

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah kumpulan semua elemen atau individu yang menjadi sumber pengambilan sampel. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman keladi tikus yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, Jawa Tengah.

Sampel adalah representasi populasi yang dijadikan sumber informasi bagi semua data yang diperlukan untuk menjawab permasalahan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman keladi tikus muda dan berwarna hijau.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, dan fraksi air tanaman keladi tikus yang akan diuji aktifitas terhadap kultur sel kanker payudara T47D.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi pada penelitian ini diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel, yaitu variabel bebas, variabel kendali, dan variabel tergantung.

Variabel bebas adalah variabel yang dengan sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air tanaman keladi tikus yang akan diuji aktifitas terhadap kultur sel kanker payudara T47D.

Variabel tergantung adalah titik pusat permasalahan yang merupakan pilihan dalam penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas sitotoksik sel kanker payudara T47D dengan menghitung jumlah sel yang mati.

Variabel terkendali adalah variabel yang dianggap berpengaruh, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan

dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah suhu, tekanan inkubator, lama inkubasi, kondisi laboratorium seperti kebersihan dari ruangan dan instrumen laboratorium, konsentrasi sampel uji, keadaan sel T47D, kerapatan T47D, dan peneliti sendiri.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, tanaman keladi tikus adalah seluruh bagian tanaman yang sudah matang, berwarna hijau, terdapat umbi, dan mulai muncul bunga yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, Jawa Tengah.

Kedua, ekstrak etanol adalah ekstrak kental yang diperoleh dari tanaman keladi tikus dan diekstrak menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi.

Ketiga, fraksi *n*-heksan adalah hasil fraksinasi dari ekstrak etanol tanaman keladi tikus menggunakan pelarut *n*-heksan dengan metode ekstraksi cair-cair.

Keempat, fraksi etil asetat adalah hasil fraksinasi dari ekstrak etanol tanaman keladi tikus menggunakan pelarut air dengan metode ekstraksi cair-cair.

Kelima, fraksi air adalah hasil fraksinasi dari residu fraksi etil asetat tanaman keladi tikus.

Keenam, aktivitas sitotoksik adalah kemampuan senyawa untuk membunuh sel kanker setengah dari jumlah populasi yang diukur berdasarkan parameter IC_{50} dengan nilai $IC_{50} < 100 \mu L$ untuk ekstrak dan $IC_{50} < 30 \mu L$ untuk fraksi.

Ketujuh, indeks selektivitas adalah nilai indikasi selektivitas sitotoksik yakni toksik terhadap sel kanker namun tidak toksik terhadap sel normal yang dinyatakan dengan nilai $> 3,00$.

Kedelapan, sel kanker payudara T47D yang digunakan adalah *continuous cell line* koleksi Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, dimana kultur sel ditumbuhkan dalam media dasar penumbuh RPMI 1640 yang mengandung FBS 10%, penisilin-streptomisin (Penstrep) 2% dan fungizone 0,5%.

Ketujuh, sel vero merupakan *continuous cell line* yang berasal dari ginjal kera Afrika. Kultur sel ditumbuhkan pada media M-199 yang mengandung PBS

10% dan penisilin-streptomisin 2%, *fungizone* 0,5% dan diperoleh dari Lab. Prasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain: alat penyari yang terdiri dari bejana maserasi, kain flanel, ayakan no.40, batang pengaduk, blender, corong pisah, klem & batang statip, alat gelas, *moisture balance* O'haus MB23, kertas saring, eksikator, timbangan elektrik, corong *Buchner*, oven, dan evaporator (Putri 2016).

Alat uji sitotoksik meliputi tabung konikal steril (Nunclone), *tissues culture flask* (Nunclone), mikropipet 96 sumuran (Nunclone), *Nebaur haemocytometer* (Olympus CKX41), mikropipet 200-1000 μ L (Pipetman), tangki nitrogen cair, *sentrifuge Sigma* 3K12 (B. Braun Biotech Internasional), *magnetic stirres*, *autoclave*, inkubator 37⁰C aliran CO₂ 5% model 6200 (Napco), *laminar air flow class II* (Labconco), spektrokolorimeter pada alat ELISA reader (SLT 240 ATC), mesin vortex, mikroskop *inverted* (Axiovert-25) dan kamera digital (Putri 2016).

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan adalah serbuk kering dari seluruh bagian tanaman keladi tikus (*Typhonium flagelliforme* (L.)) dari umbi hingga daun dan ekstraksi menggunakan etanol 96%, serta pelarut *n*-heksana, etil asetat dan air untuk fraksinasi.

Bahan untuk uji sitotoksik adalah sel kanker payudara *cell line* T47D; sel vero; doxorubicin; media stok: RPMI 1640 (Gibco); media kultur sel: media RPMI 1640 (Gibco), NaHCO₃, *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10% v/v (Gibco), Penisilin-Streptomisin (Penstep) 2% v/v (Gibco), Fungizone (Amphoterasin B) 0,5% v/v (Gibco). Dimetil sulfoksida (DMSO), Tripsin 0,5%, MTT 5mg/mL dalam PBS; media pencuci sel: larutan *Phospat Buffer Saline* (PBS) pH 7,2; Sodium Dodesil Sulfat (SDS) 10% dalam larutan HCl 0,1 N sebagai *stoper* (Putri 2016).

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman keladi tikus

Penelitian diawali dengan menetapkan kebenaran tanaman atau melakukan identifikasi tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopisnya. Hal ini dilakukan dengan mencocokkan ciri morfologis tanaman pada pustaka yang dibuktikan di Laboratorium Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta, Jawa Tengah.

2. Pengumpulan, pengeringan bahan, dan pembuatan serbuk

Tanaman keladi tikus diperoleh pada bulan November 2018 dari daerah Tawangmangu, Jawa Tengah. Pengambilan tanaman keladi tikus dilakukan saat tanaman sudah tumbuh umbi, berwarna hijau tua, dan siap panen. Tanaman keladi tikus kemudian dicuci dengan air mengalir dan ditiriskan.

Tanaman keladi tikus yang sudah dibersihkan, dipisahkan dengan akar dan bunganya lalu dirajang untuk memperkecil ukuran sehingga mempercepat proses pengeringan, selanjutnya dilakukan pengeringan menggunakan oven suhu 40⁰C. Tanaman keladi tikus yang sudah kering, digiling, kemudian diayak menggunakan ayakan nomor mesh 40. Serbuk yang diperoleh disimpan dalam wadah kering tertutup rapat dan dilakukan pemeriksaan secara organoleptis dan selanjutnya digunakan untuk penelitian.

3. Penetapan susut pengeringan serbuk

Penetapan susut pengeringan serbuk keladi tikus dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Unviversitas Setia Budi Surakarta. Pengujian dilakukan dengan cara serbuk keladi tikus ditimbang 2 gram, kemudian diukur susut pengeringan serbuk dengan alat *moisture balance* O'haus MB23 pada suhu 105⁰C selama 30 menit, lalu dilakukan pembacaan sampai muncul angka dalam persen. Susut pengeringan memenuhi syarat apabila kadar air suatu serbuk simplisia <10% (Depkes 2000).

4. Penetapan kadar air serbuk

Penetapan kadar air serbuk dan ekstrak menggunakan alat *sterling-bidwell* dengan cara menimbang serbuk sebanyak 20 gram, masukkan serbuk dalam labu destilasi dan menambahkan pelarut toluen jenuh air kurang lebih 200 mL sampai

terendam, kemudian memasang alat *sterling-bidwell* dan memanaskan dengan menggunakan pembakar spiritus. Pemanasan dihentikan jika pada penampung tidak menetes lagi dan dilanjutkan dengan mengukur kadar air dengan melihat volume pada skala alat (Kemenkes 2008). Penetapan kadar air serbuk dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

5. Pembuatan ekstrak etanol tanaman keladi tikus

Ekstrak etanol keladi tanaman keladi tikus dibuat dengan metode maserasi. Proses ini dilakukan dengan cara merendam 1 bagian serbuk kering simplisia dengan 7,5 bagian pelarut. Serbuk keladi tikus yang sudah jadi ditimbang seberat 500 gram lalu dimasukkan dalam wadah gelap ditambah dengan etanol 96% sebanyak 3750 mL. Wadah ditutup dan dikocok sebentar kemudian disimpan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari selama 5 hari dan sering dikocok. Setelah 5 hari, maserat disaring menggunakan kertas saring dan cuci ampas dengan etanol 96% sebanyak 1250 mL hingga diperoleh 5000 mL. Filtrat ditampung dalam bejana dan dibiarkan ditempat sejuk terlindung dari cahaya selama 2 hari. Endapan disaring, filtrat ditampung dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50⁰C sampai pelarut etanol habis. Ekstrak etanol tanaman keladi tikus selanjutnya dilakukan pemeriksaan organoleptis pada ekstrak kental (Kemenkes 2013).

6. Pembuatan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air tanaman keladi tikus

Ekstrak etanol yang telah diperoleh dari penyarian sebanyak 10 gram dilarutkan dengan etanol 96% 15 ml dan ditambahkan dengan 60 mL aquadest (1:10), kemudian dipartisi menggunakan pelarut *n*-heksan sebanyak 75 mL. Campuran larutan dikocok di dalam corong pisah secara perlahan untuk menghindari proses penyabunan, selanjutnya didiamkan dan ditunggu hingga terjadi pemisahan sempurna antara lapisan *n*-heksan dan lapisan air. Proses partisi dengan 75 mL pelarut *n*-heksana dilakukan sebanyak 3 kali. Lapisan *n*-heksan dipisahkan kemudian dipekatkan dengan *vaccum evaporator* pada suhu 50⁰C sampai diperoleh fraksi *n*-heksana kental (Ghani 2018).

Lapisan air dari hasil partisi dengan *n*-heksan dimasukkan ke dalam corong pisah dan dipartisi lagi dengan 75 mL pelarut etil asetat. Diamkan dan ditunggu hingga terjadi pemisahan sempurna antara lapisan etil asetat dilakukan sebanyak 3 kali. Lapisan etil asetat dipisahkan kemudian sisa lapisan air ditampung. Hasil lapisan etil asetat ditampung dan dipekatkan dengan *vaccum evaporator* sampai diperoleh fraksi etil asetat (Ghani 2018). Skema dapat dilihat pada Gambar 1.

7. Uji bebas alkohol

Uji bebas alkohol ekstrak etanol dan fraksi tanaman keladi tikus dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol, dimana ekstrak dan fraksi tanaman keladi tikus ditambah dengan asam setat encer dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Bila tidak ada bau ester (etil asetat) berarti sudah tidak ada etanol (Depkes 1995).

8. Identifikasi kandungan senyawa pada ekstrak dan fraksi tanaman keladi tikus

Kandungan senyawa yang terdapat di dalam serbuk simplisia ekstrak etanol tanaman keladi tikus diidentifikasi dengan uji warna menggunakan pereaksi warna yang spesifik untuk golongan senyawa masing-masing.

8.1 Identifikasi flavonoid. Sampel dilarutkan dengan pelarut secukupnya diambil 5 mL lalu ditambah 0,1 gram serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat dan 2 mL amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terjadi warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol (Helmi *et al.* 2015).

8.2 Identifikasi alkaloid. Sampel dilarutkan dengan 1 mL HCl 2N, dipanaskan 5 menit lalu disaring. Uji dengan reagen Mayer, hasil positif alkaloid ditandai dengan adanya endapan kuning, sedangkan pada tes dengan reagen Dragendorff hasil positif alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan merah (Tiwari *et al.* 2011).

8.3 Identifikasi tanin. Simplisia dididihkan dengan 20 mL air lalu disaring, ditambah beberapa tetes ferilklorida 1%. Terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin (Edoga *et al.* 2015).

8.4 Identifikasi fenolik. Sampel dilarutkan dengan aquadest secukupnya lalu ditambah dengan beberapa tetes FeCl_3 1%, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, biru atau ungu (Harborne 1987).

8.5 Identifikasi steroid dan terpenoid. Uji dilakukan dengan melarutkan sampel dengan larutan uji sebanyak 2 mL diuapkan dalam cawan porselen. Residu dilarutkan dengan 0,5 mL kloroform, kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Asam sulfat pekat sebanyak 2 mL lalu ditambahkan melalui dinding tabung. Terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan menunjukkan adanya terpenoid, sedangkan bila muncul cincin biru kehijauan menunjukkan adanya steroid (Ciulei 1984).

9. Uji sitotoksik

9.1 Sterilisasi alat. Alat-alat gelas yang akan digunakan harus dalam keadaan steril. Alat dicuci dan dikeringkan. Setelah kering akat dibungkus dengan kertas, kemudian disterilisasi dalam autoklaf selama 15-30 menit pada suhu 121°C .

9.2 Pembuatan media kultur RPMI (*Roswell Park Memori Institute*). Media padat berupa serbuk RPMI disiapkan sebanyak 10,4 gram, lalu ditambahkan 800 mL aquabidest steril dalam *beaker glass* 1 L di dalam LAF. Media bubuk dituang ke dalam aquabidest steril ke dalam *beaker glass*, aduk hingga rata, bagian dalam pembungkus media bubuk dibilas dengan aquabidest, tuang cairannya ke dalam *beaker glass* di atas NaHCO_3 diaduk dengan *magnetic stirrer* hingga semua larut. *Adjusting* pH dilakukan (seharga 0,200,3 dibawah pH yang diinginkan) dengan menambahkan NaOH 1 N atau HCl 1 N. Filtrasi media dilakukan dengan menggunakan filter 0,2 mikron, tampung ke dalam botol Duran 500 mL. Media diberi penanda dan simpan di kulkas dengan suhu 4°C . Pembuatan media komplet RPMI 1640 dibuat dari 100 mL RPMI 1640 stock ditambah *Fetal Bovine Serum* (FBS) sebanyak 10%, antibiotika penisilin-streptomisin 2% dan Fungizone (Amphoteresin) 0,5%.

9.3 Pembuatan media M-199. Media M-199 digunakan untuk menumbuhkan sel vero, dilakukan dengan melarutkan serbuk media M-199 dalam 800 mL aquadest, kemudian ditambahkan 2,2 gram sodium bikarbonat dan 2 gram (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid (HEPES). Semua bahan

diaduk dengan *stirrer* hingga larut. Larutan diatur pHnya sampai 7,2 dengan menambahkan NaOH 1 M atau HCl 1 M. Larutan dibuat 1 L dan distreilkan dengan penyaringan menggunakan filter 0,2 μm ke dalam botol tertutup steril. Medium disimpan dalam lemari pendingin suhu 4⁰C dan diberi label. Media M-199 untuk membuat medium tumbuhnya ditambah *Fetal Bovine Serum* (FBS) sebanyak 10%, penisilin-streptomisin 2% dan fungizone (Amphoteresin) 0,5% hingga volume 100 mL.

9.4 Pembuatan larutan PBS (*Phospat Buffer Saline*). Dinatrium hidrogen fosfat (Na_2HPO_4) ditimbang 2,16 gram, selanjutnya ditambahkan 0,2 gram kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4), 8 gram natrium klorida dan dilarutkan dalam aquadest steril hingga 1 L, kemudian disterilkan dengan autoklaf.

9.5 Pembuatan larutan MTT. Serbuk MTT sebanyak 50 mg/mL dalam PBS dan disterilkan ddengan filtrasi ukuran pori 0,2 μm .

9.6 Pembuatan larutan uji. Timbang fraksi etanol, fraksi etil asetat, fraksi *n*-heksan, dan fraksi air seberat 10 mg selanjutnya dilarutkan dengan 100 μL DMSO dalam ependrof, kemudian disimpan sebagai larutan stok untuk digunakan dalam pengujian. Pembuatan larutan stok maupun seri kadar larutan untk perlakuan dilakukan secara aseptis di dalam LAF. Buat dalam variasi konsentrasi (500 $\mu\text{g/mL}$, 250 $\mu\text{g/mL}$, 125 $\mu\text{g/mL}$, 62,5 $\mu\text{g/mL}$, 31,25 $\mu\text{g/mL}$, 15,63 dan 7,81 $\mu\text{g/mL}$), dipipet sebanyak 100 μL ke dalam tiap sumuran dengan 4 kali pengulangan tiap variasi konsentrasi.

9.7 Pengaktifan sel kanker payudara T47D. Sel yang inaktif diambil dari tangki nitrogen cair dan segera dicairkan dalam *water bath* (suhu 37⁰C) lalu vialnya disemprot dengan etanol 70%. Di dalam LAF, sel kanker payudara T4TD dimasukkan dalam tabung *sentrifuge* dan disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang, endapan yang terbentuk ditambah media komplit RPMI 1640 dengan FBS 10%. Sel ditumbuhkan dalam beberapa *tissue culture flask* kecil (2-3 buah) dan diamati di bawah mikroskop untuk memperkirakan jumlah sel. Sel hidup kelihatan bulat, jernih dan bersinar. *Flask* dimasukkan inkubator beraliran CO_2 5% pada suhu 37⁰C. Setelah 24 jam, media

diganti dan sel ditumbuhkan lagi hingga konfluen serta jumlahnya cukup untuk penelitian.

9.8 Panen dan perhitungan sel. Media dalam *tissue culture flask* dibuang lalu dicuci dengan PBS (*Phosphat Buffer Saline*) kurang lebih 7 mL sebanyak 2 kali. Ditambahkan tripsin 1/2 dari jumlah PBS. Inkubasi selama 3-5 menit, lalu diamati pelepasan sel dari dasar flask dengan mikroskop. Sel dipipet masuk ke conical steril, ditambah media penumbuh sebanyak 2-3 mL untuk menghentikan kerja tripsin. Sel dilakukan pencampuran dengan piper sampai sel terlepas, kemudian diamati keadaan sel dengan mikroskop. Sel yang terlepas dipindahkan ke dalam tabung conical baru dan disisakan sedikit di dalam *flask* yang kemudian ditambahkan media kultur 2-3 mL, diresuspensikan. Suspensi sel diambil 10 μ L dan dipipetkan ke hemositometer, lalu sel dihitung di bawah mikroskop inverted.

Hemositometer terdiri dari 4 kamar hitung (A, B, C, dan D), tiap kamar hitung terdiri dari 16 kotak. Sel dihitung pada 4 kamar hemositometer, sel yang gelap (mati) dan sel yang berada di batas luar di sebelah kiri dan atas tidak ikut dihitung. Sel di batas kanan dan bawah ikut dihitung. Dihitung jumlah sel per mL dengan rumus (Nugroho et al., 2012) :

$$\sum \frac{\text{sel}}{\text{mL}} = \frac{\Sigma \text{ sel A} + \Sigma \text{ sel B} + \Sigma \text{ sel C} + \Sigma \text{ sel D}}{4} \times 100\% \quad (1)$$

Dihitung volume panen sel yang diperlukan (dalam mL) dengan rumus:

$$\text{Volume panen sel} = \frac{\text{Jumlah total sel yang diperlukan}}{\text{Jumlah sel terhitung tiap mL}} \quad (2)$$

Volume panen sel diambil kemudian ditransfer ke konikel baru dan ditambahkan medium sampai total yang diperlukan.

Jumlah suspensi sel yang harus diambil dan jumlah media yang harus ditambahkan dihitung untuk memperoleh konsentrasi sel sebesar 10^4 tiap sumuran. Sel didistribusikan ke dalam microplate 96 sumuran, lalu diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5% dengan suhu 37⁰C selama 24 jam untuk beradaptasi dan menempel di sumuran sampai sel siap untuk diberi perlakuan.

9.9 Treatment sel (pemberian ekstrak dan MTT). Sumuran yang berisi sel ditambahkan 100 μL larutan uji yaitu ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air yang dilarutkan dalam pelarut DMSO, sehingga diperoleh kadar akhir sampel dengan variasi konsentrasi tertentu (500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63; 7,81) $\mu\text{g/mL}$ tiap sumuran. Kontrol sel yang digunakan adalah sel dengan penambahan media komplit RPMI. Sel diinkubasi pada inkubator CO_2 5% dengan suhu 37°C selama 24 jam. Akhir inkubasi, media masing-masing sumuran dibuang dengan cara *microplate* dibalikkan 180°C di atas tempat buangan kemudian plate ditekan untuk meniriskan sisa cairan. Tambah 100 μL MTT 0,3% dalam PBS. *Microplate* diinkubasi kembali selama 4 jam pada inkubator CO_2 5% dengan suhu 37°C . Sel yang hidup akan bereaksi dengan MT membentuk formazan berwarna ungu, sedangkan sel mati akan memberikan warna kuning. Menghentikan reaksi antara sel dengan MTT serta melarutkan formazan maka ditambahkan 100 μL SDS 10% daam 0,1 HCl. *Plate* kemudian dibungkus dengan kertas aluminium foil dan diinkubasi semalaman pada suhu kamar, lalu sel dikocok dengan *shaker* selama 10 menit. Serapan dibaca dengan menggunakan spektrofotometer pada alat ELISA reader pada panjang gelombang 595 nm.

E. Analisi Hasil

1. Uji sitotoksitas

Hasil uji sitotoksik berupa respon serapan dikonversikan ke dalam persen kehidupan sel dengan persamaan berikut:

$$\% \text{ viabilitas sel} = \frac{(\text{abs sel perlakuan} - \text{abs abs kontrol media})}{(\text{abs kontrol sel} - \text{abs kontrol media})} \times 100\% \quad (3)$$

Dilanjutkan analisis untuk menentukan regresi linier antara log konsentrasi sampel uji (ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air) versus persen sel hidup menggunakan Microsoft Excel 2010, hingga didapat persamaan:

Keterangan: Y = Log konsentrasi sampel uji; X: % Viabilitas sel

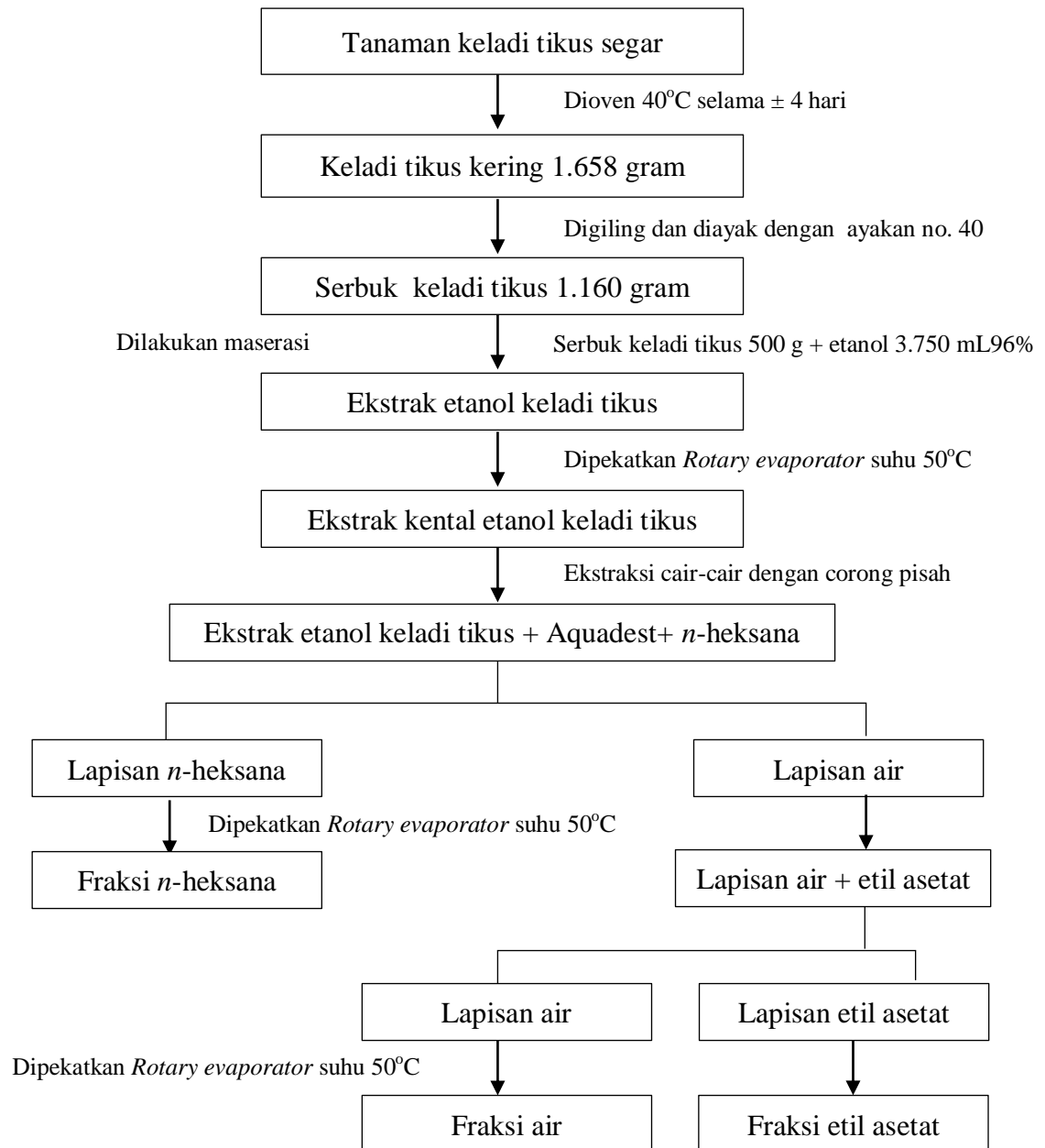
$$Y = a + bx$$

Hasil analog x dari persamaan di atas, merupakan nilai IC_{50} .

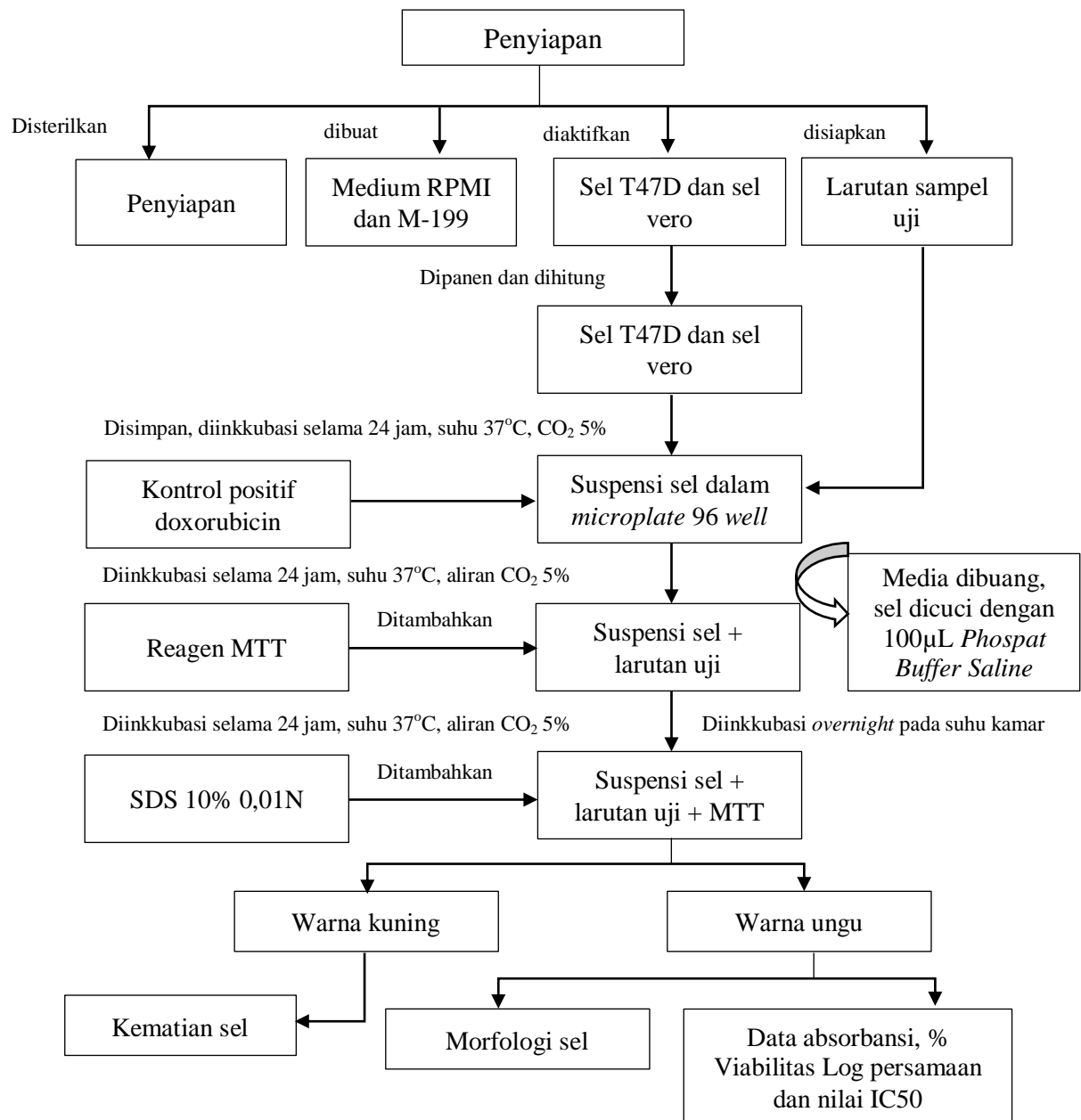
2. Indeks selektivitas

Indeks selektivitas dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

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



Gambar 2. Skema pembuatan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air keladi tikus (*Typhonium flagelliforme* (Lodd) BI)



Gambar 3. Skema uji sitotoksik fraksi n-heksan dan fraksi air keladi tikus terhadap sel kanker payudara T47D.