

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER FRAKSI n-HEKSAN  
DAUN ASAM KANDIS (*Garcinia cowa* Roxb.)  
TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA  
T47D DENGAN METODE MTT**

**SKRIPSI**



**Oleh :**

**SALWA ANDINI PUTRI**  
**NIM : 2020112150**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
PADANG  
2024**

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, penulis panjatkan puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Antikanker Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D dengan Metode MTT”**. Skripsi ini merupakan salah satu syarat kelulusan pendidikan sarjana Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Perintis Indonesia.

Dalam menyelesaikan skripsi ini penulis sangat berterimakasih yang sebesar-besarnya kepada **Ibu apt. Okta Fera, S.Si., M.Farm**, selaku pembimbing I dan **Ibu Dr. apt. Suhatri, MS** selaku pembimbing II, yang telah membimbing penulis dengan perhatian dan kesabaran serta meluangkan waktu untuk memberikan petunjuk, arahan, nasehat dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan dalam skripsi ini.

Pada kesempatan ini penulis juga mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Yendrizal Jafri S.Kp, M.Biomed, selaku Rektor Universitas Perintis Indonesia.
2. Ibu Dr. apt. Eka Fitrianda, M.Farm, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.
3. Ibu apt. Revi Yenti, M.Si, selaku ketua Program Studi S1 Farmasi Universitas Perintis Indonesia.

4. Ibu apt. Mimi Aria, M.Farm, selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan nasehat dalam kegiatan akademik yang diberikan selama ini.
5. Bapak/Ibu Dosen yang telah mendidik dan memberikan ilmu kepada penulis dan staf karyawan/karyawati serta Analis Labor Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.

Semoga Allah SWT membalas dan melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada kita semua. Penulis sangat mengharapkan Kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menjadi sumbangan yang berharga bagi ilmu pengetahuan dan bagi kita semua.

Padang, 20 Maret 2024

Penulis

## ABSTRAK

Kanker payudara adalah suatu penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal. Angka kejadian penyakit kanker payudara ini berada urutan tertinggi yang menyebabkan kematian. Secara umum kanker payudara dapat ditangani dengan operasi, radioterapi dan kemoterapi. Namun metode pengobatan tersebut mempunyai kelemahan dan keterbatasan. Pengobatan secara alternatif dari bahan alam juga dapat menjadi penanganan penyakit kanker. Daun asam kandis secara empiris diketahui memiliki berbagai efek farmakologi termasuk sebagai antikanker. Oleh karena itu, dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antikanker dari fraksi n-heksan daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap sel kanker payudara T47D dengan menggunakan metode MTT. Variasi konsentrasi fraksi n-heksan yang digunakan adalah konsentrasi 100, 10, 1 dan 0,1 µg/ml. Data yang dihasilkan berupa absorbansi sel hidup dengan menggunakan spektrofotometer *microplate reader* yang digunakan untuk menghitung persentase viabilitas Sel T47D sehingga didapatkan nilai IC<sub>50</sub>. Pada penelitian ini didapatkan hasil IC<sub>50</sub> sebesar 16,36 µg/ml dengan kategori sangat aktif. Dapat disimpulkan bahwa fraksi n-heksan daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) memiliki potensi sangat aktif dengan variasi konsentrasi fraksi n-heksan daun asam kandis memiliki pengaruh yang signifikan terhadap penghambatan pertumbuhan sel kanker payudara T47D dengan nilai P=0,001 (P<0,05).

**Kata Kunci** : Antikanker, Daun Asam Kandis, Fraksi n-heksan, Sel T47D, MTT

## ABSTRACT

Breast cancer is a disease characterized by the abnormal growth of body tissue cells. The incidence of breast cancer is the highest cause of death. In general, breast cancer can be treated with surgery, radiotherapy and chemotherapy. However, this treatment method has weaknesses and limitations. Alternative treatments from natural ingredients can also be used to treat cancer. Kandis acid leaves are empirically known to have various pharmacological effects, including anticancer. Therefore, research was conducted which aimed to determine the anticancer activity of the n-hexane fraction of kandis acid leaves (*Garcinia cowa* Roxb.) against T47D breast cancer cells using the MTT method. Variations in the concentration of the n-hexane fraction used were concentrations of 100, 10, 1 and 0.1 µg/ml. The resulting data is in the form of live cell absorbance using a microplate reader spectrophotometer which is used to calculate the percentage of T47D cell viability to obtain the IC<sub>50</sub> value. In this study, the IC<sub>50</sub> result was 16.36 µg/ml in the very active category. It can be concluded that the n-hexane fraction of kandis acid leaves (*Garcinia cowa* Roxb.) has the potential to be very active and variations in the concentration of n-hexane fractionation of kandis acid leaves have a significant effect on inhibiting the growth of T47D with value of P= 0.001 (P<0.05).

**Keywords** : Anticancer, Kandis Acid Leaves, n-hexane Fraction, T47D Cells, MT

## DAFTAR ISI

<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>ix</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Tinjauan Tumbuhan Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) .....	5
2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Asam Kandis .....	5
2.1.2 Morfologi Tumbuhan Asam Kandis.....	5
2.1.3 Khasiat dan kegunaan Tumbuhan Asam Kandis .....	6
2.1.4 Tinjauan Kimia Tumbuhan Asam Kandis .....	6
2.1.5 Tinjauan Farmakologi Tumbuhan Asam Kandis.....	7
2.1.6 Tinjauan Farmasetik Tumbuhan Asam Kandis .....	8
2.2 Ekstraksi.....	8
2.2.1 Definisi Ekstraksi .....	8
2.2.2 Metode Ekstraksi .....	9
2.3 Fraksinasi .....	11
2.4 Kanker Payudara .....	12
2.4.1 Definisi Kanker .....	12
2.4.2 Jenis-jenis Kanker Payudara.....	13
2.4.3 Patofisiologi Kanker Payudara.....	13
2.4.4 Tanda dan Gejala Kanker Payudara .....	14
2.4.5 Etiologi Kanker Payudara .....	16
2.4.6 Pengobatan Kanker Payudara .....	18
2.4.7 Klasifikasi Obat Antikanker Berdasarkan Mekanisme Kerja .....	20
2.5 Doksorubisin .....	23
2.6 Macam-macam Sel Kanker Payudara .....	24
2.6.1 Sel T47D.....	25
2.6.2 Sel MCF-7 .....	26
2.7 Metode Pengujian Antikanker .....	26
2.7.1 Metode MTT .....	26
2.7.2 Metode <i>Brine Shrimp lethality Test</i> (BLST).....	28
2.7.3 Metode <i>Crown-Gall Potato Disc</i> (CGPD).....	28
<b>BAB III. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>30</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	30
3.2 Alat dan Bahan.....	30
3.2.1 Alat.....	30
3.2.2 Bahan .....	30
3.3 Prosedur penelitian.....	31

3.3.1 Pengambilan Sampel.....	31
3.3.2 Identifikasi Tumbuhan Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) .....	31
3.3.3 Ekstraksi dengan Metode Maserasi.....	31
3.3.4 Fraksinasi .....	32
3.3.5 Evaluasi Fraksi n-heksan Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) .....	32
3.3.6 Skrining Fitokimia Fraksi n-heksan Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) .....	34
3.4 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT.....	35
3.4.1 Penumbuhan Sel.....	35
3.4.2 Perhitungan Jumlah Sel.....	36
3.4.3 Peletakan Sel pada <i>Plate 96-well</i> .....	37
3.4.4 Pembuatan dan Peletakan Larutan Uji.....	37
3.4.5 Penambahan Larutan MTT.....	38
3.5 Analisis Data .....	39
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>40</b>
4.1 Hasil .....	40
4.1.1 Hasil Identifikasi Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.)	40
4.1.2 Hasil Ekstraksi dan Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) .....	40
4.1.3 Hasil Pemeriksaan Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) .....	40
4.1.4 Hasil Uji Aktivitas Antikanker Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D Dengan Metode MTT .....	41
4.2 Pembahasan.....	42
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>52</b>
5.1 Kesimpulan .....	52
5.2 Saran .....	52
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>53</b>

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Identifikasi Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.)	58
Lampiran 2. Skema Kerja Penelitian .....	60
Lampiran 3. Hasil Data Pemeriksaan Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) .....	64
Lampiran 4. Perhitungan Data dan Hasil Uji Aktivitas Antikanker Antikanker Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D dengan Metode MTT	67
Lampiran 5. Hasil Data Penelitian Menggunakan Graphpad Prism .....	71
Lampiran 6. Hasil Pengolahan Statistik ANOVA Satu Arah .....	73
Lampiran 7. Dokumentasi .....	75



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) .....	64
Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Rendemen Fraksi n-Heksan ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) .....	64
Tabel 3. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) .....	64
Tabel 4. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) .....	65
Tabel 5. Hasil Kadar Abu Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) .....	65
Tabel 6. Hasil Pemeriksaan Uji Fitokimia Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) .....	66
Tabel 7. Data Hasil Pengukuran Absorban dan % Viabilitas Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) dengan Metode MTT.....	68
Tabel 8. Data Hasil Pengukuran Absorban dan % Viabilitas Doksorubisin dengan metode MTT .....	69
Tabel 9. Hasil rata-rata % viabilitas Sel dari Variasi Konsentrasi Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) dan Doksorubisin.....	70

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tumbuhan Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) .....	5
Gambar 2. Senyawa isolasi <i>Garcinia cowa</i> Roxb .....	7
Gambar 3. Struktur Kimia Doksorubisin.....	23
Gambar 4. Perubahan MTT menjadi formazan .....	27
Gambar 5. <i>Haemocytometer</i> .....	36
Gambar 6. Grafik dari analisa statistik Graphpad Prism terhadap Fraksi n-heksan Daun Asam Kandis dan Doksorubisin .....	50
Gambar 7. Identifikasi Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.) dari Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas.....	58
Gambar 8. Pohon Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.).....	59
Gambar 9. Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.).....	59
Gambar 10. Skema Kerja Ekstrak dan Fraksi Daun Asam Kandis ( <i>Garcinia cowa</i> Roxb.).....	60
Gambar 11. Skema Kerja Panenan Sel Kanker T47D.....	61
Gambar 12. Skema Pengujian Aktivitas Antikanker Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis Sel Kanker T47D .....	62
Gambar 13. Skema Pengujian Aktivitas Antikanker Doksorubisin Terhadap Sel Kanker T47D.....	63
Gambar 14. <i>Plat 96- well</i> .....	75
Gambar 15. Morfologi Sel.....	75
Gambar 16. Morfologi Sel Kanker T47D konsentrasi (a) 100 µg/ml; (b)10 µg/ml; (c) 10 µg/ml; (d) 0,1 µg/ml Fraksi n-heksan.....	75
Gambar 17. Morfologi Sel Kanker T47D konsentrasi (a)100 µg/ml; (b)10 µg/ml; (c) 10 µg/ml; (d) 0,1 µg/ml Doksorubisin .....	76

## **BAB 1. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Kanker payudara (*Carcinoma mammae*) adalah suatu penyakit yang disebabkan pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh tidak normal (tumbuh sangat cepat dan tidak terkendali) dan menekan jaringan tubuh sehingga mengganggu organ tubuh lainnya. Kanker ini termasuk dalam kanker yang membahayakan karena menyebabkan kematian (Akmal dkk., 2010)

Dari data (Kemenkes RI tahun 2022), angka kejadian penyakit kanker di Indonesia adalah sebesar 136 orang per 100.000 penduduk atau berada diposisi urutan ke-8 di Asia Tenggara. Berdasarkan macam penyakit, angka kejadian kanker payudara di Indonesia berada peringkat pertama sebanyak 65.858 kasus, jumlah ini setara 16,6% dari total kasus penyakit kanker di tanah air. Berikutnya, kanker serviks berada peringkat kedua dengan 36.633 kasus atau 9,2% dari total kasus kanker nasional. Kemudian, kanker paru-paru berada peringkat ketiga yakni sebanyak 34.189 kasus (8,8%). Diikuti oleh kanker kolorektal 34.189 (8,6%) dan kanker hati 21.392 kasus (5,4%). Sementara, sisanya merupakan kanker jenis lainnya sebanyak 204.059 kasus atau setara 51,4% dari total kasus kanker nasional.

Banyak cara yang telah dilakukan untuk mengobati kanker payudara dengan metode pengobatan seperti operasi, radioterapi, dan kemoterapi, tetapi metode-metode ini tidak bisa karena masih mempunyai kelemahan dan keterbatasan. Oleh karena itu mencari pengobatan dengan cara alternatif dari tumbuhan alam yang dapat bisa mengobati pertumbuhan sel kanker serta menghilangkan penyakit sel

kanker secara selektif, efektif dan tidak menimbulkan efek samping serta biaya yang banyak.

Tumbuhan (*Garcinia cowa* Roxb.) atau banyak diketahui oleh masyarakat Indonesia dengan nama asam kandis, famili tumbuhan ini golongan senyawa fenol tipe xanthon, benzofenon, dan flavonoid. Golongan senyawa ini telah terbukti mempunyai berbagai aktivitas seperti antimikroba, antimalaria, antioksidan, antiinflamasi, antitumor, dan antikanker (komguem *et al.*, 2005). Tumbuhan ini telah digunakan dalam pengobatan tradisional misalnya daun dan buah digunakan untuk memperlancar peredaran darah, ekspektoran, pencahar dan akarnya untuk menurunkan demam. Bagian lain seperti, buah asam kandis digunakan sebagai penyedap masakan atau rempah-rempah manisan. Pada kulit batang asam kandis digunakan sebagai obat diare dan kulit buah asam kandis untuk obat rongga mulut, kerongkongan dan sariawan (Agoes, 2010).

Pada penelitian oleh Jhofi (2021) terhadap sampel ekstrak daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.), mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T74D dengan pelarut yang berbeda kepolaran tiga tingkatan yaitu n-heksan, etil asetat dan etanol. Ekstrak n-heksan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D Sangat aktif dengan  $IC_{50}$  19,43  $\mu$ g/ml. Ekstrak etil asetat memiliki aktivitas sitotoksik sel kanker payudara T47D moderat aktif dengan  $IC_{50}$  28,39  $\mu$ g/ml. Ekstrak etanol memiliki aktivitas sitotoksik sel kanker payudara T47D tidak aktif dengan  $IC_{50}$  256,3  $\mu$ g/ml.

Metode uji microtetrazolium (MTT), dengan reagen MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida) banyak digunakan untuk mempelajari mekanisme aktivitas sel dan kerusakan sel. Keuntungan yaitu relatif

cepat, sensitif, akurat, digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya bisa untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan. Metode MTT didasarkan prinsip pengukuran yang dilakukan secara kolorimetri pembentukan garam formazan tidak larut berwarna ungu melalui reaksi reduksi tetrazolium yang sifatnya larut dalam air dengan menghasilkan larutan berwarna kuning. Reagen MTT hanya bereaksi dengan sel yang masih hidup kemudian didegradasi melalui reaksi reduksi oleh sistem reduktase suksinat tetrazolium membentuk formazan (Doyle and Griffiths, 2000).

Meskipun penelitian ini telah dilakukan, namun masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk melengkapi penelitian sebelumnya. Oleh karena itu penulis dan tim ingin melanjutkan penelitian dengan fraksinasi. Fraksinasi merupakan pemisahan atau pengelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan derajat kepolaran dan homogeitas sifat zat lebih mudah permurnian atau disolasi menjadi satu senyawa atau zat murni. Pengujian aktivitas antikanker penelitian ini menggunakan fraksinasi dengan pelarut n-heksan terhadap sel kanker payudara T47D dengan metode MTT.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Apakah ada aktivitas antikanker fraksi n-heksan daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap sel kanker payudara T47D ?
2. Apakah ada pengaruh variasi konsentrasi fraksi n-heksan daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) yang berbeda terhadap sel kanker payudara T47D ?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui adanya aktivitas antikanker fraksi n-heksan daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap sel kanker payudara T47D.
2. Untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi fraksi n-heksan daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) yang berbeda terhadap sel kanker payudara T47D.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Memberikan pengetahuan tentang aktivitas antikanker fraksi n-heksan daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap sel kanker payudara T47D.
2. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai aktivitas antikanker terhadap variasi konsentrasi fraksi n-heksan daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) yang berbeda terhadap sel kanker payudara T47D.
3. Bagi peneliti, diharapkan dapat menambah pemahaman, pengetahuan, serta wawasan dalam pengujian aktivitas antikanker fraksi n-heksan daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap sel kanker payudara T47D.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Tumbuhan Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)

#### 2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Asam Kandis

Menurut (Tjitrosoepomo G, 1993), Klasifikasi Tumbuhan asam kandis sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledone
Ordo	: Guttiferales
Famili	: Clusiaceae
Genus	: <i>Garcinia</i>
Spesies	: <i>Garcinia cowa</i> Roxb.



**Gambar 1. Tumbuhan Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)**

**(Sumber : Budi, 2022)**

#### 2.1.2 Morfologi Tumbuhan Asam Kandis

Tumbuhan asam kandis ini mempunyai buah muda dengan rasa yang asam dengan bentuk buahnya lebih kurang membulat, meruncing dengan diameternya mencapai 9 cm berwarna kuning pekat atau jingga pucat, tumbuhan asam kandis mempunyai batang berkulit kayu berwarna coklat tua dengan lateks berwarna

kuning, bunganya terletak diujung dahan ujung berkelamin tunggal, bewarna kuning untuk bunga kelamin betina kuning dan bewarna orange untuk bunga berkelamin jantan. Daun dengan panjangnya 6-15 cm dan lebar 2,5-6,0 cm berwarna mengkilap, hijau tua, dan lonjong (Ritthiwgrom *et al.*, 2013).

### **2.1.3 Khasiat dan kegunaan Tumbuhan Asam Kandis**

Tumbuhan asam kandis merupakan salah satu tanaman yang efektif mengandung xanthon, xanthon terprenilasi, maupun xanthon tertetraoksigenasi hampir diseluruh bagiannya seperti pada akar, batang, kulit batang, daun, buah dan getahnya. Buah dan daun asam kandis secara tradisional untuk memperlancar peredaran darah, ekspektoran, pencahar, dan akarnya untuk menurunkan demam. Buah asam kandis kaya vitamin C, memiliki sifat sebagai antioksidan. Di Indonesia, terutama di Sumatera Barat buahnya dapat dikonsumsi sebagai manisan, penyedap masakan, atau rempah-rempah (Depkes, 2013).

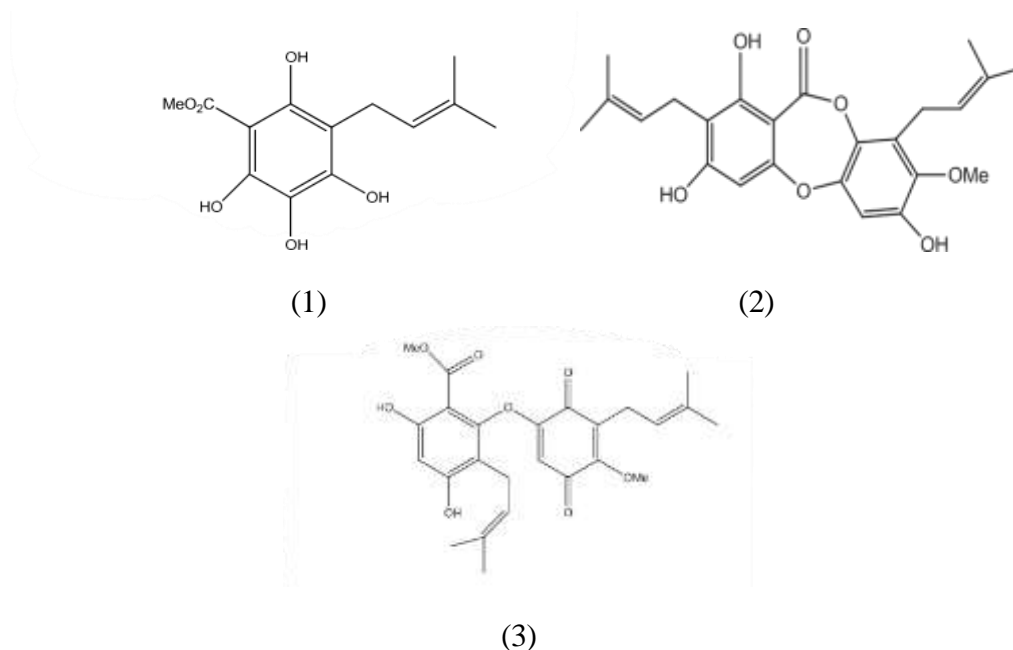
Asam kandis paling sering digunakan sebagai obat pelangsing, penyembuh rematik, mengobati radang, mencegah penyempitan pembuluh darah, dan menurunkan kolesterol jahat (Lailati, 2017). Akar tumbuhan asam kandis dapat juga digunakan sebagai penurun panas dan kulit batangnya sebagai antipiretik dan antimikroba (Dianita, 2003).

### **2.1.4 Tinjauan Kimia Tumbuhan Asam Kandis**

Tumbuhan asam kandis mengandung berbagai kandungan metabolit sekunder, senyawa fenol tipe xanthon, benzofenon dan flavonoid. Daun tumbuhan asam kandis juga diketahui mengandung berbagai senyawa golongan xanthon yaitu *cowanin*, *cowanol*, *mangostin*,  *$\beta$ -mangostin*, *cratoxylone*, *3-4-dihydrojacareubin*, dan *mangostinone* (Raksat *et al.*, 2020).



Daun asam kandis mengandung senyawa xanthon teroksigenasi dan terprenilasi, flavonoid dan benzofenon (Panthong *et al*, 2006). Ada tiga senyawa yang diisolasi yaitu (1) *methyl-2,4,6-trihydroxy-3-(3-methylbut-2-enyl) benzoate*, (2) *garcinidone A*; dan (3) *3-(1-methyl-2-buthenyl)-1,4-benzoquinone*.



**Gambar 2. Senyawa isolasi *Garcinia cowa* Roxb. (wahyuni *et al.*, 2015)**

Pada kulit buah asam kandis mengandung senyawa xanthon tetraoksigenasi, yaitu kowaxanton A-E (Panthong *et al.*, 2006). Pada bunga mengandung senyawa GSA *a-mangostin*, *B-mangostin*, *cowanin*, *fuscaxanton A*, *9-cowanon*, *hidroksicalabaxanthone*, *garcinianon A*, dan *cowanol*.

### 2.1.5 Tinjauan Farmakologi Tumbuhan Asam Kandis

Ekstrak etanol daun asam kandis telah terbukti sebagai antitumor, antiinflamasi, antioksidan, antikanker dan antibakteri (wahyuni dkk, 2015). Terbukti bahwa xanthon menunjukkan potensi sitotoksik yang kuat karena dapat menjadi sebagai agen sitotoksik baru yang potensial (Jabit *et al.*, 2009). Ekstrak n-

heksan daun asam kandis terbukti mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D Sangat aktif dengan  $IC_{50}$  19,43  $\mu$ g/ml (Jhofi,2021).

Ekstrak metanol daun dan ranting asam kandis mempunyai kemampuan dalam menghambat peroksidasi lipoprotein densitas rendah yang di induksi oleh ion tembaga. Aktivitas penghambatan lebih besar pada ekstrak ranting (Ritthiwigromv *et al.*, 2013). Ekstrak metanol daun kering dan segar tumbuhan asam kandis menunjukkan aktivitas antitumor pada konsentrasi 200  $\mu$ g/ml terhadap kultur sel yang di induksi dengan menggunakan virus *Epstein-Barr* (Likhitwitayawuid K *et al.*, 1997).

### **2.1.6 Tinjauan Farmasetik Tumbuhan Asam Kandis**

Dalam penelitian (Lucida dkk, 2017) telah terbuat dari masker peel off dari ekstrak etanol kulit buah asam asam kandis sebagai kosmetik disusun dalam tiga formula dengan konsentrasi 1%; 1,5% dan 2% dengan memakai Poli Vinil Alkohol (PVA) sebagai pembentuk lapisan film, Poli Vinil Prolidon (PVP) sebagai pengental, propilenglikol sebagai humektan, nipagin dan nipasol sebagai pengawet dan etanol sebagai pelarut.berdasarkan ketiga formula secara fisik relatif stabil selama 6 minggu penyimpanan, dan masker terbaik adalah formula II dengan konsentrasi ekstrak etanol kulit buah asam kandis 1,5%.

## **2.2 Ekstraksi**

### **2.2.1 Definisi Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses pengambilan zat berkhasiat atau bahan aktif yang terkandung dalam suatu bahan alam dengan menggunakan pelarut dengan metode yang tepat, sehingga diperoleh suatu ekstrak (Dirjen POM, 2000). Tujuan ekstraksi bahan alam adalah memperoleh komponen kimia yang terdapat di

dalamnya. Ekstraksi didasarkan pada sejumlah perpindahan massa komponen ke dalam pelarut dipengaruhi oleh kelarutan komponen di dalam pelarut. Proses perpindahan massa komponen dimulai dari lapisan antarmuka kemudian berdifusi ke dalam pelarut (Emilan dkk, 2011).

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari tanaman simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang sisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Dirjen POM, 2000).

### **2.2.2 Metode Ekstraksi**

#### **a. Cara Dingin**

##### **1. Maserasi**

Maserasi adalah proses ekstrak simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Secara teknologi termasuk ekstraksi berdasarkan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan berulang penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Dirjen POM, 2000).

##### **2. Perkolasi**

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses perkolasi meliputi pengembangan bahan, maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan

ekstrak), hingga diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Dirjen POM, 2000).

## b. Cara Panas

### 1. Refluks

Refluk adalah ekstraksi suatu pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan dalam jumlah pelarut yang terbatas dengan relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Dirjen POM, 2000).

### 2. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, dilakukan dengan peralatan khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Dirjen POM, 2000).

### 3. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik pada suhu yang lebih tinggi, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C (Dirjen POM, 2000).

### 4. Infusa

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut berair pada temperatur penangas air (bejana infus direndam dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 90°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Dirjen POM, 2000).

### 5. Dekokta

Dekokta adalah infus pada waktu yang lebih lama 15 menit dan memiliki temperatur sampai titik didih 90°C (Dirjen POM, 2000).

### 2.3 Fraksinasi

Fraksinasi adalah tahap kedua dari proses pemurnian senyawa. Fraksinasi merupakan teknik pemisahan dan pengelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan kepolaran. Pada proses fraksinasi menggunakan dua pelarut yang tidak tercampur dan mempunyai derajat kepolaran yang berbeda (Padmawinata, 1997).

Secara umum senyawa kimia dapat dibedakan atas 3 golongan berdasarkan kepolarannya. Senyawa di dalam ekstrak dapat terpisah menurut kepolarannya. Senyawa yang bersifat non polar akan tertarik pada pelarut non polar seperti n-heksan, senyawa yang semi polar (golongan alkaloid dan terpenoid) akan tertarik pada pelarut yang semi polar seperti etil asetat dan senyawa yang polar (golongan flavonoid dan glikosida) akan tertarik pada pelarut polar seperti metanol atau butanol.

Tujuan umum fraksinasi adalah untuk menyederhanakan komposisi dan homogenitas sifat suatu zat sehingga lebih mudah dimurnikan atau disolasi menjadi senyawa tunggal atau zat murni. Untuk proses fraksinasi berdasarkan tingkat kepolarannya umumnya digunakan pelarut secara berurutan yaitu dari non polar hingga pelarut polar. Proses ekstraksi yang akan dilakukan ditentukan dari kestabilan senyawa yang akan disolasi.

Keuntungan menggunakan pelarut yang berbeda polaritas adalah menyederhanakan kompleksitas ekstrak. Hal ini sangat memudahkan isolasi zat aktif dari ekstrak. Selain itu, beberapa golongan senyawa tertentu mungkin mempunyai kelarutan tinggi dalam pelarut tertentu, sehingga dapat menyederhanakan kerumitan ekstrak dan membantu proses isolasi.

Ekstraksi cair-cair adalah suatu teknik di mana suatu larutan (biasanya dalam air) dibuat bersentuhan dengan suatu pelarut kedua (biasanya organik), yang pada dasarnya tidak tercampurkan dengan pelarut pertama, dan menimbulkan perpindahan satu atau lebih zat terlarut ke dalam pelarut yang kedua. Pemisahan dapat dilakukan dengan cara mengocokkan dalam corong pemisah selama beberapa menit (Bassett, 2004).

## **2.4 Kanker Payudara**

### **2.4.1 Definisi Kanker**

Kanker adalah pertumbuhan sel yang destruktif (maligna), yang menyerang jaringan di sekitarnya dan dapat bermetastasis ke bagian tubuh yang lain. Dengan membelah secara cepat, sel kanker cenderung sangat agresif. Kanker merupakan penyakit atau kelainan pada tubuh yang diakibatkan oleh pertumbuhan dan perkembangan sel-sel tubuh abnormal, dan bisa menyebar ke area sekitarnya (Sukardja, 2010).

Kanker payudara adalah tumor ganas yang menyerang jaringan payudara. Jaringan payudara tersebut meliputi dari kelenjar susu (kelenjar pembuat air susu), saluran kelenjar (saluran air susu), dan jaringan pendukung payudara. Kanker payudara menyebabkan sel dan jaringan payudara berubah bentuk menjadi tidak normal dan bertambah banyak secara tidak terkendali (Mardiana, 2007).

Price (2006) mendefinisikan kanker payudara sebagai kanker yang umum terjadi pada kaum wanita (tidak termasuk kanker kulit). Kanker payudara ditandai dengan proliferasi keganasan sel epitel yang membatasi duktus atau lobus payudara. Awalnya hanya terjadi hiperplasia yang kemudian berkembang menjadi karsinoma duktal *in situ* (DCIS) dan mempengaruhi stroma. kanker payudara

terjadi ketika kerusakan pada gen yang mengatur pertumbuhan dan diferensiasi menjadi sel itu tumbuh dan berkembang biak secara tidak terkendali sel-sel kanker payudara ini dapat menyebar melalui aliran darah ke seluruh tubuh.

#### **2.4.2 Jenis-jenis Kanker Payudara**

Menurut Ariani (2015) berdasarkan jenisnya kanker payudara dibagi menjadi 4 tipe, yaitu :

a. Karsinoma *in situ*

Kanker payudara adalah kanker yang masih ada pada tempatnya dan belum menyebar atau menyerang keluar dari tempat asal tumbuh

b. Karsinoma *duktal*

Karsinoma duktal adalah kanker yang berkembang di saluran susu yang melapisi menuju ke puting susu

c. Karsinoma *lobuler*

Kanker berasal dari kelenjar susu yang terjadi pada perempuan yang telah memasuki masa *menopause*

d. Kanker *invasive*

Kanker payudara ini telah menyebar dan merusak jaringan lainnya. Kanker ini dapat terlokalisasi (terbatas pada payudara) dan bermetastasis (menyebar ke bagian tubuh lainnya).

#### **2.4.3 Patofisiologi Kanker Payudara**

Sel-sel abnormal membentuk sebuah kelompok dan mulai berkembang biak secara tidak normal, melepaskan sinyal pengatur pertumbuhan ke lingkungan. Sel menjadi invasif dan menyebabkan perubahan pada jaringan sekitarnya. Sel menembus jaringan dan mendapatkan akses ke pembuluh limfatik dan darah, yang

mengangkut sel-sel ke area tubuh yang lain. Peristiwa ini dinamakan metastasis (penyebaran kanker ke bagian tubuh yang lain). Sel-sel kanker dikenal neoplasma ganas/maligna dan diklasifikasikan serta diberi nama bergantung pada tempat tumbuhnya sel kanker tersebut. Ketidakmampuan sistem kekebalan tubuh untuk menghancurkan sel-sel abnormal dengan cepat dan tepat tersebut menyebabkan sel-sel tumbuh cukup besar untuk diobati dengan kekebalan normal imun yang normal. Beberapa kategori agen atau faktor tertentu yang berperan dalam karsinogenesis (transformasi malignan) mencakup virus dan bakteri, agens fisik, agens kimia, faktor genetik atau familial, faktor diet, dan faktor hormonal (Smeltzer, 2016).

Tumor adalah neoplasma. Menurut seorang onkolog asal Inggris, tumor adalah kumpulan jaringan abnormal dengan vegetasi berlebihan, dan tidak terkoordinasi dengan jaringan yang normal, dan selalu tumbuh meskipun rangsangannya hilang. Ketika kanker tumbuh, massa tumor terbentuk, menyebabkan pembengkakan atau benjolan pada jaringan tubuh, yang kemudian menyebabkan kanker. Istilah tumor yang mengacu pada pembengkakan yang terjadi akibat pembengkakan atau pendarahan pada jaringan. Tumor dibagi menjadi dua kategori jinak dan ganas. Jika tumor ganas maka disebut kanker (Padila, 2013).

#### **2.4.4 Tanda dan Gejala Kanker Payudara**

Kejadian yang sudah terjadi, kanker payudara menyadaridari bahwa dirinya terserang kanker payudara saat timbul rasa nyeri, sakit, ataupun benjolan tumbuh semakin besar pada jaringan payudaranya. Sebenarnya, penderita yang mengalami kondisi ini sudah terserang kanker stadium lanjut. Padahal, lebih mudah proses penyembuhannya jika serangan kanker payudara dapat diketahui (terdeteksi) sejak



dini (Ramli, 2001). Penderita yang terkena kanker payudara stadium awal tidak merasakan adanya nyeri atau sakit pada payudaranya. Namun, jika payudara diraba, ada benjolan yang tumbuh di dalamnya. Besar kecilnya benjolan yang tumbuh itu sangat bervariasi tergantung seberapa cepat penderita bisa mendeteksinya. Setelah melewati stadium dini atau melewati stadium lanjut gejala kanker payudara semakin banyak (kompleks). Sebelum menjelaskan berbagai gejala umum kanker payudara (Hero, 2021) sebagai berikut kanker :

1. Kelelahan yang dirasakan terus menerus
2. Penurunan berat badan yang tidak disengaja
3. Demam
4. Perubahan tertentu pada kulit tubuh
5. Rasa sakit

Gejala klinik kanker payudara secara garis besar terbagi menjadi dua, yakni benjolan pada payudara dan erosi atau eksema pada puting susu. Gejala-gejala tersebut terbagi sebagai berikut:

1. Benjolan pada payudara, umumnya, berupa benjolan yang tidak nyeri pada payudara. Benjolan itu mula-mula kecil kemudian makin besar dan melekat pada kulit atau menimbulkan perubahan pada kulit payudara atau puting susu.
2. Erosi atau eksema puting susu. Kulit atau puting susu menjadi tertarik ke dalam (retraksi), berwarna merah muda atau kecoklatan sampai menjadi edema hingga kulit kelihatan seperti kulit jeruk (*peau d'orange*), mengkerut, atau timbul borok (ulkus) pada payudara. Semakin lama, borok itu semakin besar dan mendalam, sehingga dapat menghancurkan

seluruh payudara. Biasanya berbau busuk dan mudah berdarah. Ciri-ciri lainnya antara lain:

- a. Pendarahan pada puting susu.
- b. Adanya ruam-ruam pada kulit di sekitar payudara, areola atau puting terlihat bersisik, memerah, dan membengkak.
- c. Keluar cairan dari puting susu
- d. Puting susu menjadi lunak
- e. Kulit payudara membengkak dan menebal
- f. Cekungan atau kerutan pada kulit payudara
- g. Rasa gatal dan ruam merah yang tidak kunjung sembuh di puting
- h. Terdapat benjolan di daerah bawah lengan
- i. Perubahan ukuran atau bentuk payudara (asimetris)
- j. Puting susu tertekan ke dalam (sebagian atau seluruhnya)
- k. Pada umumnya, rasa sakit atau nyeri baru timbul bila tumor sudah besar, sudah timbul borok, atau ada metastasis ke tulang-tulang
- l. Timbul pembesaran kelenjar getah bening di ketiak, bengkak pada lengan, dan penyebaran kanker ke seluruh tubuh.

#### **2.4.5 Etiologi Kanker Payudara**

Faktor-faktor etiologi tersebut secara dibagi sebagai berikut: (Brunner dan Suddarth, 2001).

- a. Virus

Virus dianggap dapat menyatukan diri dalam struktur genetik sel, sehingga mengganggu proliferasi dari populasi sel tersebut

b. Agen fisik

Faktor-faktor yang berhubungan dengan karsinogenesis mencakup pajanan terhadap sinar matahari, radiasi pengionisasi, pajanan terhadap medan elektromagnetik, dan iritasi atau inflamasi kronik

c. Agen Kimia

Kebanyakan zat kimia yang berbahaya menghasilkan efek-efek toksik dengan mengganggu struktur DNA pada bagian-bagian tubuh yang jauh dari pajanan zat kimia

d. Faktor genetik

Faktor genetik juga memainkan peranan dalam pembentukan sel kanker. Jika kerusakan DNA terjadi pada sel dimana pola kromosomnya abnormal, dapat terbentuk sel-sel mutan

e. Faktor makanan

Faktor makanan diduga berkaitan 40% sampai 60% sebagai penyebab kanker. Substansi makanan dapat proaktif (protektif), karsinogenik atau kokarsinogenik. Risiko kanker meningkat sejalan ingesti jangka panjang karsinogenik atau kokarsinogenik atau tidak adanya substansi proaktif dalam diet

f. Agen hormonal

Pertumbuhan tumor mungkin dipercepat dengan adanya gangguan dalam keseimbangan hormon baik oleh pembentukan hormon tubuh sendiri (endogenus) atau pemberian hormon eksogenus.

## **2.4.6 Pengobatan Kanker Payudara**

Pengobatan kanker payudara tergantung pada jenis, stadium, ukuran kanker, serta apakah sel kanker sensitif terhadap hormon. Cara pengobatannya bisa dengan prosedur operasi, bedah lumpektomi, kemoterapi, radioterapi, terapi hormon, atau kombinasi dari metode-metode tersebut (Lyndon, 2014) :

### **A. Operasi**

Tindakan pengobatan dapat dilakukan dengan Operasi yang dilakukan dengan mengambil sebagian atau seluruh payudara. Cara pengobatan ini bertujuan untuk membuang sel-sel kanker yang ada di dalam payudara. Jenis-jenis operasi yang dilakukan untuk mengobati kanker payudara adalah sebagai berikut:

#### **1. Lumpektomi**

Lumpektomi adalah operasi pengangkatan sebagian dari payudara dimana pengangkatan hanya pada jaringan yang mengandung sel kanker, bukan seluruh payudara. Operasi ini selalu diikuti dengan pemberian radioterapi. Biasanya lumpektomi direkomendasikan pada pasien yang besar tumornya kurang dari 2 cm dan letaknya dipinggir payudara.

#### **2. Mastektomi**

Bedah mastektomi adalah prosedur yang dilakukan oleh dokter bedah onkologi untuk mengangkat seluruh jaringan di payudara. Umumnya, mastektomi dilakukan ketika kondisi pasien tidak bisa ditangani dengan lumpektomi.

## B. Radioterapi

Radioterapi adalah prosedur untuk menghancurkan sel kanker dengan menggunakan sinar berkekuatan tinggi, seperti sinar-X dan proton. Radioterapi bisa dilakukan dengan menembakkan sinar ke tubuh pasien menggunakan mesin (radioterapi eksternal), atau dengan menempatkan material radioaktif ke dalam tubuh pasien (*brachytherapy*).

Radioterapi eksternal biasanya dilakukan setelah pasien selesai menjalani lumpektomi, sedangkan *brachytherapy* dilakukan jika risiko muncul kembali kanker payudara rendah. Radioterapi juga bisa dilakukan setelah mastektomi untuk mengatasi kanker yang berukuran besar dan telah menyebar ke kelenjar getah bening. Radioterapi atau terapi radiasi pada kanker payudara dapat berlangsung selama 3 hari sampai 6 minggu, tergantung jenis terapi yang dilakukan dan kondisi pasien secara menyeluruh.

## C. Terapi Hormon

Terapi hormon adalah unakan untuk mengatasi kanker payudara yang dipengaruhi oleh hormon estrogen dan progesteron. Terapi hormon bisa dilakukan sebelum atau setelah prosedur bedah, untuk mencegah sel kanker kembali muncul. Selain itu, terapi ini juga dapat dilakukan untuk mengatasi kanker yang kambuh setelah pengobatan atau kanker yang telah menyebar ke bagian tubuh lain.

## D. Terapi Target

Terapi target adalah pemberian obat untuk menghambat pertumbuhan sel kanker secara spesifik. Berbeda dengan kemoterapi yang dapat merusak

sel-sel sehat, obat yang digunakan pada terapi target tidak merusak sel-sel yang sehat. Sebagai contoh, salah satu obat yang digunakan pada terapi target bertujuan untuk menghambat kerja protein HER2, yang membantu sel kanker tumbuh lebih agresif.

Beberapa obat yang digunakan dalam terapi target adalah trastuzumab, pertuzumab, dan lapatinib. Obat-obat tersebut bisa diberikan dalam bentuk minum atau suntik, dan dapat digunakan untuk mengobati kanker stadium awal atau stadium lanjut.

#### E. Kemoterapi

Kemoterapi adalah pemberian obat khusus melalui infus atau suntik, untuk membunuh sel-sel kanker yang tumbuh dengan cepat. Kemoterapi bisa dilakukan sebelum bedah untuk menyusutkan ukuran kanker agar lebih mudah diangkat. Kemoterapi juga dapat dilakukan setelah bedah untuk menghancurkan sel-sel kanker yang mungkin tertinggal setelah prosedur bedah. Kemoterapi setelah bedah juga dilakukan bila sel kanker sudah menyebar ke bagian tubuh lain atau bila kanker berisiko kambuh kembali. Selain itu, kemoterapi juga dapat dilakukan untuk mengatasi kanker stadium lanjut, terutama bila kanker sudah menyebar sampai ke area ketiak atau area tubuh lain.

#### **2.4.7 Klasifikasi Obat Antikanker Berdasarkan Mekanisme Kerja**

Obat antikanker terutama bekerja pada DNA yang merupakan komponen utama gen yang mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel. Cara kerjanya pada sel-sel kanker ada yang

- a. Menghambat atau mengganggu sintesa DNA atau RNA

- b. Merusak replikasi DNA
- c. Mengganggu transkripsi DNA oleh RNA
- d. Mengganggu kerja gen

Menurut mekanisme kerjanya, obat antikanker dapat digolongkan menjadi :

1. Alkilator agen

Obat ini bekerja dengan cara:

- a. Menghambat sintesa DNA dengan menukar gugus alkali sehingga membentuk ikatan silang DNA.
- b. Mengganggu fungsi sel dengan melakukan transfer gugus alkali pada gugus amino, karboksil, sulfhidril, atau fosfat.
- c. Merupakan golongan sel spesifik non fase spesifik.

Yang termasuk golongan ini adalah : amsacrine, cisplatin, busulfan, carboplatin, chlorambucil, dacarbazine, cylophosphamid, procarbazine, ifosfamid, streptozin, thiotepa, mephalan.

2. Antimetabolit

Golongan ini menghambat sintesa asam nukleat. Beberapa antimetabolit mempunyai struktur analog dengan molekul normal sel yang diperlukan untuk pembelahan sel, beberapa yang lain menghambat enzim yang penting untuk pembelahan. Secara umum aktifitasnya meningkat pada sel yang membelah cepat. Yang termasuk golongan ini: azacytidine, cytarabin, capecitabine, fludarabin, flououracil, luekovorin, cladribin, mitoguazon, thioguanin.

### 3. Antibiotika

Mekanisme kerja terutama dengan jalan menghambat sintesa DNA dan RNA. Yang termasuk golongan ini: acitinomicin, bleomicin, idarubicin, doksorubisin, epirubicin, mitoxantron, mitomicyn.

### 4. Obat Hormonal

- a. Tamoksifen: antiestrogen kanker payudara yang mempunyai reseptor estrogen
- b. Leuprolid, goserelin: analog GnRh menghambat pelepasan gonadotropin
- c. Flutamid: antiandrogen.

### 5. Alkaloid Vinca

Beberapa obat lain :

#### a. Mitotik Spindle

Golongan obat ini berikatan dengan protein mikrotubuler sehingga menyebabkan disolusi struktur mitotic spindle pada fase mitosis. Macam-macam antara lain : plakitaxel, docetaxel, V inorelbin, V indesine, V incristin.

#### b. Topoisomerase Inhibitor

Obat ini mengganggu fungsi enzim topoisomerase sehingga menghambat proses transkripsi dan replikasi. Antara lain : ironotecan, topotecan, etoposid.

#### c. Sitoprotektif Agen

Macam- macamnya terbagi : amifostin, dexrazoxan.

#### d. Monoklonal Antibodi



Obat ini mempunyai selektifitas relatif untuk jaringan tumor dan toksisitasnya relatif rendah. Obat ini dapat menyerang sel tertentu secara langsung, dan dapat pula digabungkan dengan zat radioaktif atau kemoterapi tertentu. Macam-macamnya antara lain : rituximab, trastuzumab.

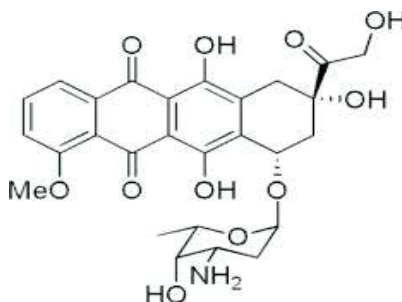
e. Hematopoitik Growth Faktor

Obat-obat ini sering digunakan dalam kemoterapi tetapi tidak satupun yang menunjukkan peningkatan survival secara nyata. Macam-macamnya antara lain : eritropin, coloni stimulating factors (CSFs), Platelet growth Factors.

f. Obat ini tidak mempunyai mekanisme khusus, antara lain: L-Asparaginase, hexamethylmelamine, estramustine, anagrelide, lavamisol, interferon alfa, oktreotide, IL-2.

## 2.5 Doksorubisin

Doksorubisin adalah antibiotik golongan antrasiklin yang banyak digunakan untuk terapi berbagai macam jenis kanker antara lain leukimia akut, kanker payudara, kanker tulang dan ovarium (Childs *et al.*, 2002). Senyawa ini diisolasi dari *Streptomyces peucetius* var *caesius* pada tahun 1960-an dan digunakan secara luas (Minotti *et al.*, 2004).



**Gambar 3. Struktur Kimia Doksorubisin (Minotti *et al.*, 2004)**

Doksorubisin bisa menyebabkan kardi toksisitas dan hepatotoksisitas pada penggunaan jangka panjang. Efek tersebut menyebabkan penggunaannya secara klinis menjadi terbatas. Efek samping pada pemakaian kronisnya bersifat ireversibel, termasuk terbentuknya *cardiomyopati*, *hepatotoxic*, *nefrotoksik*, *congestive heart failure*. Pada penelitian ini memakai doksorubin sebagai pembandingan

Antibiotik antrasiklin dengan contoh doksorubisin mekanisme aksi sitotoksik melalui empat mekanisme, yaitu: (1) penghambatan topoisomerase II, (2) interkalasi DNA sehingga mengakibatkan penghambatan sintesis DNA dan RNA, (3) pengikatan membran sel yang menyebabkan aliran dan transport ion, (4) pembentukan radikal bebas semikuinon dan radikal bebas oksigen melalui proses reduktif yang diperantarai enzim. Mekanisme toksisitas kronis doksorubisin kemungkinan diperantarai oleh konversi metabolit doksorubisin menjadi doksorubisinol yang melibatkan berbagai enzim, antara lain karbonil reduktase. Mekanisme utama toksisitas doksorubisin terjadi karena interaksinya dengan besi dan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang merusak makromolekul sel (Minotti *et al.*, 2004).

## **2.6 Macam-macam Sel Kanker Payudara**

Kultur sel terbagi menjadi kultur sel primer dan kultur sel sekunder (*cell line*). Sel primer adalah sel yang diperoleh secara langsung dari pemisahan jaringan suatu organisme melalui pembedahan jaringan normal dan dikultur. Kultur primer ini hanya dapat dipertahankan dalam periode waktu tertentu. Sedangkan kultur sel sekunder (*cell line*) adalah keturunan sel yang diperoleh dari

kultur sel primer dan telah dipisahkan secara enzimatis maupun secara mekanis (Burdall *et al.*, 2003).

Empat karakteristik sel yang dapat digunakan untuk mengevaluasi kultur sel adalah morfologi sel, kecepatan pertumbuhan, efisiensi pertumbuhan, dan fungsi khusus yang dilakukan sel. Dalam kultur sel, dapat diamati berbagai perilaku, karakteristik, dan bentuk sel. Oleh karena itu, kultur sel mempunyai kegunaan yang bervariasi, antara lain untuk pengamatan biokimia sel, uji toksisitas suatu bahan, penelitian kanker, deteksi dan isolasi suatu virus, serta terapi gen.

Keunggulan kultur sel adalah lingkungannya (pH, suhu, nutrisi pertumbuhan) mudah diatur, dapat menggambarkan karakteristik sel, mudah diukur, dan lebih etis dari pada menggunakan hewan percobaan. Namun, kultur sel juga mempunyai

keterbatasan seperti mudah terkontaminasi, ketidakstabilan genetik dan fenotip, serta biaya pemeliharannya yang relatif mahal. Garis sel kanker yang umum digunakan dalam pengujian ialah T47D dan MCF-7.

### **2.6.1 Sel T47D**

Sel T47D merupakan *continous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. *Continous cell* sering digunakan dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya, media dasar RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*). Memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall *et al.*, 2003).

Sel T47D dengan morfologi seperti sel epitel. Sel kanker payudara T47D mengekspresikan protein p53 yang termutasi *Missence mutation* terjadi pada

residu 194 (dalam *zinc-binding domain, La*) sehingga p53 tidak dapat berikatan dengan response elemen pada DNA, dan mengakibatkan berkurang bahkan hilangnya kemampuan p53 untuk regulasi *cell cycle*. Sel T47D adalah sel kanker payudara ER/PR-positif. Induksi estrogen eksogen mengakibatkan peningkatan proliferasinya. Sel T47D merupakan sel yang sensitif terhadap doksorubisin (Schafer *et al.*, 2000).

### **2.6.2 Sel MCF-7**

Sel MCF-7 merupakan sel kanker pada manusia yang pertama kali diisolasi pada tahun 1970. Sel MCF-7 berasal dari metastasis efusi pleura wanita berusia 69 tahun dengan dasar penumbuh media DMEM (*dulbecco's modified eagle medium*) terformulasi. Sel MCF-7 merupakan sel kanker payudara sub tipe ER<sup>+</sup>, PR<sup>+</sup>, HER2<sup>-</sup>. Sel kanker payudara MCF-7 adalah sel yang sensitive terhadap estrogen (E2) dan bergantung pada E2 untuk berkembang mengekspresikan transkrip Estrogen Reseptor  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) tingkat tinggi tetapi kadar Estrogen Reseptor  $\beta$  (ER $\beta$ ) rendah. Meskipun beberapa penulis berpendapat bahwa ekspresi estrogen reseptor lemah pada garis orang tua bila dibandingkan dengan yang dari sub-lini resisten tamoxifen, yang lain telah menunjukkan bahwa MCF-7 mengandung sejumlah besar reseptor 17 $\beta$ -estradiol (Comsa *et al.*, 2015).

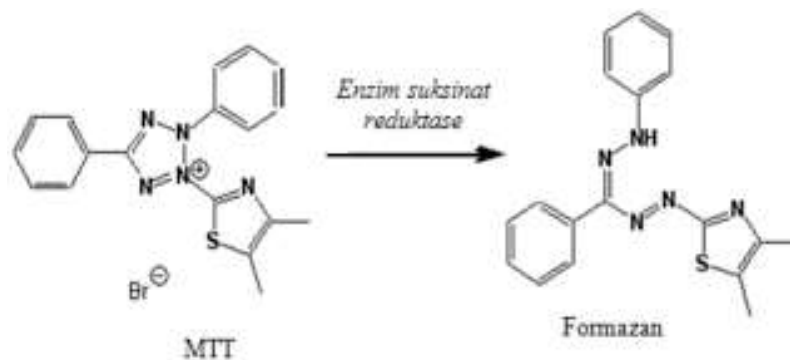
## **2.7 Metode Pengujian Antikanker**

### **2.7.1 Metode MTT**

Aktivitas antikanker dapat dilakukan dengan uji MTT yang merupakan salah satu metode yang digunakan dalam uji sitotoksik. Metode microtetrazolium (MTT) banyak dimanfaatkan untuk menyelidiki mekanisme aktivasi sel dan kerusakan sel yang mana pengujiannya secara kolorimetri dan didasarkan pada

*bioreduction* garam tetrazolium ke formazan. Dalam penelitian ini digunakan uji MTT karena memiliki kelebihan yaitu relatif cepat, sensitif, akurat, digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya bisa untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan (Goodwin *et al.*, 1995).

Uji aktivitas antikanker ini digunakan untuk menentukan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitory Concentration*). Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50 % dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Semakin besar nilai  $IC_{50}$  maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Meiyanto, dkk., 1999). Aktivitas antikanker mempunyai tiga kategori menurut *National Cancer Institute* (NCI) yaitu, sangat aktif jika  $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$ , moderat aktif jika  $IC_{50} 30\text{-}100 \mu\text{g/mL}$ , dan tidak aktif jika  $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ .



**Gambar 4. Perubahan MTT menjadi formazan (Mosman, 1983)**

Metode ini merupakan kolimetri dimana pereaksi atau reagen MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida) prinsip metode ini ialah mengukur aktivitas seluler berdasarkan aktivitas enzim suksinat dehidrogenase mitokondria sel untuk mereduksi garam MTT. Pada proses metabolisme, enzim suksinat dehidrogenase dihasil oleh sel hidup. Enzim akan bereaksi dengan MTT

membentuk kristal formazan berwarna ungu dengan jumlahnya sebanding dengan sel hidup (Mosmann, 1983), dan diukur pada panjang gelombang 550-600 nm menggunakan spektrofotometer *microplate reader*, semakin tinggi kadar formazan yang dihasilkan maka semakin tinggi absorban yang dihasilkan menunjukkan banyaknya sel hidup dan sebaliknya.

### **2.7.2 Metode *Brine Shrimp lethality Test* (BSLT)**

*Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah *bioassay* yang pertama untuk penelitian bahan alam dan digunakan untuk menguji bahan-bahan yang bersifat toksik. Uji sitotoksik dengan menggunakan metode BSLT digunakan sebagai pengujian pendahuluan dalam uji sitotoksik senyawa antikanker dari bahan alam yang menggunakan larva udang dari *Artemia salina* Leach.

Metode BSLT mempunyai keunggulan yaitu tidak menghabiskan banyak waktu, langkahnya yang sederhana, cepat, tidak mengeluarkan banyak dana, tidak membutuhkan teknik aseptik, tidak memerlukan peralatan khusus dan membutuhkan sampel uji yang sedikit. Metode BSLT jika ekstrak bersifat toksik bila  $LC_{50} < 1000$  mg/ml, sedangkan untuk senyawa murni aktif bila nilai  $LC_{50} < 200$  mg/ml (Meyer *et al.*, 1982)

### **2.7.3 Metode *Crown-Gall Potato Disc* (CGPD)**

Metode *Crown-Gall Potato Disc* (CGPD) merupakan suatu langkah pengujian sitoksisitas yang relative cepat pengerjaannya, tidak mahal, tidak memerlukan hewan percobaan serta menunjukkan korelasi yang sangat baik dengan uji aktivitas sitotoksik lainnya, *Crown-Gall* merupakan suatu penyakit neoplasma pada tumbuhan yang di sebabkan bakteri gram negatif *Agrobacterium Tumefaciens* yang selanjutnya menyebabkan pertumbuhan jaringan tumor secara otonom dan

tidak di pengaruhi oleh mekanisme kontrol normal tumbuhan, pengujian di lakukan dengan mengukur kemampuan suatu senyawa menghambat pertumbuhan tumor *Crown-Gall* pada umbi kentang yang di infeksi dengan bakteri *Agrobacterium Tumefaciens* (Mayer & Gastafson, 2008).

## **BAB III. METODE PENELITIAN**

### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini telah dilakukan pada Juli sampai Desember 2023, Laboratorium Kultur Sel Fakultas Farmasi, di Laboratorium Herbarium FMIPA Biologi Universitas Andalas (UNAND) dan Laboratorium LLDIKTI wilayah X Padang.

### **3.2 Alat dan Bahan**

#### **3.2.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini seperti alat gelas, blender, corong pisah, pipet tetes, pipet volume, spatel, klem dan statif, corong, *rotary evaporator*, timbangan analitik, cawan petri, vorteks, inkubator, *cryotube*, *conical tube*, tabung reaksi, mikropipet, oven, sentrifus, tabung eppendorf, labu erlenmeyer, botol duran, *blue tip*, *yellow tip*, hemasitometer, autoklaf, lemari es, inkubator, *laminar air flow* (LAF), mikroskop *inverted*, *plate 96-well*, spektrofotometer *microplate reader*.

#### **3.2.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini : daun asam kandis, etanol 70 %, etanol 96 %, n-heksan, aquadest, Mg (Magnesium), HCl (Asam klorida), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Asam sulfat), kloroform, mayer, dragendorf, FeCl<sub>3</sub> (besi (III) klorida) 5 %, norit, asam asetat anhidrat, sel kanker payudara T47D, dimetil sulfoksida (DMSO), medium RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*), tripsin EDTA (*Ethylene Diamine Tetraacetic Acid*), PBS (*Phosphate Buffer Saline*), doksorubisin, reagen MTT 3-(4,5-dimetilthiazol- 2-il)-2,5- difeniltetrazolium bromida.



### **3.3 Prosedur penelitian**

#### **3.3.1 Pengambilan Sampel**

Sampel dengan bentuk bagian daun asam kandis yang diambil di desa Tapan, Kecamatan Ranah Ampek hulu Tapan, Kabupaten Pesisir Selatan.

#### **3.3.2 Identifikasi Tumbuhan Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)**

Daun Asam Kandis diidentifikasi di Herbarium jurusan biologi FMIPA Universitas Andalas (UNAND).

#### **3.3.3 Ekstraksi dengan Metode Maserasi**

Sampel daun asam kandis dibutuhkan sebanyak 3 kg. Daun asam kandis kemudian disortir basah, lalu dicuci dengan air mengalir dan ditiriskan. Selanjutnya daun asam kandis dikering anginkan selama 6 hari sampai didapatkan simplisia kering, kemudian diblender menjadi serbuk sehingga didapatkan serbuk simplisia sebanyak 864 gram.

Serbuk simplisia daun asam kandis ditimbang sebanyak 600 gram kemudian dimaserasi dalam 3 botol masing-masing 200 gram serbuk simplisia setelah itu ditambahkan dengan pelarut etanol 70 % dengan perbandingan (1:10) ke dalam botol sampai seluruh simplisia terendam. Proses perendaman dilakukan 2x24 jam, pada 6 jam pertama, sesekali dilakukan pengadukan. Hasil maserasi pertama disaring dengan kain flanel, kemudian ampas diremaserasi menggunakan pelarut 96 % selama 2x24 jam. Lakukan proses ini secara berulang pada ampasnya hingga didapatkan maserat bewarna bening. Dan terakhir disatukan semua maserat dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada temperatur suhu 50°C untuk mendapatkan ekstrak kental etanol daun asam kandis.

### 3.3.4 Fraksinasi

Ekstrak kental etanol daun asam kandis ditimbang masing-masing 25 gram dilarutkan dalam beaker gelas sebanyak 100 ml aquadest, dimasukkan corong pisah 250 ml, kemudian ditambahkan 100 ml pelarut n-heksan. Setelah itu dikocok perlahan-lahan dan diamkan  $\pm$  15 menit sehingga terbentuk 2 lapisan yang terdiri dari lapisan n-heksan (bagian atas) dan lapisan air (bagian bawah). Lapisan tersebut dipisahkan. Proses fraksinasi ini dilakukan beberapa kali pengulangan sampai lapisan n-heksan terlihat jernih. Lapisan n-heksan dikumpulkan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan fraksi kental n-heksan daun asam kandis. Lapisan air disimpan didalam lemari dingin untuk penggunaan selanjutnya.

### 3.3.5 Evaluasi Fraksi n-heksan Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)

#### 1. Organoleptis

Pemeriksaan yang dilakukan dengan menggunakan panca indra terhadap bentuk, bau, rasa, dan warna.

#### 2. Penentuan Rendemen Fraksi

Rendemen fraksi n-heksan dihitung dengan persamaan:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat hasil fraksi}}{\text{berat ekstrak}} \times 100 \%$$

#### 3. Penetapan Susut Pengerinan

Krus porselen dan tutupnya dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan dibiarkan dingin, lalu ditimbang beratnya. Masukkan fraksi daun asam kandis ke dalam krus tersebut hingga beratnya 1-2 gram diluar berat krus dan penutup yang telah diketahui sebelumnya. Perlahan goyang krus agar fraksi merata dan masukkan kembali ke dalam oven, buka

tutupnya dan dibiarkan tutup berada di dalam oven. Krus yang telah berisi fraksi dipanaskan dalam oven dengan suhu 105°C selama 1 jam. Setelah itu krus dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator, lalu ditimbang. Lakukan pengulangan seperti cara di atas hingga diperoleh berat yang konstan.

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{(B-A)-(C-A)}{B-A} \times 100 \%$$

Keterangan :

A = Berat Krus Kosong (g)

B = Berat Krus + Sampel Sebelum Pengeringan (g)

C = Berat Krus + Sampel Setelah Pengeringan (g)

#### 4. Penetapan kadar abu

Fraksi kental n-heksan daun asam kandis ditimbang sebanyak 2-3 gram, masukkan ke dalam krus yang telah dipijarkan dan ditara, kemudian diratakan. Di pijar perlahan-lahan hingga arang habis, kemudian didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang. Setelah itu arang tersebut dimasukkan dalam furnes selama 4 jam pada suhu 600°C, sehingga terbentuk abu, dinginkan dalam desikator timbang berat abu yang diperoleh menggunakan rumus:

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{C-A}{B-A} \times 100 \%$$

Keterangan:

A = Berat Krus Kosong (g)

B = Berat Krus + Sampel Sebelum Pemijaran (g)

C = Berat Krus + Sampel Setelah Pemijaran (g)

### 3.3.6 Skrining Fitokimia Fraksi n-heksan Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)

Uji fitokimia dengan penambahan reagen untuk mengetahui kandungan golongan senyawa aktif dalam fraksi n-heksan daun asam kandis sebagai berikut (Julianto, 2019) :

#### 1. Uji Alkaloid

Fraksi n-heksan daun asam kandis dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 0,5 gram, kemudian dilarutkan dengan 5 ml klorofom, ditambahkan 0,5 ml asam sulfat 2N, kocok tabung perlahan maka akan terbentuk dua lapisan. Pipet lapisan asam (lapisan atas) dan pindahkan ke dalam 2 tabung reaksi kecil. Tabung I ditambahkan 2-3 tetes reagen dragendorff, tabung II ditambahkan 2-3 reagen mayer. Hasil positif menggunakan reagen dragendorff dengan terbentuknya endapan berwarna merah bata atau merah jingga. Apabila menggunakan reagen mayer dengan terbentuk endapan putih atau kekuning-kuningan.

#### 2. Uji Flavonoid

Fraksi n-heksan daun asam kandis dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 0,5 gram, kemudian dilarutkan dengan 5 ml aquadest, diambil lapisan bawah diteteskan pada plat tetes, ditambah 1-2 butir serbuk logam Mg dan 2-3 tetes HCl pekat. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau jingga pada larutan.

#### 6. Uji Fenol

Fraksi n-heksan daun asam kandis dimasukkan dalam plat tetes sebanyak 0,5 gram, dilarutkan dengan 5 ml aquadest, ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  5 %. Hasil positif adanya warna hijau kehitaman menunjukkan

adanya senyawa fenol.

#### 7. Uji Saponin

Fraksi n-heksan daun asam kandis dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 0,5 gram, lalu ditambahkan 5 ml aquadest, masukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dikocok kuat-kuat selama 5 menit. Jika terbentuknya busa menunjukkan adanya senyawa saponin.

#### 8. Uji Steroid/terpenoid

Fraksi n-heksan daun asam kandis dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 0,5 gram, dilarutkan dengan 5 ml klorofom, ambil lapisan klorofom (lapisan atas), kemudian saring melalui pipet yang di dalamnya sudah terdapat norit dan kapas hingga diperoleh filtrat yang jernih tidak berwarna. Teteskan filtrat ini pada 3 lubang plat tetes, biarkan sampai kering. Lubang I ditambahkan asam sulfat pekat, lubang II dan III ditambahkan setetes asam asetat anhidrat dan setetes asam sulfat pekat. Adanya senyawa steroid dengan terbentuk warna hijau atau biru dan senyawa terpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau ungu.

### **3.4 Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT**

#### **3.4.1 Penumbuhan Sel**

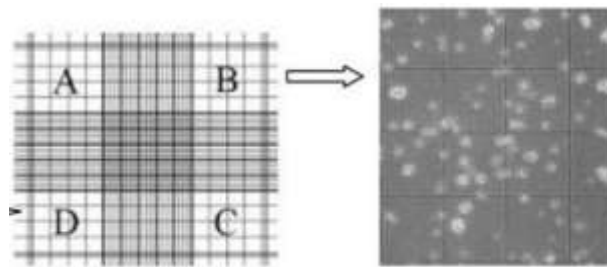
Sel kanker payudara yang digunakan yaitu sel T47D diambil dari koleksi Laboratorium Kultur sel Fakultas Farmasi Universitas Andalas (UNAND). Sel kanker dikeluarkan dari *freezer* (-80°C) dihangatkan dalam penangas air pada suhu 37°C selama 2-3 menit. Sel kanker dari *cryotube* dipindahkan dalam *colonial centrifuge tube* yang berisi 5 ml media RPMI (*roswell park memorial institute*). Kemudian disentrifus selama 5 menit. Hasil sentrifus didapatkan 2 lapisan yaitu

supernatan (bagian atas) dibuang dan pellet (bagian bawah) sel kanker diambil dimasukkan ke dalam *flask* 25 cm<sup>2</sup>, ditambahkan 5 ml media RPMI , setelah itu *flask* diinkubasi dalam inkubator suhu 37°/5% CO<sub>2</sub> selama 3-4 jam, kemudian dilihat dibawah mikroskop untuk melihat apakah sel melekat dilapisan *flask* apabila jumlah sel di dalam *flask* mencapai 70-85 % kofluen maka sel dilakukan permanenan.

### 3.4.2 Perhitungan Jumlah Sel

Media RPMI yang terdapat dalam *flask* dibuang kemudian ditambahkan 1 ml PBS, kemudian PBS dibuang dan ditambahkan tripsin-EDTA 1 ml, kemudian inkubasi 2-5 menit pada suhu 37°C/5% CO<sub>2</sub>, ditambahkan 2 ml media RPMI untuk menginaktifkan tripsin kemudian lihat dibawah mikroskop untuk mengetahui sel yang telah terpisah dari *flask*. Selanjutnya dipipet dan dimasukkan ke dalam *conical tube*, selanjutnya dilakukan perhitungan suspensi sel, dan letakkan pada masing-masing kotak sesuai perhitungan. Lakukan perhitungan di bawah mikroskop.

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



**Gambar 5. Haemocytometer (Sumber CCRC, 2009)**

Hitung jumlah suspensi sel yang dibutuhkan untuk mendapatkan antara 1.000 -10.000 sel/sumur dengan rumus :

$$\text{Jumlah suspensi} = \frac{\Sigma \text{ total sel yang diperlukan}}{\Sigma \text{ sel terhitung/ml}}$$

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

Masukkan sebanyak 180  $\mu\text{l}$  suspensi sel yang telah dibuat dan sebelumnya telah dihitung sesuai perhitungan ke dalam *plate 96-well* dan diinkubasi kembali selama 24 jam dalam inkubator suhu  $37^{\circ}\text{C}/5\% \text{CO}_2$ .

### **3.4.4 Pembuatan dan Peletakan Larutan Uji**

#### 1. Pembuatan Sampel Fraksi n-heksan daun asam kandis

##### a. Pembuatan larutan induk sampel

Timbang fraksi n-heksan daun asam kandis ditimbang sebanyak 23,5 mg dimasukkan ke dalam tabung ependroff, dilarutkan dengan DMSO 0,1 % sebanyak 235  $\mu\text{l}$ , sehingga didapatkan konsentrasi larutan stok sampel 100 mg/ml. Kemudian larutan stok dipipet sebanyak 5  $\mu\text{l}$  ditambah 500  $\mu\text{l}$  media RPMI didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 1000  $\mu\text{g/ml}$ .

##### b. Pembuatan seri konsentrasi

Dipipet 50  $\mu\text{l}$  dari larutan induk kemudian dipindahkan ke tabung ependroff lalu tambahkan 500  $\mu\text{l}$  media RPMI sehingga didapatkan larutan konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$ . Selanjutnya dilakukan pengenceran dari konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$  dengan media RPMI sehingga diperoleh konsentrasi 10  $\mu\text{g/ml}$ . Pengenceran selanjutnya dilakukan dengan cara yang sama sehingga didapatkan konsentrasi 1 dan 0,1  $\mu\text{g/ml}$ .

## 2. Pembuatan Larutan Doksorubisin

### a. Pembuatan larutan induk doksorubisin

Doksorubisin digunakan sebagai pembanding memakai konsentrasi 2 mg/ml dibuat larutan stok 2000  $\mu\text{g/ml}$ , kemudian dipipet 250  $\mu\text{l}$  dipindahkan ke tabung eppendorf lalu tambahkan 500  $\mu\text{l}$  media RPMI untuk mendapatkan larutan induk konsentrasi 1000  $\mu\text{g/ml}$ .

### b. Pembuatan seri konsentrasi doksorubisin

Dipipet 50  $\mu\text{l}$  dari larutan induk kemudian dipindahkan ke tabung eppendorf lalu tambahkan 500  $\mu\text{l}$  media RPMI sehingga didapatkan larutan konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$ . Selanjutnya dilakukan pengenceran dari konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$  dengan media RPMI sehingga diperoleh konsentrasi 10  $\mu\text{g/ml}$ . Pengenceran selanjutnya dilakukan dengan cara yang sama sehingga didapatkan konsentrasi 1 dan 0,1  $\mu\text{g/ml}$ .

## 3. Peletakan Larutan Uji

*Plat 96- well* berisi sel yang telah diinkubasi, dibagi menjadi 4 bagian untuk sampel uji dengan 3 kali pengulangan (12 lubang), 4 bagian untuk doksorubisin dengan 3 kali pengulangan (12 lubang), 4 bagian kontrol media 3 kali pengulangan (12 lubang), dan 3 lubang kontrol sel. Peletakan larutan uji dimulai dari konsentrasi paling tinggi yaitu 100, 10, 1, dan 0,1  $\mu\text{g/ml}$ . Dengan cara dipipet sebanyak 20  $\mu\text{l}$  larutan uji dan dimasukkan ke dalam sumur *plate 96- well*. Plate kembali diinkubasi selama 48 jam diinkubator dengan suhu 37°/5% CO<sub>2</sub>.

### 3.4.5 Penambahan Larutan MTT

Serbuk MTT ditimbang 50 mg kemudian dilarutkan 10 ml PBS, diperoleh



larutan stok konsentrasi 5 mg/ml. kemudian dibuat larutan induk MTT konsentrasi 0,5 mg/ml dalam media RPMI dengan cara dipipet larutan induk sebanyak 1 ml diencerkan dengan media RPMI hingga 10 ml.

Setelah itu dilanjutkan penambahan 100 µl larutan MTT ke dalam masing-masing sumur. Kemudian inkubasi pada suhu 37°C/5% CO<sub>2</sub> selama 3-4 jam. Setelah inkubasi akan terlihat endapan ungu kristal formazan. Endapan kristal formazan kemudian dilarutkan dengan 100 µl DMSO dan diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer *microplate reader* pada panjang gelombang 550-600 nm.

### 3.5 Analisis Data

Data absorbansi diperoleh masing-masing sumuran dikonversi ke dalam persentase viabilitas sel menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ Persentase viabilitas sel} = \frac{A-B}{C-B} \times 100 \%$$

Keterangan :

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

B = absorbansi rata-rata kontrol media (media kultur)

C = absorbansi rata-rata kontrol sel (sel + media kultur)

Hasil persentase viabilitas sel dimasukkan ke dalam aplikasi graphpad prims 9 sehingga didapatkan nilai IC<sub>50</sub>. Untuk melihat pengaruh variasi konsentrasi fraksi n-heksan daun asam kandis terhadap aktivitas pertumbuhan sel kanker payudara T47D diuji dengan Uji one-way ANOVA satu arah. untuk melihat perbedaan antar variasi konsentrasi dapat dilanjutkan dengan uji *Duncan's multiple-distance test*.

## **BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **4.1 Hasil**

#### **4.1.1 Hasil Identifikasi Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)**

Hasil pemeriksaan identifikasi daun tanaman asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) dilaboratorium herbarium biologi FMIPA Universitas Andalas (UNAND) menunjukkan bahwa sampel yang diidentifikasi benar tumbuhan daun asam kandis dengan spesies *Garcinia cowa* Roxb dan famili Clusiaceae. (Lampiran 1; Gambar 7).

#### **4.1.2 Hasil Ekstraksi dan Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)**

- a. Simplisia segar daun asam kandis sebanyak 3 kg diperoleh serbuk simplisia sebanyak 864 gram, diambil 600 gram serbuk simplisia untuk ekstraksi diperoleh ekstrak kental sebanyak 170,52 gram dengan rendemen ekstrak kental daun asam kandis 28,42 % (Lampiran 3; Tabel 1).
- b. Fraksinasi dengan pelarut n-heksan memakai 100 gram ekstrak kental daun asam kandis diperoleh fraksi kental sebanyak 7,74 gram dengan rendemen fraksi kental n-heksan daun asam kandis 7,74 % (Lampiran 3; Tabel 2).

#### **4.1.3 Hasil Pemeriksaan Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)**

- a. Pemeriksaan organoleptis fraksi n-heksan daun asam kandis didapat hasil fraksi bentuk kental, berwarna coklat kehitaman, berbau khas, dan rasa Pahit (Lampiran 3; Tabel 3).

- b. Hasil persentase susut pengeringan fraksi n-heksan daun asam kandis adalah 8,13 % (Lampiran 3; Tabel 4).
- c. Hasil persentase kadar abu fraksi n-heksan daun asam kandis adalah 3,38 % (Lampiran 3; Tabel 5).
- d. Pemeriksaan uji fitokimia fraksi n-heksan daun asam kandis dinyatakan mengandung senyawa yaitu ada senyawa alkaloid, fenol, dan steroid (Lampiran 3; Tabel 6).

#### **4.1.4 Hasil Uji Aktivitas Antikanker Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D Dengan Metode MTT**

- a. Hasil nilai persentase viabilitas sel kanker payudara T47D dengan fraksi n-heksan daun asam kandis yaitu pada konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$  adalah 3,03 %; konsentrasi 10  $\mu\text{g/ml}$  adalah 72,59 %; konsentrasi 1  $\mu\text{g/ml}$  adalah 102,17 %; dan konsentrasi 0,1  $\mu\text{g/ml}$  adalah 98,56 %. (Lampiran 4; Tabel 7).
- b. Hasil nilai persentase viabilitas sel kanker payudara T47D dengan doksorubisin yaitu pada konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$  adalah 23,42 %; konsentrasi 10  $\mu\text{g/ml}$  adalah 25,78 %; konsentrasi 1  $\mu\text{g/ml}$  25,54%; dan konsentrasi 0,1  $\mu\text{g/ml}$  adalah 23,42% (Lampiran 4; Tabel 8)
- c. Nilai  $\text{IC}_{50}$  dari fraksi n-heksan daun asam kandis terhadap sel T47D adalah 16,36  $\mu\text{g/ml}$  dengan menggunakan metode MTT dengan kategori sangat aktif (Lampiran 5).
- d. Nilai  $\text{IC}_{50}$  dari Doksorubisin terhadap sel T47D adalah 0,5980  $\mu\text{g/ml}$  dengan menggunakan metode MTT dengan kategori sangat aktif (Lampiran 5).

- e. Hasil perhitungan uji normalitas dan homogenitas statistik pada sampel fraksi n-heksan daun asam kandis, doksorubisin dengan variasi konsentrasi didapatkan hasil yang signifikan dengan nilai  $P > 0,05$  terhadap semua percobaan konsentrasi (Lampiran 6).
- f. Hasil perhitungan uji statistik ANOVA satu arah pada sampel fraksi n-heksan daun asam kandis, doksorubisin dengan variasi konsentrasi didapatkan hasil yang signifikan dengan nilai  $P < 0,05$  terhadap semua percobaan konsentrasi (Lampiran 6).
- g. Hasil uji Duncan pada uji statistik terhadap fraksi n-heksan daun asam kandis, doksorubisin dengan variasi konsentrasi didapatkan hasil bahwa pada setiap variasi konsentrasi terdapat perbedaan yang signifikan (Lampiran 6).

## 4.2 Pembahasan

Penelitian ini menggunakan daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) yang diambil dari desa Tapan, Kecamatan Ranah Ampek Hulu Tapan, Kabupaten Pesisir Selatan, Provinsi Sumatera Barat. Dilakukan identifikasi tumbuhan di Herbarium jurusan biologi FMIPA Universitas Andalas, bertujuan untuk memastikan dan mengetahui identitas spesies dan famili tumbuhan. Dengan hasil sertifikasi analisis dengan nomor Identifikasi 427/K-ID/ANDA/VII/2023, menunjukkan spesies tumbuhan daun asam kandis adalah *Garcinia cowa* Roxb dan famili Clusiaceae (Lampiran 1; Gambar 7).

Daun asam kandis yang diambil sebanyak 3 kg dengan ciri-ciri daun yang tidak terlalu tua atau tidak terlalu muda, daun berwarna hijau dan segar dengan ukuran daun sedang. Daun yang telah diperoleh kemudian disortir untuk

memisahkan dari kotoran yang akan mengganggu dan bagian yang tidak diinginkan, kemudian dicuci bersih. Siplisia yang digunakan dalam bentuk kering proses pengeringannya dikering-anginkan tanpa terkena sinar matahari secara langsung dengan tujuan agar tidak terjadi kerusakan metabolit-metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia akibat cahaya matahari. Secara umum tujuan pengeringan ini untuk mengurangi kandungan air dan mencegah kerja enzimatis yang menyebabkan terjadinya penguraian atau kerusakan senyawa dalam sampel tersebut (Verawati dkk, 2017). Daun yang sudah kering dihaluskan diperoleh sebanyak 864 gram serbuk simplisia kering. Tujuan penghalusan untuk memperkecil ukuran sampel sehingga permukaan sampel menjadi luas untuk mudah pelarut berpenetrasi ke dalam sampel dan memperbanyak penarikan senyawa-senyawa yang dikandung di dalam sampel.

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi dingin yaitu maserasi. Proses maserasi diambil serbuk simplisia kering sebanyak 600 gram. maserasi merupakan penyarian sederhana dengan cara merendam sampel dalam pelarut tertentu. Tujuan perendaman sampel dalam pelarut tersebut, agar sampel menjadi lunak dan larut sel kemudian masuk ke dalam rongga (sitoplasma) sel yang mengandung senyawa metabolit sekunder akan terlarut dikarenakan adanya perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa-senyawa metabolit sekunder di dalam dan di luar sel. Waktu perendaman 2x24 jam, sesekali dilakukan pengocokan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar serbuk sampel sehingga tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam dan di luar sel (Baraja, 2008).

Pelarut yang digunakan etanol. Etanol adalah pelarut yang universal karena mampu mengekstraksi senyawa non polar dan polar. Etanol juga bersifat tidak toksik sehingga aman digunakan (Verawati dkk, 2017). Etanol yang digunakan adalah etanol 70 % dan etanol 96 %. Sampel yang digunakan kering untuk perendaman pertama dilakukan dengan etanol 70 % karena dapat membantu membuka pori-pori pada sampel, untuk perendaman selanjutnya menggunakan etanol 96 % karena untuk mengurangi kadar air saat penguapan untuk mendapatkan ekstrak kental.

Filtrat yang didapatkan dari hasil maserasi diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator*. Prinsip utama alat ini terletak pada penurunan tekanan sehingga pelarut akan menguap pada suhu dibawah titik didihnya. Prinsip ini dengan keuntungan terhadap hasil ekstrak yang dihasilkan karena pelarut menguap dibawah suhu titik didihnya maka ekstrak tidak akan mengalami kerusakan akibat panas dari titik didih pelarut. Dari penelitian di didapatkan ekstrak kental 170,52 gram. Penetapan rendemen ekstrak daun asam kandis yaitu 28,42 % (Lampiran 3; Tabel 1). Hal ini memenuhi standar persyaratan yaitu rendemen ekstrak tidak kurang dari 10 % (Depkes RI, 2000).

Fraksinasi memakai pelarut n-heksan bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa non polar yang terdapat dalam ekstrak daun asam kandis. Pelarut ini termasuk pelarut non polar yang bersifat stabil dan mudah menguap, selektif melarutkan senyawa seperti lemak, steroid, terpenoid dan karetonoid dan minyak atsiri (Munawaroh, dkk., 2010). Proses fraksinasi menggunakan 100 gram ekstrak kental daun asam kandis yang dilakukan 6 kali pengulangan sampai terlihat jernih. Dari penelitian di didapatkan fraksi kental 7,74 gram. Penetapan

rendemen terhadap fraksi n-heksan daun asam kandis yaitu 7,74% (Lampiran 3; Tabel 2). Hasil rendemen tersebut ada hubungannya dengan senyawa aktif dari suatu sampel sehingga apabila jumlah rendemen semakin banyak maka jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam sampel juga semakin banyak. (harborne,2006)

Evaluasi fraksi n-heksan daun asam kandis dengan pengujian organoleptis fraksi n-heksan daun asam kandis bertujuan untuk mengidentifikasi secara langsung bagaimana karakteristik spesifik dari fraksi n-heksan daun asam kandis dengan menggunakan panca indra. Hasil bentuk berupa cairan kental yang berwarna hitam kecoklatan dengan rasa pahit serta, bau yang khas (Lampiran 3; Tabel 3).

Pengujian susut pengeringan dari fraksi n-heksan daun asam kandis bertujuan untuk memberikan batasan yang maksimal (rentang) besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan fraksi n-heksan daun asam kandis tersebut. Penetapan susut pengeringan fraksi n-heksan diperoleh sebesar 8,13 % (Lampiran 3; Tabel 4). Hal ini memenuhi standar persyaratan yaitu tidak boleh lebih dari 10 % (Depkes RI, 2000).

Pengujian kadar abu fraksi n-heksan daun asam kandis kadar abu suatu bahan pangan menunjukkan besarnya jumlah mineral yang terkandung dalam bahan pangan tersebut. Kadar abu menggambarkan banyaknya jumlah mineral dalam sampel. Hasil pengujian kadar abu fraksi n-heksan daun asam kandis didapatkan kadar abu sebesar 3,38 % (Lampiran 3; Tabel 5). Hal ini memenuhi standar persyaratan yaitu tidak lebih dari 5% (Depkes RI, 2000).

Uji skrining fitokimia pada fraksi n-heksan daun asam kandis dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam sampel. Hasil positif yang terdapat dalam fraksi n-heksan daun asam kandis adalah senyawa alkaloid, fenol dan steroid. (Lampiran 3; Tabel 6). Pada penelitian jhofi (2021) hasil uji fitokimia yang terkandung dalam ekstrak n-heksan daun asam kandis adalah fenol dan steroid. Terdapat perbedaan pada senyawa alkaloid pada pelarut non polar karena alkaloid senyawa semi polar yang dapat tertarik pada senyawa polar maupun non polar jadi alkaloid dapat sedikit larut dalam pelarut non polar.

Uji alkaloid adalah terbentuknya endapan berwarna kekuningan dengan reagen Dragendorff dan endapan putih dengan reagen Mayer. Hasil positif menunjukkan bahwa fraksi n-heksan daun asam kandis tersebut mengandung senyawa alkaloid. Dalam bidang kesehatan, alkaloid berfungsi sebagai analgesik, antimalaria, stimulan uterus, dan anestetika lokal (Sirait, 2007). Golongan senyawa alkaloid yang ditarik oleh fraksi n-heksan memiliki aktivitas antitumor dan mampu menginduksi apoptosis melalui ikatannya dengan DNA, topoisomerase I, dan penstabilan kompleks topoisomerase- DNA terpotong. Penstabilan kompleks pemotongan ini akan menyebabkan kerusakan pilinan ganda DNA yang permanen sehingga mengarah terjadinya apoptosis (Sari, 2018).

Uji fenol adalah terbentuknya warna hijau kehitaman. Hasil fraksi n-heksan daun asam kandis yang menunjukkan hasil positif. Senyawa fenol sering digunakan sebagai antibakteri. Mekanisme fenol sebagai anti bakteri adalah karena fenol mengubah permeabilitas membran sitoplasma yang menyebabkan kebocoran nutrisi dari dalam sel sehingga sel bakteri akan mati atau terhambat pertumbuhannya dan mengendapkan protein. Senyawa fenol sebagai antioksidan.



Antioksidan merupakan molekul yang berada dalam sel. Molekul ini bekerja dengan mengambil elektron, sehingga radikal bebas tidak mengakibatkan adanya kerusakan sel. Dengan adanya kandungan antioksidan dalam tubuh, radikal bebas akan aman terkendali (Pratt and Hudson, 1990).

Uji steroid ditentukan berupa perubahan warna hijau atau biru yaitu steroid. Hasil fraksi n-heksan daun asam kandis positif, senyawa steroid terbukti memiliki aktivitas farmakologi seperti antikanker, antiinflamasi, antimikroba, dan analgesik. Zakaria *et al.*,(2011) melaporkan bahwa steroid dapat digunakan sebagai agen antikanker karena mempunyai enzim penghambat diantaranya aromatase dan sulfatase inhibitor untuk kanker payudara. Mekanisme kerja senyawa ini adalah merusak permeabilitas membran mitokondria pada sel atau menyebabkan sel mengalami nekrosis dan kematian.

Pengujian antikanker fraksi n-heksan daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap sel kanker payudara T47D menggunakan metode MTT dengan reagen garam 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Dipenyltetrazolium Bromide. Prinsip metode MTT adalah pengukuran yang dilakukan secara kolorimetri menunjukkan viabilitas sel yang mekanismenya adalah pembentukan garam formazan yang tidak larut dan berwarna ungu dari reaksi reduksi tetrazolium yang sifatnya larut dalam air dengan menghasilkan larutan berwarna kuning. Reagen MTT hanya bereaksi dengan sel yang masih hidup kemudian dipecah melalui reaksi reduksi oleh sistem reduktase suksinat tetrazolium membentuk formazan. Metode ini telah banyak digunakan untuk pengujian viabilitas seldalam proliferasi sel. Metode ini sederhana, mudah dilakukan dan memberikan hasil secara kualitatif dan kuantitatif (Doyle and Griffiths, 2000).

Sel kanker payudara yang digunakan pada uji aktivitas antikanker ini adalah sel T47D *continous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun yang terkenal *ductal carcinoma*. Sel ini bentuk morfologi sama seperti sel epitel. Sel T47D ini sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya dan mempunyai kemampuan replikasi yang tidak terbatas (Muti'ah dkk, 2017).

Media yang digunakan dalam kultur sel ialah media RPMI (*roswell park memorial institute*). Medium kultur mempunyai peranan yang sangat penting dimana medium menyediakan nutrisi, faktor pertumbuhan dan hormon untuk sel serta mengatur pH dan tekanan osmotik kultur. Suhu yang digunakan untuk inkubasi sel ialah 37°C dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5%. Suhu yang digunakan untuk inkubasi bergantung pada suhu sel inang tersebut diisolasi. Sel T47D diisolasi dari payudara wanita suhu optimal 36-37°C yang merupakan suhu optimal untuk sel yang bersumber dari manusia atau mamalia. Sel kanker dengan pH pertumbuhan 7,4. Karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) dapat mempertahankan kondisi pH medium sel, karena pH medium tergantung pada keseimbangan CO<sub>2</sub> (karbon dioksida) dan HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (bikarbonat) selama proses inkubasi, dan kadar CO<sub>2</sub> dapat digunakan untuk inkubasi sel ialah 4-5 %. Sebelum digunakan dalam pengujian sel terlebih dahulu dicuci dengan menggunakan PBS (*Phosphate Buffered Saline*). PBS memiliki sifat yang tidak toksik dan mencegah sel tidak pecah/mengkerut karena osmosis sehingga cocok digunakan sebagai pencuci sel dan penggunaan PBS juga untuk melarutkan MTT karena PBS yang memiliki kemampuan mempertahankan pH dan tidak mengakibatkan kematian sel (Martin *et al.*, 2006).

Untuk memindahkan sel *flask* ke *plate 96- well* digunakan tripsin EDTA. Tripsin EDTA digunakan untuk melepaskan sel dari wadah flask dengan mekanisme enzimatik. Tripsin adalah enzim proteolitik yang dapat memotong peptida pada sisi C-terminal dari lysine atau arginine. Penggunaan EDTA dapat meningkatkan kerja tripsin dengan menghilangkan magnesium dan kalsium dari permukaan sel sehingga memungkinkan tripsin untuk menghidrolisis ikatan peptida tertentu, selain itu penggunaan bersama tripsin-EDTA juga menghilangkan adhesi sel antar sel (Sumsuzzam *et al.*, 2018).

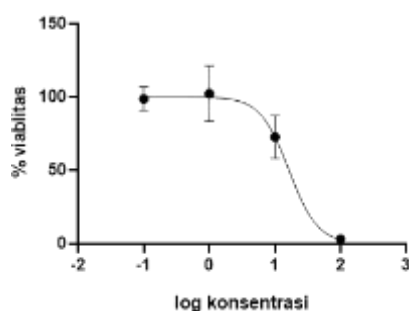
Fraksi n-heksan daun asam kandis yang diujikan ke sel kanker payudara T47D ditimbang kemudian dilarutkan dengan DMSO konsentrasi 0,1 %. DMSO merupakan pelarut polar protik yang mampu melarutkan senyawa polar dan non polar sehingga dapat digunakan untuk melarutkan sampel. Meskipun mempunyai kemampuan melarutkan yang baik dalam pengujian dengan menggunakan sel konsentrasi DMSO tidak boleh melebihi 10 % karena dapat menyebabkan kematian sel.

Pengujian dengan menggunakan MTT secara kualitatif dapat dilihat hasil dengan kasat mata setelah dilakukannya pemberian larutan MTT terjadinya perubahan dari warna kuning menjadi ungu menandakan bahwa sel masih hidup. Dalam penelitian ini pengujian aktivitas antikanker payudara fraksi n-heksan daun asam kandis, pada konsentrasi 100 µg/ml secara organoleptis tidak terjadi perubahan warna atau tetap (berwarna kuning) secara mikroskopis berbentuk bulat, berwarna gelap, tersebar dan mengapung hal ini menunjukkan bahwa sel kanker mati, hal ini menunjukkan tidak mampu secara metabolik menghasilkan enzim suksinat reduktase yang mereduksi MTT menjadi kristal formazan.

Namun pada konsentrasi 10, 1 dan 0,1  $\mu\text{g/ml}$  terjadi perubahan warna yang awalnya bewarna kuning menjadi ungu dan warna ungu yang dihasilkan semakin pekat dengan semakin kecilnya konsentrasi fraksi hal ini menunjukkan adanya sel kanker yang hidup. Perubahan warna menandakan terbentuknya kristal formazan sebagai produk hasil dari proses reduksi MTT oleh enzim suksinat reduktase yang dihasilkan oleh mitokondria sel kanker (Lampiran 6; Gambar 17).

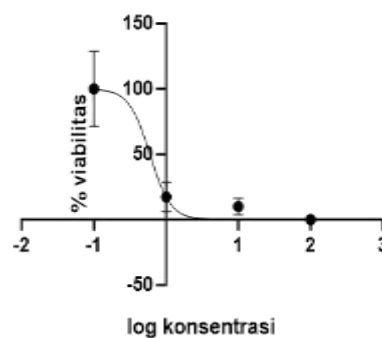
Pada pengujian ini diharapkan nilai persentase viabilitas sel dan  $\text{IC}_{50}$  yang kecil karena nilai  $\text{IC}_{50}$  menunjukkan konsentrasi yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan sel sebesar 50 % dari populasi sel, sehingga semakin kecil nilai  $\text{IC}_{50}$  sampel tersebut semakin aktif dalam penghambat pertumbuhan sel kanker. Semakin kecilnya nilai persen viabilitas sel maka semakin sedikit sel yang hidup dan semakin kecil nilai  $\text{IC}_{50}$  maka semakin tinggi aktivitas antikanker pada fraksi. Hasil pengujian fraksi n-heksan dan doksorubisin dengan metode MTT berupa persentase viabilitas sel dan  $\text{IC}_{50}$ . (Lampiran 4; Tabel 7 dan 8).

#### Analisa $\text{IC}_{50}$ Fraksi n-heksan DAK



**$\text{IC}_{50}$  16,36  $\mu\text{g/ml}$**

#### Analisa $\text{IC}_{50}$ Doksorubisin



**$\text{IC}_{50}$  0,5980  $\mu\text{g/ml}$**

**Gambar 6. Grafik dari analisa statistik Graphpad Prism terhadap Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis dan Doksorubisin**

Menurut kategori, Fraksi n-heksan termasuk sangat aktif dalam menghambat pertumbuhan sel dengan  $IC_{50}$  16,36  $\mu\text{g/ml}$ . Sebagai kontrol positif dalam pengujian ini digunakan doksorubisin. Obat ini telah terbukti khasiat sebagai antikanker kanker payudara. Doksorubisin merupakan golongan antrasiklin, memperlambat atau menghentikan pertumbuhan sel kanker dengan memblokir enzim yang disebut topoisomerase II. Doksorubisin memiliki  $IC_{50}$  yang lebih kecil dibandingkan fraksi n-heksan daun asam kandis yaitu 0,5980  $\mu\text{g/ml}$  dengan kategori sangat aktif dalam penghambatan pertumbuhan sel.

Pada penelitian yang telah dilakukan Jhofi (2021) menggunakan ekstrak daun asam kandis n-heksan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T74D dengan nilai  $IC_{50}$  19,43  $\mu\text{g/mL}$ . Hal ini menunjukkan bahwa hasil peneliti sama kategori sangat aktif dalam penghambatan pertumbuhan sel kanker tetapi memiliki perbedaan tempat pengambilan sampel berbeda dan bentuk sediaan sampel yang digunakan berbeda.

Pada hasil uji statistik varian (ANOVA) satu arah masing-masing konsentrasi dan viabilitas sampel fraksi n-heksan daun asam kandis dan doksorubisin terdapat perbedaan yang signifikan dengan dinyatakan bahwa  $P < 0,05$ . Pada pengujian lanjutan Duncan didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dengan dinyatakan bahwa  $P < 0,05$  terhadap variasi konsentrasi, artinya nilai konsentrasi 100  $\mu\text{g/ml}$  fraksi n-heksan daun asam kandis berbeda nyata dengan konsentrasi 10  $\mu\text{g/ml}$  dan sangat berbeda nyata dengan nilai konsentrasi 1 dan 0,1  $\mu\text{g/ml}$  dan doksorubisin nilai konsentrasi 100, 10, 1  $\mu\text{g/ml}$  berbeda nyata dengan nilai konsentrasi 0,1  $\mu\text{g/ml}$  (Lampiran 6).

## **BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

1. Fraksi n-heksan daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) memiliki potensi menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (T47D) dengan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 16,36 µg/ml, kategori sangat aktif.
2. Variasi konsentrasi fraksi n-heksan daun asam kandis memiliki pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan sel kanker payudara T47D dengan  $P < 0,05$ .

### **5.2 Saran**

Disarankan untuk penelitian selanjutnya untuk melakukan uji aktivitas antikanker pada tumbuhan asam kandis bagian batang, akar, dan buah atau menggunakan konsentrasi dan sel yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, Azhar. (2010). *Tanaman Obat Indonesia*, Buku 2. Salemba Medika, Jakarta. Halaman 29-30.
- Akmal, Mutaroh, dkk, 2010. *Ensiklopedi Kesehatan untuk umum*, Jogjakarta: Ar-Ruzz Media.
- Ariani, S., (2015). *Stop Kanker*. Yogyakarta. Istana Media
- Basset, J., R.C Denney., G.H Jeffry and J. Merdham, Editor 2004, Buku Ajar Vogel: *Kimia Analisis Kualitatif Anorganik*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Baraja, M. 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus elastic nois ex lume* Terhadap Artemiasalina Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Skripsi*.Surakarta: Fakultas Frmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Burdall, E.S., Handby, M.A., Landsdown, R.J.M., dan Speirs, V., 2003, Brest Cancer Cell Line, *Breast Cancer Res.*, 5, 89-95.
- Budi, Hierony, S. (2022). *Seri Mengenal Tanaman Obat*. Jakarta: PT. Pohon Cahaya Semesta.
- Brunner, & Suddarth. (2011). *Keperawatan Medikal Bedah* (12th ed.). Jakarta: Kedokteran EGC.
- CCRC. 2009. *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC)*.Yogyakarta :Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta
- Childs, A.C., Phaneuf, S.L., Dirks, A.J., Phillips, T., *et al.*, 2002, *Doxsorubicin Treatment in Vivo Causes Cytochrome c Release and Cardiomyocyte poptosis, As Well As Increased Mitochondrial Efficiency, Superoxide Dismutase Activity, and Bcl-2:Bax Ratio*, *Cancer Research*, 62:4592-4598.
- Comsa S, Anca MC, Marius R, The Story of MCF-7 Breast Cancer Cell Line: 40 Years of Experience in Research, *Journal Anticancer Research*, 2015, 35(6);3147-3154.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2013). *Profil Kesehatan Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan.
- Dianita, R. (2003). Isolasi senyawa aktif antimikroba dari kulit batang tanaman *garcinia cowa*, Roxb. (*Skripsi*). Padang: Universitas Andalas.

- Dirjen POM (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: DepkesRI.
- Doyle, A., dan Griffiths, J. B. 2000. *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. John Willey and Sons Ltd: New York.
- Emilan, T. 2011. Konsep Herbal Indonesia: Pemastian Mutu Produk Herbal. *Thesis*. Program Studi Magister Ilmu Herbal. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Goodwin, C.J., Holt, S.J., Downes, S, dan Marshall, N.J., 1995. microculture Tetrazolium: Perbandingan Antara Dua Garam Tetrazolium Baru, XTT dan MTS, *Journal Immunol Methods*, Vol. 197, No.1, Hal: 95 103.
- Harborne, J.B. ( 2006). Metode Fitokimia: *Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi ke-2. Penerbit ITB, Bandung.
- Hero, S. K. (2021). *Faktor Resiko Kanker Payudara*. JM, 03(01), 3–8.
- Jabit, Md. Lip, Wahyuni, F.S, Rozida, K., Ahmad, I.D., Khozirah, S., Lajis Nordin H, & Johnson, S. 2009. *Cytotoxic and nitric oxide inhibitory activities of methanol extracts of Garcinia species*. *Pharmaceutical Biology*. 47(11): 1019–1026.
- Jhofi, medlyn (2021). Aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker T47D dan aktivitas antioksidan dari ekstrakk daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb).*Skripsi*:Universitas Andalas.
- Julianto, T. S. *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*, Universitas Islam Indonesia Yogyakarta. 2019
- Kemenkes RI. (2022). Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran: *Kanker*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Komguem, J., Ngninzeko, F.N., Tangmouo, J.G., Lontsi, D., Ajaz, A., Choudhary, M.I., Ranjit, Lannang, A.M., R., Devkota, K.P., & Sodengam, 38 B.L. 2005. *Bangaxanthone A and B, two xanthones from the Stem bark of Garcinia poliantha Oliv.*, *Phytochemistry*, 66,2351-2355.
- Lailati. M., (2017). *Karakteristik morfologi dan anatomi daun genus Garcinia dataran tinggi*. Dalam Abinawanto, M. Siregar & R. Partasmita (Penyunt.), Masyarakat Biodiversitas Indonesia Prosiding Seminar Nasional. Masyarakat.
- Likhitwitayawuid K, Phadungcharoen T, Mahidol C, Ruchirawat S. *7-O-methylgarcinone E from Garcinia cowa*. *Phytochemistry*. 1997;45(6):1299– 301.





- Lyndon, Saputra. 2014. *Buku Ajar Ilustrasi Patofisiologi*. Makassar: Binarupa Aksara.
- Lucida, H., Fitri, E., Pitricia, D., & Hosiana, V. (2017). Formulasi Masker Peel-off dari Ekstrak Etanol Kulit Buah Asam Kandis (*Garcinia cowa*, Roxb) dan Uji Aktivitas Antioksidannya. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 19(01).
- Mardiana Lina. 2007. *Kanker Pada Wanita*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Martin NC, Pirie AA, Ford L V., Callaghan CL, McTurk K, Lucy D, et al. *The use of phosphate buffered saline for the recovery of cells and spermatozoa from swabs*. *Sci Justice - J Forensic Sci Soc*. 2006;46(3):179-84.
- Mayer, A., Gustafson, K. 2008. "Marine Pharmacology in 2005–2006: Antitumour and Cytotoxic Compounds". *European Journal Of Cancer* 44 (2008) 2357–2387
- Meiyanto, M. K. 1999. Targeted Disruption of the Microsomal Epoxide Hydrolase Gene. *The Journal of Biological Chemistry*, 274: 23963-23968.
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DJ, McLaughlin JL. 1982. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta medica*. (45): 31-34
- Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G., and Gianni, L. 2004. Anthracyclins: Molecular Advances and Pharmacologic Developments in Antitumor Activity and Cardiotoxicity. *Pharmacol Rev.*, 56:185-228.
- Mosman, T. (1983). Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *Journal of Immunological Methods*, 65 (1-2), 55-63.
- Munawaroh, S. dan P. A. Handayani. (2010). Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix D.C.*) Dengan Pelarut Etanol dan N-Hexana. *Skripsi: UNNES*. Semarang.
- Muti'ah, R. 2017. Studi Efikasi dan Keamanan Ekstrak Akar dan Daun *Calotropis gigantea* terhadap Sel Kanker Kolon dan Sel Kanker Payudara Secara In Vitro. *Journal of Islamic Medicine*, 67-75
- Padila. (2013). *Asuhan keperawatan penyakit dalam (edisi pertama ed.)* Yogyakarta: nuha medika.
- Padmawinata, K., 1997, *Isolasi Ekstraksi Cair-Padat, Fraksinasi Cair-Cair, Prosiding: Temu ilmiah Nasional Bidang Farmasi, Edisi ke-V, FMIPA, ITB, Bandung.*

- Panthong, K, Pongcharoen, W., Phongpaichit, W., and Taylor, W.C. (2006). *Tetraoxygenated Xanthenes from the fruit of Garcinia cowa*. *Phytochemistry*, 67, 999 -1043.
- Pratt DE dan Hudson B.J.F. 1990. *Natural Antioxidant Not Exploited Commercially. Di dalam Food antioxidant*. Hudson, B.J.F (ed) Elsevier Applied science, London
- Price. SA dan Lorraine MW. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Edisi 6 vol 1. Jakarta: EGC.
- Ramli M. *Deteksi Dini Kanker*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2001
- Raksat A, Phukhatmuen P, Yang J, Maneerat W, Charoensup R, Andersen RJ, et al. *Phloroglucinol Benzophenones and Xanthenes from the Leaves of Garcinia cowa and Their Nitric Oxide Production and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activities*. *J Nat Prod*. 2020;83(1):164–8. 18.
- Ritthiwigrom, Thunwadee; Laphookhieo, Surat; and Pyne SG. Chemical constituents and *biological activities of Garcinia cowa Roxb*. *Chem Biodivers*. 2013;10(12):2133–60.
- Sari LM (2018) Apoptosis: *Mekanisme molekuler kematian sel*. *Cakradonya Dent J* 10: 65–70. doi: 10.24815/cdj.v10i2.11701
- Schafer J.M., Lee E.S., Regan R.M.O., Yao K., Jordan V.C., Lurie R.H. and Cancer C., 2000, Rapid Development of Tamoxifen-stimulated Mutant p53 Breast Tumors (T47D) in Athymic Mice, *Clinical Cancer Research*, 6 (November), 4373–4380.
- Sirait, M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: ITB.
- Sukardja, I.D.G., 2010, *Onkologi Klinik*, Edisi 2, 257, 261, Airlangga University Press, Surabaya.
- Smeltzer, s. C. (2016). *Keperawatan medikal-bedah brunner & suddarth edisi 12*. jakarta: penerbit buku kedokteran: EGC
- Sumsuzzman DM. What is exact role of Trypsin and EDTA in dislodging the plated cells ?. [Internet]. 2018. Available from: [https://www.researchgate.net/post/What\\_is\\_exact\\_role\\_of\\_Trypsin\\_and\\_EDTA\\_indislodging\\_the\\_plated\\_cells/569635f0a5a2e246ad2550ee/citation/download](https://www.researchgate.net/post/What_is_exact_role_of_Trypsin_and_EDTA_indislodging_the_plated_cells/569635f0a5a2e246ad2550ee/citation/download).
- Tjitrosoepomo G. *Taksonomi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 1993.

- Wahyuni, F.S., Shaari, K., Stanslas, J., Lajis, N.H., & Dachriyanus. (2015). *Cytotoxic xanthenes from the stem bark of Garcinia cowa Roxb. J. of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7, 1, 227-230.
- Verawati V, Nofiandi D, Petmawati P. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Fenolat Total Dan Aktivitas Antioksidan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) (Wight Walp). *Jurnal Katalisator*. 2017;2(2):53-60. 4. Arifin B, Hasnirwa.
- Zakaria ZA, Mohamed AM, Jamil NS, Rofiee MS, Somchit MN, Zuraini A, Arifah AK, Sulaiman MR. 2011. *In vitro cytotoxic and antioxidant properties of the aqueous, chloroform and methanol extracts of Dicranopteris linearis leaves*. *African Journal of Biotechnology*. 10(2): 273-282

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Surat Identifikasi Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)

	<b>HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)</b> Departemen Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang Sumbar Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 e-mail: herbariumanda@yahoo.com						
Nomor	: 427/K-ID/ANDA/VII/2023						
Lampiran	: -						
Perihal	: Hasil Identifikasi						
Kepada Yth, Salwa Andini Putri di Tempat							
Dengan hormat, Sehubungan dengan surat permohonan determinasi sampel asam kandis dari Universitas Perintis Indonesia di Padang No. 399/ADK/FAK.FARMASI-UPERTIS/VI/2019 tanggal 4 Juli 2023 di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa, dari:							
Nama	: Salwa Andini Putri						
No. BP	: 2020112150						
Instansi	: Universitas Perintis Indonesia						
Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.							
<table border="1"><thead><tr><th>No</th><th>Family</th><th>Spesies</th></tr></thead><tbody><tr><td>1.</td><td>Clusiaceae</td><td><i>Garcinia cowa</i> Roxb. ex Choisy</td></tr></tbody></table>	No	Family	Spesies	1.	Clusiaceae	<i>Garcinia cowa</i> Roxb. ex Choisy	
No	Family	Spesies					
1.	Clusiaceae	<i>Garcinia cowa</i> Roxb. ex Choisy					
Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.							
	Padang, 6 Juli 2023 Kepala,  Dr. Nurainas NIP. 196908141995122001						

**Gambar 7. Identifikasi Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) dari Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas**

**Lampiran 1. (Lanjutan)**



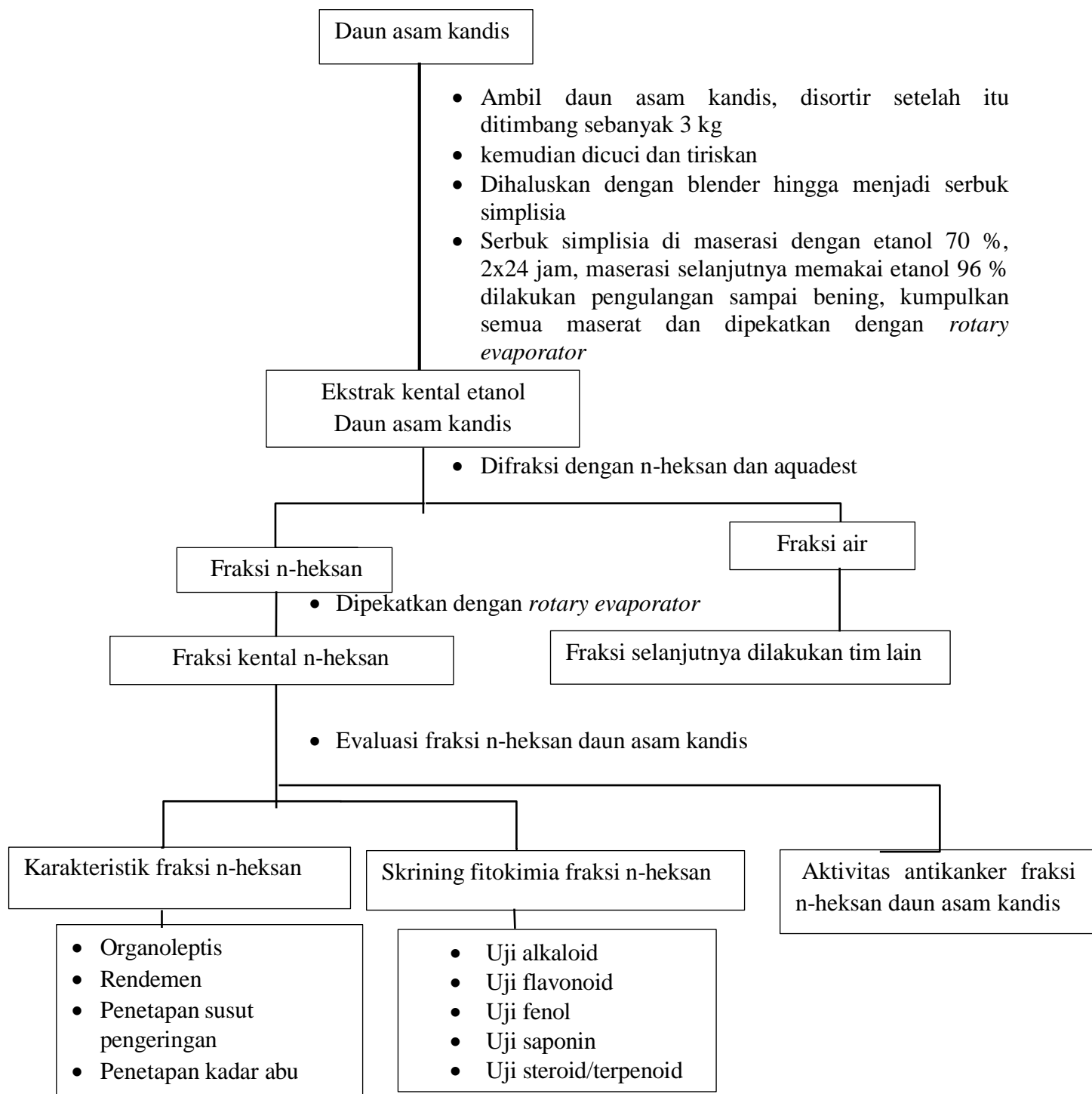
**Gambar 8. Pohon Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)**



**Gambar 9. Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)**

## Lampiran 2. Skema Kerja Penelitian

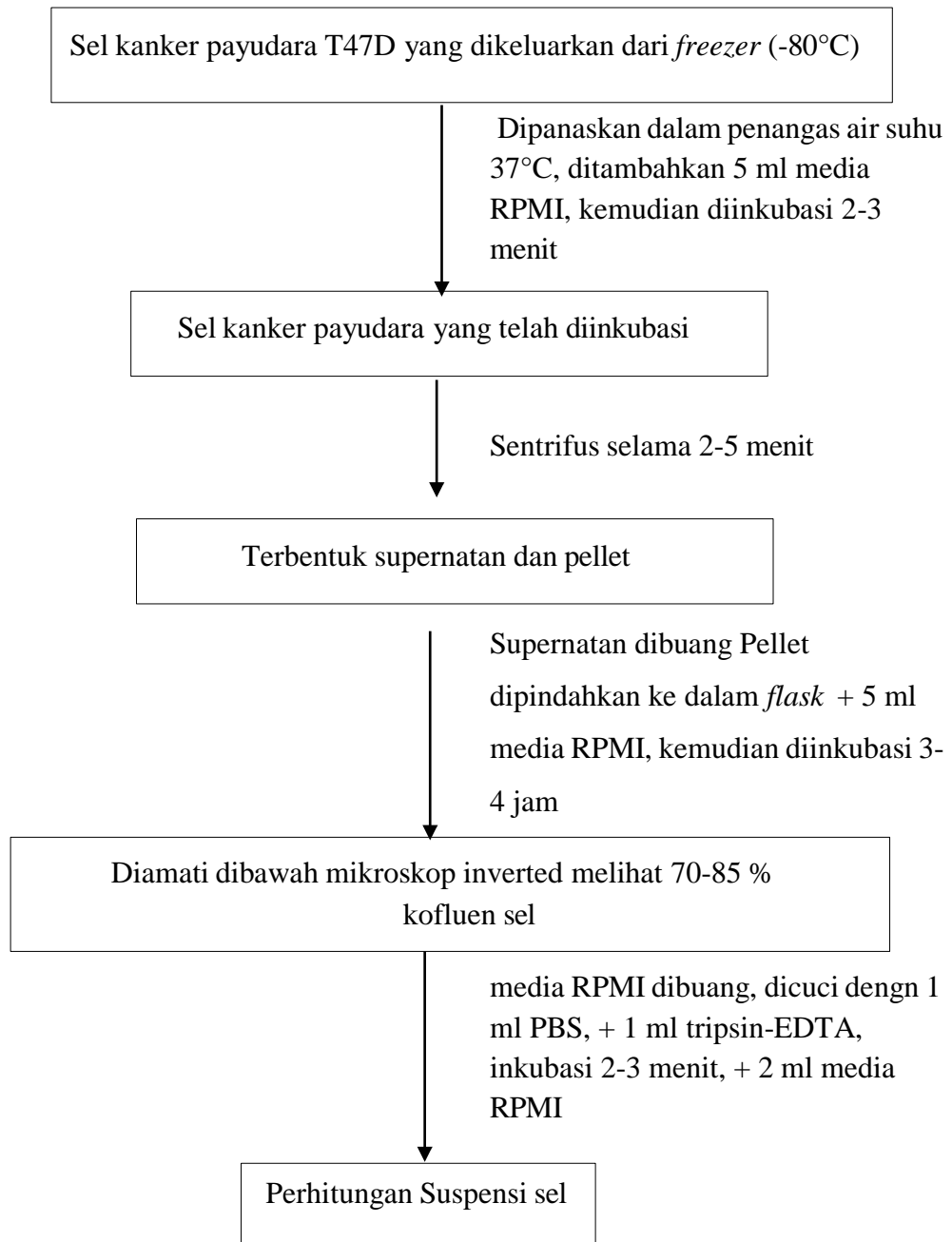
### 2.1 Skema Kerja Pembuatan Fraksi Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)



Gambar 10. Skema Kerja Fraksi Ekstrak Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)

## Lampiran 2. (Lanjutan)

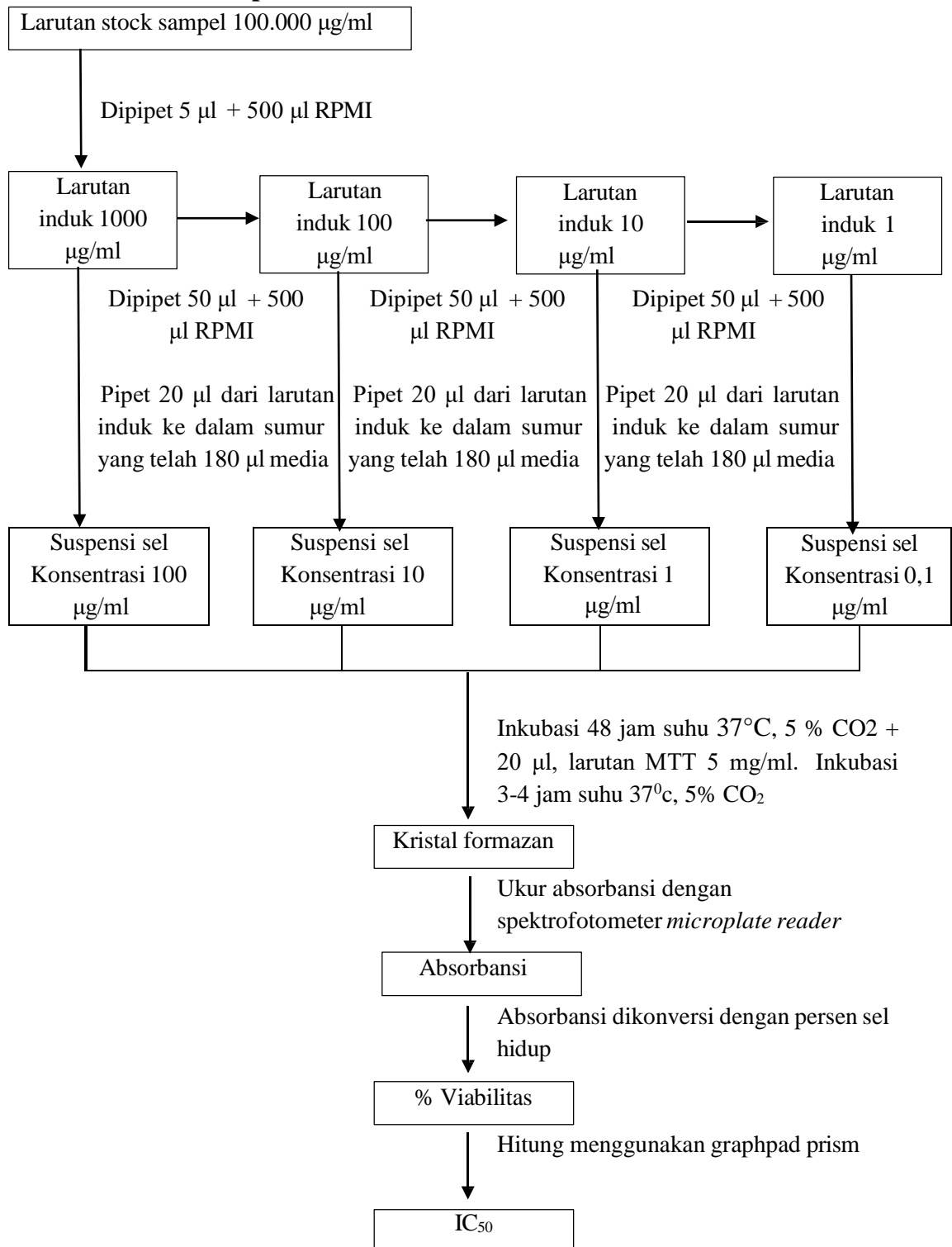
### 2.2 Skema Panenan Sel Kanker T47D



**Gambar 11. Skema Kerja Panenan Sel Kanker T47D**

**Lampiran 2. (Lanjutan)**

**2.3 Skema Pengujian Aktivitas Antikanker Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis Terhadap Sel Kanker T47D**

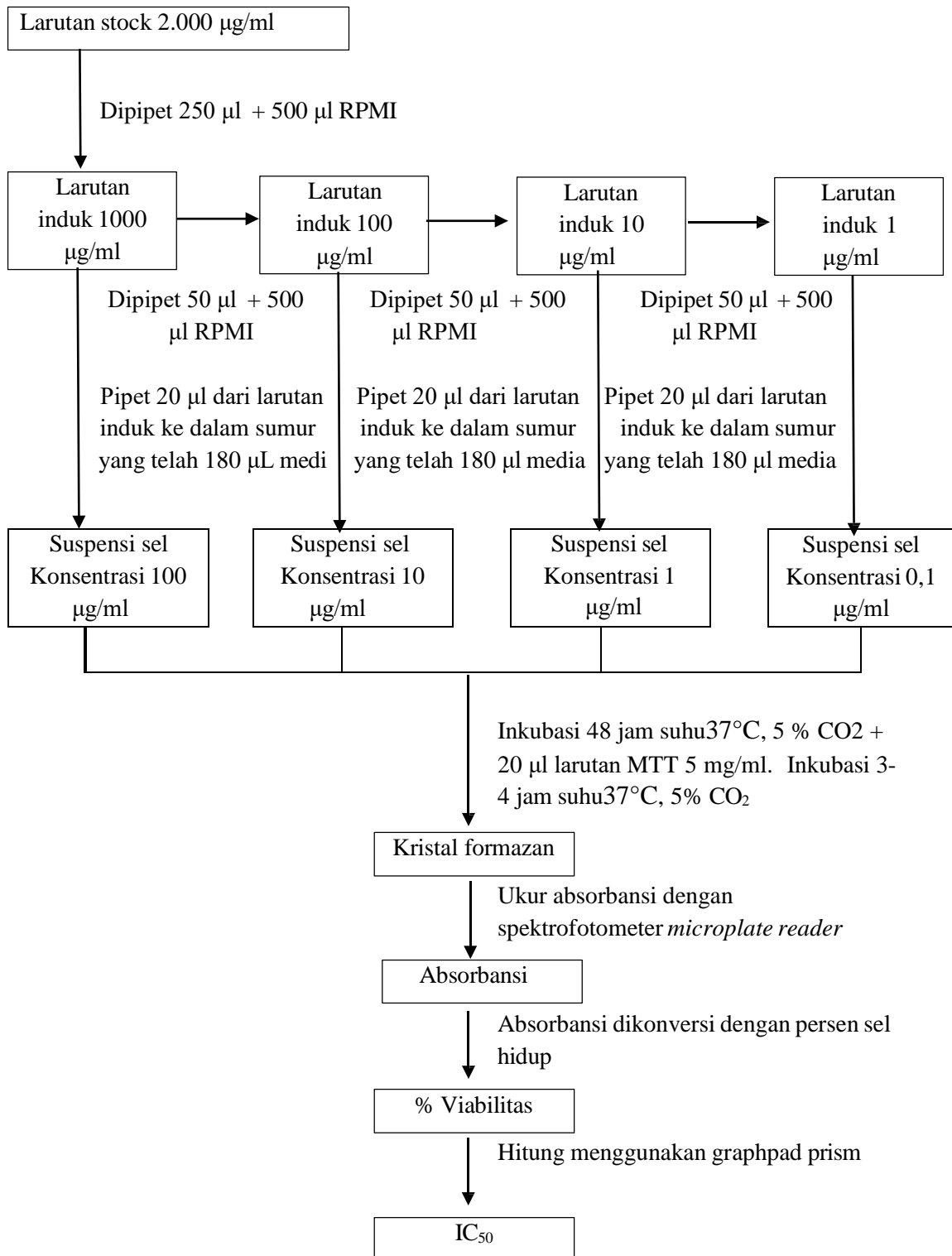


**Gambar 12. Skema Pengujian Anktivitas Antikanker Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis Sel Kanker T47D**



## Lampiran 2. (Lanjutan)

### 2.4 Skema Pengujian Aktivitas Antikanker Doksorubisin Terhadap Sel Kanker T47D



**Gambar 13. Skema Pengujian Aktivitas Antikanker Doksorubisin Terhadap Sel Kanker T47D**

**Lampiran 3. Hasil Data Pemeriksaan Fraksi n-heksan Daun Asam Kandis  
(*Garcinia cowa* Roxb.)**

**Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Asam Kandis  
(*Garcinia cowa* Roxb.)**

<b>Sampel</b>	<b>Berat ekstrak Kental</b>	<b>Berat sampel Kering</b>	<b>Rendemen</b>
Ekstrak daun asam kandis	170,52 gram	600 gram	28,42 %

Perhitungan persen (%) rendemen ekstrak daun asam kandis :

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{berat sampel kering}} \times 100 \% \\ &= \frac{170,52 \text{ gram}}{600 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 28,42 \% \end{aligned}$$

**Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Rendemen Fraksi n-heksan (*Garcinia cowa* Roxb.)**

<b>Sampel</b>	<b>Berat hasil fraksi</b>	<b>Berat ekstrak</b>	<b>Rendemen</b>
Fraksi daun asam kandis	7,74 gram	100 gram	7,74 %

Perhitungan persen (%) rendemen fraksi n-heksan daun asam kandis :

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat hasil fraksi}}{\text{berat ekstrak}} \times 100 \% \\ &= \frac{7,74 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 100 \% \\ &= 7,74 \% \end{aligned}$$

**Tabel 3. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Fraksi n-heksan Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)**

<b>Pemeriksaan</b>	<b>Hasil Pengamatan</b>
Bentuk	Kental
Bau	Khas
Rasa	Pahit
Warna	Coklat Kehitaman

### Lampiran 3. (Lanjutan)

**Tabel 4. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)**

Berat krus kosong (A)	Berat krus kosong + sampel sebelum pengeringan (B)	Berat krus + sampel setelah pengeringan (C)	Susut pengeringan (%)
65,21 gram	66,44 gram	66,34 gram	8,13 %

Perhitungan penetapan susut pengeringan fraksi n-heksan daun asam kandis :

$$\begin{aligned}\text{Susut pengeringan} &= \frac{(B-A)-(C-A)}{(B-A)} \times 100\% \\ &= \frac{(66,44-65,21)-(66,34-65,21)}{(66,44-65,21)} \times 100 \% \\ &= \frac{1,23-1,13}{1,23} \times 100 \% \\ &= 8,13 \%\end{aligned}$$

**Tabel 5. Hasil Kadar Abu Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)**





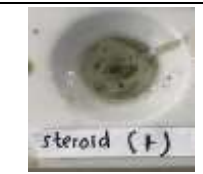

Berat krus kosong (A)	Berat krus kosong + sampel sebelum pengeringan (B)	Berat krus + sampel setelah pengeringan (C)	Kadar abu (%)
50,18 gram	52,25 gram	50,25 gram	3,38 %

Perhitungan penetapan susut pengeringan fraksi n-heksan daun asam kandis :

$$\begin{aligned}\text{Susut pengeringan} &= \frac{(C-A)}{(B-A)} \times 100\% \\ &= \frac{(50,25-50,18)}{(52,25-50,18)} \times 100 \% \\ &= \frac{0,07}{2,07} \times 100 \% \\ &= 3,38 \%\end{aligned}$$

**Lampiran 3. (Lanjutan)**

**Tabel 6. Hasil Pemeriksaan Uji Fitokimia Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)**

Senyawa Aktif	Pereaksi	Hasil Literatur	Hasil	Ket.	
Alkaloid	Klorofom, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , Mayer	Endapan warna putih/kekuningan	Tebentuk dragendrof endapan warna putih/kekuningan		(+)
	Klorofom, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , Dragendrof	Endapan warna merah bata	Terbentuk Mayer endapan warna merah bata		
Flavonid	logam Mg, HCl Pekat	Warna merah/jingga	Tebentuk hijau pekat		(-)
Fenol	FeCl <sub>3</sub>	Hijau kehitaman	Terbentuk hijau kehitaman		(+)
Saponin	Air	Berbusa	Tidak ada busa		(-)
Steroid	Klorofom, norit, asam asetat anhidrat H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	warna hijau atau biru	Terbentuk hijau atau biru		(+)
Terpenoid	Klorofom, norit, asam asetat anhidrat H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Terbentuk warna merah atau ungu	Tidak terbentuk warna merah atau ungu		(-)

Keterangan :

(+) = Terbentuk

(-) = Tidak terbentuk

**Lampiran 4 . Perhitungan Data dan Hasil Uji Aktivitas Antikanker Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D Metode MTT**

A. Perhitungan Jumlah sel

Kamar A 49	Kamar B 59
Kamar D 75	Kamar C 69

$$\begin{aligned} \Sigma \text{ sel yang dihitung} &= \frac{\Sigma \text{ sel kamar A} + \Sigma \text{ sel kamar B} + \Sigma \text{ sel kamar C} + \Sigma \text{ sel kamar D}}{4} \times \text{FP} \times 10^4 \\ &= \frac{49+59+69+75}{4} \times 10 \times 2 \times 10^4 \\ &= 62,75 \times 10 \times 2 \times 10^4 \\ &= 12.550.000/\text{ml} \end{aligned}$$

B. Perhitungan Suspensi Sel

- Perhitungan 1 sumur untuk 10.000 sel

$$\frac{12.550.000 \text{ sel}}{1000 \mu\text{l}} = \frac{10.000 \text{ sel}}{x \mu\text{l}}$$

$$x = 0,8 \mu\text{l (suspensi sel)}$$

- Perhitungan 1 plat 96 sumur

$$\frac{0,8 \mu\text{l}}{180 \mu\text{l ( 1 sumur media)}} = \frac{x}{19.000 (96 \text{ sumur media})}$$

$$x = 84,4 \mu\text{l (suspensi sel) ad 19.000 media}$$

#### Lampiran 4. (Lanjutan)

**Tabel 7. Data Hasil Pengukuran Absorban dan % Viabilitas Fraksi -heksan Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) dengan Metode MTT**

konsentrasi	Abs Fraksi n-heksan			% Viabilitas			Rata-rata	SD
	1	2	3	1	2	3		
100 µg/ml	0,095	0,084	0,076	4,16	2,92	2,02	3,03	1,0744
10 µg/ml	0,604	0,654	0,850	61,48	67,11	89,18	72,59	14,6405
1 µg/ml	0,798	0,963	1,135	83,33	101,91	121,28	102,17	18,9763
0,1 µg/ml	0,995	0,856	0,949	105,51	89,86	100,33	98,56	7,9726
KS	0,922	0,993	0,923				0,946	0,0407
KM	0,059	0,059	0,058				0,058	0,0005

#### Contoh perhitungan % viabilitas sel hidup fraksi n-heksan konsentrasi 100 µg/ml :

$$\% \text{ Persentase viabilitas sel} = \frac{A-B}{C-B} \times 100 \%$$

Keterangan :

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

B = absorbansi rata-rata kontrol media (media kultur)

C = absorbansi rata-rata kontrol sel (sel + media kultur)

Fraksi n-heksan daun asam kandis pada konsentrasi 100 µg/ml

$$\% \text{ Viabilitas} = \frac{0,095-0,058}{0,946-0,058} \times 100 \%$$

$$= \frac{0,037}{0,888} \times 100 \%$$

$$= 4,16 \%$$

#### Lampiran 4. (Lanjutan)

**Tabel 8. Data Hasil Pengukuran Absorban dan % Viabilitas Doksorubisin dengan metode MTT**

konsentrasi	Abs Doksorubisin			% Viabilitas			Rata-rata	SD
	1	2	3	1	2	3		
100 µg/ml	0,260	0,265	0,273	22,74	23,31	24,21	23,42	0,7411
10 µg/ml	0,275	0,285	0,301	24,43	25,56	27,36	25,78	1,4777
1 µg/ml	0,281	0,299	0,328	25,11	27,13	30,40	27,54	2,6695
0,1 µg/ml	0,410	0,489	0,528	39,63	48,53	52,92	47,02	6,7713
KS	0,922	0,993	0,923				0,946	0,0407
KM	0,059	0,059	0,058				0,058	0,0005

**Contoh perhitungan % viabilitas sel hidup doksorubisin konsentrasi 100 µg/ml :**

$$\% \text{ Persentase viabilitas sel} = \frac{A-B}{C-B} \times 100 \%$$

Keterangan :

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

B = absorbansi rata-rata kontrol media (media kultur)

C = absorbansi rata-rata kontrol sel (sel + media kultur)

Doksorubisin pada konsentrasi 100 µg/ml

$$\% \text{ Viabilitas} = \frac{0,260-0,058}{0,946-0,058} \times 100 \%$$

$$= \frac{0,202}{0,888} \times 100 \%$$

$$= 22,74 \%$$

**Lampiran 4. (Lanjutan)**

**Tabel 9. Hasil Rata-rata % viabilitas Sel dari Variasi Konsentrasi Fraksi n-heksan Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) dan Doksorubisin**

Sampel	Konsentrasi $\mu\text{g/ml}$	Mean $\pm$ SD	IC <sub>50</sub>
Fraksi n-heksan daun asam kandis	100 $\mu\text{g/ml}$	3,03 $\pm$ 1,0744	16,36 $\mu\text{g/ml}$
	10 $\mu\text{g/ml}$	72,59 $\pm$ 14,6405	
	1 $\mu\text{g/ml}$	102,17 $\pm$ 18,9763	
	0,1 $\mu\text{g/ml}$	98,56 $\pm$ 7,9726	
Doksorubisin	100 $\mu\text{g/ml}$	23,42 $\pm$ 0,7411	0,5980 $\mu\text{g/ml}$
	10 $\mu\text{g/ml}$	25,78 $\pm$ 1,4777	
	1 $\mu\text{g/ml}$	27,54 $\pm$ 2,6695	
	0,1 $\mu\text{g/ml}$	47,02 $\pm$ 6,7713	



## Lampiran 5. Hasil Data Penelitian Menggunakan Graphpad Prism

### 5.1 Fraksi n-heksan Daun Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)

Software : Graphpad Prism 9

Metode analisis : Regresi non linear log(inhibitor) vs. normalized response—  
variable slopepe

log(inhibitor) vs. normalized response -- Variable slope	
Best-fit values	
LogIC50	1,214
HillSlope	-1,989
IC50	16,36
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	??? to 1,459
HillSlope	??? to -1,049
IC50	??? to 28,76
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	10
R squared	0,9357
Sum of Squares	1305
Sy.x	11,42
Number of points	
# of X values	12
# Y values analyzed	12

## Lampiran 5. (Lanjutan)

### 5.2 Doksorubisin

Software : Graphpad Prism 9

Metode analisis : Regresi non linear log(inhibitor) vs. normalized response—  
variable slopepe

log(inhibitor) vs. normalized response -- Variable slope	
Best-fit values	
LogIC50	-0,2233
HillSlope	-3,014
IC50	0,5980
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	???
HillSlope	??? to -1,063
IC50	???
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	10
R squared	0,8906
Sum of Squares	2299
Sy.x	15,16
Number of points	
# of X values	12
# Y values analyzed	12

## Lampiran 6. Hasil Pengolahan Statistik Anova satu arah

### Tests of Normality

	Konsentrasi	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Viabilitas Fraksi N-heksan Daun Asam Kandis	100 (µg/mL)	.207	3	.	.992	3	0.833
	10 (µg/mL)	.313	3	.	.895	3	0.369
	1 (µg/mL)	.176	3	.	1.000	3	0.977
	0.1(µg/mL)	.254	3	.	.963	3	0.631
Viabilitas Doksorubisin	100 (µg/mL)	.226	3	.	.983	3	0.754
	10 (µg/mL)	.227	3	.	.983	3	0.749
	1 (µg/mL)	.229	3	.	.982	3	0.741
	0.1(µg/mL)	.255	3	.	.963	3	0.630

### Tests of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Viabilitas Fraksi N-heksan Daun Asam Kandis	Based on Mean	2.201	3	8	0.166
	Based on Median	1.139	3	8	0.390
	Based on Median and with adjusted df	1.139	3	4.810	0.421
	Based on trimmed mean	2.129	3	8	0.175
Viabilitas Doksorubisin	Based on Mean	3.964	3	8	0.053
	Based on Median	1.572	3	8	0.270
	Based on Median and with adjusted df	1.572	3	2.773	0.369
	Based on trimmed mean	3.762	3	8	0.059

### ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Viabilitas Fraksi N-heksan Daun Asam Kandis	Between Groups	22193.726	3	7397.909	39.669	0.001
	Within Groups	1491.931	8	186.491		
	Total	23685.657	11			
Viabilitas Doksorubisin	Between Groups	1060.311	3	353.437	25.377	0.001
	Within Groups	111.420	8	13.928		
	Total	1171.732	11			

## Lampiran 6. (Lanjutan)

### Viabilitas Fraksi n-Heksan Daun Asam Kandis

Duncan<sup>a</sup>

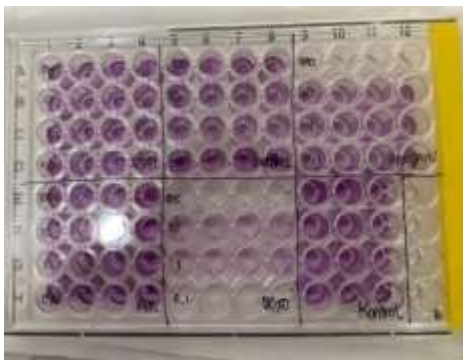
Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
100 (µg/mL)	3	3.1567		
10 (µg/mL)	3		78.3000	
0.1(µg/mL)	3			106.3600
1 (µg/mL)	3			110.2567
Sig.		1.000	1.000	0.736

### Viabilitas Doksorubisin

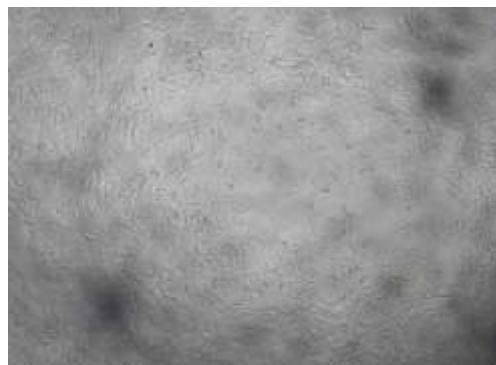
Duncan<sup>a</sup>

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
100 (µg/mL)	3	23.4200	
10 (µg/mL)	3	25.7833	
1 (µg/mL)	3	27.5467	
0.1(µg/mL)	3		47.0267
Sig.		0.230	1.000

## Lampiran 7. Dokumentasi



**Gambar 14. Plat 96- well**



**Gambar 15. Morfologi Sel**



**(a)**



**(b)**



**(c)**



**(d)**

**Gambar 16. Morfologi Sel Kanker T47D konsentrasi (a) 100  $\mu\text{g/ml}$ ; (b) 10  $\mu\text{g/ml}$ ; (c) 10  $\mu\text{g/ml}$ ; (d) 0,1  $\mu\text{g/ml}$  Fraksi n-heksan**

**Keterangan :** Sel hidup ditandai dengan berbentuk lonjong seperti jarum yang saling berhimpit dengan sel lain. Sel mati setelah mengalami lisis ditandai dengan bentuk bulat, mengapung dan tersebar.

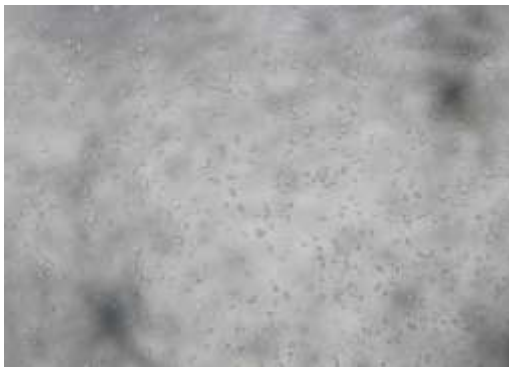
**Lampiran 7. (Lanjutan)**



**(a)**



**(b)**



**(c)**



**(d)**

**Gambar 17 . Morfologi Sel Kanker T47D konsentrasi (a) 100 µg/ml; (b) 10 µg/ml; (c) 1 µg/ml; (d) 0,1 µg/ml Doksorubisin**

**Keterangan :** Sel hidup ditandai dengan berbentuk lonjong seperti jarum yang saling berhimpit dengan sel lain. Sel mati setelah mengalami lisis ditandai dengan bentuk bulat, mengapung dan tersebar.

