

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Ekstrak etanol daun sirih merah menunjukkan aktivitas yang kurang poten terhadap sel kanker hati HepG2 dengan nilai IC_{50} sebesar 443,250 $\mu\text{g/ml}$.
2. Ekstrak etanol daun sirih merah memiliki tingkat selektivitas yang tinggi dengan nilai indeks selektivitas sebesar 3,323.
3. Ekstrak etanol daun sirih merah mampu meningkatkan ekspresi Caspase-3 pada jalur ekstrinsik dan intrinsik apoptosis sel.

B. Saran

1. Perlu dilakukan fraksinasi dan subfraksinasi untuk mengisolasi senyawa murni dari ekstrak sirih merah agar dapat meningkatkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap beberapa protein tertentu seperti Caspase-8, Caspase-9, BAX dan BAD, serta Bcl-2 untuk mengetahui jalur apoptosis sel

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2011. Pengobatan kanker. *Manajemen Modern dan Kesehatan Masyarakat*. : 1-11.
- Astuti P.I, Munawaroh E. 2011. Karakteristik morfologi daun sirih merah. *Hayati* 7A : 83-85.
- Basito. 2011. Efektivitas penambahan etanol 95% dengan variasi asam dalam proses ekstraksi pigmen *antosianin* kulit manggis. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian* 4 : 84-93.
- Bagaswoto P, Sudarmanto. 2009. Kemoembolisasi *transarterial* (TACE) pada *karsinoma hepatoselullar* (KHS). *Jurnal kanker Indonesia* 3 : 117-121.
- DepKes RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. 1987. *Analisis Obat Tradisional*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- DepKes RI. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Emrizal, Fernando A, Yuliandari R, Rullah K, Indrayani RN. 2014. Cytotoxic activities of fractios and two isolated compounds from sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav). *Procedia Chemistry* 13 : 79-84.
- Endah P. 2010. Perbandingan metode maserasi, remaserasi, perkolasi, dan reperkolasi dalam ekstraksi senyawa aktif *Andrographolide* dari tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) [Skripsi]. Bogor : Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Ermin K, Dede K, Susanto, Hendig W. 2013. Pengaruh iradiasi gamma terhadap sitotoksitas daun sirih merah pada sel leukimia *L1210*. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi* 9 : 113-127.
- Fazwishni S, B.S Hadijono. 2000. Uji sitotoksitas dengan MTT assay. *Jurnal Kedokteran Gigi* 7 : 28-32.
- Fransisca R. 2008. Uji sitotoksitas ekstrak etanolik daun sirih merah terhadap kultur sel *Hela* [Skripsi]. Yogyakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma

- Hameed A, Bazaid A, Shohayeb M, El-Sayed. 2012. Phytochemical studies and evaluation of antioxdant, anticancer and antimicrobial properties of *conocarpus erectus* L. *European Journal of Medicinal Plants* 2 : 93-112.
- Handayani T. 2008. Pengaruh *xantorizol* terhadap sel hepatoma *HepG2*. *Jurnal Biosains dan Teknologi* 8 : 29-35.
- Haryadi D. 2012. Senyawa fitokimia dan sitotoksisitas ekstrak daun surian (*Toona sinensis*) terhadap sel vero dan MCF-7 [Skripsi]. Bogor : FMIPA, Institut Pertanian Bogor.
- Haryoto, Muhtadi, Indrayudha P, Azizah T, Suhendi A. 2013. Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol tumbuhan sala terhadap sel *HeLa*, *T47D* dan *WiDR*. *Jurnal Penelitian Saintek* 18 : 21-28.
- Irsyad M. 2013. Standarisasi ekstrak etanol tanaman katumpangan air (*Peperomia pellucida* L. Kunth) [Skripsi]. Jakarta : FKIK, UIN Syarif Hidayatullah.
- Ismail A, G.N Handayany, A. Buhari. 2015. Uji Aktivitas Penghambatan Fraksi Polar Ekstrak Klika Ana' Dara Terhadap Sel Kanker *HeLa*. *Jurnal Farmasi* 3 : 87-91.
- Juliantina F, Dewa A, Bunga N. 2010. Manfaat sirih merah sebagai agen anti bakterial terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. *Jurnal kedokteran dan kesehatan indonesia*.
- [KEMENKES RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2015. *Buletin jendela data dan informasi kesehatan*. Jakartan: KEMENKES RI.
- Meutia L.S. 2018. Apoptosis : Mekanisme molekuler kematian sel. *Ckradonya Dent Journal* 10 : 65-70.
- Minarno B.E. 2015. Skrinning fitokimia dan kandungan total flavanoid pada buah *Carica pubescens* Lenne & K.Koch di kawasan Bromo, Cangar, dan dataran tinggi Dieng. *El-Hayah* 5 : 73-82.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan* 7: 362.
- Naton P, Endah R, Esti R. 2015. Uji sitotoksik ekstrak biji salak dengan menggunakan metode BSLT. *Jurnal Kesehatan dan Farmasi* : 618-620.
- Pratiwi. 2014. Skrining uji efek antimitosis ekstrak daun botto'-botto' (*Chromolaena odorata* L.) menggunakan sel telur bulubabi (*Tripneustus gratilla* L.) [Skripsi]. Makassar : Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Alauddin.

- Rasyid A. 2006. Temuan ultrasonografi kanker hati hepatoselular (*Hepatoma*). *Majalah Kedokteran Nusantara* 39 : 100-103.
- Ricky A. 2015. Gambaran histopatologi karsinoma hepatoseluller. *Jurnal Hasil Penelitian* 42 : 440-444.
- Rollando. 2016. Aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi hasil fermentasi fungi endofit genus *Cephalosporium* sp. Diisolasi dari daun meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.). *Jurnal Wiyata* 3 : 5-10.
- Saadah H, Nurhasnawati H. 2015. Perbandingan pelarut etanol dan air pada pembuatan ekstrak umbi bawang tiwai menggunakan metode maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung* 1 : 149-153.
- Santoso U, Sudarmanto, Naruki S, Larasatie D. 2012. Analisis kadar air pada pangan dan hasil pertanian. *Jurnal Teknologi Pangan* : 37-39.
- Sirregar A.G. 2011. Penatalaksanaan non bedah dari karsinoma hati. *Jurnal Kedokteran* 24 : 35-42.
- Siswadi, Rollando. 2016. Penelusuran potensi aktivitas sitotoksik fraksi kulit batang tumbuhan faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br). *Jurnal Farmasi* : 27-32.
- Sudewo B. 2010. *Basmi Penyakit Dengan Sirih Merah*. Jakarta : Agro Media Pustaka.
- Sukmajaya Z, Askandar B, Suhatno, Mustukoweni S. 2011. Perbandingan Ekspresi p^{16ink4a} antara *Pap Smear Low Grade Squamous Intraepithaleal Lesion* dengan *High Grade Squamous Intraepithaleal Lesion*. *Jurnal Obstetri & Ginekologi* 19 : 54-62.
- Sutedjo I.R, Herwhandani P, Meiyanto E. 2016. Ekstrak etanolik awar-awar (*Ficus septica*) sebagai agen kemopreventif selektif pada berbagai macam sel kanker. *Nurseline Journal* 1 : 190-197.
- Sunanda N, Sarah A.E, Mardi S, Suzanna N, Mashell T. 2010. Problematika diagnosis karsinoma hepatoselular. *Jurnal Kedokteran Meditek* 16 : 42-44.
- Susi E *et al.* 2009. Aktivitas antioksidan dan efek sitotoksik ekstrak kola (*Cola nitida*) pada kultur sel kanker hati (*HepG-2*). *Jurnal Kedokteran Yarsi* 17 : 40-44.
- Syahidah N.H, Hadisaputri E.Y. 2016. Review artikel : Media yang digunakan pada kultur sel. *Jurnal Farmaka* 14 : 27-36.

- Triputra J. 2016. Uji sitotoksik ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) pada sel kanker kolon WiDr [Skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Wicaksono M.F, Sari Permata, Sekti H.B, Natalia E. 2015. Inovasi terapi kombinasi ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha*) dan sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) terhadap peningkatan aktivitas Fas-L pada regresi pertumbuhan kanker serviks secara in vitro. *Jurnal Farmasi* 4 : 1-11.
- Widiastuti E.S, Retno D.A, Ashadi, Bakti M, Putri C.R. 2014. *Skrinning* fitokimia dan identifikasi komponen utama ekstrak metanol kulit durian (*Durio zibethinus Murr.*) varietas petruk. *Jurnal Kimia organik* : 1-10.
- Widyaningsih W, Salamah N, Fitiani D, Susanti H. 2014. Efek apoptosis ekstrak etanol ganggang hijau terhadap ekspresi caspase-3 dan bcl-2 pada sel T47D. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia* 1 : 55-58.
- Wijaya J, J. Salenussa, J. Marantika. 2012. Potensi ekstrak metanol daun kapur sebagai obat antimalaria. *Jurnal Kimia* : 1-9.
- Wina S.P, Yani L, Undang A.D. 2015. Isolasi dan identifikasi senyawa flavanoid dari daun sirih merah. *Jurnal Kesehatan dan Farmasi* : 53-61.
- Wulandari N, Meiftasari A, Fadliyah H, Jenie I.R, 2018. Red betel leaves methanolic extract (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) Increase cytotoxic effect on WiDr colon cancer cells through apoptosis induction. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention* 9 : 1-8.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Surat ethical clearance



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK)
Health Research Ethics Committee
FAKULTAS KEDOKTERAN
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Faculty of Medicine Universitas Muhammadiyah Surakarta
 Komplek kampus 4 UMS Gonilan Kartasura, Telp.(0271)716844, Fax.(0271)724883 Surakarta 57102, email:kepk@ums.ac.id

ETHICAL CLEARANCE LETTER

Surat Kelaikan Etik
 No. 1746/C.1/KEPK-FKUMS/XI/2018

Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) FK UMS, setelah menelaah rancangan penelitian yang diusulkan menyatakan bahwa:
Health Research Ethics Committee Faculty of medicine of Universitas Muhammadiyah Surakarta, after reviewing the research design, state that:

Penelitian dengan judul:
The research proposal with topic:

UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) DAN PENGARUHNYA TERHADAP EKSPRESI CASPASE-3 PADA KULTUR SEL KANKER HATI (HepG2)

Peneliti:
The researcher:

Nama/ Name : Muhammad Risky Hermawan

Alamat/ Address : Komp Dempo Selatan No.10 A, Kel.Mojosongo, Kec. Jebres, Surakarta.

Institusi/ Institution : Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Telah memenuhi deklarasi Helsinki 1975 dan Pedoman nasional etik penelitian kesehatan Departemen Kesehatan RI 2004
Has met the declaration of Helsinki 1975 and national health research ethics Department of Health of the Republic of Indonesia in 2004

dan dinyatakan lolos etik
and ethically approve

Surakarta, 17 Desember 2018
 Ketua/Chairman,

Prof. Dr. dr. EM. Sutrisna, M.Kes.



Lampiran 2. Surat keterangan hasil determinasi



KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN

BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN

TANAMAN OBAT DAN OBAT TRADISIONAL

Jalan Raya Lawu No. 11 Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah 57792

Telepon (0271) 697010 Faksimile (0271) 697451

Surat Elektronik b2p2to2t@gmail.com / b2p2to2t@litbang.depkes.go.id

Laman www.b2p2to2t.litbang.kemkes.go.id

Nomor : YK.01.03/21 714 /2019
Hal : Keterangan Determinasi

12 Februari 2019

Yth. Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Jalan Let Jend. Sutoyo, Mojosongo
Solo 57127

Merujuk surat Saudara nomor: 4181/A10 – 4/04.12.18 tanggal 4 Desember 2018 hal permohonan determinasi, dengan ini kami sampaikan bahwa hasil determinasi sampel tanaman sebagai berikut:

Nama Sampel	: Sirih Merah
Sampel	: Tanaman Segar (Vegetatif)
Spesies	: <i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav.
Sinonim	: -
Familia	: Piperaceae
Nama Pemohon	: Muhammad Risky Hermawan
Penanggung Jawab Identifikasi	: Dyah Subositi, M.Sc.

Hasil determinasi tersebut hanya mencakup sampel tumbuhan yang telah dikirimkan ke B2P2TOOT.

Atas perhatian Saudara, kami sampaikan terima kasih.

Kepala Balai Besar Penelitian dan
Pengembangan Tanaman Obat
dan Obat Tradisional,



Akromad Salkhu, M.Sc.PH.
NIP. 196605251992031004

Lampiran 3. Daun sirih merah segar, daun kering, dan hasil serbuk.



Daun sirih merah segar



Daun sirih merah kering



Serbuk daun sirih merah

Lampiran 4. Perhitungan rendemen daun kering dan ekstrak etanol daun sirih merah

A. Rendemen berat daun kering terhadap daun basah :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat kering}}{\text{Berat basah}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{3400}{8000} \times 100 \% = 42,5 \%$$

Perhitungan *Lost On Drying* (LOD) pengeringan daun sirih merah basah :

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{Berat basah} - \text{Berat kering}}{\text{Berat basah}} \times 100\% \\ &= \frac{8000 \text{ g} - 3400 \text{ g}}{8000 \text{ g}} \times 100\% = 57,5\% \end{aligned}$$

B. Rendemen hasil ekstrak etanol daun sirih merah :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat serbuk}} \times 100 \%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{75 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100 \% = 15 \%$$

C. Perhitungan uji kadar air

$$\text{Replikasi I} = \frac{0,5}{6} \times 100 \% = 8,3 \%$$

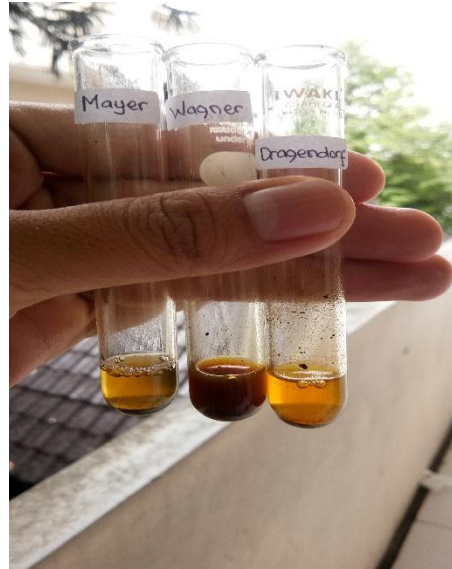
$$\text{Replikasi II} = \frac{0,3}{6} \times 100 \% = 5,0 \%$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{0,4}{6} \times 100 \% = 6,7 \%$$

Lampiran 5. Hasil identifikasi kandungan senyawa



Flavanoid (+)



Alkaloid (-,+,+)



Saponin (+)



Tanin (+)



Minyak atsiri cara II (+)



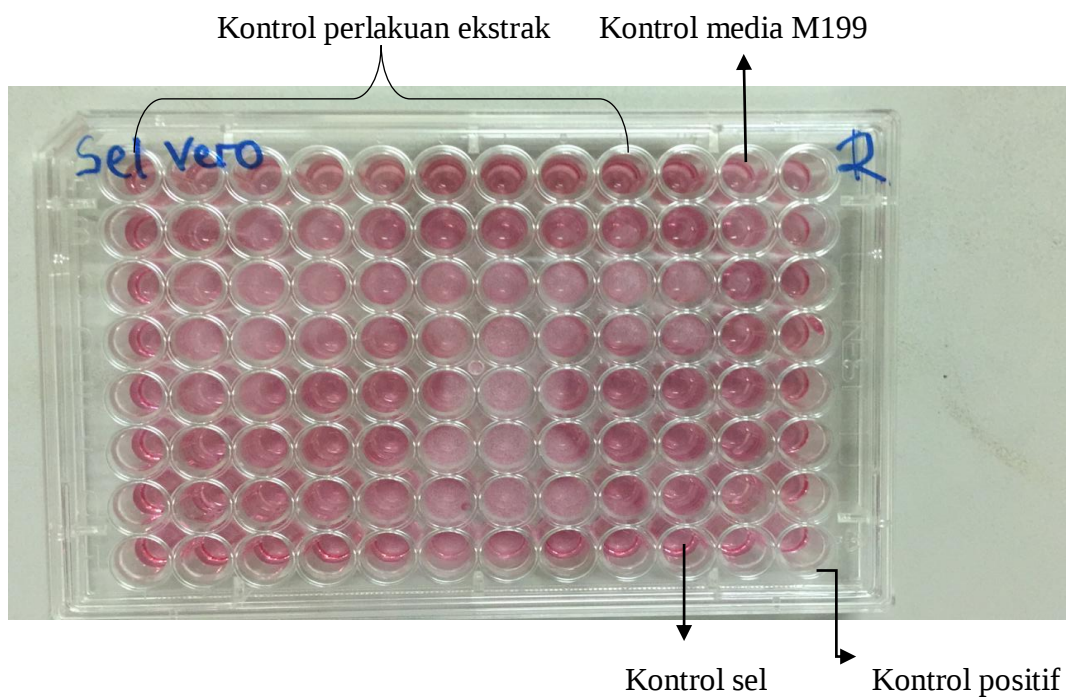
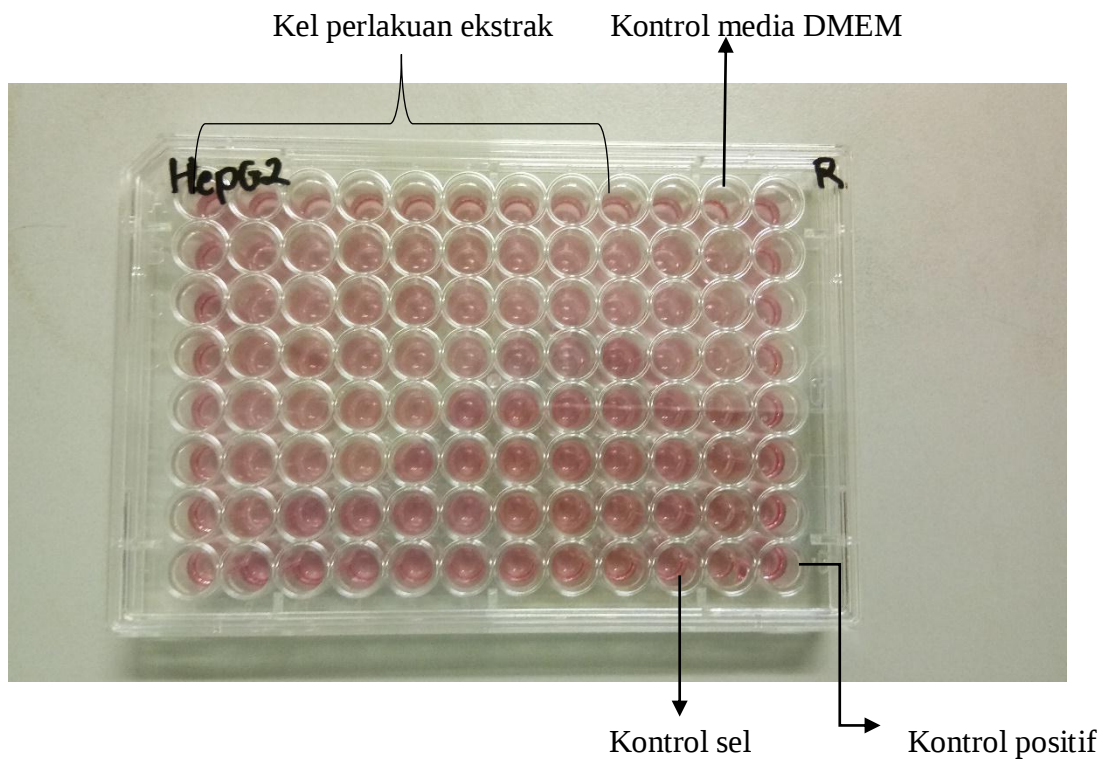
Minyak atsiri cara I (+)



Triterpenoid (+)



Steroid (+)

Lampiran 6. Pola *microplate* uji MTT

Lampiran 7. Perhitungan volume panen sel

A. Jumlah sel HepG2 terhitung dalam suspensi stok

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

$$\Sigma \text{sel/ml} = \frac{52 + 48 + 61 + 39}{4} = \frac{200}{4} \times 10^4 = 50 \times 10^4$$

Volume jumlah panen untuk perlakuan :

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

$$V_1 \times 50 \times 10^4 = 10 \text{ ml} \times 10 \times 10^4$$

$$V_1 = 2 \text{ ml (diambil dari suspensi stok)}$$

B. Jumlah sel vero terhitung dalam suspensi stok

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

$$\Sigma \text{sel/ml} = \frac{150 + 111 + 107 + 116}{4} = \frac{484}{4} \times 10^4 = 121 \times 10^4$$

Volume jumlah panen untuk perlakuan :

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

$$V_1 \times 121 \times 10^4 = 10 \text{ ml} \times 10 \times 10^4$$

$$V_1 = 0,83 \text{ ml (diambil dari suspensi stok)}$$

Lampiran 8. Perhitungan pembuatan larutan stok dan seri konsentrasi

A. Pembuatan larutan stok

Dibuat larutan stok dengan konsentrasi 15 mg/100 µl.

$$15 \text{ mg/ } 100 \text{ µl} = 150.000 \text{ µg/ml}$$

B. Pembuatan seri konsentrasi

1. Konsentrasi 2000 µl

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

$$2 \text{ ml} \times 2000 = V_2 \times 150.000$$

$$V_2 = 27 \text{ µl}$$

*Dipipet 27 µl dari larutan stok,
+ 1973 µl media DMEM

2. Konsentrasi 1000 µl

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

$$2 \text{ ml} \times 1000 = V_2 \times 2000$$

$$V_2 = 1000 \text{ µl}$$

*Dipipet 1000 µl dari larutan kons (I),
+ 1000 µl media DMEM

3. Konsentrasi 500 µl

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

$$2 \text{ ml} \times 500 = V_2 \times 1000$$

$$V_2 = 1000 \text{ µl}$$

*Dipipet 1000 µl dari larutan kons (II),
+ 1000 µl media DMEM

4. Konsentrasi 250 µl

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

$$2 \text{ ml} \times 250 = V_2 \times 500$$

$$V_2 = 1000 \text{ µl}$$

*Dipipet 1000 µl dari larutan kons (III),
+ 1000 µl media DMEM

5. Konsentrasi 125 µl

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

$$2 \text{ ml} \times 125 = V_2 \times 250$$

$$V_2 = 1000 \text{ µl}$$

*Dipipet 1000 µl dari larutan kons
(IV), + 1000 µl media DMEM

6. Konsentrasi 62,5 µl

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

$$2 \text{ ml} \times 62,5 = V_2 \times 125$$

$$V_2 = 1000 \text{ µl}$$

*Dipipet 1000 µl dari larutan kons
(V), + 1000 µl media DMEM

7. Konsentrasi 31,2 µl

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

$$2 \text{ ml} \times 31,2 = V_2 \times 62,5$$

$$V_2 = 1000 \text{ µl}$$

*Dipipet 1000 µl dari larutan kons
(VI), + 1000 µl media DMEM

8. Konsentrasi 15,6 µl

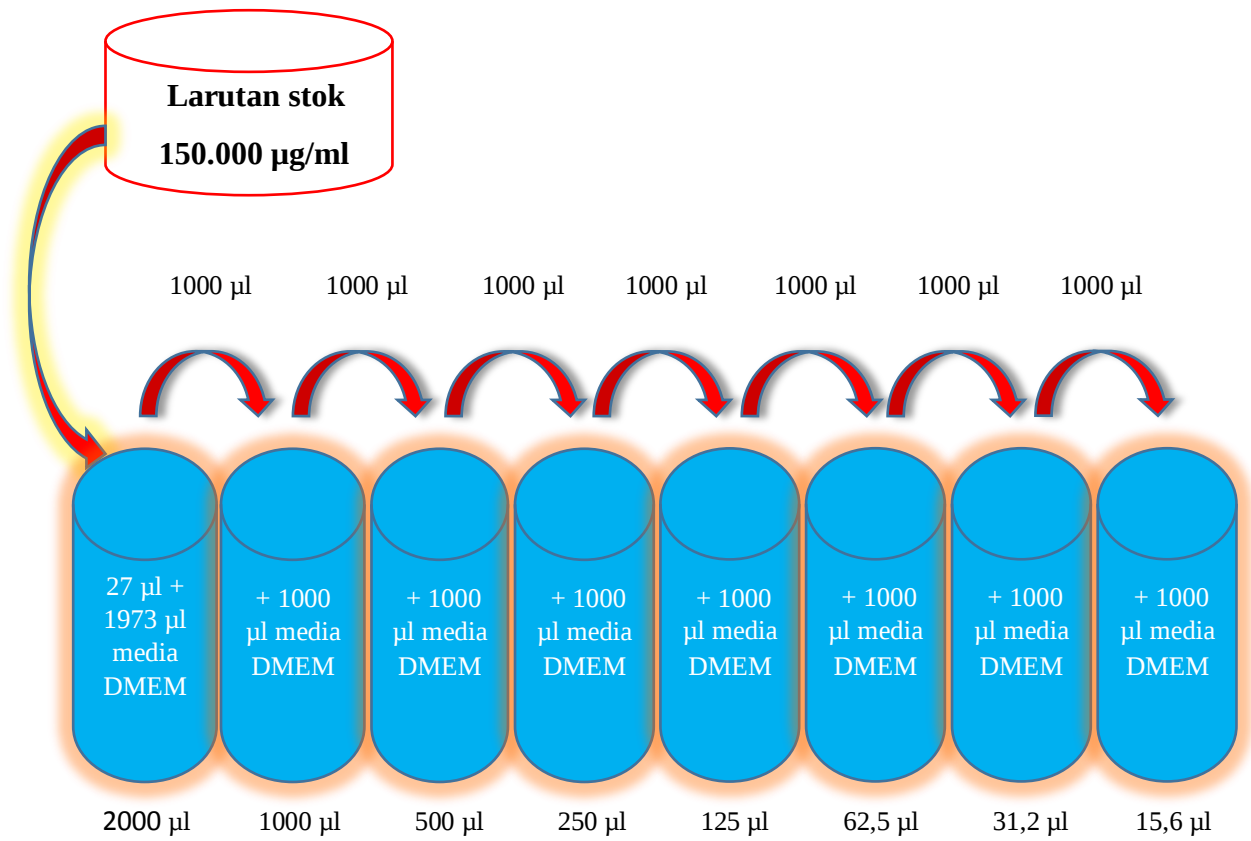
$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$2 \text{ ml} \times 15,6 = V_2 \times 31,2$$

$$V_2 = 1000 \text{ µl}$$

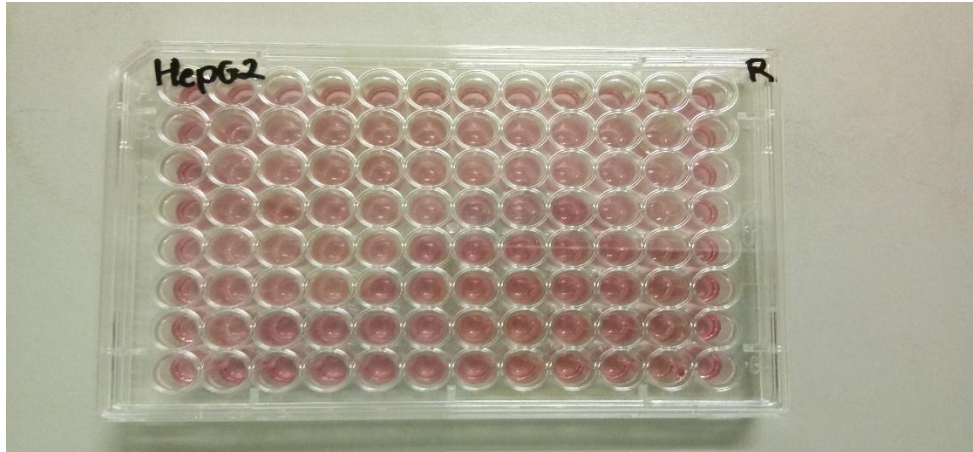
*Dipipet 1000 µl dari larutan kons
(VII), + 1000 µl media DMEM

Ilustrasi :



Lampiran 9. Degradasi warna setelah pemberian ekstrak, setelah pemberian MTT dan setelah pemberian SDS

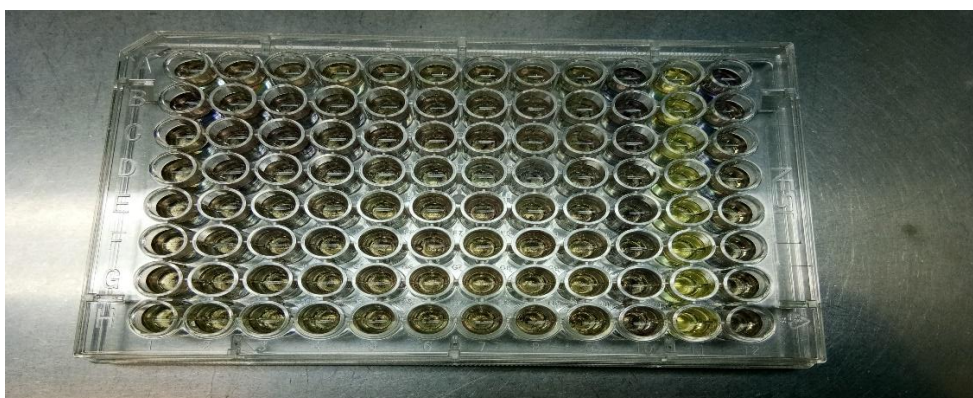
A. Sel kanker HepG2



Setelah pemberian ekstrak

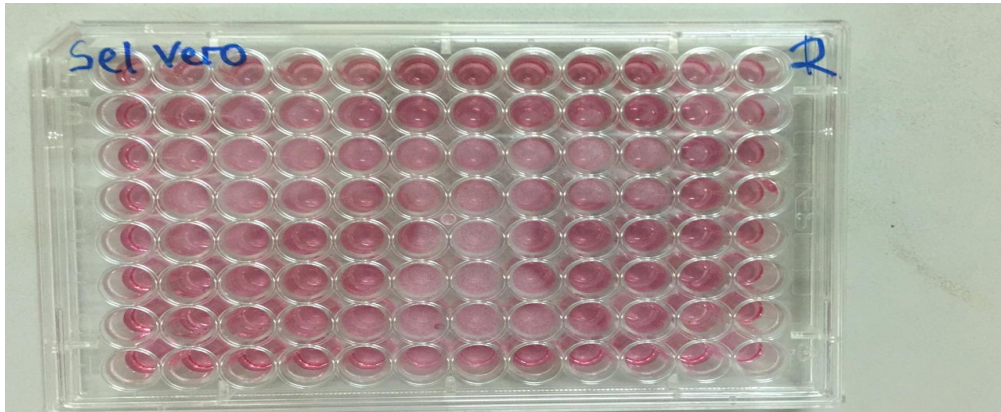


Setelah pemberian MTT

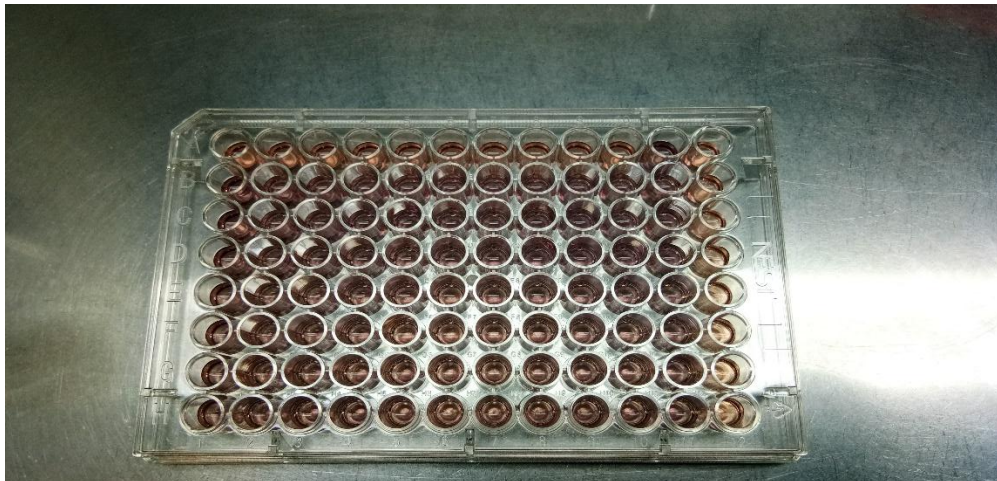


Setelah pemberian SDS

B. Sel vero



Setelah pemberian ekstrak

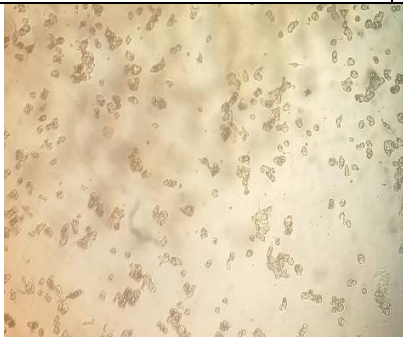
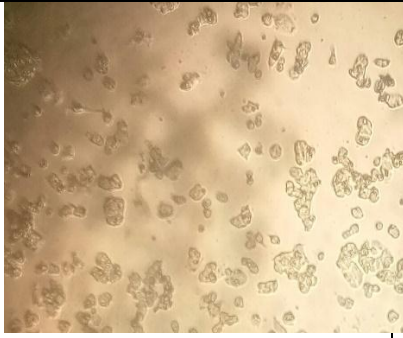
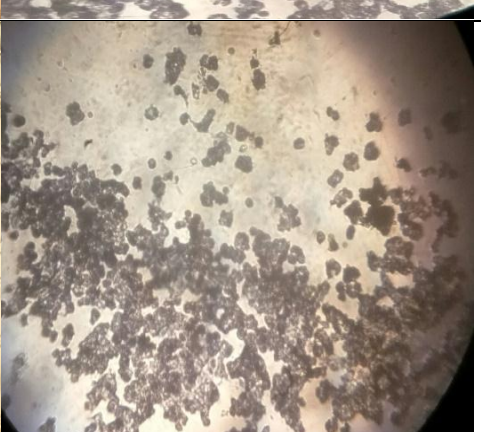


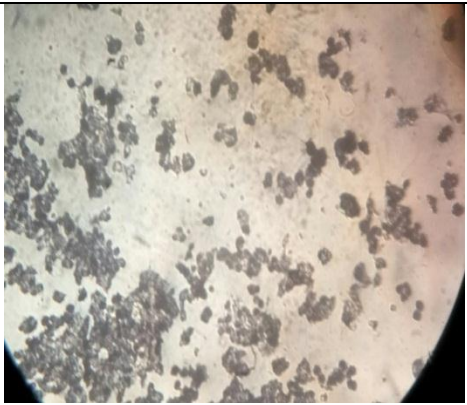
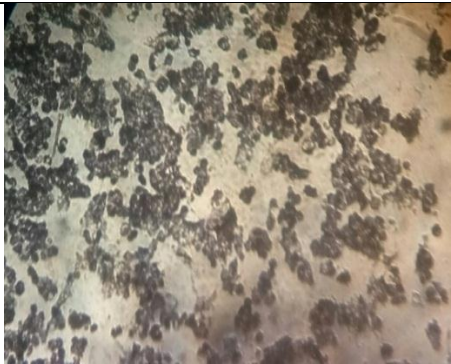
Setelah pemberian MTT



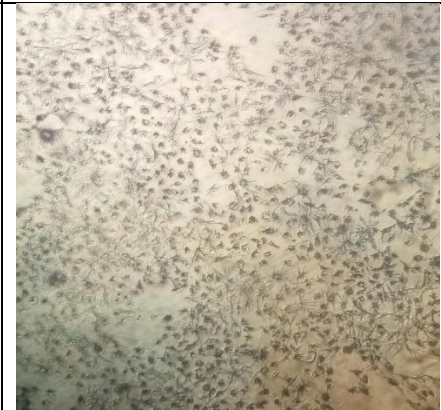
Setelah pemberian SDS

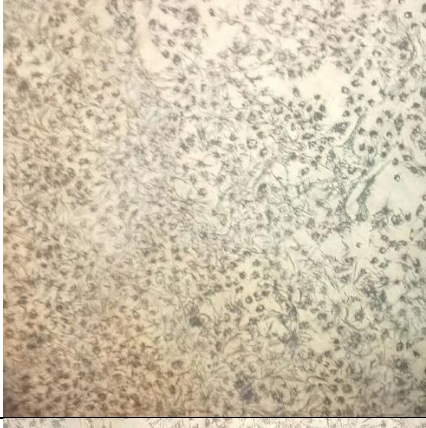
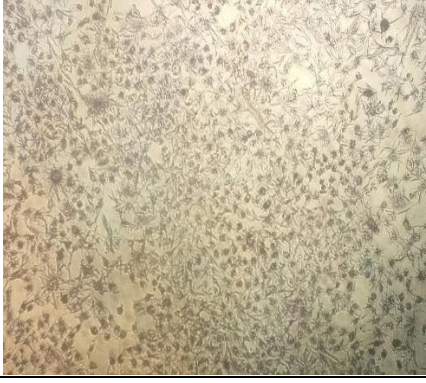
Lampiran 10. Gambar kristal formazan pada sel HepG2

Perlakuan	Sebelum diberikan MTT	Sesudah diberikan MTT
Ekstrak etanol daun sirih merah 2000 μ l		
Ekstrak etanol daun sirih merah 1000 μ l		
Ekstrak etanol daun sirih merah 500 μ l		
Ekstrak etanol daun sirih merah 250 μ l		

Perlakuan	Sebelum diberikan MTT	Sesudah diberikan MTT
Ekstrak etanol daun sirih merah 125 μ l		
Ekstrak etanol daun sirih merah 62,5 μ l		
Ekstrak etanol daun sirih merah 31,2 μ l		
Ekstrak etanol daun sirih merah 15,6 μ l		

Lampiran 11. Gambar kristal formazan pada sel vero

Perlakuan	Sebelum diberikan MTT	Sesudah diberikan MTT
Ekstrak etanol daun sirih merah 2000 μ l		
Ekstrak etanol daun sirih merah 1000 μ l		
Ekstrak etanol daun sirih merah 500 μ l		
Ekstrak etanol daun sirih merah 250 μ l		

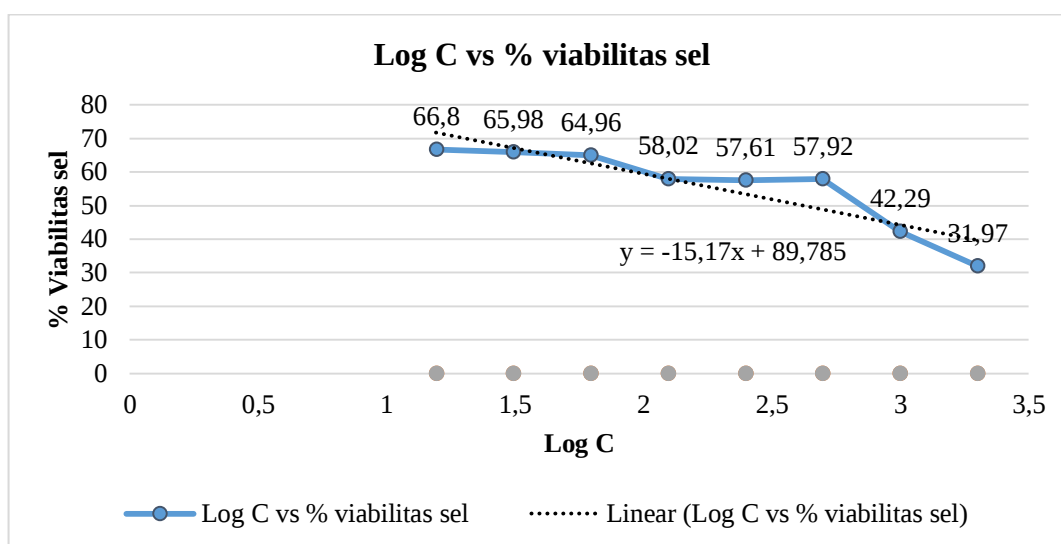
Perlakuan	Sebelum diberikan MTT	Sesudah diberikan MTT
Ekstrak etanol daun sirih merah 125 μ l		
Ekstrak etanol daun sirih merah 62,5 μ l		
Ekstrak etanol daun sirih merah 31,2 μ l		
Ekstrak etanol daun sirih merah 15,6 μ l		

Lampiran 12. Perhitungan IC₅₀ ekstrak etanol daun sirih merah

A. Nilai IC₅₀ Sel HepG2

Replikasi I

Konsentrasi (µg/ml)	Log C	Kontrol sel	Kontrol media	k.sel-K.Media	R1	R1-K.media	% viabilitas
2000	3,301	1,040	0,105	0,979	0,421	0,313	31,97
1000	3,000	1,057	0,100		0,522	0,414	42,29
500	2,699	0,996	0,103		0,675	0,567	57,92
250	2,398	1,026	0,105		0,672	0,564	57,61
125	2,097	1,184	0,118		0,676	0,568	58,02
62,5	1,796	1,083	0,123		0,744	0,636	64,96
31,2	1,494	1,077	0,107		0,754	0,646	65,98
15,6	1,193	1,232	0,108		0,762	0,654	66,80
		Σ = 1,087	Σ = 0,108				



Ket : R1 = Absorbansi sel perlakuan replikasi 1

Σ = Rata-rata

(a = 89,785)

(b = -15,170)

(r = 0,904)

$$y = a + bx$$

$$50 = 89,785 - 15,170x$$

$$50 - 89,785 = -15,170x$$

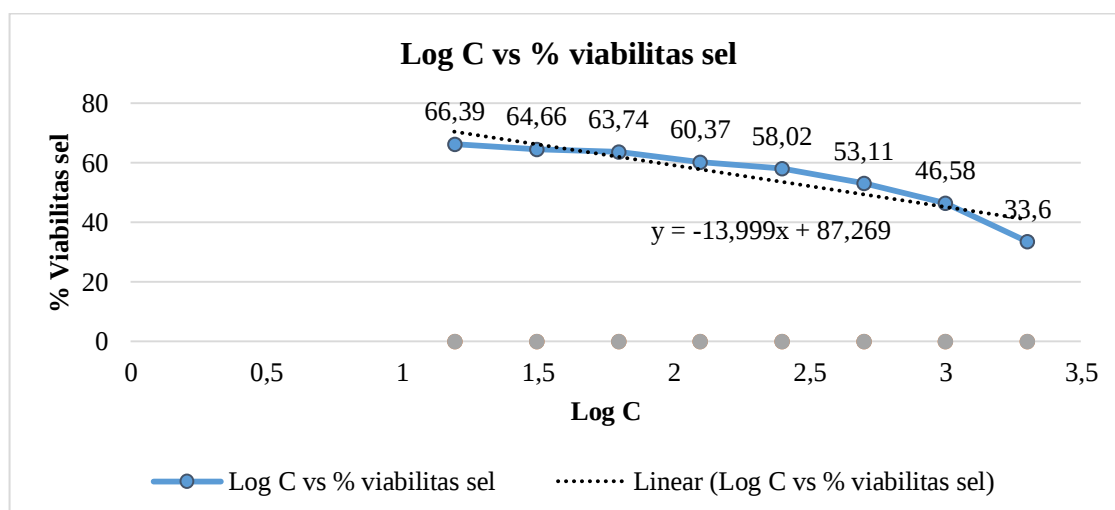
$$-39,785 = -15,170x$$

$$x = 2,622610415$$

$$\text{Antilog } x (\text{IC}_{50}) = 419,382 \mu\text{g/ml}$$

Replikasi II

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Log C	Kontrol sel	Kontrol media	k.sel-K.Media	R2	R2-K.media	% viabilitas
2000	3,301	1,040	0,105	0,979	0,437	0,329	33,60
1000	3,000	1,057	0,100		0,564	0,456	46,58
500	2,699	0,996	0,103		0,628	0,520	53,11
250	2,398	1,026	0,105		0,676	0,568	58,02
125	2,097	1,184	0,118		0,699	0,591	60,37
62,5	1,796	1,083	0,123		0,732	0,624	63,74
31,2	1,494	1,077	0,107		0,741	0,633	64,66
15,6	1,193	1,232	0,108		0,758	0,650	66,39
		$\Sigma = 1,087$	$\Sigma = 0,108$				



Ket : R2 = Absorbansi sel perlakuan replikasi 2

Σ = Rata-rata

(a = 87,269)

(b = -13,999)

(r = 0,929)

$$y = a + bx$$

$$50 = 87,269 - 13,999x$$

$$50 - 87,269 = -13,999x$$

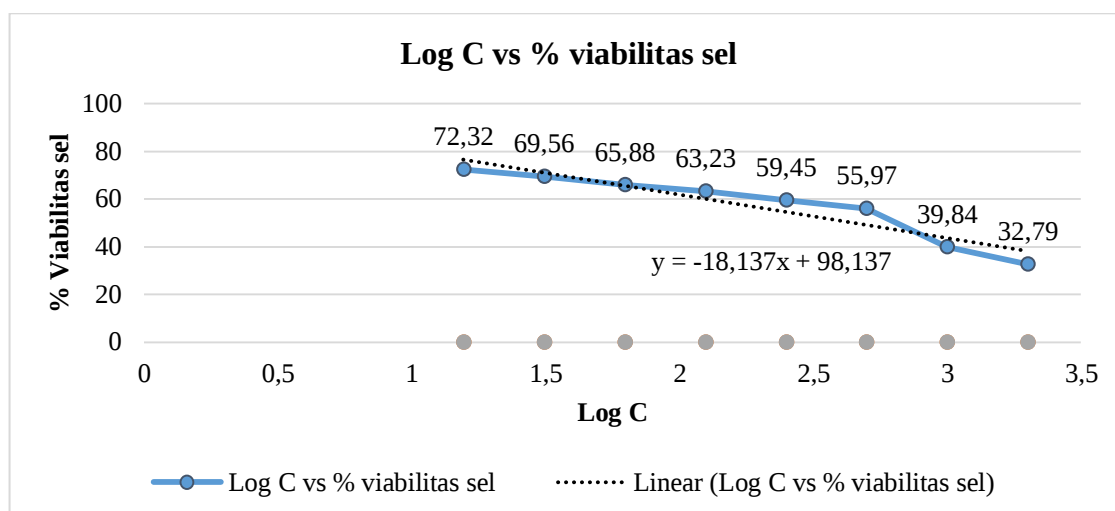
$$-37,269 = -13,999x$$

$$x = 2,66226159$$

$$\text{Antilog } x (\text{IC}_{50}) = 459,474 \mu\text{g/ml}$$

Replikasi III

Konsentrasi (µg/ml)	Log C	Kontrol sel	Kontrol media	k.sel-K.Media	R3	R3-K.media	% viabilitas
2000	3,301	1,040	0,105	0,979	0,429	0,321	32,79
1000	3,000	1,057	0,100		0,498	0,390	39,84
500	2,699	0,996	0,103		0,656	0,548	55,97
250	2,398	1,026	0,105		0,690	0,582	59,45
125	2,097	1,184	0,118		0,727	0,619	63,23
62,5	1,796	1,083	0,123		0,753	0,645	65,88
31,2	1,494	1,077	0,107		0,789	0,681	69,56
15,6	1,193	1,232	0,108		0,816	0,708	72,32
		Σ = 1,087	Σ = 0,108				



Ket : R3 = Absorbansi sel perlakuan replikasi 3

Σ = Rata-rata

(a = 98,137)

(b = -18,137)

(r = 0,947)

$y = a + bx$

$50 = 98,137 - 18,137x$

$50 - 98,137 = -18,137x$

$-48,137 = -18,137x$

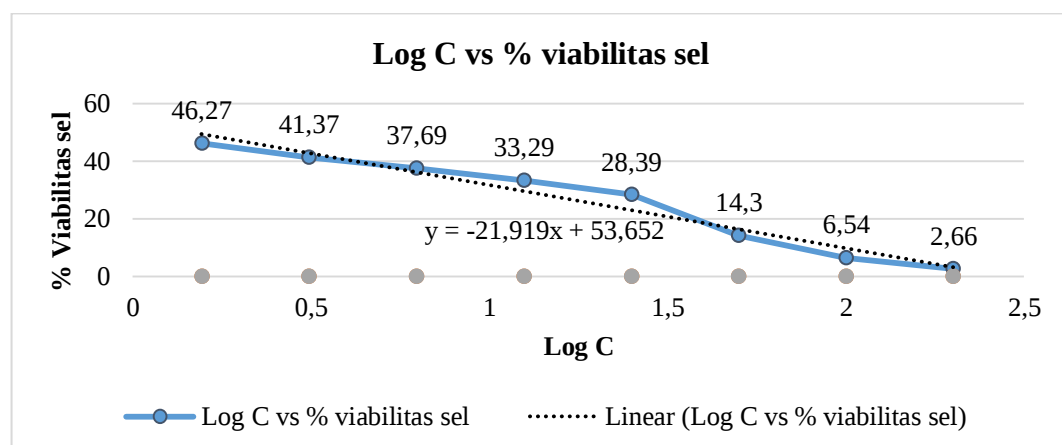
$x = 2,654077301$

Antilog x (IC₅₀) = 450,896 µg/ml

Replikasi	Persamaan ($y = bx + a$)	Nilai IC ₅₀ (µg/ml)
I	$y = -15,170x + 89,785$	419,382
II	$y = -13,999x + 87,269$	459,474
III	$y = -18,137x + 98,137$	450,896
$\Sigma = 443,250 \pm 21,11$		

Nilai IC₅₀ cisplatin pada sel HepG2

Konsentrasi (µg/ml)	Log C	Kontrol sel	Kontrol media	k.sel-K.Media	R3	R3-K.media	% viabilitas
200	2,301	1,040	0,105	0,979	0,134	0,026	2,66
100	2,000	1,057	0,100		0,172	0,064	6,54
50	1,699	0,996	0,103		0,248	0,140	14,30
25	1,398	1,026	0,105		0,386	0,278	28,39
12,5	1,097	1,184	0,118		0,434	0,326	33,29
6,25	0,796	1,083	0,123		0,477	0,369	37,69
3,12	0,494	1,077	0,107		0,513	0,405	41,37
1,56	0,193	1,232	0,108		0,561	0,453	46,27
		$\Sigma = 1,087$	$\Sigma = 0,108$				



(a = 53,652) (b = -21,919) (r = 0,980)

$y = a + bx$

$50 = 53,652 - 21,919x$

$50 - 53,652 = -21,919x$

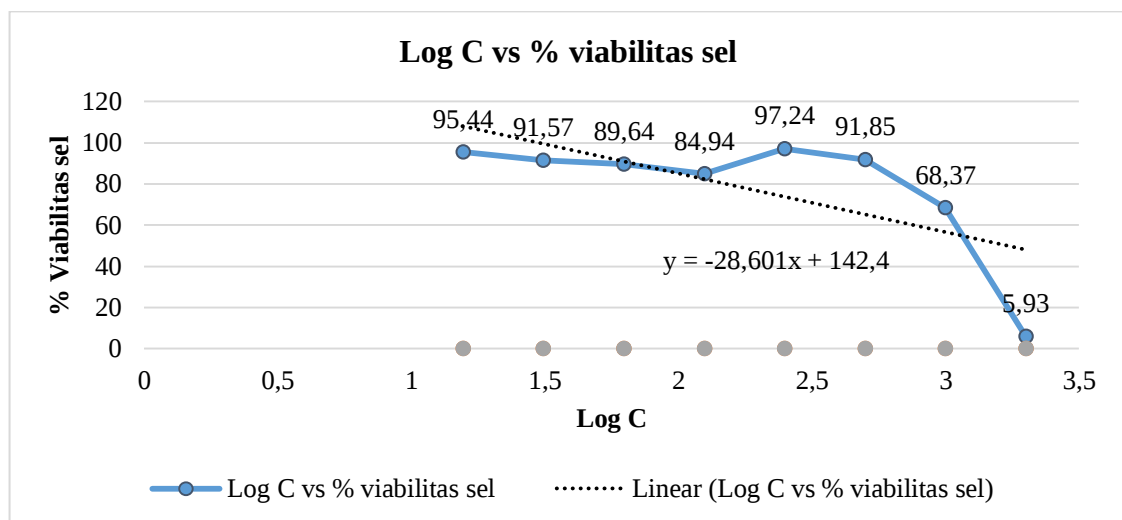
$-3,652 = -21,919x$

$x = 0,16661344 \rightarrow \text{Antilog}(x) = 1,468 \text{ µg/ml}$

Nilai IC50 sel vero

Replikasi I

Konsentrasi (µg/ml)	Log C	Kontrol sel	Kontrol media	k.sel-K.Media	R1	R1-K.media	% viabilitas
2000	3,301	0,802	0,095	0,724	0,137	0,043	5,93
1000	3,000	0,835	0,095		0,589	0,495	68,37
500	2,699	0,805	0,095		0,759	0,665	91,85
250	2,398	0,827	0,096		0,798	0,704	97,24
125	2,097	0,815	0,103		0,709	0,615	84,94
62,5	1,796	0,811	0,095		0,743	0,649	89,64
31,2	1,494	0,841	0,085		0,757	0,663	91,57
15,6	1,193	0,807	0,088		0,785	0,691	95,44
		$\Sigma = 0,818$	$\Sigma = 0,094$				



Ket : R1 = Absorbansi sel perlakuan replikasi 1

Σ = Rata-rata

(a = 142,396)

(b = -28,601)

(r = 0,691)

$y = a + bx$

$50 = 142,396 - 28,601x$

$50 - 142,396 = -28,601x$

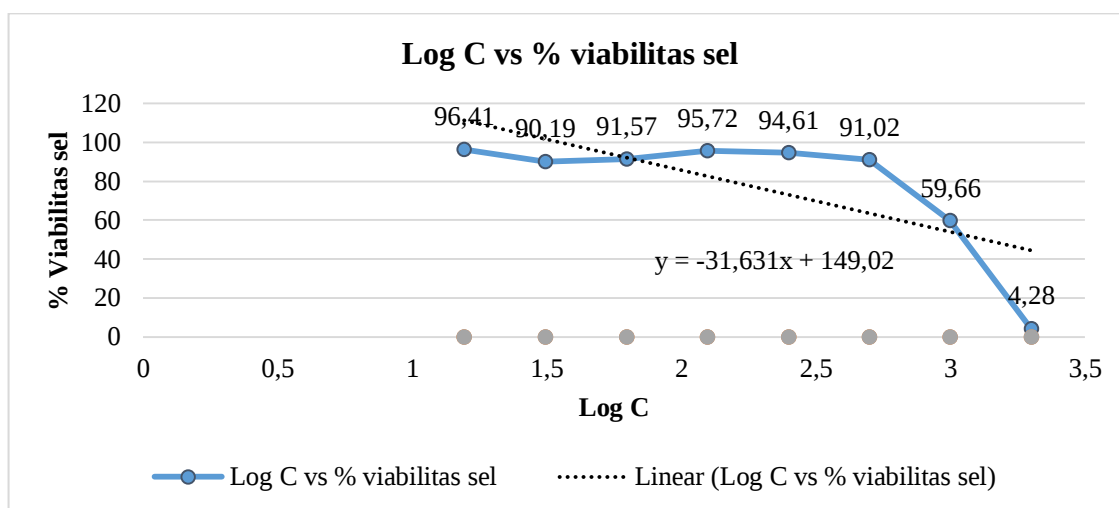
$-92,396 = -28,601x$

$x = 3,230516416$

Antilog x (IC₅₀) = 1.700,264 µg/ml

Replikasi II

Konsentrasi (µg/ml)	Log C	Kontrol sel	Kontrol media	k.sel-K.Media	R2	R2-K.media	% viabilitas
2000	3,301	0,802	0,095	0,724	0,125	0,031	4,28
1000	3,000	0,835	0,095		0,526	0,432	59,66
500	2,699	0,805	0,095		0,753	0,659	91,02
250	2,398	0,827	0,096		0,779	0,685	94,61
125	2,097	0,815	0,103		0,787	0,693	95,72
62,5	1,796	0,811	0,095		0,757	0,663	91,57
31,2	1,494	0,841	0,085		0,747	0,653	90,19
15,6	1,193	0,807	0,088		0,792	0,698	96,41
		Σ = 0,818	Σ = 0,094				



Ket : R2 = Absorbansi sel perlakuan replikasi 2

Σ = Rata-rata

(a = 149,015)

(b = -31,631)

(r = 0,727)

y = a + bx

50 = 149,015 - 31,631x

50 - 149,015 = -31,631x

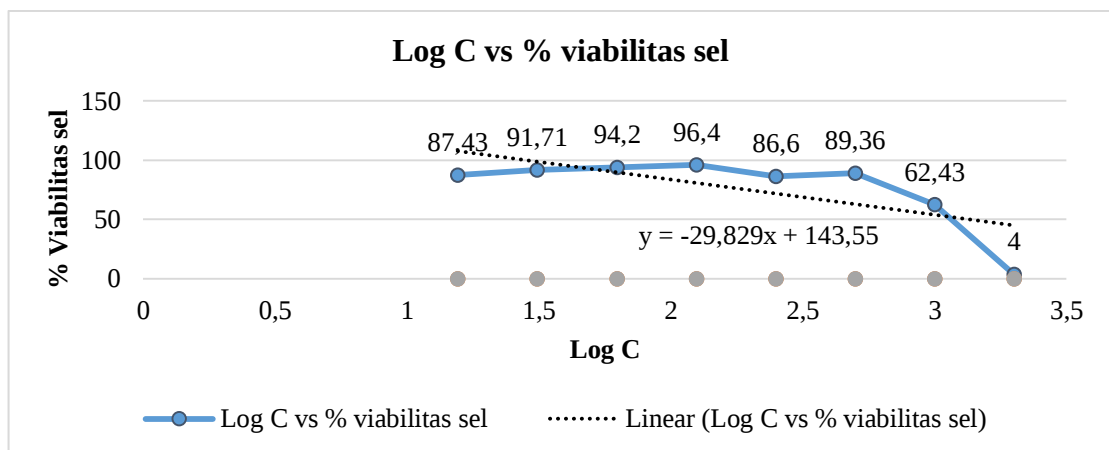
-99,015 = -31,631x

x = 3,130315197

Antilog x (IC₅₀) = 1.349,942 µg/ml

Replikasi III

Konsentrasi (µg/ml)	Log C	Kontrol sel	Kontrol media	k.sel-K.Media	R3	R3-K.media	% viabilitas
2000	3,301	0,802	0,095	0,724	0,123	0,029	4,00
1000	3,000	0,835	0,095		0,546	0,452	62,43
500	2,699	0,805	0,095		0,741	0,647	89,36
250	2,398	0,827	0,096		0,721	0,627	86,60
125	2,097	0,815	0,103		0,792	0,698	96,40
62,5	1,796	0,811	0,095		0,776	0,682	94,20
31,2	1,494	0,841	0,085		0,758	0,664	91,71
15,6	1,193	0,807	0,088		0,727	0,633	87,43
		Σ = 0,818	Σ = 0,094				



Ket : R3 = Absorbansi sel perlakuan replikasi 3

Σ = Rata-rata

(a = 143,548)

(b = -29,828)

(r = 0,706)

$$y = a + bx$$

$$50 = 143,548 - 29,828x$$

$$50 - 143,548 = -29,828x$$

$$-93,548 = -29,828x$$

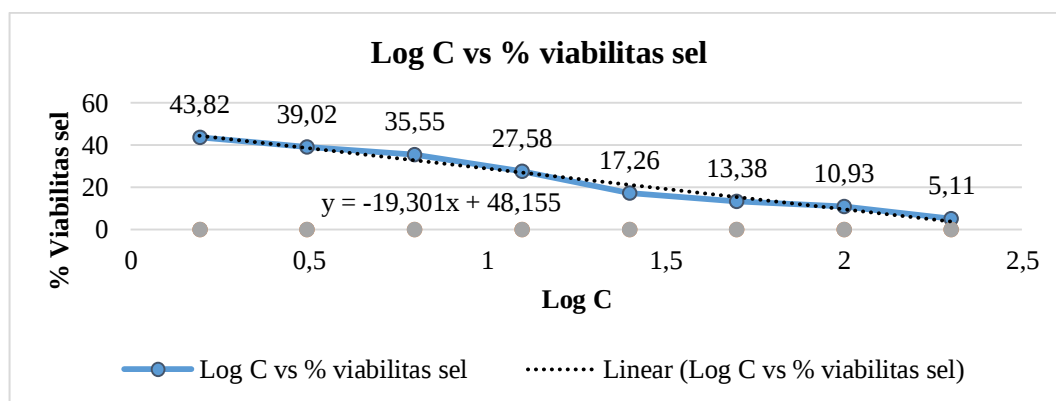
$$x = 3,136247821$$

$$\text{Antilog } x (\text{IC}_{50}) = 1.368,509 \text{ µg/ml}$$

Replikasi	Persamaan ($y = bx + a$)	Nilai IC50 ($\mu\text{g/ml}$)
I	$y = -28,601x + 142,396$	1.700,264
II	$y = -31,631x + 149,015$	1.349,942
III	$y = -29,828x + 143,548$	1.368,509
		$\Sigma = 1.472,905 \pm 197,11$

Nilai IC50 cisplatin pada sel vero

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Log C	Kontrol sel	Kontrol media	k.sel-K.Media	R3	R3-K.media	% viabilitas
200	2,301	1,040	0,105	0,979	0,158	0,050	5,11
100	2,000	1,057	0,100		0,215	0,107	10,93
50	1,699	0,996	0,103		0,239	0,131	13,38
25	1,398	1,026	0,105		0,277	0,169	17,26
12,5	1,097	1,184	0,118		0,378	0,270	27,58
6,25	0,796	1,083	0,123		0,456	0,348	35,55
3,12	0,494	1,077	0,107		0,490	0,382	39,02
1,56	0,193	1,232	0,108		0,537	0,429	43,82
		$\Sigma = 1,087$	$\Sigma = 0,108$				



($a = 48,155$) ($b = -19,301$) ($r = 0,989$)

$y = a + bx$

$50 = 48,155 - 19,301x$

$50 - 48,155 = -19,301x$

$1,845 = -19,301x$

$x = -0,095590902 \rightarrow \text{Antilog}(x) = 0,802 \mu\text{g/ml}$

Lampiran 13. Perhitungan nilai Indeks Selektivitas ekstrak etanol daun sirih merah

Nilai indeks selektivitas ekstrak terhadap sel HepG2 :

$$\text{Indeks selektivitas} = \frac{\text{IC50 sel vero}}{\text{IC50 sel HepG2}}$$

$$\text{Indeks selektivitas} = \frac{1.472,905 \text{ } \mu\text{g/ml}}{443,250 \text{ } \mu\text{g/ml}}$$

$$\text{Indeks selektivitas} = 3,323$$

Nilai indeks selektivitas cisplatin terhadap sel vero :

$$\text{Indeks selektivitas} = \frac{\text{IC50 sel vero}}{\text{IC50 sel HepG2}}$$

$$\text{Indeks selektivitas} = \frac{0,802 \text{ } \mu\text{g/ml}}{1,468 \text{ } \mu\text{g/ml}}$$

$$\text{Indeks selektivitas} = 0,546$$

Lampiran 14. Hasil perhitungan ekspresi caspase-3

$$IC_{50} = \frac{65}{78} \times 100 \% = 83,34 \%$$

$$\frac{1}{2} IC_{50} = \frac{52}{84} \times 100 \% = 61,90 \%$$

$$\frac{1}{4} IC_{50} = \frac{37}{85} \times 100 \% = 43,52 \%$$

$$\text{Kontrol sel dengan antibodi} = \frac{16}{80} \times 100 \% = 7,5 \%$$