

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua individu yang menjadi sumber pengambilan sampel. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sisik naga yang diperoleh di Tawangmangu, Karanganyar, 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 daun sisik naga yang berwarna hijau tua, segar, bersih, dan tidak busuk. Daun sisik naga diambil pada tanggal 5 Januari 2019.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah memuat identifikasi dari semua sampel yakni ekstrak etanol daun sisik naga.

Variabel utama kedua adalah aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun sisik naga terhadap sel kanker hati HepG2.

Variabel utama ketiga dalam penelitian adalah selektivitas ekstrak etanol daun sisik naga terhadap sel kanker hati HepG2.

2. Klasifikasi operasional variabel utama

Variabel yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali.

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah yang direncanakan untuk diteliti yang berpengaruh terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun sisik naga yang diujikan pada sel kanker hati HepG2.

Variabel tergantung dari penelitian ini yaitu aktivitas sitotoksik terhadap sel HepG2 dengan menghitung jumlah sel yang mati.

Variabel terkendali yaitu 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, dan keadaan sel HepG2.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun sisik naga adalah bagian daun dari tanaman sisik naga yang daunnya bertangkai pendek, tebal, berdaging, ujung tumpul atau membundar, berbentuk bulat dan kecil yang menyerupai sisik naga, akar rimpangnya panjang kecil merayap dan akar melekat kuat serta tumbuh di batang dan dahan pohon yang diperoleh di Tawangmangu.

Kedua, ekstrak etanol daun sisik naga adalah hasil maserasi daun sisik naga dengan menggunakan pelarut etanol 70% yang kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental.

Ketiga, IC_{50} adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi efektif ekstrak ($\mu\text{g}/\text{ml}$) yang mampu menghambat proses pertumbuhan sel kanker sebesar 50%

Keempat, aktivitas sitotoksik adalah kemampuan senyawa dalam menghambat sel kanker setengah dari jumlah populasi. Memiliki aktivitas sitotoksik apabila nilai $IC_{50} < 100 \mu\text{g}/\text{ml}$. Rentang nilai IC_{50} bila $<10 \mu\text{g}/\text{mL}$ sangat aktif, $10-20 \mu\text{g}/\text{mL}$ aktif, dan $>20 \mu\text{g}/\text{ml}$ dinyatakan kurang aktif, namun nilai IC_{50} $50-100 \mu\text{g}/\text{mL}$ tetap berpotensi terhadap sel kanker.

Kelima, sel kanker hati HepG2 yang digunakan adalah *continuous cell line* koleksi Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

Keenam, sel vero adalah sel monolayer berbentuk poligonal dan pipih yang diisolasi dari sel ginjal monyet hijau afrika koleksi dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

Ketujuh, indeks selektivitas adalah suatu uji untuk mengetahui tingkat keamanan suatu senyawa antikanker terhadap sel normal.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat penyari terdiri atas bejana maserasi, kain flanel, ayakan no. 40, batang pengaduk, blender, *moisture balance* O'haus MB23, kertas saring, eksikator, timbangan elektrik, corong Buchner, oven, evaporator, dan alat gelas.

Alat uji sitotoksik meliputi tangki nitrogen cair, *centrifuge* Sigma 3K12 (B. Braun Biotech Internasional), autoklaf, inkubator 370C aliran CO₂ 5% model 6200 (Napco), *laminar air flow class II* (Labconco), spektrocolorimeter pada alat ELISA *reader* (SLT 240 ATC), *Nebauer haemocytometer* (Olympus CKX41), tabung konikal steril (Nunclone), *tissue culture flask* (Nunclone), mikroplate 96 sumuran (Nunclone), lampu ultraviolet, neraca elektrik (Sartorius), mikropipet 20-200 μ L dan 200-1000 μ L (Pipetman), mesin vortex, mikroskop inverted (Axiovert-25), *magnetic stirrer* dan kamera digital.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan adalah serbuk kering daun sisik naga (*Drymoglossum piloselloides* Presl.) dan untuk ekstraksi menggunakan etanol 70%, untuk uji kadar air ekstrak menggunakan toluena.

Bahan untuk uji sitotoksik adalah sel kanker hati HepG2, sel vero, *cell line*; media stok: DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*), M199, Cisplatin, Natrium bikarbonat dan HEPES (Sigma); media kultur sel: DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*), media M199, *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10% v/v (Gibco), Penisillin-Streptomisin 1% v/v (Gibco), Fungizon (Amphotericin B) 0,5% v/v (Gibco), Dimetil sulfoksida (DMSO), Tripsin 0,5%, MTT 5mg/ml dalam PBS; media pencuci sel: larutan PBS pH 7,2; Sodium Dodesil Sulfat (SDS) 10% dalam HCl 0,1 N sebagai penghenti (*stopper*).

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman sisik naga

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

ciri-ciri morfologis tanaman pada pustaka yang dibuktikan di B2P2TOOT Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

2. Pengumpulan, pengeringan bahan dan pembuatan serbuk

Daun sisik naga diperoleh di Tawangmangu, Karanganyar. daun sisik naga yang akan digunakan adalah daun tua dan segar. Daun dibersihkan dan dicuci dengan air bersih.

Daun sisik naga yang sudah dibersihkan, kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven suhu 40°C. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air, mencegah terjadinya perubahan kimiawi, reaksi enzimatik yang dapat menurunkan mutu, menghindari pertumbuhan jamur dan bakteri, dan memudahkan dalam proses pembuatan serbuk.

Daun sisik naga 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

Penetapan kandungan lembab daun sisik naga dilakukan dengan serbuk daun sisik naga ditimbang 2 gram. Kemudian diukur susut pengeringan serbuk dengan alat *moisture balance* O’Haus MB23 pada suhu 105°C, lalu dilakukan pembacaan sampai muncul angka dalam persen. Susut pengeringan memenuhi syarat dimana kadar air suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%. Tahap ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

4. Pembuatan ekstrak daun sisik naga

Ekstrak daun sisik naga dibuat dengan cara maserasi, serbuk daun sisik naga yang sudah jadi ditimbang sebanyak 500 gram lalu dimasukkan dalam wadah gelap ditambah dengan etanol 70% dengan perbandingan 1 : 10. Campuran serbuk kering dengan etanol direndam selama 6 jam sambil sesekali diaduk, kemudian ditutup dan disimpan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari selama 18 jam dan sering diaduk. Setelah 18 jam, maserat disaring menggunakan kain flanel. Proses penyarian diulang menggunakan ampas pada penyarian pertama dengan jenis pelarut yang sama dan jumlah volume pelarut

sebanyak setengah kali jumlah volume pelarut pada penyarian pertama. Hasil maserat ditampung dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai dihasilkan ekstrak kental. Kemudian dilakukan pemeriksaan organoleptis dan perhitungan rendemen dari ekstrak kental tersebut (Kemenkes 2013).

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh (g)}}{\text{Bobot simplisia awal yang ditimbang (g)}} \times 100\%$$

5. Uji kadar air ekstrak

Uji ini menggunakan metode destilasi Bidwell-Sterling, dimana sebanyak 6 gram ekstrak daun sisik naga dimasukan ke dalam labu didih. Menambahkan 200 ml toluena kedalam labu didih melalui bagian atas alat refluks hingga memenuhi perangkap pada alat dan sisnya masuk ke dalam labu didih. Proses destilasi dilakukan selama 3 jam atau hingga air yang dihasilkan tidak bertambah lagi. Setelah proses destilasi, jumlah air yang dihasilkan dapat diketahui dengan menentukan volume air pada tabung perangkap. Kadar air dihitung berdasarkan volume air yang dihasilkan dikalikan massa jenis air lalu dibagi dengan berat sampel yang dianalisis (volume/berat) (Umar 2012).

6. Uji fitokimia

Kandungan senyawa yang terdapat di dalam ekstrak etanol daun sisik naga diidentifikasi dengan uji warna menggunakan pereaksi warna yang spesifik untuk golongan senyawa masing-masing.

6.1 Identifikasi flavonoid. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam metanol panas dan menambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna jingga atau merah menunjukkan adanya flavonoid (Widiastuti 2014).

6.2 Identifikasi saponin. Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan aquadest hingga seluruh sampel terendam, didihkan selama 2-3 menit dan selanjutnya didinginkan, kemudian dikocok kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil (Minarno 2015).

6.3 Identifikasi tanin. Sebanyak 100 mg ekstrak diencerkan dengan 10 ml aquadest kemudian disaring, filtrat tersebut ditambahkan 3 tetes pereaksi FeCl_3 1%. Terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya golongan tanin (Widiastuti 2014).

6.4 Identifikasi triterpenoid. Sebanyak 2 ml ekstrak diuapkan dalam cawan porcelin hingga diperoleh residu, kemudian residu dilarutkan dengan 0,5 ml kloroform dan ditambahkan 0,5 ml asam asetat pekat anhidrat. Lalu tambahkan asam sulfat pekat sebanyak 2 ml melewati dinding tabung reaksi, reaksi positif triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya cincin kecokelatan atau violet pada perbatasan larutan (Minarno 2015).

7. Uji sitotoksik

7.1 Sterilisasi alat. Sterilisasi alat dilakukan dalam keadaan steril, alat yang digunakan seperti gelas harus steril, kemudian alat dicuci dan dikeringkan dalam oven. Alat yang telah kering tersebut dibungkus dengan kertas, kemudian disterilisasi dalam autoklaf selama 15-30 menit dengan suhu 121°C (Triputra 2016).

7.2 Pembuatan media stok (DMEM) dan media penumbuh HepG2. Serbuk media DMEM ditimbang sebanyak 10,4 gram/L, kemudian dilarutkan dengan *aquadestilata* ± 800 ml dalam *beaker glass* 1 L, ditambahkan 2,2 gram natrium bikarbonat dan 2 gram *hepes*. Larutan tersebut diaduk dengan *stirrer* sampai larut. Berikan larutan dapar (1 M NaOH atau 1 M HCl) untuk menjaga pH larutan antara 7,2-7,4. Menambahkan lagi *aquadestilata* hingga volume larutan menjadi 1 L dan disterilkan dengan penyaringan menggunakan filter polietilen sulfon 0,22 µm ke dalam botol steril (lakukan di dalam LAF), disimpan dalam lemari es suhu 4°C dan diberi label.

Pembuatan media DMEM penumbuh dibuat dari 87,5 ml DMEM *stock* ditambah 10 ml FBS, 2 ml antibiotika penisillin-streptomisin dan 0,5 ml Fungizon (Triputra 2016).

7.3 Pembuatan media stok (M199) dan media penumbuh sel vero. Media M199 ditimbang sebanyak 9,5 gram, kemudian NaHCO ditimbang sebanyak 2,2 gram dan 2 gram *hepes* dimasukkan ke dalam *beaker glass* 1 L. Ditambahkan 800 mL *aquadest* dan dihomogenkan menggunakan *stirrer* sampai larut. Menambahkan larutan dapar (1 M NaOH atau 1 M HCl) untuk menjaga pH larutan antara 7,2-7,4. Menambahkan *aquadest* hingga volume larutan menjadi 1 L dan disterilkan dengan penyaringan menggunakan filter polietilen sulfon 0,22

μm ke dalam botol steril (dilakukan dalam LAF), disimpan dalam lemari es suhu 4°C dan beri label.

Pembuatan media penumbuh M199 dengan cara 86 mL media stok M199 ditambah 10 mL FBS, 3 mL antibiotika penisillin-streptomisin dan 1 mL fungizon (Triputra 2016).

7.4 Pembuatan larutan uji. Ekstrak uji ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan 100 μl DMSO dalam ependrof, selanjutnya disimpan sebagai larutan stok untuk digunakan dalam pengujian. Pembuatan larutan stok maupun seri kadar larutan untuk perlakuan dilakukan secara aseptis di dalam LAF. Larutan stok kemudian dipipet 10 μl kemudian ditambah 90 μl media kultur sehingga konsentrasi akhir 100.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, selanjutnya dibuat dalam variasi konsentrasi untuk sampel ekstrak uji (Triputra 2016).

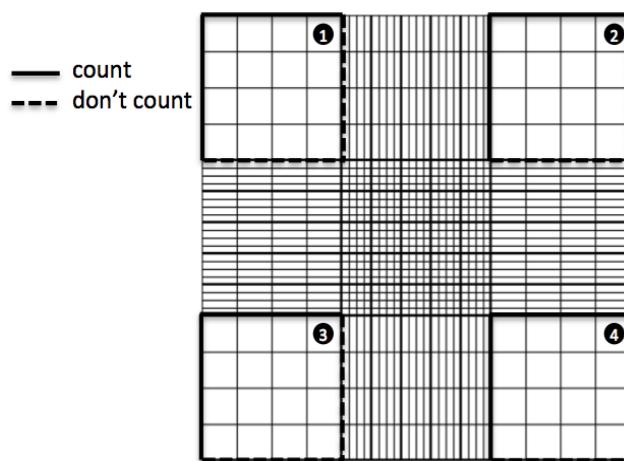
8. Preparasi sel

8.1 Pengaktifan sel HepG2. Sel inaktif diambil dari tangki nitrogen cair kemudian segera dicairkan dalam *water bath* (suhu 37°C) selanjutnya vial disemprot dengan etanol 70%. Di dalam LAF, sel HepG2 dimasukkan dalam tabung sentrifuge lalu disentrifugasi dengan kecepatan 1200 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang, endapan yang terbentuk ditambah media penumbuh DMEM dengan FBS 10%. Selanjutnya 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 dalam inkubator beraliran CO₂ 5% pada suhu 37°C. Setelah 24 jam, medium diganti dan sel ditumbuhkan lagi hingga konfluen serta jumlahnya cukup untuk penelitian (Triputra 2016).

8.2 Pengaktifan sel vero. Alat dan bahan dipersiapkan, ambil 10 mL PBS 1x *Room Temperature* (RT) pada tabung konikel, diambil sel vero yang inaktif dari *freezer* dan dicairkan pada suhu 37°C di *waterbath*, diambil suspensi sel dan dimasukkan tetes demi tetes ke dalam PBS 1x RT yang telah disiapkan. Sentrifugasi pada 1200 rpm selama 10 menit, supernatan dibuang dan ditambahkan media M199 dan diresuspensi hingga homogen. Dipindahkan ke

dalam wadah *flask* atau *petridish culture* dan ditambahkan media penumbuh M199 sebanyak 5 mL (Triputra 2016).

8.3 Panen dan perhitungan sel. Media yang terdapat pada *tissue culture flask* dibuang kemudian dicuci dengan PBS (*phosphat buffer saline*) 2 kali, selanjutnya ditambah 1 mL trypsin. 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 mL untuk menghentikan kerja trypsin. Terakhir ditambahkan media sampai 10 mL dan disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang, ditambahkan 3 mL media dan diresuspensi. Diambil 10 μ L dan dipipetkan ke hemositometer, kemudian sel dihitung di bawah mikroskop *inverted*.



Gambar 4. Hemositometer

Hemositometer terdapat 4 kamar hitung, setiap kamar hitung terdapat 16 kotak. Hitung sel 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. Hitung jumlah sel per mL dengan rumus (Triputra 2016):

$$\Sigma \text{sel/mL} = \frac{\Sigma \text{sel 1} + \Sigma \text{sel 2} + \Sigma \text{sel 3} + \Sigma \text{sel 4}}{4} \times 10^4$$

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

$$\text{Volume panenan sel} = \frac{\text{Jumlah total sel yang diperlukan}}{\text{Jumlah sel terhitung/mL}}$$

Ambil volume panenan sel, ditransfer ke konikel baru dan ditambahkan medium sampai total volume yang diperlukan, setelah itu 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 ke dalam *microplate* 96 sumuran, kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5% (37°C) selama 24 jam untuk beradaptasi dan menempel di sumuran sampai sel siap untuk diberi perlakuan ekstrak etanol daun sisik naga.

8.4 Pemberian ekstrak dan MTT. Sumuran-sumuran dengan isi suspensi sel ini ditambahkan 100 μ l larutan uji yaitu masing-masing ekstrak etanol daun sisik naga yang dilarutkan dalam pelarut DMSO, kemudian diperoleh kadar akhir sampel dengan variasi konsentrasi tertentu (1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,2; 15,6) μ g/mL tiap sumuran. Sebagai kontrol sel digunakan sel dengan penambahan media penumbuh DMEM untuk sel HepG2, Sebagai kontrol media digunakan hanya larutan uji media penumbuh DMEM (sel HepG2), sebagai kontrol positif digunakan sel dengan penambahan cisplatin, kemudian sel tersebut diinkubasi pada inkubator CO₂ 5% pada suhu 37°C selama 24 jam. Akhir inkubasi medium masing-masing sumuran dibuang dengan cara *plate* dibalikkan 180°C di atas tempat buangan kemudian *plate* ditekan untuk meniriskan sisa cairan. Cuci dengan PBS sampai tidak berwarna. Kemudian ditambahkan 100 μ l MTT 0,3% dalam PBS. *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 μ l SDS 10% dalam 0,1 N HCl. *Plate* kemudian dibungkus dengan kertas aluminium foil, diinkubasikan semalam pada suhu kamar, kemudian sel dikocok dengan *shaker* selama 10 menit. Serapan dibaca dengan menggunakan spektrofotometer pada alat ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm (Triputra 2016).

9. Uji Indeks Selektivitas

Sel vero dengan konsentrasi 1×10^4 sel/100 μ l ditanam dalam *microplet* dan diinkubasi selama 24 jam agar menghasilkan pertumbuhan yang baik. Setelah itu medium diganti dengan yang baru kemudian ditambahkan ekstrak pada

konsentrasi (1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,2; 15,6) $\mu\text{g/mL}$ tiap sumuran dengan cosolvent DMSO dan diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator CO₂ 5% selama 24 jam. Pada akhir inkubasi, media dan ekstrak dibuang kemudian sel dicuci dengan PBS. Pada masing-masing sumuran, ditambahkan 100 μl media kultur M199 dan 10 μl MTT. 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 (Triputra 2016).

E. Analisa Data

1. Uji sitotoksik

Dari hasil uji sitotoksik yang berupa respon serapan dikonversikan ke dalam persen kehidupan sel dengan persamaan sebagai berikut:

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

Dilanjutkan analisis untuk menentukan regresi linear antara log konsentrasi sampel uji (ekstrak etanol daun sisik naga) *versus* persen sel hidup menggunakan *Microsoft Excel* 2010, hingga akan didapatkan persamaan:

$$Y = a + bx$$

Keterangan :

X : log konsentrasi sampel uji
Y : persen viabilitas sel

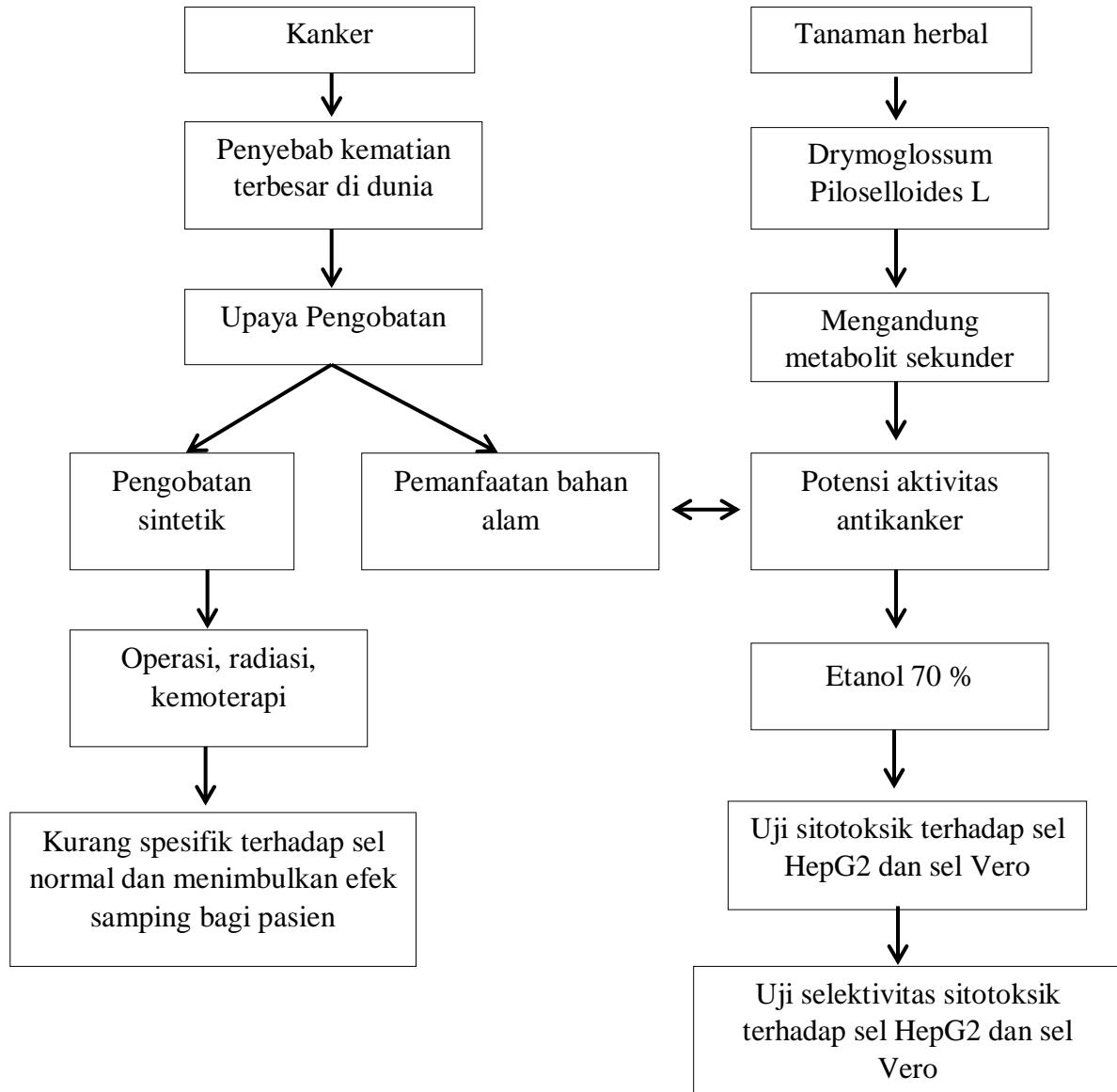
Hasil antilog x dari persamaan di atas, merupakan nilai IC₅₀.

2. Indeks selektivitas

Indeks selektivitas dihitung menggunakan persamaan dibawah ini (Sutedjo 2016) :

$$\text{Indeks selektivitas} = \frac{\text{IC}_{50} \text{ Sel vero}}{\text{IC}_{50} \text{ Sel kanker}}$$

F. Kerangka pikir



Gambar 5. Diagram kerangka pikir penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil determinasi tanaman sisik naga

Hasil determinasi tanaman sisik naga dilakukan di Laboratorium Morfologi Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Obat & Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Berdasarkan hasil determinasi tersebut dinyatakan bahwa sampel yang diteliti adalah benar-benar tanaman sisik naga *Drymoglossum piloselloides* (L). Presl. Hasil determinasi dapat dilihat dilampiran 1.

2. Hasil pengumpulan, pengeringan dan pembuatan serbuk

Daun sisik naga diperoleh di Tawangmangu, Karanganyar. daun sisik naga yang akan digunakan adalah daun tua dan segar. Daun sisik naga yang sudah bersih dioven suhu 40°C hingga kering. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air, mencegah terjadinya perubahan kimiawi, reaksi enzimatik yang dapat menurunkan mutu, menghindari pertumbuhan jamur dan bakteri, dan memudahkan dalam proses pembuatan serbuk. Daun sisik naga kering diperoleh 1300 g. Hasil presentase bobot kering terhadap bobot basah daun sisik naga dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Presentase bobot kering terhadap bobot basah daun sisik naga

Simplisia	Bobot Basah (g)	Bobot Kering (g)	Rendemen (%)	LOD (%)
Daun Sisik Naga	8000	1300	16,25	83,75

3. Organoleptis serbuk daun sisik naga

Uji organoleptis serbuk daun sisik naga meliputi : bentuk, bau, rasa, dan warna. Hasil uji organoleptis serbuk daun sisik naga dapat dilihat dari tabel no 2.

Tabel 2. Hasil uji organoleptis daun sisik naga

Pengujian	Serbuk
Bentuk	Serbuk
Bau	Khas
Rasa	Asam
Warna	Coklat keputihan

4. Hasil penetapan susut pengeringan

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun sisik naga menggunakan alat *Moisture balance* dapat dilihat dari tabel 3.

Tabel 3. Hasil susut pengeringan serbuk daun sisik naga

No	Berat serbuk (g)	Bobot penyusutan (g)	Kadar (%)
1	2	1,82	8,7
2	2	1,87	6,5
3	2	1,85	7,5
Kadar air rata rata ± SD		7,56 ± 1,11	

Penetapan susut pengeringan serbuk daun sisik naga menggunakan alat *Moisture balance*. Perbandingan antara berat serbuk sebelum dipanasi dengan serbuk yang sudah dipanasi oleh *Moisture balance* menjadi pengukuran susut pengeringannya. Rata rata hasil kadar susut pengeringan dalam serbuk daun sisik naga diperoleh 7,56% susut pengeringan dengan nilai dibawah 10% dapat mengurangi potensi pembusukan simplisia.

5. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun sisik naga

Pembuatan ekstrak etanol daun sisik naga menggunakan metode masersi yang dilakukan di Laboratorium Fitokimia Universitas Setia Budi Surakarta. Metode ini yang dipilih sebagai metode pembuatan ekstrak karena mudah dalam penggerjannya, selain itu alat yang digunakan seerhana. Metode ini cocok digunakan untuk senyawa aktif yang tidak tahan pemanasan dan biasanya digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung bahan aktif mudah larut dalam pelarut dan tidak mudah mengembang dalam cairan penyari. wadah maserasi yang digunakan berkaca gelap untuk menghindarkan dari sinar matahari langsung. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% karena etanol merupakan pelarut universal yang mampu menarik senyawa polar dan non polar. Serbuk daun sisik naga yang digunakan pada pembuatan ekstrak etanol sebesar 500 g dengan hasil ekstraksi berwarna coklat. Alat penguap pelarut yang digunakan adalah *rotary evaporator*, memiliki prinsip yaitu penguapan dengan tekanan sehingga dapat terjadi penguapan dibawah titik didih suhu yang digunakan pada saat penguapan yaitu 50⁰ C. Penguapan yang dilakukan pada suhu stabil bertujuan untuk menjaga stabilitas senyawa aktif pada saat proses pemanasan berlangsung

dengan jangka waktu yang lama. Ekstrak kental yang telah pekatk dalam oven diperoleh sebanyak 78,702 g. Hasil presentase rendemen ekstrak daun sisik naga dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Presentase rendemen ekstrak daun sisik naga

Berat serbuk (g)	Ekstrak (g)	Rendemen (%)
500	78,702	15,74

6. Hasil uji kadar air

Ekstrak etanol daun sisik naga dilakukan uji kadar air untuk menjamin tidak adanya kontaminasi bakteri bahkan jamur pada ekstrak, pelarut yang digunakan etanol 70 % dimana kandungan air pada pelarut tersebut sebesar 30 % sehingga ekstrak yang sudah melalui proses pemekatan di dalam oven hingga didapatkan bobot konstan perlu dilakukan pengecekan kadar air pada ekstrak tersebut untuk mencegah penurunan kualitas ekstrak akibat pertumbuhan jamur dan bakteri. Pengujian kadar air ekstrak digunakan metode *Sterling Bidwell* karena prosesnya relatif cepat dan data yang dihasilkan akurat, sedangkan kelemahan metode ini adalah penggunaan alat yang rumit sehingga dibutuhkan operator yang terampil. Hasil kadar air ekstrak daun sisik naga dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil kadar air ekstrak daun sisik naga

Berat awal (g)	Kadar air (%)
6	8,3
6	6,6
6	6,6
Rata-rata ± SD	7,2 ± 0,824

7. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sisik naga

Hasil identifikasi golongan senyawa kimia dengan reaksi warna. Ekstrak daun sisik naga sebelum dilakukan penelitian dilakukan identifikasi kandungan untuk mengetahui adanya golongan senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid. Identifikasi senyawa ini dapat diketahui dengan melihat adanya perubahan warna, terjadinya buih atau endapan yang di timbulkan dari masing masing golongan senyawa. Identifikasi pada ekstrak dengan pereaksi yang sesuai diamati perubahannya. Hasil identifikasi dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa ekstrak etanol daun sisik naga

Senyawa	Pereaksi	Hasil identifikasi	Pustaka	Kesimpulan
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl _(p)	Merah	Merah, kuning, jingga, terbentuk endapan	+
Tanin	FeCl ₃ 1%	Biru kehitaman	Biru, biru hitam, hijau, biru hijau	+
Saponin	Metode Forth	Busa	Busa > 10 menit setinggi 1-10 cm	+
Triterpenoid	CHCl ₃ +CH ₃ COOH+ H ₂ SO _{4(p)}	Terbentuk cincin coklat	Cincin coklat/ violet (terpenoid)	+

8. Hasil uji sitotoksik ekstrak daun sisik naga dengan metode MTT assay

Pengujian sitotoksik pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ketoksikan ekstrak etanol daun sisik naga terhadap kultur sel kanker hati (HepG2) dan selektifitas terhadap sel vero. Sifat sitotoksik merupakan langkah awal utama dalam dasar uji sitotoksik dimana kemampuan sel untuk bertahan hidup karena adanya senyawa toksik. Aktivitas sitotoksik dapat diketahui dengan nilai IC₅₀ dimana nilai IC₅₀ ditunjukan dengan nilai konsentrasi yang dihasilkan dari hambatan 50% sel dan menunjukan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Uji sitotoksik dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada dengan sel yang digunakan yaitu sel kanker hati (HepG2). Sel dikultur dalam media DMEM dan diinkubasi pada inkubator CO₂ dengan suhu 37⁰C. Kultur sel merupakan teknik untuk mengembangkan sel yang ada di luar tubuh atau secara *in vitro*. Kultur sel memiliki keuntungan yaitu lingkungan tempat hidup sel dapat dikontrol dan diatur sehingga kondisi fisiologis relatif konstan. Kelemahan pada kultur sel yaitu sel yang dikultur dapat mengalami perubahan sifat karena perkembangbiakan sel di dalam tubuh (*in vivo*) bekerja secara terintegrasi dalam suatu jaringan, sedangkan dalam kultur sel terpisah-pisah. Kondisi di lingkungan kultur sel harus dibuat semirip mungkin dengan lingkungan di dalam tubuh agar sel dapat tumbuh dengan baik.

Media penumbuh yang digunakan untuk menumbuhkan sel kanker hati (HepG2) secara optimal adalah DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*). Media ini memiliki konsentrasi asam amino tinggi, vitamin, dan glukosa. Media ini mengandung FBS 10%, Penisillin-Streptomisin 1%, Fungizon (Amphotericin B) dimana kandungan FBS (*Fetal Bovine Serum*) dalam media bekerja sebagai

suplemen peningkat pertumbuhan efektif untuk sel kanker tersebut, karena kompleksitas dan nutrisi yang dikandungnya, streptomisin bekerja sebagai pencegah pertumbuhan bakteri yang dapat mengkontaminasi media penumbuh sehingga secara spesifik media hanya menumbuhkan sel kanker saja. Fungizon bekerja sebagai pencegah tumbuhnya jamur dan kapang yang juga dapat mengkontaminasi media penumbuh sel kanker. Media ini dapat digunakan untuk menumbuhkan sel lainnya seperti sel HepG2, HaCat, HuCCT-1, sel line kanker pankreas (HPAF-II, HPAC), sel B92 (Triputra 2016).

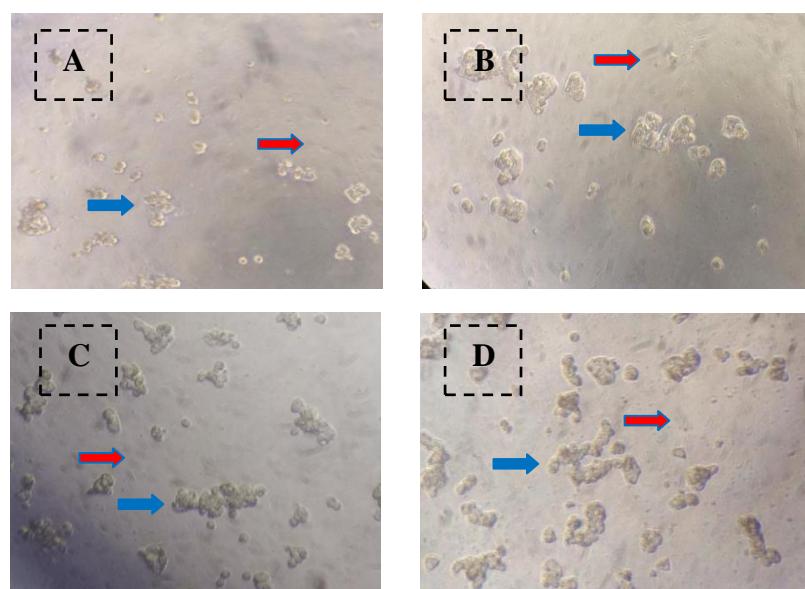
Preparasi sel kanker hati (HepG2) yaitu sel ditumbuhkan hingga sel tumbuh merata dalam media DMEM, jumlah sel yang telah merata terlihat menempel di dasar *plate*. Media kultur sel dibuang untuk memudahkan pemanenan sel dan ditambahkan 5 ml PBS (*Phospat Buffer Saline*) sebanyak dua kali untuk mencuci sel dari sisa media yang masih menempel pada *plate*. Sel yang telah dicuci ditambahkan tripsin 0,1 % sebanyak 2 ml untuk melepaskan sel yang menempel pada dasar *plate*. Sel HepG2 yang telah lepas dari dasar *plate* akan terlihat dengan bentuk bulat (Gambar 6).

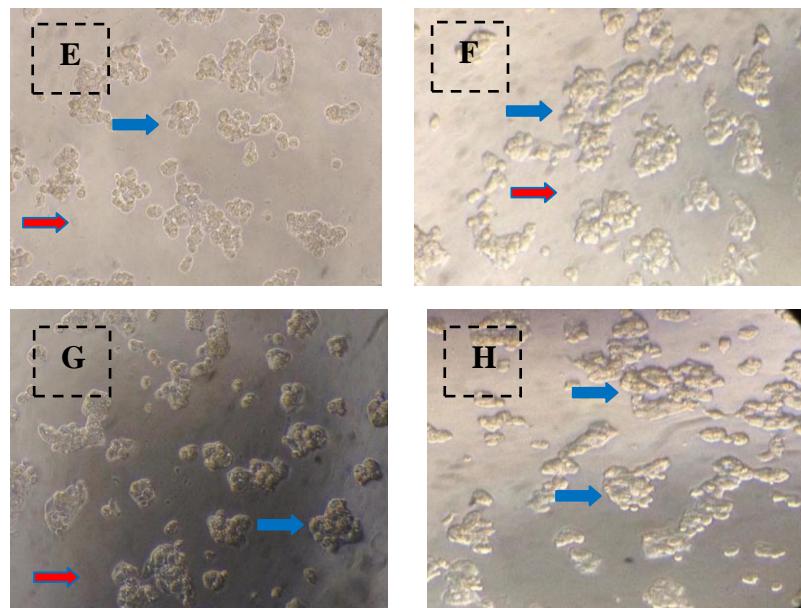


Gambar 6. Morfologi sel HepG2 pada perbesaran 400x setelah pemberian tripsin 0,1 %
(→ sel HepG2 hidup)

Tripsin 0,1 % sebagai enzim protease yang mampu melepaskan interaksi antara molekul glikoprotein dan proteoglikan dengan permukaan *plate*, sehingga sel akan kehilangan kemampuannya untuk melekat pada permukaan *plate* (Triputra 2016).

Sel kanker HepG2 yang hidup dalam suspensi sel stok dalam penelitian ini sekitar 50×10^4 sel/3000 μl . Setelah itu dilakukan pengenceran terhadap suspensi sel HepG2 untuk mendapatkan konsentrasi sebesar 10×10^4 sel/ml dan ditambahkan media sampai 10 ml sehingga satu *plate 96 well* dapat terisi rata dan cukup, dimana dalam satu *well* mempunyai konsentrasi 1×10^4 sel/100 μl . Sel HepG2 yang hidup ini diharapkan mampu bertahan hidup dengan baik melewati siklus hidupnya selama diinkubasi dalam 24 jam, waktu 24 jam diperlukan untuk mencegah berkurangnya nutrisi yang dibutuhkan sel untuk hidup karena media DMEM akan berfungsi secara maksimal untuk mengkultur sel HepG2 selama 24 jam. Ekstrak kental daun sisik naga diambil sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan 100 μl DMSO dalam ependrof. DMSO berfungsi sebagai *buffer* sehingga ekstrak dapat larut dengan baik. Pelarut DMSO (*dimetil sulfoksida*) digunakan untuk membuat larutan uji sampel, karena DMSO dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar, tidak bersifat toksik serta tidak memberikan aktifitas apapun. Larutan tersebut digunakan untuk melarutkan ekstrak daun sisik naga dalam pembuatan larutan stok sampel uji, dari larutan stok tersebut dibuat seri konsentrasi (1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,2; 15,6) $\mu\text{g/ml}$. Hal tersebut bertujuan untuk mengetahui signifikansi peningkatan konsentrasi sampel uji dengan efek anti proliferasi sel yang dihasilkan.

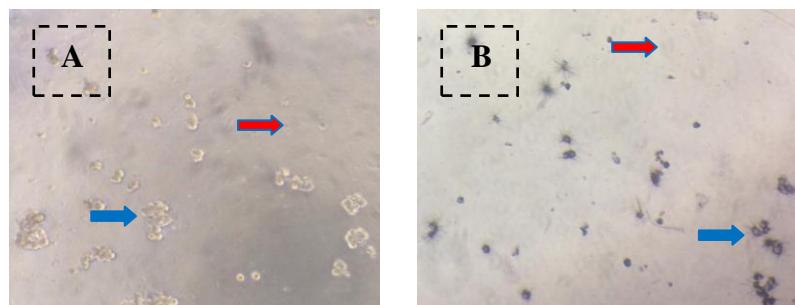




Gambar 7. Morfologi sel HepG2 pada perbesaran 400x setelah pemberian ekstrak.

Ket : Ekstrak etanol daun sisik naga (A) 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, (B) 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$, (C) 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$, (D) 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$, (E) 62,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, (F) 31,2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, (G) 15,6 $\mu\text{g}/\text{ml}$, (H) kontrol sel.
 (→ sel HepG2 hidup, → sel HepG2 mati)

Kondisi ekstrak pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (gambar 7A) morfologi sel HepG2 yang mati terlihat sedikit gelap dan sel mengambang dipermukaan *plate*, tidak terlihat menempel pada dasar *plate* karena ikatan antara glikoprotein dan peptidoglikan yang telah hilang sehingga mengakibatkan sel yang mati tidak dapat menempel lagi pada permukaan *plate*, kemudian pada konsentrasi 15,6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (gambar 7G) kepadatan populasi sel mendekati kepadatan kontrol sel yang menandakan viabilitas sel masih tinggi.



Gambar 8. Morfologi sel HepG2 sebelum dan setelah pemberian MTT.

Ket : Ekstrak etanol daun sisik naga (A) 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ sebelum MTT, (B) 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ sesudah MTT
 (→ sel HepG2 hidup, → sel HepG2 mati)

Penelitian ini menggunakan metode MTT (*Microculture Tetrazolium Salt*) secara *in vitro*. Pengujian dengan metode MTT ini berdasarkan pada konversi

garam tetrazolium yang berwarna kuning oleh enzim suksinat dihidrogenase dengan bantuan NADPH menjadi produk berwarna biru gelap yang disebut formazan. Kristal formazan yang terbentuk pada sel yang hidup akan memberikan warna ungu dimana warna tersebut akan semakin bertambah pekat intensitasnya dengan menurunnya konsentrasi ekstrak. Pada konsentrasi tertinggi intensitas warna ungu memudar atau rendah dengan % viabilitas sebesar 33,51% hal ini menunjukkan sel yang hidup pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ sangat sedikit. Namun pada konsentrasi selanjutnya intensitas warna ungu pekat dengan % viabilitas yang lebih tinggi dari sebelumnya hal ini menandakan bahwa semakin menurunnya konsentrasi dari ekstrak etanol daun sisik naga maka efek penghambatan pertumbuhannya terhadap sel kanker juga berkurang.

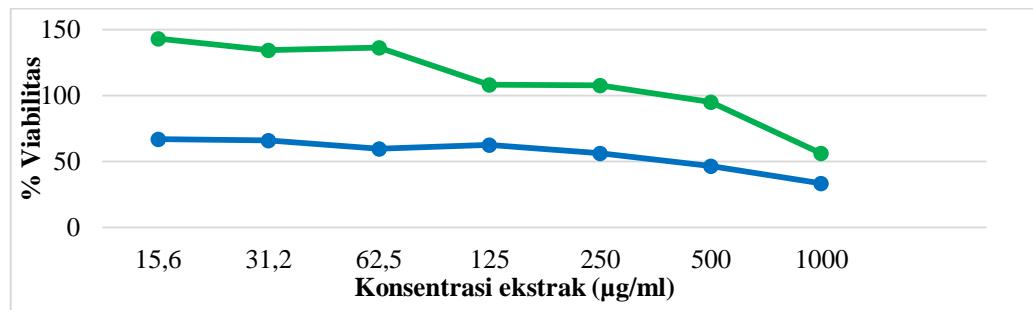
Tabel 7. Hasil perhitungan % viabilitas HepG2

Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Rata rata Aborbansi	% Viabilitas
1000	0,326	33,51
500	0,423	46,35
250	0,498	56,40
125	0,546	62,77
62,5	0,523	59,63
31,25	0,569	65,74
15,6	0,577	66,80

Tabel 8. Hasil perhitungan % viabilitas sel vero

Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Rata rata Aborbansi	% Viabilitas
1000	0,346	56,09
500	0,533	95,24
250	0,591	107,42
125	0,593	107,98
62,5	0,727	136,13
31,25	0,718	134,17
15,6	0,759	142,79

MTT dengan enzim suksinat dihidrogenase pada mitokondria sel dihentikan dengan penambahan SDS karena reaksi antara enzim tersebut dengan MTT berlangsung secara berkelanjutan sehingga diperlukan reagen *stopper*. Kristal formazan ungu yang larut dalam SDS kemudian diukur absorbansinya dan disajikan dalam bentuk grafik % viabilitas sel dengan konsentrasi ekstrak etanol daun sisik naga (Gambar 9).



Gambar 9. Grafik hubungan % viabilitas sel dengan konsentrasi ekstrak etanol daun sisik naga

Ket : ■ % viabilitas HepG2, ■ % viabilitas sel vero

Berdasarkan grafik aktivitas ekstrak etanol daun sisik naga menunjukkan *dose dependent*, yaitu viabilitas sel berkurang seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak. Nilai % viabilitas merupakan kemampuan hidup dari suatu sel. Perhitungan % viabilitas bertujuan untuk mengetahui jumlah sel yang bertahan hidup setelah terpapar senyawa toksik. Dari gambar 9 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun sisik naga menunjukkan semakin kecil % viabilitas sel kanker HepG2 dan semakin besar % penghambat dari sel kanker hati HepG2. Nilai absorbansi yang diperoleh dapat dikonversi ke dalam persamaan % viabilitas setelah itu dilakukan perhitungan untuk memperoleh nilai IC₅₀ yang diperoleh dari regresi linier antara konsentrasi vs % viabilitas sel.

Tabel 9. Hasil pengamatan pada sel HepG2

Konsentrasi (µg/ml)	% viabilitas sel HepG2	Persamaan regresi linear	Hasil IC ₅₀ (µg/ml)
1000	33,51	$y = 65,242 - 0,033x$	461,879
500	46,35	$r = 0,9659$	
250	56,49		
125	62,77		
62,5	59,63		
31,25	65,74		
15,6	66,8		

Tabel 7. Hasil pengamatan pada sel Vero

Konsentrasi (µg/ml)	% viabilitas sel Vero	Persamaan regresi linear	Hasil IC ₅₀ (µg/ml)
1000	56,09	$y = 134,23 - 0,0805x$	1046,584
500	95,24	$r = 0,915$	
250	107,42		
125	107,98		
62,5	136,13		
31,25	134,17		
15,6	142,79		

Tabel 11. Hasil pengamatan Cisplatin

Konsentrasi (μg/ml)	% viabilitas sel	Persamaan regresi linear	Hasil IC₅₀ (μg/ml)
100	31,65	$y = 62,781 - 0,2968x$	43,062
50	52,01	$r = 0,8708$	
25	53,25		
12,5	55,64		
6,25	68,35		
3,12	60,12		
1,56	59,94		

Nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun sisik naga pada penelitian ini berdasarkan dari tabel diatas ditentukan dengan persamaan regresi linear dengan persamaan linier : $Y = 65,242 - 0,033x$ nilai $r = 0,9659$ didapatkan nilai IC₅₀ ekstrak terhadap HepG2 sebesar 461,879 μ g/ml. Persamaan linier ekstrak terhadap sel vero $Y = 134,23 - 0,0805x$, nilai $r = 0,915$ didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 1046,584 μ g/ml, sedangkan nilai IC₅₀ kontrol positif sebesar 43,062 μ g/ml dari persamaan linier $Y = 62,781 - 0,2968x$ dengan nilai $r = 0,8708$. Nilai r merupakan koefisien korelasi yang menunjukkan linearitas atau tidaknya data absorbansi. Menurut Rollando (2016) ekstrak yang memiliki nilai IC₅₀ di bawah 100 μ g/ml memiliki efek sitotoksik yang poten. Oleh karena itu, berdasarkan kriteria tersebut dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol daun sisik naga pada penelitian ini menunjukkan aktivitas sitotoksik yang tidak poten terhadap sel kanker (HepG2).

Hasil penelitian sitotoksik yang dilakukan oleh Susi (2009) diperoleh hasil IC₅₀ dari ekstrak sisik naga memiliki aktivitas antikarsinogenik terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC₅₀ sebesar 83,63 μ g/mL. Anwar (2013) menyatakan ekstrak metanol daun sisik naga memiliki efek sitotoksik terhadap sel leukimia P388 yang di tunjukan dengan nilai IC₅₀ sebesar 19,32 μ g/mL. Besarnya nilai IC₅₀ yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun sisik naga tersebut diduga karena rendahnya kadar senyawa flavonoid yang memiliki perananan penting dalam aktivitas sitotoksik, ekstrak dengan nilai IC₅₀ yang kecil menandakan banyaknya senyawa kimia toksik yang terkandung seperti senyawa alkaloid dan flavonoid yang dapat memicu kematian sel kanker hati (HepG2). Perbedaan penggunaan pelarut dalam pengambilan senyawa aktif atau proses ekstraksi yang menyebabkan pemindahan senyawa senyawa aktif kurang maksimal sehingga menyebabkan perbedaan kadar

kandungan senyawa yang ada dalam ekstrak. Penelitian yang dilakukan oleh Susi (2009) dan Anwar (2013) penyari yang digunakan adalah metanol, dimana metanol memiliki gugus hidroksil yang lebih kuat sehingga penarikan senyawa aktif polar dapat tertarik sebaik mungkin (Siska 2015 ; Romadanan 2014).

9. Uji indeks selektivitas ekstrak etanol daun sisik naga

Nilai indeks selektivitas diketahui untuk mengukur tingkat keamanan atau selektivitas sitotoksik dari ekstrak etanol daun sisik naga terhadap sel kanker dan sel normal, dihitung dengan cara membandingkan nilai IC_{50} ekstrak dari sel normal (sel vero) dan IC_{50} ekstrak dari sel kanker hati (sel HepG2). Nilai IC_{50} ekstrak terhadap sel vero diperoleh sebesar 1046.584 $\mu\text{g}/\text{ml}$, sedangkan nilai IC_{50} ekstrak terhadap sel HepG2 adalah 461.879 $\mu\text{g}/\text{ml}$ sehingga diperoleh nilai indeks selektivitas sebesar 2,265. Nilai indeks selektivitas dari ekstrak tersebut, dinyatakan bahwa ekstrak daun sisik naga kurang selektif dalam menghambat pertumbuhan sel, artinya ekstrak daun sisik naga tersebut memiliki potensi sitotoksik yang lemah terhadap sel kanker dan tidak memiliki tingkat keamanan yang tinggi terhadap sel normal. Ekstrak dikatakan memiliki selektivitas yang tinggi apabila nilai indeks selektivitasnya > 3 (Sutedjo 2016).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Ekstrak etanol daun sisik naga menunjukkan aktivitas yang tidak poten terhadap sel kanker hati HepG2 dengan nilai IC_{50} sebesar 461.879 $\mu\text{g/ml}$.
2. Ekstrak etanol daun sisik naga kurang selektif dalam menghambat pertumbuhan sel dengan nilai indeks selektivitas sebesar 2,265.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas sitotoksik dari ekstrak daun sisik naga terhadap sel kanker lain.
2. Perlu dilakukan fraksinasi dan subfraksinasi untuk mengisolasi senyawa lebih murni dari ekstrak daun sisik naga agar dapat meningkatkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Anwar Sahid , Dingse Pandiangan, Parluhutan Siahaan. 2013. Uji Sitotoksisitas Ekstrak Metanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* Presl.) terhadap Sel Leukemia P388. *Jurnal MIPA UNSRAT* 2 : 94-99.
- Crowin dan Elizabeth J.. 2009. *Buku saku patofisiologi*. Edisi 3. Nike BS, penerjemah; Rgi KY, editor. Jakarta : EGC. Terjemah dari : *Hondbook Of Pathophysiology*.
- Dalimunthe, A., dan Poppy, A.Z. 2011. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* [L.] Presl.). *Prosiding Seminar Nasional*. hal. 303-309.
- Depamade S, N, Rosyidi A. 2009. Penghambatan Proliferasi Limfosit Mencit Balb/C Oleh Ekstrak Testis Sapi Bali Peran TGF- β . *Media peternakan*. 32 (2): 95-103.
- Depkes RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Endah P. 2010. Perbandingan metode maserasi, remaserasi, perkolasii, dan reperkolasi dalam ekstraksi senyawa aktif *Andrographolide* dari tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) [Skripsi]. Bogor : Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Fazwishni S, B.S Hadijono. 2000. Uji Sitotoksisitas Dengan MTT assay. *Jurnal Kedokteran Gigi* 7 : 28-32.
- Franks L.M, Teich N.M. 1998 *Celluler and Molecular Biology of Cancer*, Third edition. New York: Oxford University Press Inc. Hal. 4-19.
- Freshney RI. 2000. *Culture of Animal Cells : A Manual Of Basic Technique*. New York : John Willey & Sons. Inc Publication.
- Gritter RJ, Bobbit JM, Syhwarting AE. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung : Penerbit ITB.
- Gunawan dan Sri M. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid I. Depok: Penebar Swadaya.
- Handayani T. 2008. Pengaruh *xantorizol* terhadap sel hepatoma *HepG2*. *Jurnal Biosains dan Teknologi* 8 : 29-35.

- Harborne, J.,B 1987, *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Moderen Menganalisa Tumbuhan Edisi Kedua*, Alih Bahasa: Padmawinata K.,ITB, Bandung.
- Hariana, H. 2006. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Penebar Swadaya: Jakarta.
- Haryoto, Muhtadi, Peni Indrayudha, Tanti Azizah, Andi Suhendi. 2013. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan Sala Terhadap Sel *HeLa*, *T47D* dan *WiDR*. *Jurnal Penelitian Saintek* 18 : 21-28.
- Heti, D. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Herba Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* Presl.) terhadap Sel *T47D* [Skripsi]. Fakultas Farmasi .Universitas Muhammadiyah, Surakarta. 2008.
- Indrawati M. 2009. *Bahaya Kanker Bagi Pria Dan Wanita*. Cetakan pertama. Jakarta: Pendidikan untuk kehidupan.
- Katzung BG, Master SB< dan Trevor AJ. 2009. *Basic and Clinical Pharmacology*, 11th Edition. San Francisco : The McGraw-Hill Companies,Inc.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Suplemen III Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Jakarta. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2015. *Buletin jendela data dan informasi kesehatan*. Jakarta: KEMENKES RI.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Badan Penelitian dan Pengembangan kesehatan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. 2015. *Pedoman Budidaya, Panen Dan Pascapanen Tanaman Obat* 47-5. <http://online.anyflip.com/wmni/kgpb/mobile/index.html#p=12> diakses tanggal 19 Januari 2019.
- Minarno B.E. 2015. Skrining Fitokimia dan kandungan total flavanoid pada buah *Carica pubescens* Lenne & K.Koch di kawasan Bromo, Cangar, dan dataran tinggi Dieng. *Skrining Fitokimia El-Hayah* 5 : 73-82.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan* 7: 362.
- Muliani. 2016. Siklus sel [Skripsi]. Denpasar : Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana.
- Mulyadi. 1997. Kanker. *Karsinogen dan Anti Kanker*, Tiara Wancana Yogya, Yogyakarta.

- Nefrialdi, Sulistia G. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. (cetak ulang dengan tambahan, 2012). Departement Farmakologi Dan Terapeutik FKUI. Jakarta: Badan Penerbit FKUI hal 732-739.
- Noor Sheryna Jusoh, Alyza Azzura Abd Rahman Azmi, Azrilawani Ahmad. 2017. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Elisa)-Based-Sensor For Determination Of Benzo[A]Pyrene In River Water Using Screen-Printed Gold Electrode. *Malaysian Journal Of Analytical Sciences*, 21 (3): 518-526.
- Nur Azizah. 2016. Karakter morfologi paku sisik naga (*Pyrrosia piloselloides*) berdasarkan pada pohon inang berbeda [Skripsi]. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim.
- Prasetyo dan Inoriah E. 2013. *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan*. Bengkulu : Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB.
- Purnawati, U., Turnip, M., Lovadi, I., Eksplorasi Paku-Pakuan (*Pteridophyta*) Di Kawasan Cagar Alam Mandor Kabupaten Landak, *Jurnal Protobiont*, 3 (2) : 155-165.
- Ramli M.2000. *Kanker Tiroid Penatalaksanaan Diagnosis dan Terapi*. Dalam ramli H, Umbas, dan Danogoro S, 2000. *Deteksi Dini Kanker*. Jilid III. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Ratna Widyasari, Dina Yuspitiasari, Athiah Masykuroh, Winda Tahuhiddah. 2018. UJI Aktivitas Antipiretik Ekstrak Daun Sisik Naga(*Pyrrosia Piloselloides* (L.) M.G. Price) Terhadap Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Pepton 5%. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik (JIFFK)* 15 : 22-28
- Ratna Yuliani dan Maryanti. 2009. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Herba Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* Presl.) terhadap Sel T47D [Skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah.
- Ricky A. 2015. Gambaran Histopatologi *Karsinoma Hepatoseluler*. *Jurnal Hasil Penelitian* 42 : 440-444.
- Rida O. Khastini, Vivin Setiyowati. 2013. Uji Aktivitas Ekstrak Air Daun Fertil dan Steril Sisik Nagaterhadap Enteropatogenik E. Coli. *Prodi Pendidikan Biologi FKIP UNTIRTA*.
- Riyanto S. 2011. *Peran Spektroskopi Pada Identifikasi Tanaman Obat*. Di dalam: Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar pada Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, 14 Desember 2011. Yogyakarta : UGM.

- Romadanu, Rachmawati, S.H., dan Lestari S.D., 2014. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bunga Lotus (*Nelumbo Nucifera*). *Fishtech* 3 (1) : 1-7.
- Sirregar A.G. 2011. Penatalaksanaan Non Bedah dari *Karsinoma* Hati. *Jurnal Kedokteran* 24 : 35-42.
- Siska A.Kusumastuti, Firdayani, Chaidir. 2015. Potensi Ekstrak Daun Lampeni (*Ardisia Elliptica*) Dan Fraksinya Sebagai Agen Antiproliferatif Terhadap Sel Kanker Hati HepG2. *Pusat Teknologi Farmasi Dan Medika LAPTIA B PUSPIPTEK Serpong, Badan Pengkajian Dan Penerapan Teknologi* : 1-6.
- Siswadi, Rollando. 2016. Penelusuran potensi aktivitas sitotoksik fraksi kulit batang tumbuhan faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br). *Jurnal Farmasi* : 27-32.
- Stahl E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*, Penerjemah: Kosasih Padmawinata. Bandung : Penerbit ITB.
- Sukaradja D.G. 2000. *Onkologi Klinik*. Edisi 2. Surabaya: Airlangga University Pres.
- 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.
- 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.
- 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.
- Umar Santoso, Sudarmanto, Sri Naruki, Dwi Larasatie Nur Fibri. 2012. *Buku : Bahan Ajar Analisis Pangan Dan Hasil Pertanian*. Yogyakarta : Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada.
- United States Departement Of Agriculture 2005, 10 February, Taxon: *Pyrrossia piloselloides* (L) M.G. Price, Germplasm Resources Information Network. <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/taxon.pl?447799> diakses tanggal 13 November 2018.

- Utami Prapti. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat*. PT. Argo Media Pustaka. Jakarta, Cetakan Pertama, Hal 228-229.
- 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.
- Wijaya J, J. Salenussa, J. Marantika. 2012. Potensi Ekstrak Metanol Daun Kapur Sebagai Obat Antimalaria. *Jurnal Kimia* : 1-9.
- Wulandari, E.T.; Elya, B.; Hanani, E.; Pawitan, J.A. In Vitro Antioxidant and Cytotoxicity Activity of Extract and Fraction *Pyrrosia piloselloides* (L) M.G Price. *International Journal of Pharm Tech Research*. 2013, 5 (1): 119-125.

L
A
M
P
I
R
A
N

Lampiran 1. 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
Laman www.b2p2toot.litbang.kemkes.go.id Surat Elektronik b2p2toot@litbang.kemkes.go.id

Nomor : YK.01.03/2/1392 /2019
Hal : Keterangan Determinasi

21 Maret 2019

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

Merujuk surat Saudara nomor: 4234/A10 – 4/15.12/2018 tanggal 15 Desember 2018 hal permohonan determinasi, dengan ini kami sampaikan bahwa hasil determinasi sampel tanaman sebagai berikut:

Nama Sampel	:	Daun Sisik Naga
Sampel	:	Sampel segar
Spesies	:	<i>Pyrrosia piloselloides</i> (L.) M.G. Price
Sinonim	:	<i>Drymoglossum piloselloides</i> (L.) C. Presl; <i>Drymoglossum rotundifolium</i> C. Presl.
Familia	:	Polypodiaceae
Nama Pemohon	:	Yusuf Nisfu Al Huda
Penanggung Jawab Identifikasi	:	Nur Rahmawati Wijaya, S.Si.

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
* * * * *
BAPKOB PENELITIAN DAN
PENGEMBANGAN KESEHATAN
* * * * *
AKHMAD SAIKHU, M.Sc.PH.
NIP 196805251992031004

Lampiran 2. Surat ethical clearance

2/21/2019

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 : 230 / II /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 menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

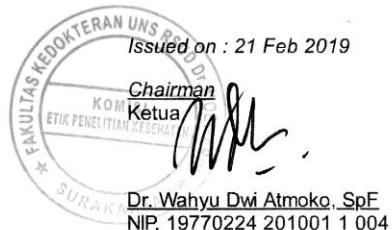
That the research proposal with topic :
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SISIK NAGA (*Drymoglossum piloselloides* Presl.) TERHADAP KULTUR SEL KANKER HATI (HepG2)

Principal investigator : Yusuf Nisfu AL Huda
 Peneliti Utama : 089649357895

Location of research : Departemen Parasitologi UGM
 Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik



Lampiran 3. Daun sisik naga segar, daun kering, dan hasil serbuk.**Daun sisik naga segar****Daun sisik naga kering****Serbuk daun sisik naga**

Lampiran 4. Perhitungan rendemen daun kering dan ekstrak etanol daun sisik naga

A. Rendemen berat daun kering terhadap daun basah :

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

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{1300}{8000} \times 100 \% = 16,25 \%$$

Perhitungan *Lost On Drying* (LOD) pengeringan daun sisik naga basah :

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

$$= \frac{8000 \text{ g} - 1300 \text{ g}}{8000 \text{ g}} \times 100\% = 83,75\%$$

B. Rendemen hasil ekstrak etanol daun sisik naga :

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

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{78,702 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100 \% = 15,74 \%$$

Lampiran 5. Hasil identifikasi kandungan senyawa**Flavonoid (+)****Triterpenoid (+)****Saponin (+)****Tanin (+)**

Lampiran 6. Pola microplate 96 well

Lampiran 7. Perhitungan volume panenan sel

A. Jumlah sel HepG2 terhitung dalam suspensi stok

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

$$\Sigma \text{sel}/ \text{ml} = \frac{57 + 45 + 51 + 47}{4} = \frac{200}{4} \times 10^4 = 50 \times 10^4$$

Volume jumlah panenan untuk perlakuan :

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

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

$$V_1 = 2 \text{ ml} \text{ (pengambilan disuspensi stok)}$$

B. Jumlah sel vero terhitung dalam suspensi stok

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

$$\Sigma \text{sel}/ \text{ml} = \frac{125 + 120 + 117 + 121}{4} = \frac{483}{4} \times 10^4 = 120,75 \times 10^4$$

Volume jumlah panenan untuk perlakuan :

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

$$V_1 \times 120,75 \times 10^4 = 10 \text{ ml} \times 10 \times 10^4$$

$$V_1 = 0,83 \text{ ml} \text{ (pengambilan disuspensi stok)}$$

Lampiran 8. Perhitungan pembuatan larutan stok dan seri konsentrasi

A. Pembuatan larutan stok

Dibuat larutan stok dengan konsentrasi 10 mg/100 μ l.

$$10 \text{ mg/ } 100 \text{ } \mu\text{l.} = 100.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

B. Pembuatan seri konsentrasi

1. Konsentrasi 1000 μ l/ml

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

$$1 \text{ ml} \times 1000 = V_2 \times 100.000$$

$$V_2 = 10 \text{ } \mu\text{l}$$

*Dipipet 10 μ l dari larutan stok,
+ 990 μ l media DMEM

2. Konsentrasi 500 μ l/ml

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

$$1 \text{ ml} \times 500 = V_2 \times 1000$$

$$V_2 = 500 \text{ } \mu\text{l}$$

*Dipipet 500 μ l dari larutan kons (I),
+ 500 μ l media DMEM

3. Konsentrasi 250 μ l/ml

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

$$1 \text{ ml} \times 250 = V_2 \times 500$$

$$V_2 = 500 \text{ } \mu\text{l}$$

*Dipipet 500 μ l dari larutan kons (II),
+ 500 μ l media DMEM

4. Konsentrasi 125 μ l/ml

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

$$1 \text{ ml} \times 125 = V_2 \times 250$$

$$V_2 = 500 \text{ } \mu\text{l}$$

*Dipipet 500 μ l dari larutan kons (III),
+ 500 μ l media DMEM

5. Konsentrasi 62,5 μ l/ml

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

$$1 \text{ ml} \times 62,5 = V_2 \times 125$$

$$V_2 = 500 \text{ } \mu\text{l}$$

*Dipipet 500 μ l dari larutan kons (IV), + 500 μ l media DMEM

6. Konsentrasi 31,2 μ l/ml

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

$$1 \text{ ml} \times 31,2 = V_2 \times 62,5$$

$$V_2 = 500 \text{ } \mu\text{l}$$

*Dipipet 500 μ l dari larutan kons (V), + 500 μ l media DMEM

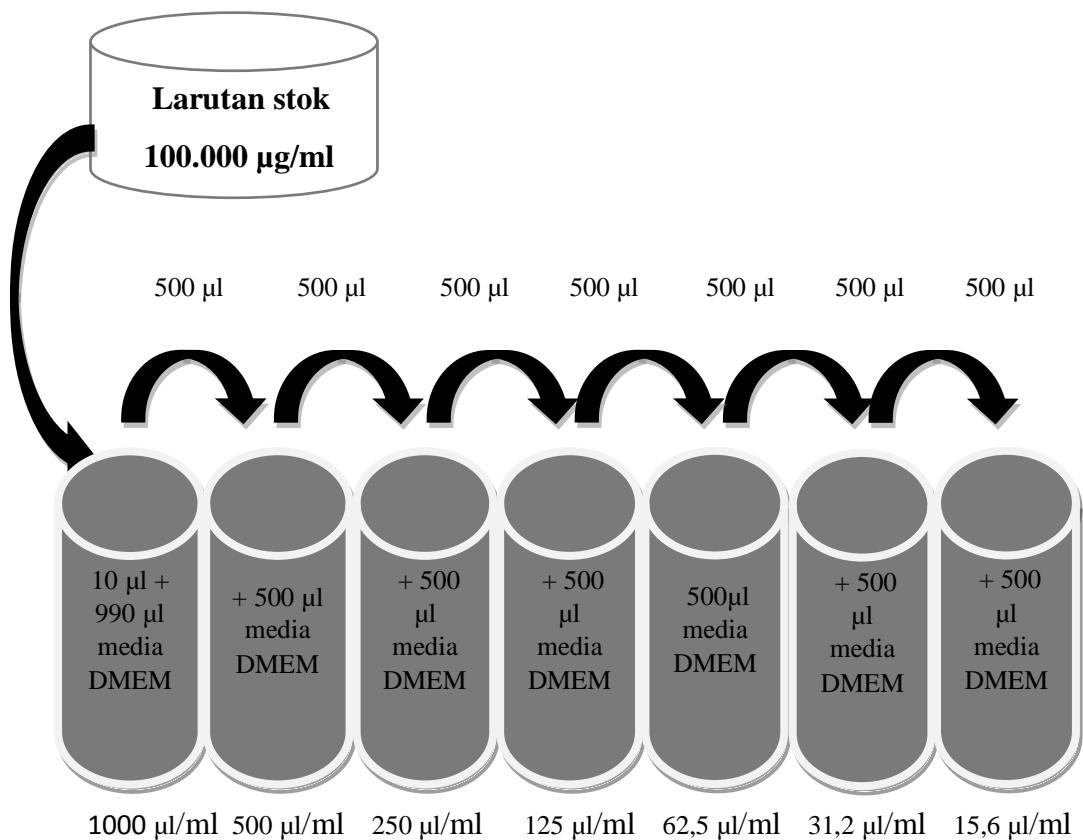
7. Konsentrasi 15,6 μ l/ml

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

$$1 \text{ ml} \times 15,6 = V_2 \times 31,2$$

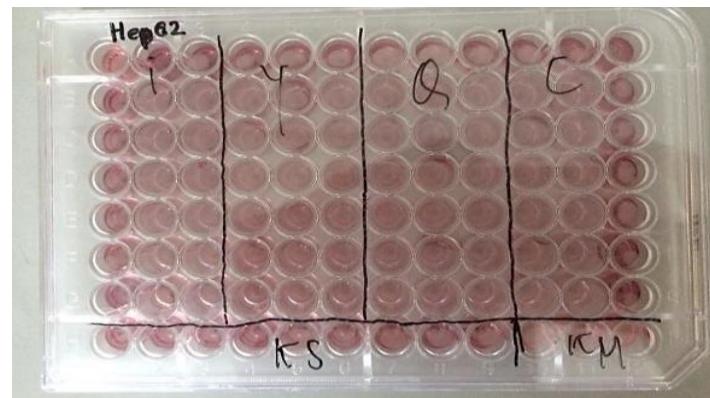
$$V_2 = 500 \text{ } \mu\text{l}$$

*Dipipet 500 μ l dari larutan kons (VI), + 500 μ l media DMEM

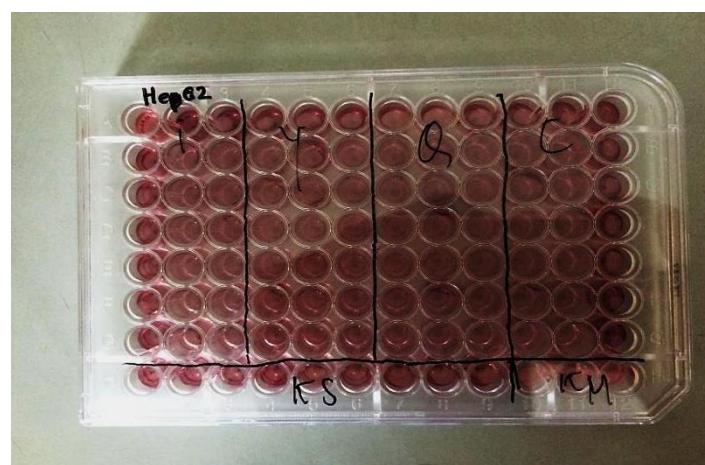


Lampiran 9. Degradasi warna setelah pemberian ekstrak, setelah pemberian MTT dan setelah pemberian SDS

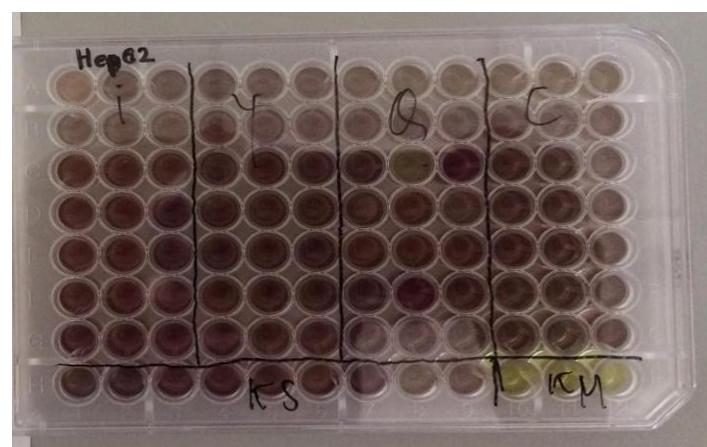
A. Sel kanker HepG2



Setelah pemberian ekstrak

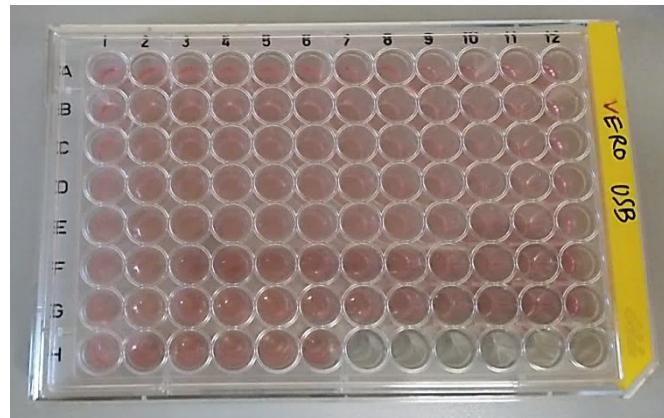


Setelah pemberian MTT

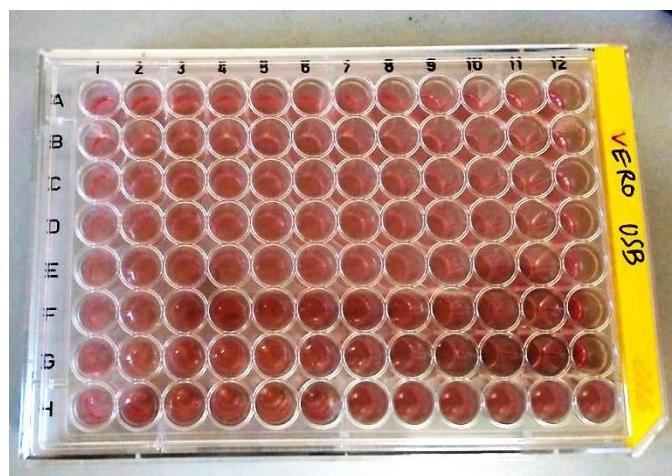


Setelah pemberian SDS

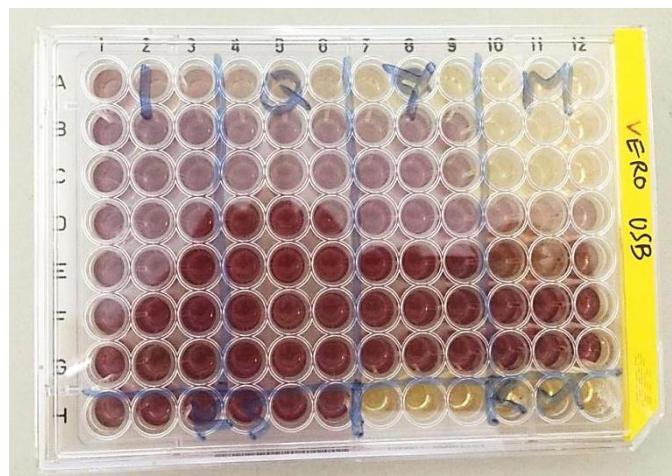
B. Sel vero



Setelah pemberian ekstrak

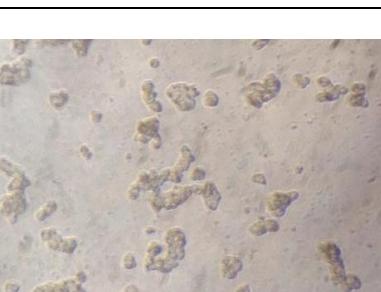
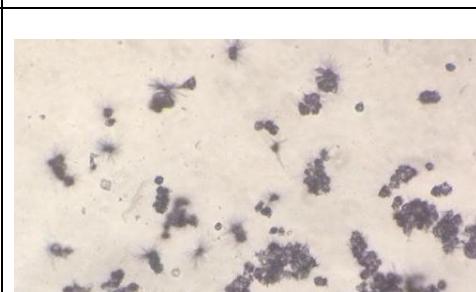


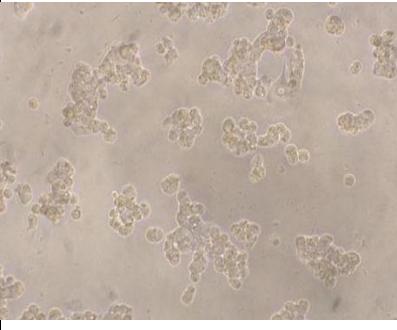
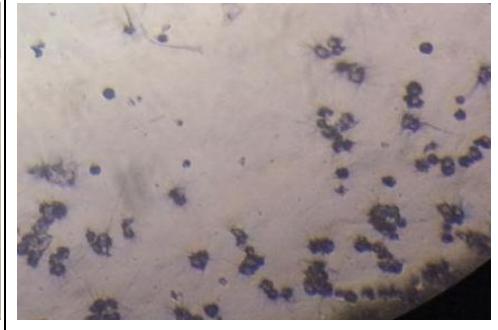
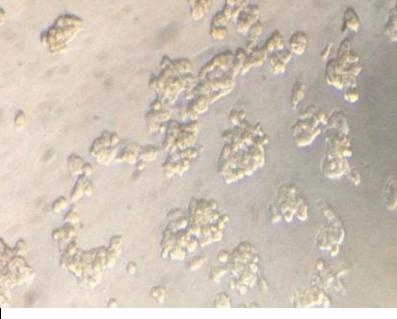
Setelah pemberian MTT



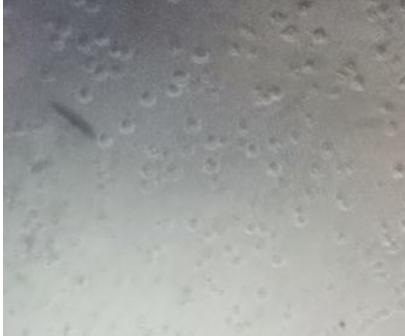
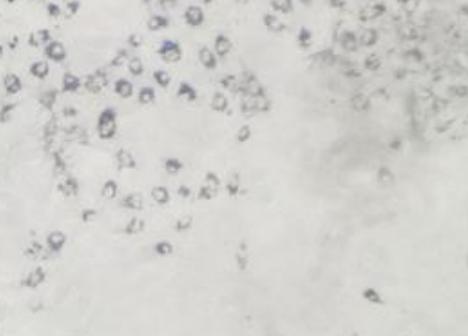
Setelah pemberian SDS

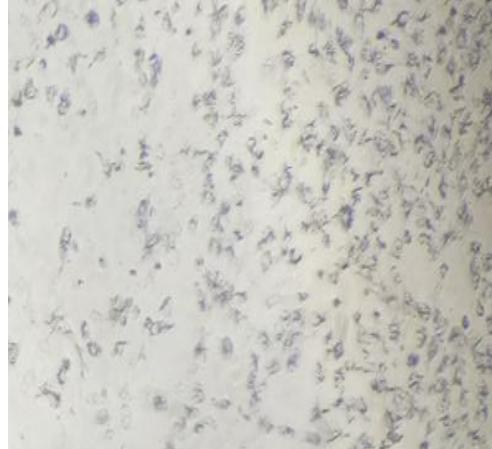
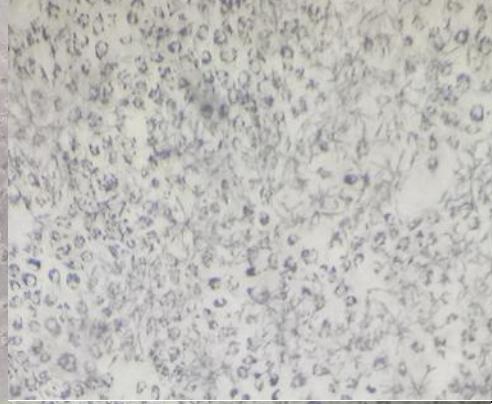
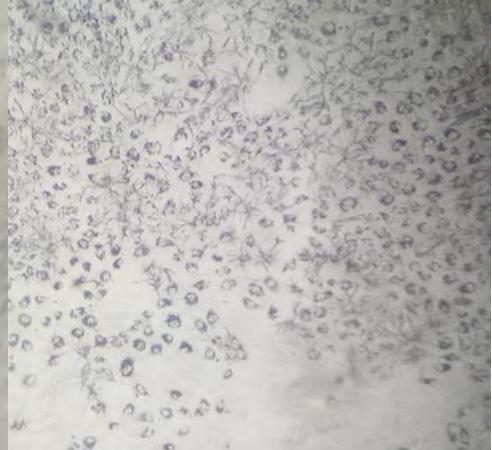
Lampiran 10. Gambar kristal formazan pada sel HepG2

Perlakuan	Sebelum diberikan MTT	Sesudah diberikan MTT
Ekstrak etanol daun sisik naga 1000 μ l		
Ekstrak etanol daun sisik naga 500 μ l		
Ekstrak etanol daun sisik naga 250 μ l		
Ekstrak etanol daun sisik naga 125 μ l		

Perlakuan	Sebelum diberikan MTT	Sesudah diberikan MTT
Ekstrak etanol daun sisik naga 62,5 μ l		
Ekstrak etanol daun sisik naga 31,2 μ l		
Ekstrak etanol daun sisik naga 15,6 μ l		

Lampiran 11. Gambar kristal formazan pada sel vero

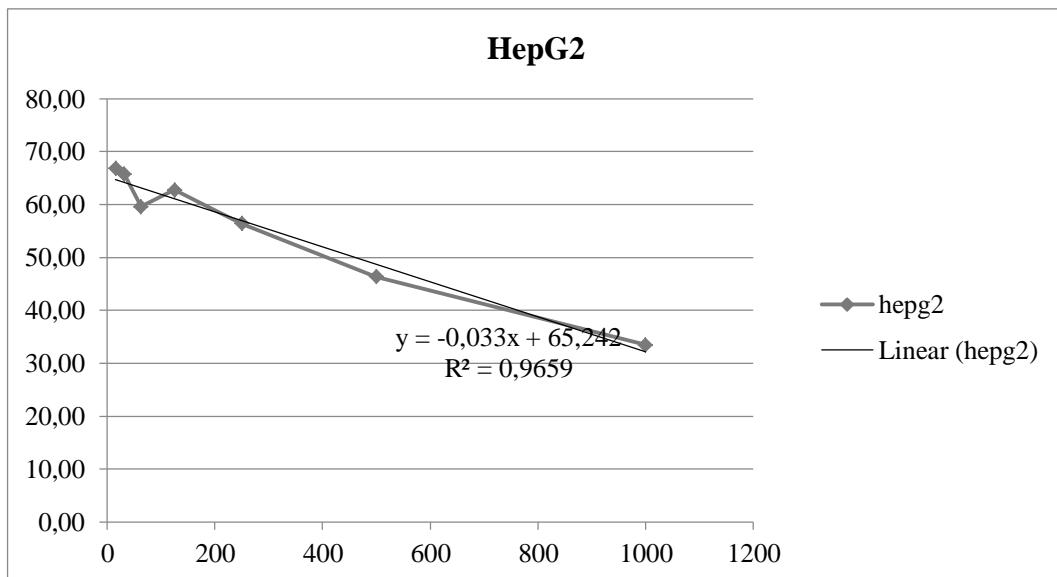
Perlakuan	Sebelum diberikan MTT	Sesudah diberikan MTT
Ekstrak etanol daun sisik naga 1000 μ l		
Ekstrak etanol daun sisik naga 500 μ l		
Ekstrak etanol daun sisik naga 250 μ l		
Ekstrak etanol daun sisik naga 125 μ l		

Perlakuan	Sebelum diberikan MTT	Sesudah diberikan MTT
Ekstrak etanol daun sisik naga 62,5 μ l		
Ekstrak etanol daun sisik naga 31,2 μ l		
Ekstrak etanol daun sisik naga 15,6 μ l		

Lampiran 12. Perhitungan IC₅₀ ekstrak etanol daun sisik naga

A. Nilai IC₅₀ Sel HepG2

Konsentrasi Ekstrak	1	2	3	Rata Rata Absorbansi	% Viabilitas
1000	0,346	0,331	0,301	0,326	33,51
500	0,435	0,41	0,423	0,423	46,35
250	0,472	0,501	0,522	0,498	56,40
125	0,561	0,508	0,57	0,546	62,77
62,5	0,506	0,558	0,504	0,523	59,63
31,25	0,548	0,595	0,563	0,569	65,74
15,6	0,59	0,58	0,56	0,577	66,80
Kontrol Sel	0,846	0,833	0,801	0,827	100,00
Kontrol Media	0,075	0,069	0,077	0,074	0,00



$$\text{Ket : } (a = 65,242)$$

$$(b = -0,033)$$

$$(r = 0,9659)$$

$$y = a + bx$$

$$50 = 65,242 - 0,033x$$

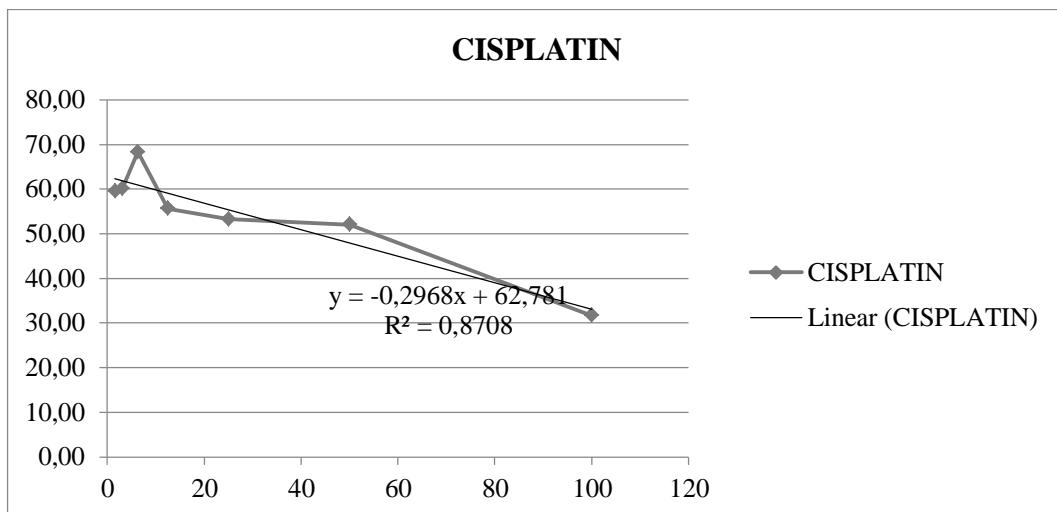
$$50 - 65,242 = -0,033x$$

$$x = 461,879$$

$$X (\text{IC}50) = 461,879 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

B. Nilai IC₅₀ cisplatin pada sel HepG2

Konsentrasi Ekstrak	1	Absorbansi	2	Rata Rata Abs	% Viabilitas
	1	2	3		
100	0,311	0,301	0,324	0,312	31,65
50	0,512	0,425	0,459	0,465	52,01
25	0,52	0,481	0,423	0,475	53,25
12,5	0,526	0,511	0,441	0,493	55,64
6,25	0,594	0,614	0,557	0,588	68,35
3,125	0,542	0,555	0,482	0,526	60,12
1,5625	0,555	0,486	0,525	0,522	59,54
KS	0,846	0,833	0,801	0,827	100,00
KM	0,075	0,069	0,077	0,074	0,00



Ket : (a =62,781)

(b = -0,2968)

(r = 0,8708)

$$y = a + bx$$

$$50 = 62,781 - 0,2968x$$

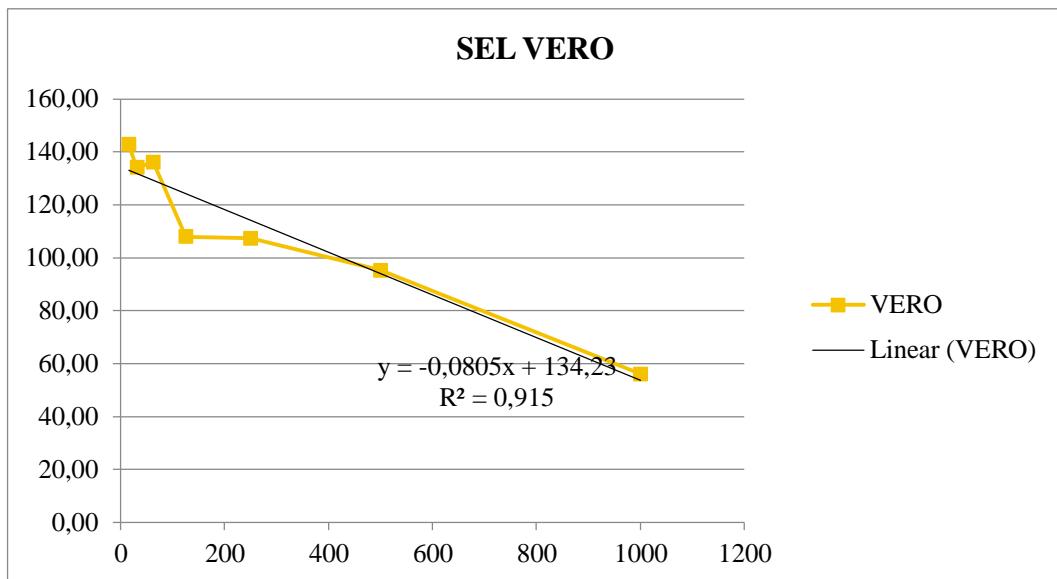
$$50 - 62,781 = -0,2968x$$

$$x = 43,06266846$$

$$X (IC_{50}) = 43,06266846 \mu\text{g/ml}$$

C. Nilai IC50 Sel Vero

Konsentrasi Ekstrak	1	Absorbansi	2	Rata Rata Abs	% Viabilitas
	1	2	3		
1000	0,334	0,32	0,385	0,346	56,09
500	0,504	0,545	0,549	0,533	95,24
250	0,564	0,596	0,612	0,591	107,42
125	0,601	0,603	0,576	0,593	107,98
62,5	0,71	0,718	0,754	0,727	136,13
31,25	0,704	0,717	0,733	0,718	134,17
15,6	0,788	0,746	0,743	0,759	142,79
KS	0,533	0,573	0,56	0,555	100,00
KM	0,081	0,081	0,076	0,079	0,00



$$\text{Ket : } (a = 134,23)$$

$$(b = -0,0805)$$

$$(r = 0,915)$$

$$y = a + bx$$

$$50 = 134,23 - 0,0805x$$

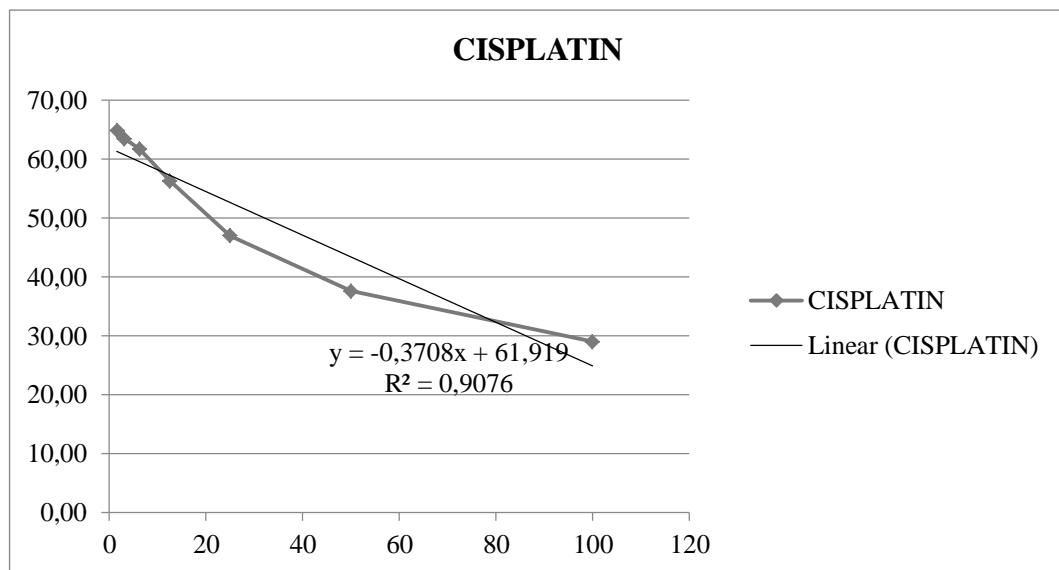
$$50 - 134,23 = -0,0805x$$

$$x = 1046,584$$

$$X (\text{IC}_{50}) = 1046,584 \mu\text{g/ml}$$

D. Nilai IC50 cisplatin pada sel vero

Konsentrasi	Absorbansi	% Viabilitas
100	0,392	29,01
50	0,476	37,59
25	0,568	46,99
12,5	0,659	56,28
6,25	0,712	61,70
3,125	0,729	63,43
1,5625	0,743	64,86
Rata KS	1,087	100,00
Rata KM	0,108	0,00



Ket : (a = 61,919) (b = -0,3708) (r = 0,9076)

$$y = a + bx$$

$$50 = 61,919 - 0,3708x$$

$$50 - 61,919 = -0,3708x$$

$$x = 32,1440129$$

$$X (IC_{50} = 32,144 \mu\text{g/ml})$$

Lampiran 13. Perhitungan nilai Indeks Selektivitas ekstrak etanol daun sisik naga

Nilai indeks selektivitas ekstrak terhadap sel HepG2 :

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

$$\text{Indeks selektivitas} = \frac{1046,584 \text{ } \mu\text{g/ml}}{461,879 \text{ } \mu\text{g/ml}}$$

$$\text{Indeks selektivitas} = 2,265$$

Nilai indeks selektivitas cisplatin terhadap sel vero :

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

$$\text{Indeks selektivitas} = \frac{32,144 \text{ } \mu\text{g/ml}}{43,063 \text{ } \mu\text{g/ml}}$$

$$\text{Indeks selektivitas} = 0,7414$$