

BAB VI

RINGKASAN

Jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) memiliki rasa, nilai gizi yang tinggi dan bersifat sebagai obat, karena adanya berbagai komposisi gizi dan berbagai bahan aktif di *P. Ostreatus* telah dilaporkan memiliki khasiat dalam pengobatan antidiabetes, antibakteri, antikolestrol, antiartritik, antioksidan, antikanker, kesehatan mata dan antivirus (Krishnamoorthy & Sankaran, 2014). Berdasarkan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) memiliki potensi efek terapeutik serta pencegahan pada kanker payudara dan sebagai agen imunomodulator, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas proliferasi sel limfosit dan efek sitotoksik fraksi etil asetat ekstrak etanol jamur tiram (FEJT) yang dikombinasi dengan doksorubisin terhadap sel T47D, sel Vero dan mengidentifikasi golongan senyawa yang berperan dalam aktivitas tersebut. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dan merupakan eksperimental laboratorium.

Jamur tiram yang berwarna putih dan segar yang digunakan dalam penelitian ini di dapat dari perkebunan budidaya jamur di daerah Gerdu desa Karangpandan, kecamatan Karangpandan, Jawa Tengah, pada bulan September 2014. Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel jamur tiram dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada jamur tiram yang diidentifikasi di Laboratorium Biologi Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Ekstraksi jamur tiram dilakukan menggunakan metode maserasi dengan etanol 96% kemudian ekstrak yang didapat dilakukan fraksinasi menggunakan Kromatografi Cair-Cair (KCC) untuk memisahkan senyawa yang bersifat non polar, semi polar dan polar. Kemudian fraksi etil asetat ekstrak etanol jamur tiram (FEJT) dilakukan pengujian terhadap sel limfosit, sel T47D dan sel Vero menggunakan metode MTT dengan berbagai variasi konsentrasi 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Selanjutnya data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan program SPSS 17.0 (*Statistical and Product Service Solution*).

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas menunjukkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak etanol jamur tiram memiliki aktivitas terhadap proliferasi sel limfosit dengan konsentrasi 12,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ meningkatkan stimulasi proliferasi limfosit dengan nilai persen sel hidup yaitu 115,59%. Dari hasil uji sitotoksik, kombinasi FEJT (701,27 $\mu\text{g}/\text{mL}$) dan doksorubisin (0,005 $\mu\text{g}/\text{mL}$) terhadap sel T47D dan sel Vero dapat dikatakan bahwa secara *in vitro* FEJT dapat meningkatkan efek sitotoksik doksorubisin terhadap sel T47D serta menekan efek sitotoksik terhadap sel Vero. Uji sitotoksik kombinasi FEJT dan doksorubisin terhadap sel T47D dan sel Vero, memiliki IC₅₀ berturut-turut yaitu 1.06 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan 1425,46 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Kombinasi FEJT dan doksorubisin menunjukkan bahwa kombinasi fraksi etil asetat ekstrak etanol jamur tiram dan doksorubisin bersifat lebih sitotoksik terhadap sel T47D dibandingkan terhadap sel Vero. Sehingga dapat dikatakan bahwa kombinasi FEJT dan doksorubisin lebih baik dibandingkan dengan doksorubisin tunggal. Pemberian doksorubisin secara tunggal juga dapat

berefek buruk pada sel normal. Dalam pengujian ini, kombinasi antara FEJT dan doksorubisin tidak menunjukkan efek sitotoksik terhadap sel normal.

Pada beberapa penelitian, doksorubisin mampu menunjukkan efek sitotoksik pada sel T47D yang cukup kuat. Namun, karena efek sitotoksik doksorubisin utamanya adalah melalui jalur p53, relatif terhadap sel dengan p53 normal, efek sitotoksik ini masih lebih rendah (Vayssade *et al*, 2005). Hal ini dikarenakan p53 merupakan *tumor suppressor gene* penting yang berperan pada penghambatan pertumbuhan sel, baik melalui apoptosis maupun penghambatan siklus sel. Doksorubisin ternyata tidak hanya bersifat toksik pada sel kanker, tetapi juga toksik pada jaringan normal. Selain itu, doksorubisin juga bersifat menyebabkan meningkatnya kadar anion superokida dan penurunan ATP (Tyagi *et al*, 2004). Doksorubisin memicu kerusakan DNA sel kanker dan pengeblokan topoisomerase II, sehingga DNA kusut dan sel kanker tidak dapat membelah (Potter *et al*, 2002). Mekanisme tersebut umumnya membutuhkan p53 untuk menginduksi apoptosis dan menghambat siklus sel (Drummond, 2007). Hal ini menyebabkan pada uji klinis fase III menunjukkan bahwa penderita kanker payudara dengan mutasi p53 lebih resisten terhadap doksorubisin jika dibandingkan dengan penderita kanker payudara tanpa mutasi p53.

Hal ini berkaitan dengan FEJT yang mengandung alkaloid, flavonoid, steroid yang berperan dalam penghambatan sel kanker. Beberapa penelitian membuktikan bahwa pemberian diosgenin (suatu senyawa turunan steroid) pada kanker payudara dapat mereduksi potensial membran mitokondria sel, meregulasi ekspresi Bcl-2 dan menginduksi p53 (Sowmyalakshmi *et al*, 2005).

Pemberian FEJT pada sel T47D mengurangi ekspresi Bcl-2, sehingga meningkatkan sensitivitas sel-sel kanker. Hal ini membantu peningkatan efektivitas doksorubisin dalam mendorong apoptosis melalui jalur Fas (*Massart et al, 2004*). Jalur Fas terhambat ketika stimulasi faktor pertumbuhan epidermal (EGF) terjadi. Reseptor EGF adalah lebih dinyatakan dalam kanker payudara. Stimulasi EGF juga dapat menghambat proteolisis dari protein untuk EGF, seperti CBL dan Akt (*Spencer et al, 1992*). Dan dengan demikian, aktivasi reseptor EGF dapat mengakibatkan respon proliferatif dan juga resistensi terhadap kemoterapi. Penelitian *Xinqun et al (2005)*, menyatakan bahwa paparan sel T47D dengan doksorubisin selama 24 jam menunjukkan peningkatan terfosforilasi kinase Akt. Penghambatan aktivasi reseptor EGF dapat meningkatkan aktivitas doksorubisin dalam mendorong Fas dan/atau Fas ligand. Induksi Fas dan/atau Fas ligand akan mengaktifkan kaskade caspase, yang akhirnya menyebabkan apoptosis.

Kemungkinan FEJT menghambat aktivasi reseptor EGF sehingga mampu meningkatkan aktivitas doksorubisin dalam mendorong Fas dan/atau Fas ligand. Sel-sel T47D mengekspresika ER + (estrogen positif) reseptor, sehingga responsif terhadap stimulasi estrogen. *Zampieri et al (2002)*, menyatakan bahwa tidak ada peningkatan di P-gp ketika sel-sel T47D terkena estrogen. Sehingga FEJT sinergisme dengan doksorubisin pada sel T47D yang kemungkinan tidak mengikuti jalur P-gp, maka FEJT dapat digunakan sebagai pendamping agen kemoterapi sehingga dapat mengurangi dosis pemakaian yang berarti efek samping akibat penggunaan kemoterapi pun akan berkurang. Pengujian efek sitotoksik FEJT pada sel normal tidak memberikan efek toksik pada sel normal,

sehingga FEJT dapat menjadi alternatif pengobatan kanker yang potensial aman dan murah.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A. K., Litchman, A. H & Pillai, S. 2007. *Cellular and Molecular Immunology*. 6th Edition. Elsevier Saunders, Philadelphia. Hal. 419-39.
- Afiukwa, C. A., Ugwu., Okechukwu, P. C., Ebenyi, L. N., Oketa, H. A., Idenyi, J. N & Ossai, E. C. 2013. Phytochemical Analysis of Two Wild Edible Mushrooms, *Auricularia Polytric And Pleurotus Ostreatus*, Common in Ohaukwu Area of Ebonyi State, Niger. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, *RJPBCS*. 4 (2); 1065 -1070
- Akindahunsi, A. A & Oyetayo, F. L. 2006. Nutrient and antinutrient distribution of edible mushroom, *Pleurotus tuber-regium* (fries) Singer. *Food Sci. Technol*, 39.548-553.
- Alexopoulos, C. J & Mims, J. C. 1979. *Introductory Mycology*. 3rd edition. John Willey and Sons: New York. Hal. 632.
- Ammerman, N. C., Beier, S. M & Azad, A. F. 2008. Growth and maintenance of Vero cell lines, *Current Protocols in Microbiology, Supplement* 11, A.4E.1-A.4E.7.
- Ansel, H. C. 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Edisi 4. Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 217-218.
- Ardelean, A & George, C. 2008. PRIBAC: Diosgenin, the Active Principle of Trigonella sp. Extract may Induce Apoptosis on MCF-7 Cancer Cells through Caspase Activation. ANUL IV, NR, 3 (14).
- Asmis, R., Mu, Q., Rossi, R. R., Cholewa J., Li X & Asmis L. M. 2006. Adriamycin promotes macrophage dysfunction in mice, *Free Radical Biology & Medicine*, 41, 165-174.
- Baratawidjaja, K. G. 2006. *Imunologi Dasar*, Edisi 6. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. Hal. 33-44, 431.
- Bellanti, J. A. 1993. *Imunologi III*. Diterjemahkan oleh A. Samik Wahab. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. Hal. 203-431.
- CCRC. 2012. Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT. Cancer Chemoprevention Research Center Fakultas Farmasi UGM.<http://www.ccrc.farmasi.ugm.ac.id/wp-content/uploads/03.010.Sitotoksik.pdt> (21 Februari 2015).

- Cotran, R. S., Kumar, V & Robbins, S. L. 1994. *Pathologic basis of disease*. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders Company. Hal. 51-93.
- DeVita, V.T., Lawrence, S.T & Rosenberg, S.A. 2008, Cancer: *Principle & Practice of Oncology*, 8th Edition, volume 1, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. Hal. 1204-1217.
- Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, A. G & Posey, L. M. 2005. *Pharmacotherapy: A pathophysiological Approach*, 6th edition, McGraw-Hill, New York.
- Dolinsky, C & Kayse, C. H. 2013. Breast Cancer: The Basic. *Abramson Cancer Center of The University of Pennsylvania*. www.oncolink.org.
- Doyle, A., Griffiths, J. B & Newell, D. G. 2000. *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures*. Ed III. John Wiley & Son. New York. Hal. 23-24.
- Drummond, C. 2007. The Mechanism of Anti-tumour Activity of the DNA Binding Agent SN 28049 [Tesis], University of Auckland, New Zealand.
- Elemkov, I. J & Chrouzos, G. P. 1999. Stress hormones, Th1/th2 patterns, Pro/Antiinflammatory Cytokines and susceptibility to disease. *TEM*. 10 (9) : 359-68.
- Gandjar, I. G & Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Cetakan IV. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. Hal. 353-377.
- Goodman, J. W. 1998. The immune response. In: Stites DP, Terr A I editors. *Basic and Clinical Immunologi*. 8th ed. Prentice-Hall Int. USA. Hal. 40-9
- Hanahan, D & Weinberg, R. A. 2000. The Hallmark of cancer, *Cell*. 100: 57-70.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia; Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan Dari: *Phytochemical Methods*. Hal. 47, 49.
- Hay, F. C & Westwood, O. M. R. 2002. *Practical Immunology*, Fourth Edition, Blackwell Publishing Company, United Kingdom. Hal. 185, 309.
- Holan, V., Nakamura, S & Minowada, J. 1991. Inhibitory Versus Stimulatory Effects of Natural Human Interferon-Alpha on Proliferation of Lymphocyte Subpopulations. *Immunology*. 75:176-181.

- Jedinak, A & Sliva, D. 2008. *Pleurotus ostreatus* inhibits proliferation of human breast and colon cancer cells through p53-dependent as well as p53-independent pathway. *Int J Oncol.* 33(6): 1307–1313.
- Krishnamoorthy, D & Sankaran, M. 2014. *Pleurotus ostreatus*: an oyster mushroom with nutritional and medicinal properties. *J Biochem Tech.* 5(2):718-726.
- Kroeber, & Tina. 2010. Particulate formulation of Influenza virus antigen. http://www.mpi.magdeburg.mpg.de/research/projects/1088/1109/1110_2/figure1.html. immunity.
- Lehmann, C., Zeis, M., Schmitz, N. & Uharek, L. 2000. Impaired binding of perforin on the surface of tumor cells is a cause of target cell resistance against cytotoxic effector cell. *Blood*, 594-600.
- Lindequist, U., Niedermeyer, T.H. J & Jülich, D. W. 2005. The Pharmacological Potential of Mushrooms. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2(3): 285–299.
- Maiti, S., Mallick, S. K., Bhutia, S. K., Behera, B., Mandal, M & Maiti, T. K. 2011. Antitumor effect of culinary-medicinal oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm., derived protein fraction on tumor-bearing mice models. *Int J Med Mushrooms.* 13(5):427-40.
- Massart, C., Barbet, R., Genetet, N & Gibassier, J. 2004. DoxorubicinInduces Fas Mediated Apoptosis in Human Thyroid Carcinoma Cells. *Thyroid.* 14 (4) : 263-270.
- Masters, J. R. W. 2000. *Animal Cell Culture*, 3rd edition, Oxford University Press. New York. Hal. 175-219.
- Mosmann, T. 1993. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity assays. *Journal Immunology Methods* vol. 65 (1-2): 55-63.
- Muchroji & Cahyana, Y. A. 2003. *Budidaya Jamur Tiram*. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal. 95-99.
- Pazdur, R., Coia, L. R., Hoskins, W. J & Wagman, L. D. 2003. *Cancer Management: A Multidisciplinary Approach*. Medical, Surgical and Radiation Oncology, 7th edition. New York : The Oncology Group. Hal. 21-37.
- Prendergast, G. C. & Jaffe, E. M. 2007. *Cancer Immunotherapy*, Academic Press, Burlington.

- Price, A. S & Wilson, M. L. 2006. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Alih Bahasa: dr. Brahm U. Penerbit. Jakarta: EGC. Hal. 421-428.
- Roitt, I. M. 1997. *Roitt's Essential Immunology*, 9th ed. Blackwell Scientific Publications, London. Hal. 168-178.
- Saifudin, A., Rahayu V & Teruna, H. Y. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Jakarta : Graha Ilmu. Hal. 25.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: Penerbit Liberty. Hal. 23-26.
- Schafer, J. M., Lee, E. S., O'Regan, R. M., Yao, K & Jordan, V. C. 2000. Rapid Development of Tamoxifen-stimulated Mutant p53 Breast Tumors (T47D) in Athymic Mice, *Clinical Cancer Research*, 6: 4373-4380.
- Seema, P & Arun, G. 2012. Recent developments in mushrooms as anticancer therapeutics: a review. *3 Biotech*, 2 (1): 1–15.
- Sharon, N & Lis, H. 2004. History Of Lectins : From Hemagglutinins To Biological Recognition Molecules , Review, *Glycobiology*, 14 (11), 53R-62R.
- Sheets, R. 2000. *History and Characterization of The Vero Cell Line, Report*, FDA.
- Singal, P. K & Iliskovic, N. 1998. Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy, *N Engl J Med.*, 339: 900-905.
- Smeltzer, S. C & Bare, B. G. 2002. *Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah Brunner dan Suddarth*. Ed.8. Vol. 1, 2. Alih bahasa oleh Agun Waluyo dkk, EGC, Jakarta.
- Sowmyalakshmi, S., Ranga, R., Gary, C. G & Damodaran, C. 2005. *Effect of Diosgenin (Fenugreek) on Breast Cancer Cells*. Proc Amer Assoc Cancer Res, Volume 46.
- Spencer, G., Shine, T., Ryan, O., Anderson, S. M & Johnson, G. L. 1992. Epidermal Growth Factor Protects Epithelial Cells against Fas-induced Apoptosis. *J Biol Chem*. 274:17612-17618
- Thakur, M., Melzig, F. M., Hendrik, F & weng, A. 2011. Chemistry and pharmacology of saponins: special focus on cytotoxic properties. Institute of Laboratory Medicine, Clinical Chemistry and Pathobiochemistry. Berlin. *Botanics: Targets and Therapy*. 2011:1 19–29.

- Torosian, M. H. 2002. Breast Cancer: A Guide to Detection and Multidisciplinary Theraphy. *New Jersey*: Humana Press. Hal. 5-9.
- Tyagi, A. K., Agarwal, C., Chan, D. C. F & Agarwal, R. 2004. Synergistic Anti Cancer Effects of Silibinin with Conventional Cytotoxic Agents Doxorubicin, Cisplatin, and Carboplatin Against Human Breast Carcinoma T47D and MDA-MB468 Cells, *Oncology Reports*. 11 (2): 493-499.
- Urivi, V. 2002. *Menu untuk penderita kanker*. Jakarta: Puspa swara. Hal. 3, 30-2.
- Vayssade, M., Haddada, H., Faridoni, L. L., Tourpin, S., Valent, A., Benard, J & Ahomadegbe, J. C. 2005. P73 functionally replaces p53 in Adriamycin-treated, p53-deficient breast cancer cells. *International Journal of Cancer*, 116: 860-869.
- Vega, A. E & Pugsley, M. K. 2011. An Overview of Colorimetric Assay Methods Used to Assess Survival or Proliferation of Mammalian Cell, *Proceedings of the Western Pharmacology Society*, 54,10-14.
- Verma, S. P., Goldin, B. R & Lin, P. S. 1998. The Inhibition of the Estrogenic Effects of Pesticides and Enviromental Chemicals by Curcumin and Isoflavonoids, *Envir. Health Presp*, 106 (12), 807-812.
- Waksmundzka, H. M., Sherma, J & Kowalska, T. 2008. *Thin Layer Chromatography in Phytochemistry*. Boca Raton: CRC Press. Hal. 3–14.
- Weir, D. M. 1990. *Segi Praktis Imunologi*. Binarupa Aksara, Jakarta. Hal. 32, 33, 129.
- Xinqun, Li., Lu Yang., Liang Ke., Liu Bolin & Fan Zhen. 2005. Differential responses to doxorubicin-induced phosphorylation and activation of Akt in human breast cancer cells. *Breast Cancer Res*. 7(5): R589–R597.
- Zampieri, L., Bianchi, P., Ruff, P & Arbuthnot, P. 2002. Differential modulation by estradiol of P-glycoprotein Drug Resistance Protein Expression in Cultured MCF7 and T47D Breast Cancer Cells. *Anticancer Res*. 22(4): 2253-2259.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat keterangan identifikasi tanaman jamur tiram



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS BIOLOGI
LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN
Jalan Teknika Selatan Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telpon (0274) 6492262/6492272; Fax: (0274) 580839

SURAT KETERANGAN

Nomor : 0584/S.Tb/X/2014

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa,

Nama : Grisyeh Torry
NIM : SBF 041310046
Asal instansi : Program Pascasarjana Universitas Setia Budi

telah melakukan identifikasi Tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

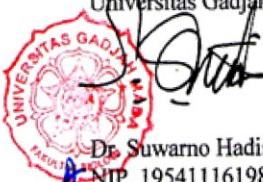
NO.	FAMILIA	GENUS	SPESIES
1	Pleurotaceae	Pleurotus	<i>Pleurotus ostreatus</i> (Jacq.) P. Kumm.

identifikasi tersebut dibantu oleh Rina Sri Kasiamdari, S.Si., Ph.D.
Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Yogyakarta, 3 Oktober 2014

Mengetahui,
Dekan Fakultas Biologi
Universitas Gadjah Mada

Dr. Suwarno Hadisusanto
NIP. 195411161983031002



Kepala Laboratorium
Sistematika Tumbuhan
Fakultas Biologi UGM

Drs. Heri Sujadmiko, M.Si
NIP. 196402091991031001

Lampiran 2. Gambar tanaman jamur tiram



Lampiran 3. Perhitungan rendamen jamur tiram

Ekstrak jamur tiram diperoleh dari serbuk jamur tiram dengan bobot 1700 gram dan setelah di ekstraksi dengan metode maserasi diperoleh rendemen yaitu 4,82%.

Persentase rendemen jamur tiram

$$\text{Rumus} = \frac{\text{Bobot ekstrak (gram)}}{\text{Bobot serbuk (gram)}} \times 100\% = \frac{81,94}{1700} \times 100\% = 4,82\%$$

Lampiran 4. Perhitungan persentase rendemen fraksi-fraksi dari ekstrak etanol jamur tiram

Nama pelarut	Berat wadah +	Berat wadah	Berat ekstrak	Rendamen
	ekstrak (g)	kosong (g)	(g)	(%)
n-heksan	179,325	177,497	1,827	9,14
Etil asetat	178,467	176,023	2,444	12,22
air	188,679	176,818	11,879	59,35

Berat total ekstrak etanol tanaman jamur tiram = 20 gram

a. Perhitungan persentase rendemen *n*-heksan

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Bobot total ekstrak } n\text{-heksan}}{\text{Bobot total ekstrak etanol}} \\ &= \frac{1,827}{20} \times 100 \% = 9,14 \% \text{ b/b} \end{aligned}$$

Persentase rendemen *n*-heksan adalah 9,14 % b/b

b. Perhitungan Persentase rendemen etil asetat

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Bobot total ekstrak etil asetat}}{\text{Bobot total ekstrak etanol}} \\ &= \frac{2,444}{20} \times 100 \% = 12,22 \% \text{ b/b} \end{aligned}$$

Persentase rendamen etil asetat adalah 12,22 % b/b

c. Perhitungan Persentase rendemen air

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Bobot total ekstrak air}}{\text{Bobot total ekstrak etanol}} \\ &= \frac{11,879}{20} \times 100 \% = 59,35 \% \text{ b/b} \end{aligned}$$

Persentase rendemen air adalah 59,35 % b/b

Lampiran 5. Hasil perhitungan Rf

No.	Identifikasi Senyawa	Jarak yang ditempuh oleh senyawa			Jarak yang ditempuh oleh pelarut			Rf		
		Ekstrak	FEJT	Pembanding	Ekstak	FEJT	Pembanding	Ekstrak	FEJT	Pembanding
1.	Flavonoid	7,9	7,5	3,6	8	8	8	0,98	0,94	0,45
2.	Alkaloid	7,2	3,5	3,7	8	8	8	0,90	0,43	0,46
3.	Steroid	3,3	3,1	3,4	8	8	8	0,41	0,38	0,43

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik asal}}$$

Lampiran 6. Uji aktivitas proliferasi limfosit dari FEJT

Absorbansi

Kelompok Uji		Replikasi		Rata-rata ± SD
A	0,501	0,486	0,488	0,492 ± 0,008
B	0,449	0,448	0,446	0,448 ± 0,002
C	0,447	0,449	0,448	0,448 ± 0,001
D	0,482	0,484	0,488	0,485 ± 0,003
E	0,449	0,447	0,448	0,448 ± 0,001
F	0,479	0,469	0,468	0,472 ± 0,006
G	0,435	0,446	0,451	0,444 ± 0,008
H	0,424	0,423	0,429	0,425 ± 0,003

Keterangan :

- A : Konsentrasi 12,5 µg/mL FEJT
- B : Konsentrasi 25 µg/mL FEJT
- C : Konsentrasi 50 µg/mL FEJT
- D : Konsentrasi 100 µg/mL FEJT
- E : Konsentrasi 200 µg/mL FEJT
- F : Konsentrasi 400 µg/mL FEJT
- G : kontrol positif phytohemaglutinin (PHA) konsentrasi 10 µg/mL
- H : Kontrol sel (sel + vaksin)

Indeks Stimulasi

Kelompok uji		Indeks stimulasi		Rata-rata ± SD
A	117,790	114,263	114,734	115,596 ± 1,915
B	105,564	105,329	104,859	105,251 ± 0,359
C	105,094	105,564	105,329	105,329 ± 0,235
D	113,323	113,793	114,734	113,950 ± 0,718
E	105,564	105,094	105,329	105,329 ± 0,235
F	112,618	110,266	110,031	110,972 ± 1,430
G	102,273	104,859	106,034	104,389 ± 1,571
H	99,687	99,451	100,862	100,000 ± 0,756

Uji statistik

1. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test(Uji normalitas)

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
indeksstimulan	24	107.54308	5.196533	99.451	117.790

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		indeksstimulan
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	107.54308
	Std. Deviation	5.196533
Most Extreme Differences	Absolute	.273
	Positive	.273
	Negative	-.127
Kolmogorov-Smirnov Z		1.339
Asymp. Sig. (2-tailed)		.055

a. Test distribution is Normal.

Hasil analisis dengan *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test* diperoleh signifikansi = 0,055 > 0,05 berarti data tersebut mengikuti distribusi normal sehingga dapat dilakukan analisis varians.

2. One-Way Anova

Test of Homogeneity of Variances

indeksstimulan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.860	7	16	.004

ANOVA

indeksstimulan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	605.794	7	86.542	90.520	.000
Within Groups	15.297	16	.956		
Total	621.091	23			

Kriteria uji:

Sig.>0,05 : tidak terdapat perbedaan signifikan

Sig.<0,05 : terdapat perbedaan signifikan

Nilai Sig. = .000 (< 0,05), berarti perbedaan kelompok uji menunjukkan adanya perbedaan indeks stimulasi.

3. Tukey test

Multiple Comparisons

indeksstimulan

Tukey HSD

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
400	200	5.642667*	.798356	.000	2.87864	8.40670
	100	-2.978333*	.798356	.030	-5.74236	-.21430
	50	5.642667*	.798356	.000	2.87864	8.40670
	25	6.191333*	.798356	.000	3.42730	8.95536
	13	-4.624000*	.798356	.001	-7.38803	-1.85997
	Kontrol positif	6.582667*	.798356	.000	3.81864	9.34670
	Kontrol negatif	10.971667*	.798356	.000	8.20764	13.73570
200	400	-5.642667*	.798356	.000	-8.40670	-2.87864
	100	-8.621000*	.798356	.000	-11.38503	-5.85697
	50	.000000	.798356	1.000	-2.76403	2.76403
	25	.548667	.798356	.996	-2.21536	3.31270
	13	-10.266667*	.798356	.000	-13.03070	-7.50264
	Kontrol positif	.940000	.798356	.927	-1.82403	3.70403
	Kontrol negatif	5.329000*	.798356	.000	2.56497	8.09303

100	400	2.978333*	.798356	.030	.21430	5.74236
	200	8.621000*	.798356	.000	5.85697	11.38503
	50	8.621000*	.798356	.000	5.85697	11.38503
	25	9.169667*	.798356	.000	6.40564	11.93370
	13	-1.645667	.798356	.476	-4.40970	1.11836
	Kontrol positif	9.561000*	.798356	.000	6.79697	12.32503
	Kontrol negatif	13.950000*	.798356	.000	11.18597	16.71403
50	400	-5.642667*	.798356	.000	-8.40670	-2.87864
	200	.000000	.798356	1.000	-2.76403	2.76403
	100	-8.621000*	.798356	.000	-11.38503	-5.85697
	25	.548667	.798356	.996	-2.21536	3.31270
	13	-10.266667*	.798356	.000	-13.03070	-7.50264
	Kontrol positif	.940000	.798356	.927	-1.82403	3.70403
	Kontrol negatif	5.329000*	.798356	.000	2.56497	8.09303
25	400	-6.191333*	.798356	.000	-8.95536	-3.42730
	200	-.548667	.798356	.996	-3.31270	2.21536
	100	-9.169667*	.798356	.000	-11.93370	-6.40564
	50	-.548667	.798356	.996	-3.31270	2.21536
	13	-10.815333*	.798356	.000	-13.57936	-8.05130
	Kontrol positif	.391333	.798356	1.000	-2.37270	3.15536
	Kontrol negatif	4.780333*	.798356	.000	2.01630	7.54436
13	400	4.624000*	.798356	.001	1.85997	7.38803
	200	10.266667*	.798356	.000	7.50264	13.03070
	100	1.645667	.798356	.476	-1.11836	4.40970
	50	10.266667*	.798356	.000	7.50264	13.03070
	25	10.815333*	.798356	.000	8.05130	13.57936
	Kontrol positif	11.206667*	.798356	.000	8.44264	13.97070
	Kontrol negatif	15.595667*	.798356	.000	12.83164	18.35970
Kontrol	400	-6.582667*	.798356	.000	-9.34670	-3.81864
positif	200	-.940000	.798356	.927	-3.70403	1.82403
	100	-9.561000*	.798356	.000	-12.32503	-6.79697
	50	-.940000	.798356	.927	-3.70403	1.82403

	25	-.391333	.798356	1.000	-3.15536	2.37270
	13	-11.206667*	.798356	.000	-13.97070	-8.44264
	Kontrol negatif	4.389000*	.798356	.001	1.62497	7.15303
Kontrol negatif	400	-10.971667*	.798356	.000	-13.73570	-8.20764
	200	-5.329000*	.798356	.000	-8.09303	-2.56497
	100	-13.950000*	.798356	.000	-16.71403	-11.18597
	50	-5.329000*	.798356	.000	-8.09303	-2.56497
	25	-4.780333*	.798356	.000	-7.54436	-2.01630
	13	-15.595667*	.798356	.000	-18.35970	-12.83164
	Kontrol positif	-4.389000*	.798356	.001	-7.15303	-1.62497

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

Homogeneous Subsets

indeksstimulan

Tukey HSD^a

Konsentrasi	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol negatif	3	100.00000			
Kontrol positif	3		104.38900		
25	3		104.78033		
200	3		105.32900		
50	3		105.32900		
400	3			110.97167	
100	3				113.95000
13	3				115.59567
Sig.		1.000	.927	1.000	.476

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Terlihat kedelapan kelompok uji terbagi dalam empat subset, yang menunjukkan :

1. Kelompok uji dengan konsentrasi 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ FEJT, kontrol positif dan kontrol negatif tidak mempunyai perbedaan yang nyata, karena berada dalam satu subset.
2. Kelompok uji konsentrasi 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dan 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ FEJT tidak mempunyai perbedaan yang nyata, karena berada dalam satu subset.
3. Kelompok uji konsentrasi 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ FEJT mempunyai perbedaan yang nyata dengan kelompok uji konsentrasi yang lain, karena berada dalam satu subset.
4. Kelompok uji konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dan 12,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ tidak mempunyai perbedaan yang nyata, karena berada dalam satu subset.

Lampiran 7. Perhitungan uji sitotoksik tunggal IC₅₀ FEJT terhadap sel T47D

Data Hasil Uji sitotoksik FEJT terhadap sel kanker payudara T47D

Kontrol sel dan kontrol media

Absorbansi Kontrol sel	A	Absorbansi kontrol media	B	(A – B)
0,658		0,142		
0,713	0,69	0,139	0,14	0,55
0,697		0,143		
0,716		0,153		

Keterangan :

A : Rata-rata absorbansi kontrol sel

B : Rata-rata absorbansi kontrol media

Absorbansi setelah perlakuan

Konsentrasi	Absorbansi
1000	0,168
800	0,170
400	0,244
200	0,514
100	0,578
50	0,593

Persentase kehidupan sel T47D

Konsentrasi	% sel hidup	Rata-rata %sel hidup
	$\frac{(\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media}) \times 100\%}{(\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{Absorbansi kontrol media})}$	
1000	4,700	3,995
800	5,052	5,581
400	18,096	18,096
200	65,687	68,683
100	76,968	77,497
50	79,612	83,490

Uji statistik Perhitungan IC₅₀ FEJT terhadap T47D

Data Information

		N of Cases
Valid		6
Rejected	Missing	0
	LOG Transform Cannot be Done	0
	Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group		0

Convergence Information

	Number of Iterations	Optimal Solution Found
PROBIT	13	Yes

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a konsentrasi	-2.265	.152	-14.905	.000	-2.562	-1.967
Intercept	5.081	.357	14.252	.000	4.725	5.438

a. PROBIT model: PROBIT(p) = Intercept + BX (Covariates X are transformed using the base 10,000 logarithm.)

Chi-Square Tests

	Chi-Square	df ^a	Sig. ^b
PROBIT Pearson Goodness-of-Fit Test	38.646	4	.000 ^b

a. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

b. Since the significance level is less than ,150, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

Cell Counts and Residuals

Number	konsentrasi	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT 1	3.000	100	4	4.341	-.169	.043
2	2.903	100	5	6.772	-1.837	.068
3	2.602	100	9	20.861	-11.715	.209
4	2.301	100	67	44.846	22.075	.448
5	2.000	100	75	70.958	4.424	.710
6	1.699	100	80	89.138	-9.408	.891

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a						
.010	1866.772	738.959	43948.931	3.271	2.869	4.643
.020	1414.873	610.535	23105.263	3.151	2.786	4.364
.030	1186.709	539.686	15399.614	3.074	2.732	4.188
.040	1039.660	491.134	11365.884	3.017	2.691	4.056
.050	933.594	454.361	8888.010	2.970	2.657	3.949
.060	851.885	424.831	7216.353	2.930	2.628	3.858
.070	786.147	400.187	6016.489	2.896	2.602	3.779
.080	731.603	379.048	5116.359	2.864	2.579	3.709
.090	685.291	360.540	4418.323	2.836	2.557	3.645
.100	645.256	344.075	3862.844	2.810	2.537	3.587
.150	502.913	281.115	2233.763	2.701	2.449	3.349
.200	412.542	236.172	1465.160	2.615	2.373	3.166
.250	348.070	200.529	1034.912	2.542	2.302	3.015
.300	298.807	170.490	769.107	2.475	2.232	2.886
.350	259.403	144.248	594.033	2.414	2.159	2.774

.400	226.829	120.898	473.339	2.356	2.082	2.675
.450	199.212	100.037	387.084	2.299	2.000	2.588
.500	175.318	81.517	323.425	2.244	1.911	2.510
.550	154.290	65.292	274.928	2.188	1.815	2.439
.600	135.504	51.306	236.748	2.132	1.710	2.374
.650	118.489	39.445	205.652	2.074	1.596	2.313
.700	102.864	29.544	179.430	2.012	1.470	2.254
.750	88.305	21.399	156.520	1.946	1.330	2.195
.800	74.505	14.799	135.734	1.872	1.170	2.133
.850	61.117	9.540	116.029	1.786	.980	2.065
.900	47.634	5.437	96.183	1.678	.735	1.983
.910	44.852	4.741	92.035	1.652	.676	1.964
.920	42.012	4.084	87.769	1.623	.611	1.943
.930	39.097	3.464	83.345	1.592	.540	1.921
.940	36.080	2.881	78.709	1.557	.459	1.896
.950	32.923	2.333	73.780	1.517	.368	1.868
.960	29.564	1.820	68.431	1.471	.260	1.835
.970	25.901	1.339	62.441	1.413	.127	1.795
.980	21.724	.890	55.354	1.337	-.051	1.743
.990	16.465	.466	45.891	1.217	-.331	1.662

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Lampiran 8. Perhitungan uji sitotoksik tunggal IC₅₀ doksorubisin terhadap sel T47D

Data Hasil Uji sitotoksik Doksorubisin terhadap sel kanker payudara T47D

Kontrol sel dan kontrol media

Absorbansi Kontrol sel	A	Absorbansi kontrol media	B	(A – B)
0,648		0,102		
0,634	0,64	0,102	0,10	0,54
0,643		0,098		

Keterangan :

A : Rata-rata absorbansi kontrol sel

B : Rata-rata absorbansi kontrol media

Absorbansi setelah perlakuan

Konsentrasi	Absorbansi		
0,098	0,105	0,101	0,103
0,049	0,103	0,100	0,100
0,024	0,108	0,113	0,108
0,012	0,274	0,309	0,251
0,006	0,511	0,529	0,597
0,003	0,607	0,636	0,596

Persentase sel hidup

Konsentrasi	% sel hidup	Rata-rata %sel hidup
	$\frac{(\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media}) \times 100\%}{(\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{Absorbansi kontrol media})}$	
0,098	0,801	0,43
0,049	0,246	0,34
0,024	1,356	1,66
0,012	32,039	32,77
0,006	75,847	82,25
0,003	93,592	94,70

Uji statistik Perhitungan IC₅₀ Doksurubisin terhadap T47D

Data Information

		N of Cases
Valid		6
Rejected	Missing	0
	LOG Transform Cannot be Done	0
	Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group		0

Convergence Information

	Number of Iterations	Optimal Solution Found
PROBIT	18	Yes

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a konsentrasi	-3.909	.290	-13.468	.000	-4.478	-3.340
Intercept	-7.968	.597	-13.336	.000	-8.566	-7.371

a. PROBIT model: PROBIT(p) = Intercept + BX (Covariates X are transformed using the base 10,000 logarithm.)

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df ^a	Sig. ^b
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	70.669	4	.000 ^b

a. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

b. Since the significance level is less than ,150, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

Cell Counts and Residuals

Number	konsentrasi	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT 1	-1.009	100	0	.003	.428	.000
2	-1.310	100	0	.220	.119	.002
3	-1.620	100	2	5.093	-3.429	.051
4	-1.921	100	33	32.310	.469	.323
5	-2.222	100	82	76.354	5.901	.764
6	-2.523	100	95	97.092	-2.391	.971

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^b		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a .010	.036	.017	303.022	-1.443	-1.776	2.481
.020	.031	.015	92.574	-1.513	-1.821	1.966
.030	.028	.014	43.730	-1.557	-1.850	1.641
.040	.026	.013	24.914	-1.590	-1.873	1.396
.050	.024	.013	15.785	-1.617	-1.892	1.198
.060	.023	.012	10.714	-1.641	-1.909	1.030
.070	.022	.012	7.635	-1.661	-1.924	.883
.080	.021	.012	5.642	-1.679	-1.938	.751
.090	.020	.011	4.288	-1.695	-1.951	.632
.100	.019	.011	3.334	-1.710	-1.963	.523
.150	.017	.010	1.187	-1.773	-2.017	.074
.200	.015	.009	.531	-1.823	-2.068	-.275
.250	.014	.008	.271	-1.866	-2.119	-.567
.300	.012	.007	.151	-1.904	-2.174	-.820
.350	.011	.006	.091	-1.940	-2.238	-1.042
.400	.011	.005	.058	-1.973	-2.314	-1.237

.450	.010	.004	.039	-2.006	-2.407	-1.405
.500	.009	.003	.028	-2.038	-2.523	-1.548
.550	.009	.002	.022	-2.070	-2.664	-1.665
.600	.008	.001	.017	-2.103	-2.831	-1.760
.650	.007	.001	.015	-2.137	-3.025	-1.837
.700	.007	.001	.013	-2.172	-3.246	-1.901
.750	.006	.000	.011	-2.211	-3.498	-1.957
.800	.006	.000	.010	-2.254	-3.790	-2.009
.850	.005	.000	.009	-2.303	-4.139	-2.059
.900	.004	.000	.008	-2.366	-4.587	-2.114
.910	.004	.000	.007	-2.381	-4.697	-2.126
.920	.004	.000	.007	-2.398	-4.816	-2.139
.930	.004	.000	.007	-2.416	-4.947	-2.153
.940	.004	.000	.007	-2.436	-5.094	-2.168
.950	.003	.000	.007	-2.459	-5.263	-2.185
.960	.003	.000	.006	-2.486	-5.461	-2.204
.970	.003	.000	.006	-2.519	-5.705	-2.227
.980	.003	.000	.006	-2.564	-6.031	-2.256
.990	.002	.000	.005	-2.633	-6.546	-2.301

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Lampiran 9. Uji sitotoksik kombinasi FEJT dan doksorubisin terhadap sel T47D

Data Hasil Uji sitotoksik kombinasi FEJT dan doksorubisin terhadap sel kanker payudara T47D

Kontrol sel dan kontrol media

Absorbansi Kontrol sel	A	Absorbansi kontrol media	B	(A – B)
0,687		0,150		
0,725	0,71	0,153	0,15	0,55
0,706		0,154		

Keterangan :

A : Rata-rata absorbansi kontrol sel

B : Rata-rata absorbansi kontrol media

Absorbansi setelah perlakuan

Kelompok Uji	Absorbansi*		
A	0,506	0,521	0,517
B	0,485	0,491	0,498
C	0,483	0,488	0,483
D	0,487	0,476	0,480
E	0,190	0,194	0,192
F	0,576	0,550	0,566

Keterangan :

A : Kombinasi 43,83 µg/mL FEJT dan 0,005 µg/mL doksorubisin

B : Kombinasi 87,65 µg/mL FEJT dan 0,005 µg/mL doksorubisin

C : Kombinasi 175,32 µg/mL FEJT dan 0,005 µg/mL doksorubisin

D : Kombinasi 350,63 µg/mL FEJT dan 0,005 µg/mL doksorubisin

E : Kombinasi 701,27 µg/mL FEJT dan 0,005 µg/mL doksorubisin

F : 0,005 µg/mL doksorubisin

* : Data diperoleh dari replikasi sebanyak tiga kali untuk masing-masing kelompok uji

Persentase sel hidup dari sel kanker payudara sel T47D

Kelompok uji	% sel hidup $\frac{(\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media}) \times 100\%}{(\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{Absorbansi kontrol media})}$	Rata-rata %sel hidup
A	63,877	65,44
B	60,084	61,23
C	59,723	60,02
D	60,446	59,36
E	6,803	7,16
F	76,520	74,35

Uji Statistik

1. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test (Uji normalitas)

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
T47D	18	54.59556	22.468838	6.803	76.520

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		T47D
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	54.59556
	Std. Deviation	22.468838
Most Extreme Differences	Absolute	.402
	Positive	.165
	Negative	-.402
Kolmogorov-Smirnov Z		1.704
Asymp. Sig. (2-tailed)		.006

a. Test distribution is Normal.

Sebelum dilakukan analisa statistik, pertama kali dilakukan uji normalitas untuk melihat sebaran data penelitian:

Kriteria:

Asymp. Sig. (2-tailed) > 0,05 : data terdistribusi normal

Asymp. Sig. (2-tailed) < 0,05 : data terdistribusi tidak normal

Jika data normal dilanjutkan uji parametrik (one way ANOVA), apabila data tidak normal maka uji yang dipakai adalah uji non-parametrik (kruskall wallis).

Data diatas menunjukkan nilai Asymp. Sig. (2-tailed) = 0,06 (normal).

Berarti data tersebut mengikuti distribusi normal sehingga dapat dilakukan analisis variansi

2. One-Way Anova

Descriptives

T47D

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4x IC50 FEJT	3	7.16433	.361500	.208712	6.26632	8.06235	6.803	7.526
2x IC50 FEJT	3	59.36200	1.005790	.580693	56.86348	61.86052	58.459	60.446
1x IC50 FEJT	3	60.02400	.521347	.301000	58.72890	61.31910	59.723	60.626
1/2x IC50 FEJT	3	61.22800	1.175149	.678473	58.30877	64.14723	60.084	62.432
1/4x IC50 FEJT	3	65.44233	1.402862	.809943	61.95743	68.92724	63.877	66.586
1/2 Dokso	3	74.35267	2.368760	1.367604	68.46834	80.23699	71.824	76.520
Total	18	54.59556	22.46883	5.295956	43.42207	65.76905	6.803	76.520

Test of Homogeneity of Variances

T47D

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.980	5	12	.154

ANOVA

T47D

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8561.680	5	1712.336	990.350	.000
Within Groups	20.748	12	1.729		
Total	8582.428	17			

Kriteria uji:

Sig.> 0,05 : tidak terdapat perbedaan signifikan

Sig.< 0,05 : terdapat perbedaan signifikan

Nilai Sig. = .000 (< 0,05). Jadi terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan

3. Tukey test

Multiple Comparisons

T47D

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
4x IC50 FEJT	2x IC50 FEJT	-52.197667*	1.073629	.000	-55.80390	-48.59143
	1x IC50 FEJT	-52.859667*	1.073629	.000	-56.46590	-49.25343
	1/2x IC50 FEJT	-54.063667*	1.073629	.000	-57.66990	-50.45743
	1/4x IC50 FEJT	-58.278000*	1.073629	.000	-61.88424	-54.67176
	1/2 Dokso	-67.188333*	1.073629	.000	-70.79457	-63.58210
2x IC50 FEJT	4x IC50 FEJT	52.197667*	1.073629	.000	48.59143	55.80390
	1x IC50 FEJT	-.662000	1.073629	.988	-4.26824	2.94424
	1/2x IC50 FEJT	-1.866000	1.073629	.535	-5.47224	1.74024
	1/4x IC50 FEJT	-6.080333*	1.073629	.001	-9.68657	-2.47410
	1/2 Dokso	-14.990667*	1.073629	.000	-18.59690	-11.38443
1x IC50 FEJT	4x IC50 FEJT	52.859667*	1.073629	.000	49.25343	56.46590
	2x IC50 FEJT	.662000	1.073629	.988	-2.94424	4.26824
	1/2x IC50 FEJT	-1.204000	1.073629	.864	-4.81024	2.40224
	1/4x IC50 FEJT	-5.418333*	1.073629	.003	-9.02457	-1.81210
	1/2 Dokso	-14.328667*	1.073629	.000	-17.93490	-10.72243
1/2x IC50 FEJT	4x IC50 FEJT	54.063667*	1.073629	.000	50.45743	57.66990
	2x IC50 FEJT	1.866000	1.073629	.535	-1.74024	5.47224
	1x IC50 FEJT	1.204000	1.073629	.864	-2.40224	4.81024
	1/4x IC50 FEJT	-4.214333*	1.073629	.019	-7.82057	-.60810
	1/2 Dokso	-13.124667*	1.073629	.000	-16.73090	-9.51843
1/4x IC50 FEJT	4x IC50 FEJT	58.278000*	1.073629	.000	54.67176	61.88424
	2x IC50 FEJT	6.080333*	1.073629	.001	2.47410	9.68657
	1x IC50 FEJT	5.418333*	1.073629	.003	1.81210	9.02457
	1/2x IC50 FEJT	4.214333*	1.073629	.019	.60810	7.82057
	1/2 Dokso	-8.910333*	1.073629	.000	-12.51657	-5.30410

1/2 Dokso	4x IC ₅₀ FEJT	67.188333*	1.073629	.000	63.58210	70.79457
	2x IC ₅₀ FEJT	14.990667*	1.073629	.000	11.38443	18.59690
	1x IC ₅₀ FEJT	14.328667*	1.073629	.000	10.72243	17.93490
	1/2x IC ₅₀ FEJT	13.124667*	1.073629	.000	9.51843	16.73090
	1/4x IC ₅₀ FEJT	8.910333*	1.073629	.000	5.30410	12.51657

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

Homogeneous Subsets

T47D

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4x IC ₅₀ FEJT	3	7.16433			
2x IC ₅₀ FEJT	3		59.36200		
1x IC ₅₀ FEJT	3			60.02400	
1/2x IC ₅₀ FEJT	3				61.22800
1/4x IC ₅₀ FEJT	3				65.44233
1/2 Dokso	3				74.35267
Sig.		1.000	.535	1.000	1.000

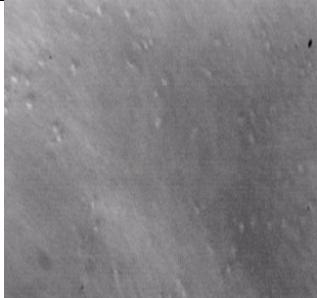
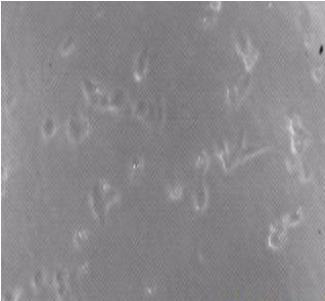
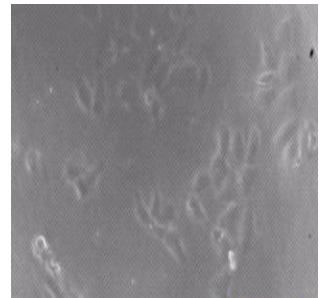
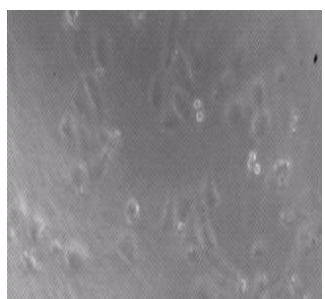
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

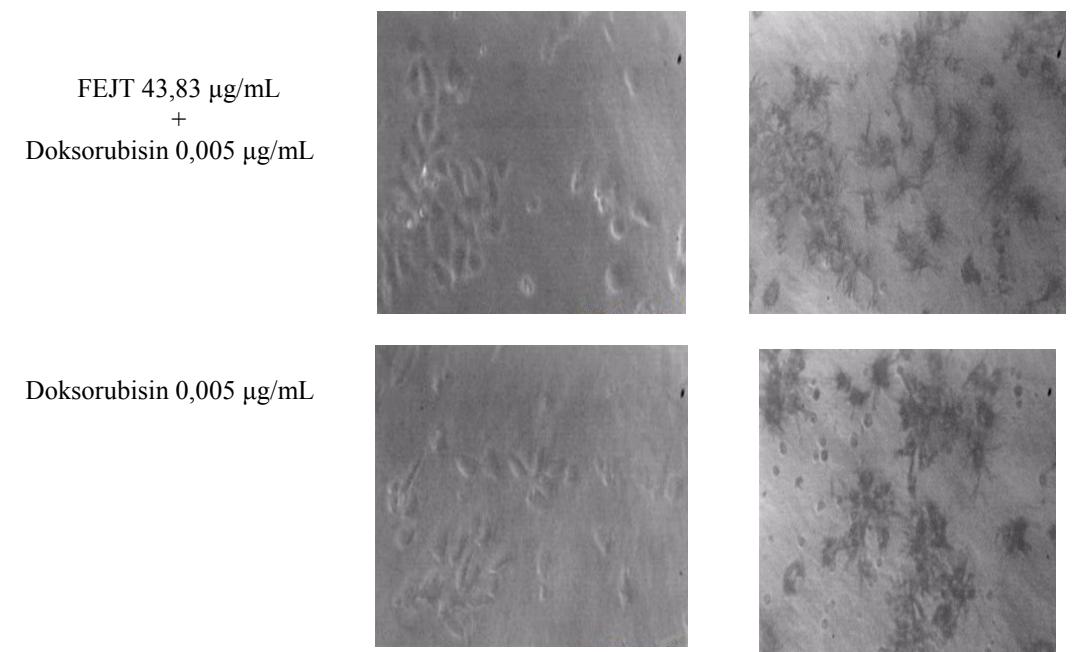
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Terlihat keenam kelompok uji terbagi dalam empat subset, yang menunjukkan :

1. Kelompok uji 4x IC₅₀ FEJT (701,27 µg/mL) mempunyai perbedaan yang nyata dengan kelompok uji yang lain, karena berada dalam satu subset.
2. Kelompok uji 2x IC₅₀ FEJT (350,63 µg/mL); 1x IC₅₀ FEJT (175,32 µg/mL) dan 1/2x IC₅₀ FEJT (87,65 µg/mL) tidak mempunyai perbedaan yang nyata, karena berada dalam satu subset.
3. Kelompok uji 1/4x IC₅₀ FEJT (43,83 µg/mL) mempunyai perbedaan yang nyata dengan kelompok uji yang lain, karena berada dalam satu subset.
4. Kelompok uji 1/2x IC₅₀ Doksorubisin (0,005 µg/mL) memiliki perbedaan yang nyata dengan kelompok uji 4x IC₅₀ FEJT (701,27 µg/mL); dan 2x IC₅₀ FEJT (350,63 µg/mL); 1x IC₅₀ FEJT (175,32 µg/mL); 1/2x IC₅₀ FEJT (87,65 µg/mL); 1/4x IC₅₀ FEJT (43,83 µg/mL) karena tidak berada dalam satu subset yang sama.

Lampiran 10. Foto uji sitotoksik kombinasi FEJT dan doksorubisin terhadap sel T47D

Perlakuan kombinasi	Sebelum perlakuan	Sesudah perlakuan
FEJT 701,27 µg/mL + Doksorubisin 0,005 µg/mL		
FEJT 350,63 µg/mL + Doksorubisin 0,005 µg/mL		
FEJT 175,32 µg/mL + Doksorubisin 0,005 µg/mL		
FEJT 87,65 µg/mL + Doksorubisin 0,005 µg/mL		



Lampiran 11. Uji sitotoksik kombinasi FEJT dan doktorubisin terhadap sel Vero

Data Hasil Uji sitotoksik kombinasi FEJT dan doktorubisin terhadap sel Vero

Kontrol sel dan kontrol media

Absorbansi Kontrol sel	A	Absorbansi kontrol media	B	(A - B)
---------------------------	---	-----------------------------	---	-----------

0,915		0,198		
0,916	0,92	0,196	0,19	0,72
0,914		0,197		

Keterangan :

A : Rata-rata absorbansi kontrol sel

B : Rata-rata absorbansi kontrol media

Absorbansi setelah perlakuan

Kelompok Uji	Absorbansi*		
A	0,343	0,329	0,339
B	0,349	0,341	0,352
C	0,365	0,355	0,363
D	0,357	0,373	0,363
E	0,404	0,401	0,409
F	0,329	0,319	0,330

Keterangan :

A : Kombinasi 43,83 µg/mL FEJT dan 0,005 µg/mL doktorubisin

B : Kombinasi 87,65 µg/mL FEJT dan 0,005 µg/mL doktorubisin

C : Kombinasi 175,32 µg/mL FEJT dan 0,005 µg/mL doktorubisin

D : Kombinasi 350,63 µg/mL FEJT dan 0,005 µg/mL doktorubisin

E : Kombinasi 701,27 µg/mL FEJT dan 0,005 µg/mL doktorubisin

F : 0,005 µg/mL doktorubisin

* : Data diperoleh dari replikasi sebanyak tiga kali untuk masing-masing kelompok uji

Persentase sel hidup dari sel kanker payudara sel Vero

Kelompok uji	% sel hidup		Rata-rata %sel hidup
	(Absorbansi perlakuan – Absorbansi kontrol media) x 100%	(Absorbansi kontrol sel – Absorbansi kontrol media)	
A	20,334	18,384	19,49
B	21,169	20,055	20,94
C	23,398	22,005	22,84
D	22,284	24,512	22,84
E	28,830	28,412	28,92
F	18,384	16,991	17,96

Uji Statistik

1. *One-Sample Kolmogrov-Smirnov Test*(Uji normalitas)

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
vero	18	22.3301	3.59174	16.99	29.53

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		vero
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	22.3301
	Std. Deviation	3.59174
Most Extreme Differences	Absolute	.161
	Positive	.161
	Negative	-.121
Kolmogorov-Smirnov Z		.683
Asymp. Sig. (2-tailed)		.740

a. Test distribution is Normal.

Sebelum dilakukan analisa statistik, pertama kali dilakukan uji normalitas untuk melihat sebaran data penelitian:

Kriteria:

Asymp. Sig. (2-tailed) > 0,05 : data terdistribusi normal

Asymp. Sig. (2-tailed) < 0,05 : data terdistribusi tidak normal

Jika data normal dilanjutkan uji parametrik (one way ANOVA), apabila data tidak normal maka uji yang dipakai adalah uji non-parametrik (kruskall wallis).

Data diatas menunjukkan nilai Asymp. Sig. (2-tailed) = 0,740 > 0,05.

Berarti data tersebut mengikuti distribusi normal sehingga dapat dilakukan analisis variansi

2. One-Way Anova

Descriptives

vero

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
4x IC50 FEJT	3	28.9227	.56274	.32490	27.5248	30.3206	28.41	29.53
2x IC50 FEJT	3	23.3050	1.12559	.64986	20.5089	26.1011	22.28	24.51
1x IC50 FEJT	3	22.8409	.73671	.42534	21.0108	24.6709	22.01	23.40
1/2x IC50 FEJT	3	20.6573	.81677	.47156	18.6284	22.6863	20.06	21.59
1/4x IC50 FEJT	3	20.2880	.34729	.20051	19.4253	21.1507	19.92	20.61
1/2 Dokso	3	17.9666	.84718	.48912	15.8621	20.0711	16.99	18.52
Total	18	22.3301	3.59174	.84658	20.5439	24.1162	16.99	29.53

Test of Homogeneity of Variances

vero

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.072	5	12	.423

ANOVA

vero

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	212.047	5	42.409	70.063	.000
Within Groups	7.264	12	.605		
Total	219.310	17			

Kriteria uji:

Sig.> 0,05 : tidak terdapat perbedaan signifikan

Sig.< 0,05 : terdapat perbedaan signifikan

Nilai Sig. = .000 (< 0,05). Jadi terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan

3. *Tukey test***Post Hoc Tests**

Multiple Comparisons

vero

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
4x IC50 FEJT	2x IC50 FEJT	5.61769*	.63524	.000	3.4840	7.7514
	1x IC50 FEJT	6.08184*	.63524	.000	3.9481	8.2156
	1/2x IC50 FEJT	8.26536*	.63524	.000	6.1316	10.3991
	1/4x IC50 FEJT	8.63469*	.63524	.000	6.5010	10.7684
	1/2 Dokso	10.95612*	.63524	.000	8.8224	13.0899
2x IC50 FEJT	4x IC50 FEJT	-5.61769*	.63524	.000	-7.7514	-3.4840
	1x IC50 FEJT	.46414	.63524	.974	-1.6696	2.5979
	1/2x IC50 FEJT	2.64767*	.63524	.013	.5139	4.7814
	1/4x IC50 FEJT	3.01700*	.63524	.005	.8833	5.1507
	1/2 Dokso	5.33843*	.63524	.000	3.2047	7.4722
1x IC50 FEJT	f4x IC50 FEJT	-6.08184*	.63524	.000	-8.2156	-3.9481
	2x IC50 FEJT	-.46414	.63524	.974	-2.5979	1.6696
	1/2x IC50 FEJT	2.18352*	.63524	.044	.0498	4.3173
	1/4x IC50 FEJT	2.55286*	.63524	.016	.4191	4.6866
	1/2 Dokso	4.87428*	.63524	.000	2.7405	7.0080
1/2x IC50 FEJT	4x IC50 FEJT	-8.26536*	.63524	.000	-10.3991	-6.1316
	2x IC50 FEJT	-2.64767*	.63524	.013	-4.7814	-.5139
	1x IC50 FEJT	-2.18352*	.63524	.044	-4.3173	-.0498
	1/4x IC50 FEJT	.36933	.63524	.990	-1.7644	2.5031
	1/2 Dokso	2.69076*	.63524	.011	.5570	4.8245
1/4x IC50 FEJT	4x IC50 FEJT	-8.63469*	.63524	.000	-10.7684	-6.5010
	2x IC50 FEJT	-3.01700*	.63524	.005	-5.1507	-.8833
	1x IC50 FEJT	-2.55286*	.63524	.016	-4.6866	-.4191
	1/2x IC50 FEJT	-.36933	.63524	.990	-2.5031	1.7644
	1/2 Dokso	2.32143*	.63524	.030	.1877	4.4552

1/2 Dokso	4x IC ₅₀ FEJT	-10.95612*	.63524	.000	-13.0899	-8.8224
	2x IC ₅₀ FEJT	-5.33843*	.63524	.000	-7.4722	-3.2047
	1x IC ₅₀ FEJT	-4.87428*	.63524	.000	-7.0080	-2.7405
	1/2x IC ₅₀ FEJT	-2.69076*	.63524	.011	-4.8245	-.5570
	1/4x IC ₅₀ FEJT	-2.32143*	.63524	.030	-4.4552	-.1877

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

Homogeneous Subsets

vero

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
1/2 Dokso	3	17.9666			
1/4x IC ₅₀ FEJT	3		20.2880		
1/2x IC ₅₀ FEJT	3			20.6573	
1x IC ₅₀ FEJT	3				22.8409
2x IC ₅₀ FEJT	3				23.3050
4x IC ₅₀ FEJT	3				28.9227
Sig.		1.000	.990	.974	1.000

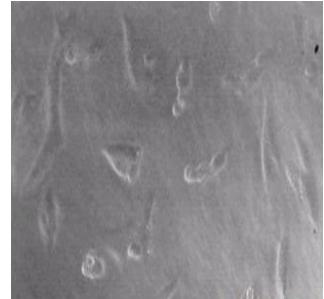
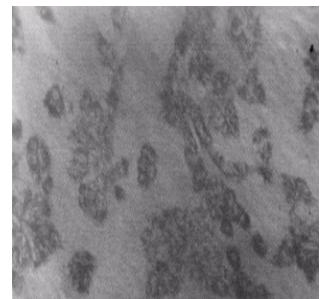
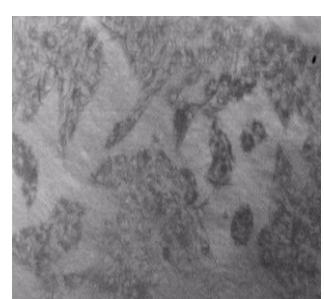
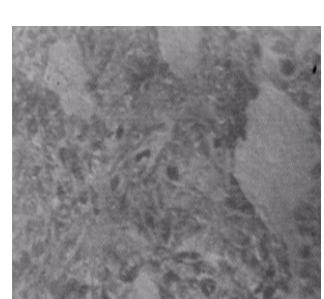
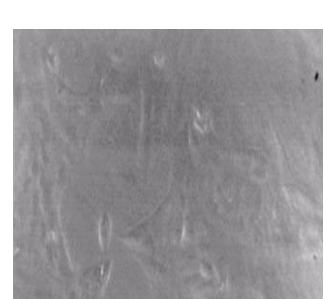
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

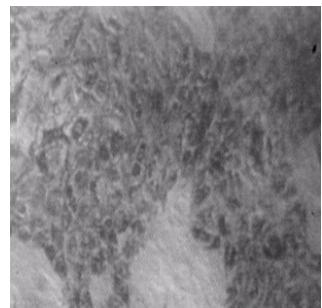
Terlihat keenam kelompok uji terbagi dalam empat subset, yang menunjukkan :

1. Kelompok uji 1/2x IC₅₀Doksorubisin (0,005 µg/mL) mempunyai perbedaan yang nyata, karena berada dalam satu subset.
2. Kelompok uji 1/4x IC₅₀ FEJT (43,83 µg/mL) dan 1/2x IC₅₀ FEJT (87,65 µg/mL) tidak mempunyai perbedaan yang nyata, karena berada dalam satu subset.
3. Kelompok uji 1x IC₅₀ FEJT (175,32 µg/mL) dan 2x IC₅₀FEJT (350,63 µg/mL) tidak mempunyai perbedaan yang nyata, karena berada dalam satu subset.
4. Kelompok uji 4x IC₅₀ FEJT (701,27 µg/mL) mempunyai perbedaan yang nyata dengan kelompok uji lainnya, karena berada dalam satu subset.

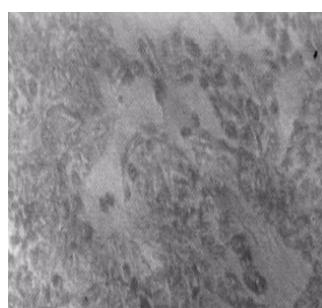
Lampiran 12. Foto uji sitotoksik kombinasi FEJT dan doktorubisin terhadap sel Vero

Perlakuan kombinasi	Sebelum perlakuan	Sesudah perlakuan
FEJT 701,27 µg/mL & doksorubisin 0,005 µg/mL		
FEJT 350,63 µg/mL & doksorubisin 0,005 µg/mL		
FEJT 175,32 & doksorubisin 0,005 µg/mL		
FEJT 87,65 µg/mL & doksorubisin 0,005 µg/mL		
FEJT 43,83 µg/mL &		

doksorubisin 0,005 µg/mL



Doksorubisin 0,005 µg/mL



Lampiran 13. Perhitungan IC₅₀ dari uji kombinasi FEJT dan doktorubisin terhadap sel T47D dan sel Vero

Perhitungan IC₅₀ dari uji kombinasi FEJT dan Doktorubisin terhadap t47D

Data Information

		N of Cases
Valid		7
Rejected	Missing	39
	LOG Transform Cannot be	0
	Done	0
	Number of Responses >	0
	Number of Subjects	0
Control Group		0

Convergence Information

	Number of Iterations	Optimal Solution Found
PROBIT	9	Yes

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a Konsentrasi	-.862	.106	-8.153	.000	-1.070	-.655
Intercept	.022	.052	.430	.667	-.030	.075

a. PROBIT model: PROBIT(p) = Intercept + BX (Covariates X are transformed using the base 10,000 logarithm.)

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df ^a	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	59.504	5	.000 ^b

a. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

b. Since the significance level is less than .150, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

Cell Counts and Residuals

Number	Konsentrasi	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	.602	100	7	30.969	-23.809	.310
	.301	100	59	40.627	18.733	.406
	.000	100	60	50.895	9.125	.509
	-.301	100	62	61.103	1.147	.611
	-.602	100	62	70.595	-8.585	.706
	-.903	100	71	78.848	-8.288	.788
	-.301	100	74	61.103	13.247	.611

Confidence Limits

Probability	95% Confidence Limits for Konsentrasi			95% Confidence Limits for log(Konsentrasi) ^b		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	529.508	.	.	2.724	.	.
	255.706	.	.	2.408	.	.
	161.126	.	.	2.207	.	.
	113.836	.	.	2.056	.	.
	85.812	.	.	1.934	.	.
	67.465	.	.	1.829	.	.
	54.637	.	.	1.737	.	.
	45.235	.	.	1.655	.	.
	38.096	.	.	1.581	.	.
	32.526	.	.	1.512	.	.

.150	16.903	.	.	1.228	.
.200	10.047	.	.	1.002	.
.250	6.430	.	.	.808	.
.300	4.307	.	.	.634	.
.350	2.971	.	.	.473	.
.400	2.088	.	.	.320	.
.450	1.485	.	.	.172	.
.500	1.062	.	.	.026	.
.550	.759	.	.	-.120	.
.600	.540	.	.	-.268	.
.650	.379	.	.	-.421	.
.700	.262	.	.	-.582	.
.750	.175	.	.	-.756	.
.800	.112	.	.	-.950	.
.850	.067	.	.	-1.176	.
.900	.035	.	.	-1.460	.
.910	.030	.	.	-1.529	.
.920	.025	.	.	-1.603	.
.930	.021	.	.	-1.685	.
.940	.017	.	.	-1.777	.
.950	.013	.	.	-1.882	.
.960	.010	.	.	-2.004	.
.970	.007	.	.	-2.155	.
.980	.004	.	.	-2.356	.
.990	.002	.	.	-2.672	.

a. A heterogeneity factor is used.

b. Logarithm base = 10.

Perhitungan IC₅₀ dari uji kombinasi FEJT dan doktorubisin terhadap sel Vero

Data Information

		N of Cases
Valid		7
Rejected	Missing	0
	LOG Transform Cannot be	0
	Done	0
	Number of Responses >	0
	Number of Subjects	0
Control Group		0

Convergence Information

	Number of Iterations	Optimal Solution Found
PROBIT	11	Yes

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a konsentrasi	.238	.111	2.149	.032	.021	.456
Intercept	-.752	.055	-13.546	.000	-.807	-.696

a. PROBIT model: PROBIT(p) = Intercept + BX (Covariates X are transformed using the base 10,000 logarithm.)

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df ^a	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	.788	5	.978 ^b

a. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

b. Since the significance level is greater than .150, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

Cell Counts and Residuals

	Number	konsentrasi	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	1	.602	100	29	27.151	1.769	.272
	2	.301	100	23	24.825	-1.515	.248
	3	.000	100	23	22.610	.230	.226
	4	-.301	100	21	20.511	.419	.205
	5	-.602	100	19	18.532	.958	.185
	6	-.903	100	17	16.677	.683	.167
	7	-.301	100	18	20.511	-2.551	.205

Confidence Limits

	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a			
	Probability	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	.010	.000	.000	.000	-6.606	-73.567	-3.506
	.020	.000	.000	.001	-5.462	-60.585	-2.904
	.030	.000	.000	.003	-4.737	-52.350	-2.521
	.040	.000	.000	.006	-4.191	-46.156	-2.233
	.050	.000	.000	.010	-3.747	-41.118	-1.997
	.060	.000	.000	.016	-3.369	-36.831	-1.796

.070	.001	.000	.024	-3.038	-33.072	-1.619
.080	.002	.000	.035	-2.741	-29.708	-1.460
.090	.003	.000	.049	-2.471	-26.649	-1.314
.100	.006	.000	.066	-2.223	-23.834	-1.179
.150	.064	.000	.256	-1.194	-12.207	-.593
.200	.420	.001	1.325	-.377	-3.215	.122
.250	2.110	.768	223381.808	.324	-.115	5.349
.300	8.992	2.171	2.379E12	.954	.337	12.376
.350	34.465	4.729	9.293E18	1.537	.675	18.968
.400	123.327	9.545	1.734E25	2.091	.980	25.239
.450	423.403	18.580	2.050E31	2.627	1.269	31.312
.500	1425.463	35.552	1.956E37	3.154	1.551	37.291
.550	4799.073	67.764	1.873E43	3.681	1.831	43.273
.600	16476.015	130.187	2.244E49	4.217	2.115	49.351
.650	58956.989	255.201	4.311E55	4.771	2.407	55.635
.700	225961.205	518.018	1.807E62	5.354	2.714	62.257
.750	963209.160	1110.862	2.536E69	5.984	3.046	69.404
.800	4840682.842	2595.186	2.309E77	6.685	3.414	77.363
.850	3.179E7	6971.107	4.376E86	7.502	3.843	86.641
.900	3.393E8	24143.937	2.066E98	8.531	4.383	98.315
.910	6.011E8	32588.082	1.364E101	8.779	4.513	101.135
.920	1.119E9	45137.533	1.577E104	9.049	4.655	104.198
.930	2.216E9	64577.146	3.682E107	9.346	4.810	107.566
.940	4.752E9	96331.479	2.127E111	9.677	4.984	111.328
.950	1.134E10	151996.011	4.151E115	10.055	5.182	115.618
.960	3.154E10	259714.264	4.559E120	10.499	5.414	120.659
.970	1.108E11	501740.657	7.173E126	11.045	5.700	126.856
.980	5.892E11	1203860.183	1.240E135	11.770	6.081	135.093
.990	8.203E12	4781082.872	1.195E148	12.914	6.680	148.077

a. Logarithm base = 10.

