

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol biji buah pinang sebesar 95,75  $\mu\text{g/mL}$ .
2. Nilai indeks selektivitas ekstrak etanol biji buah pinang sebesar 4,75.
3. Ekstrak etanol biji buah pinang memiliki potensi sitotoksitas terhadap sel kanker hati HepG2

#### **B. Saran**

1. Perlu dilakukan uji identifikasi kandungan senyawa secara kromatografi lapis tipis (KLT) pada ekstrak biji buah pinang.
2. Perlu dilakukan pengujian aktivitas sitotoksik biji buah pinang dengan sel kanker lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2009. *Teknologi Bahan Alam*. Serial Farmasi Industri-2. Bandung: ITB. Hlm 14.
- Amalia, N. 2008. *Uji sitotoksik ekstrak etanol 70% buah merica hitam (Piper nigrum L.) terhadap sel HeLa*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta. Hal 1 & 17.
- Amin, A.R.M.R. 2009. Perspectives for Cancer Prevention With Natural Compounds. *Journal of Clinical Oncology* 27(16): p.2712–2725.
- Ammerman, N.C. *et al.* 2008. Growth and Maintenance of Vero Cell Lines, *Curr Protoc Microbiol.*, PMC: A-4E: 1-10.
- Anonim. 1979. *Materia Medika Indonesia* jilid III. Jakarta. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Awang N, Aziz ZA, Kamaludin NF, Chan KM. 2014. Cytotoxicity and mode of celldeath induced by Triphenyltin (IV) compounds *in vitro*. *J. Biol. Sci.* 14(2): 84-93.
- A'yun Q. 2010. Uji sitotoksisitas ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap sel leukimia (L1210) secara *in vitro*. [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Badan POM RI. 2010. *Acuan Sediaan Herbal*. Edisi Pertama. Jakarta: Direktorat Obat Asli Indonesia.
- Badan POM RI. 2014. Persyaratan mutu obat tradisional. InfoPOM 12:1-25.
- Berek, J.S., Natarajan, S. 2007. Ovarian and Fallopian Tube Cancer. in: Berek, J.S., editor. *Berek & Novak's Gynecology*. 14th Ed, Philadelphia : Lippincott William & Wilkins. pp.1457-1548.
- Bruix, S., Sherman, M. 2005. Management of Hepatocellular Carcinoma, *Hepatology*, 42, 5.
- Burdall ES, Hanby MA, Landsdown RJM., Speirs V. 2003. Breast Cancer Cell Line. *Breast Cancer Res* 5(2): 89-95.
- Chen, T.R. Drabkowski, D., Hay, R.J., Macy, M. And Peterson, W. Jr., 1987, WiDr is a Derivative of Another Colom=n Adenocarcinoma Cell Line, HT-29, *Cancer Genet Cytogenet.*, 27(1):125-34.

- Corwin, Elizabeth J. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Edisi 3. Nike BS, penerjemah; Egi KY, editor. Jakarta: EGC. Terjemahan dari: *Handbook Of Pathophysiology*.
- Davis, J.M., Navolonic, P.M., Weinstein, C.R., Steelman, L.S., Hu, W., Konovlepa, M., Blagosklonny, M.V., and McCubrey, J.A., 2003, Raf and Bcl-2 Induce Distinct and Common Pathway That Contribute to Breast Cancer Drug Resistance, *Clin. Canc., Res.*, 9:1161-1170
- De Jong., Sjamsuhidajat. 2010. *Buku Ajar Ilmu Bedah* 4th ed. Jakarta: ECG. pp. 95-98.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan RI. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V, p. 55-58.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan RI. 1993. *Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka: Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm. 410.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakope Indonesia*. Ed IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm. 410.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Direktorat jendral Pengawasan Obat dan makanan*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Diyah N.W, Sukohardjono. 2000. Antikanker. Dalam: *Kimia Medicinal*. Edisi II. Surabaya Airlangga University Press.
- Doyle A, Griffiths JB. 2000. *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. New York: John Wiley and Sons Ltd.
- Eunsil Yu MD, PhD. 2009. HepG2 is a Hepatoblastoma-derived Cell Line. SouthKorea: Departement of Pathology Asan Medical Center University of Ulsan Collage of Medicine Seoul 138-736.
- Feldman B. *Gastrointestinal and Liver Disease*. 9th ed. (Elsevier S, ed.). Canada; 2010.

- Ferguson, P.J., Kurowska, E., Freeman, D.J., dan Koropatnick, D.J., 2004, A Flavonoid Fraction from Cranberry Extract Inhibits Proliferation of Human Tumor Cell Lines, *J. Nutr.* 134:1529-1535.
- Filbert, Koleangana S.J, Runtuwenea R.J, Kamu VS. 2014. Penentuan Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC<sub>50</sub> Ekstrak Metanol Dan Fraksi Hasil Partisinya Pada Kulit Pinang (*Areca vestiaria* Giseke). *Jurnal Mipa Unstrat.* (3) 2: 149-154.
- Fine, A.M., 2000, Oligomeric Proanthocyanidin Complexes: History, Structure, and Phytopharmaceutical Applications, *Altern Med Rev*, 5(2):144-151.
- Fitria R. 2007. Aktivitas Sitotoksik, Anti Proliferatif Dan Induksi Apoptosis Ekstrak aan Fraksi Biji Pinang (*Areca Catechu* L.) dengan dan tanpa Kombinasi dengan Doksorubisin terhadap Sel T47D. *Tesis S2 Ilmu Farmasi*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Freshney RI. 2000. *Culture Of Animal Cells: A manual of basic Techinique*. New York: Wiley-Liss Inc.
- Furqan M. 2014. Uji Antikanker Kombinasi Ekstrak Etil Asetat Daun Poguntano (*Picria fel-terrae* Lour.) Dengan Doksorubisin Terhadap Sel Kanker Payudara Secara In Vitro [Tesis]. Medan: Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara.
- Fong, Tse-Ling, 2002. Hepatocellular Carcinoma (Liver Cancer), dalam [www.medicinet.com](http://www.medicinet.com), September 2007
- Gersten, T., 2013. *Liver cancer - Hepatocellular carcinoma*. Available from: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000280.htm>.
- Gewies. A. 2003. *Introduction to apoptosis*. Apo Review: 1-26.
- GLOBOCAN (2018). Cancer today. International Agency for Research on Cancer. <http://gco.iarc.fr/> - Diakses November 2018.
- Goncalves EM, Ventura CA, Yano T, Macedo MLD, Ganeri SC. 2006. *Morphological and Growth Alterations in Vero Cells Transformed by Cysplatin*. *Cell Bio.* 30(6): 485-494.
- Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD. 2008. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. *International Centre for Science and High Technology*, 22-23.
- Hapsoh, Rahmawati, N. 2008. *Pemanfaatan Tanaman Obat Tradisional*. Diakses pada 28 April 2008.

- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Ed ke-2. Padmawinata K dan Soediro I, penerjemah. Bandung: Penerbit ITB.
- Indrawati M. 2009. *Bahaya Kanker bagi Wanita dan Pria*. Cetakan pertama. Jakarta: Pendidikan untuk Kehidupan.
- International Agency for Research on Cancer (IARC), 2004. Betel-quid and Areca-nut Chewing and Some Areca-nut-derived Nitrosamines. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 85. IARC Scientific Publications WHO, Lyon, France.
- Irawan TAB. 2010. Peningkatan mutu minyak nilam dengan ekstraksi dan destilasi pada berbagai komposisi pelarut [Tesis]. Semarang: Magister Teknik Kimia, Universitas Diponegoro.
- Jaiswal, P. *et al.* 2001. "Areca catechu L.: A Valuable Medicine Against Different Health Problems". *Research Journal of Medicinal Plant*.
- Jemal, A. *et al.* Global Cancer Statistics. *A Cancer J Clin*. 2011:61-90.
- Kampa M, *et al.* 2003. Antiproliferative and apoptotic effects of selective phenolic acids on T47D human breast cancer cells: potential mechanisms of action. *Breast Cancer Res*. 6. R63-R74.
- Kerr, M., 2004, Liver Cancer Fastest Growing Cancer in US, <http://www.nlm.nih.gov> diakses pada tgl 2 Desember 2004.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2010. Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta
- [Kemenkes RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Suplemen III Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 106-107.
- Khanbabaee K, Ree TV. 2001. Tannins classification and definition. *Nat Prod Rep*. 18: 641.
- Lee, K.K., Choi, J.D. 1999. The Effects of Areca Catechu L Extract on Anti-Inflammation and Anti-Melanogenesis, *International Journal of Cosmetic Science* 21, 275–284.
- Leigh, M.J., 2003, Health Benefits of Grape Seed Proanthocyanidin Extract (GSPE), *Nutrition Noteworthy*, 6(1): article 5.
- Lulail J. 2009. Kajian hasil riset potensi antioksidan di pusat informasi teknologi pertanian fateta ipb serta aplikasi ekstrak bawang putih, lada dan daun sirih pada dendeng sapi [Skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian,

Institut Pertanian Bogor.

- Mahardika AW. 2004. *Kursus Singkat Kultur Sel*. Yogyakarta: Laboratorium Ilmu Hayati, Universitas Gadjah Mada.
- Maulana R., Adriyana, Hafida E., Putri J.K., Noviyanti F., Murti S.R., Zetina Z. 2010. *Isolasi DNA Tanaman dan Elektroforesis DNA*. Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Pendidikan Indonesia. Jakarta. Hal 13.
- Meiyanto E, Susidarti RA, Handayani S, Rahmi F. 2008. Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (*Areca catechu* L.) mampu menghambat proliferasi dan memacu apoptosis sel MCF-7. *Majalah Farmasi Indonesia*. 19(1):12-19.
- Middleton E. C., Kandaswarni, dan Theoharides. 2000. The Effect of Plant Flavonoid on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Journal Pharmacol*. 52(4):673-571
- Mosmann T. 1983. Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assay. *Journal of Immunological Methods*. 65(1-2): 55-63.
- Mulyadi. 1997. *Kanker Karsinogen dan Anti Kanker*. Tiara Wacana Yogya, Yogyakarta.
- Nafrialdi, Sulistia Gan. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5 (cetak ulang dengan tambahan, 2012). Departemen Farmakologi dan Terapeutik FKUI. Jakarta: Badan Penerbit FKUI Hal 732-739.
- [NCI] National Cancer Institute, 2012. *Cancer Treatment*. <http://www.cancer.gov/cancertopics/treatment.html>
- Nonaka, G., 1989, Isolation and structure elucidation of tannins, *Pure & Appl. Chem*, 61 (3): 357-360.
- Notoadmodjo S. 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta. Rineka Cipta.
- Nugroho, A.E., Hermawan A., Putri D.D.P., Novika A., dan Meiyanto E., 2012. Combinational Effects of Hexane Insoluble Fraction of *Ficus septica* Burn F. And Doxorubicin Chemotherapy on T47D Breast Cancer Cells. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2: 1-6.
- Nurse P. 2000. A Long Twentieth Century of The Cell Cycle and Beyond. *Cell*. 100: 71-78.
- Prayong P., Barusrux S., Weerapreeyakul N. 2008. Cytotoxic Activity Screening Of Some Indigenous Thai Plants. *Fitoterapia*. 79: 598-601.

- Putra, Sitiatava R, 2015. *Buku Lengkap Kanker Payudara*. Yogyakarta : Laksana.
- Putri DA. 2014. Pengaruh metode ekstraksi dan konsentrasi terhadap aktivitas jahe merah (*Zingiber officinale* var *rubrum*) sebagai antibakteri *Escherichia coli* [Skripsi]. Bengkulu: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Bengkulu.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Penerbit ITB, pp : 191-2013.
- Rompas RA, Edy HJ, Yudistira A. 2012. Isolasi dan identifikasi flavonoid dalam daun (*Syngonium isoetifolium*). Manado: Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT.
- Scheffler W. 1987. Statistik untuk Biologi, Farmasi, Kedokteran dan Ilmu yang Bertautan. Terbitan keua, Suroso. Penerjemah: Kosasih Padmawinata, editor Buffalo: Addison-Wesley. Publishing Company, Inc. Terjemahan dari: *Statistics for the Biological Sciences, second edition*.
- Sudiana I.K. 2011. *Patologi Moleculer Kanker*. Jakarta: Salemba Empat. Halaman 1, 45-52.
- Sukardja, I Dewa Gede. 2000. *Onkologi Klinik*. Edisi 2. Surabaya: airlangga University Press.
- Sulaiman. *et al.* 2007. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Hati*. Jakarta: Jayabadi.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur H. 2011. Phytochemical screening and extraction: A Review. *International Pharmaceutica Scientia* Vol. 1(1): 21-23.
- Tsukuma, H., Hiyama, T., Tanaka, S., Nakao, M., Yabuuchi, T., Kitamura, T., Nakanishi, K., Fujimoto, I., Inoue, A., Yamakazi, H & Kawashima, T., 1993, Risk Factors for Hepatocellular Carcinoma among Patients with Chronic Liver Disease, *The New England J of Med.*, 328(25), 1797-1801.
- Sairam, R.K. and Tyagi, A. (2004) Physiology and Molecular Biology of Salinity Stress Tolerance in Plants. *Current Science*, 86, 407-421.
- Voigt, R. 1994. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, Diterjemahkan oleh Soendani Noerrono, Edisi V, Cetakan Kedua. Universitas Gajah Mada Press. Yogyakarta.
- Wang, C.K., Lee, W.H. 1996. Separation, Characteristics, and Biological Activities of Phenolics in Areca Fruit, *J. Agric. Food Chem.*, 44, 2014 - 2019.

- Winarno E., 2011. Uji Sitotoksik Ekstrak Kapang *Apergillus* sp. Terhadap Sel Kanker Payudara T47D, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Depok.
- Xing Z, Jiao W, Zhuang H, Wenli M. 2010. Antioxidant and cytotoxic phenolic compounds of areca nut (*Areca catechu* L.). China: *Academy of tropical Agricultural Sciences*.
- Zairisman S.Z. 2006. Potensi ilmu nomodulator bubuk kaako bebas lemak sebagai produk substandar secara *in vitro* pada sel limfosit manusia. Fakultas Teknologi Pertanian Bogor. Institut Pertanian Bogor. Hal 28-29.



**L**

**A**

**M**

**P**

**I**

**R**

**A**

**N**

## Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman pinang



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail [biologi@mipa.uns.ac.id](mailto:biologi@mipa.uns.ac.id)

Nomor : 228/UN27.9.6.4/Lab/2018  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Adelya Sukma Diawati  
NIM : 21154619A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Areca catechu* L.  
Familia : *Arecaceae*

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1968) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17a 224. Arecaceae  
1b-6b-21b-22b-25b-28b-35b-36a-37a 38. Areca  
1b *Areca catechu* L.

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : pohon, menahun, tumbuh tegak, tinggi 15-30 m. Akar : serabut, kuning kotor atau kuning keputihan atau kuning kemerahan. Batang : bulat, berkayu, diameter 10-15 cm, tidak bercabang, pada permukaan batang terdapat bekas tangkai daun seperti cincin, hijau kecoklatan hingga hijau keabu-abuan. Daun : majemuk menyirip, berseling, tersusun rapat di ujung batang membentuk roset batang, panjang 100-150 cm, lebar 1.5-2 m; helaian anak daun berbentuk lanset hingga garis, panjang 50-80 cm, lebar 2.5-6 cm, pangkal tumpul, tepi rata, ujungnya rata, robek atau bergerigi, pertulangan sejajar, ibu tulang daun menonjol di bagian tengah, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda, kaku seperti perkamen; tangkai anak daun pendek; pelepah daun di bagian luar berwarna hijau, panjang 75-100 cm. Bunga : majemuk berbentuk bulir, di ketiak daun, panjang 42-60 cm, dilindungi seludang bunga yang berkayu berbentuk seperti perahu, bunga betina dan bunga jantan tersusun dalam dua baris. Bunga jantan : daun kelopak bunga 3, berbentuk bulat telur, ujungnya runcing, panjang 0.75 mm; diameter mahkota bunga 4-5 mm, daun mahkota bunga bulat telur lanset, ujungnya runcing, putih kekuningan; benangsari berjumlah 6. Bunga betina : daun kelopak dan mahkota bunga berbentuk bulat telur, panjang 10-12 mm, tebal dan kaku, tidak gugur, benangsari mandul (staminodia) berjumlah 6 dan berlekatan, kepala putik 3. Buah : tipe buah batu, bulat telur atau ellipsoid, panjang 3-7 cm, berwarna hijau ketika muda dan berwarna jingga atau merah ketika masak, terdiri atas 3 lapisan, lapisan luar tipis dan licin serta mengkilat, lapisan tengah berserabut tebal, lapisan dalam dilindungi oleh tempurung yang keras dan berkayu. Biji : berjumlah 1, jarang 3, bulat telur hingga bulat telur pipih, kuning kecoklatan.

Surakarta, 30 November 2018

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyanti, M.Si.  
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.  
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.  
NIP. 19660714 199903 2 001

## Lampiran 2. *Ethical Clearance*

4/23/2019

Form A2



**HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE**  
**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN**  
**Dr. Moewardi General Hospital**  
**RSUD Dr. Moewardi**



**School of Medicine Sebelas Maret University**  
**Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret**

**ETHICAL CLEARANCE**  
**KELAIKAN ETIK**

Nomor : 548 / IV /HREC / 2019

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret  
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Maret University Of Surakarta, after reviewing the proposal design, herewith to certify  
 Surakarta, setelah menilal rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :  
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL BIJI BUAH PINANG (Arecha catechu L.) TERHADAP SEL HepG2 SECARA IN VITRO**

Principal investigator : ADELYA SUKMA DIAWATI  
 Peneliti Utama : 21154619A

Location of research : Laboratorium Parasitologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta  
 Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved  
 Dinyatakan layak etik

Issued on : 23 Apr 2019

**Chairman**  
**Ketua**

**Dr. Wahyu Dwi Atmoko, SpF**  
**NIP. 19770224 201001 1 004**

### Lampiran 3. Surat Ijin Penelitian



UNIVERSITAS GADJAH MADA  
 FAKULTAS KEDOKTERAN, KESEHATAN MASYARAKAT, DAN KEPERAWATAN  
**DEPARTEMEN PARASITOLOGI**  
 Gedung Radiopetro Lantai 4 Sayap Timur, Sekip, Yogyakarta 55281, Telp. (0274) 546215. Faks. 546215.  
 E-mail: parasitfkugm@yahoo.com

Nomor : 255 /UN1/KU.3/PRST.2/LT/2019  
 Hal : Ijin Penelitian.

28 Mei 2019

Kepada Yth.  
 ADELYA SUKMA DIAWATI  
 NIM: 21154619A  
 Fakultas Farmasi  
 Universitas Setia Budi  
 Surakarta

Dengan hormat,  
 Menanggapi surat saudara tertanggal 30 April 2019 tentang ijin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Parasitologi yang berjudul:

“UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL BIJI BUAH PINANG (*Arachnatechu L.*) TERHADAP SEL HepG2 SECARA IN VITRO”

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

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

Atas perhatian dalam hal ini kami ucapkan terima kasih.

Ketua,



dr. Tri Baskoro T. Satoto, MSc., PhD.  
 NIP. 195804121986011001.

Tembusan Yth. :

1. Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.
2. Juanna Nursanthi, AMd.AK.



## Lampiran 4. Gambar bahan dan alat

### 1. Bahan



Buah pinang



Biji buah pinang hasil oven



Serbuk biji buah pinang



Ekstrak biji buah pinang



Doxorubisin



Media DMEM



Media M199



Penstrep



Fungizone

## 2. Alat



Botol remaserasi



Alat evaporator



Timbangan analitik



Ayakan no.40



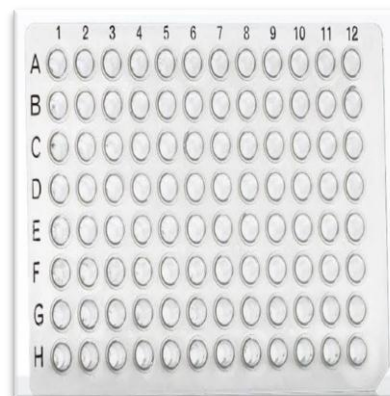
Moisture balance



Mikropipet



Elisa reader



Microplate 96 well

## Lampiran 5. Hasil identifikasi serbuk dan ekstrak

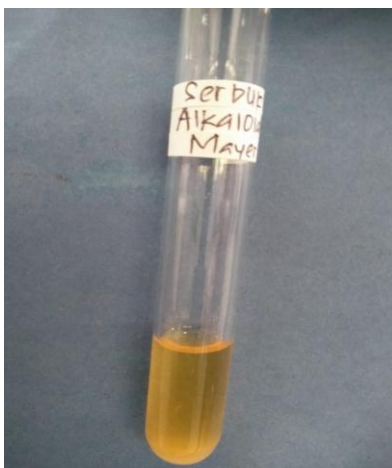
### 1. Serbuk



Flavonoid



Tanin



Alkaloid (mayer)



Alkaloid (dragendorff)



## 2. Ekstrak



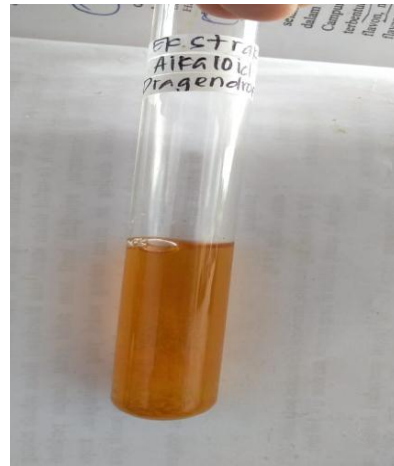
Flavonoid



Tanin



Alkaloid (mayer)



Alkaloid (Dragendroff)

## Lampiran 6. Perhitungan rendemen simplisia ekstrak biji buah pinang

### 1. Rendemen bobot basah dan kering biji buah pinang

Sampel	Berat basah (g)	Berat kering (g)	Rendeman (%)
Biji buah pinang	4000	1010	25,25

Perhitungan rendemen

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot kering}(g)}{\text{bobot basah}(g)} \times 100 \\ &= \frac{1010 \text{ g}}{4000 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 25,25 \% \end{aligned}$$

### 2. Rendemen ekstrak etanol rimpang jahe merah

Sampel	Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendeman %
Serbuk biji buah pinang	250	107,17	42,87

Perhitungan rendemen

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak}(g)}{\text{bobot serbuk}(g)} \times 100\% \\ &= \frac{107,17 \text{ g}}{250 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 42,87 \% \end{aligned}$$

## Lampiran 7. Perhitungan volume panen sel

### 1. Jumlah sel HepG2 terhitung dalam suspensi

$$\begin{aligned}\Sigma \text{sel/ml} &= \frac{\Sigma \text{sel A} + \Sigma \text{sel B} + \Sigma \text{sel C} + \Sigma \text{sel D}}{4} \times 10^4 \\ &= \frac{112 + 116 + 122 + 107}{4} \times 10^4 \\ &= 114,25 \times 10^4 / \text{ml}\end{aligned}$$

Volume jumlah panen sel yang ditransfer

$$\begin{aligned}\text{Volume panen sel} &= \frac{\text{jumlah sel yang diperlukan}}{\text{jumlah sel yang terhitung/ml}} \\ &= \frac{100 \times 10^4}{114,25 \times 10^4} \\ &= 0,875 \text{ ml} \\ &= 875 \mu\text{l ad 10 ml media kultur}\end{aligned}$$

### 2. Jumlah sel vero yang terhitung dalam suspensi

$$\begin{aligned}\Sigma \text{sel/ml} &= \frac{\Sigma \text{sel A} + \Sigma \text{sel B} + \Sigma \text{sel C} + \Sigma \text{sel D}}{4} \times 10^4 \\ &= 81 \times 10^4 / \text{ml}\end{aligned}$$

Volume jumlah panen sel yang ditransfer

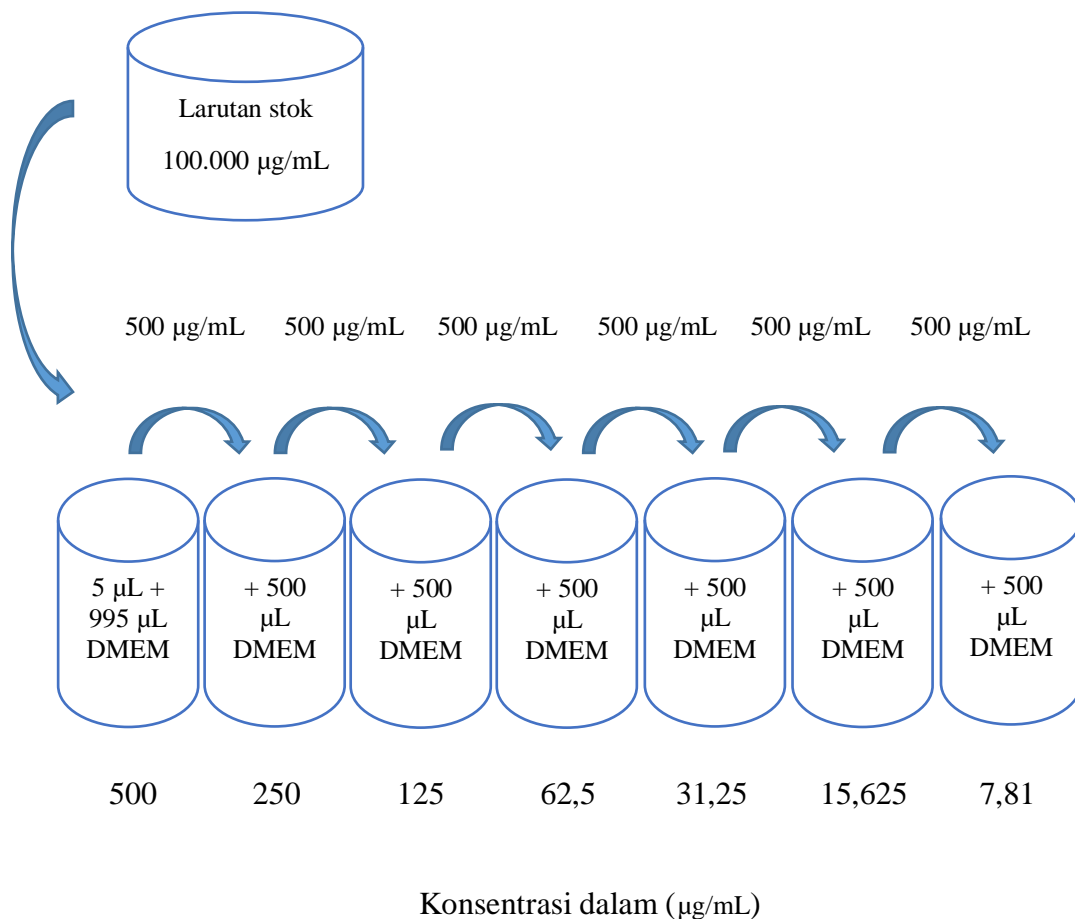
$$\begin{aligned}\text{Volumw panen sel} &= \frac{\text{jumlah sel yang diperlukan}}{\text{jumlah sel yang terhitung/ml}} \\ &= \frac{100 \times 10^4}{81 \times 10^4} \\ &= 1,23 \text{ ml} \\ &= 1230 \mu\text{l ad 10 ml media kultur}\end{aligned}$$

## Lampiran 8. Perhitungan pembuatan larutan stok dan larutan seri

### A. Pembuatan larutan stok larutan uji

Dibuat larutan stok dengan konsentrasi 10 mg/100 $\mu$ L

$$\begin{aligned}
 &= \frac{10 \text{ mg sampel}}{100 \mu\text{L DMSO}} \\
 &= \frac{10 \text{ mg}}{100/1000 \text{ DMSO}} \\
 &= \frac{10 \text{ mg}}{1/10 \text{ mL}} \\
 &= 10 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 100 \text{ mg/mL} \\
 &= 100.000 \mu\text{g/mL}
 \end{aligned}$$



### Pembuatan seri konsentrasi

#### 1. Konsentrasi 500 µl

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

$$V_1 \times 100.000 = 1000 \times 500$$

$$V_1 = 5 \mu\text{l}$$

\*) dipipet 5 µl dari larutan stok + 995 µl media kultur

#### 2. Konsentrasi 250 µl

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

$$V_1 \times 500 = 1000 \times 250$$

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

\*) dipipet 500 µl dari larutan konsentrasi 1 (+) 500 µl media kultur

#### 3. Konsentrasi 125 µl

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

$$V_1 \times 250 = 1000 \times 125$$

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

\*) dipipet 500 µl dari larutan konsentrasi 2 (+) 500 µl media kultur

#### 4. Konsentrasi 62,5 µl

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

$$V_1 \times 125 = 1000 \times 62,5$$

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

\*) dipipet 500 µl dari larutan konsentrasi 3 (+) 500 µl media kultur

#### 5. Konsentrasi 31,5 µl

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

$$V_1 \times 62,5 = 1000 \times 31,5$$

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

\*) dipipet 500 µl dari larutan konsentrasi 4 (+) 500 µl media kultur

#### 6. Konsentrasi 15,63 µl

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

$$V_1 \times 31,5 = 1000 \times 15,63$$

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

\*) dipipet 500 µl dari larutan konsentrasi 5 (+) 500 µl media kultur

7. Konsentrasi 7,81  $\mu\text{l}$ 

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 15,63 &= 1000 \times 7,81 \\ V_1 &= 500 \mu\text{l} \end{aligned}$$

\*) dipipet 500  $\mu\text{l}$  dari larutan konsentrasi 6 (+) 500  $\mu\text{l}$  media kultur

## B. Pembuatan larutan stok doxorubicin

Dibuat larutan stok dengan konsentrasi = 2 mg/100  $\mu\text{l}$   
= 2000  $\mu\text{g/ml}$

## Pembuatan seri konsentrasi

1. Konsentrasi 2  $\mu\text{l}$ 

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 2000 &= 1000 \times 2 \\ V_1 &= 1,5 \mu\text{l} \end{aligned}$$

\*) dipipet 1  $\mu\text{l}$  dari larutan stok + 999  $\mu\text{l}$  media kultur

2. Konsentrasi 1  $\mu\text{l}$ 

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 2 &= 1000 \times 1 \\ V_1 &= 500 \mu\text{l} \end{aligned}$$

\*) dipipet 500  $\mu\text{l}$  dari larutan konsentrasi 1 (+) 500  $\mu\text{l}$  media kultur

3. Konsentrasi 0,5  $\mu\text{l}$ 

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 1 &= 1000 \times 0,5 \\ V_1 &= 500 \mu\text{l} \end{aligned}$$

\*) dipipet 500  $\mu\text{l}$  dari larutan konsentrasi 2 (+) 500  $\mu\text{l}$  media kultur

4. Konsentrasi 0,25  $\mu\text{l}$ 

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 0,5 &= 1000 \times 0,25 \\ V_1 &= 500 \mu\text{l} \end{aligned}$$

\*) dipipet 500  $\mu\text{l}$  dari larutan konsentrasi 3 (+) 500  $\mu\text{l}$  media kultur

## 5. Konsentrasi 0,125 µl

$$\begin{aligned}V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\V_1 \times 0,5 &= 1000 \times 0,125 \\V_1 &= 500 \mu\text{l}\end{aligned}$$

\*) dipipet 500 µl dari larutan konsentrasi 4 (+) 500 µl media kultur

## 6. Konsentrasi 0,06 µl

$$\begin{aligned}V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\V_1 \times 0,125 &= 1000 \times 0,063 \\V_1 &= 500 \mu\text{l}\end{aligned}$$

\*) dipipet 500 µl dari larutan konsentrasi 5 (+) 500 µl media kultur

## 7. Konsentrasi 0,03 µl

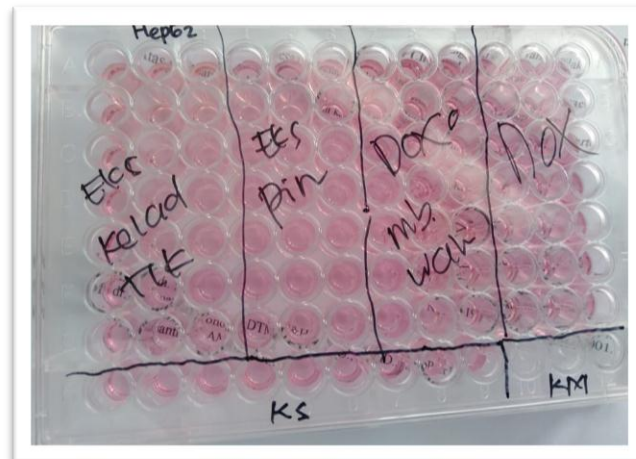
$$\begin{aligned}V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\V_1 \times 0,06 &= 1000 \times 0,03 \\V_1 &= 500 \mu\text{l}\end{aligned}$$

\*) dipipet 500 µl dari larutan konsentrasi 6 (+) 500 µl media kultur

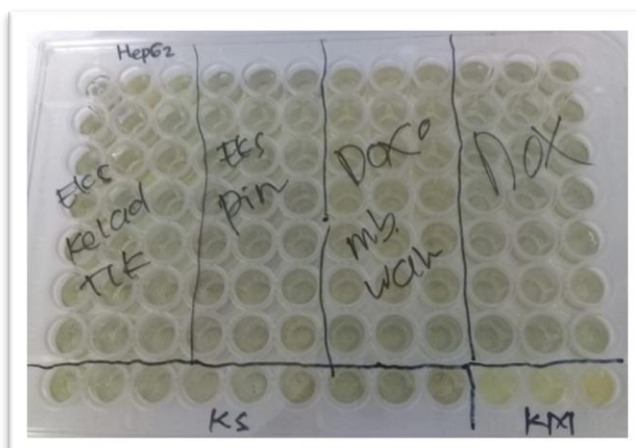
**Lampiran 9. Perubahan warna setelah pemberian sampel, sesudah pemberian MTT dan sesudah pemerian SDS**



Sebelum pemberian sampel ekstrak



Setelah pemberian MTT setelah 4 jam



Setelah pemberian MTT + SDS 10%

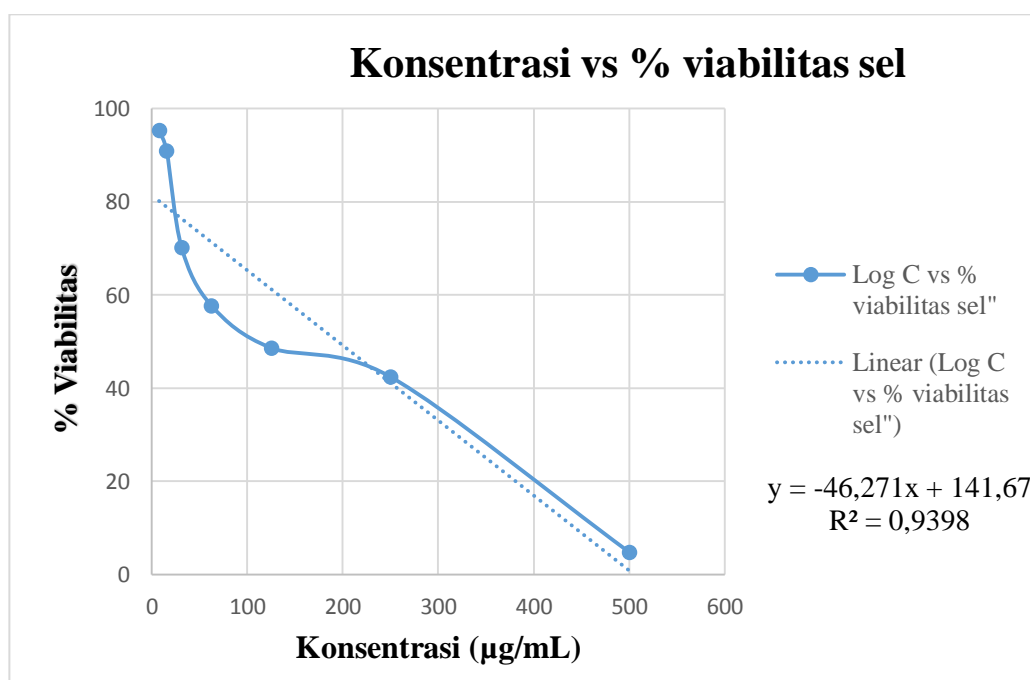


**Lampiran 10. Perhitungan IC<sub>50</sub> ekstrak biji buah pinang dan doxorubicin (kontrol positif) terhadap sel HepG2**

**1. Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak biji buah pinang**

C (µg/mL)	Replikasi absorbansi			X Abs	KM	KS	% Viabilitas
	A	B	C				
500	0,105	0,103	0,010	0,073	0,048	0,558	4,810
250	0,258	0,283	0,252	0,264			42,418
125	0,29	0,312	0,286	0,296			48,627
62,5	0,337	0,337	0,353	0,342			57,712
31,25	0,395	0,413	0,410	0,406			70,196
15,625	0,508	0,519	0,508	0,512			90,915
7,8125	0,544	0,533	0,525	0,534			95,294

Keterangan : C = Konsentrasi  
X abs = Rata-rata absorbansi



$$Y = -46,271 + 141,67$$

$$50 = -46,271 x + 141,67$$

$$50 - 141,67 = -46,271x$$

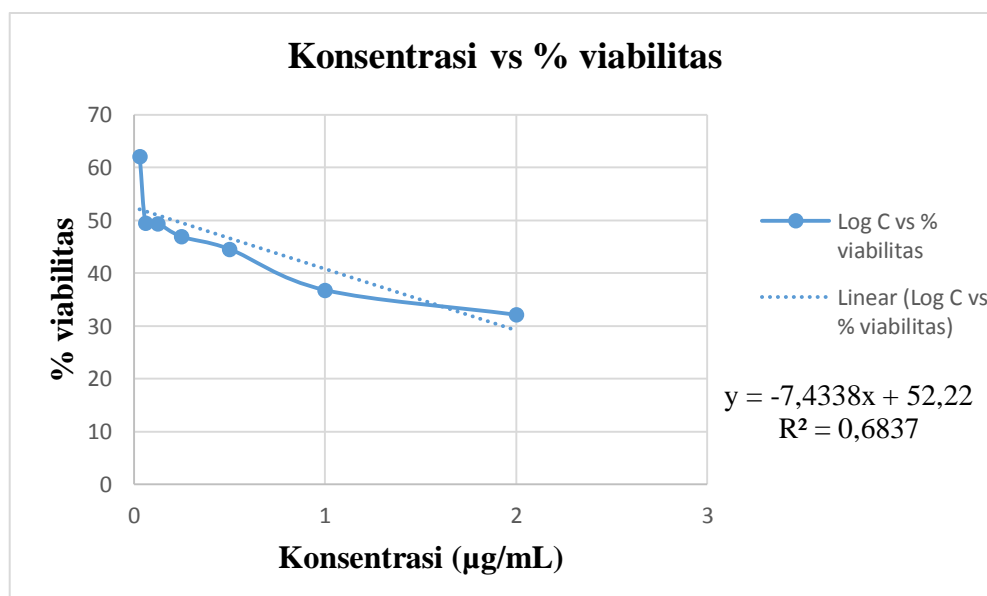
$$X = 1,981$$

Antilog x (IC<sub>50</sub>) = 95,75 µg/mL

## 2. Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> doxorubicin (kontrol positif)

C (µg/ml)	Replikasi absorbansi			Rata2	KM	KS	% Viabilitas
	A	B	C				
2,00	0,333	0,33	0,351	0,338	0,069	0,786	32,120
1,00	0,393	0,374	0,355	0,374			36,801
0,50	0,452	0,446	0,457	0,434			44,560
0,25	0,464	0,49	0,459	0,452			46,901
0,13	0,439	0,438	0,424	0,471			49,415
0,06	0,497	0,442	0,475	0,471			49,458
0,03	0,523	0,583	0,598	0,568			62,029

Keterangan : C = Konsentrasi  
X abs = Rata-rata absorbansi



$$Y = -7,4338x + 52,22$$

$$50 = -7,4338x + 52,22$$

$$50 - 52,22 = -7,4338x$$

$$X = 0,299$$

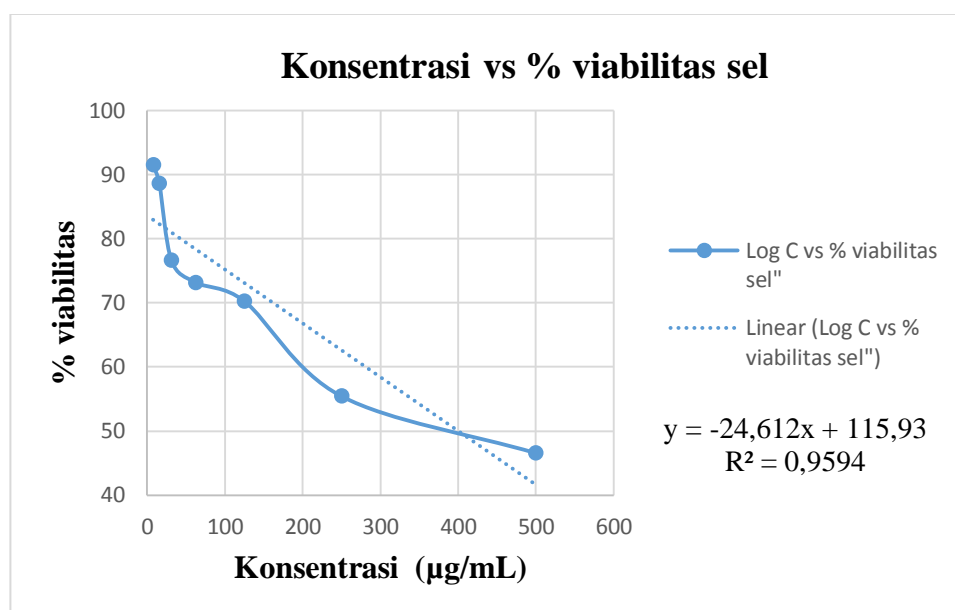
$$\text{Antilog } x (\text{IC}_{50}) = 1,989 \mu\text{g/mL}$$

## Lampiran 11. Perhitungan IC<sub>50</sub> ekstrak biji buah pinang dan doxorubicin terhadap sel vero

### 1. Perhitungan IC<sub>50</sub> ekstrak terhadap sel vero

C (µg/mL)	Replikasi absorbansi			X Abs	KM	KS	% Viabilitas
	A	B	C				
500	0,295	0,276	0,283	0,285	0,043	0,562	46,564
250	0,342	0,319	0,331	0,331			55,427
125	0,409	0,403	0,411	0,408			70,263
62,5	0,42	0,425	0,423	0,423			73,154
31,25	0,432	0,441	0,449	0,441			76,622
15,625	0,5	0,506	0,503	0,503			88,632
7,8125	0,513	0,519	0,521	0,518			91,458

Keterangan : C = Konsentrasi  
X abs = Rata-rata absorbansi



$$Y = -24,376x + 115,93$$

$$50 = -24,376x + 115,93$$

$$50 - 115,93 = -24,376x$$

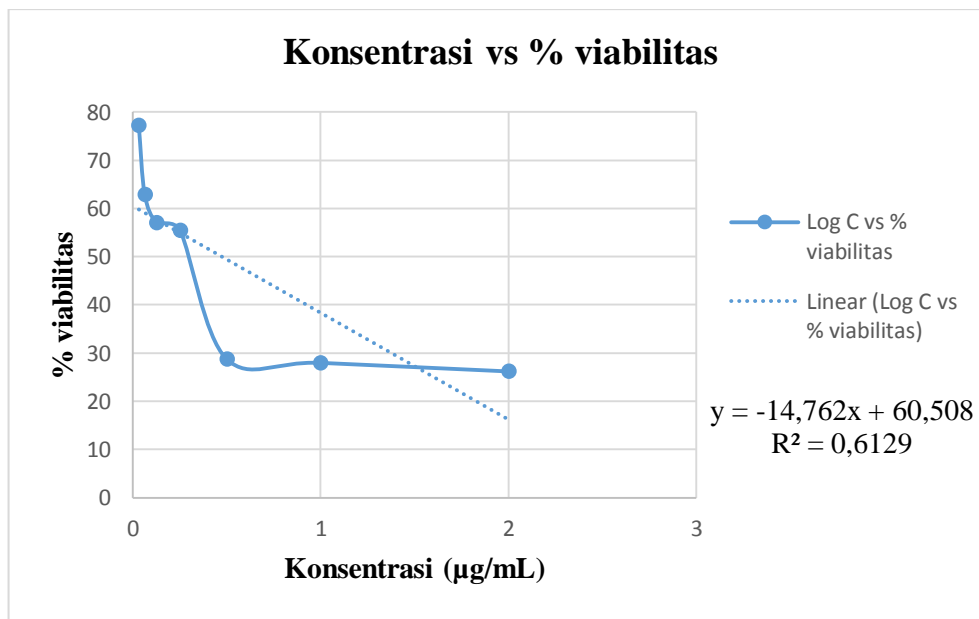
$$x = 2,679$$

$$\text{Antilog } x (\text{IC}_{50}) = 477,28 \mu\text{g/mL}$$

## 2. Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> doxorubicin terhadap sel vero

C (µg/ml)	Replikasi absorbansi			Rata2	KM	KS	% Viabilitas
	A	B	C				
2,00	0,287	0,295	0,295	0,292	0,091	0,86	26,181
1,00	0,31	0,308	0,3	0,306			27,958
0,50	0,322	0,312	0,302	0,312			28,739
0,25	0,523	0,523	0,507	0,518			55,483
0,13	0,527	0,551	0,513	0,530			57,130
0,06	0,552	0,595	0,578	0,575			62,939
0,03	0,669	0,691	0,695	0,685			77,243

Keterangan : C = Konsentrasi  
X abs = Rata-rata absorbansi



$$Y = -14,762x + 60,508$$

$$50 = 14,762x + 60,508$$

$$50 - 60,508 = -14,762x$$

$$x = 0,712$$

$$\text{Antilog } x (\text{IC}_{50}) = 5,150 \mu\text{g/mL}$$

**Lampiran 12. Perhitungan indeks selektivitas ekstrak dan doxorubicin**

1. Perhitungan indeks selektivitas ekstrak biji buah pinang

$$\text{Indeks selektivitas} = \frac{IC50 \text{ sel } vero}{IC50 \text{ sel } kanker}$$

$$\text{Indeks selektivitas} = \frac{477,28 \mu g/ml}{95,75 \mu g/ml}$$

$$\text{Indeks selektivitas} = 4,98$$

2. Perhitungan indeks selektivitas doxorubicin

$$\text{Indeks selektivitas} = \frac{IC50 \text{ sel } vero}{IC50 \text{ sel } kanker}$$

$$\text{Indeks selektivitas} = \frac{5,150 \mu g/ml}{1,989 \mu g/ml}$$

$$\text{Indeks selektivitas} = 2,59$$