas fraksi-fraksi dari daun benalu mangga terhadap *cell line* kanker payudara T47D yang menunjukkan fraksi paling aktif adalah fraksi klorofom dengan nilai IC₅₀ 88,533 µg/mL (Helda, 2015). Hasil penelitian menunjukkan terjadi perbaikan sel goblet pada perlakuan dosis fraksi etanol daun benalu mangga (*D. pentandra*) 0,500 mg/gram BB, mampu memperbaiki abnormalitas jaringan kolon yang ditunjukkan dengan tidak terjadinya. Daun benalu mangga (*D. pentandra*) berpotensi sebagai agen anti kanker kolon (Wicaksono, 2013).

Hasil penelitian menggunakan metode analisis probit pada mencit jantan dan betina menunjukkan tingkat keamanan ekstrak etanol herba benalu mangga (*D. pentandra*) tidak toksik yakni berada pada rentang dosis >15 g/kg berat badan tikus.

LD₅₀ mencit jantan sebesar 34,28 g/kg berat badan atau setara dengan dosis 23,99 g/kg berat badan tikus, sedangkan pada mencit betina sebesar 22,41 g/kg berat badan atau setara dengan dosis 15,69 g/kg berat badan tikus (Diantika dan Indriyati, 2016).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Darmawan dkk, (2006) menyatakan bahwa ekstrak metanol daun benalu mangga (*D. pentandra*) memiliki aktivitas menangkap radikal bebas dengan IC₅₀ 23,944 ppm. Uji aktivitas antiradikal dengan metode DPPH dari benalu mangga (*D. pentandra*) inang lobi-lobi menunjukkan bahwa ekstrak metanol memiliki aktivitas antioksidan sebesar IC₅₀ 25.40 ppm dan ekstrak etil asetat IC₅₀ 17.60 µg/mL (Fajriah dkk, 2007). Hasil penelitian Artanti dkk, (2006) isolasi dari fraksi heksan: etil asetat ekstrak etanol daun benalu mangga (*D. pentandra*) adanya kuersetin 3-O-rhamnosida yang merupakan senyawa flavonol mempunyai aktivitas penangkap radikal bebas dengan IC₅₀ 5.19 µg/mL. Aktivitas antiradikalnya lebih aktif dibandingkan dalam bentuk ekstrak (IC₅₀ 29.89 µg/mL). Beberapa penelitian lain menunjukkan bahwa kuersetin beraktivitas sebagai antiradikal yang dapat meredam DPPH dengan IC₅₀ 16.23 µM (Gusdinar *et al.*, 2011); IC₅₀ 10.64 µm (Adegroba dkk, 2006).

2.3 Tinjauan Flavonoid

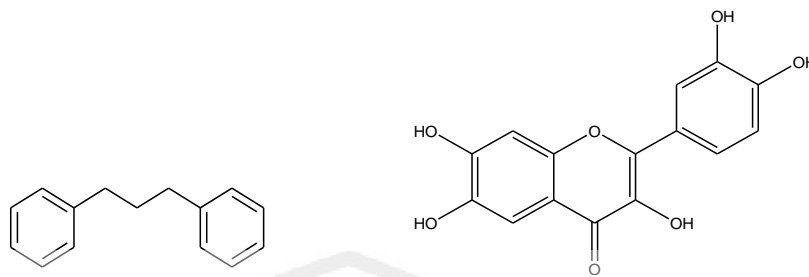
Flavonoid mempunyai kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzene (C₆) terikat pada suatu rantai propana (C₃) sehingga membentuk suatu susunan C₆-C₃-C₆. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis senyawa

flavonoid, yaitu: Flavonoid atau 1.3-diaril propane, Isoflavonoid, atau 1.2-diarilpropana dan Neoflavonoid atau 1.1-diarilpropana (Lenny, 2006).

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

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

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



Gambar 2.3 Struktur inti senyawa Flavonoid dan contoh struktur senyawa golongan flavonoid (kuersetin) (Robinson, 1995)

Flavonoid juga dapat diekstraksi secara maksimal dengan pelarut etanol 96%. Hasil penelitian dari Yulia, Rama dkk menunjukkan bahwa ekstraksi maserasi kubis ungu dengan variasi konsentrasi pelarut etanol 70,80,95 dan 96 % menunjukkan bahwa serbuk kubis ungu dengan pelarut etanol 96% (suasana asam) menghasilkan rendemen tertinggi yaitu 38.55 %.

Berbagai jenis senyawa, kandungan dan aktivitas antioksidatif flavonoid sebagai salah satu kelompok antioksidan alami yang terdapat pada sereal, sayur-sayuran dan buah, telah banyak dipublikasikan. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Cuppett *et al.*, 1954). Flavonoid merupakan kelompok besar fitokimia yang bersifat melindungi dan banyak terdapat pada buah dan sayuran. Flavonoid sering dikenal sebagai bioflavonoid yang berperan sebagai antioksidan (Winarsi, 2007).

2.4 Tinjauan Tentang Kanker

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

Mekanisme terjadinya kanker atau disebut dengan karsinogenesis terjadi melalui beberapa tahapan, yaitu tahap inisiasi, promosi, progresi dan metastasis. Tahapan dimana sel normal terpapar oleh zat karsinogen disebut sebagai tahapan inisiasi. Sel normal dapat mengalami perubahan menjadi sel kanker karena ada perubahan pada DNA (*Deoxyribose Nucleic Acid*) sel tersebut. Zat karsinogen dapat berikatan dengan DNA sel normal secara *irreversible*. Ikatan tersebut menyebabkan mutasi sehingga DNA berubah dan menyebabkan kerusakan DNA (Ruddon, 2007).

Bila terjadi kerusakan DNA, gen p53 yang merupakan gen penekan tumor akan menyandi protein p53. Protein tersebut dapat mengikat DNA dan memblokir replikasi sel yang rusak. Gen *DNA repair* akan memperbaiki DNA yang rusak. Bila proses perbaikan gagal, maka protein p53 akan merangsang sel untuk apoptosis. Jika gen p53 mengalami mutasi maka akan memproduksi protein p53 yang cacat sehingga tidak dapat mengenali tempat mengikatnya pada DNA. Akibatnya replikasi sel tidak terhambat mengarah kepada kegagalan apoptosis dan berpotensi ganas. Pada tahap ini bersifat *reversible*, karena dengan strategi pemberian

kemopreventif dan perubahan pola hidup, memungkinkan terjadinya penghambatan sel kanker menjadi ganas (Ruddon, 2007).

2.4.2 Kanker Payudara

Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker terbanyak di Indonesia (Kenkes, 2010). Struktur anatomi payudara secara garis besar tersusun dari jaringan lemak, lobus dan lobulus (setiap kelenjar terdiri dari 15-25 lobus) yang memproduksi cairan susu, serta ductus lactiferous yang berhubungan dengan glandula lobus dan lobulus yang berfungsi mengalirkan cairan susu, di samping itu juga terdapat jaringan penghubung (konektif), pembuluh darah dan limphe node (Ruddon, 2007). Kanker payudara (KPD) dapat berasal dari epitel duktus maupun Lobulus (Kemenkes, 2010). Hal tersebut dikarenakan Lobulus dan duktus payudara sangat responsif terhadap estrogen karena sel epitel lobulus dan *ductus* mengekspresikan reseptor estrogen (ER) yang menstimulasi pertumbuhan, diferensiasi, perkembangan kelenjar payudara, dan mammatogenesis (Ruddon, 2007).

2.4.2 Tinjauan Tentang Apoptosis Sel

Apoptosis adalah kematian sel yang terprogram. Apoptosis merupakan proses normal yang mempunyai dua fungsi yaitu: perbaikan jaringan dan pelepasan sel yang rusak yang bisa membahayakan tubuh (King, 2000). Apoptosis dipengaruhi oleh proses fisiologis yang berfungsi untuk mengeliminasi sel yang

tidak diinginkan atau tidak berguna selama proses pertumbuhan sel dan proses biologis normal lainnya (King, 2000).

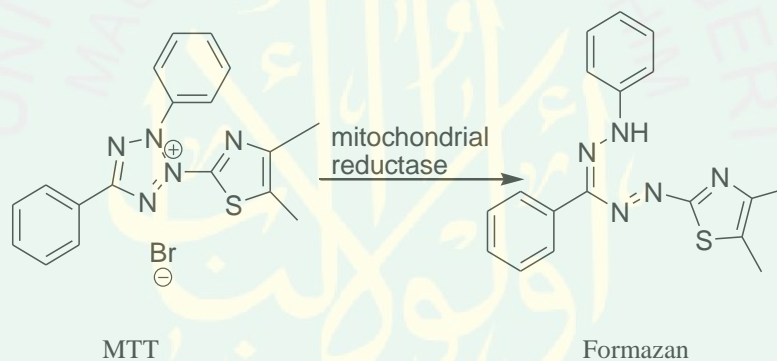
Apoptosis dapat diamati pada penampakan fisiologis yaitu berupa pengkerutan sel, kerusakan membran plasma dan kondensasi kromatin. Sel yang mati dengan proses ini tidak kehilangan kandungan internal sel dan tidak menimbulkan respon inflamasi. Jika program apoptosis sudah selesai, sel akan menjadi kepingan-kepingan sel mati yang disebut badan apoptosis (*apoptotic body*). Badan apoptosis ini akan segera dikenali oleh sel makrofag, untuk selanjutnya dimakan *engulfed* (King, 2000). Pada prinsipnya ada dua jalur inisiasi apoptosis, yaitu melalui *death receptor* pada permukaan sel (jalur ekstrinsik) dan melalui mitokondria (jalur intrinsik) (King, 2000).

2.5 Tinjauan MTT (*Microculture Tetrazolium Salt*)

Dua metode umum yang digunakan untuk uji toksisitas adalah metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan biru tripan (*trypan blue*) dan metode MTT *assay*. Dalam penelitian ini digunakan uji MTT *assay* yang memiliki kelebihan yaitu relatif cepat, sensitif dan akurat digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya dapat untuk memprediksikan sifat sitotoksik suatu bahan (Doyle and Griffiths, 2000).

Metode ini berdasarkan pada perubahan garam tetrazolium [3-(4.5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide] (MTT) menjadi formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup. MTT diabsorpsi ke dalam sel hidup dan dipecah melalui reaksi reduksi oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi

mitokondria menjadi formazan yang terlarut dalam PBS (*Phosphate Buffer saline*) berwarna biru (Doyle and Griffiths, 2000). Konsentrasi formazan yang berwarna biru dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif (Mosmann, 1983 dan Padmi, 2008). Absorbansi larutan berwarna ini kemudian dapat diukur menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang antara 500 dan 600 nm, yang mana semakin besar absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel yang hidup. Reaksi reduksi MTT dapat dilihat pada gambar berikut (Meiyanto, 1999):



Gambar 2.4 Reaksi reduksi MTT menjadi formazan (Meiyanto, 1999)

2.6 Tinjauan Tentang Ekstraksi

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

tradisional, pelarut organik dari polaritas yang berbeda-beda pada umumnya dipilih dalam metode ekstraksi modern untuk mengeksploitasi berbagai kelarutan konstituen tanaman. Kebijakan dan peraturan pemerintah membatasi penggunaan pelarut yang diperbolehkan untuk ekstraksi. Pelarut yang diperbolehkan yaitu air dan etanol serta campurannya. Metode penyarian yang digunakan tergantung pada wujud dan kandungan zat dari bahan yang akan disari. Metode maserasi adalah metode yang sering digunakan, karena metode ini sederhana (Depkes 2000; Harborne, 1996).

2.7 Tinjauan Kondisis Geografis Lokasi Di Indonesia

Faktor yang mempengaruhi komposisi kandungan kimia pada tanaman adalah faktor internal dan eksternal. Faktor internal meliputi faktor genetik dan variasi fisiologi. Sedangkan faktor eksternal, seperti faktor lingkungan yang berperan dalam pertumbuhan dan mempengaruhi kandungan bahan aktif adalah letak geografis, ketinggian tempat, kondisi tanah (jenis dan komposisi tanah), iklim, intensitas cahaya, suhu, ketersediaan air, dan lain-lain (Pereira *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2011; Radusiene *et al.*, 2012). Faktor lingkungan lainnya adalah kelembapan, penggunaan pupuk, kerusakan akibat mikroorganisme dan serangga, stress yang diinduksi radiasi UV, logam berat dan pestisida (Hounsone *et al.*, 2008).

2.7.1 Ketinggian Tempat

Ketinggian tempat dapat menyebabkan perubahan suhu dan kondisi iklim. Penelitian Penelitian pada studi tumbuhan *Veronica chamaedrys* menunjukkan

bahwa kadar Apigenin meningkat seiring dengan meningkatnya ketinggian lokasi tumbuh. Hal ini menunjukkan bahwa kondisi geografis berpengaruh terhadap metabolit (Nikolova and Ivancheva, 2005).

2.7.2 Tanah dan Unsur Hara

Tanah merupakan lapisan permukaan bumi yang berfungsi sebagai medium alami untuk pertumbuhan, perkembangan perakaran, penopang tegak tumbuhnya tanaman dan penyuplai kebutuhan air dan udara. Tanah juga berfungsi sebagai habitat biota yang berperan dalam penyediaan unsur hara bagi tumbuhan (Rosmaekam dan Widya, 2011).

Perbedaan jenis tanah dan unsur hara juga menyebabkan perbedaan kandungan metabolit seperti adanya perbedaan kandungan camphotechin pada *Notapodhytes nimmonia* yang tumbuh di berbagai lokasi (Verma and Shukla, 2015)

Jenis tanah menurut klasifikasi Pusat Penelitian Tanah Bogor tahun 1982 adalah sebagai berikut (PPT, 1982):

1. Organosol

Tanah organik (gambut) yang ketebalannya lebih dari 50 cm. Biasanya tumbuh pada daerah dataran tinggi dan pada daerah yang lembab.

2. Litosol

Tanah mineral yang ketebalannya 20 cm atau kurang. Di bawahnya terdapat batuan keras yang padu.

3. Rendzina

Tanah dengan epipedon molik (warna gelap, kandungan bahan organik lebih dari 1 %, kejenuhan basa 50 %), dibawahnya terdiri dari batuan kapur.

4. Grumusol

Tanah dengan Kadar liat lebih dari 30 % bersifat mengembang dan mengerut. Pada musim kering, tanah keras dan retak-retak karena mengerut, jika basah akan lengket (mengembang). PH sekitar 6-7 dan kandungan pasir agak tinggi

5. Gleisol

Tanah yang selalu jenuh air sehingga berwarna kelabu atau menunjukkan sifat-sifat hidromorfik lain.

6. Aluvial

Tanah berasal dari endapan baru dan berlapis-lapis, bahan organik jumlahnya berubah tidak teratur dengan kedalaman. Jenis tanah ini biasanya pada dataran rendah dengan PH tanah sekitar 7 dan tanahnya biasanya subur.

7. Regosol

Tanah bertekstur kasar dengan Kadar pasir lebih dari 60 %, hanya mempunyai horison penciri okrik, histik atau sulfurik.

8. Arenosol

Tanah bertekstur kasar dari bahan alvik yang terdapat pada kedalaman sekurang-kurangnya 50 cm dari permukaan. Tidak mempunyai horison penciri kecuali epipedon okrik.

9. Andosol

Tanah-tanah yang umumnya berwarna hitam (epipedon molik atau umbrik), mempunyai horison kambik, dan PH tanah rendah.

10. Latosol

Tanah dengan Kadar liat tinggi (lebih dari 60 %), remah sampai gumpal, gembur, dan pH tanah normal.

11. Brunizem

Seperti latosol, tetapi kejenuhan basa lebih dari 50 %.

12. Kambisol

Tanah dengan horison kambik, atau epipedon umbrik atau molik. Tidak ada gejala-gejala hidromorfik (pengaruh air).

13. Nitosol

Tanah dengan penimbunan liat (horison argilik). Dari horison penimbunan liat maksimum ke horison-horison di bawahnya, Kadar liat turun kurang dari 20 %.

14. Podsolik

Tanah dengan horison penimbunan liat (horison argilik), dan kejenuhan basa kurang dari 50 %, tidak mempunyai horison alvik.

15. Mediteran

Seperti tanah podsolik (mempunyai horison argilik), tetapi kejenuhan basa lebih dari 50 %.

16. Planosol

Tanah dengan horison albik yang terletak diatas horison dengan permeabilitas lambat (misalnya horison argilik atau natrik), adanya liat berat

17. Podsol

Tanah dengan horison penimbunan besi, Alumunium oksida dan bahan organik (sama dengan horison sporadik). Tanah ini mempunyai horison albik.

Tanah dengan pelapukan lanjut dan mempunyai horison oksik, yaitu horison dengan kandungan mineral mudah lapuk rendah. Secara sederhana unsur hara adalah senyawa organis atau anorganis yang ada di dalam tanah. Berdasarkan jumlah yang diperlukan tanaman, unsur hara dibedakan menjadi unsur hara makro dan mikro. Unsur hara makro adalah unsur hara yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah banyak, yang apabila jumlahnya kurang, maka pertumbuhan tanaman dan produksi akan berkurang. Mineral yang termasuk unsur hara makro adalah C, H, O (sintesis karbohidrat), N, P, K (unsur primer), Ca, Mg, dan S (unsur sekunder). Unsur hara mikro adalah unsur hara yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah sedikit, namun apabila kurang sedikit saja, maka pertumbuhan tanaman akan terganggu, dan apabila kelebihan sedikit saja, maka tanaman akan beracun. Unsur

hara mikro antara lain adalah Fe, Mn, Mo, Cu, B, Zn, Cl, Na, Co, dan Ni (Schutzendubel & Polle, 2002).

Adapun kegunaan unsur-unsur hara tersebut bagi tanaman adalah sebagai berikut (Nanda, 2015):

1. Nitrogen

Peranan utama nitrogen (N) bagi tanaman adalah untuk merangsang pertumbuhan secara keseluruhan. Nitrogen merupakan komponen asam amino yang dibutuhkan dalam sintesis protein dan senyawa lainnya, sehingga nitrogen berperan penting dalam hampir semua proses metabolisme tanaman.

2. Fosfor

Fosfor (P) merupakan komponen asam nukleat, fosfolipid, koenzim DNA dan NADP, dan ATP. Unsur ini mengaktifasi koenzim untuk produksi asam amino yang digunakan dalam sintesis protein.

3. Kalium

Fungsi Kalium (K) adalah untuk aktivasi enzim, fotosintesis, stabilisasi sintesis protein, dan netralisasi muatan negatif pada protein.

4. Kalsium

Bagi tanaman, kalsium (Ca) bertugas untuk merangsang pembentukan bulu-bulu akar, memperkeras batang tanaman, dan merangsang pembentukan biji. Kalsium yang terdapat pada batang dan daun berperan dalam merespon *environmental stress* (menetralisasikan senyawa atau suasana yang tidak

menguntungkan pada tanah) dengan bertindak sebagai *second messenger* (Sanders *et al.*, 1999). Kalsium juga berperan sebagai aktivator enzim.

5. Magnesium

Magnesium (Mg) berperan sebagai penyusun klorofil dan penting dalam metabolisme karbohidrat. Unsur ini merupakan aktivator enzim dalam sintesis asam nukleat (DNA dan RNA).

6. Belerang

Belerang (S) merupakan komponen penting dalam sintesis asam amino yang diperlukan dalam pembentukan protein. Unsur ini juga dibutuhkan dalam produksi klorofil dan penggunaan fosfor dan nutrisi penting lainnya.

7. Klor

Klor (Cl) berperan sebagai aktivator enzim, terlibat dalam pengaturan turgor, pertumbuhan sel dan resistensi terhadap kekeringan.

8. Besi

Besi (Fe) merupakan unsur penting bagi sistem enzim yang berperan dalam reaksi oksidasi reduksi dan rantai transpor elektron pada proses fotosintesis dan respirasi, sintesis klorofil, menjaga struktur kloroplas dan aktivitas enzim, mengatur reduksi nitrat dan sulfat (Eskandari, 2011).

9. Mangan

Mangan (Mn) berperan sebagai aktivator enzim untuk asimilasi nitrogen. Unsur ini juga penting dalam pembentukan klorofil dan metabolisme karbohidrat.

10. Tembaga

Tembaga (Cu) berperan dalam fotosintesis, respirasi, pembentukan lignin, dan proteksi terhadap stress oksidatif. Unsur ini juga berperan sebagai kofaktor dalam sintesis protein, dan sebagai aktivator enzim.

11. Boron

Boron (B) berperan sebagai aktivator enzim, berhubungan dengan metabolisme Ca dan K, mengatur metabolisme karbohidrat, dan terlibat dalam sintesis RNA.

12. Molibdenum

Molibdenum (Mo) merupakan bagian dari nitrogenase, pengangkut elektron bagi nitrogen reduktase, dan terlibat dalam metabolisme karbohidrat.

13. Seng

Seng (Zn) berperan sebagai aktivator enzim, sintesis protein, hormon, RNA, DNA dan stabilitas kompleks ribosom (sintesis protein).

2.7.3 Iklim

Pengertian dari iklim adalah rata-rata dari pergantian atau keadaan cuaca dalam wilayah yang luas dan jangka waktu yang lama (perhitungan jangka waktu \pm 30 tahun). Terjadinya kondisi iklim yang bervariasi di muka bumi disebabkan rotasi dan revolusi bumi, serta adanya perbedaan garis lintang dari setiap region di dunia (Hartono, 2007).

Cara perhitungan iklim Schmidt-Fergusson berdasarkan perhitungan jumlah bulan-bulan terkering dan bulan-bulan basah setiap tahun kemudian dirata-ratakan.

Untuk menentukan bulan basah dan bulan kering dengan menggunakan metode Mohr.

Menurut Mohr, suatu bulan dikatakan (Hartono, 2007):

- a. Bulan kering, yaitu bulan-bulan yang curah hujannya < 60 mm
- b. Bulan basah, yaitu bulan-bulan yang curah hujannya > 100 mm
- c. Bulan lembap, yaitu bulan-bulan yang curah hujannya 60-100 mm.

2.8 Lokasi Sampling

Indonesia terletak di Asia Tenggara, daerah katulistiwa, diapit Samudra Hindia dan Samudra Pasifik dengan koordinat posisi pada 6° LU- 11° LS dan 95° BT- 141° BT. Indonesia memiliki luas daratan $1.922.570$ Km² dan luas lautan $3.257.483$ Km² dengan ketinggian 0 Mdpl di Samudra Hindia dan 5.030 Mdpl di Puncak Jaya Papua. Iklim di Indonesia adalah tropis basah yang dipengaruhi oleh puncak Jaya Papua. Iklim di Indonesia adalah tropis basah yang dipengaruhi oleh angin Muson Barat yang bertiup dari bulan November hingga Mei yang banyak membawa uap air dan hujan serta dipengaruhi oleh angin Muson Timur yang bertiup pada bulan Juni hingga Oktober dari Selatan Tenggara kering yang sedikit membawa uap air. Suhu di Indonesai rata-rata $23-40^{\circ}$ C tetapi bisa lebih rendah seperti 0° C di Puncak Jaya. Curah hujan rata-rata 1600 mm setahun, tetapi bisa bervariasi 500-7000 mm setahun. Indonesia memiliki 17.504 pulau dengan terbesar yaitu Sumatra, Jawa, Kalimantan, Sulawesi dan Papua (Kemendagri, 2016).



Gambar 2.5 Peta Indonesia

2.8.1 Kabupaten Kediri

Kabupaten Kediri terletak antara 111° - 112° BT dan 7° - 8° LS. Wilayah Kabupaten Kediri diapit oleh 5 Kabupaten, yakni : Sebelah Barat diapit Tulungagung dan Nganjuk, sebelah Utara diapit Nganjuk dan Jombang, sebelah Timur diapit Jombang dan Malang dan sebelah Selatan diapit Blitar dan Tulungagung (Pemerintah Kabupaten Kediri, 2016).

Kondisi topografi terdiri dari dataran rendah dan pegunungan yang dilalui aliran sungai Brantas yang membelah dari selatan ke utara. Suhu udara berkisar antara 23° C sampai dengan 31° C dengan tingkat curah hujan rata-rata sekitar 1652 mm per hari. Secara keseluruhan luas wilayah ada sekitar 1.386.05 Km² atau + 5%, dari luas wilayah propinsi Jawa Timur. Ditinjau dari jenis tanahnya, Kabupaten Kediri dapat dibagi menjadi 5 golongan. Yaitu (Pemerintah Kabupaten Kediri, 2016). :

1. Regosol coklat kekelabuan seluas 77.397 Ha atau 55,84 %, merupakan jenis tanah yang sebagian besar ada di wilayah kecamatan Kepung, Puncu, Ngancar, Plosoklaten, Wates, Gurah, Pare, Kandangan, Kandat, Ringinrejo, Kras, Papar, Purwoasri, Pagu, Plemahan, Kunjang dan Gampengrejo
2. Aluvial kelabu coklat seluas 28,178 Ha atau 20,33 %, merupakan jenis tanah yang dijumpai di Kecamatan Ngadiluwih, Kras, Semen, Mojo, Grogol, Banyakan, Papar, Tarokan dan Kandangan
3. Andosol coklat kuning, regosol coklat kuning, litosol seluas 4.408 Ha atau 3,18 %, dijumpai di daerah ketinggian di atas 1.000 dpl seperti Kecamatan Kandangan, Grogol, Semen dan Mojo.
4. Mediteran coklat merah, grumosol kelabu seluas 13.556 Ha atau 9.78 %, terdapat di Kecamatan Mojo, Semen, Grogol, Banyakan, Tarokan, Plemahan, Pare dan Kunjang.
5. Litosol coklat kemerahan seluas 15.066 Ha atau 10.87%, terdapat di kecamatan Semen, Mojo, Grogol, Banyakan, Tarokan dan Kandangan.

Wilayah Kabupaten Kediri diapit oleh dua gunung yang berbeda sifatnya, yaitu Gunung Kelud di sebelah timur yang bersifat vulkanik dan Gunung Wilis disebelah barat yang bersifat non vulkanik, sedangkan tepat di bagian tengah wilayah Kabupaten Kediri melintas sungai Brantas yang membelah wilayah Kabupaten Kediri menjadi dua bagian, yaitu bagian Barat sungai Brantas: merupakan perbukitan lereng Gunung Wilis dan Gunung Klotok dan bagian timur Sungai Brantas (Pemerintah Kabupaten Kediri, 2016).

2.8.1 Kota Pekalongan

Secara geografis, wilayah Kota Pekalongan terletak antara 60° 50' 42" - 60° 55' 44" Lintang Selatan dan 109° 37' 55" - 109° 42' 19" Bujur Timur. Batas administratif Kota Pekalongan adalah sebagai berikut: Sebelah Utara berbatasan dengan Laut Jawa; sebelah Timur berbatasan dengan Kabupaten Batang; sebelah Selatan berbatasan dengan Kabupaten Batang dan Pekalongan; dan sebelah Barat berbatasan dengan Kabupaten Pekalongan (Pemerintah Kota Pekalongan, 2015).

Luas wilayah Kota Pekalongan adalah 4.525 Ha atau 45.25 km². Jarak terjauh dari wilayah Utara ke wilayah Selatan ± 9 Km dan dari wilayah Barat ke wilayah Timur ± 7 Km. Kota Pekalongan terdiri dari 4 kecamatan dan pada mulanya 47 kelurahan menjadi 27 kelurahan. Sesuai dengan Peraturan Daerah Nomor 8 Tahun 2013 tentang Penggabungan Kelurahan di Lingkungan Pemerintah Kota Pekalongan, secara administratif Kota Pekalongan terbagi menjadi 4 kecamatan dan 27 kelurahan (Pemerintah Kota Pekalongan, 2016)

Tabel 2.1 Nama dan Luas Kecamatan Kota Pekalongan

No	Kecamatan	Luas (Km ²)	Presentase (%)
1	Pekalongan Barat	10.5	22
2	Pekalongan Timur	9.52	21
3	Pekalongan Selatan	10.80	24
4	Pekalongan Utara	14.88	33
	TOTAL	45.25	100

Sumber: Pemerintah Kota Pekalongan, 2015.

Berdasarkan koordinat fiktifnya, Kota Pekalongan membentang antara 510,00 – 518,00 Km membujur dan 517,75 – 526,75 Km melintang, dimana semuanya merupakan daerah datar, tidak ada daerah dengan kemiringan yang curam, terdiri dari tanah kering 67,48% Ha dan tanah sawah 32,53%. Berdasarkan

jenis tanahnya, di Kota Pekalongan memiliki jenis tanah yang berwarna agak kelabu dengan jenis aluvial kelabu kekuningan dan aluvial yohidromorf. Jarak terjauh dari Utara ke Selatan mencapai ± 9 Km, sedangkan dari Barat ke Timur mencapai ± 7 Km. Kota Pekalongan merupakan daerah beriklim tropis dengan rata-rata curah hujan berkisar antara 40 mm - 300 mm per bulan, dengan jumlah hari hujan 120 hari. Keadaan suhu rata-rata di Kota Pekalongan dari tahun ke tahun tidak banyak berubah, berkisar antara 17°-35 °C (Pemerintah Kota Pekalongan, 2015).

2.8.2 Provinsi Bali

Secara geografis Provinsi Bali terletak pada 8°3'40" - 8°50'48" Lintang Selatan dan 114°25'53" - 115°42'40" Bujur Timur. Relief dan topografi Pulau Bali di tengah-tengah terbentang pegunungan yang memanjang dari barat ke timur. Provinsi Bali terletak di antara Pulau Jawa dan Pulau Lombok. Batas fisiknya adalah sebagai berikut: Utara berbatasan dengan Laut Bali, Timur berbatasan dengan Selat Lombok (Provinsi Nusa Tenggara Barat), Selatan berbatasan dengan Samudera Indonesia dan Barat berbatasan dengan Selat Bali (Propinsi Jawa Timur) km (Pemerintah Provinsi Bali, 2010).

Secara administrasi, Provinsi Bali terbagi menjadi delapan kabupaten dan satu kota, yaitu Kabupaten Jembrana, Tabanan, Badung, Gianyar, Karangasem, Klungkung, Bangli, Buleleng, dan Kota Denpasar yang juga merupakan ibukota provinsi. Selain Pulau Bali Provinsi Bali juga terdiri dari pulau-pulau kecil lainnya, yaitu Pulau Nusa Penida, Nusa Lembongan, dan Nusa Ceningan di wilayah

Kabupaten Klungkung, Pulau Serangan di wilayah Kota Denpasar, dan Pulau Menjangan di Kabupaten Buleleng. Luas total wilayah Provinsi Bali adalah 5.634,40 ha dengan panjang pantai mencapai 529 km (Pemerintah Provinsi Bali, 2010).

Kabupaten Badung merupakan salah satu kabupaten di Kota Denpasar. Secara geografis terletak antara 8°14'20"-8°50'48" LS dan 115°05'00"-115°26'16" BT dengan luas wilayah 418.52 km² atau sekitar 7.43 persen dari daratan Pulau Bali. Hamparan geografis ini dibagi menjadi enam Kecamatan dengan wilayah terluas adalah Kecamatan Petang disusul kemudian dengan Kecamatan Kuta Selatan, Mengwi, Abiansemal, Kuta Utara dan Kuta (Pemerintah Kabupaten Badung, 2005).

Perbedaan jenis batuan serta morfologi di daerah Kab. Badung membuat berbedanya jenis tanah dimasing - masing wilayahnya. Jenis tanah di ujung utara Kabupaten Badung merupakan Tanah Andosol, sedang dibagian sisi timurnya yang berbatasan dengan Kabupaten Gianyar memanjang sampai di sekitar perbatasan Denpasar merupakan Tanah Regosol. Sisi barat bagian tengah yang berbatasan dengan Kabupaten Tabanan memanjang ke selatan hingga berbatasan dengan Kota Denpasar merupakan Tanah Latosol. Wilayah Bukit yang disusun oleh Batu Kapur memiliki jenis Tanah Mediteran, sedangkan di sekitar muara sungai dan beberapa pantai jenis tanahnya Alluvial (Pemerintah Kabupaten Badung, 2005).

Perbedaan jenis tanah tersebut menyebabkan bervariasinya vegetasi yang sangat berhubungan dengan kandungan mineral dan kesuburan dari masing – masing jenis tanah tersebut. Wilayah yang terdiri dari Tanah Regosol dan Latosol

sangat cocok diolah untuk penanaman bahan pangan dan holtikultura sedangkan jenis Mediteran di Wilayah Bukit yang minim air hanya ditanami bahan pangan disaat musim hujan (Pemerintah Kabupaten Badung, 2005).

2.8.3 Pulau Sumatra

Pulau Sumatra terletak di bagian barat gugusan kepulauan Nusantara. Pemerintahan di Sumatra dibagi menjadi sepuluh provinsi berdasarkan urutan pembentukannya: Sumatera Utara, Sumatera Selatan, Sumatera Barat, Riau, Jambi, Aceh, Lampung, Bengkulu, Kepulauan Bangka Belitung, Kepulauan Riau. Perbatasan Pulau Sumatra diantaranya adalah Sebelah Utara berbatasan dengan Teluk Benggala, sebelah Timur dengan Selat Malaka, di sebelah Selatan dengan Selat Sunda dan di sebelah Barat dengan Samudra Hindia (Wikipedia, 2017).

Secara geografis, Kabupaten Lampung Tengah terletak antara $104^{\circ} 35'$ sampai dengan $105^{\circ} 50'$ Bujur Timur dan antara $4^{\circ} 30' - 4^{\circ} 15'$ Lintang Selatan. Batas-batas daerah Kabupaten Lampung Tengah adalah : sebelah Utara berbatasan dengan Kabupaten Lampung Utara, sebelah Selatan berbatasan dengan Kabupaten Lampung Selatan, sebelah Timur berbatasan dengan Kabupaten Lampung Timur dan Kota Metro, sebelah Barat berbatasan dengan Kabupaten Tanggamus dan Lampung Barat (BPS Lampung Tengah, 2013).

Kabupaten Lampung Tengah adalah salah satu Kabupaten di Provinsi Lampung. Luas wilayah Kabupaten Lampung Tengah sebesar 13,57 % dari Total Luas Provinsi Lampung. Ibu Kota ini terletak di Gunung Sugih. Kabupaten ini

memiliki luas wilayah 4.789,8 km² pada tahun 2012 memiliki penduduk sebanyak 1.192.960 jiwa, dengan topografi wilayah dibagi menjadi lima unit, yaitu daerah topografi berbukit hingga bergunung, daerah topografi berombak hingga bergelombang, daerah dataran alluvial, daerah rawa pasang surut, dan daerah sungai. Kabupaten ini secara administratif dibagi menjadi 28 kecamatan, serta 312 kampung/ kelurahan (BPS Lampung Tengah, 2013).

Berdasarkan Data dari Dinas Kehutanan dan Perkebunan Kabupaten Lampung Tengah (2014) Kabupaten Lampung Tengah secara umum beriklim tropika basah dengan angin laut bertiup dari Samudera Indonesia dengan kecepatan angin rata-rata 5,83 km/jam, memiliki temperatur rata-rata berkisar antara 26° - 28°C pada daerah dataran dengan ketinggian 30 - 60 meter dari permukaan laut. Temperatur maksimum yang sangat jarang dialami adalah 33°C dan juga temperatur minimum 22°C. Sebagian besar wilayahnya berada pada ketinggian 15 - 65 meter dari permukaan laut dan mempunyai kemiringan lereng antara 0 – 2 % (92.29%). Jenis tanah didominasi oleh jenis Latosol dan Podsolik (BPS Lampung Tengah, 2013).

Curah hujan merupakan salah satu unsur iklim yang paling penting dalam bidang pertanian dan merupakan unsur masukan yang penting dalam proses hidrologi di suatu wilayah. Dari data curah hujan dapat diperoleh informasi jenis tanaman yang dapat diusahakan di wilayah tersebut. Dalam pengelolaan/konservasi tanah, curah hujan merupakan salah satu unsur terpenting yang digunakan untuk menduga besarnya potensi erosi pada suatu wilayah. Rata-rata curah hujan tahunan pada Stasiun Curah Hujan Sindang Asri sebesar 2.389 mm per tahun dengan jumlah

6 bulan basah (curah hujan > 100 mm) dan bulan kering (< 60 mm) 6 bulan secara berturut-turut (BPS Lampung Tengah, 2013).

2.8.5 Pulau Kalimantan

Pulau Kalimantan terletak di sebelah utara pulau Jawa, sebelah timur Selat Melaka, sebelah barat pulau Sulawesi dan sebelah selatan Filipina. Luas pulau Kalimantan adalah 743.330 km². Pulau Kalimantan dikelilingi oleh Laut Cina Selatan di bagian barat dan utara-barat, Laut Sulu di utara-timur, Laut Sulawesi dan Selat Makassar di timur serta Laut Jawa dan Selat Karimata di bagian selatan. Gunung Kinabalu (4095 m) yang terletak di Sabah, Malaysia ialah lokasi tertinggi di Kalimantan (Wikipedia, 2017).

Provinsi Kalimantan Utara merupakan Provinsi ke-34 di Indonesia dan merupakan provinsi termuda dari seluruh Provinsi yang ada di Indonesia. Provinsi Kalimantan Utara terdiri dari 4 Kabupaten 1 Kota yaitu : Kabupaen Bulungan, Kabupaten Malinau, Kabupaten Nunukan, Kabupaten Tana Tidung, Kota Tarakan. Letak geostrategis Provinsi Kalimantan Utara berbatasan dengan : Batas Utara dengan Negara Malaysia Bagian Sabah, batas Selatan dengan Kabupaten Kutai Barat, Kutai Timur, Kutai Kertanegara Kan Kab. Berau Prov Kaltim, batas Timu dengan Laut Sulawesi, batas Barat dengan negara Malaysia bagian Serawak (Pemerintah Provinsi Kalimantan Utara, 2016).

Komponen iklim di Kabupaten Bulungan adalah curah hujan (jumlah curah hujan tahunan, bulanan, hari hujan), suhu udara, kelembaban, penyinaran matahari. Iklim merupakan komponen penting dalam menentukan keberhasilan produksi

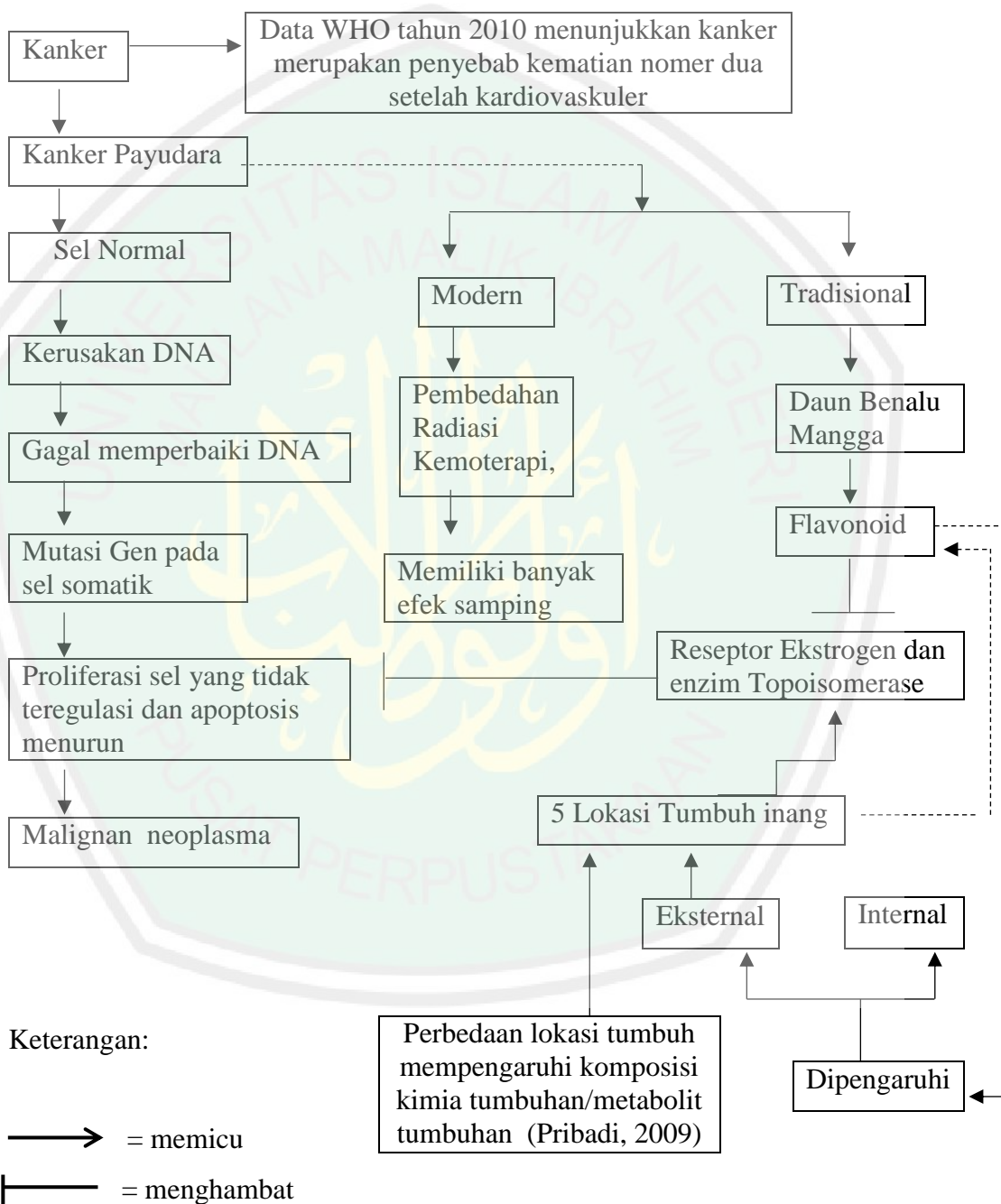
pertanian, khususnya tanaman pangan di suatu daerah/wilayah. Bagi tanaman pangan, khususnya curah hujan sangat diperlukan untuk menentukan waktu tanam dan waktu panen, serta proses pasca panen. Terjadinya penyimpangan iklim akan berpengaruh terhadap tinggi rendahnya hasil, dan faktor-faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman, misalnya serangan hama dan penyakit. Oleh karena itu pengetahuan iklim dari suatu daerah/wilayah sangat penting untuk diketahui (Pemerintah Provinsi Kalimantan Utara, 2016).

Jumlah curah hujan dan distribusi curah hujan mempunyai hubungan yang erat dengan pertumbuhan tanaman dan potensi hasil serta distribusinya yang optimal, berbeda untuk setiap jenis tanaman. Demikian halnya jumlah curah hujan yang diperlukan setiap fase pertumbuhan berbeda, umumnya menjelang saat panen jumlah curah hujan, lebih sedikit dibanding pada saat fase pertumbuhan aktif. Jenis tanah di Kabupaten Bulungan didominasi oleh jenis tanah alluvial, podzolik merah kuning dan latosol (Anonim, 2015).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 Bagan Kerangka Konseptual



3.2 Uraian Kerangka konseptual

Data World Health Organization (WHO) yang diterbitkan pada 2010 menyebutkan bahwa kanker merupakan penyebab kematian nomor 2 (dua) setelah penyakit kardiovaskuler (Depkes, 2012). Salah satu jenis kanker yang menjadi penyebab kematian terbanyak di dunia adalah kanker payudara, yang khususnya menyerang pada wanita. Berdasarkan data dari Sistem Informasi Rumah Sakit tahun 2010, kanker payudara adalah jenis kanker tertinggi pada pasien rawat jalan maupun rawat inap mencapai 12.014 orang (28,7%) (Kemenkes RI, 2014)

Beberapa usaha pengobatan terhadap kanker telah dilakukan secara intensif, yaitu dengan pembedahan, radioterapi, kemoterapi, imunoterapi, pengobatan dengan hormone, dan tranplantasi organ. Diantara beberapa terapi tersebut, kemoterapi merupakan pilihan pengobatan yang paling memungkinkan untuk pengobatan kanker pada stadium lanjut (sudah metastasis) namun kekurangan dari kemoterapi adalah rendahnya selektifitas obat-obat anti kanker dan sensitivitas sel kanker itu sendiri terhadap agen kemoterapi (Balunas and Kinghorn, 2005).

Usaha penemuan obat baru yang aman dan selektif terhadap pengobatan dan pencegahan kanker perlu untuk dilakukan. Obat baru tersebut mungkin bisa didapatkan dari senyawa tanaman. Penelitian yang telah dilakukan oleh Darmawan dkk., (2006) menyatakan bahwa ekstrak metanol daun benalu mangga (*D. pentandra*) memiliki aktivitas menangkap radikal bebas dengan IC_{50} 23,944 ppm. Hasil penelitian Artanti dkk., (2006) isolasi dari fraksi heksan: etil asetat ekstrak etanol daun benalu mangga (*D. pentandra*) menunjukkan adanya kuersetin 3-O-

rhamnosida yang merupakan senyawa flavonol mempunyai aktivitas penangkap radikal bebas dengan IC_{50} 5,19 $\mu\text{g/ml}$.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Helda (2015) hasil uji sitotoksitas fraksi-fraksi dari daun benalu mangga terhadap cell line kanker payudara T47D yang menunjukkan fraksi paling aktif adalah fraksi klorofom dengan nilai IC_{50} 88,533 $\mu\text{g/ml}$. Hasil penelitian Indriadmojo (2016) mekanisme kerja dari fraksi etil asetat daun benalu nangka (*Macrosolen chinensis*) terhadap cell line kanker payudara T47D dengan metode *flowcytometry* adalah dengan menghambat siklus sel khususnya pada fase G_0 - G_1 and S, dan juga menginduksi apoptosis sel pada fase M1.

Dari penelitian-penelitian tersebut dapat menjadi dasar acuan bahwa daun benalu mangga (*D.pentandra*) berpotensi sebagai agen antikanker dan juga memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi produk fitofarmaka. Pengembangan bahan baku tanaman obat menjadi produk fitofarmaka mengalami kendala yang salah satunya disebabkan bervariasinya kandungan senyawa multikomponen pada tanaman. Faktor yang menyebabkan variasi ini dapat dibedakan menjadi dua yaitu faktor internal dan eksternal (Verma and Shukla, 2015). Salah satu faktor eksternal yang sangat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder dari tanaman adalah perbedaan lokasi tumbuh. Adanya perbedaan lokasi tumbuh akan mempengaruhi komposisi atau jumlah kandungan metabolit atau senyawa yang berperan dalam aktivitas biologis tertentu dan tentunya nanti akan berpengaruh pada efektivitas aktivitas biologis yang diharapkan bisa bertambah atau justru akan berkurang.

Penelitian tentang perbandingan aktivitas antikanker antar ekstrak etanol daun benalu mangga (*D. pentandra*) dari beberapa lokasi tumbuh di Indonesia belum pernah dilakukan sebelumnya. Dalam rangka pemenuhan kriteria kualitas calon produk fitofarmaka yang dilihat dari kekuatan potensi aktivitas antikanker dan jaminan *safety*, maka dirasa penting untuk mengetahui profil aktivitas antikanker secara invitro terhadap sel T47D pada ekstrak daun benalu mangga (*D. pentandra*) dari beberapa lokasi di Indonesia. Dengan mengetahui profil aktivitas antikanker ekstrak daun benalu mangga (*D. pentandra*) dari beberapa lokasi di Indonesia maka dapat mengetahui apakah terdapat perbedaan aktivitas antikanker antar ekstrak dan dari lokasi manakah yang memiliki aktivitas antikanker paling berpotensi sehingga pemenuhan kualitas calon produk fitofarmaka dapat terpenuhi.

3.3 Hipotesis penelitian

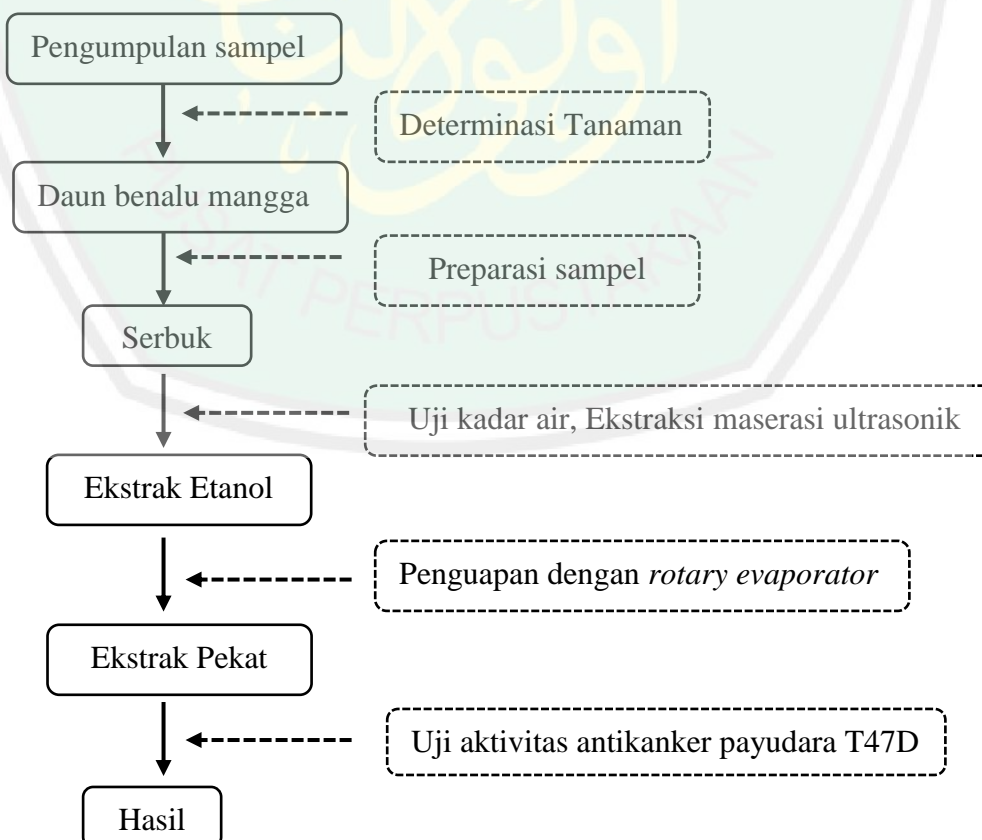
Terdapat perbedaan aktivitas antikanker ekstrak etanol daun benalu Mangga spesies *D. pentandra* beberapa lokasi di Indonesia, diantaranya adalah di Desa Sumbergayam Kec. Kepung Kab. Kediri Jawa Timur, Desa Tondono Kec. Noyontaan Kota Pekalongan Jawa Tengah, Desa Nangka Utara Kec. Tonja Kab. Badung Denpasar Bali, Desa Gunung Batin Baru Kec. Terusan Kab. Lampung tengah Sumatra, Desa Semangka Kelurahan Tanjung Selor Hilir Kec. Tanjung Selo Kab. Bulungan Kalimantan Utara yang disebabkan perbedaan kandungan senyawa metabolit sekunder dari masing-masing ekstrak dari lokasi-lokasi tersebut.

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan *True Experimental Design* yaitu penelitian eksperimental murni dengan membandingkan hasil yang didapatkan setelah perlakuan pada kontrol positif dan kontrol negatif (Notoatmodjo, 2002). Populasi dalam penelitian ini adalah tumbuhan benalu mangga (*D. pentandra*) dan sampel penelitian ini adalah tumbuhan benalu mangga (*D. pentandra*) yang berasal dari lima lokasi yaitu Kediri Jawa Timur, Pekalongan Jawa tengah, Denpasar Bali, Lampung Sumatra dan Bulungan Kalimantan. Adapun tahapan penelitian sebagai berikut:



Hasil IC_{50} yang didapat didasarkan pada kriteria yang ditetapkan oleh NCI (*National Cancer Institut*) (NCI, 2001 dalam Rahmawati, 2013) bahwa suatu ekstrak dinyatakan aktif memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/ml}$, moderate 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 $IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$. menurut Machayana (2011) ekstrak dikatakan tidak aktif sebagai antikanker jika nilai $IC > 500 \mu\text{g/ml}$.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2017 sampai Mei 2017 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan kimia, Laboratorium Kimia Farmasi Jurusan Farmasi Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Protho Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

4.3 Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah tumbuhan benalu mangga (*D. pentandra*) yang tumbuh di Indonesia.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah tumbuhan benalu mangga (*D. pentandra*) yang tumbuh di daerah Desa Sumbergayam Kediri Jawa Timur (222 mdpl), Desa Tondono Pekalongan Jawa Tengah (8 mdpl), Desa Nangka Utara Denpasar Bali (51 mdpl), Desa Gunung Batin Lampung tengah Sumatra (27

mdpl), Desa Semangka Bulungan Kalimantan Utara (80 mdpl) dengan inang Mangga Gadung

3. Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini adalah dengan dipilih beberapa lokasi yang paling berpotensi banyak tumbuh pohon Mangga gadung selain itu juga didasarkan pada kesamaan suhu lokasi tumbuh.

4.4 Variabel penelitian

4.4.1 Variabel pada penelitian ini adalah :

1. Variabel bebas : Esktrak etanol daun benalu Mangga (*D. pentandra*) dari 5 lokasi di Indonesia
2. Variable tergantung : Aktivitas antikanker (IC₅₀)

4.4.2 Definisi operasional variabel :

1. Ekstrak daun benalu mangga (*D. pentandra*): Bagian dari tumbuhan benalu mangga (*D. pentandra*) yang digunakan adalah daun. Daun benalu mangga (*D. pentandra*) yang diambil adalah dari inang mangga Gadung. Daun benalu mangga (*D.pentandra*) diperoleh dari 5 lokasi di Indonesia diantaranya adalah Desa Sumbergayam Kediri Jawa Timur (222 mdpl), Desa Tondono Pekalongan Jawa Tengah (8 mdpl), Desa Nangka Utara Denpasar Bali (51 mdpl), Desa Gunung Batin Lampung tengah Sumatra (27 mdpl), Desa Semangka Bulungan Kalimantan Utara (80 mdpl. Dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dan didapatkan ekstrak kental.

Ekstrak kental yang didapat setelah proses penguapan oleh *Rotary evaporator* berwarna hijau sedikit hitam dan kental (sedikit mengandung air).

2. Aktivitas antikanker (IC_{50}) : Ekstrak kental dibuat dengan seri konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25 $\mu\text{g/ml}$ kemudian masing-masing diujikan ke *cell line* kanker payudara T47D yang sudah disiapkan sebelumnya. Sel diperoleh dari *Cancer Chemoprevention Research Centre* (CCRC), Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. *Cell line* kanker payudara T47D diisolasi dari jaringan tumor *ductal* payudara seorang wanita berusia 54 tahun dan cukup aman sehingga banyak digunakan untuk kepentingan kultur (Rosita *et al.*, 2012). Terdapat kontrol media dan kontrol sel untuk menghitung persentase sel hidup. Setelah dihitung presentase sel hidup maka dianalisis dengan probbit analisis sehingga didapatkanlah IC_{50} . Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antikanker (Winarno, 2011).

4.5 Alat dan Bahan penelitian

4.5.1 Alat

4.5.1.1 Preparasi Sampel

Alat-alat yang digunakan proses preparasi sampel diantaranya blender, gunting, dan ayakan 60 mesh.

4.5.1.2 Analisis Kadar Air Daun Benalu Mangga (*D. pentandra*)

Alat-alat yang digunakan untuk analisis kadar air diantaranya alat *Moisture Analyzer* HC 103.

4.5.1.3 Ekstraksi Maserasi Ultrasonik Daun Benalu Mangga. (*D. pentandra*)

Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi Maserasi daun benalu mangga (*D. pentandra*) diantaranya adalah alat *ultrasonic cleanser* merek Sonikasi, spatula, pengaduk, erlenmeyer 500 mL, *aluminium foil*, gelas ukur 100 mL, *beaker glass* 100 mL, kertas saring, *rotary evaporator*, gelas vial, corong gelas, dan corong pisah.

4.5.1.4 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

Alat-alat yang digunakan yaitu mikropipet 200, 1000 μ L, tabung reaksi kecil, rak tabung kecil, *96-well plate*, Conical Tube, Yellow tip dan Blue tip, *hemacytometer*, *incubator*, *LAF Hood*, *microscop inverted*, dan ELISA reader.

4.5.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam uji aktivitas antikanker dengan metode MTT adalah fosfat buffer saline 1x, media kultur (RPMI), DMSO, MTT 5mg/ml, PBS, SDS 10% DALAM 0,1 N HCl, tisu makan, dan aluminium foil. Sampel pada penelitian ini adalah daun benalu mangga (*D. pentandra*) dari 5 lokasi dengan karakteristik yang berbeda. Karakteristik mengenai daerah asal tumbuhan inang benalu mangga tercantum pada Tabel 4. 1

Tabel 4.1 Karakteristik Lokasi Pengambilan Sampel Daun benalu mangga

No	Lokasi	Tinggi (mdpl)	Jenis Tanah	Curah Hujan (mm)	Tipe Iklim	Suhu (°C)
1	Desa Sumbergayam, Kec. Kepung, Kab Kediri, Jawa Timur	222	Regosol	1886	Aw	25.8
2	Tondono, Kec. Noyontaan, Kota Pekalongan, Jawa Tengah	8	Aluvial	2620	Am	26.6
3	Nangka Utara, Kec. Tonja, Kab. Badung, Denpasar Bali	51	Andosol	1833	Am	26.4
4	Kelurahan Gunung Batin Baru, Kec. Terusan, Kab. Lampung tengah, Sumatra	27	Latosal	2122	Af	26.8
5	Semangka, Kelurahan Tanjung Selor Hilir, Kecamatan Tanjung Selo, Kab. Bulungan, Kaltara	80	Aluvial	2738	Af	26.8

Sumber: www.id-climate.data.org (20 April 2017, 15:21 WIB)

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Determinasi Daun Benalu Mangga (*D. pentandra*)

Determinasi tanaman akan dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur. Tumbuhan benalu manga dibawa ke Purwodadi untuk dilakukan determinasi. Hasil Determinasi akan digunakan sebagai pedoman bahwa tumbuhan merupakan benalu manga spesies *D. pentandra*.

4.6.2 Preparasi Sampel

Sampel benalu mangga (*D. pentandra*) diambil dari seluruh bagian daun kemudian dicuci. Dipotong kecil-kecil lalu dikeringkan dengan pemanasan menggunakan oven pada suhu 40 °C selama ± 3 hari. Selanjutnya daun diblender hingga terbentuk serbuk lalu diayak dengan ayakan ukuran 60 mesh agar diperoleh serbuk yang kecil-kecil dan seragam. Serbuk halus yang diperoleh dianalisis kadar air, diekstraksi dengan *ultrasonic cleanser* dan diuapkan dengan *rotary evaporator*

4.6.3 Analisis Kadar Air Daun Benalu Mangga (*D. pentandra*)

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 $\pm 0,500$ 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 agar didapatkan hasil yang akurat.

4.6.4 Ekstraksi Maserasi Ultrasonik Serbuk Daun Benalu Mangga (*D. pentandra*)

Ekstraksi serbuk daun benalu mangga (*D. pentandra*) dilakukan dengan menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Perbandingan antara bahan dan pelarut adalah 1:10. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi *ultrasonic cleanser* dengan lama ekstraksi 20 menit (Handayani *et al.*, 2016). Setelah selesai diekstraksi, difiltrasi dan filtrat dikumpulkan. Filtrat dievaporasi menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak kental yang diperoleh dikeringkan dalam oven.

Ekstrak etanol kental yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya dengan persamaan 3.4 :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \dots\dots\dots (4.1)$$

Proses selanjutnya ekstrak etanol pekat daun benalu mangga (*D. pentandra*) diuji aktivitas antikanker terhadap *cell line* kanker payudara T47D secara *in-vitro*.

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

4.6.5.1 Penyiapan Sel

Sel kanker payudara T47D diambil dari koleksi Universitas Gajah 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 RPMI, diinkubasi selama 3 – 4 jam pada suhu 37 °C/ 5% CO₂, kemudian disentrifugasi untuk memisahkan sel kanker (pelet) dengan media RPMI. 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 RPMI 5 mL untuk menginaktifkan sel serta dilakukan resuspensi, diamati dibawah mikroskop *inverted*, kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 24 jam.

4.6.5.2 Penghitungan Sel Kanker

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

$$\sum \text{sel yang dihitung} = \frac{\sum \text{sel kamar A} + \sum \text{sel kamar B} + \sum \text{sel kamar C} + \sum \text{sel kamar D}}{4} \times 10^4 \dots\dots (4.2)$$

4.6.5.3 Peletakan Sel pada *Plate 96-well*

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

$$\sum \text{panenan mL panen sel yang ditransfer} = \frac{\sum \text{total sel yang diperlukan}}{\sum \text{sel terhitung /mL}} \dots\dots (4.3)$$

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

4.6.5.4 Pembuatan Larutan Sampel

Ditimbang sampel ekstrak dilarutkan masing- masing ekstrak pekat dalam 100 μL 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 μL PBS kedalam semua sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali, lalu dimasukkan larutan sampel sebanyak 100 μL dengan konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25; $\mu\text{g/mL}$. dan diulang sebanyak 3 x (triplo), diinkubasi kembali selam 24 jam.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C	Kediri			Pekalongan			Bali			Sumatra		
D												
E												
F											K s e l	K m e d i a
G	Kalimantan			Doksorubisin								
H												

Gambar 4.1 Platingan ke sampel dengan 5 konsentrasi dan 3 ulangan

4.6.5.5 Pemberian larutan MTT

Dibuang media sel dan dicuci dengan PBS, ditambahkan larutan MTT 100 μL ke setiap sumuran kecuali kontrol sel. Inkubasi kembali selama 3 – 4 jam didalam 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 aluminium foil dan diinkubasi kembali di tempat gelap (suhu ruangan) semalam.

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media})}{\text{absorbansi kontrol negatif} - \text{absorbansi kontrol media}} \times 100 \% \quad \dots (4.4)$$

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

4.7 Analisis Data

Dilakukan analisis data statistik untuk mengetahui nilai IC_{50} dari masing-masing ekstrak yang telah diuji MTT, dengan metode *probit analysis software* SPSS versi 16.0. Kemudian data IC_{50} dari masing-masing ekstrak dianalisis statistik dengan menggunakan uji *statistic one way analysis of variance (Anova) software* SPSS versi 16.0 untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan signifikan aktivitas antikanker (IC_{50}) dari 5 sampel dari beberapa lokasi di Indonesia. Kebermaknaan signifikan dilihat dari nilai P yang dihasilkan, jika nilai $P < 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima yang membuktikan bahwa ada perbedaan signifikan aktivitas antikanker antar 5 lokasi tumbuh dan sebaliknya jika nilai $P > 0,05$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak yang membuktikan bahwa tidak ada perbedaan signifikan aktivitas antikanker antar 5 lokasi tumbuh (Rohman, 2014).

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil aktivitas antikanker secara invitro terhadap sel T47D pada ekstrak daun benalu mangga (*D. pentandra*) dari beberapa lokasi di Indonesia. Penelitian dilakukan dalam 5 tahap yaitu pengumpulan sampel, preparasi sampel, analisa kadar air daun benalu mangga (*D. pentandra*) menggunakan *moisture analyzer*, ekstraksi maserasi ultrasonik daun benalu mangga (*D. pentandra*) dan uji aktivitas antikanker ekstrak etanol 96% dengan metode MTT.

5.1 Pengumpulan Sampel

Pengumpulan sampel bertujuan untuk mendapatkan sampel-sampel penelitian yang sesuai dengan karakteristik yang ditetapkan. Sampel dalam penelitian ini adalah tumbuhan benalu mangga (*D. pentandra*) dari 5 lokasi di Indonesia yaitu dari Kediri Jawa Timur, Pekalongan Jawa Tengah, Denpasar Bali, Lampung Sumatra Selatan dan Bulungan Kalimantan Utara. Cara mendapatkan sampel penelitian adalah dengan menetapkan karakteristik tumbuhan benalu mangga spesies *D. pentandra*, kemudian membuat prosedur pengambilan sampel. Karakteristik tumbuhan adalah batang agak tegar. Daun tersebar atau sedikit berhadapan, menjorong, panjang 6-18 cm dan lebar 1,5- 8 cm, pangkal menirus-membaji, ujung tumpul-runcing, panjang tangkai daun 5- 20 mm. Perbungaan pada ruas-ruas, tandan dengan 6-12 bunga. Mahkota bunga 5 meruas, menyudut atau bersayap dibagian bawah dan menyempit dibagian leher, warna hijau atau kuning-

orange, panjang tabung bunga 6-12 mm. Kepala sari panjang 2-5 mm dan tumpul. Buah buni, seperti peluru, dalam tandan, sewaktu muda berwarna hijau, setelah tua berwarna kuning. Biji sebesar biji papaya, bentuk seperti peluru senapan angin, terdiri dari dua bagian, yaitu lembaga berwarna hijau dan bagian yang lain berwarna putih. Prosedur pengambilan sampel meliputi identitas sampel, lokasi sampling, waktu sampling, bagian yang disampling dan pengiriman (Taufiq, 2016). Detail prosedur pengambilan sampel ada di lampiran 9. Hasil Pengumpulan sampel dapat dilihat pada gambar 5.1.



Gambar 5.1 Morfologi tumbuhan benalu mangga hasil pengumpulan sampel dari lokasi Kediri (A), Pekalongan (B), Denpasar (C), Lampung (D), dan Bulungan (E)

Persamaan morfologi dari ke 5 sampel adalah benalu tumbuh pada inang pohon mangga (*Mangifera indica*), batang agak tegak panjang, perbungaan pada ruas-ruas, tandan dengan 6-12 bunga, mahkota bunga 5 meruas, menyudut dibagian bawah dan menyempit dibagian leher, panjang tabung bunga 6-12mm, kepala sari panjang 2-5 mm dan tumpul. Buah buni, seperti peluru, dalam tandan.

5.2 Preparasi Sampel

Preparasi sampel meliputi pencucian, pengeringan dan penyerbukan. Sebelum preparasi, sampel dideterminasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan (LIPI), Purwodadi, Pasuruan. Daun benalu mangga (*D.pentandra*) dicuci hingga bersih. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan kotoran berupa debu yang menempel pada daun benalu mangga. Daun yang sudah bersih kemudian dipotong kecil-kecil lalu dikeringkan ditempat yang terkena sinar matahari tapi tidak langsung dibawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam selama beberapa hari hingga daun menjadi agak kering. Selanjutnya, daun di oven dengan suhu 40⁰C selama kurang lebih 3 hari. Perlakuan ini untuk mengkeringkan dan menghilangkan kadar airnya untuk mempermudah dalam pemblenderan. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 5.1, didapatkan serbuk daun benalu mangga (*D. pentandra*) yang berwarna hijau, hijau tua, dan hijau coklat.

5.3 Analisa Kadar Air Daun Benalu Mangga (*D. petandra*)

Simplisia yang telah mengalami proses pengeringan perlu dilakukan penetapan susut pengeringan serbuk untuk mengetahui kandungan air yang terdapat dalam serbuk simplisia yang telah dikeringkan. Tujuan dari analisa kandungan air adalah untuk menentukan kualitas dan stabilitas bahan (Tabrani, 1997).

Pengeringan ini bertujuan untuk proses penyimpanan agar kerusakan akibat degradasi oleh mikroorganisme maupun penguraian enzim dapat diminimalkan (Winarno, 2002). Mikroba dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder,

sehingga dimungkinkan senyawa toksik yang dihasilkan bukan dari serbuk yang digunakan melainkan dari mikroba (Winarno, 2002).

Analisa kadar air bahan dapat dibedakan menjadi empat yaitu metode pengeringan (*Termografi*), metode destilasi (*Termovolumetri*), metode kimia (metode *fisher*) dan metode fisik (Nielsen, 2010). Penentuan Kadar air serbuk daun benalu mangga menggunakan metode pengeringan (*Termografi*) karena serbuk merupakan bahan yang tidak tahan panas. Alat yang digunakan dalam analisis kandungan air adalah halogen *moisture analyzer* HC 103. Prinsip dari metode *thermogravimetric* adalah menguapkan air yang ada dalam bahan sampai berat konstant. Kelebihan menggunakan alat tersebut adalah analisa yang dapat memberikan pengukuran kadar air yang akurat dan konsisten hanya dalam waktu beberapa menit, pengoperasian sederhana dan mutu yang terjangkau.

Analisa kandungan air serbuk daun benalu mangga dengan *moisture analyzer* HC 103 dimulai dengan tarik piringan timbangan yang kosong, tambahkan serbuk lalu sebar secara merata, tekan start lalu lihat hasil pada layar dalam beberapa menit. Hasil Uji Kadar air serbuk daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dapat dilihat pada Tabel 5.1 dengan perhitungan pada Lampiran 4.

Tabel 5.1 Kadar air daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*)

Lokasi asal serbuk	Warna	Kadar air I (%b/b)	Kadar air II (%b/b)	Kadar air III (%b/b)	Kadar air rata-rata(%b/b)
Kediri	Hijau muda	7,72	7,92	8,37	8,00
Pekalongan	Hijau tua	9,14	8,53	8,97	8,88
Denpasar	Hijau tua	6,71	6,27	6,69	6,56
Lampung	Hijau muda	8,09	7,50	8,50	8,03
Bulungan	Hijau muda	6,27	6,69	6,51	6,49

Kadar air menentukan *acceptability*, kesegaran, dan daya tahan suatu serbuk (Winarno, 2002). Rata-rata Kandungan air pada serbuk daun benalu mangga (*D. petandra*) dari Kediri Jawa Timur (8.00), Pekalongan Jawa Tengah (8.88), Denpasar Bali (6,53), Lampung Sumatra Selatan (8,03) dan Bulungan Kalimantan Utara (6,49). Rata-rata kandungan air serbuk daun benalu mangga (*D. petandra*) dari 5 lokasi di Indonesia dibawah 10%. Hasil analisa kandungan air dari ke 5 serbuk adalah sudah memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan oleh BPOM. Persyaratan kadar air untuk sediaan padat obat dalam harus mempunyai kadar air \leq 10%, kecuali untuk Efervesen kadar air \leq 5% (BPOM, 2014).

5.4 Ekstraksi Maserasi Ultrasonik daun benalu Mangga (*D. petandra*)

Pada tahap ini dilakukan ekstraksi daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dengan tujuan mendapatkan ekstrak dari daun benalu mangga. Alat yang digunakan ekstraksi adalah *ultrasonic cleanser* merek Sonikasi. Penggunaan metode ekstraksi maserasi ultrasonik merupakan salah satu upaya peningkatan efisiensi hasil ekstraksi dari metode-metode ekstraksi konvensional. Ekstraksi konvensional memiliki beberapa kekurangan yaitu membutuhkan banyak waktu dan pelarut sehingga memiliki tingkat efisiensi yang rendah (Soni, dkk 2010). Sejumlah hasil penelitian menunjukkan bahwa penerapan teknik intensitas ultrasonik mampu mengekstrak senyawa fitokimia, seperti alkaloid, flavonoid, polisakarida, protein dan minyak esensial dari berbagai bagian tanaman dan bibit tanaman (Firdaus dkk 2010).

Ultrasonik merupakan energi yang dihasilkan gelombang suara dengan frekuensi di atas deteksi telinga manusia, yaitu antara 20 kHz – 500 MHz (Thompson and Doraiswamy, 1999). Prinsip dasar dari ekstraksi maserasi ultrasonik adalah melalui dua proses yaitu *acoustic streaming* dan *acoustic cavitation* (Iersel, 2008). Dengan adanya *acoustic cavitation* dapat merusak dinding maupun membran sel partikel (Iersel, 2008). Dengan adanya *Acoustic streaming* menyebabkan semakin tipisnya lapisan batas antara cairan dan partikel, sehingga dapat meningkatkan kemampuan penetrasi pelarut seiring meningkatnya difusibilitas dan solvensi senyawa aktif dalam sel dan pada akhirnya meningkatkan laju perpindahan panas, masa dan efisiensi ekstraksi (Li *et al.*, 2010).

Daun benalu mangga di ekstraksi maserasi ultrasonik dengan pelarut etanol 96% dan perbandingan 1:10 selama 20 menit. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil (Anonim, 1986). Digunakan etanol 96% karena dengan konsentrasi tersebut dapat menarik senyawa flavonoid lebih banyak dan menguapkan pelarutnya juga semakin cepat. Seperti pada penelitian Senja (2014) menunjukkan bahwa ekstraksi maserasi kubis ungu dengan variasi konsentrasi pelarut etanol 70, 80, 95 dan 96 % menunjukkan bahwa serbuk kubis ungu dengan pelarut etanol 96% (suasana asam) menghasilkan rendemen tertinggi yaitu 38.55 %. Perbandingan pelarut yang digunakan adalah 1:10 dengan waktu ekstraksi 20 menit. Menurut penelitian yang telah dilakukan Handayani (2016) menunjukkan bahwa perlakuan terbaik dari ekstraksi antioksidan daun sirsak dengan metode *ultrasonic cleanser* diperoleh dari rasio bahan : pelarut 1:10 (b/v) dan lama ekstraksi

20 menit dengan rendemen 11.72%, kandungan total fenol 15213.33 ppm, kadar flavonoid 45843 ppm, aktivitas antioksidan 78.14% dan nilai IC_{50} 15.58 ppm.

Hasil yang diperoleh dari ekstraksi maserasi ultrasonik adalah semua cairan berwarna hijau tua pekat. Penyaringan dilakukan untuk memisahkan serbuk dengan filtrat. Filtrat yang diperoleh dari ekstraksi maserasi ultrasonik kemudian dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator*. Pemekatan atau penguapan ini dilakukan untuk menghilangkan atau menguapkan pelarut etanol 96 % sehingga yang didapatkan merupakan ekstrak pekat dari daun benalu mangga. Pemekatan dilakukan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dengan suhu 60 °C. Prinsip utama dari *rotary evaporator* adalah adanya penurunan tekanan dengan dipercepatnya putaran labu alas bulat sehingga pelarut segera menguap 5 – 10 °C pada suhu dibawah titik didih pelarut (Vogel, 1978). Pemekatan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* menghasilkan ekstrak pekat yang berupa padatan berwarna hijau tua pekat.

Tabel 5.2 Hasil ekstraksi maserasi ultrasonik daun benalu mangga (*D. pentandra*)

Lokasi daun	Serbuk + pelarut	Perubahan Warna filtrate	Warna ekstrak pekat	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%) (b/b)
Kediri	50.7329 g + 500 ml	Hijau pekat	Hijau tua pekat	5.2402	10.329
Pekalongan	50.7206 g + 500 ml	Hijau pekat	Hijau tua pekat	1.4861	2.929
Denpasar	50.7926 g + 500 ml	Hijau pekat	Hijau tua pekat	4.0458	7.965
Lampung	50.7187 g + 500 ml	Hijau pekat	Hijau tua pekat	4.8469	9.556
Bulungan	50.7177 g + 500 ml	Hijau pekat	Hijau tua pekat	3.0810	6,074

Ekstrak pekat yang diperoleh semua berwarna hijau tua pekat. Perbedaanya hanya terletak pada jumlah berat ekstrak yang diperoleh. Berat ekstrak yang diperoleh tertinggi berasal dari lokasi Kediri dengan berat 5.24 gram, disusul ekstrak dari lokasi Lampung, Denpasar, Bulungan dan Pekalongan dengan berat ekstrak masing-masing 4.85 gram, 4.05 gram, 3.08 gram, 1.49 gram. Setelah diperoleh berat ekstrak, selanjutnya adalah dihitung nilai rendemen. Rendemen merupakan 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 (Warsonodkk, 2013). Perhitungan rendemen masing-masing ekstrak bisa dilihat pada lampiran 6.

Nilai rendemen tertinggi dari ke 5 ekstrak adalah ekstrak dari lokasi Kediri Jawa Timur dengan rendemen 10.33%, disusul dengan ekstrak dari Lampung Sumatra, Denpasar Bali, Bulungan Kalimantan Utara, dan Pekalongan Jawa Tengah dengan nilai rendemen berturut-turut 9.56%, 7.97%, 6.07%, dan 2.93%. Perbedaan nilai rendemen ditentukan oleh beberapa faktor. Faktor-faktor yang memengaruhi diantaranya adalah umur tanaman, waktu dan proses panen, varietas tumbuhan, faktor lingkungan tempat tumbuh, faktor pengolahan tumbuhan. Faktor-faktor tersebut membuat tanaman yang berasal dari satu spesies namun tumbuh di tempat yang berbeda memiliki nilai rendemen yang berbeda pula, dan kandungan senyawa aktifnya juga berbeda yang kemudian akan mempengaruhi aktivitas metabolismenya (Distanta dkk 2009; Ayunda 2014).

Nilai rendemen tertinggi adalah ekstrak dari lokasi Kediri (10.33%) jika dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Handayani (2016) menunjukkan bahwa pada ekstraksi maserasi ultrasonik daun sirsak dengan pelarut etanol 96% rasio 1:10 (b/v) dan lama ekstraksi 20 menit dengan rendemen 11.72%, nilai rendemennya tidak terlalu jauh.

Nilai kadar air dari suatu tumbuhan digunakan sebagai syarat standarisasi bahan baku bahan obat alam. Berdasarkan data hasil penelitian ini, dapat diketahui bahwa kadar air serbuk daun benalu mangga dari 5 lokasi tumbuh tidak berpengaruh terhadap nilai rendemen yang didapatkan. Hal tersebut disebabkan karena pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol dengan perbandingan 1:10. Dengan jumlah perbandingan pelarut yang digunakan sebesar itu maka kandungan air yang terdapat dalam serbuk daun benalu mangga tidak mempengaruhi nilai rendemen yang didapat. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil (Anonim, 1986).

5.5 Uji aktivitas antikanker dengan Metode MTT

Uji aktivitas antikanker ekstrak etanol daun benalu mangga dari 5 lokasi dilakukan secara *in vitro* menggunakan kultur terhadap *cell line* T47D menggunakan metode MTT. Uji MTT merupakan uji yang sensitif, kuantitatif dan terpercaya. Reaksi MTT merupakan reaksi reduksi selular yang didasarkan pada pemecahan garam tetrazolium MTT berwarna kuning menjadi kristal formazan berwarna biru keunguan (Basmal, dkk, 2009). Metode perubahan warna tersebut

digunakan untuk mendeteksi adanya proliferasi sel. Sel yang mengalami proliferasi, mitokondria menyerap MTT sehingga sel-sel tersebut akan berwarna ungu akibat terbentuknya kristal tetrazolium (formazan) (Depamede dkk, 2009).

Metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas penghambatan sel secara *in vitro* dengan menentukan nilai IC_{50} dengan menghitung pembentukan kristal formazan yang berwarna ungu (Doyle and Griffiths, 2000). Metode ini juga dipilih karena metode ini tidak bertentangan dengan azas *animal welfare* karena percobaan ini dilakukan di luar tubuh sehingga kondisi lingkungan (kultur) dan keseragaman (homogenitas) populasi sel lebih dapat dikontrol.

Uji dilakukan terhadap sel kanker payudara T47D. Sel T47D merupakan *continous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. *Continous cell line* sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya, memiliki kemampuan dalam replikasi yang tidak terbatas, homogenitasnya yang tinggi serta mudah diganti *frozen stock* jika terjadi kontaminasi. Sel T47D adalah model sel kanker payudara yang belum resisten terhadap agen kemoterapi doxorubicin akan tetapi diketahui memiliki p53 yang telah termutasi (Junedi *et al.*, 2010).

Sel T47D tersebut dikultur dalam media RPMI dan diinkubasi dalam inkubator CO_2 pada suhu $37\text{ }^{\circ}C$ dengan aliran CO_2 5 ml/menit (Nursid dkk., 2010). Kultur sel adalah teknik yang biasa digunakan untuk mengembangkan sel diluar tubuh (*in vitro*). Keuntungan penggunaan kultur sel adalah lingkungan tempat hidup sel dapat dikontrol dan diatur sehingga kondisi fisiologis dari kultur relatif konstan. Kelemahan teknik tersebut adalah sel yang dikultur mengalami perubahan sifat

karena perkembangbiakan sel di dalam tubuh (*in vivo*) bekerja secara terintegrasi dalam satu jaringan, sedangkan dalam kultur sel terpisah-pisah. Kondisi lingkungan kultur harus dibuat semirip mungkin dengan lingkungan awal di dalam tubuh supaya sel tumbuh dengan baik (Zarisman, 2006).

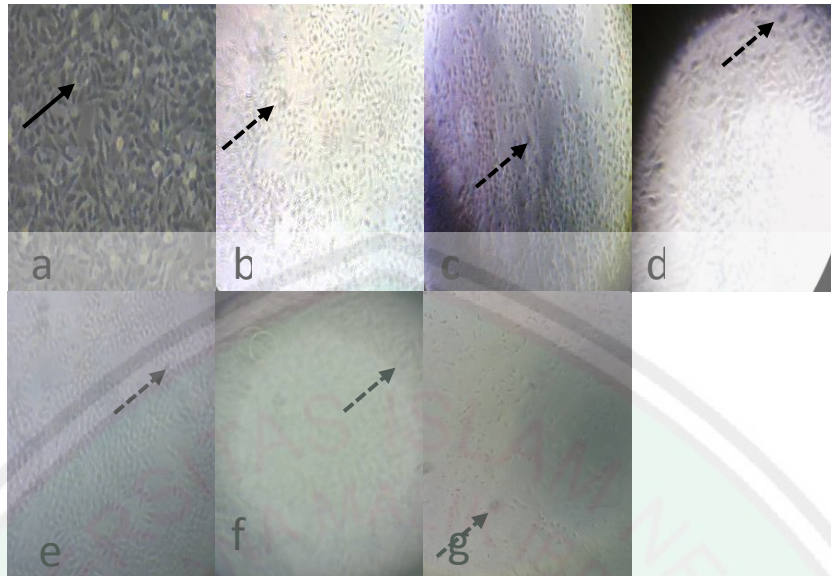
Pembuatan media kultur lengkap dengan komposisi *penisilin-streptomisin* 2% berfungsi untuk mencegah kontaminasi mikroorganisme apabila terjadi kontaminasi pada saat pengerjaan secara teknik sterilisasi. FBS (*Fetal Bovine Serum*) 10% berfungsi sebagai suplemen perangsang pertumbuhan sel, *Fungizone* 0.5% dan media RPMI add 100%. Media RPMI adalah media yang baik untuk menumbuhkan sel kanker T47D untuk jangka pendek. Medium tersebut mengandung serum FBS 10% (Gusmita, 2010). FBS merupakan suplemen peningkat pertumbuhan yang efektif untuk sel kanker karena kompleksitas dan banyaknya faktor pertumbuhan, perlindungan sel dan faktor nutrisi yang dikandungnya. Medium RPMI juga mengandung streptomisin adalah antibiotik yang tidak bersifat toksik, memiliki spektrum antimikroba luas dan ekonomis (Zarisman, 2006).

Sel diambil dari inkubator CO₂, kondisi sel diamati. Panen sel dilakukan setelah sel 80 % konfluen. Kemudian ditambah 500 µl Tripsin-EDTA ke dalam *flask* secara merata dan diinkubasi di dalam inkubator selama 3 menit. Proses penambahan tripsin-EDTA ini dilakukan agar sel lepas dari *flask*. Setelah sel lepas, tambahkan media ±5 ml untuk menginaktifkan tripsin. Sel diresuspensi dengan mikropipet sampai sel terlepas satu-satu (tidak menggerombol). Keadaan sel diamati di mikroskop, diresuspensi kembali jika masih ada sel yang menggerombol.

Sel yang telah lepas satu-satu ditransfer ke dalam *conical* steril baru. Panenan sel diambil 10 μl dan dipipetkan ke *hemacytometer*. Sel dihitung dibawah mikroskop (*inverted* atau mikroskop cahaya) dengan *counter*. Dihitung sel pada 4 kamar *hemacytometer*. Sel dibatas kiri dan batas bawah ikut dihitung. Hasil perhitungan sel nya adalah 200×10^4 sel/ml. Kemudian dihitung berapa sel yang akan ditanam ke per well nya. Hasilnya adalah sel yang diambil dari *conical tube* sebanyak 500 μl dimasukkan ke *conical tube* baru dan ditambahkan media RPMI ad 10 ml. kemudian diresuspensi lagi dan disiapkan well plate 96. Ditransfer sebanyak 100 μl sel kedalam masing-masing well plate kecuali untuk 3 well control media kemudian diinkubasi selama 24 jam. Hasilnya adalah sel tidak terkontaminasi.

Preparasi ekstrak diawali dengan membuat larutan stok yaitu dengan cara menimbang 10mg ekstrak dan dilarutkan dalam 100 μl . *Dimetil Sulfoksida* (DMSO) (100000 ppm) dan divortex. DMSO berfungsi sebagai *buffer* agar ekstrak dapat larut dengan baik. DMSO dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar dan tidak memiliki efek samping terhadap sel normal (Muir, 2007 dalam Nala, 2013). Selanjutnya dibuat seri konsentrasi yaitu dengan konsentrasi 500; 250; 125; 62.5; 31.25; $\mu\text{g/ml}$.

Kontrol positif yang digunakan adalah doksorubisin. Sedian injeksi doksorubisin adalah 10 mg/ 5ml (ISO, 2014). Larutan stok yang digunakan adalah 2000 ppm dengan konsentrasi pengenceranya 200;100;50;25;12.5 $\mu\text{g/ml}$. *Treatment* sel dilakukan dengan memberi 100 μl masing-masing seri konstrasi sesuai dengan platingan yang telah dibuat kemudian iinkubasi selama 24 jam.



Gambar 5.2 Morfologi sel T47D akibat perlakuan ekstrak daun benalu Mangga 500 µg/ml dari lokasi Kediri (b), dari lokasi Pekalongan (c), dari Denpasar (d), dari Lampung (e), dari Bulungan (f) dibandingkan dengan kontrol sel (a) dan doksorubisin (g)

Keterangan :

- Sel hidup
- - - - -> Sel yang berubah morfologi

Dari gambar diatas ditunjukkan ada perbedaan dari kontrol sel, kontrol positif (doksorubisin) dengan ekstrak konsentrasi 500 µg/ml dari lokasi Kediri, Pekalongan, Denpasar, Lampung dan Bulungan. Sel hidup berbentuk memanjang seperti daun sedangkan yang mati berbentuk bulat (Nala, 2013). Pada kontrol sel, sel kanker banyak yang hidup dapat dilihat dari banyaknya sel yang bentuknya memanjang seperti daun.

Pada akhir inkubasi, media kultur yang mengandung ekstrak dibuang, dicuci dengan PBS. Kemudian MTT ditambahkan ke dalam masing-masing sumuran 96 well plate. Inkubasi kembali selama 4 jam. Prinsip dari metode MTT adalah

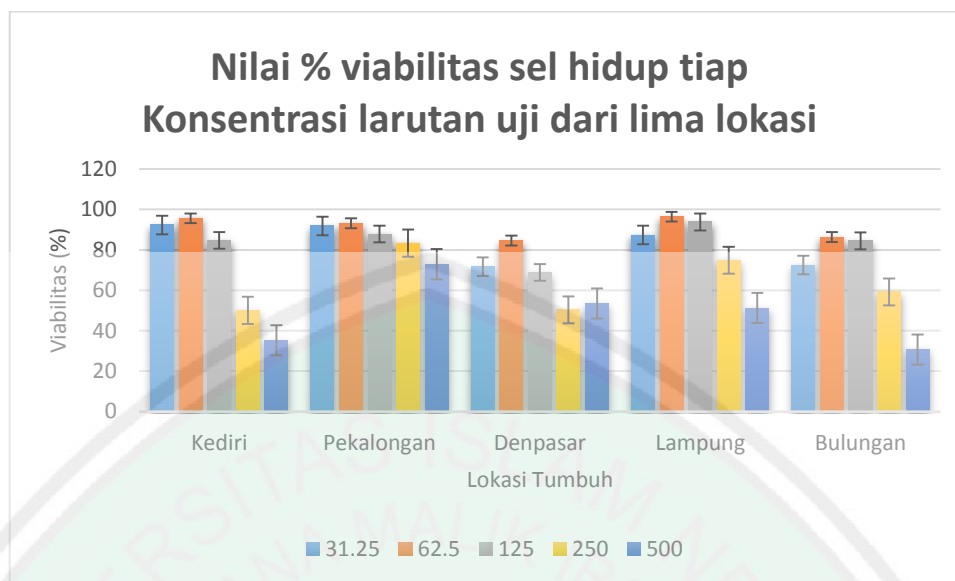
terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) oleh sistem reduktase. Pada sel yang hidup di dalam mitokondria sel, MTT akan bereaksi dengan hidrogen yang berasal dari enzim dehidrogenase yang dapat mengakibatkan pecahnya cincin suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air.

Setelah 4 jam reaksi MTT dengan enzim *mitokondria reduktase* yang terdapat pada sel dihentikan dengan penambahan *Sodium Dodesil Sulfat* (SDS). Larutan SDS sebagai *reagen stopper* akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan *ELISA reader* (CCRC, 2009). SDS berfungsi sebagai detergen yang dapat melisiskan membran sel dan mendenaturasi protein (Maulana, dkk, 2010). Intensitas warna ungu yang terbentuk sebanding dengan jumlah sel hidup. Semakin banyak *cell line* yang mati maka semakin kecil absorbansi dan semakin berkurang warna ungu yang terbentuk. Maka semakin rendah absorbansi maka semakin toksik zat tersebut terhadap *cell line* kanker payudara T47D. Hasil % viabilitas sel hidup ditunjukkan pada Tabel 5.4 dengan perhitungan % viabilitas sel hidup pada Lampiran 6.

Tabel 5.3 % Viabilitas sel hidup pada tiap-tiap konsentrasi larutan uji dari ke 5 lokasi

Konsent rasi ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata % Viabilitas Sel Hidup (%)				
	Kediri \pm SD	Pekalongan \pm SD	Denpasar \pm SD	Lampung \pm SD	Bulungan \pm SD
500	35.29 \pm 2.06	72.89 \pm 2.45	53.5 \pm 9.05	51.23 \pm 8.33	30.71 \pm 3.81
250	50.03 \pm 6.19	83.38 \pm 5.83	50.33 \pm 7.14	74.86 \pm 7.51	59.18 \pm 9.75
125	84.67 \pm 9.47	87.86 \pm 2.75	68.84 \pm 6.62	93.81 \pm 13.04	84.46 \pm 1.68
62.50	95.59 \pm 10.08	93.14 \pm 5.43	84.6 \pm 3.65	96.39 \pm 3.11	86.34 \pm 8.54
31.25	92.36 \pm 7.64	91.83 \pm 2.53	71.72 \pm 3.64	87.36 \pm 27.34	72.47 \pm 16.21

Berdasarkan tabel 5.3 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun benalu mangga, maka % viabilitas sel semakin rendah. Artinya, semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun benalu mangga, maka semakin sedikit jumlah sel yang hidup. Dari data tersebut dapat dilihat bahwa ekstrak daun benalu mangga dari Bulungan pada konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$) memiliki toksisitas yang paling tinggi dengan % viabilitas 30.71 \pm 3.81, kemudian disusul dengan toksisitas tinggi yang kedua yaitu ekstrak dari Kediri pada konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$) dengan % viabilitas 35.29% \pm 2.06, selanjutnya ekstrak dari Lampung, Denpasar dan Pekalongan pada konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$), dengan % viabilitas berturut-turut adalah 51.23% \pm 8.33, 53.5% \pm 9.05, 72.89% \pm 2.45. Pada konsentrasi 250; 125; 62.5; 31.25 ($\mu\text{g/ml}$) dari ke 5 lokasi tumbuh % viabilitas sel diatas 50%.



Gambar 5.3 Grafik profil % viabilitas sel kanker payudara T47D pada konsentrasi 500; 250; 62.5; 31.25 $\mu\text{g/ml}$ dari lokasi Kediri, Pekalongan, Denpasar, Lampung dan Bulungan

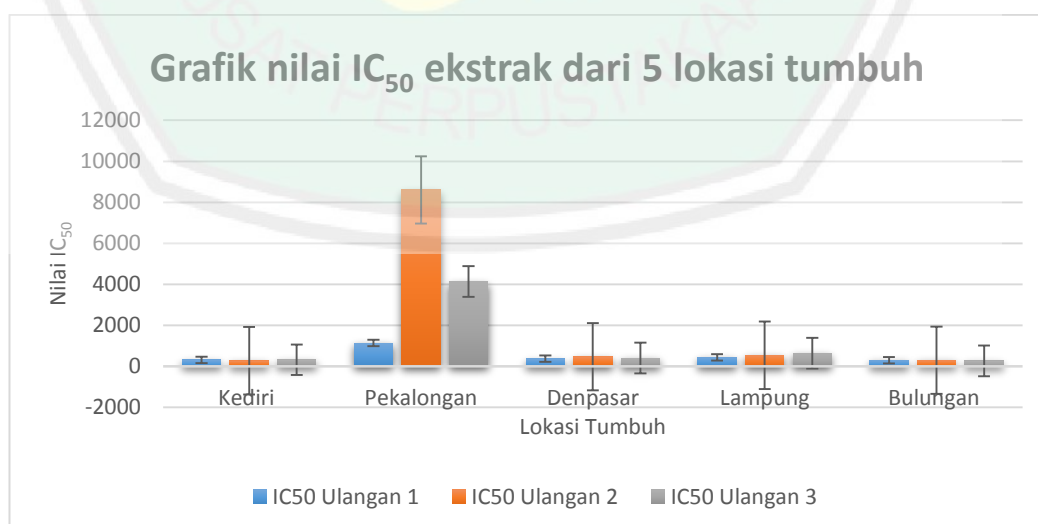
Gambar 5.3 menunjukkan % viabilitas sel kanker payudara T47D pada konsentrasi 500; 250; 62.5; 31.25 $\mu\text{g/ml}$ dari lokasi Kediri, Pekalongan, Denpasar, Lampung dan Bulungan dalam bentuk grafik. Dari grafik dapat diketahui dengan jelas peningkatan konsentrasi ekstrak daun benalu mangga menyebabkan menurunnya % viabilitas. Dari gambar 5.2 dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak daun benalu mangga menyebabkan perubahan morfologi sel kanker payudara T47D. Perubahan morfologi ini sejalan dengan peningkatan konsentrasi uji.

Data % viabilitas sel hidup masing-masing larutan uji yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan *probit analysis* SPSS sehingga didapatkan nilai IC_{50} dari masing-masing larutan uji. Hasil IC_{50} masing-masing larutan uji terhadap sel kanker payudara T47D ditunjukkan pada Tabel 5.4 dan Lampiran 6.

Tabel 5.4 Hasil Nilai IC_{50} ekstrak etanol daun benalu mangga dari 5 lokasi

No	Nama	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) \pm SD
1	Kediri	304.79 \pm 26.7204402
2	Pekalongan	4646.34 \pm 423.280308
3	Denpasar	417.01 \pm 47.3979817
4	Lampung	540.91 \pm 0.94252431
5	Bulungan	287.39 \pm 20.1914535
6	Kontrol positif	13.461 \pm 0.434899

Berdasarkan tabel 5.4 dapat diketahui bahwa ekstrak yang memiliki toksisitas yang paling tinggi yaitu ekstrak yang berasal dari Bulungan dengan nilai IC_{50} rata-rata 287.39 $\mu\text{g/ml}$ disusul dari Kediri, Denpasar, Lampung dan Pekalongan dengan nilai IC_{50} berturut-turut 304.79 $\mu\text{g/ml}$, 417.01 $\mu\text{g/ml}$, 540.91 $\mu\text{g/ml}$, 4646.34 $\mu\text{g/ml}$. Jika dibandingkan dengan nilai IC_{50} dari kontrol positif (doksorubisin) 13.461 $\mu\text{g/ml}$, maka nilai IC_{50} dari ke 5 ekstrak masih jauh dibawahnya. Meskipun demikian, bukan berarti ekstrak etanol daun benalu mangga (*D.pentandra*) dari ke 5 lokasi tumbuh tersebut tidak berpotensi, oleh karena itu diperlukan uji tambahan yaitu uji aktivitas antikanker dari fraksi-fraksi daun benalu mangga.

Gambar 5.4 Grafik profil IC_{50} dari 5 lokasi dengan 3 kali ulangan

Pada gambar 5.4 dapat diketahui grafik nilai IC_{50} ekstrak dari 5 lokasi dengan ulangan 3 kali. Semakin tinggi nilai IC_{50} maka semakin rendah aktivitas antikankernya. Grafik 5.4 menunjukkan perbedaan nilai IC_{50} yang cukup signifikan antar lokasi. Lokasi Pekalongan memiliki grafik tertinggi yang artinya yang memiliki aktivitas antikanker terendah.

Harga IC_{50} yang diperoleh mencerminkan sitotoksitas bahan terhadap sel uji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa larutan uji mempunyai aktivitas sitotoksik dengan metode MTT karena hasil IC_{50} nya masuk dalam rentang konsentrasi yang digunakan. Didasarkan pada kriteria yang ditetapkan oleh NCI (*National Cancer Institut*) (NCI, 2001 dalam Rahmawati, 2013) bahwa suatu ekstrak dinyatakan aktif memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/ml}$, moderate 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 $IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$. Namun, bukan berarti ekstrak dari bagian tumbuhan yang memiliki $IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$ tidak berpotensi dikembangkan sebagai antikanker karena menurut Machana (2011), ekstrak dikatakan tidak aktif sebagai antikanker jika nilai $IC_{50} > 500 \mu\text{g/ml}$. Dapat disimpulkan bahwa dari ke 5 ekstrak yang diuji aktivitas antikanker dengan metode MTT yang paling berpotensi adalah ekstrak dari lokasi dari Bulungan dengan nilai IC_{50} rata-rata $287.39 \mu\text{g/ml}$, Kediri dengan nilai IC_{50} $304.79 \mu\text{g/ml}$, dan Denpasar dengan nilai IC_{50} $417.01 \mu\text{g/ml}$. Jika dibandingkan dengan kontrol positif yaitu doksorubisin yaitu dengan nilai IC_{50} rata-rata $13.461 \mu\text{g/ml}$ maka kedua ekstrak tersebut masih jauh dibawah nilai IC_{50} nya.

Untuk mengetahui korelasi antara kadar air dengan rendemen dan rendemen dengan nilai IC_{50} maka dilakukan analisis statistik *pearson correlation* dengan

software SPSS versi 16.0. Jika nilai korelasi = 0 maka tidak ada korelasi, jika nilai korelasi $\neq 0$ maka ada korelasi. Jika tanda (-) pada nilai korelasi berarti apabila variabel X tinggi maka variabel Y rendah, dan tanda (+) berarti apabila variabel X tinggi maka variabel Y juga tinggi. Jika dilihat dari nilai Sig. < 0.05 (Ha Diterima) yang artinya ada korelasi yang signifikan antar variabel dan apabila nilai Sig. > 0.05 maka (Ha Ditolak) yang artinya ada korelasi yang tidak signifikan.

Tabel 5.5 Hasil analisis *pearson correlation* dari kadar air, rendemen dan IC₅₀

Nama		Kadar air	Rendemen
Kadar air	Pearson Correlation	1	-.223
	Sig. (2-tailed)		.719
IC ₅₀	Pearson Correlation	.708	-.824
	Sig. (2-tailed)	.181	.086

Berdasarkan hasil uji statistik *pearson correlation* dengan SPSS versi 16.0 antara kadar air dengan rendemen dan rendemen dengan nilai IC₅₀ pada tabel 5.5, maka dapat diketahui nilai Sig. (2-tailed) antara kadar air dengan rendemen adalah $0.719 > 0.05$, (Ha Ditolak) yang artinya ada korelasi yang tidak signifikan antara kadar air dengan rendemen, dan nilai PC nya adalah -.223, tanda negatif yang menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar air maka nilai rendemen semakin rendah. Nilai Sig. (2-tailed) antara rendemen dengan IC₅₀ adalah $0.086 > 0.05$, (Ha Ditolak) yang artinya ada korelasi yang tidak signifikan antara rendemen dengan nilai IC₅₀, dan nilai PC nya adalah -0.824 yang artinya semakin tinggi nilai rendemen maka nilai IC₅₀ semakin rendah.

Setelah mendapatkan nilai IC₅₀ dari kelima ekstrak, selanjutnya adalah melakukan Uji *statistic one way analysis of variance* (Anova) dengan *software* SPSS versi 16.0 dengan tujuan untuk menilai apakah ada perbedaan secara

signifikan aktivitas antikanker (IC_{50}) ekstrak daun benalu mangga dari lima lokasi sampling yang berbeda yaitu Kediri, Pekalongan, Denpasar, Lampung dan Bulungan. Sebelum melakukan uji *anova on way* dilakukan uji normalitas dan homogenitas sebagai persyaratan. Hasilnya adalah data terdistribusi normal dan homogen. Hasilnya dapat dilihat pada Lampiran 7

Kebermaknaan signifikan dilihat dari nilai P yang dihasilkan, jika nilai $P < 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima yang membuktikan bahwa ada perbedaan signifikan aktivitas antikanker antar 5 lokasi tumbuh (Rohman, 2014). Hasil uji statistic *anova between group* terlihat bahwa hasil signifikansinya adalah 0.030 artinya adalah ($p < 0.005$), maka H_0 ditolak dan H_1 diterima yang artinya ada perbedaan signifikan nilai IC_{50} dari kelima lokasi tumbuh, hasil statistic bisa dilihat lampiran 7. Untuk mengetahui perbedaan bermakna IC_{50} lokasi maka dilakukan Uji *LSD* Hasilnya ada pada tabel 5.6

Tabel 5.6 Hasil Uji one way anova

No	Lokasi (i)- Lokasi (j)	Signifikansi	Keterangan
1.	Kediri-Pekalongan	0.010	Bermakna
2.	Kediri-Denpasar	0.936	Tidak bermakna
3.	Kediri-Lampung	0.867	Tidak bermakna
4.	Kediri-Bulungan	0.990	Tidak bermakna
5.	Pekalongan-Denpasar	0.012	Bermakna
6.	Pekalongan-Lampung	0.014	Bermakna
7.	Pekalongan-Bulungan	0.010	Bermakna
8.	Denpasar-Lampung	0.930	Tidak bermakna
9.	Lampung-Bulungan	0.857	Tidak bermakna
10.	Bulungan-Denpasar	0.927	Tidak bermakna

Hasil uji analisis *one way anova LSD* menunjukkan bahwa, ekstrak yang memiliki perbedaan bermakna adalah antara ekstrak dari lokasi Kediri-Pekalongan, Pekalongan-Denpasar, Pekalongan-Lampung, dan Pekalongan-Bulungan. Berdasarkan Hipotesa yang sudah dibuat dalam pembahasan sebelumnya, dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna aktivitas antikanker dari 5 lokasi yang berbeda. Perbedaan aktivitas antikanker dimungkinkan karena perbedaan kondisi lingkungan (Faktor eksternal) seperti kandungan unsur hara tanah, jenis tanah, Iklim, Waktu pengambilan sampel dll.

Waktu pengambilan sampel sangat berpengaruh terhadap aktivitas metabolit yang dihasilkan dari tumbuhan benalu mangga. Waktu pengambilan sampel berhubungan dengan musim hujan dan kemarau. Di musim penghujan, tanaman inang dan tumbuhan benalu sama-sama tumbuh subur. Sedangkan di musim kemarau, beberapa tanaman inang terpengaruh oleh suhu udara dan kebutuhan air sehingga benalu pun bereaksi untuk mengatasi keadaan tersebut. Pada waktu tanaman inang gugur daunnya, benalu pun akan mengikuti cara tersebut sehingga penguapan air terbatas. Pengaruh musim kemarau panjang sering menyebabkan benalu yang tumbuh di bagian ujung tanaman mati meranggas, sedangkan benalu yang tumbuh di dekat batang lebih kuat mengatasi situasi yang tidak menguntungkan tersebut. Pada daerah-daerah yang bulan keringnya sedikit, serta di daerah yang lembap pertumbuhan benalu lebih baik daripada di daerah kering. Dalam tabel 5.7 disajikan karakteristik dari lokasi pengambilan ke 5 sampel daun benalu mangga.

Tabel 5.7 Karakteristik dari ke 5 lokasi pengambilan sampel daun benalu mangga (*D. petandra*).

No	Lokasi	Tinggi (mdpl)	Jenis Tanah	Curah Hujan (mm)	Tipe Iklim	Suhu (°C)
1	Desa Sumbergayam, Kec. Kepung, Kab Kediri, Jawa Timur	222	Regosol	1886	Aw	25.8
2	Tondono, Kec. Noyontaan, Kota Pekalongan, Jawa Tengah	8	Aluvial	2620	Am	26.6
3	Nangka Utara, Kec. Tonja, Kab. Badung, Denpasar Bali	51	Andosol	1833	Am	26.4
4	Kelurahan Gunung Batin Baru, Kec. Terusan, Kab. Lampung tengah, Sumatra	27	Latosol	2122	Af	26.8
5	Semangka, Kelurahan Tanjung Selor Hilir, Kecamatan Tanjung Selo, Kab. Bulungan, Kaltara	80	Aluvial	2738	Af	26.8

Berdasarkan hasil dari uji aktivitas antikanker ekstrak etanol daun benalu mangga terhadap sel kanker payudara T47D dari 5 lokasi dengan Metode MTT menunjukkan bahwa ekstrak yang paling berpotensi sebagai agen antikanker adalah ekstrak dari lokasi Bulungan, Kediri dan Denpasar. Jika dihubungkan dengan data karakteristik lokasi, maka ke 3 lokasi tersebut merupakan lokasi yang memiliki ketinggian tempat (mdpl) tertinggi diantara yang lainnya. Sedangkan menurut penelitian Fikri, 2016 sumber dari Balai penelitian tanah menunjukkan bahwa ketinggian ideal untuk tanaman mangga adalah <300 mdpl. Untuk melihat karakteristik lokasi ideal untuk penanaman mangga dapat dilihat dalam tabel 5.8

Tabel 5.8 Karakteristik ideal untuk pertumbuhan Pohon mangga

No	Karakteristik	Ideal
1.	Tipe tanah	Regosol, Alluvial, gromosol, lempung berpasir, latosol
2.	Curah hujan	750-2000 mm
3.	Bulan Kering	4-7 bulan
4.	Ketinggian tanah	<300 mdpl
5.	Suhu	25-32 ⁰ C
6.	Kelembaban	70-80

Daun Benalu mangga hidup sebagai parasit di pohon mangga. Daun Benalu mangga mengambil nutrisi yang dimiliki inangnya untuk memenuhi kebutuhan hidupnya. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan dari daun benalu mangga juga dipengaruhi oleh inangnya. Sedangkan Menurut badan penelitian tanah pohon mangga dapat hidup dengan maksimal dengan karakteristik ideal seperti pada tabel 5.8. Semua yang diciptakan Allah SWT pasti bermanfaat dan semuanya ada ukurannya masing-masing. Seperti yang dijelaskan dalam Al-Quran Surat Al- Hijr (15) ayat 19.

وَالْأَرْضَ مَدَدْنَاهَا وَأَلْفَيْنَا فِيهَا رُوسِيَّ وَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ شَيْءٍ مَّوْزُونٍ

Artinya: “Dan kami telah menghamparkan bumi dan menjadikan padanya gunung-gunung dan kami tumbuhkan padanya segala sesuatu menurut ukuran” (QS. Al-Hijr: 19)

Ibnu Abbas mengatakan tentang *min kullii syai'in mauzun* artinya segala sesuatu dengan ukuran, *mauzun* artinya maklum (diketahui, tertentu) (Abdullah,

2007). Pada Tafsir Jalalain ayat tersebut diartikan bahwa (dan kami telah menghamparkan bumi) telah membuat terbentang (dan kami menjadikanya gunung-gunung), yang kokoh dan tegak supaya jangan bergerak-gerak mengguncangkan penduduknya (dan kami telah tumbuhkan kepadanya segala sesuatu menurut ukuran) yang telah diketahui secara pasti. Jika dikorelasikan dengan aktivitas antikanker adalah bahwa Allah SWT telah menentukan sesuatu sesuai dengan ukuran termasuk juga aktivitas antikanker dari ekstrak daun benalu mangga dari ke 5 lokasi. Semuanya sudah ditentukan dan dipertimbangkan dengan baik sesuai dengan ukurannya. Termasuk juga karakteristik ideal untuk pertumbuhan pohon mangga sebagai inang dari daun benalu mangga yang juga akan menentukan Aktivitas antikankernya.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan secara bermakna aktivitas antikanker ekstrak daun benalu mangga (*D. pentandra*) antar lokasi Pekalongan Jawa Tengah dengan Kediri Jawa Timur, Pekalongan Jawa Tengah dengan Bulungan Kalimantan Utara, Pekalongan Jawa Tengah dengan Denpasar Bali, dan Pekalongan Jawa Tengah dengan Lampung Sumatra
2. Ekstrak yang paling berpotensi untuk antikanker adalah ekstrak dari lokasi Bulungan Kalimantan Utara (287.39 $\mu\text{g/ml}$), Kediri Jawa Timur (304. 79 $\mu\text{g/ml}$) dan Denpasar Bali (417 $\mu\text{g/ml}$).

6.2 Saran

1. Uji aktivitas antikanker ekstrak daun benalu Mangga dari 5 lokasi diperoleh nilai IC_{50} . Untuk menghubungkan hasil IC_{50} dengan kandungan unsur Hara dari 5 lokasi. Maka diperlukan penelitian selanjutnya untuk menganalisis terkait dengan kandungan tanah dari kelima lokasi tersebut.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antikanker terhadap fraksi-fraksi daun benalu mangga, untuk menambah bukti bahwa daun benalu mangga memang berpotensi untuk agen antikanker.
3. Dilakukan uji lanjutan yaitu uji ekstrak daun benalu mangga secara *in vivo* pada hewan coba dalam rangka pemenuhan uji praklinik.

DAFTAR PUSTAKA

- Aderogba, M.A., Ogundaini, A.O., Eloff, J.N. 2006. *Isolation of Two Flavonoids from Bauhinia monandra (kurz) Leaves and Their Antioxidative Effects*. J. Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 3 (4): 59-65.
- Alan, Miller, N.D. 1996. *Antioxidant flavonoid structural usage alternative medical Review I* (2), 103-111.
- Anonim. 1996. *Laporan Pengkajian Tahun Anggaran 1996 / 1997, Kapsulisasi Ekstrak Daun Benalu di Daerah Istimewa Yogyakarta*. sentra P3T Propinsi D.I. Yogyakarta.
- Artanti, N., Djamilah Lotulung, P., Liswidowati, Minarti, Hanafi, M., Kardono, L.B.S., dan Darmawan, A., 2003. *Evaluasi Potensi Ekstrak Taxus Sumatrana dan Benalu Sebagai Antikanker*. Serpong: Puslit Kimia.
- Artanti, N., Ma'arifa, Y., Hanafi, M. 2006. *Isolation and identification of active antioxidant compound from star fruit mistletoe Dendrophthoe pentandra (L) Miq, Ethanol extract*. Journal of applied sciences 6(8) 1659-1663
- Artanti, N.; Seksiati, R.; Rohman, A.F.; Djamilah; Lotulung, P.D.N.; Hanafi, M.; Kardono, L.B.S. *Study of an Indonesian mistletoe, the Dendrophthoe pentandra(L.) Miq. Grown on Star fruit and Mango as host trees*. International Symposium on Biomedicine, Bogor, September 18-19, 2003
- Artanti, N., Widiyawati, R., Fajriyah, S. 2009. *Aktivitas dan Toksisitas Ekstrak Air dan Etanol Daun Benalu (Dendrophthoe pentandra L. Miq)*.
- Badan Pusat Statistik Kabupaten Lampung Tengah, 2 Mei 2013. *Data Geografis Lampung Tengah*. www.lampungtengahkab.bps.go.id
- Banerjee, S.K., and Bonde, C.G., 2011. *Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Extract of Bridelia retusa Spreng Bark: Impact of Dielectric Constant and Geographical Location*. Journal of Medicinal Plants Research. Vol. 5 (5), pp. 817-822.
- Basmal, J., Amini, S., Sugiyono, & Murniyati. 2009. *Seminar Nasional Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Jakarta.
- BPOM RI. 2005. *Kriteria dan Tata Laksana Pendaftaran Obat Tradisional, Obat Herbal Terstandar dan Fitofarmka*. Jakarta: BPOM

- BPOM RI. 2014. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia Vol 1*. Jakarta: BPOM.
- Balunas, M.J. dan Kinghorn, A.D. 2005. *Drug Discovery from Medicinal Plants*. Journal Life Sciences. 78 (5): 431-441.
- Carlos et al. 2014. *Novel Flavonoids As Anti-Cancer Agents: Mechanisms Of Action And Promise For Their Potential Application In Breast Cancer*. Biochemical Society Transactions. Volume 42: 1017–1023.
- Cancer Cemoprevention Riset Center (CCRC) Farmasi UGM. 2009. *Prosedur Tetap Kerja InVitro*. Fakultas Farmasi UGM.
- Cancer Cemoprevention Riset Center (CCRC) Farmasi UGM. 2009. *Doksorubisin*. Fakultas Farmasi UGM.
- Cuppett, S., M. Schrepf dan C. Hall. 1954. *Natural Antioxidant – Are They Reality. Dalam Foreidoon Shahidi: Natural Antioxidants*. Chemistry, Health Effect and Applications, AOCS Press, Champaign, Illinois: 12-24.
- Darmawan, R. 2012. *Metode Analisis Uji Warna Senyawa Metabolit Sekunder. Artikel Kimia Organik Analisi*. Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin Makasar.
- Darmawan, Akhmad dan Artanti, Nina. 2006. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif Antioksidan dari Ekstrak Air Daun Benalu (Dendrophthoe pentandra L. Miq.) yang Tumbuh pada Cemara (Casuarina sp.)*. LIPI. Kawasan Puspipetek Serpong-Banten.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Jakarta: Balai Pustaka.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Balai Pustaka.
- Departemen Kesehatan RI. 2009. *Profil Kesehatan Indonesia 2008*. Jakarta: Departemen Kesehatan, hal: 65-66.
- Departemen Kesehatan RI. 2010. *Profil Kesehatan Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

- Departemen Kesehatan RI. 2012. *Jika tidak dikendalikan 26 juta orang di dunia menderita Kanker*. <http://www.depkes.go/index.php/berita/press-release/>.
- Depamede, S. N., & Rosyidi, A. 2009. *Penghambatan Proliferasi Limfosit Mencit Balb/C oleh Ekstrak Testis Sapi*. Bali : Peran TGF- β . Media Peternakan 32(2).
- Dipiro, J.T., Talbert, R.L., Yee, G.C., Matzke G.R., Wells, B.G., and Posey, L.M., 2008. *Pharmacotherapy A Pathofisiologic Approach*, 7th Edition, New York: The McGraw-Hill Co., Inc.
- Doyle, A., Griffiths, J.B., dan Newell, D.G. 2000. *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures*. Edisi ke III. New York: John Wiley & Son.
- Eskandari, H., 2011. *The Importance of Iron (Fe) in Plant Products and Mechanism of Its Uptake by Plants*. J. Appl. Environ. Boil. Sci. Vol. 1, No. 10, pp. 448-452.
- Elevationmap, 20 April 2017. *Elevation*. www.elevationmap.net
- Fajriah, S, Darmawan, A, Sundowo, A, Artanti, N. 2007. *Isolasi Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Etilasetat Daun Benalu Mangga (Dendrophthoe pentandra) yang Tumbuh pada Inang Lobi-lobi*. Jurnal Kimia Indonesia vol. 2 no.1 hal. 17-20.
- Fattah, A.b.A.b.A. 2010. *Shahih Thibbun Nabawi Panduan dan Metode Pengobatan Nabi SAW*. Buku. Jakarta: Pustaka Imam Ahmad.
- Gordon, M.H. 1990. *The mechanism of antioxidants action in vitro*. Di dalam: B.J.F. Hudson, editor. Food Antioxidants. Elsevier Applied Science. London.
- Gusdinar, T., Herowati, R., Kartasasmita R.E., dan Adnyana, I.K. 2011. *Anti-inflammatory and Antioxidant Activity of Quercetin-3,3',4'-Triacetate*. Journal of Pharmacology and Toxicology, 6 (2): 182-188.
- Gusmita, D. 2010. *Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Spons Callyspongia sp. Dan Fraksi-fraksinya terhadap Sel Lestari Tumor Hela*. Skripsi. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Hananan D & Winberg R. A. 2000. The Halmarck of cancer cell. 100, hal 57-70.
- Hartono. 2007. *Geografi: Jelajah Bumi dan Alam Semesta*. Bandung: CV. Citra Praya.

- Handa, S.S., Kanuja, S.P.S., Longo G., Rakes, D.D. 2008. *Extraction Technologies for Medical and Aromatic Plants*. Trieste: International Centre For Science and High Technology.
- Handayani, Hani dkk. 2016. *Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan: Pelarut Dan Lama Ekstraksi)*. Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 4 No 1 p.262-272.
- Hansen RK, Oesterreich S, Lemieux P. 1997. *Quaracetin inhibits heat shock protein induction but not heat shock factor DNA-binding in human breast carcinoma cells*. Biochem Biophys Res Commun; 239:85-856.
- Harbone, J. B. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Kokasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: ITB.
- Hardiyanti, Helda Dwi. 2015. *Uji Antikanker Dan Identifikasi Golongan Senyawa Dari Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Benalu Mangga (Dendrophthoe Pentandra) Terhadap Cell Line Kanker Payudara T47D*. Volume 10, Nomer 1:6.
- Hounsome, N., Hounsome, B., Tomos, D., and Edward-Jones, G., 2008. *Plant Metabolites and Nutritional Quality of Vegetables*. Journal of Food Science. Vol. 73, No. 4, pp. 48-65.
- Id Climate Data, 20 April 2017. *Data Climate*. www.id.climate-data.org.
- Ikawati, M., Wibowo, A. E., Octa. N.S., Adelina, S., 2008. *Pemanfaatan Benalu Sebagai Agen Antikanker*. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Indrayani, L., Hartati S. dan Lydia S. 2006. *Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (Stachytarpheta jamaicensis L. Vahl) Terhadap Larva Udang Artemia salina Leach*. Jurnal Fakultas Sains dan Matematika. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana.
- Indriadmojo, C. 2016. *Aktivitas Antikanker Dan Mekanisme Farmakologi Ekstrak Dan Fraksi Benalu Nangka (Macrosolen Cochinchinensis) Pada Sel Kanker Payudara T47D*. Laporan Penelitian Kompetitif Dosen UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Junedi, Iskandar, et al. 2010. *Hipertensi Pengenalan, Pencegahan, dan Pengobatan*. Jakarta: PT Bhuana Ilmu Populer.
- Katzung, B. G. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik, edisi 10*. Jakarta, Salemba Medika.

- Kemendagri, 15 Maret 2016. *Basis Data Kemendagri*. www.kemendagri.go.id
- Kemenkes RI. 2014. *Panduan penatalaksanaan kanker payudara*. Jakarta Balai Pustaka
- Kim, E.J., Kwon, J., Park, S.H., Park, C., Seo, Y., Shin, H., Kim, H.K., Lee, K., Choi, S., Ryu, D.H., and Hwang, G., 2011. *Metabolite Profiling of Angelica gigas from Different Geographical Origins Using 1H NMR and UPLC-MS Analyses*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 59, pp. 8806-8815
- King R. B. 2000. Cancer Biology. 2nd edition. *School of biological science. University of Surrey. Pearson education*. Harlow-england- London-new York. Hal 228-231, 263-264.
- Khakim, Abdul. 2000. *Ketoksikan Akut Ekstrak Air Daun Benalu (Dendrophthoe pentandra (L.) Miq. Dan Dendrophthoe falcate (L.f). Ertingsh) pada Mencit Jantan dan Uji Kandungan Kimia*. Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Khopkar, S.M., 2008, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, UI Press, Jakarta.
- Lamson, Davis W, MS, ND, and Brignall, Matthew S. ND. 2000. *Antioxidants and cancer III: Quercetin, Alternative Medicine Review*. Volume 5 Number 3
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilflavonoida dan Alkaloida*. Karya Ilmiah. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Machana, S. Weerapreeyakul, S.Barusrux, A. Nonpunya, B. Sripanikulchai T. Thimetharoch. 2011. *Cycotoxic and apoptotic affects of six herbal plants against the human hepatocarcinoma (HepG₂) Cell line*. Journal Chinese Medicine 6: 39-46.
- Maharani, Sabrina 2009. *Mengenal 13 Jenis Kanker Dan Pengobatannya*. Jogjakarta: Katahati.
- Maria van Iersel, M. *Sensible Sonochemistry*. Doctor of Philosophy Dissertation, Eindhoven: Eindhoven University of Technology, 2008.
- Markham KR. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Padmawinata K, penerjemah. Bandung: ITB Press. Terjemahan dari: *Techniques of Flavonoid Identification*.

- Maulana, R., dkk. 2010. *Isolasi Tanaman dan Elektroforesis DNA*. Jakarta: Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Pendidikan Indonesia.
- 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. 274. 23963-23968.
- Mosmann, T. 1983. *Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays*. Journal of Immunological Method. Volume 16;65 (1-2), 55-63.
- Muir. 2007. *DMSO: Many uses, Much Controversy*. <http://www.dmsolab.org/articles/information/pmuir.htm> diakses pada Februari 2012. Dalam: Nala, Ayu, E. M. H. 2013. *Aktivitas Antiproliferasi Ekstrak n-Heksana Daun Benalu Kelor (*Helixanthera sessiliflora* (Merr.) Denser) terhadap Cell Line Kanker Payudara T47D*. Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga.
- Nala, Ayu, E. M. H. 2013. *Aktivitas Antiproliferasi Ekstrak n-Heksana Daun Benalu Kelor (*Helixanthera sessiliflora* (Merr.) Denser) terhadap Cell Line Kanker Payudara T47D*. Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga.
- National Cancer Institute. 2001. *Measuring Cancer Death*, Cited from <http://www.cancer.gov/csr> diakses pada Maret 2007. Dalam 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* Vol. 10 No.2.
- NCI. 2012. *Breast Cancer*. <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/breast.html> (11 Februari 2012).
- NCI. 2012. *Cancer Treatment*. <http://www.cancer.gov/cancertopics/treatment.html> (11 Februari 2012)
- Nielsen, S. 2010. *Food Analysis: Laboratory Manual 2nd Ed*. Hal.: 17-28.
- Nikolova, M.T., and Ivancheva, S.V., 2005. *Quantitative Flavonoid Variations of *Artemisia vulgaris* L. and *Veronica chamaedrys* L. in Relation to Altitude and Polluted Environment*. *Acta Biologica Szegediensis*. Vol. 49, No. 3-4, pp. 29-32.
- Notoatmodjo, S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.

- Nursid, M., A. Pratitis, dan E. Chasanah. 2010. *Kultivasi Kapang MFW-01-08 yang Diisolasi dari Ascidia Aplidium longithorax dan Uji Aktivitas Sitotoksiknya terhadap Sel Kanker Payudara T47D*. Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. 5(2): 103-110.
- Pemerintah Kabupaten Kediri, 26 Februari 2016. *Data Geografis Kabupaten Kediri*. www.kedirikab.go.id.
- Pemerintah Kota Pekalongan, 17 Mei 2016. *Data Geografis Kota Pekalongan*. www.pekalongankota.go.id.
- Pemerintah Provinsi Bali, 25 Oktober 2010. *Data Geografis Provinsi Bali*. www.baliprov.go.id.
- Pemerintah Kabupaten Badung, 5 Mei 2005. *Data Kabupaten Badung*. www.badungkab.go.id.
- Pemerintah Provinsi Kalimantan Utara, 22 Desember 2016. *Data Geografi Kalimantan Utara*. www.badungkab.go.id.
- Pereira, G.E., Gaudillere, J.P., Leeuwen, C.V., Hilbert, G., Maucourt, M., Deborde, C., Moing, A., and Rolin, D., 2006. *1H-NMR Metabolic Profiling of Wines from Three Cultivars, Three Soil Types and Two Contrasting Vintages*. VIth International Terroir Congress. pp. 402-406.
- Pusat Penelitian Tanah Bogor, 1982. *Jenis – Jenis Tanah Menurut Klasifikasi Pusat Penelitian Tanah Bogor*. Bogor: Pusat Penelitian Tanah Bogor.
- Rachmawati, Aprillia E.V. 2013. *Pengaruh Ekstrak Daun Benalu Mangga (Dendrophthoe pentandra) terhadap Viabilitas dan Ekspresi Protein Caspase-3 Aktif pada Sel*.
- Radusiene, J., Karpaviciene, B., and Stanius, Z., 2012. *Effect of External and Internal Factors on Secondary Metabolites Accumulation in St. John's Worth*. *Botanica Lithuanica*. Vol. 18, No. 2, pp. 101-108.
- 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* Vol. 10 No.2.
- Rosidah, S. Yulinah, Elin, S. Gana. 1999. *Uji Aktivitas Antiradang pada Tikus Galur Wistar dan Telaah Fitokimia Ekstrak Daun Babadotan dan Ekstrak Rimpang Jahe*. <http://bahan-alam.fa.itb.ac.id>. [18 Maret 2008]
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung: ITB.

- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., Zhang, L., 2003, *Flavonoids: Promising Anticancer Agents, Medicinal Research Review*, 23(4): 519-534
- Ruddon, R.W. 2007. *Cancer Biology*. Fourth edition, oxford university press.
- Rosmarkam, A., and Widya, N., 2011. *Ilmu Kesuburan Tanah. Cetakan ke-7*. Yogyakarta : Kanisius
- Samiran. 2005. *Keanekaragaman Jenis Benalu dan Tumbuhan Inangnya di Kebun Raya Purwodadi*. Jawa Timur. Laporan Teknik. Pasuruan: Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi-LIPI.
- Sanders, D., Brownlee, C., and Harper, J.F., 1999. *Communicating with Calcium. The Plant Cell*. Vol. 11, pp. 691-706.
- Santoso, S.O. 1993. *Perkembangan Obat Tradisional dan Ilmu Kedokteran di Indonesia dan Upaya Pengembangannya sebagai Obat Alternatif*. Pidato Pengukuhan pada Upacara Penerima Jabatan sebagai Guru Besar dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta 4 September 1993.
- Savitri, Evika. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*. UIN Malang Press.
- Sarker, Saryajit. 2006. *Method in Biotechnology Natural Products Isolation*. Second Edition. New Jersey: Human Press.
- Senja, Yulia Rima dkk. 2014. *Perbandingan Metode Ekstraksi Dan Variasi Pelarut Terhadap Rendemen Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kubis Ungu (Brassica Oleracea L. Var. Capitata F. Rubra)*. Vol. 19(1), p 43-48.
- Sukardiman. 1999. *Efek Antikanker Isolat Flavonoid dari Herba Benalu Mangga (Dendrophthoe pentandra)*. Skripsi. Surabaya: Fakultas Farmasi Universtas Airlangga.
- Schutzendubel, A., and Polle, A., 2002. *Plant Responses to Abiotic Stresses: Heavy Metal-Induced Oxidative Stress and Protection by Mycorrhization*. *Journal of Experimental Botany*. Vol. 53, No. 372, pp. 1351-1365.
- Shihab. 2002. *Tafsir Al – Misbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al Quran Vol 7, 8, dan 10*. Jakarta: Penerbit Lentera Hati.

- Taufik, Imam. 2016. *Profil Metabolit Kulit Batang Artocarpus Champeden Spreng Secara HPTLC Densitometry Serta Hubungannya Dengan Antimalaria Dan Toksisitas InVitro*. Skripsi. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Tabrani, 1997. *Teknologi Pemrosesan, Pengemasan dan Penyimpanan Benih*. Kanisius: Yogyakarta.
- Thompson, E. B. 1985. *Drug Bioscreening*, Graceway Publishing Company. Inc, America, 40: 118.
- Verma, N., Shukla, S., 2015. *Impact of various Factors Responsible For Fluctuations in Plant Secondary Metabolite*. *J App Res med ar Plants* 2 (4):105-113.
- Vogel. 1985. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*. Edisi kelima. Bagian I. PT Kalman Pustaka : Jakarta. Wargadinata.
- Warsono, Lukas Budi, dkk. 2013. *Ekstraksi Cashew Nut Shell Liquid (CNSL) dari Kulit Biji Mete dengan menggunakan Metode Pengepresan*. *Jurnal Teknosains Pangan* Vol 2 No 2.
- Wicaksono, Moch Hardi Bramanda, Permana, Sefy. 2013. *Potensi Fraksi Etanol Benalu Mangga (Dendrophthoe pentandra) sebagai Agen Anti Kanker Kolon pada Mencit (Mus musculus Balb/c) setelah Induksi dextran Sulvat (DSS) dan Azoxymethane (AOM)*. *Jurnal Biotropika*. Edisi 1 No. 2.
- Wikipedia Ensiklopedia Bebas, 8 Mei 2017. *Data Geografi Kalimantan*. <https://id.wikipedia.org/wiki/Kalimantan>.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Winarno, F.G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Buku. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Winata, Enesti Wini. 2015. *Antosianin Buah Murbei (Morus Alba L.) Metode Ultrasonic Bath (Kajian Waktu Dan Rasio Bahan : Pelarut)*. Vol. 3 No 2 p.773-783.
- WHO. 2010. *Infant mortality*. World Health Organization.
- WHO. 2011. *Cancer*. <http://www.who.int/cancer/en/>. Diakses pada tanggal 28 November 2016.

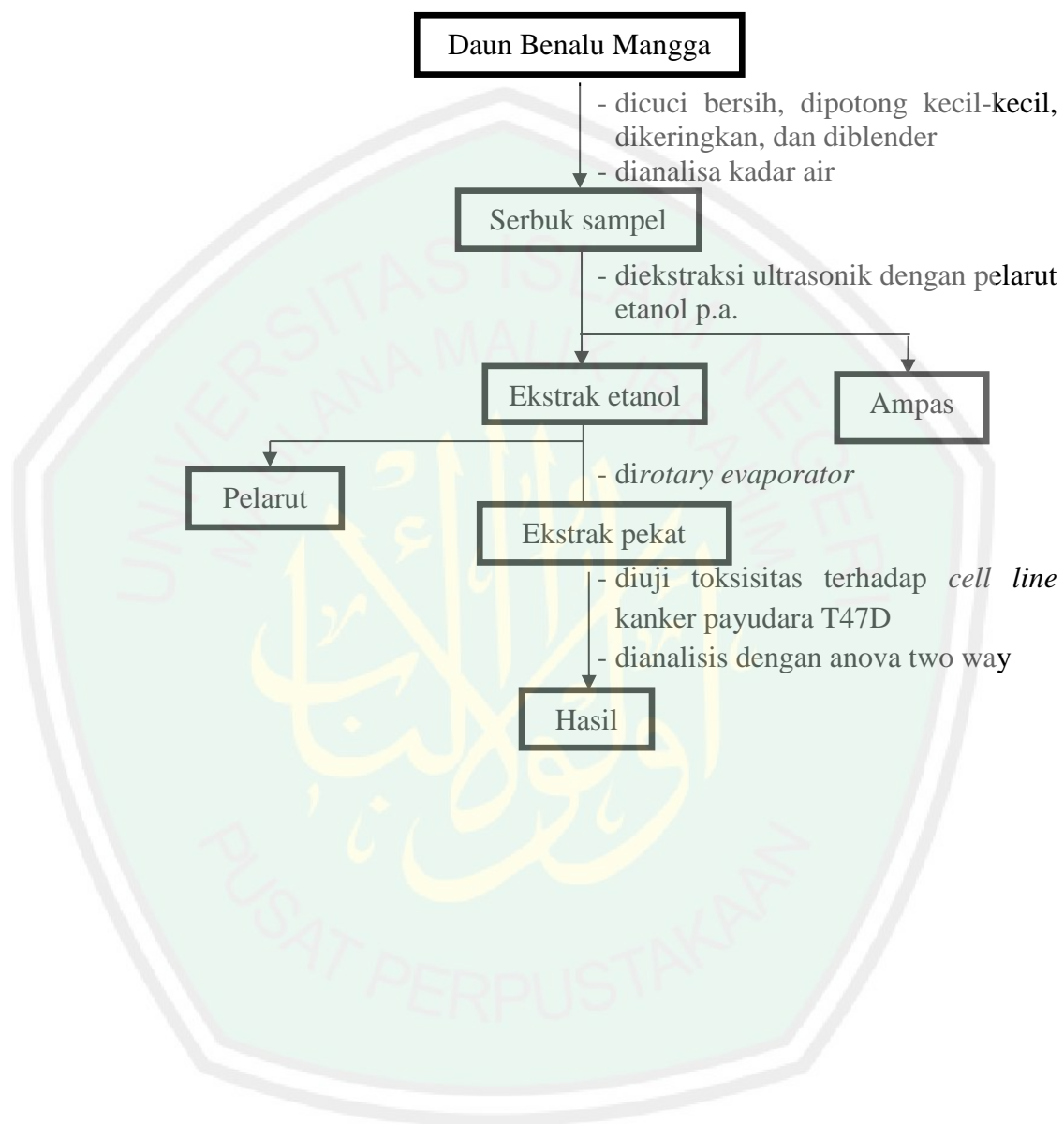
Yulia R, Elisa I, Akhmad K, Erna Prawita Setyowati. 2014. *Perbandingan Metode Ekstraksi Dan Variasi Pelarut Terhadap Rendemen Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kubis Ungu (Brassica Oleracea L. Var. Capitata F. Rubra)*. Jurnal Farmasi. Vol. 19(1) p 43-48.

Zarisman, S. Z. 2006. *Potensi Ilmu Nomodulator Bubuk Kakao Bebas Lemak sebagai Produk Substandar secara In Vitro pada Sel Limfosit Manusia*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Bogor, Institut Pertanian Bogor.



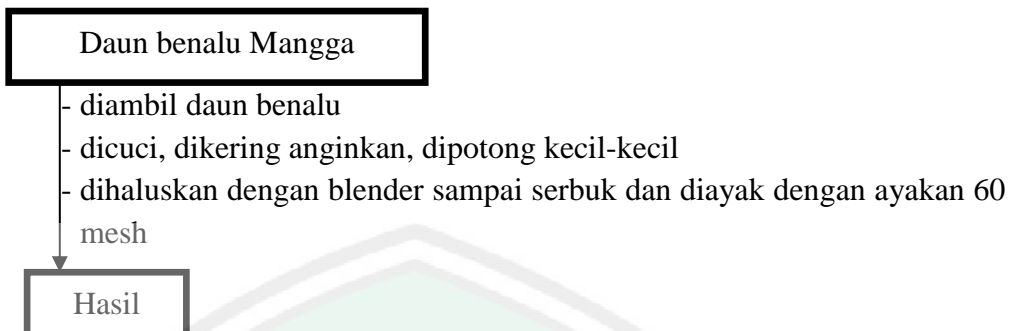
LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian

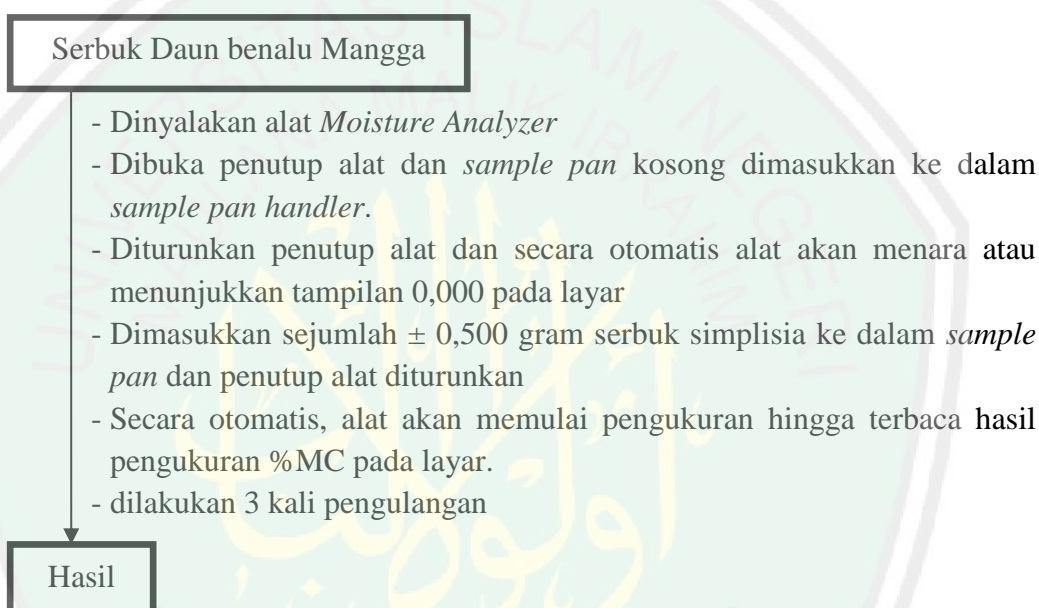


Lampiran 2. Skema Kerja

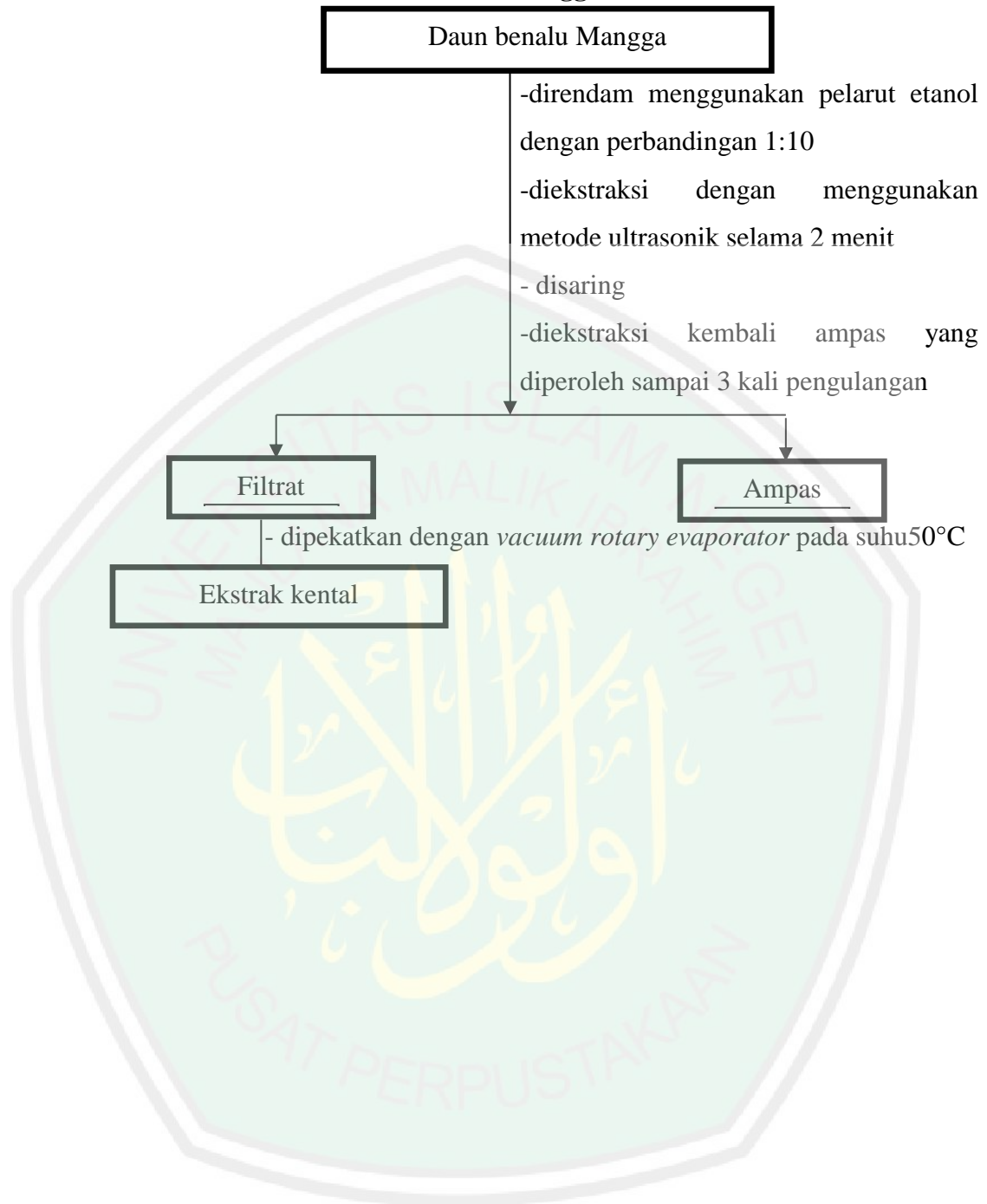
L.2.1 Preparasi Sampel



L.2.2 Analisa Kadar Air

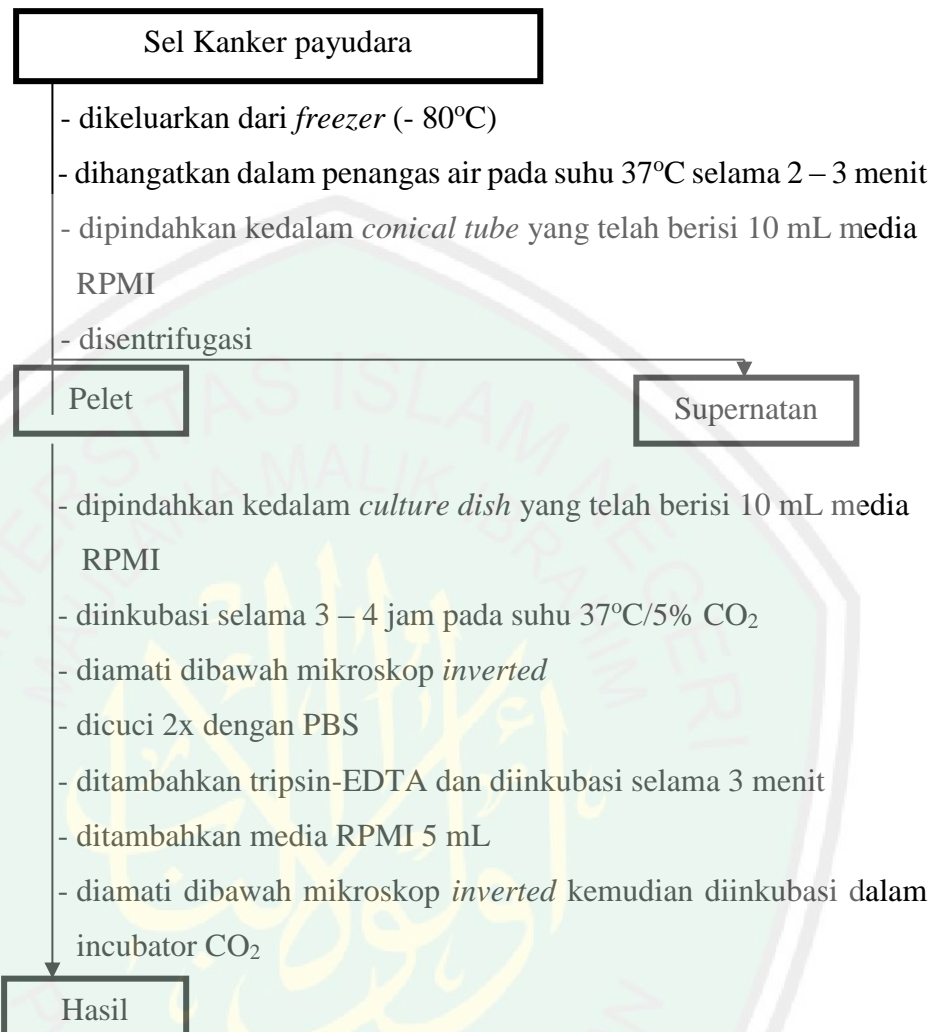


L.2.3 Ekstraksi Serbuk Daun Benalu Mangga

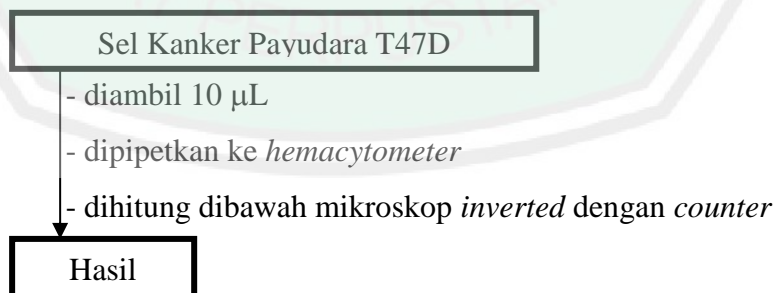


L.2.4 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT

L.2.4.1 Penyiapan Sel



L.2.4.2 Penghitungan Sel Kanker



L.2.4.3 Peletakan Sel pada *Plate***Sel Kanker Payudara T47D**

- diletakkan sel dan media RPMI sesuai perhitungan kedalam *plate 96-well*. Disisakan 3 sumuran bagian bawah untuk kontrol media
- diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO₂

Hasil**L2.4.4 Pembuatan larutan seri konsentrasi sampel dan kontrol positif (dokso)****Ekstrak Sampel**

- ditimbang 10 mg dan dimasukkan kedalam eppendorf
- dilarutkan dengan 100 μ L DMSO (larutan stok)
- ditambahkan 500 μ L media RPMI kedalam lima eppendorf
- diambil 5 μ L dari larutan stok dan dimasukkan ke Eppendorf pertama dan ditambah lagi dengan media RPMI sebanyak 495 μ L (500 ppm)
- diresuspensi larutan di Eppendorf pertama dan diambil 500 μ L dimasukkan kedalam eppendorf kedua (250ppm) dan seterusnya hingga konsentrasi (31.25ppm)
- dilakukan sama untuk ke empat sampel yang lain

Hasil

Dokso

- diambil 1 ml dokso dari vial sediaan dokso injeksi IV
- ditambahkan 500 μL media RPMI kedalam lima eppendorf
- diambil 100 μL dari larutan stok dan dimasukkan ke Eppendorf pertama dan ditambah lagi dengan media RPMI sebanyak 400 μL (500 ppm)
- diresuspensi larutan di Eppendorf pertama dan diambil 500 μL dimasukkan kedalam eppendorf kedua (250ppm) dan seterusnya hingga konsentrasi (31.25ppm)

Hasil**L.2.4.5 Penambahan larutan sampel ke dalam sel****Sel kanker payudara**

- diambil sel dari inkubator
- dibuang media sel dengan cara dibalikkan *plate* 180°
- dimasukkan sampel sebanyak 100 μL ke dalam masing-masing sumuran sesuai dengan pengaturan peletakan pada well palte sebelumnya, semua diberi kecuali kontrol sel
- diinkubasi kembali selama 24 jam

Hasil

L.2.4.6 Pemberian Larutan MTT

Sel Kanker payudara T47D

- dibuang media sel dan dicuci dengan PBS
- ditambahkan larutan MTT 100 μ 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 aluminium foil
- diinkubasi kembali di tempat gelap (suhu ruangan) semalam
- dibaca nilai absorbansi dengan ELISA *reader*

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan

L.3.3. Pembuatan Larutan HCl 0,1 N

$$\begin{aligned}
 \text{BJ HCl pekat} &= 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L} \\
 \text{Konsentrasi} &= 37 \% \\
 \text{BM HCl} &= 36,42 \text{ g/mol} \\
 n &= 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+) \\
 \text{Normalitas HCl} &= n \times \text{Molaritas HCl} \\
 &= 1 \times \frac{37 \% \times \text{BJ HCl}}{\text{BM HCl pekat}} \\
 &= \frac{37 \% \times 1190 \text{ g/L}}{36,42 \text{ g/mol}} = 12,09 \text{ N}
 \end{aligned}$$

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

$$12,07 \text{ N} \times V_1 = 0,1 \text{ N} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,08 \text{ mL} \rightarrow 0,010 \text{ (2 tetes)}$$

Cara pembuatannya yaitu ditambahkan aquades 5 mL kedalam labu ukur 10 mL, lalu ditetaskan HCl pekat 37 % sebanyak 2 tetes. Ditambahkan aquades hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen. Perlakuan ini dilakukan dalam lemari asap.

L.3.11. Pembuatan Larutan SDS 10 %

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

Cara pembuatannya yakni ditimbang 10 gram SDS (*Sodium Deodecyl Sulphate*) dan dimasukkan dalam *beaker glass* 100 mL, lalu dilarutkan dalam 100 mL aquades.

L.3.12. Pembuatan Larutan Stok MTT (5 mg/mL) (CCRC, 2009)

Ditimbang 50 mg serbuk MTT, dilarutkan dalam 10 μ L mL PBS dan diaduk dengan *vortex*.

L.3.13. Pembuatan Larutan Stok Ekstrak dan kontrol positif

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

Larutan stok dokso adalah 2000 ppm kemudian dilakukan pengenceran 200 ppm.

Cara membuat 2000 ppm adalah diambil 1 ml dari sediaan vial injeksi IV, karena kandungan dokso adalah 2mg/ 1ml setara dengan 2000 ppm.

Pengenceranya adalah :

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

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

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

Jadi, larutan stok dokso 200 ppm dibuat dengan mengambil 100 μl dari larutan stok 2000 ppm, kemudian ditambahkan 900 μL media kultur RMPI dan diresuspensi hingga homogen.



Lampiran 4. Perhitungan Kadar air serbuk daun benalu Mangga

Lokasi asal serbuk	Warna serbuk)	Kadar air I (%b/b)	Kadar air II (%b/b)	Kadar air III (%b/b)	Kadar air rata-rata(%b/b)
Kediri Jawa Timur	Hijau muda	7,72	7,92	8,37	8,00
Pekalongan Jawa Tengah	Hijau tua	9,14	8,53	8,97	8,88
Denpasar Bali	Hijau tua	6,71	6,27	6,69	6,56
Lampung Sumatra Selatan	Hijau muda	8,09	7,50	8,50	8,03
Bulungan Kalimantan Utara	Hijau agak muda	6,27	6,69	6,51	6,49



Lampiran 5. Perhitungan Rendemen ekstrak hasil Maserasi Ultrasonik

- Ekstrak pekat etanol 96 % daun benalu Mangga dari Kediri Jawa Timur

Berat wadah (gr)	Berat wadah + Ekstrak pekat (gr)	Berat ekstrak pekat (gr)
94.2362	99.4767	5.2404

Serbuk+pelarut yang digunakan	Perubahan warna filtrat	Warna ekstrak pekat	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%) (b/b)
50.7329 g + 500 mL	Hijau pekat	Hijau tua pekat	5.2404	10.329 %

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% = \frac{5.2404 \text{ g}}{50.7329 \text{ g}} \times 100 \% = 10.329 \%$$

- Ekstrak pekat etanol 96 % daun benalu Mangga dari Pekalongan Jawa Tengah

Berat wadah (gr)	Berat wadah + Ekstrak pekat (gr)	Berat ekstrak pekat (gr)
94.0243	95.5104	1.4861

Serbuk+pelarut yang digunakan	Perubahan warna filtrat	Warna ekstrak pekat	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%) (b/b)
50,7206 g + 500 mL	Hijau pekat	Hijau tua pekat	1.4861	2.929 %

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% = \frac{1.4861 \text{ g}}{50.7206 \text{ g}} \times 100 \% = 2.929 \%$$

- Ekstrak pekat etanol 96 % daun benalu Mangga dari Denpasar Bali

Berat wadah (gr)	Berat wadah + Ekstrak pekat (gr)	Berat ekstrak pekat (gr)
94.1070	98.1528	4.0458

Serbuk+pelarut yang digunakan	Perubahan warna filtrat	Warna ekstrak pekat	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%) (b/b)
50,7926 g + 500 mL	Hijau pekat	Hijau tua pekat	4.0458	7.965 %

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% = \frac{4.0458 \text{ g}}{50,7926 \text{ g}} \times 100 \% = 7.965 \%$$

➤ Ekstrak pekat etanol 96 % daun benalu Mangga dari Lampung Sumatra

Berat wadah (gr)	Berat wadah + Ekstrak pekat (gr)	Berat ekstrak pekat (gr)
94.2081	99.0550	4.8469

Serbuk+pelarut yang digunakan	Perubahan warna filtrat	Warna ekstak pekat	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%) (b/b)
50,7187 g + 500 mL	Hijau pekat	Hijau tua pekat	4.8469	9.556 %

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% = \frac{4.8469 \text{ g}}{50,7187 \text{ g}} \times 100 \% = 9.556 \%$$

➤ Ekstrak pekat etanol 96 % daun benalu Mangga dari Balungan Kaltara

Berat wadah (gr)	Berat wadah + Ekstrak pekat (gr)	Berat ekstrak pekat (gr)
96.0786	99.1596	3.0810

Serbuk+pelarut yang digunakan	Perubahan warna filtrat	Warna ekstak pekat	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%) (b/b)
50,7177 g + 500 mL	Hijau pekat	Hijau tua pekat	3.0810	6.074 %

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100 \% = \frac{3.0810 \text{ g}}{50,7177 \text{ g}} \times 100 \% = 6.074 \%$$

Lampiran 6. Perhitungan Data dan Hasil Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*)

Lampiran 6.1 Perhitungan konsentrasi sel

Kamar A = 201

Kamar B = 182

Kamar C = 197

Kamar D = 220

➤ Jumlah sel yang di hitung (mL⁻¹)

$$\begin{aligned} \Sigma \text{ sel yang dihitung} &= \frac{\Sigma \text{ sel kamar A} + \Sigma \text{ sel kamar B} + \Sigma \text{ sel kamar C} + \Sigma \text{ sel kamar D}}{4} \times 10^4 \\ &= \frac{162+134+181+190}{4} \times 10^4 \\ &= 200 \times 10^4 / \text{mL} \end{aligned}$$

➤ Jumlah mL panen sel yang ditransfer (konsentrasi sel)

$$\begin{aligned} \Sigma \text{ panen mL panen sel yang ditransfer} &= \frac{\Sigma \text{ total sel yang diperlukan}}{\Sigma \text{ sel terhitung} / \text{mL}} \\ &= \frac{100 \times 10^4}{200 \times 10^4 / \text{mL}} \\ &= 0,5 \text{ mL} \\ &= 500 \mu\text{L} \end{aligned}$$

Volume panen sel yang ditransfer sebanyak 500 μL , ditambahkan hingga 10 mL media kultur RPMI (MK) karena setiap sumuran akan diisi 100 μL MK berisi sel, sehingga total volume yang diperlukan untuk memanen sel = 100 μL x 100 sumuran = 10000 μL atau 10 mL

6.2 Perhitungan nilai IC₅₀ menggunakan *analysis probit SPSS*

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

Kontrol Sel

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
0.370	0.623	0.655	0.5493333

Kontrol Media

Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
0.097	0.089	0.078	0.088

1. Ekstrak Etanol pekat 96% dari Kediri Jawa Timur

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
500	0.260	0.241	0.251
250	0.351	0.297	0.308
125	0.446	0.461	0.528
62.5	0.507	0.497	0.582
31.25	0.548	0.478	0.506

% Viabilitas Ulangan 1

a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.260-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 37.31\%$$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.351-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 57.05\%$$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.446-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 77.66\%$$

d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.507-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 90.89\%$$

e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.548-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 99.78\%$$

% Viabilitas Ulangan 2

a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.241-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 33.19\%$$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.297-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 45.34\%$$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.461-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 80.91\%$$

d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.497-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 88.72\%$$

e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.478-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 84.60\%$$

% Viabilitas Ulangan 3

a. Konsentrasi 500 (µg/ml)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.251-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 35.36\%$$

b. Konsentrasi 250 (µg/ml)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.308-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 47.72\%$$

c. Konsentrasi 125 (µg/ml)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.528-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 95.44\%$$

d. Konsentrasi 62.5 (µg/ml)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.582-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 107.16\%$$

e. Konsentrasi 31.25 (µg/ml)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.506-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 90.68\%$$

Konsentrasi (µg/ml)	% Viabilitas			Jumlah	Rata-rata	SD
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3			
500	37.31	33.19	35.36	105.86	35.29	2.06
250	57.05	45.34	47.72	150.11	50.03	6.19
125	77.66	80.91	95.44	254.01	84.67	9.47
62.5	90.89	88.72	107.16	286.77	95.59	10.08
31.25	99.78	84.60	90.68	277.06	92.36	7.64

Analysis Probit SPSS**Ulangan 1****Confidence Limits**

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	4527.105	2698.091	9553.279	3.656	3.431	3.980
0.02	3318.523	2072.772	6533.183	3.521	3.317	3.815
0.03	2725.025	1753.076	5134.770	3.435	3.244	3.711
0.04	2349.612	1545.287	4284.455	3.371	3.189	3.632
0.05	2082.729	1394.417	3698.177	3.319	3.144	3.568
0.1	1376.826	979.057	2233.721	3.139	2.991	3.349
0.5	319.740	270.931	391.588	2.505	2.433	2.593
0.95	49.086	34.389	63.472	1.691	1.536	1.803
0.96	43.511	29.738	57.169	1.639	1.473	1.757
0.97	37.517	24.860	50.298	1.574	1.396	1.702
0.98	30.807	19.578	42.454	1.489	1.292	1.628
0.99	22.583	13.421	32.538	1.354	1.128	1.512

Ulangan 2

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	4034.185	1064.523	1.728E7	3.606	3.027	7.238
0.02	2943.597	881.059	5301945.407	3.469	2.945	6.724
0.03	2410.094	780.665	2507467.508	3.382	2.892	6.399
0.04	2073.502	712.308	1428476.261	3.317	2.853	6.155
0.05	1834.695	660.827	904297.766	3.264	2.820	5.956
0.1	1205.431	508.518	189073.024	3.081	2.706	5.277
0.5	273.936	154.853	986.430	2.438	2.190	2.994
0.95	40.901	.430	90.720	1.612	-.366	1.958
0.96	36.191	.273	83.857	1.559	-.563	1.924
0.97	31.136	.156	76.234	1.493	-.806	1.882
0.98	25.493	.074	67.286	1.406	-1.129	1.828
0.99	18.601	.023	55.440	1.270	-1.641	1.744

Ulangan 3

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	1898.849	.	.	3.278	.	.
0.02	1541.630	.	.	3.188	.	.
0.03	1350.685	.	.	3.131	.	.
0.04	1222.798	.	.	3.087	.	.
0.05	1127.757	.	.	3.052	.	.
0.1	854.258	.	.	2.932	.	.
0.5	320.684	.	.	2.506	.	.
0.95	91.189	.	.	1.960	.	.
0.96	84.101	.	.	1.925	.	.
0.97	76.138	.	.	1.882	.	.
0.98	66.708	.	.	1.824	.	.
0.99	54.158	.	.	1.734	.	.

2. Ekstrak Etanol pekat 96% dari Pekalongan Jawa Tengah

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
500	0.411	0.432	0.429
250	0.443	0.451	0.493
125	0.447	0.466	0.471
62.5	0.542	0.531	0.518
31.25	0.509	0.501	0.524

% Viabilitas Ulangan 1

- a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.411-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 70.07\%$
- b. Konsentrasi 250 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.443-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 77.01\%$
- c. Konsentrasi 125 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.447-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 77.88\%$
- d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.542-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 98.49\%$
- e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.509-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 91.32\%$

% Viabilitas Ulangan 2

- a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.432-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 74.62\%$
- b. Konsentrasi 250 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.451-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 78.74\%$
- c. Konsentrasi 125 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.466-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 81.99\%$
- d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.531-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 87.63\%$
- e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.501-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 89.59\%$

% Viabilitas Ulangan 3

- a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.429-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 73.97\%$
- b. Konsentrasi 250 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.493-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 87.86\%$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.471-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 83.09\%$$

d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.518-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 93.28\%$$

e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.524-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 94.58\%$$

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	% Viabilitas			Jumlah	Rata-rata	SD
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3			
500	70.07	74.62	73.97	218.66	72.89	2.45
250	77.01	78.74	87.86	250.12	83.38	5.83
125	77.88	81.99	83.09	263.57	87.86	2.75
62,5	98.49	87.63	93.28	279.4	93.13	5.43
31,25	91.32	89.59	94.58	275.49	91.83	2.53

Analisis probit SPSS

Ulangan 1

Probabilit y	Confidence Limits					
	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	1.133E5	.	.	5.054	.	0.01
0.02	66082.574	.	.	4.820	.	0.02
0.03	46937.262	.	.	4.672	.	0.03
0.04	36287.323	.	.	4.560	.	0.04
0.05	29433.675	.	.	4.469	.	0.05
0.1	14347.188	.	.	4.157	.	0.1
0.5	1137.390	.	.	3.056	.	0.5
0.95	43.952	.	.	1.643	.	0.95
0.96	35.650	.	.	1.552	.	0.96
0.97	27.561	.	.	1.440	.	0.97
0.98	19.576	.	.	1.292	.	0.98
0.99	11.417	.	.	1.058	.	0.99

Ulangan 2

Confidence Limits

Probabili ty	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	2.426E8	430951.032	5.312E35	8.385	5.634	35.725
0.02	7.303E7	222243.302	7.365E32	7.863	5.347	32.867
0.03	3.409E7	145977.092	1.132E31	7.533	5.164	31.054
0.04	1.922E7	106394.546	4.897E29	7.284	5.027	29.690
0.05	1.206E7	82252.745	3.805E28	7.081	4.915	28.580
0.1	2.434E6	33976.804	5.916E24	6.386	4.531	24.772
0.5	8604.342	1465.627	2.231E11	3.935	3.166	11.349
0.95	6.140	.000	31.070	.788	-5.959	1.492
0.96	3.852	.000	23.845	.586	-7.065	1.377
0.97	2.172	.000	17.262	.337	-8.426	1.237
0.98	1.014	.000	11.264	.006	-10.237	1.052
0.99	.305	.000	5.769	-.516	-13.092	.761

Ulangan 3

Confidence Limits

Probabilit y	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	4.439E6	.	.	6.647	.	0.01
0.02	1.959E6	.	.	6.292	.	0.02
0.03	1.166E6	.	.	6.067	.	0.03
0.04	7.895E5	.	.	5.897	.	0.04
0.05	5.747E5	.	.	5.759	.	0.05
0.1	1.933E5	.	.	5.286	.	0.1
0.5	4137.288	.	.	3.617	.	0.5
0.95	29.783	.	.	1.474	.	0.95
0.96	21.682	.	.	1.336	.	0.96
0.97	14.676	.	.	1.167	.	0.97
0.98	8.736	.	.	.941	.	0.98
0.99	3.856	.	.	.586	.	0.99

3. Ekstrak Etanol pekat 96% dari Denpasar Bali

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
500	0.304	0.380	0.312
250	0.331	0.283	0.346
125	0.435	0.374	0.405
62.5	0.472	0.497	0.465
31.25	0.410	0.408	0.438

% Viabilitas Ulangan 1

- a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.304-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 46.86\%$
- b. Konsentrasi 250 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.331-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 52.71\%$
- c. Konsentrasi 125 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.435-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 75.28\%$
- d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.472-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 83.30\%$
- e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.410-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 69.85\%$

% Viabilitas Ulangan 2

- a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.380-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 63.34\%$
- b. Konsentrasi 250 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.283-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 42.30\%$
- c. Konsentrasi 125 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.374-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 62.04\%$
- d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.497-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 88.72\%$
- e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.408-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 69.41\%$

% Viabilitas Ulangan 3

- a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.312-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 63.34\%$
- b. Konsentrasi 250 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.346-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 42.30\%$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.405-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 62.04\%$$

d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.465-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 88.72\%$$

e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.438-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 69.41\%$$

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	% Viabilitas			Jumlah	Rata-rata	SD
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3			
500	46.86	63.34	48.60	160.8	53.5	9.05
250	52.71	42.30	55.97	150.98	50.33	7.14
125	75.28	62.04	68.77	206.52	68.84	6.62
62,5	83.30	88.72	81.78	253.8	84.6	3.65
31,25	69.85	69.41	75.92	215.17	71.72	3.64

Analisis probit SPSS

Ulangan 1

Confidence Limits

Probabilit y	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	28069.917	8264.049	295915.422	4.448	3.917	5.471
0.02	16932.404	5623.097	141034.791	4.229	3.750	5.149
0.03	12286.796	4403.234	88153.189	4.089	3.644	4.945
0.04	9653.032	3662.753	61912.947	3.985	3.564	4.792
0.05	7932.999	3152.892	46452.632	3.899	3.499	4.667
0.1	4044.569	1882.530	17345.715	3.607	3.275	4.239
0.5	375.704	286.457	572.394	2.575	2.457	2.758
0.95	17.793	5.567	32.976	1.250	.746	1.518
0.96	14.623	4.183	28.343	1.165	.621	1.452
0.97	11.488	2.942	23.541	1.060	.469	1.372
0.98	8.336	1.842	18.404	.921	.265	1.265
0.99	5.029	.880	12.500	.701	-.056	1.097

Ulangan 2

Confidence Limits

Probabilit y	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	1.809E5	.	.	5.258	.	.
0.02	90042.869	.	.	4.954	.	.
0.03	57829.009	.	.	4.762	.	.
0.04	41446.061	.	.	4.617	.	.
0.05	31609.053	.	.	4.500	.	.
0.1	12470.025	.	.	4.096	.	.
0.5	468.760	.	.	2.671	.	.
0.95	6.952	.	.	.842	.	.
0.96	5.302	.	.	.724	.	.
0.97	3.800	.	.	.580	.	.
0.98	2.440	.	.	.387	.	.
0.99	1.214	.	.	.084	.	.

Ulangan 3

Confidence Limits

Probabilit y	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	71383.724	13882.390	2584216.892	4.854	4.142	6.412
0.02	38957.939	8921.520	981113.097	4.591	3.950	5.992
0.03	26529.487	6737.406	530845.108	4.424	3.828	5.725
0.04	19870.154	5453.614	334483.083	4.298	3.737	5.524
0.05	15707.034	4591.452	229753.510	4.196	3.662	5.361
0.1	7007.784	2540.313	63364.312	3.846	3.405	4.802
0.5	406.575	292.873	724.286	2.609	2.467	2.860
0.95	10.524	1.770	24.101	1.022	.248	1.382
0.96	8.319	1.217	20.261	.920	.085	1.307
0.97	6.231	.768	16.376	.795	-.114	1.214
0.98	4.243	.416	12.348	.628	-.381	1.092
0.99	2.316	.158	7.921	.365	-.800	.899

4. Ekstrak Etanol pekat 96% dari Lampung Sumatra

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
500	0.282	0.334	0.357
250	0.473	0.409	0.418
125	0.554	0.437	0.471
62.5	0.549	0.522	0.527
31.25	0.368	0.620	0.485

% Viabilitas Ulangan 1

- a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.282-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 42.05\%$
- b. Konsentrasi 250 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.473-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 83.46\%$
- c. Konsentrasi 125 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.554-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 101.01\%$
- d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.549-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 99.93\%$
- e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.368-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 60.69\%$

% Viabilitas Ulangan 2

- a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.334-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 53.32\%$
- b. Konsentrasi 250 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.409-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 69.59\%$
- c. Konsentrasi 125 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.437-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 75.65\%$
- d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.522-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 94.08\%$
- e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.620-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 115.32\%$

% Viabilitas Ulangan 3

- a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.357-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 58.31\%$
- b. Konsentrasi 250 ($\mu\text{g/ml}$)
 Persentase sel hidup = $\frac{(0.418-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 71.53\%$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.471-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 104.772\%$$

d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.527-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 95.16\%$$

e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.485-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 86.06\%$$

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	% Viabilitas			Jumlah	Rata-rata	SD
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3			
500	42.05	53.32	58.31	153.68	51.23	8.33
250	83.46	69.59	71.53	224.58	74.86	7.51
125	101.01	75.65	104.772	281.43	93.81	13.04
62,5	99.93	94.08	95.16	289.17	96.39	3.11
31,25	60.69	115.32	86.06	262.07	87.36	27.34

Analisis Probit SPSS Ulangan 1

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	1772.566	1213.641	3569.186	3.249	3.084	3.553
0.02	1507.299	1070.309	2830.744	3.178	3.030	3.452
0.03	1359.975	988.101	2444.036	3.134	2.995	3.388
0.04	1258.719	930.340	2188.613	3.100	2.969	3.340
0.05	1181.941	885.777	2000.841	3.073	2.947	3.301
0.1	952.286	747.826	1471.738	2.979	2.874	3.168
0.5	444.412	396.567	516.951	2.648	2.598	2.713
0.95	167.100	114.936	206.318	2.223	2.060	2.315
0.96	156.907	105.161	196.276	2.196	2.022	2.293
0.97	145.225	94.249	184.649	2.162	1.974	2.266
0.98	131.031	81.445	170.316	2.117	1.911	2.231
0.99	111.422	64.661	150.047	2.047	1.811	2.176

Ulangan 2

Confidence Limits

Probabilit y	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	23651.477	2309.486	4.193E32	4.374	3.364	32.623
0.02	15194.025	1826.779	6.052E29	4.182	3.262	29.782
0.03	11474.594	1573.281	9.547E27	4.060	3.197	27.980
0.04	9289.878	1405.484	4.212E26	3.968	3.148	26.624
0.05	7823.424	1281.899	3.327E25	3.893	3.108	25.522
0.1	4337.752	932.105	5.481E21	3.637	2.969	21.739
0.15	2913.758	749.234	1.541E19	3.464	2.875	19.188
0.2	2123.776	627.928	1.451E17	3.327	2.798	17.162
0.25	1619.120	537.922	2.660E15	3.209	2.731	15.425
0.3	1269.008	466.439	7.357E13	3.103	2.669	13.867
0.35	1012.538	406.867	2.660E12	3.005	2.609	12.425
0.4	817.276	355.255	1.146E11	2.912	2.551	11.059
0.45	664.276	308.900	5.516E9	2.822	2.490	9.742
0.5	541.696	265.602	2.824E8	2.734	2.424	8.451
0.95	37.507	.000	99.925	1.574	-8.879	2.000
0.96	31.587	.000	90.267	1.500	-9.978	1.956
0.97	25.573	.000	79.886	1.408	-11.329	1.902
0.98	19.313	.000	68.147	1.286	-13.127	1.833
0.99	12.407	.000	53.336	1.094	-15.963	1.727

Ulangan 3

Confidence Limits

Probabilit y	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	18566.046	6371.568	152079.613	4.269	3.804	5.182
0.02	12502.554	4723.216	84462.255	4.097	3.674	4.927
0.03	9728.536	3905.273	58172.055	3.988	3.592	4.765
0.04	8055.411	3384.242	43949.144	3.906	3.529	4.643
0.05	6909.073	3011.810	34990.650	3.839	3.479	4.544
0.1	4079.075	2016.467	16015.112	3.611	3.305	4.205
0.5	635.715	470.628	1058.056	2.803	2.673	3.025
0.95	58.493	26.062	90.277	1.767	1.416	1.956
0.96	50.169	20.820	80.073	1.700	1.318	1.903
0.97	41.541	15.782	69.158	1.618	1.198	1.840
0.98	32.324	10.907	56.983	1.510	1.038	1.756
0.99	21.767	6.082	42.076	1.338	.784	1.624

5. Ekstrak Etanol pekat 96% dari Balungan Kaltara

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
500	0.219	0.250	0.220
250	0.412	0.327	0.344
125	0.453	0.439	0.441
62.5	0.496	0.520	0.443
31.25	0.430	0.493	0.344

% Viabilitas Ulangan 1

a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.219-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 28.40\%$$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.412-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 70.23\%$$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.453-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 79.18\%$$

d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.496-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 88.44\%$$

e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.430-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 74.13\%$$

% Viabilitas Ulangan 2

a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.250-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 35.11\%$$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.327-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 51.81\%$$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.439-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 76.08\%$$

d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.520-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 93.64\%$$

e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.493-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 87.79\%$$

% Viabilitas Ulangan 3

a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.220-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 28.61\%$$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.344-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 55.49\%$$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.441-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 76.52\%$$

d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.443-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 76.95\%$$

e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.344-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 55.49\%$$

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	% Viabilitas			Jumlah	Rata-rata	SD
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3			
500	28.40	35.11	28.61	92.12	30.71	3.81
250	70.23	51.81	55.49	117.53	59.18	9.75
125	79.18	76.08	76.52	253.39	84.46	1.68
62.5	88.44	93.64	76.95	259.03	86.34	8.54
31.25	74.13	87.79	55.49	217.41	72.47	16.21

Analisis Probit SPSS

Ulangan 1

Confidence Limits

Probabilit y	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	9426.406	1725.579	3.458E7	3.974	3.237	7.539
0.02	6300.516	1345.039	1.041E7	3.799	3.129	7.018
0.03	4879.364	1147.374	4867342.240	3.688	3.060	6.687
0.04	4025.804	1017.496	2748260.724	3.605	3.008	6.439
0.05	3442.890	922.382	1727119.635	3.537	2.965	6.237
0.1	2012.494	656.041	351941.829	3.304	2.817	5.546
0.5	302.803	164.353	1543.962	2.481	2.216	3.189
0.94	30.424	.939	69.494	1.483	-.027	1.842
0.95	26.632	.637	63.443	1.425	-.196	1.802
0.96	22.775	.403	57.105	1.357	-.394	1.757
0.97	18.791	.229	50.279	1.274	-.640	1.701
0.98	14.553	.108	42.570	1.163	-.967	1.629
0.99	9.727	.033	32.898	.988	-1.484	1.517

Ulangan 2

Confidence Limits

Probabilit y	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	4029.238	2340.813	9258.016	3.605	3.369	3.967
0.02	2965.837	1815.601	6276.385	3.472	3.259	3.798
0.03	2441.828	1544.898	4905.866	3.388	3.189	3.691
0.04	2109.599	1367.981	4076.608	3.324	3.136	3.610
0.05	1872.989	1238.974	3507.030	3.273	3.093	3.545
0.1	1245.033	880.854	2094.396	3.095	2.945	3.321
0.5	294.823	251.476	357.351	2.470	2.400	2.553
0.95	46.407	29.598	62.794	1.667	1.471	1.798
0.96	41.202	25.491	56.808	1.615	1.406	1.754
0.97	35.596	21.207	50.245	1.551	1.326	1.701
0.98	29.307	16.596	42.702	1.467	1.220	1.630
0.99	21.572	11.267	33.073	1.334	1.052	1.519

Ulangan 3

Confidence Limits

Probabilit y	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	9136.747	.	.	3.961	.	.
0.02	6032.999	.	.	3.781	.	.
0.03	4636.231	.	.	3.666	.	.
0.04	3803.035	.	.	3.580	.	.
0.05	3237.038	.	.	3.510	.	.
0.1	1861.706	.	.	3.270	.	.
0.5	264.530	.	.	2.422	.	.
0.95	21.617	.	.	1.335	.	.
0.96	18.400	.	.	1.265	.	.
0.97	15.093	.	.	1.179	.	.
0.98	11.599	.	.	1.064	.	.
0.99	7.659	.	.	.884	.	.

6. Kontrol positif doxo

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
200	0.145	0.163	0.215
100	0.287	0.183	0.222
50	0.287	0.246	0.257
25	0.301	0.214	0.231
12.5	0.332	0.367	0.313

% Viabilitas Ulangan 1

a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.145-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 12.36\%$$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.287-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 43.14\%$$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.287-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 43.14\%$$

d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.301-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 46.17\%$$

e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.332-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 52.89\%$$

% Viabilitas Ulangan 2

a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.163-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 16.26\%$$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.183-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 20.59\%$$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.246-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 34.25\%$$

d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.214-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 27.31\%$$

e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.367-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 60.48\%$$

% Viabilitas Ulangan 3

a. Konsentrasi 500 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.215-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 27.53\%$$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.222-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 29.05\%$$

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

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.257-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 36.63\%$$

d. Konsentrasi 62.50 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.231-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 30.99\%$$

e. Konsentrasi 31.25 ($\mu\text{g/ml}$)

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(0.313-0.088)}{(0.5493333-0.088)} \times 100 \% = 48.77\%$$

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	% Viabilitas			Jumlah	Rata-rata	SD
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3			
500	12.36	16.26	27.53	56.15	18.71	7.89
250	43.14	20.59	29.05	92.78	30.93	11.39
125	43.14	34.25	36.63	114.02	38.01	4.60
62,5	46.17	27.31	30.99	104.47	34.82	9.91
31,25	52.89	60.48	48.77	162.14	54.05	5.95

Analisis Probit SPSS

Ulangan 1

Confidence Limits

Probabili ty	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	24972.826	.	.	4.397	.	.
0.02	10910.217	.	.	4.038	.	.
0.03	6451.444	.	.	3.810	.	.
0.04	4345.189	.	.	3.638	.	.
0.05	3150.548	.	.	3.498	.	.
0.1	1044.934	.	.	3.019	.	.
0.5	21.299	.	.	1.328	.	.
0.95	.144	.	.	-0.842	.	.
0.96	.104	.	.	-0.981	.	.
0.97	.070	.	.	-1.153	.	.
0.98	.042	.	.	-1.381	.	.
0.99	.018	.	.	-1.741	.	.

Ulangan 2

Confidence Limits

Probabili ty	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	4592.564	417.564	3.014E98	3.662	2.621	98.479
0.02	2330.946	291.603	2.379E84	3.368	2.465	84.376
0.03	1515.887	231.446	2.692E75	3.181	2.364	75.430
0.04	1096.719	194.055	5.025E68	3.040	2.288	68.701
0.05	842.851	167.800	1.693E63	2.926	2.225	63.229
0.1	341.374	99.465	2.836E44	2.533	1.998	44.453
0.5	14.080	.000	36.513	1.149	-22.145	1.562
0.95	.235	.000	3.402	-.629	-107.151	.532
0.96	.181	.000	2.966	-.743	-112.627	.472
0.97	.131	.000	2.507	-.883	-119.360	.399
0.98	.085	.000	2.007	-1.070	-128.310	.302
0.99	.043	.000	1.414	-1.365	-142.416	.151

Ulangan 3

Confidence Limits

Probabili ty	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
0.01	3.056E6	35563.446	1.220E16	6.485	4.551	16.086
0.02	6.414E5	13868.711	1.143E14	5.807	4.142	14.058
0.03	2.382E5	7623.822	5.906E12	5.377	3.882	12.771
0.04	1.131E5	4857.432	6.364E11	5.053	3.686	11.804
0.05	61687.599	3364.578	1.040E11	4.790	3.527	11.017
0.1	7702.531	947.989	2.083E8	3.887	2.977	8.319
0.5	5.004	.049	14.144	.699	-1.314	1.151
0.95	.000	.000	.044	-3.392	-13.518	-1.353
0.96	.000	.000	.031	-3.655	-14.306	-1.511
0.97	.000	.000	.020	-3.978	-15.274	-1.706
0.98	.000	.000	.011	-4.409	-16.562	-1.965
0.99	.000	.000	.004	-5.087	-18.591	-2.373

Nama	IC50 Ulangan 1	IC50 Ulangan 2	IC50 Ulangan 3	IC50 rata- rata	SD
Kediri Jawa Timur	319.740	302.6295	302.6295	308.333	9.88
Pekalo Jawa Tengah	5463.2795	5463.2795	4323.741	5083.43	657.9
Bali	496.721	592.584	592.584	560.629	55.36
Sumatra	1152.1675	1152.304	1027.997	1110,773	71.69
Kalimantan	302.803	330.901	330.901	321.535	16.22
Control positif	13.1575	14.080	13.1574	13.461	13.461 ± 0.53



Lampiran 7. Analisis statistic anova two way

L.7.1 Uji normalitas

Tests of Normality

lokasi		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50	KEDIRI	.327	3	.	.872	3	.302
	PEKALONGAN	.246	3	.	.970	3	.668
	BALI	.365	3	.	.798	3	.111
	SUMATRA	.220	3	.	.986	3	.777
	KALIMANTAN	.298	3	.	.915	3	.435

a. Lilliefors Significance Correction

L.7.2 Uji homogenitas

IC50

Tukey HSD

Lokasi	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
KEDIRI	3	308.3330	
KALIMANTAN	3	321.5350	
BALI	3	560.4107	560.4107
SUMATRA	3	1.1106E3	1.1106E3
PEKALONGAN	3		5.0833E3
Sig.		.977	.056

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

L.7.3 Uji Anova Two Way

ANOVA					
IC50					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.004E7	4	1.251E7	4.215	.030
Within Groups	2.968E7	10	2967952.921		
Total	7.972E7	14			



L.7.4 Hasil analisis statistik Anava one way LSD

Multiple Comparisons

ic50

LSD

(I) lokasi	(J) lokasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kediri	pekalongan	-4321.34467*	1.37257E3	.010	-7379.6112	-1263.0781
	bali	-112.22767	1.37257E3	.936	-3170.4942	2946.0389
	sumatra	-235.82233	1.37257E3	.867	-3294.0889	2822.4442
	kalimantan	17.40000	1.37257E3	.990	-3040.8665	3075.6665
pekalongan	kediri	4321.34467*	1.37257E3	.010	1263.0781	7379.6112
	bali	4209.11700*	1.37257E3	.012	1150.8505	7267.3835
	sumatra	4085.52233*	1.37257E3	.014	1027.2558	7143.7889
	kalimantan	4338.74467*	1.37257E3	.010	1280.4781	7397.0112
Bali	kediri	112.22767	1.37257E3	.936	-2946.0389	3170.4942
	pekalongan	-4209.11700*	1.37257E3	.012	-7267.3835	-1150.8505
	sumatra	-123.59467	1.37257E3	.930	-3181.8612	2934.6719
	kalimantan	129.62767	1.37257E3	.927	-2928.6389	3187.8942
sumatra	kediri	235.82233	1.37257E3	.867	-2822.4442	3294.0889
	pekalongan	-4085.52233*	1.37257E3	.014	-7143.7889	-1027.2558
	bali	123.59467	1.37257E3	.930	-2934.6719	3181.8612
	kalimantan	253.22233	1.37257E3	.857	-2805.0442	3311.4889
kalimantan	kediri	-17.40000	1.37257E3	.990	-3075.6665	3040.8665
	pekalongan	-4338.74467*	1.37257E3	.010	-7397.0112	-1280.4781
	bali	-129.62767	1.37257E3	.927	-3187.8942	2928.6389
	sumatra	-253.22233	1.37257E3	.857	-3311.4889	2805.0442

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

Lampiran 8 Dokumentasi Penelitian

L.8.1 Pengumpulan Sampel



Sampel dari lokasi Kediri



Sampel dari lokasi Bali



Sampel dari lokasi Sumatra



Sampel dari lokasi Pekalongan



Sampel dari lokasi Kalimantan

L.8.2 Preparasi Sampel



Sampel setelah dioven



Sampel setelah diblender



Serbuk dari ke 5 sampel dengan warna berbeda

L.8.3 Analisa kandungan air serbuk dengan moisture analyser



Moisture analyser HC 103

L.8.4 Ekstraksi Ultrasonik Daun Benalu Mangga menggunakan Etanol 96 %



Penimbangan serbuk



Serbuk ± 50 gram dari 5 lokasi



Ekstraksi Ultrasonik

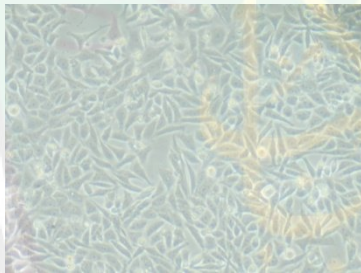


Penyaringan setelah ekstraksi



Pemekatan hasil ekstrak dengan rotary evaporator

L.8.4 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT



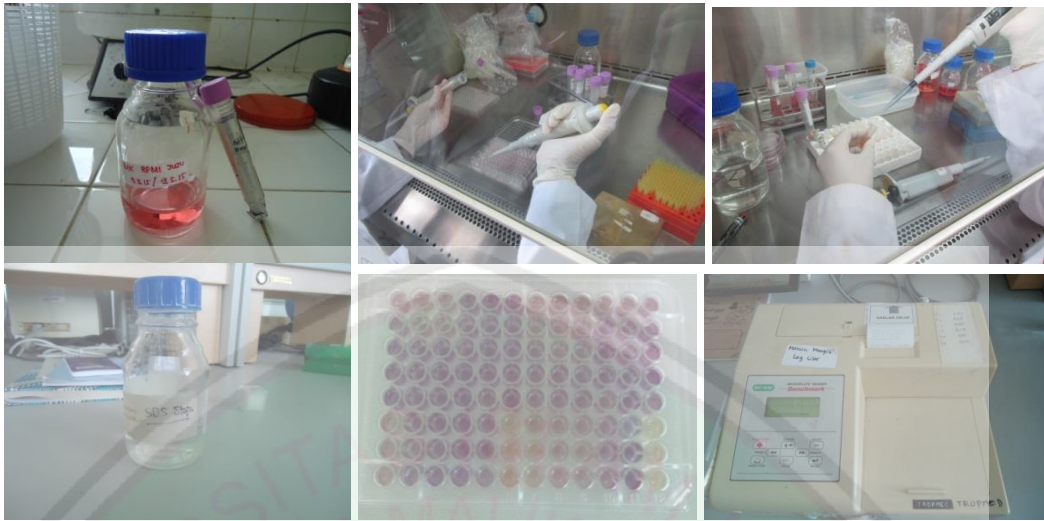
Sel T47D (sel kanker payudara)



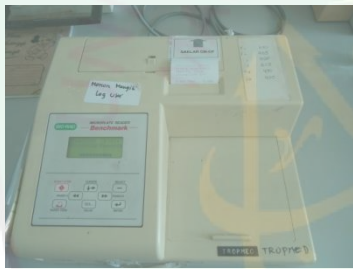
Hemacytometer (protokol perhitungan sel)



Protokol preparasi sampel



Protokol Uji sitotoksik metode MTT



ELISA Reader



LAF



Mikropipet



Mikroskop



Inkubator CO₂

Lampiran 9. Prosedur Pengambilan Sampel

No	Uraian	Petunjuk
1	Identitas sampel	
	Nama	Benalu mangga (<i>Dendrophthoe pentandra</i>)
2	Lokasi <i>Sampling</i>	Ds. Sumbergayam, Kec. Kepung, Kediri, Prov. Jawa Timur
3	Waktu <i>Sampling</i>	
	Musim	Penghujan
	Bulan	Januari-Februari
	Keadaan	Mendung
	Pukul	08:00-15:00
4	Bagian daun yang diambil	
	Sisi daun yang diambil	Daun muda yang bagus, bukan daun tua
	Pengeringan	Kering-angin 3 hari dengan ditutup kain katun hitam
	Populasi	Dari 4 pohon mangga
5	Pengiriman	
	Kondisi	Setengah kering
	Packing	Rapi dan kedap air
	Pengiriman	Dibawa langsung
	Pelabelan	Daun benalu mangga dari Kediri, Jatim

No	Uraian	Petunjuk
1	Identitas sampel	
	Nama	Benalu mangga (<i>Dendrophthoe pentandra</i>)
2	Lokasi <i>Sampling</i>	Jl. Tondano, nomor 21, Pekalongan Timur, Pekalongan, Jawa Tengah
3	Waktu <i>Sampling</i>	
	Musim	Penghujan
	Bulan	Januari-Februari
	Keadaan	Mendung
	Pukul	08:00-15:00
4	Bagian daun yang diambil	
	Sisi daun yang diambil	Daun muda yang bagus, bukan daun tua
	Pengeringan	Kering-angin 3 hari dengan ditutup kain katun hitam
	Populasi	Dari 3 pohon mangga
5	Pengiriman	
	Kondisi	Setengah kering
	Packing	Rapi dan kedap air
	Pengiriman	JNE (paket)
	Pelabelan	Daun benalu mangga dari Pekalongan

Uraian	Petunjuk
Identitas sampel	
Nama	Benalu mangga (<i>Dendrophthoe pentandra</i>)
Lokasi <i>Sampling</i>	Kelurahan Nangka Utara, Kec. Tonja, Kab. Badung, Denpasar Bali
Waktu <i>Sampling</i>	
Musim	Penghujan
Bulan	Januari-Februari
Keadaan	Terik
Pukul	08:00-15:00
Bagian daun yang diambil	
Sisi daun yang diambil	Daun muda yang bagus, bukan daun tua
Pengeringan	Kering-angin 3 hari dengan ditutup kain katun hitam
Populasi	Dari 3 pohon mangga
Pengiriman	
Kondisi	Setengah kering
Packing	Rapi dan kedap air
Pengiriman	Dibawa langsung
Pelabelan	Daun benalu mangga dari Denpasar

No	Uraian	Petunjuk
1	Identitas sampel	
	Nama	Benalu mangga (<i>Dendrophthoe pentandra</i>)
2	Lokasi <i>Sampling</i>	Kelurahan Gunung Batin Baru, Kec. Terusan Nunyai, Kab. Lampung Tengah, Lampung
3	Waktu <i>Sampling</i>	
	Musim	Penghujan
	Bulan	Januari-Februari
	Keadaan	Terik
	Pukul	08:00-15:00
4	Bagian daun yang diambil	
	Sisi daun yang diambil	Daun muda yang bagus, bukan daun tua
	Pengeringan	Kering-angin 3 hari dengan ditutup kain katun hitam
	Populasi	Dari 3 pohon mangga
5	Pengiriman	
	Kondisi	Setengah kering
	Packing	Rapi dan kedap air
	Pengiriman	Dibawa langsung
	Pelabelan	Daun benalu mangga dari Lampung

No	Uraian	Petunjuk
1	Identitas sampel	
	Nama	Benalu mangga (<i>Dendrophthoe pentandra</i>)
2	Lokasi <i>Sampling</i>	Kelurahan Tanjung Selor Hilir, Kec. Tanjung Selor, Kab. Bulungan, Kalimantan Utara
3	Waktu <i>Sampling</i>	
	Musim	Penghujan
	Bulan	Januari-Februari
	Keadaan	Terik
	Pukul	08:00-15:00
4	Bagian daun yang diambil	
	Sisi daun yang diambil	Daun muda yang bagus, bukan daun tua
	Pengeringan	Kering-angin 3 hari dengan ditutup kain katun hitam
	Populasi	Dari 3 pohon mangga
5	Pengiriman	
	Kondisi	Setengah kering
	Packing	Rapi dan kedap air
	Pengiriman	Dibawa langsung
	Pelabelan	Daun benalu mangga dari Selor Hilir, Kaltara



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. 0109 /IPH.6/HM/II/2017

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

Astri Erdiani Putri, NIM : 13670051

Mahasiswa Farmasi UIN Malang, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 31 Januari 2017, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume I, tahun 1963, halaman 339 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Dendrophoe*
Species : *Dendrophoe pentandra* (L.) Miq.

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

Divisio : *Magnoliophyta*
Class : *Magnoliopsida*
Subclass : *Rosidae*
Ordo : *Santalales*
Family : *Loranthaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 9 Pebruari 2017

An. Kepala

Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



SERTIFIKAT

Diberikan kepada

Astri Erdiani Putri

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

Penyelenggara

Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada



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



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. 76 / EC / KEPK – S1 / 02 / 2017

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

JUDUL : Uji Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dari Beberapa Lokasi di Indonesia terhadap *Cell Line* Kanker Payudara T47D.
PENELITI : Astri Erdiani Putri
UNIT / LEMBAGA : S1 Farmasi - Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan – 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, 28 FEB 2017



An. Ketua,
Koordinator Divisi I

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

Catatan :

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



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 : parasitfkugm@yahoo.com

Nomor : UGM/KU/Prst/194/M/05/07
Hal : Ijin Penelitian.

11 April 2017

Kepada Yth. : ASTRI ERDIANI PUTRI
Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Dengan hormat,
Menanggapi surat saudara tertanggal 20 Maret 2017 tentang ijin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Parasitologi yang berjudul:

“UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN BENALU MANGGA (*DENDROPTHOE PENTANDRA*) DARI BEBERAPA LOKASI DI INDONESIA TERHADAP *CELL LINE* KANKER PAYUDARA T47D”

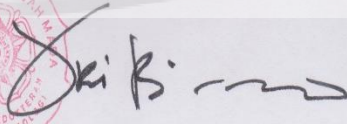
Kami dapat mengizinkan penelitian tersebut dilakukan di Departemen Parasitologi FK. UGM., dengan catatan :

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: Rumbiwati.
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,




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



SURAT KETERANGAN
No. UGM/KU/Prst/198 /TL/04/03

Yang bertanda tangan di bawah ini,

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

Nama : ASTRI ERDIANI PUTRI
Instansi : Jurusan Farmasi
Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
NIM. : 13670051

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

“UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN BENALU MAN
(*DENDROPTHOE PENTANDRA*) DARI BEBERAPA LOKASI DI INDONESIA
TERHADAP *CELL LINE* KANKER PAYUDARA T47D “

Dibawah supervisi laboratorium: Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.
Waktu Penelitian: 10 April 2017 sampai dengan 13 April 2017

Urusan administrasi telah diselesaikan oleh yang bersangkutan dan fasilitas laborat yang dipakai telah dikembalikan, dengan demikian dinyatakan **bebas laboratorium**.

Surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 13 April 2017

Kepala,



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
JURUSAN FARMASI

Jl. Ir. Soekarno No.34 Dadaprejo Batu, Telepon (0341) 577033 Faksimile (0341) 577033
Website: <http://fkiik.uin-malang.ac.id> E-mail: fkiik@uin-malang.ac.id

LEMBAR PERSETUJUAN PERBAIKAN (REVISI) UJIAN SKRIPSI

Naskah ujian skripsi yang disusun oleh:

Nama : ASTRI ERDIANI PUTRI
NIM : 13670051
Judul : Uji AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL DAUN
BENALU MANGGA (*Deadopthoe retandra*) PADA BEBERAPA LOKASI
DI INDONESIA TERHADAP CEA (HE KANKER PANKREAS PD
Tanggal Seminar Hasil : 10 Juli 2017

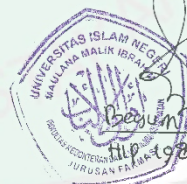
Telah dilakukan perbaikan sesuai dengan saran tim pembimbing dan tim penguji serta diperkenankan untuk melanjutkan ke tahap penelitian.

No	Nama Dosen	Tanggal Revisi	Tanda Tangan
1.	Dr. Erna Susanti, M. Biomed, Apt	18 Juli 2017	
2.	Weca Adha Bhagawan, M. Farm, Apt	18 Juli 2017	
3.	Dr. H. Ahmad Banti, M.A	18 Juli 2017	
4.	Dr. Rochatus Muth'ah, M. Kes, Apt	19 Juli 2017	

Catatan :

- Batas waktu maksimum melakukan revisi 2 Minggu. Jika tidak selesai, mahasiswa TIDAK dapat mendaftarkan diri untuk mengikuti Yedisium
- Lembar revisi dilampirkan dalam naskah skripsi yang telah dijilid, dan dikumpulkan di Bagian Administrasi Jurusan Farmasi selanjutnya mahasiswa berhak menerima Bukti Lulus Ujian Skripsi.

Malang,
Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi



Basim Khoiriyah, S.Si., M.Farm
19830628 200912 2009