

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah keseluruhan dari subjek yang menjadi sumber pengambilan sampel yang akan diteliti. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Sampel adalah bagian dari populasi yang diambil melalui suatu cara tertentu, dijadikan sumber informasi data yang diperlukan untuk menjawab permasalahan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong yang berwarna hijau, segar, bebas dari hama, dan tidak busuk, kemudian dibuat menjadi ekstrak etanol daun binahong dengan variasi konsentrasi ekstrak 1000 µg/mL; 500 µg/mL; 250 µg/mL; 125 µg/mL; 62,5 µg/mL; 31,25 µg/mL.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian adalah ekstrak etanol 70% dari daun binahong. Variabel utama kedua adalah aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun binahong terhadap sel kanker hati HepG2. Variabel utama ketiga adalah sel kanker hati HepG2.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkontrol.

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol dari daun binahong yang diujikan pada sel kanker hati HepG2.

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini. Variabel tergantung dari penelitian ini adalah aktivitas sitotoksik sel HepG2 dengan menghitung jumlah sel yang mati.

Variabel kendali adalah variabel yang dianggap berpengaruh, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh 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 ruangan dan instrumen laboratorium, konsentrasi sampel uji, keadaan sel HepG2, kerapatan sel HepG2 dan peneliti sendiri.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun binahong adalah bagian daun muda maupun tua dari tanaman binahong yang diperoleh dari B2P2TOOT Tawangmangu.

Kedua, serbuk daun binahong adalah daun binahong yang dikeringkan, diserbuk, dan diayak menggunakan ayakan nomer 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun binahong adalah hasil ekstraksi daun binahong dengan pelarut etanol 70% menggunakan metode maserasi kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai mendapatkan ekstrak kental.

Keempat, aktivitas sitotoksik adalah kemampuan senyawa dalam membunuh sel kanker setengah dari jumlah populasi.

Kelima, nilai IC_{50} adalah nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel.

Keenam, sel kanker hati HepG2 adalah *continuous cell line* HepG2 koleksi Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta yang ditumbuhkan dalam media DMEM yang mengandung FBS 10%, Amphoterasin B 0,5% dan Penisillin-Streptomisin 2%.

Ketujuh, sel Vero adalah *continuous cell line* koleksi Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

Kedelapan, MTT *assay* adalah metode uji sitotoksik untuk menentukan nilai IC_{50} pada masing-masing konsentrasi.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan sampel yang digunakan adalah serbuk kering daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), etanol 70%, HCl pekat, serbuk Mg, Kloroform, H₂SO₄ pekat, amonia, aquadest, Besi III Klorida, CH₃COOH glacial, Pereaksi Mayer, Dragendorf, dan Wagner.

Bahan untuk uji sitotoksik adalah sel kanker hati HepG2; sel Vero; *cell line*; media stok: DMEM (Gibco), M199, media kultur sel, media DMEM (Gibco), media M199, NaHCO₃, HEPES (Sigma), *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10% v/v (Gibco), Penisillin-Streptomisin (Penstep) 2% v/v (Gibco), Amphotericin B (*Fungizone*) 0,5% v/v (Gibco), Dimetil sulfoksida (DMSO), Tripsin 0,5%, MTT 5 mg/mL dalam PBS; media pencuci sel: larutan *Phosphat Buffer Saline* (PBS) pH 7,2; *Sodium Dodesil Sulfat* (SDS) 10% dalam HCl 0,01 N sebagai penghenti (*stopper*); Cisplatin sebagai obat pembanding.

2. Alat

Alat yang digunakan meliputi alat untuk penyarian terdiri atas bejana maserasi, kain flanel, ayakan no. *mesh* 40, batang pengaduk, blender, *moisture balance* O'haus MB23, kertas saring, eksikator, timbangan analitik, corong Buchner, oven, *rotary evaporator* dan alat gelas.

Alat uji sitotoksik meliputi tangki nitrogen cair, *sentrifuge* Sigma 3K12 (Braun Biotech Internasional), autoklaf, inkubator 37°C aliran CO₂ 5% model 6200 (Napco), *laminar air flow class II* (Labconco), spektrokolorimeter pada alat ELISA reader (SLT 240 ATC), *Nebauer haemocytometer* (Olympus CKX41), *eppendorf*, tabung konikal steril (Nuclone), *tissue culture flask* (Nuclone), mikroplate 96 sumuran (Nuclone), lampu ultraviolet, neraca analitik (Sartorius), mikropipet 20-200 µL dan 200-1000 µL (Pipetman), mesin vortex, mikroskop inverted (Axiovert-25), *magnetic stirrer*, dan kamera digital.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman binahong

Tahap pertama penelitian adalah menetapkan kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopisnya. Hal ini dilakukan

dengan mencocokkan ciri-ciri morfologis tanaman pada pustaka yang dibuktikan di Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Universitas Sebelas Maret Surakarta.

2. Pengumpulan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun binahong

Tanaman binahong diperoleh dari B2P2TOOT Tawangmangu, Karanganyar. Daun binahong yang digunakan adalah daun muda maupun tua yang masih segar dan tidak busuk, kemudian dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir. Daun binahong yang sudah dibersihkan, kemudian dikeringkan menggunakan oven suhu 40°C. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air, mencegah terjadinya perubahan kimiawi, reaksi enzimatis yang dapat menurunkan mutu, menghindari pertumbuhan jamur dan bakteri, dan memudahkan dalam proses pembuatan serbuk. Daun binahong yang sudah kering digiling dan diblender, kemudian diayak menggunakan ayakan nomor *mesh* 40. Serbuk yang diperoleh disimpan dalam wadah kering tertutup rapat dan dilakukan pemeriksaan secara organoleptis.

3. Penetapan susut pengeringan serbuk daun binahong

Penetapan susut pengeringan daun binahong dilakukan dengan menimbang serbuk daun binahong sebanyak 2 gram, kemudian diukur susut pengeringan serbuk dengan menggunakan alat *moisture balance* O'haus MB23 pada suhu 105°C, dilakukan pembacaan sampai muncul angka dalam persen. Pengukuran susut pengeringan serbuk daun binahong ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

4. Pembuatan ekstrak etanol daun binahong

Pembuatan dari ekstrak daun binahong mengikuti prosedur Kemenkes RI (2011), dilakukan dengan menimbang serbuk simplisia daun binahong sebanyak 800 gram lalu dimasukkan dalam botol gelap, ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 8 liter. Proses penyarian dilakukan selama 24 jam, dimana selama 6 jam pertama direndam sambil sekali-sekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Filtrat dipisahkan dengan ampas dengan cara difiltrasi. Proses penyarian diulangi satu kali dengan jenis pelarut yang sama dan jumlah volume pelarut sebanyak setengah kali jumlah volume pelarut pada penyarian pertama, yaitu 4

liter. Semua filtrat dikumpulkan, dipekatkan dengan *rotary evaporator* serta disempurnakan pengeringannya di dalam oven suhu 50°C sehingga didapatkan ekstrak kental.

5. Uji kadar air ekstrak daun binahong

Uji kadar air dilakukan dengan metode destilasi *Sterling-Bidwell*, yaitu dengan menimbang sebanyak 6 gram ekstrak daun binahong kemudian dimasukan ke dalam labu didih. Toluene jenuh air ditambahkan kedalam labu didih sebanyak 200 mL, dan dipasang rangkaian alatnya. Toluene jenuh air dimasukkan ke dalam tabung penerima melalui pendingin sampai leher alat penampung. Labu dipanaskan dengan hati-hati selama 15 menit. Setelah toluene mulai mendidih, diatur penyulingan dengan kecepatan kurang lebih 2 tetes tiap detik hingga sebagian air tersuling, kemudian kecepatan penyulingan dinaikkan hingga 4 tetes tiap detik. Setelah semua air tersuling, bagian dalam pendingin dicuci dengan toluene jenuh air sambil dibersihkan dengan sikat tabung yang disambungkan pada sebuah kawat tembaga dan telah dibasahi dengan toluene jenuh air. Penyulingan dilanjutkan selama 5 menit, kemudian tabung penerima didinginkan pada suhu ruang. Volume air dibaca setelah air dan toluene memisah sempurna. Kadar air dihitung dalam % volume/berat (Kemenkes RI 2008).

6. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun binahong secara kualitatif dengan metode tabung

6.1. Identifikasi flavonoid. Sebanyak 0,5 gram ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan serbuk magnesium, 10 tetes HCl pekat dan amil alkohol. Campuran dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Farnsworth 1966).

6.2. Identifikasi alkaloid. Sebanyak 0,5 gram ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL kloroform secukupnya dan 10 mL amonia lalu ditambahkan 10 tetes H₂SO₄. Campuran dikocok dan dibiarkan hingga membentuk 2 lapisan. Lapisan H₂SO₄ dipindahkan dalam 3 tabung reaksi dengan volume masing-masing 2,5 mL. Ketiga larutan diuji dengan pereaksi Mayer, Dragendorff dan Wagner. Larutan positif pada pereaksi Mayer ditunjukkan

dengan adanya endapan putih, larutan positif pada pereaksi Dragendorf dengan berubahnya larutan menjadi warna merah jingga, dan larutan positif pada pereaksi Wagner dengan berubahnya warna larutan menjadi warna coklat (Surbakti 2018).

6.3. Identifikasi saponin. Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambahkan dengan 10 mL *aquadestilata* kemudian dikocok kuat selama kurang lebih 1 menit. Selanjutnya didiamkan dan diamati buih atau busa yang terbentuk. Keberadaan senyawa saponin dalam sampel ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil (Surbakti 2018).

6.4. Identifikasi tanin. Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambahkan dengan 10 mL air panas, kemudian ditetesi menggunakan besi (III) klorida, keberadaan tanin dalam sampel ditandai dengan timbulnya warna hijau kehitaman (Surbakti 2018).

6.5. Identifikasi steroid dan terpenoid. Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambahkan CH_3COOH glacial sebanyak 10 tetes dan H_2SO_4 pekat sebanyak 2 tetes. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Larutan menjadi positif pada triterpenoid jika larutan berubah menjadi warna merah atau ungu, dan larutan positif pada steroid jika larutan berubah menjadi warna biru atau hijau (Surbakti 2018).

7. Uji sitotoksik

7.1. Sterilisasi laminar air flow (LAF). Sterilisasi LAF dengan menyalakan lampu ultraviolet (UV) selama 15 menit sebelum digunakan kemudian pintu LAF ditutup. Kemudian lampu dimatikan, pintu dibuka, lalu hidupkan lampu LAF dan permukaan LAF disterilkan dengan etanol 70% (CCRC 2009).

7.2. Sterilisasi alat. Alat-alat gelas yang akan digunakan harus berada dalam keadaan steril. Alat dicuci dan dikeringkan dalam oven. Alat-alat kering tersebut dibungkus dengan kertas, kemudian disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C (CCRC 2009).

7.3. Pembuatan medium kultur (DMEM) dan media penumbuh sel HepG2. Serbuk media DMEM ditimbang sebanyak 10,4 gram dilarutkan dengan *aquadestilata* kurang lebih 800 mL dalam *beaker glass* 1 L, kemudian

ditambahkan 2,2 gram NaHCO_3 dan 2 gram HEPES. Larutan diaduk menggunakan *stirrer* sampai larut. Larutan dasar ditambahkan (1 M NaOH atau 1 M HCl) untuk menjaga pH larutan antara 7,2-7,4. *Aquadestilata* ditambahkan lagi hingga volume larutan menjadi 1 L dan disterilkan dengan penyaringan menggunakan filter polietilen sulfon 0,22 μm ke dalam botol steril (dilakukan di dalam LAF), disimpan dalam lemari es suhu 4°C dan diberi label (CCRC 2009).

Pembuatan media penumbuh DMEM dengan cara, 87,5 mL DMEM stock ditambah 10 mL FBS, 2 mL antibiotik penisillin-streptomisin dan 0,5 mL Fungizon (CCRC 2009).

7.4. Pembuatan media stok (M199) dan media penumbuh sel Vero.

Sebanyak 9,5 gram media M199, 2,2 gram NaHCO_3 , 2 gram HEPES dimasukkan ke dalam *beaker glass* 1 L. *Aquadestilata* ditambahkan kurang lebih 800 mL dan dihomogenkan menggunakan *stirrer* sampai larut. Larutan dasar ditambahkan (1 M NaOH atau 1 M HCl) untuk menjaga pH larutan antara 7,2-7,4. *Aquadestilata* ditambahkan lagi hingga volume larutan menjadi 1 L dan disterilkan dengan penyaringan menggunakan filter polietilen sulfon 0,22 μm ke dalam botol steril (dilakukan di dalam LAF), disimpan dalam lemari es suhu 4°C dan diberi label (CCRC 2009).

Pembuatan media penumbuh M199 dengan cara, 87,5 mL M199 stock ditambah 10 mL FBS, 2 mL antibiotik penisillin-streptomisin dan 0,5 mL Fungizon (CCRC 2009).

7.5. Pembuatan larutan uji. Sampel sebanyak 10 mg ditambahkan pelarut sampai 100 μL DMSO dalam tabung *ependorf* dan disimpan sebagai larutan stok yang digunakan dalam uji. Pembuatan larutan stok dilakukan secara aseptis di dalam LAF *cabinet*. Variasi konsentrasi larutan sampel dalam media DMEM selanjutnya dibuat dengan konsentrasi (1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25) $\mu\text{g/mL}$. Variasi konsentrasi masing-masing dipipet 100 μL dimasukkan dalam tiap sumuran dengan 3x pengulangan untuk tiap konsentrasi (CCRC 2009).

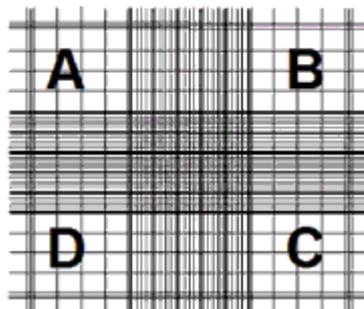
7.6. Preparasi sel.

7.6.1. Pengaktifan sel HepG2. Sel yang inaktif diambil dari tangki nitrogen cair dan segera dicairkan dalam *water bath* (suhu 37°C) kemudian vial

disemprot dengan alkohol 70%. Vial kemudian dimasukkan dalam LAF, suspensi sel diambil 1 mL dimasukkan ke dalam *conical tube* ditambahkan 3 mL media, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 1200 rpm selama 5 menit. *Conical tube* disemprot alkohol 70% kemudian dimasukkan dalam LAF, supernatan dibuang endapan yang terbentuk ditambah media komplet DMEM sebanyak 5 mL dan diresuspensi hingga homogen. Sel selanjutnya ditumbuhkan dalam *petridisk culture* dan diamati di bawah mikroskop untuk memperkirakan jumlah sel. Sel hidup kelihatan bulat, jernih dan bersinar. *Flask* dimasukkan dalam inkubator beraliran CO₂ 5% pada suhu 37°C selama 24 jam. *Flask* yang telah diinkubasi selama 24 jam tersebut diambil dan diamati dibawah mikroskop, apabila sel belum konfluen maka medium diganti dan sel ditumbuhkan lagi hingga konfluen serta jumlahnya cukup untuk penelitian (CCRC 2009).

7.6.2. Pengaktifan sel vero. Sel yang inaktif diambil dari tangki nitrogen cair dan segera dicairkan pada suhu kamar (37°C) kemudian vial disemprot dengan alkohol 70%. Vial masuk dalam LAF, suspensi sel Vero dimasukkan dalam tabung sentrifuge lalu disentrifugasi dengan kecepatan 1200 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang, endapan yang terbentuk ditambah media komplet M199 dan diresuspensi hingga homogen. Sel selanjutnya ditumbuhkan dalam wadah *flask* atau *petridisk culture* dan ditambahkan media penumbuh M199 sebanyak 5 mL dan diamati di bawah mikroskop untuk memperkirakan jumlah sel. *Flask* dimasukkan dalam inkubator beraliran CO₂ 5% pada suhu 37°C (CCRC 2009).

7.6.3. Panen dan perhitungan sel. Sel dari inkubator CO₂ yang sudah konfluen diambil, kemudian media dibuang dengan menggunakan mikropipet. Sel dalam *flask* tersebut kemudian dicuci dengan PBS sebanyak 2 mL, pencucian sel diulang sebanyak 2 kali. Tripsin ditambahkan ke dalam *flask*, lalu diinkubasi pada inkubator CO₂ selama 3 menit. Suspensi sel tersebut kemudian dituang ke dalam *conical tube* ditambahkan 3 mL medium, setelah itu 10 µL panen sel dipipetkan ke *haemocytometer*. Sel dihitung di bawah mikroskop (*inverted* atau mikroskop cahaya) dengan *counter*. Dilihat prosedur perhitungan sel di bawah.



Gambar 4. Skema bilik hitung.

Haemocytometer terdiri dari empat bilik hitung. Tiap bilik hitung terdiri dari 16 kotak. Sel yang gelap merupakan sel yang mati.

Lalu dihitung sel-sel per mL dengan rumus :

$$\text{Jumlah sel terhitung/mL} = \frac{\text{Jumlah sel di A} + \text{sel di B} + \text{sel di C} + \text{sel di D}}{4} \times 10^4 \dots\dots\dots(2)$$

Dihitung volume permanen sel (dalam mL) dengan rumus :

$$\text{Volume pemanenan sel} = \frac{\text{Jumlah total sel yang diperlukan}}{\text{jumlah sel terhitung/mL}} \dots\dots\dots(3)$$

Volume pemanenan sel diambil, ditransfer ke konikel baru dan ditambahkan medium sampai total volume yang diperlukan. Jumlah suspensi sel yang harus diambil dan jumlah media yang harus ditambahkan dihitung untuk memperoleh konsentrasi sel sebesar 1×10^4 sel/100 μ L. Sel didistribusikan dalam *microplate* sumuran 96 dengan konsentrasi 1×10^4 sel tiap sumuran, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada inkubator CO₂ 5% suhu 37°C untuk beradaptasi dan menempel di sumuran sampai sel siap untuk diberi perlakuan (Doyle & Griffiths 2000).

7.7. Treatment sel (pemberian ekstrak dan MTT). Sumuran-sumuran yang berisi suspensi sel ditambahkan 100 μ L larutan uji ekstrak etanol daun binahong yang telah dilarutkan dalam pelarut DMSO, dengan masing-masing konsentrasi (1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25) μ g/mL tiap sumuran. Kontrol positif sel yang digunakan adalah obat cisplatin dengan seri konsentrasi (100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5625) μ g/mL dan digunakan kontrol negatif sel dengan penambahan media penumbuh DMEM untuk sel HepG2 dan media penumbuh M199 untuk sel Vero. Kontrol media yang digunakan adalah larutan uji media penumbuh DMEM (sel HepG2) dan M199 (sel Vero).

Sel kemudian diinkubasi pada inkubator CO₂ 5% pada suhu 37°C selama 24 jam. Medium yang telah diinkubasi 24 jam kemudian dibuang, dengan cara *plate* dibalikkan 180°C di atas tempat buangan kemudian *plate* ditekan untuk meniriskan sisa cairan. Reagen MTT ditambahkan sebanyak 100 µL tiap sumuran. *Microplate* diinkubasikan kembali selama 4 jam pada inkubator CO₂ 5% pada suhu 37°C. Sel hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk formazan berwarna ungu dan untuk menghentikan reaksi antara sel dengan MTT serta melarutkan formazan, maka ditambahkan 100 µL SDS 10% dalam 0,01 N HCl pada tiap sumuran. *Plate* kemudian dibungkus dengan kertas aluminium foil, diinkubasikan semalam pada suhu kamar. Serapan dibaca dengan menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm sesuai dengan protokol (CCRC 2009).

8. Uji indeks selektivitas

Sel vero ditanam pada *microplate* dengan konsentrasi 1×10^4 sel /100 µL dan diinkubasi selama 24 jam untuk mendapatkan pertumbuhan yang baik. Setelah itu medium dibuang kemudian tiap sumuran ditambahkan ekstrak yang sudah dilarutkan dengan DMSO konsentrasi (1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25) µg/mL pada masing-masing sumuran dan diinkubasi pada 37°C dalam inkubator CO₂ 5% selama 24 jam. Inkubasi berakhir, media dan ekstrak dibuang kemudian sel dicuci dengan PBS. Masing-masing sumuran ditambahkan 100 µL media kultur M199 dan 10 µL MTT 5 mg/mL. Sel diinkubasi kembali selama 4-6 jam dalam inkubator CO₂ 5% pada suhu 37°C. Reaksi MTT dihentikan dengan reagen *stopper* (SDS 10% dalam HCl 0,01 N), *plate* dibungkus agar tidak tembus cahaya dan dibiarkan selama satu malam. Serapan dibaca dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm (CCRC 2009).

E. Analisis Data

1. Uji sitotoksitas

Perhitungan uji sitotoksitas dilakukan dengan menggunakan data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran, ditentukan persentase kehidupan sel dengan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{(\text{absorbansi perlakuan sel} - \text{absorbansi kontrol media})}{(\text{absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media})} \times 100\% \dots\dots\dots(4)$$

Persamaan regresi linier ditentukan dengan persamaan antara konsentrasi sampel uji dengan persen hidup sel menggunakan *Microsoft Excel 2010*, hingga didapatkan persamaan sebagai berikut:

$$y = a + bx \dots\dots\dots(5)$$

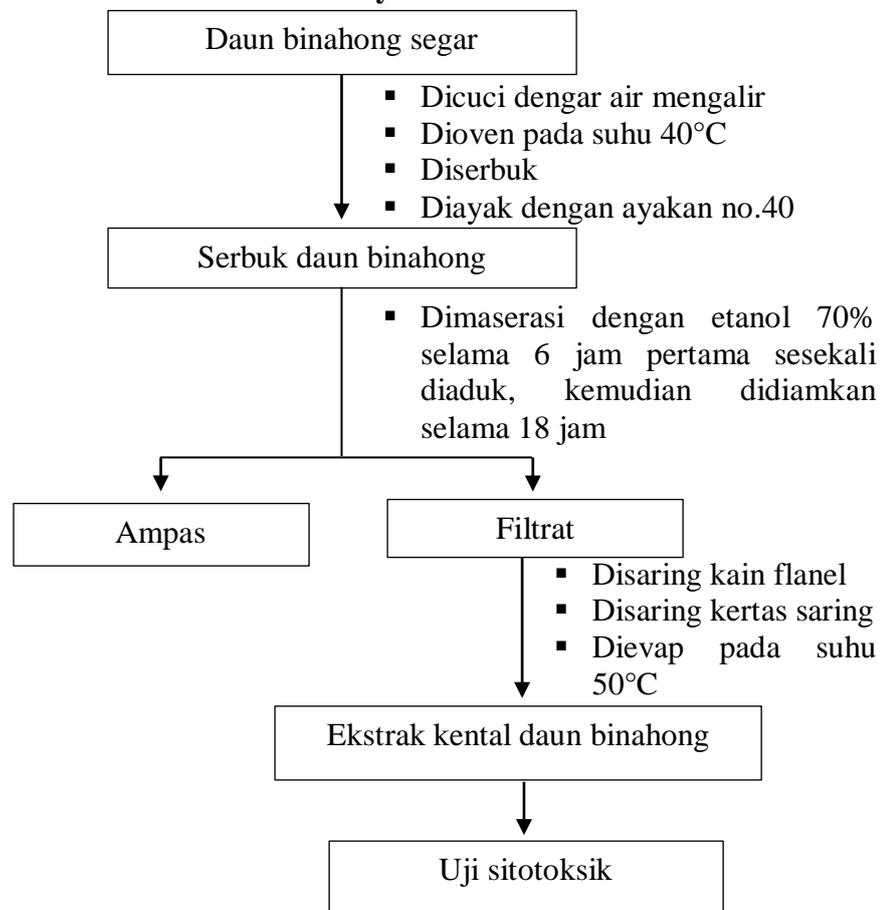
Keterangan :
 y = persen hidup sel
 x = konsentrasi sampel

2. Indeks selektivitas

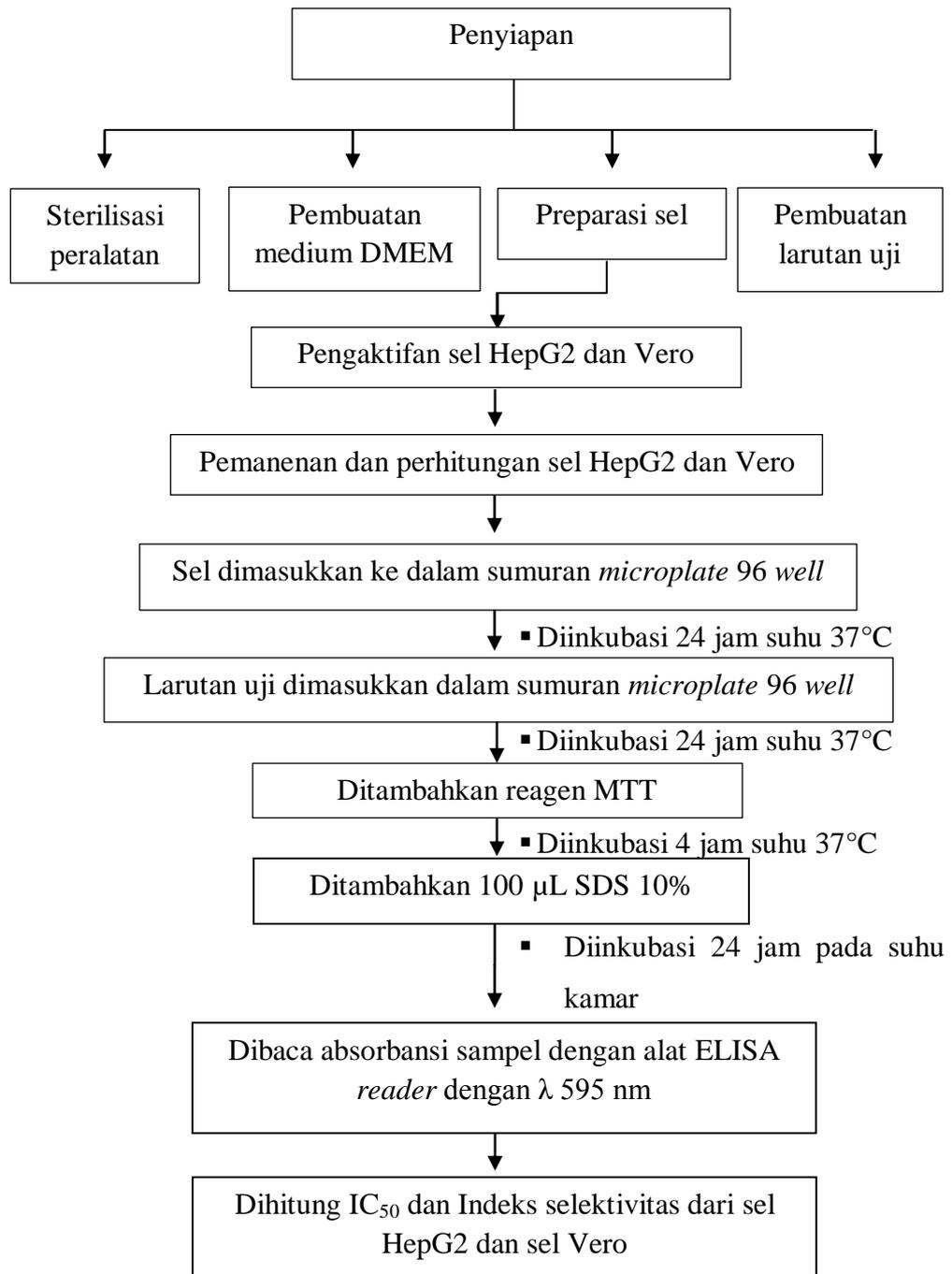
Indeks selektivitas dihitung menggunakan persamaan :

$$\text{Indeks selektivitas} = \frac{IC_{50} \text{ sel Vero}}{IC_{50} \text{ sel kanker}} \dots\dots\dots(6)$$

F. Skema Jalannya Penelitian



Gambar 5. Skema pembuatan ekstrak



Gambar 6. Skema uji sitotoksik.