

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini sebagai berikut :

1. Minyak atsiri kulit batang kayu manis memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker kolon WiDr dengan nilai IC_{50} sebesar 13,70 $\mu\text{g/ml}$.
2. Nilai IC_{50} minyak atsiri kulit batang kayu manis berbeda signifikan dengan aktifitas yang tidak lebih poten jika dibandingkan dengan nilai IC_{50} doksorubisin dalam menghambat pertumbuhan sel kanker kolon WiDr.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengkaji mekanisme molekuler protein yang terlibat dalam aktivitas sitotoksik.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjut untuk mengkaji tingkat keamanan minyak atsiri kulit batang kayu manis dengan penelitian secara *in vitro* terhadap sel lestari Vero.
3. Perlu dilakukan penelitian secara *in vivo* untuk mengembangkan potensi minyak atsiri kulit batang kayu manis menjadi sediaan fitofarmaka dalam terapi kanker kolon yang efektif.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, Andria. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bogor : Penerbit ITB Bandung. Hlm 8-16.
- Al-Bayati, F.A., Muthanna J.M. 2009. Isolation, identification, and purification of cinnamaldehyde from *Cinnamomum zeylanicum* bark oil. An Antibacterial study, Pharmaceutical Biology. *Formerly International Journal of Pharmacognosy* Vol 47, No.1 61-66. <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1080/13880200802430607> [15 Desember 2013].
- Anjarsari, E. Y. 2013. Potensi destilat kayu manis *Cinnamomum burmanii* sebagai agen ko-kemoterapi doxorubicin melalui induksi apoptosis pada sel kanker payudara T47D [Skripsi]. Yogyakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Anonim. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi 3. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Anonim. 1980. *Materia Medika Indonesia Jilid I - IV*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I) Jilid 1*. Jakarta : Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Hlm 67-68.
- Anonim. 1987. Analisis Obat Tradisional. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Anonim. 2009. Rekam medis rumah sakit kanker dharmais : statistik kanker 10 besar kanker tersering rskd rawat jalan (kasus baru) tahun 2007. <http://www.dharmais.co.id/index.php/cancer-statistic.html> [5 November 2013].
- Anonim. 2013. Pubchem Compound : Cinnamic aldehyde-compound summary. <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=637511> [8 Januari 2014].
- Anonim. 2013. WiDr cell lines. http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=1227. [8 Desember 2013].
- Badan Standardisasi Nasional. 2006. *Standar Nasional Indonesia*. SNI 01-3553-2006.
- Budiani, Dyah Ratna. 2009. *Mengenal ciri-ciri sel kanker, sebagai bekal dalam mengkaji potensi chemopreventif suatu senyawa anti tumor*. CCRC UGM. Yogyakarta. ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?p=1902 [18 Juni 2014].

- Anonim. 2008. *Informatorium Obat Nasional Indonesia 2008*. Jakarta : Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- CCRC. 2009. Protokol uji sitotoksik. CCRC Fakultas Farmasi UGM. <http://ccrcfarmasiugm.wordpress.com/protokol> [5 November 2013].
- Chen, Tai-Hung *et al.* 2009. Cytotoxic lignan esters from *Cinnamomum osmophloeum*. *Planta Med.* 2010 ; 76 : 613-619.
- Cheng, S.S., Liu J.Y., Huang C.G., Hsui Y.R., Chen W.J., Chang S.T. 2009. Insecticidal activities of leaf essential oils from *Cinnamomum osmophloeum* against three mosquito species. *Bioresour Technol*, 100 (1) : 457-464.
- Corwin, Elizabeth J. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Ed ke-3. Nike Budhi Subekti, penerjemah; Egi Komara Yudha *et al.*, editor. Jakarta : EGC. Terjemahan dari : *Handbook of Pathophysiology*.
- Da'I, M., E. Meiyanto, Supardjan A.M. 2003. Efek antiproliferatif pentagamavunon-0 terhadap sel myeloma. *Sains Kesehatan*, 17 (1), Januari 2004.
- Dalimartha, S. 2004. *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Kanker 1*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Depkes. 2006. Deteksi dini kanker usus besar. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Di Piro, Joseph T., Robert LT., Gary CY., Gary RM., Barbara GW., L. Michael P. 2008. *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*. Edisi ke-7. New York : McGraw-Hill, Medical Publishing Division.
- Doyle, Alan and J. Brian Griffiths, editor. 2000. *Cell and Tissue Culture : Laboratory Procedures in Biotechnology*. London : British Library.
- Drummond, C. 2007. The mechanism of anti tumor activity of the DNA binding agent SN 28049. [Thesis] university of Auckland. New Zealand.
- Dalimartha, S. 2007. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jakrata : Trubus Agriwidya.
- Freshney, R.L. 1986. *Animal Cell Culture : A Practical Approach*. 1st edition. Washington DC : IRL Press.
- Miskovitz, P. M. D., Betancourt M. 2005. *The Doctor's Guide to Gastrointestinal Health : Preventing and Treating Acid Reflux, Ulcers, Irritable Bowel Syndrome, Diverticulitis, Celiac Disease, Colon Cancer, Pancreatitis, Cirrhosis, Hernias and More*.
Online books.

[http://books.google.co.id/books/about/The Doctor s Guide to Gastrointestinal H.html](http://books.google.co.id/books/about/The_Doctor_s_Guide_to_Gastrointestinal_H.html) [9 November 2013]

- Franks M., Teich Mn. 1997. *Introduction to The Celluler and Molecular Biology of Cancer*. 3rd edition. New York : Oxford University Press.
- Goldin, A., Serpick, A. A., Mantel, N., *Experimental screening procedures and clinical predictability value* Cancer Chemoth. Rep., 50, 190-231 (I 966).
- Guenther, Ernest, editor. 1990. *Minyak Atsiri*. Jilid IV A. S. Ketaren, penerjemah. Jakarta : Penerbit Universitas Indonesia. hlm 106-107.
- Gunawan, D., Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid I. Jakarta : Penebar Swadaya. Hlm 106-107.
- Hanahan, D., R.A. Weinberg. 2011. Hallmarks of cancer : the next generation. *Cell* 144, March 4, 2011. Elseiver Inc.
- Hariana H, Arief. 2007. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Seri 2. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terbitan kedua. Bandung : Penerbit ITB Bandung.
- Inna, Mutma, Novi Atmania, Septika Primasari. 2010. Potensial use of *Cinnamomum burmanii* essential oil-based chewing gum as oral antibiofilm agent.. *Journal of Dentistry Indonesia* 2010, Vol. 17, No. 3, 80-86.
- Ka, H., Park H.J. , Jung H.J., Choi J.W., Cho K.S., Ha J., Lee K.T. 2003. Cynnamaldehyde induces apoptosis by ROS-mediated mitochondrial permeability transition in human promyelocytic leukemia HL-60 cells. *Cancer letter*, 196 : 143-152
- Katzung, B.G. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Buku 2. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, penerjemah. Jakarta : Salemba Medika. Terjemahan dari : *Basic & Clinical Pharmacology*. hlm 449-462.
- Koh, W.S., Yoon S.Y., Kwon B.M., Jeong T.C., Nam K.S., Han M.Y. 1998. Cynnamaldehyde inhibits lymphocyte proliferation and modulates T-cell differentiation. *International Journal Immunopharmacology* 1998 Nov; 20 (11) : 643-660.<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9848396> [4 Januari 2014].
- Kwon, B.M., Seung H.L., Young K.C., Song H.B., Seung H.S., Mi R.Y., Soo I.C. 1997. Synthesis and biological activity of cinnamaldehyde as angiogenesis inhibitors. *Bioorg. Med.Chem. Lett.*, 7, 2473-2476.
- King, R. J. B. 2000. *Cancer Biology*. 2nd edition. London : Pearson Educated Limited.

- Kwon, B.M., Lee S.H., Choi S.U., Park S.H., Lee C.O., Cho Y.K., Sung N.D., Bok S.H. 1998. Synthesis and in vitro cytotoxicity of cinnamaldehyde to human solid tumor cells. *Arch. Pharm. Res.* Apr 21 (2) : 147-152. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9875422> [4 Januari 2014].
- Kumar,V., Abbas, A.K., Fausto, N. 2005. *Robbins and Cotran Pathologic Basic of Disease*. 7th edition. Philadelphia : Elseiver Inc.
- Larasati, Yonika Arum. 2013. Studi pengaruh kombinasi cisplatin dengan destilat kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap efek sitotoksik dan induksi apoptosis pada sel kanker serviks HeLa. [Skripsi]. Yogyakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Lee, H.S. 2002. Inhibitory activity of *Cinnamomum cassia* bark-derived component against rat lens aldosa reductase. *J. Pharm Sci.* 2002 Sep-Dec; 5 (3) : 226-230. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12553890> [4 Januari 2014].
- Levrero, M., De L.V., Costanzo A., Gong J., Wang J.Y., Melino G. 2000. The p53/p63/p73 family of transcription factors: overlapping and distinct functions. *Journal of Cell Science.* 2000 May; **113** (Pt 10) :1661-1670.
- Meiyanto, E., Supardjan A.M., Da'i, M. 2003. Antiproliferative effect of PGV-0 (a curcumin analogue) against HeLa cells. *Gama Sains*, 5 (3): 200-206.
- Nafrialdi, Sulistia Gan. 2007. *Farmakologi dan Terapi* edisi 5 (cetak ulang dengan tambahan, 2012). Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI. Jakarta : Badan Penerbit FKUI Hlm 732-739.
- Nakagama, Nakanishi, Ochiai. 2005. Modelling human colon cancer in rodents using a food-borne carcinogen. *Cancer Sci.* 96 : 627-636.
- Ng, L.T., Wu S.J. 2009. Antiproliverative activity of *Cinnamomum cassia* constituents and effects of pifithrin-alpha on their apoptocic signaling pathways in hep G2 cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2011, article ID 492148.
- Noguchi, P., Wallace R. 1979. Characterization of WiDr : a human colon carcinoma cell line, journal in vitro cellular and developmental. *Biology Plant* 15, 401-408.
- Novel S. Sinta, Sukma N., Ratu S. 2010. Kanker serviks dan infeksi umum *Human pappilomavirus* (HPV). Bandung : Javamedia network.

- Nurrochmad, A., Kristina S.A. 2004. Effect of *Curcuma zedoaria* Rosc. ethanolic extract on the lung tumor growth on post initiation phase in female mice induced by benzo(a)pyrene. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 15 (1): 7 – 12.
- Pahl H. 1999. Activators and target genes of rel/NFκB transcription factors. *Oncogene*, 18 : 6853-6866
- Palozza, P., Serini, S., Maggiano, N., Giuseppe, T., Navarra, P. Ranelletti, F.O. 2005. Downregulates the Steady-State and Heregulin-a-Induced COX-2 Pathways in Colon Cancer Cells. *Journal of Nutr.* **135**:129-136.
- Pecorino, Lauren. 2012. *Molecular Biology of Cancer : Mechanisms, Targets, and Therapeutics. Third edition.* Oxford University Press.
- Piantadosi, C., Skulason, V. G., Irvin, J. L., Powell, J. M. and Hall, L., *Potential antitumor agents. Schiffbases and hydrazone derivatives of pyrimidine-4-carboxaldehydes.* *Journal. MecL. Chem.*, 7, 337-348 (I 964).
- Priyanto. 2008. *Farmakologi Dasar : Untuk Mahasiswa Farmasi & Keperawatan.* Edisi ke-2. Lilian Batubara ; editor. Jakarta : penerbit Leskonfi. Hlm 86-96.
- Ravindran, P.N., K. Nirmal Babu, M. Shylaja, editor. 2004. *Cinnamon and Cassia the Genus Cinnamomum.* Florida : CRC Press. hlm 279.
- Rismunandar. 1995. *Kayu Manis.* Jakarta : Penebar Swadaya.
- Rismunandar., Farry B. Paimin. 2001. *Kayu Manis Budi Daya & Pengolahan.* Jakarta : Penebar Swadaya.
- Sastrohamidjojo, H. 2004. *Kimia Minyak Atsiri.* Yogyakarta : Gadjah Mada University Press. hlm 9-10.
- Sharififar, F., Moshafi M.H., Dehghan N.G., Ameri A., Alishahi F., Pourhemati A. 2009. Bioassay screening of the essential oil and various extracts from 4 spices medicinal plants. *Pak Journal Pharm Science.*; 22(3): 317-322. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19553182> [9 Desember 2013].
- Singh, G., Maurya, S.S., Delampasona, M.P., and Catalan, C.A.N. 2007. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oil, oleoresins and their constituents. *Food chem. Toxicol.*
- Siswandono, Soekardjo, B. 2000. *Kimia Medisinal edisi 2.* Airlangga University. Surabaya.
- Stahl, E. 1985. *Analisa Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopis.* Padmawinanto, K., Sudiro L., penerjemah. Bandung : Penerbit ITB.

- Sukardja, I Dewa Gede. 2000. *Onkologi Klinik Edisi 2*. Surabaya : Airlangga University Press.
- Tan HT, Rahardja K. 2002. *Obat-obat Penting*. Edisi kelima. Jakarta : PT Elex Media Komputindo. hlm 309-310.
- Ueda, J.Y., Tesuka, Y., Banskota, A.H., Tran, Q.L., Hariyama, Y., Saiki, I., dan Kadota, S. 2002. Antiprolifative activity of Vietnamese medicinal plants. *Biology pharm*, bull, 25 (6) : 753-760.
- Vangalapati, Meena *et al*. 2012. A review on pharmacological activities and clinical effects of cinnamon species. *RJPBCS* Vol. 3 Issue 1, page No. 653.
- Walpole, R. E. 1993. *Pengantar Statistika*. Edisi ke-3. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Wijaya, Jefry, J. Salenussa, J. Marantika. 2013. Potensi ekstrak methanol daun kapur (*Harmsiopanax aculaus*, Harms) sebagai obat antialaria. Prodi Pendidikan Kimia, FKIP Universitas Pattimura.
- Wijayanti, W.A., Yulfi Z., Perry B. 2010. Minyak atsiri dari kulit batang *Cinnamomum burmanii* (kayu manis) dari famili lauraceae sebagai insektisida alami, antibakteri, dan antioksidan. Surabaya : Laboratorium Kimia Organik F-MIPA Kimia ITS.
- Zahari, Asril. 2011. Deteksi Dini, Diagnosa, dan Penatalaksanaan Kanker Kolon dan Rektum. Divisi Bedah Digestif RS Dr. M. Djamil. *Supplement Majalah Kedokteran Andalas* hlm 98-99.

L
A
M
P
I
R
A
N

Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi



No : 033/DET/UPT-LAB/06/III/2013
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Sari Wijayanti
NIM : 15092772 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : Kayu manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.)

Hasil determinasi berdasarkan : Backer: FLORA OF JAVA

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b –
26b – 27a – 799b – 800b – 801b – 802b – 806b – 807b – 809b – 810b – 811b – 825b – 826b –
827c – 828c – 829b – 830b – 831b – 832b – 833b – 834a – 835a – 836a – 837c – 851a – 852b –
853b – 854a – 855c – 856a – 857a – 858a – 859b. familia 12. Lauraceae. 1b – 2b – 6b – 8b.
Cinnamomum. 1a – 2b – 5a – 6b. *Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.

Deskripsi:

Habitus : Pohon, tinggi dapat mencapai 15 meter.
Batang : Berkayu, percabangan monopodial.
Daun : Tunggal, bangun lanset, ujung runcing, pangkal runcing, permukaan atas berwarna hijau tua, permukaan bawah hijau muda, tulang daun melengkung,
Bunga : Majemuk, malai tumbuh di ketiak daun, berwarna kuning.
Buah : buni, waktu masih muda berwarna hijau, setelah tua berwarna hitam.
Akar : Sistem akar tunggang.

Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only).
N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands



Surakarta, 06 Maret 2013
Tim determinasi

[Signature]
Dra.Kartinah Wiryoendjojo, SU.



UPT- LABORATORIUM

No : 036/DET/UPT-LAB/09/III/2013
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Aldiia Widya Putri
NIM : 15092632 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : Kayu manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.)

Hasil determinasi berdasarkan : Backer: FLORA OF JAVA

1b - 2b - 3b - 4b - 12b - 13b - 14b - 17b - 18b - 19b - 20b - 21b - 22b - 23b - 24b - 25b -
26b - 27a - 799b - 800b - 801b - 802b - 806b - 807b - 809b - 810b - 811b - 825b - 826b -
827c - 828c - 829b - 830b - 831b - 832b - 833b - 834a - 835a - 836a - 837c - 851a - 852b -
853b - 854a - 855c - 856a - 857a - 858a - 859b. familia 12. Lauraceae. 1b - 2b - 6b - 8b.

Cinnamomum. 1a - 2b - 5a - 6b. *Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.

Deskripsi:

Habitus : Pohon, tinggi dapat mencapai 15 meter.
Batang : Berkayu, percabangan monopodial.
Daun : Tunggal, bangun lanset, ujung runcing, pangkal runcing, permukaan atas berwarna hijau tua, permukaan bawah hijau muda, tulang daun melengkung.
Bunga : Majemuk, malai tumbuh di ketiak daun, berwarna kuning.
Buah : buni, waktu masih muda berwarna hijau, setelah tua berwarna hitam.
Akar : Sistem akar tunggang.

Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only).
N.V.P. Noordhoff - Groningen - The Netherlands



Surakarta, 08 Maret 2013

Tm determinasi

Dra. Kartinah Wiryosoendjojo, SU.

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt.

NIP/NIS : 01.04.075

Selaku pembimbing skripsi dari mahasiswa :

Nama : Zahra Imama

NIM : 16103011 A

Judul Skripsi : Uji Sitotoksik Minyak Atsiri Kulit Batang Kayu Manis

(*Cinnamomum burmanii* Nees ex. Bl.) pada Sel Kanker Kolon WiDr

menyatakan bahwa minyak atsiri kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Nees ex. Bl.) yang digunakan dalam penelitian skripsi tersebut sama dengan minyak atsiri kulit batang kayu manis yang digunakan oleh Sari Wijayanti (15092772 A) dan Aldila Widya Putri (15092632 A) dalam penelitian yang lain, dan telah dilakukan identifikasi tanaman kayu manis di Laboratorium Morfologi dan Sistemik Tumbuhan, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Demikian surat pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya dan dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 05 Mei 2014



Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt.

NIS 01.04.075

Lampiran 2. Tanaman kayu manis, kulit batang kayu manis, dan destilasi

a. Tanaman kayu manis



b. kulit batang kayu manis



c. Destilasi uap dan air



d. pemisahan minyak dan air

Lampiran 3. Identifikasi minyak atsiri kulit batang kayu manis



a. Foto hasil uji identifikasi minyak atsiri kulit batang kayu manis menggunakan kertas saring.



b. foto pemeriksaan indeks bias

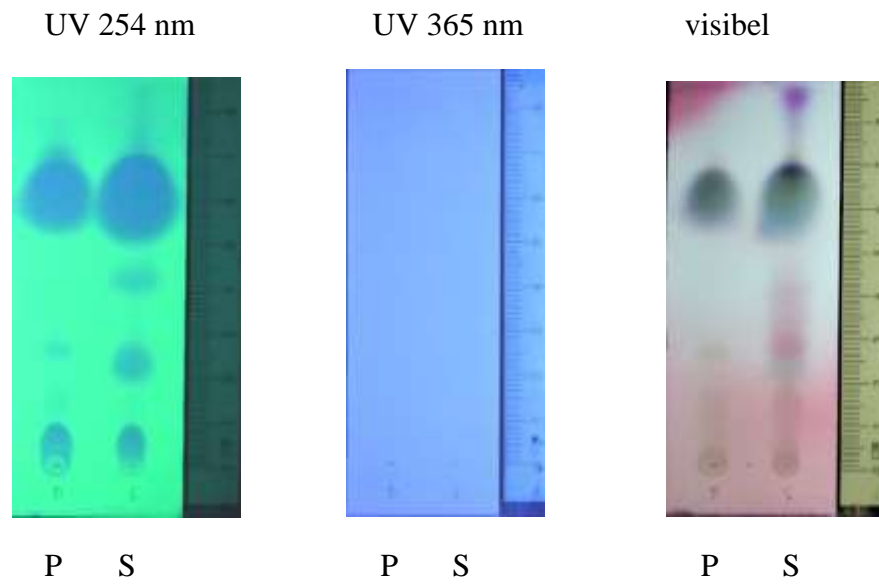


c. minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh



d. minyak atsiri kulit batang kayu manis dengan Sudan III

Lampiran 4. Hasil identifikasi sinamaldehyd dengan KLT



Keterangan :

P : standar sinamaldehyd

S : minyak atsiri kulit batang kayu manis

Warna spot sinamaldehyd di visible : biru kelabu

Rf sinamaldehyd : 0.76

$$\begin{aligned} \text{Perhitungan Rf} &= \frac{\text{jarak bercak dari awal totolan}}{\text{jarak elusi}} \\ &= \frac{6.5}{8.5} = 0.76 \end{aligned}$$

Lampiran 5. Data hasil perhitungan kadar minyak atsiri kulit batang kayu manis pada penelitian sebelumnya

Kulit batang kayu manis yang digunakan sebanyak 20 kg

Bobot simplisia kayu manis (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Kadar (%)
2000	4	0,2
2000	4	0,2
2000	4	0,2
2000	4	0,2
2000	4	0,2
2000	4	0,2
2000	4	0,2
2000	4	0,2
2000	4	0,2
2000	4	0,2
2000	4	0,2
2000	4	0,2
2000	4	0,2
2000	4	0,2
2000	4	0,2
	Rata-rata	0,2

Perhitungan persen kadar :

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{volume minyak}}{\text{Bobot sampel}} \times 100\%$$

Bobot sampel

$$1. \frac{4}{2000} \times 100 \% = 0,2 \%$$

$$2. \frac{4}{2000} \times 100\% = 0,2 \%$$

Jadi kadar minyak atsiri kulit batang kayu manis adalah 0,2%

Lampiran 6. Data hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri kulit batang kayu manis pada penelitian sebelumnya

Indeks bias praktek (25 °C)	Pustaka
1,574	Indeks bias minyak atsiri kulit batang kayu manis (20 °C) 1,559-1,595 (Anonim 2006)

Perhitungan konversi suhu ruang dalam pemeriksaan indeks bias:

Faktor konversi suhu pada setiap kenaikan 1°C = 0,0004

Indeks bias teoritis 20°C = 1,5559-1,595

Suhu ruang Praktek 25°C

Perhitungan :

$$= ((25-20) \times 0,0004)$$

$$= 0,002$$

Jadi indeks bias teoritis pada suhu 25°C adalah

$$= (1,559 + 0,002) - (1,595 + 0,002)$$

$$= 1,561 - 1,597$$

Indeks bias menurut praktek adalah 1,574

Jadi, Indeks bias menurut praktek sama dengan indeks bias menurut pustaka.

Lampiran 7. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri kulit batang kayu manis

Bobot timbang kosong (g)	Bobot timbang + air (g)	Bobot timbang + minyak (g)	Berat minyak (g)
26,993	31,905	31,734	4,741
26,993	31,820	31,913	4,920
26,993	31,787	32,075	5,082
		Rata-rata	1,015

Perhitungan bobot jenis :

$$\text{Bobot timbang + air} = 31,905$$

$$\text{Bobot timbang kosong + air} = \underline{26,993} -$$

$$\text{Bobot air} = 4,912$$

$$\text{Bobot jenis minyak atsiri} = \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}}$$

$$= \underline{4,741}$$

$$4,921$$

$$= 0,965$$

$$\text{Bobot timbang + air} = 31,820$$

$$\text{Bobot timbang kosong} = 26,993$$

$$\text{Bobot air} = 4,794$$

$$\text{Bobot jenis minyak atsiri} = \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}}$$

$$= \underline{5,082}$$

$$4,794$$

$$= 1,060$$

Rata-rata bobot jenis minyak atsiri kulit batang kayu manis

$$= \frac{0,965 + 1,019 + 1,060}{3}$$

3

$$= 1,015$$

Jadi bobot jenis minyak atsiri adalah 1,015%

Perhitungan konversi suhu ruang dalam percobaan bobot jenis :

Faktor konversi suhu pada setiap kenaikan $1^{\circ}\text{C} = 0,0007$

Berat jenis teoritis $20^{\circ}\text{C} = 1,008 - 1,030$

Suhu ruang praktek = 25°C

Perhitungan :

$$(25-20) \times 0,0007 = 0,0035$$

Jadi bobot teoritis pada suhu $25^{\circ}\text{C} = (1,008 + 0,0035) - (1,030 + 0,0035)$

$$= 1,0115 - 1,0335$$

Bobot jenis menurut praktek adalah 1,015

Jadi bobot praktek sesuai dengan bobot jenis menurut pustaka

Lampiran 8. Alat, bahan, dan proses dalam penelitian sitotoksik



a. minyak atsiri kulit batang kayu manis



b. mikroskop *inverted*



a. *neubauer counting chamber*



d. *counter sel*



e. neraca elektrik



f. inkubator



g. filtrasi medium



h. oven untuk sterilisasi alat



i. vortex



j. eppendorf dan mikropipet

k. persiapan uji MTT dalam LAF



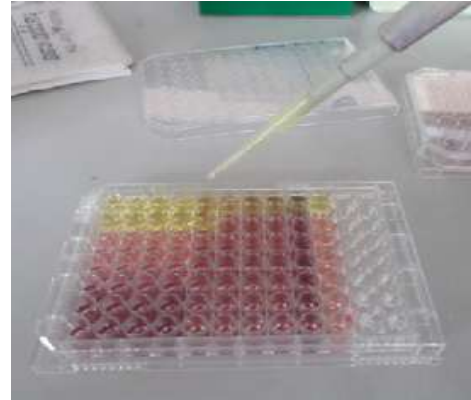
l. kerja dalam LAF



m. inkubasi 37°C



n. SDS 10% dalam HCl 0,01 N
untuk stopper



o. stopper dengan SDS diluar LAF

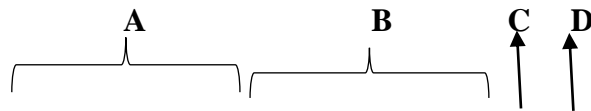


p. Inkubasi *overnight* pada suhu kamar



q. ELISA reader

Lampiran 9. Pola mikroplate uji sitotoksik





Keterangan :

A = sumuran dengan perlakuan minyak atsiri kulit batang kayu manis;

B = sumuran dengan perlakuan Doksorubisin (untuk A dan B berurutan dari atas ke bawah dari konsentrasi 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25 ; 15,63 ; 7,82 ; 3,91 dan 1,96 $\mu\text{g/ml}$) ;

C= sumuran berisi kontrol sel WiDr; D = sumuran berisi kontrol media RPMI 1640.

Lampiran 10. Perhitungan volume panen sel yang diperlukan

Jumlah sel WiDr terhitung /ml

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

$$= \frac{100}{4} \times 10^4 = 25 \times 10^4 / \text{ml}$$

Volume jumlah panen sel yang ditransfer

$$= \frac{\sum \text{total sel yang diperlukan}}{\sum \text{sel terhitung/ml}} = \frac{100 \times 10^4}{25 \times 10^4} = 4 \text{ ml}$$

Lampiran 11. Perhitungan pembuatan larutan

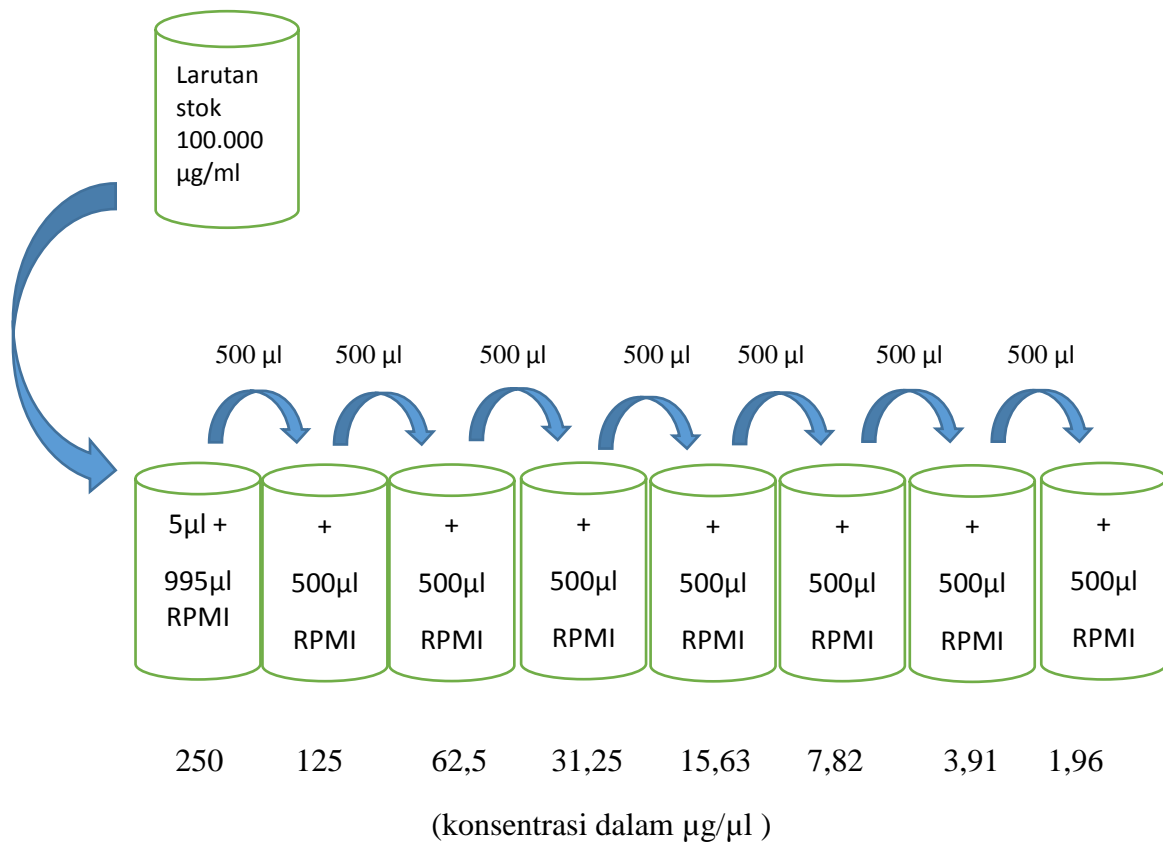
minyak atsiri dengan penambahan DMSO sebagai *co-solvent* dengan

konsentrasi 5mg/50 μ l DMSO

$$5\text{mg} = (5000 \mu\text{g}/50\mu\text{l DMSO}) \times 20$$

$$= 100.000 \mu\text{g}/1000 \mu\text{l}$$

$$= 100.000 \mu\text{g}/\text{ml}$$



1. Dari larutan stok diambil (perhitungan untuk konsentrasi 500 µg/ml)

$$\begin{aligned}
 C_1 \times V_1 &= C_2 \times V_2 \\
 100,000 \text{ µg/ml} \times V_1 &= 500 \text{ µg/ml} \times 1000 \text{ µl} \\
 V_1 &= \frac{500 \text{ µg/ml} \times 1000 \text{ µl}}{100,000 \text{ µg/ml}} \\
 &= 5 \text{ µl larutan stok} + 995 \text{ µl media kultur}
 \end{aligned}$$

Perhitungan konsentrasi dalam sumuran

$$\begin{aligned}
 V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\
 100 \text{ µl} \times 500 \text{ µg/ml} &= 200 \text{ µl} \times C_2 \\
 C_2 &= \frac{100 \text{ µl} \times 500 \text{ µg/ml}}{200 \text{ µl}} \\
 &= 250 \text{ µg/ml}
 \end{aligned}$$

2. Contoh perhitungan untuk konsentrasi 250 µg/ml

$$\begin{aligned}
 C_1 \times V_1 &= C_2 \times V_2 \\
 500 \text{ µg/ml} \times V_1 &= 250 \text{ µg/µl} \times 1000 \text{ µl} \\
 V_1 &= \frac{250 \text{ µg/µl} \times 1000 \text{ µl}}{500 \text{ µg/ml}} \\
 V_1 &= 500 \text{ µl}
 \end{aligned}$$

Perhitungan konsentrasi dalam sumuran

$$\begin{aligned}
 V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\
 100 \text{ µl} \times 250 \text{ µg/ml} &= 200 \text{ µl} \times C_2 \\
 C_2 &= \frac{100 \text{ µl} \times 250 \text{ µg/ml}}{200 \text{ µl}} \\
 &= 125 \text{ µg/ml}
 \end{aligned}$$

3. Contoh perhitungan untuk konsentrasi 125 µg/ml

$$\begin{aligned}
 C_1 \times V_1 &= C_2 \times V_2 \\
 250 \text{ µg/ml} \times V_1 &= 125 \text{ µg/ml} \times 1000 \text{ µl} \\
 V_1 &= \frac{125 \text{ µg/ml} \times 1000 \text{ µl}}{250 \text{ µg/ml}} \\
 V_1 &= 500 \text{ µl}
 \end{aligned}$$

Perhitungan konsentrasi dalam sumuran

$$\begin{aligned}
 V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\
 100 \text{ µl} \times 125 \text{ µg/ml} &= 200 \text{ µl} \times C_2 \\
 C_2 &= \frac{100 \text{ µl} \times 125 \text{ µg/ml}}{200 \text{ µl}} \\
 &= 62,5 \text{ µg/ml}
 \end{aligned}$$

4. Contoh perhitungan untuk konsentrasi 62,5 µg/ml

$$\begin{aligned}
 C_1 \times V_1 &= C_2 \times V_2 \\
 125 \text{ µg/ml} \times V_1 &= 62,5 \text{ µg/ml} \times 1000 \text{ µl} \\
 V_1 &= \frac{62,5 \text{ µg/ml} \times 1000 \text{ µl}}{125 \text{ µg/ml}} \\
 V_1 &= 500 \text{ µl}
 \end{aligned}$$

Perhitungan konsentrasi dalam sumuran

$$\begin{aligned}
 V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\
 100 \text{ µl} \times 62,5 \text{ µg/ml} &= 200 \text{ µl} \times C_2 \\
 C_2 &= \frac{100 \text{ µl} \times 62,5 \text{ µg/ml}}{200 \text{ µl}} \\
 &= 31,25 \text{ µg/ml}
 \end{aligned}$$

5. Contoh perhitungan untuk konsentrasi 31,25 µg/ml

$$\begin{aligned}
 C_1 \times V_1 &= C_2 \times V_2 \\
 62,5 \text{ µg/ml} \times V_1 &= 31,25 \text{ µg/ml} \times 1000 \text{ µl}
 \end{aligned}$$

$$V_1 = \frac{31,25 \times 1000}{62,5}$$

$$V_1 = 500 \mu\text{l}$$

Perhitungan konsentrasi dalam sumuran

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$100 \mu\text{l} \times 31,25 \mu\text{g/ml} = 200 \mu\text{l} \times C_2$$

$$C_2 = \frac{100 \mu\text{l} \times 31,25 \mu\text{g/ml}}{200 \mu\text{l}}$$

$$= 15,63 \mu\text{g/ml}$$

6. Contoh perhitungan untuk konsentrasi 15,63 $\mu\text{g/ml}$

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$31,25 \mu\text{g/ml} \times V_1 = 15,63 \mu\text{g/ml} \times 1000 \mu\text{l}$$

$$V_1 = \frac{15,63 \mu\text{g/ml} \times 1000 \mu\text{l}}{31,25 \mu\text{g/ml}}$$

$$V_1 = 500 \mu\text{l}$$

Perhitungan konsentrasi dalam sumuran

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$100 \mu\text{l} \times 15,63 \mu\text{g/ml} = 200 \mu\text{l} \times C_2$$

$$C_2 = \frac{100 \mu\text{l} \times 15,63 \mu\text{g/ml}}{200 \mu\text{l}}$$

$$= 7,82 \mu\text{g/ml}$$

7. Contoh perhitungan untuk konsentrasi 7,82 $\mu\text{g/ml}$

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$15,63 \mu\text{g/ml} \times V_1 = 7,82 \mu\text{g/ml} \times 1000 \mu\text{l}$$

$$V_1 = \frac{7,82 \mu\text{g/ml} \times 1000 \mu\text{l}}{15,63 \mu\text{g/ml}}$$

$$V_1 = 500 \mu\text{l}$$

Perhitungan konsentrasi dalam sumuran

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ 100 \mu\text{l} \times 7,82 \mu\text{g/ml} &= 200 \mu\text{l} \times C_2 \\ C_2 &= \frac{100 \mu\text{l} \times 7,82 \mu\text{g/ml}}{200 \mu\text{l}} \\ &= 3,91 \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

8. Contoh perhitungan untuk konsentrasi 3,91 $\mu\text{g/ml}$

$$\begin{aligned} C_1 \times V_1 &= C_2 \times V_2 \\ 7,82 \mu\text{g/ml} \times V_1 &= 3,91 \mu\text{g/ml} \times 1000 \mu\text{l} \\ V_1 &= \frac{3,91 \mu\text{g/ml} \times 1000 \mu\text{l}}{7,82 \mu\text{g/ml}} \\ V_1 &= 500 \mu\text{l} \end{aligned}$$

Perhitungan konsentrasi dalam sumuran

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ 100 \mu\text{l} \times 3,91 \mu\text{g/ml} &= 200 \mu\text{l} \times C_2 \\ C_2 &= \frac{100 \mu\text{l} \times 3,91 \mu\text{g/ml}}{200 \mu\text{l}} \\ &= 1,96 \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

Lampiran 12. Perhitungan IC₅₀ minyak atsiri kulit batang kayu manis

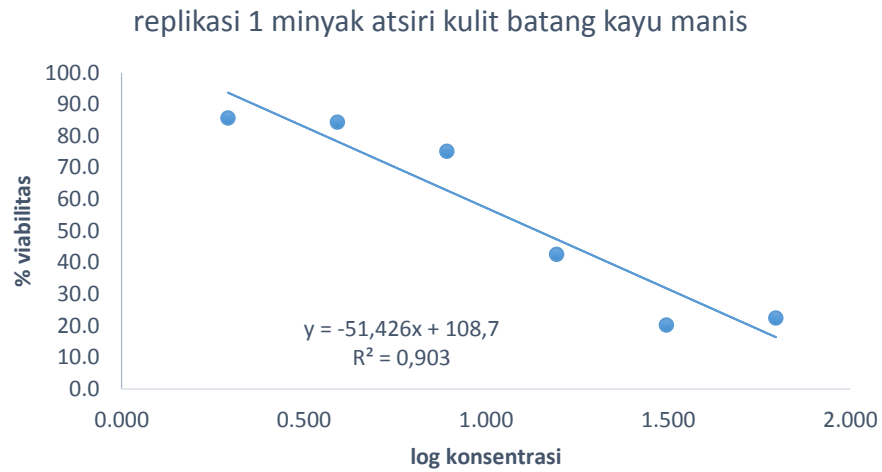
C (µg/ml)	Log C	KS	absorbansi				% viabilitas sel			
			A1	A2	A3	A4	V1	V2	V3	V4
62,5	1,796	0,656	0,147	0,132	0,130	0,163	22,4	20,1	19,8	24,8
31,25	1,495	0,656	0,132	0,146	0,131	0,118	20,1	22,3	20,0	18,0
15,63	1,194	0,656	0,279	0,271	0,280	0,264	42,5	41,3	42,7	40,2
7,82	0,893	0,656	0,493	0,517	0,513	0,576	75,2	78,8	78,2	87,8
3,91	0,592	0,656	0,553	0,521	0,492	0,487	84,3	79,4	75,0	74,2
1,96	0,292	0,656	0,562	0,566	0,603	0,542	85,7	86,3	91,9	82,6

Keterangan : KS = kontrol sel setelah dikurangi kontrol médium

C = konsentrasi minyak atsiri kulit batang kayu manis

A = absorbansi setelah dikurangi kontrol medium

V = viabilitas sel WiDr



Nilai $r = 0,950$

perhitungan IC_{50} replikasi 1 :

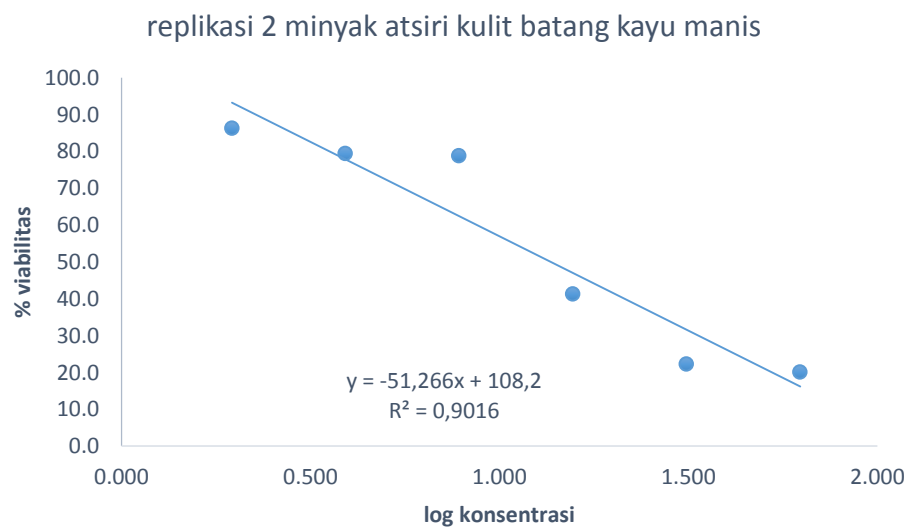
$$y = bx + a$$

$$50 = -51,426x + 108,7$$

$$x = (50 - 108,7) / -51,426$$

$$x = 1,141445961$$

antilog $1,141445961 = 13,85 \mu\text{g/ml}$



Nilai $r = 0,949$

perhitungan IC_{50} replikasi 2 :

$y =$

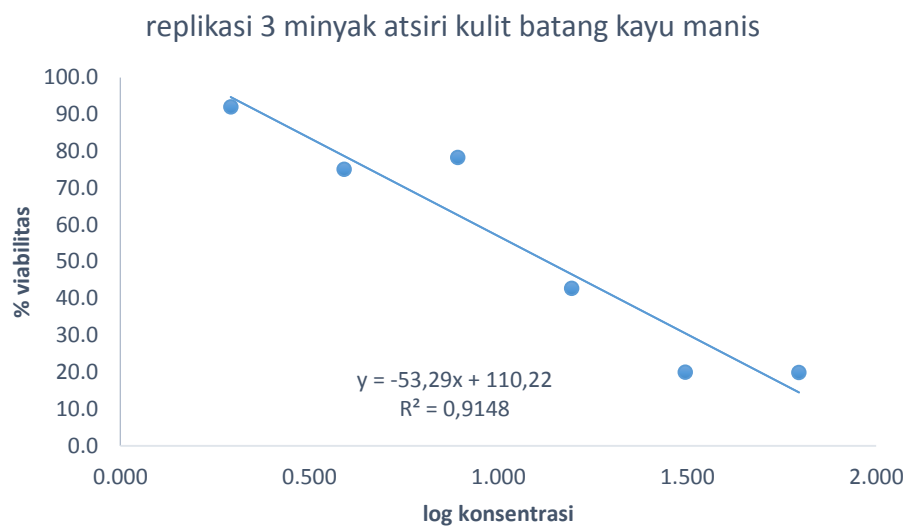
$bx + a$

$$50 = -51,266x + 108,2$$

$$x = (50 - 108,2) / -51,266$$

$$x = 1,135255335$$

$$\text{antilog } 1,135255335 = 13,65 \text{ } \mu\text{g/ml}$$



Nilai $r = 0,956$

perhitungan IC_{50} replikasi 3 :

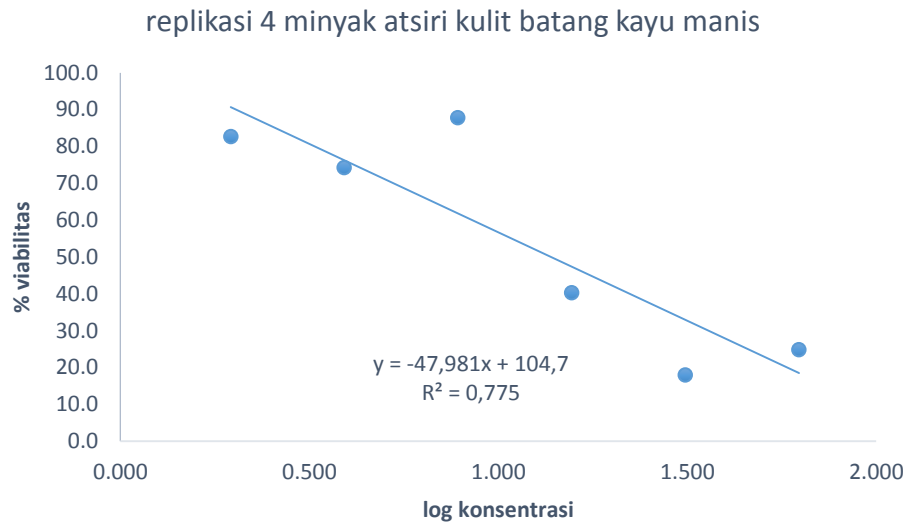
$$y = bx + a$$

$$50 = -53,29x + 110,22$$

$$x = (50 - 110,22) / -53,29$$

$$x = 1,13004316$$

$$\text{antilog } 1,13004316 = 13,49 \text{ } \mu\text{g/ml} = IC_{50}$$



Nilai $r = 0,880$

perhitungan IC_{50} replikasi 4 :

$$y = bx + a$$

$$50 = -47,981x + 104,7$$

$$x = (50 - 104,7) / -47,981$$

$$x = 1,140034597$$

$$\text{antilog } 1,140034597 = 13,80 \mu\text{g/ml}$$

replikasi	Persamaan	Nilai r	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
1	$y = -51,426x + 108,7$	0,950	13,85
2	$y = -51,266x + 108,2$	0,949	13,65
3	$y = -53,29x + 110,22$	0,956	13,49
4	$y = -47,981x + 104,7$	0,880	13,80
			13,70

Interpretasi data uji sitotoksik dengan perlakuan minyak atsiri kulit batang kayu manis :

1. Persamaan regresi linear log konsentrasi minyak atsiri kulit batang kayu manis versus persen viabilitas sel WiDr didapatkan 4 persamaan
2. Tingkat linearitas antar variabel viabilitas sel dengan log konsentrasi dihitung dengan koefisien korelasi (R) sebesar 0,950; 0,949, 0,956 dan 0,880.
3. Nilai koefisien korelasi antara 0,81-1,00 artinya memiliki korelasi yang kuat atau tinggi antara kedua variabel
4. Angka determinasi (R^2) adalah 0,903 pada replikasi 1 yang berarti kurang lebih 90 % respon viabilitas sel WiDr dipengaruhi oleh variabel konsentrasi minyak atsiri kulit batang kayu manis yang diaplikasikan, sedangkan sisanya 10% dijelaskan oleh pengaruh lain, begitu seterusnya pada replikasi dua, tiga dan empat.
5. Perhitungan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi senyawa yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan sel hingga 50% dan didapat rerata 13,70 $\mu\text{g/ml}$

Lampiran 13. Perhitungan IC_{50} Doksorubisin

C ($\mu\text{g/ml}$)	Log C	KS	absorbansi				% viabilitas			
			A1	A2	A3	A4	V1	V2	V3	V4
62,5	1,796	0,656	0,132	0,169	0,165	0,081	20,1	25,8	25,2	12,3
31,25	1,495	0,656	0,226	0,225	0,257	0,204	34,5	34,3	39,2	31,1
15,63	1,194	0,656	0,271	0,261	0,284	0,247	41,3	39,8	43,3	37,7

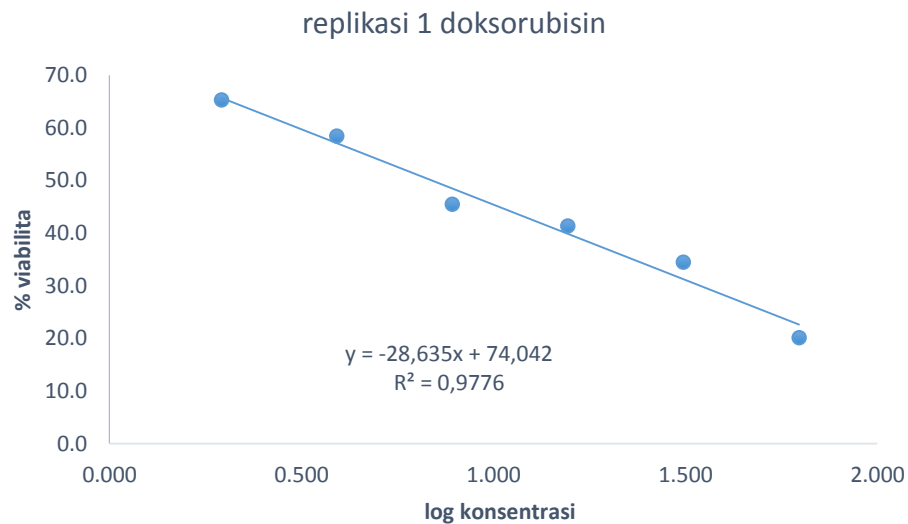
7,82	0,893	0,656	0,298	0,303	0,314	0,294	45,4	46,2	47,9	44,8
3,91	0,592	0,656	0,383	0,367	0,383	0,400	58,4	55,9	58,4	61,0
1,96	0,292	0,656	0,428	0,405	0,448	0,384	65,2	61,7	68,3	58,5

Keterangan : KS = kontrol sel setelah dikurangi kontrol médium

C = konsentrasi doksorubisin

A = absorbansi setelah dikurangi kontrol medium

V = viabilitas sel WiDr



Nilai $r = 0,989$

Contoh perhitungan IC_{50} replikasi 1 :

$$y = bx + a$$

$$50 = -28,635x + 74,042$$

$$x = (50 - 74,042) / -28,635$$

$$x = 0,8396018858$$

$$\text{antilog } 0,8396018858 = 6,91 \mu\text{g/ml}$$



Nilai $r = 0,997$

perhitungan IC_{50} replikasi 2 :

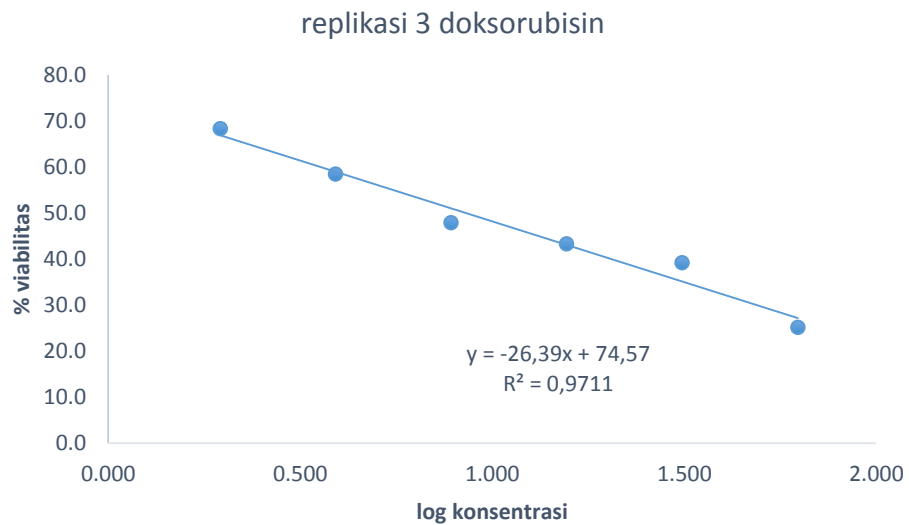
$$y = bx + a$$

$$50 = -23,858x + 68,853$$

$$x = (50 - 68,853) / -23,858$$

$$x = 0,7902171179$$

$$\text{antilog } 0,7902171179 = 6,17 \mu\text{g/ml}$$



Nilai $r = 0,985$

perhitungan IC_{50} replikasi 3 :

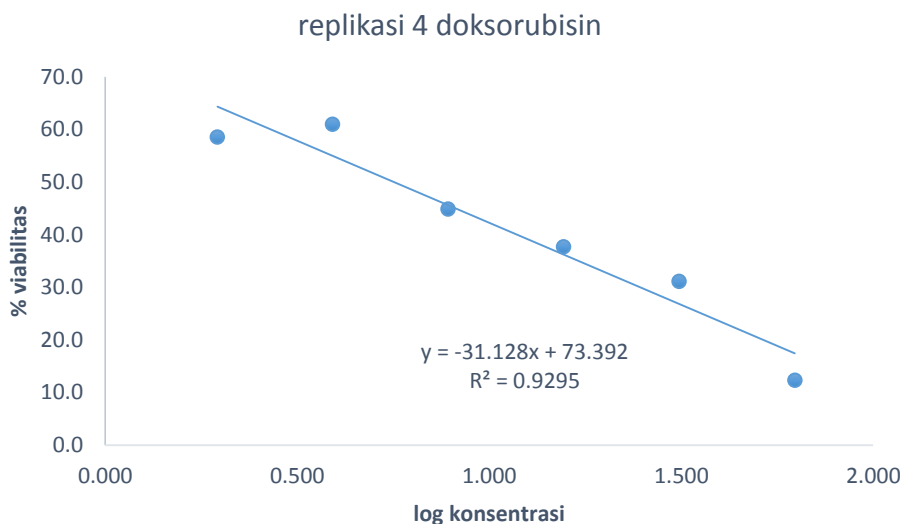
$$y = bx + a$$

$$50 = -26,39x + 74,57$$

$$x = (50 - 74,57) / -26,39$$

$$x = 0,9310344828$$

$$\text{antilog } 0,9310344828 = 8,53 \mu\text{g/ml}$$



Nilai $r = 0,964$

perhitungan IC_{50} replikasi 4 :

$$y = bx + a$$

$$50 = -31,128x + 73,392$$

$$x = (50 - 73,392) / -31,128$$

$$x = 0,7514777692$$

$$\text{antilog } 0,7514777692 = 5,64 \mu\text{g/ml}$$

IC_{50} Doksorubisin dan reratanya

replikasi	Persamaan	Nilai r	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
1	$y = -28,635x + 74,042$	0,989	6,91
2	$y = -23,858x + 68,853$	0,997	6,17
3	$y = -26,39x + 74,570$	0,985	8,53
4	$y = -31,128x + 73,392$	0,964	5,64
	rerata		6,81

Interpretasi data uji sitotoksik dengan perlakuan minyak atsiri kulit batang kayu manis :

1. Persamaan regresi linear log konsentrasi Doksorubisin versus persen viabilitas sel WiDr didapatkan 4 persamaan :
2. Tingkat linearitas antar variabel viabilitas sel dengan log konsentrasi dihitung dengan koefisien korelasi (R) sebesar 0,989; 0,997 ; 0,985 dan 0,964.
3. Nilai koefisien korelasi antara 0,81-1,00 artinya memiliki korelasi yang kuat atau tinggi antara kedua variabel
4. Angka determinasi (R^2) adalah 0,9776 pada replikasi 1 yang berarti kurang lebih 97 % respon viabilitas sel WiDr dipengaruhi oleh variabel konsentrasi Doksorubisin yang diaplikasikan, sedangkan sisanya 3% dijelaskan oleh pengaruh lain, begitu seterusnya pada replikasi dua, tiga dan empat.
5. Perhitungan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi senyawa yang menyebabkan penghambatan pertumbuhan sel hingga 50% dan didapat rerata 6,81 $\mu\text{g/ml}$

Lampiran 14. Statistika uji sitotoksik minyak atsiri kulit batang kayu manis dan Doksorubisin

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ic50	8	10.2550	3.77269	5.64	13.85

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		ic50
N		8
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	10.2550
	Std. Deviation	3.77269
Most Extreme Differences	Absolute	.304
	Positive	.187
	Negative	-.304
Kolmogorov-Smirnov Z		.861
Asymp. Sig. (2-tailed)		.449

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Group Statistics

kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ic50 kayu manis	4	13.6975	.16235	.08118
doksorubisin	4	6.8125	1.25789	.62895

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
ic50	Equal variances assumed	4.978	.067	10.857	6	.000	6.88500	.63416	5.33326	8.43674
	Equal variances not assumed			10.857	3.100	.001	6.88500	.63416	4.90312	8.86688