

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK KLOROFORM  
BIJI RAMBUTAN (*Nephellium lappaceum*, L) var. *aceh lebak  
bulus* TERHADAP SEL RAJI**

SKRIPSI



Diajukan Oleh :

**NITA WIDHATININGSIH**

**02 613 197**

**JURUSAN FARMASI**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS INDONESIA**

**JOGJAKARTA**

**AGUSTUS 2006**

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK KLOROFORM  
BIJI RAMBUTAN (*Nephellium lappaceum*, L) var. *aceh lebak  
bulus* TERHADAP SEL RAJI**

**SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi  
(S.Farm.)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Oleh :

**NITA WIDHATININGSIH**

**02 613 197**

**JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS INDONESIA  
JOGJAKARTA  
AGUSTUS 2006**

**SKRIPSI**

**AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK KLOROFORM  
BIJI RAMBUTAN (*Nephellium lappaceum*, L) var. *aceh lebak*  
*bulus* TERHADAP SEL RAJI**

Yang diajukan oleh

**NITA WIDHATININGSIH**

**02 613 197**

Telah disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



**Dra. Suparmi, M.Si, Apt.**



**Rochmi Istikharah, S.Farm., Apt.**

## SKRIPSI

### AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK KLOROFORM BIJI RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum*, L) var. *aceh lebak bulus* TERHADAP SEL Raji

Oleh :

**NITA WIDHATININGSIH**

**02613197**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 14 Agustus 2006

Ketua Penguji,

  
Dra. Suparmi, M.Si, Apt.

Anggota penguji,

  
Rochmi Istikharah S. Farm., Apt.

Anggota penguji,

  
Saepudin, M. Si., Apt.

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia

  
Endang Darmawan, M. Si, Apt.

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya, juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 14 Agustus 2006

Penulis,



**Nita Widhatiningsih**

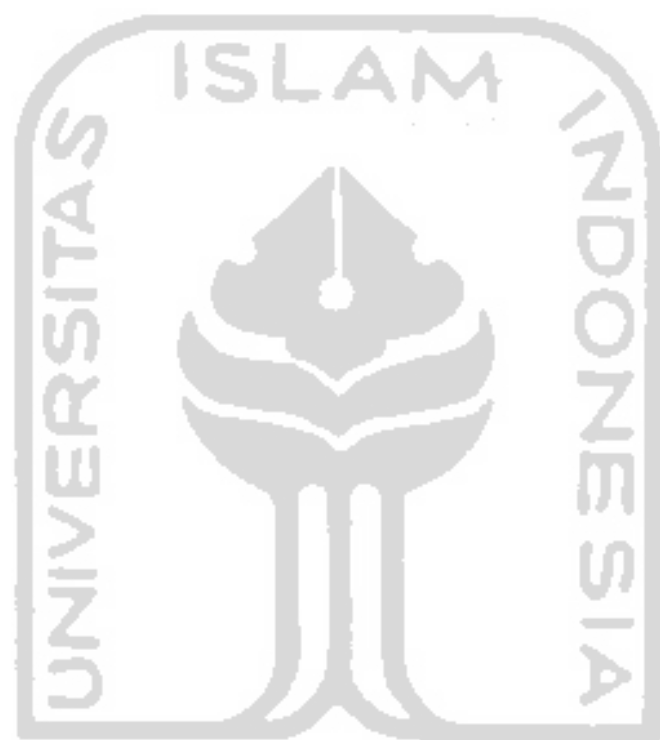




Be

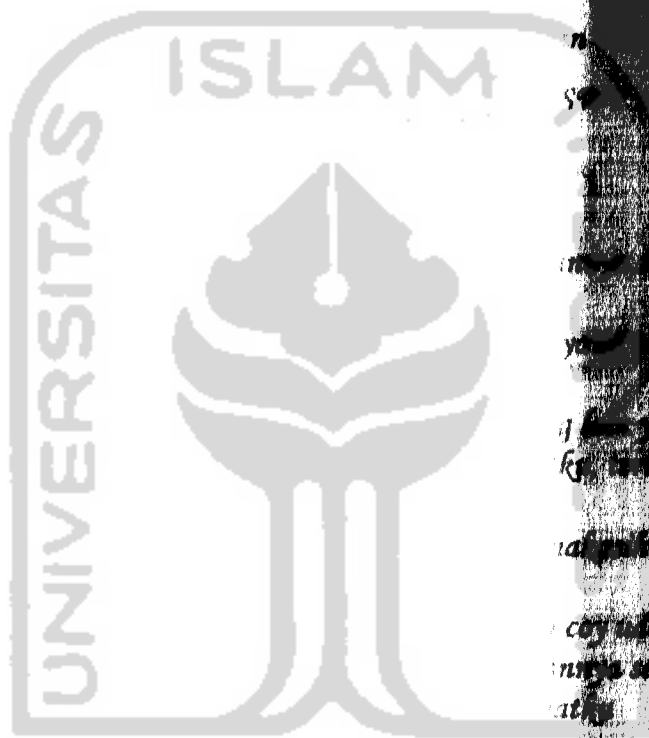
When  
lost  
find  
our if





جامعة الإسلام في إندونيسيا

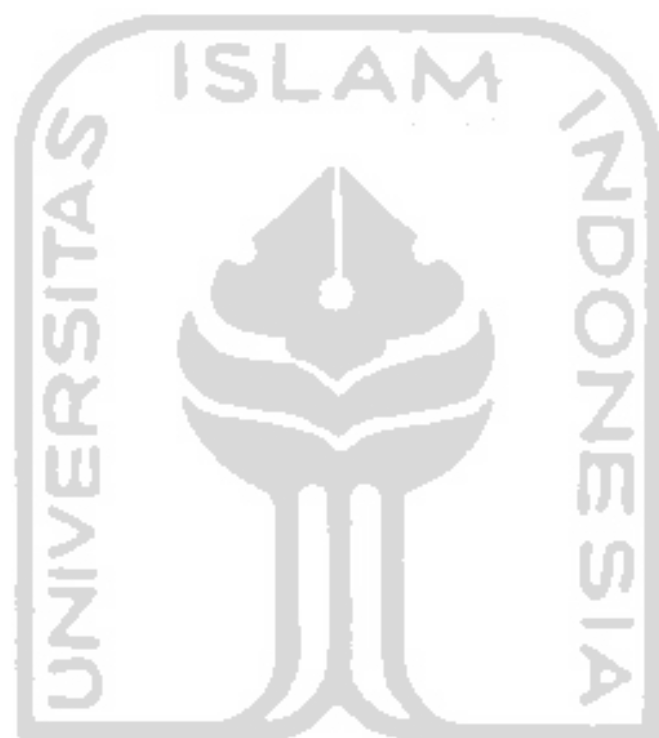
بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

2  
16  
n  
SP  
17  
ye  
11  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65  
66  
67  
68  
69  
70  
71  
72  
73  
74  
75  
76  
77  
78  
79  
80  
81  
82  
83  
84  
85  
86  
87  
88  
89  
90  
91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100



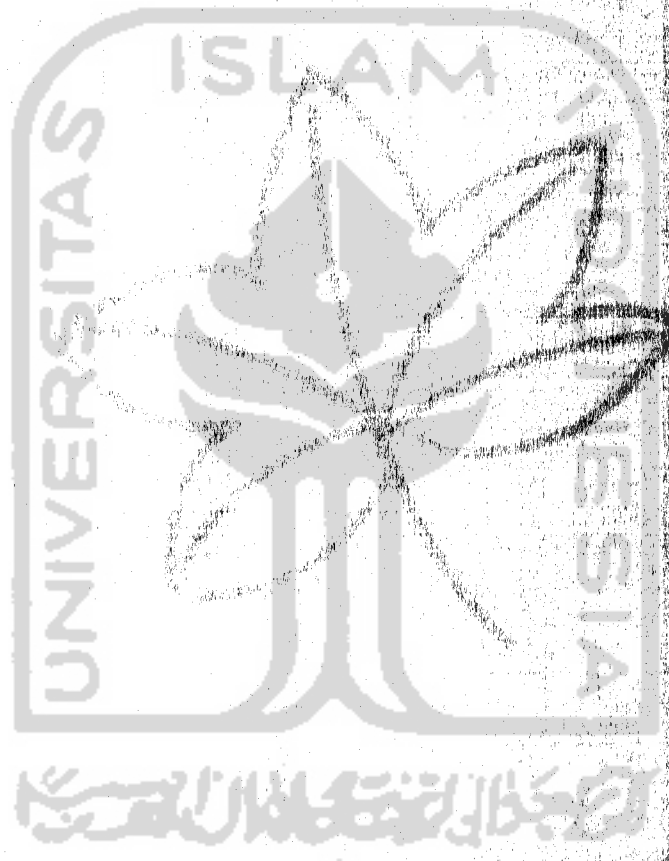


جامعة الإسلام في إندونيسيا

Buat alhamdulillah, dan juga (.....)  
Aul, Mas Andi, Pita, Agus. Love you all!!!

Buat semua orang yang gak kyebut disini yang udah ngebantu, semoga

terakhir buat diriku sendiri..... **CEMANGAT**.....



## KATA PENGANTAR



*Assalamualaikum Wr. Wb.*

Puji dan syukur senantiasa kita panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul : “AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK KLOOROFORM BIJI RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum*, L) var. *aceh lebak bulus* TERHADAP SEL RAJI”.

Skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana Farmasi (S. Farm.) Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

Penyusunan skripsi oleh penulis ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Dra. Suparmi, M. Si., Apt., Ibu Asih Triastuti, S. F., Apt, dan Ibu Rochmi Istikharah, S. Farm., Apt. selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan arahan sampai selesainya skripsi ini.
2. Bapak Saepudin, M. Si., Apt selaku dosen penguji atas saran, masukan, dan arahan yang bersifat membangun bagi kesempurnaan skripsi ini.
3. Bapak Endang Darmawan, M. Si., Apt. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam serta segenap Dosen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam atas ilmu yang telah diberikan dan segala kelancaran selama menempuh studi.
4. Semua pihak yang telah membantu baik material maupun spiritual dalam penulisan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu kritik dan saran dari pembaca dan semua pihak yang bersifat membangun sangat diharapkan demi kemajuan dan kesempurnaan penulisan di masa yang akan datang.

Akhir kata penulis mohon maaf dengan ketulusan hati seandainya dalam penulisan skripsi ini terdapat kekhilafan. Harapan penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat pada umumnya serta perkembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan pada khususnya. Amin.

*Wassalamualaikum Wr. Wb.*

Yogyakarta, 14 Agustus 2006

Penulis,



**Nita Widhatiningsih**



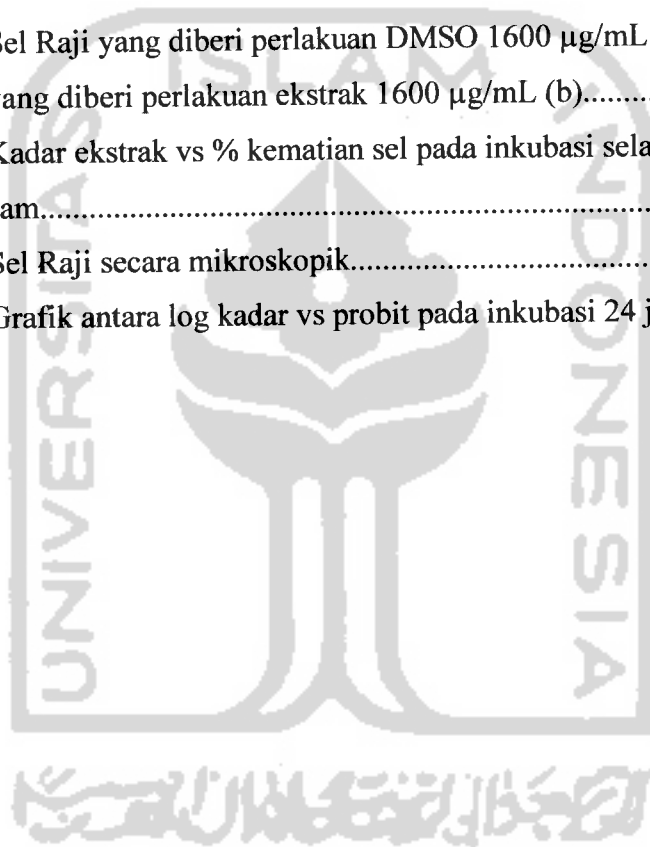
## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
KATA PENGANTAR .....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
<b>BAB I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Perumusan Masalah .....	2
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB II. STUDI PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
A. Tinjauan Pustaka.....	4
1. Kanker .....	4
2. Siklus Sel .....	6
3. Sel Raji.....	7
4. <i>Burkitt's Lymphoma</i> .....	9
5. Ekstraksi Tanaman.....	9
6. Rambutan.....	11
a. Klasifikasi ilmiah .....	11
b. Nama.....	12
c. Uraian Tumbuhan.....	12
d. Sifat dan Khasiat.....	13
e. Kandungan Kimia.....	13
f. Bagian yang digunakan.....	14
7. Kromatografi Gas .....	14
8. Uji sitotoksisitas.....	17
9. <i>Lethal Concentration 50 (LC<sub>50</sub>)</i> .....	18

10. Obat – obatan Antikanker.....	18
B. Keterangan Empiris.....	20
<b>BAB III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>21</b>
A. Bahan dan Alat .....	21
1. Bahan.....	21
2. Alat.....	21
B. Cara Penelitian.....	21
1. Determinasi .....	21
2. Pengeringan dan penyerbukan simplisia kering .....	22
3. Pembuatan ekstrak kloroform.....	22
4. Identifikasi kandungan kimia.....	22
5. Pembuatan larutan uji.....	22
6. Uji sitotoksisitas.....	22
a. Propagasi sel.....	22
b. Panen sel.....	22
c. Uji sitotoksisitas dengan metode MTT.....	23
d. Analisis data uji sitotoksisitas.....	24
C. Skema Kerja.....	25
D. Analisis Hasil.....	26
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>27</b>
A. Determinasi tanaman.....	27
B. Pembuatan ekstrak kloroform.....	27
1. Penyiapan serbuk.....	27
2. Pembuatan ekstrak.....	28
C. Identifikasi kandungan kimia.....	28
D. Uji sitotoksisitas.....	30
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>35</b>
A. Kesimpulan.....	35
B. Saran.....	35
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>36</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>40</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Fase siklus sel (cancerline, 2006).....	7
Gambar 2.	Sel Raji.....	8
Gambar 3.	Soxhlet ekstraktor (Geoff Wild dan Jason de Koning, 1997).....	11
Gambar 4.	Buah Rambutan (Anonim, 2005d).....	12
Gambar 5.	Reaksi reduksi MTT menjadi formazan.....	17
Gambar 6.	Struktur asam oleat.....	20
Gambar 7.	Skema kerja.....	25
Gambar 8.	Reaksi transesterifikasi.....	29
Gambar 9.	Sel Raji yang diberi perlakuan DMSO 1600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (a) dan sel Raji yang diberi perlakuan ekstrak 1600 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (b).....	31
Gambar 10.	Kadar ekstrak vs % kematian sel pada inkubasi selama 24 dan 48 Jam.....	32
Gambar 11.	Sel Raji secara mikroskopik.....	33
Gambar 12.	Grafik antara log kadar vs probit pada inkubasi 24 jam.....	34



## DAFTAR TABEL

Tabel I.	Kadar ekstrak vs % kematian sel pada inkubasi selama 24 jam dan 48 jam.....	32
Tabel II.	Potensi ketoksikan pada inkubasi 24 jam dan 48 jam.....	33





## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Surat keterangan identifikasi rambut.	39
Lampiran 2.	Data Identifikasi Asam Oleat Murni Dengan Kromatografi Gas	.40
Lampiran 3.	Data identifikasi kandungan kimia ekstrak kloroform biji Rambutan ( <i>Nephelium lappaceum</i> , L) var. Aceh Lebak Bulus dengan kromatografi gas.	41
Lampiran 4.	Data ELISA <i>reader</i> pada inkubasi 24 jam	42
Lampiran 5.	Data ELISA <i>reader</i> pada inkubasi 48 jam.	43
Lampiran 6.	Data Hasil % kematian sel pada inkubasi 24 jam.	44
Lampiran 7.	Data Hasil % kematian sel pada inkubasi 48 jam.	45
Lampiran 8.	Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> .	46
Lampiran 9.	Foto Mesin Penyerbuk.	47
Lampiran 10.	Foto Alat Soxhlet.	48
Lampiran 11.	Foto Rotary Evaporator.	49
Lampiran 12.	Foto ELISA <i>Reader</i> .	50
Lampiran 13.	Foto LAF <i>Cabinet</i> .	51
Lampiran 14.	Foto Mikroskop Elektron.	52
Lampiran 15.	Foto sel Raji pada kadar ekstrak 400 µg/mL (a) dan 800 µg/mL (b) pada inkubasi 24 jam.	53
Lampiran 16.	Foto sel Raji pada kadar ekstrak 1600 µg/MI.	54
Lampiran 17.	Foto sel Raji+DMSO (1600 µg/mL) (a) dan sel+RPMI (b) inkubasi 24 jam.	55
Lampiran 18.	Foto sel Raji pada kadar ekstrak 800 µg/mL dan 1600 µg/mL inkubasi 48 jam.	56
Lampiran 19.	Foto sel Raji+RPMI inkubasi 48 jam.	57
Lampiran 20.	Tabel probit.	58

# AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK KLOOROFORM BIJI RAMBUTAN (*Nephellium lappaceum*, L) var. *aceh lebak bulus* TEHADAP SEL RAJI

## INTISARI

Kanker merupakan kelompok penyakit yang ditandai oleh tidak terkontrolnya proliferasi sel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik biji rambutan pada sel Raji. Penelitian ini menggunakan metode Soxhletasi untuk mengekstraksi biji rambutan dengan pelarut kloroform, kemudian kandungan asam oleat diidentifikasi dengan kromatografi gas. Untuk uji aktivitas sitotoksik, sel Raji dipropagasi terlebih dahulu kemudian dilakukan pemanenan sel Raji, mikroplat dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok A berisikan ekstrak + sel, kelompok B berupa media RPMI + ekstrak, kelompok C berisikan sel + media RPMI, kelompok D berisi media RPMI, kelompok E berisi DMSO seri kadar + sel, kelompok F berisi DMSO seri kadar + media RPMI. Keenam kelompok tersebut diuji sitotoksitasnya dengan metode MTT. Sel dengan kepadatan  $3 \times 10^4$  sel/100  $\mu$ L didistribusikan kedalam sumuran dan diinkubasi bersama ekstrak kloroform biji rambutan dengan seri kadar 50  $\mu$ g/mL, 100  $\mu$ g/mL, 200  $\mu$ g/mL, 400  $\mu$ g/mL, 800  $\mu$ g/mL dan 1600  $\mu$ g/mL selama 24 jam dan 48 jam. Pada akhir inkubasi, masing-masing sumuran ditambahkan 15  $\mu$ L MTT 2,5  $\mu$ g/mL dalam media RPMI. Kemudian dibaca serapannya dengan ELISA reader pada panjang gelombang 550 nm, dan dihitung % kematian sel dan analisis konsentrasi letalnya ( $LC_{50}$ ) dengan menggunakan analisa Probit. Kadar ekstrak tertinggi yang mampu mematikan 15,507 % populasi sel adalah kadar 1600  $\mu$ g/mL dan didapat nilai  $LC_{50}$  89,446 mg/mL. Berdasarkan nilai  $LC_{50}$  tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak kloroform biji rambutan (*Nephellium Lappaceum*, L) var. *aceh lebak bulus* tidak poten untuk membunuh sel Raji.

Key words : Raji cell line, *Nephellium lappaceum*, L var. *aceh lebak bulus*, aktivitas sitotoksik, ekstrak kloroform,  $LC_{50}$ .



**CITOTOXIC ACTIVITY OF CHLOROFORM EXTRACT FROM  
RAMBUTAN SEEDS (*Nephellium lappaceum*, L) var. *aceh lebak bulus*  
ON RAJI CELLS**

**ABSTRACT**

Cancer was a group of disease with uncontrolled cell proliferation. This research was aimed to learn cytotoxic activity of *Nephelium Lappaceum* seeds extract to Raji cells. This research used soxhletation method to extract *Nephelium Lappaceum*, L seeds with chloroform as solvent, then oleic acid in extract was identified by Gas Chromatography. To analyze cytotoxic activity, Raji cells was propagated first and harvested later, *Nephelium Lappaceum* extract divided into 6 group. Group A was containing extract + cell, group B was containing RPMI medium + extract, group C was containing cell + RPMI medium, group D was containing RPMI medium, group E was containing concentration series of DMSO + cell, group F was containing concentration series of DMSO + RPMI medium. These 6 group analyzed cytotoxic activity used MTT method. Raji cell with concentration  $3 \times 10^4$  cell/100 ml were distributed to each well and incubated with concentration series of *Nephelium Lappaceum* extract, 50  $\mu\text{g/mL}$ , 100  $\mu\text{g/mL}$ , 200  $\mu\text{g/mL}$ , 400  $\mu\text{g/mL}$ , 800  $\mu\text{g/mL}$ , 1600  $\mu\text{g/mL}$  for 24 and 48 hours. At the end of incubation added 15  $\mu\text{L}$  MTT 2,5  $\mu\text{g/mL}$  RPMI medium to each wells. Then measure the absorption with ELISA reader at  $\lambda$  550 nm, count % cells death and analyzed lethal concentration ( $\text{LC}_{50}$ ) with Probit analysis. The highest extract concentration which kill 15,507% cell population was 1600  $\mu\text{g/mL}$  and  $\text{LC}_{50}$  value was 89,446  $\text{mg/mL}$ . In conclusion according to these  $\text{LC}_{50}$  value, *Nephelium Lappaceum* extract was not potent to kill Raji cell line.

Key words : Raji cell line, *Nephelium lappaceum*, L var. *aceh lebak bulus*, cytotoxic activity, chloroform extract,  $\text{LC}_{50}$

# BAB I PENDAHULUAN

## A. Latar Belakang Masalah

Kanker merupakan kelompok penyakit yang ditandai oleh proliferasi sel yang tidak terkontrol. Ketika sel tubuh membelah tanpa kontrol, perkembangan jaringannya disebut tumor atau neoplasma. Tumor dapat menjadi kanker dan kadang-kadang fatal, atau merugikan (Tortora, 2000).

Dibeberapa bagian dunia kanker dalam waktu singkat dapat menyebabkan kematian yang cukup tinggi pada populasi penduduk. Kematian akibat penyakit kanker di Amerika Serikat mencapai 22%, berada di urutan kedua setelah penyakit kardiovaskular 37% (King, 2000). Kanker menempati peringkat keenam penyebab kematian di Indonesia setelah penyakit infeksi, kardiovaskular, kecelakaan lalu lintas, defisiensi nutrisi dan penyakit kongenital. Diperkirakan ada 170-190 kasus baru pada setiap 100.000 penduduk tiap tahun (Tjindarbumi dan Mangunkusumo, 2002).

*Burkitt's lymphoma* adalah bentuk kanker yang mempengaruhi sistem limfatik. *Burkitt's lymphoma* juga merupakan *non-Hodgkin's lymphoma* yang mirip dengan leukemia. Burkitt's jarang terjadi anak laki-laki lebih sering menderita berbagai macam lymphoma daripada anak perempuan (Anonim, 2005<sup>a</sup>).

Usaha penyembuhan kanker sangat sulit karena kanker merupakan penyakit seluler dengan patofisiologis yang kompleks dan melibatkan proses mikroevolusioner. Menurut Albert *et al.*, (1994) pengobatan yang aman dan efektif masih belum ditemukan. Terapi pengobatan kanker yang utama seperti pembedahan dan radiasi hanya dapat dilakukan pada kanker lokal stadium awal. Pengobatan ini gagal digunakan untuk kanker yang telah berkembang pada stadium lanjut dan mengalami metastasis. Sementara itu pada pengobatan kanker dengan obat-obatan, kemoterapi hanya efektif untuk beberapa periode waktu saja. Karena itulah, pilihan pengobatan baru yang aman, efektif dan selektif pada penyakit ini sangat penting (Gibbs, 2000).

Rambutan (*Nephelium lappaceum* L) merupakan tanaman buah yang banyak terdapat di Indonesia. Rambutan banyak dimanfaatkan terutama karena daging buahnya yang dapat dimakan. Bagian lain yang dimanfaatkan adalah kulit buah, kulit kayu, daun, biji dan akarnya. Pemanfaatan rambutan tidak hanya untuk dikonsumsi atau industri saja akan tetapi juga dimanfaatkan untuk pengobatan, contohnya adalah penggunaan kulit buah sebagai penurun panas, dan biji rambutan sebagai penurun kadar gula darah (untuk pengobatan diabetes melitus). Kandungan pada biji rambutan yang banyak mengandung asam-asam lemak memungkinkan penggunaan bagian ini sebagai alternatif obat antikanker, kandungan asam-asam lemak pada biji rambutan adalah asam arakhidat (34.7%), asam oleat (45.3%), asam stearat (13.8%), *ericoenoic* (4.2%) dan asam palmitat (2%) (Zee, T., 1995). Rambutan Aceh Lebak bulus pohonnya tinggi dan lebat buahnya, kulit buah berwarna merah kuning, halus, rasanya segar manis-asam banyak air dan ngelotok daya simpan 4 hari setelah dipetik, buah ini tahan dalam pengangkutan (Anonim, 2002).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Dr. Menendez asam oleat yang berasal dari minyak zaitun dapat menekan resiko terkena kanker payudara (Anonim, 2005<sup>e</sup>), berdasarkan hal tersebut maka dapat dijadikan alasan untuk melakukan penelitian uji aktivitas sitotoksik biji rambutan (*Nephelium lappaceum* L) yang kandungan terbesar asam lemaknya adalah asam oleat. Menurut penelitian klinis yang dilakukan oleh Dr. Menendez asam oleat, senyawa kimia yang paling banyak terkandung di dalam minyak zaitun, dapat menekan pertumbuhan sel kanker payudara (Menendez *et al.*, 2005).

### **B. Perumusan Masalah**

Apakah ekstrak kloroform biji rambutan (*Nephelium lappaceum* L) var. *aceh lebak bulus* mempunyai aktivitas dalam menghambat pertumbuhan dan membunuh sel Raji (*Burkitt's lymphoma*) seperti pada sel kanker payudara.

### **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak kloroform dari biji rambutan (*Nephelium lappaceum* L) var.. *aceh lebak bulus*

dalam menghambat pertumbuhan dan membunuh sel Raji. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut dalam penelitian khasiat tanaman tersebut sebagai obat antikanker khususnya *Burkitt's lymphoma*.

#### **D. Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai dasar penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas sitotoksik biji rambutan (*Nephelium lappaceum* L) var.. *aceh lebak bulus*.



## **BAB II**

### **STUDI PUSTAKA**

#### **A. Tinjauan Pustaka**

##### **1. Kanker**

Kanker merupakan kelompok penyakit yang ditandai oleh proliferasi sel yang tidak terkontrol. Ketika sel tubuh membelah tanpa kontrol, perkembangan jaringannya disebut tumor atau neoplasma. Tumor dapat menjadi kanker dan kadang-kadang fatal, atau merugikan (Tortora, 2000).

Kanker merupakan penyakit seluler dengan patofisiologi yang kompleks dan melibatkan proses mikroevolusioner (Albert *et al.*, 1994) transformasi sel normal menjadi sel kanker menghasilkan sel ganas dengan sifat dan perilaku yang berbeda dari sel normal. Proses transformasi dari sel normal menuju ke sel ganas meliputi perubahan genetik yang kompleks. Pada sel normal terjadi keseimbangan antara sel-sel baru dengan hilangnya sel-sel lama. Sedangkan pada sel kanker, pertumbuhannya bersifat otonom dan tidak terpengaruh oleh mekanisme-mekanisme yang mengatur pertumbuhan sel normal disekitarnya. Pertumbuhan kanker biasanya mempunyai keseimbangan positif yaitu jumlah sel yang dibuat lebih besar daripada jumlah sel yang hilang. Sel kanker seringkali diferensiasinya rendah dan susunan selnya tidak teratur (Bosman, 1999).

Beberapa jenis kanker terutama pada orang dewasa sering disebabkan oleh faktor resiko yaitu sebagai berikut :

a. **Faktor gaya hidup**

Faktor gaya hidup dan lingkungan seperti merokok, diet lemak, paparan dari ultraviolet (radiasi sinar UV dari matahari), paparan bahan-bahan kimia (substansi penyebab kanker) di tempat kerja selama beberapa periode.

b. **Faktor genetik**

Sejarah keluarga, keturunan, dan genetik berperan penting dalam menyebabkan kanker pada orang dewasa dan anak-anak. Hal ini disebabkan karena beberapa gen diturunkan.

c. Faktor paparan virus

Contoh : *Human Papiloma Virus (HPV)*, *Human Immunodeficiency Virus (HIV)*, dan *Herpes Virus*.

d. Faktor paparan lingkungan

Paparan lingkungan seperti pestisida dan pupuk (Anonim, 2005<sup>B</sup>)

Sel kanker memiliki kemampuan reproduksi yang lebih cepat daripada sel normal dan memiliki kemampuan menginvasi serta membentuk koloni di bagian tubuh yang lain. Kombinasi sifat-sifat ini menyebabkan kanker memiliki tingkat keberbahayaan yang tinggi. Sekumpulan sel abnormal yang memiliki kemampuan proliferasi (aktif melakukan pembelahan sel) yang tidak lebih cepat dari sel tetangganya tidak memberikan kerusakan yang signifikan, namun apabila proliferasinya tidak terkontrol maka akan terbentuk tumor atau neoplasma. Sel-sel neoplastik yang masih terkumpul membentuk massa tunggal disebut tumor jinak (benigna). Suatu tumor dikatakan sebagai kanker apabila bersifat *malignant*, yaitu sel-selnya memiliki kemampuan untuk menginvasi jaringan disekitarnya. Kemampuan menginvasi ini biasanya diikuti oleh kemampuan untuk membebaskan diri dari jaringan awalnya memasuki aliran darah atau pembuluh limfa dan membentuk tumor sekunder (metastasis) di bagian tubuh yang lain. Semakin besar jangkauan metastasis tumor, kanker semakin sulit disembuhkan (Albert *et al.*, 1994).

Kanker dapat diklasifikasikan berdasarkan tipe jaringan dan sel penyusunnya. Kanker yang tumbuh dari jaringan epitel seperti membran mukosa dan kelenjar disebut karsinoma. Kanker payudara, kanker paru-paru serta kanker ovarium termasuk karsinoma. Kanker yang berasal dari jaringan ikat, tulang atau jaringan otot disebut sarkoma. Blastoma merupakan kanker yang berasal dari sel *haemopoetik* dan jaringan darah meliputi jaringan *limphoid*, sel *erithroid* dan sel *myeloid*. Sedangkan kanker yang berasal dari leukosit dan mungkin juga berasal dari limfatik dan monositik disebut leukimia (Albert *et al.*, 1994 ; Bosman, 1999).

Jenis – jenis kanker :

- a. Karsinoma adalah kanker jaringan epitel, termasuk sel-sel kulit, testis, ovarium, kelenjar penghasil *mucus*, sel penghasil melanin, payudara, serviks, *colon*, *rectum*, lambung, pankreas, dan *esophagus*.

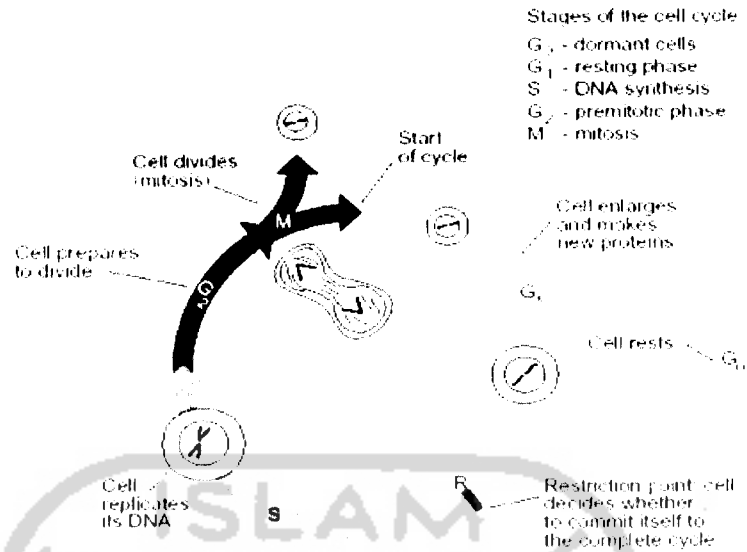


- b. Limfoma adalah kanker jaringan limfe yang mencakup kapiler *limfe*, *lacteal*, limpa, berbagai kelenjar *limfe*, dan pembuluh *limfe*. Timus dan sumsum tulang juga dapat dipengaruhi. Limfoma spesifik antara lain adalah penyakit *Hodgkin* dan limfoma malignum.
- c. Sarkoma adalah kanker jaringan ikat, termasuk sel-sel yang ditemukan di otot dan tulang.
- d. Glioma adalah kanker sel-sel glia (penunjang) di susunan saraf pusat.
- e. Karsinoma in situ adalah istilah yang digunakan untuk menjelaskan sel epitel abnormal yang masih terbatas di daerah tertentu sehingga masih dianggap lesi prainvasif (Corwin, 1997).

## 2. Siklus sel

Siklus sel merupakan satu kesatuan mekanisme kompleks yang digunakan tubuh untuk mengontrol pertumbuhan dan pembelahan sel (Anonim, 2005<sup>c</sup>). Tahapan siklus sel dimulai dengan meningkatnya jumlah ikatan G1-cyclins dengan Cdks yang akan memberikan perintah kepada kromosom untuk bereplikasi. Jumlah *S-phase promoting factor* (SPF) meningkat lalu masuk ke inti sel dan menyiapkan sel untuk menggandakan DNA dan kromosomnya. Ketika DNA bereplikasi, *cyclin E* hancur dan jumlah *mitotic cyclins* meningkat (pada fase G2). *M-phase promoting factor* (kompleks ikatan antara *mitotic cyclins* dan *M-phase Cdk*) melakukan inisiasi yaitu, memasang *mitotic spindle*, membongkar pembungkus inti dan mengkondensasi kromosom. Peristiwa ini membawa sel pada proses metafase dari mitosis. Pada tahap ini *M-phase promoting factor* mengaktifkan *anaphase-promoting complex* (APC) yang akan memisahkan pasangan *chromatids* (metafase) dan memindahkannya ke kutub sel (anafase) sehingga melengkapkan proses metafase (Anonim, 2005<sup>h</sup>).

Protein p53 menyebabkan kerusakan DNA dengan menghentikan perkembangan pada fase G1. Seluruh kopi dari p53 bermutasi karena hal ini sehingga p53 dikategorikan sebagai *tumor suppressor gene*. Protein p53 juga berperan dalam proses apoptosis dengan memaksa sel lain agar "bunuh diri" sehingga sel kanker dapat berkembang dengan cepat (Anonim 2005<sup>h</sup>).



**Gambar 1. Fase siklus sel (cancerline, 2006<sup>a</sup>).**

Pada gambar tersebut terlihat bahwa fase siklus sel kanker terbagi menjadi fase  $G_0$  (fase dormansi),  $G_1$  (fase istirahat), S (fase sintesis DNA),  $G_2$  (fase premitosis), dan M (fase mitosis).

### 3. Sel Raji

Sel Raji yang mirip dengan sel limfoblast ditemukan oleh R.J.V Pulvertaft (1963) dari *Burkitt's lymphoma* pada rahang atas kiri dari anak laki-laki negro berumur 11 tahun (Anonim, 2001<sup>a</sup>).

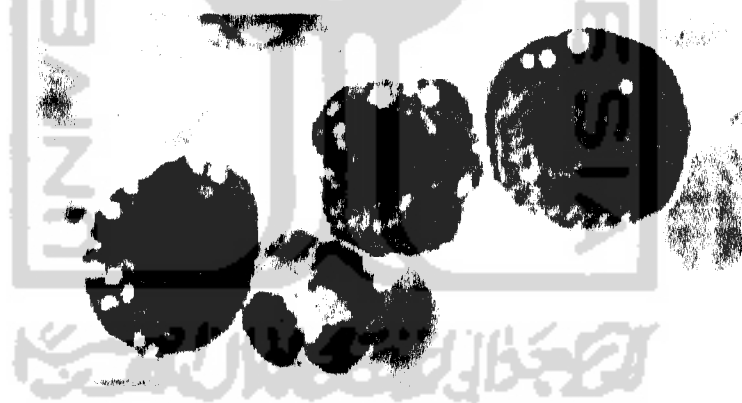
Raji adalah *cell-line* manusia yang sejak awal diambil dari hematopoetik dan ditemukan 40 tahun yang lalu dari pasien Nigeria dengan *Burkitt's lymphoma* (BL). Pada BL *cell-line* ditemukan adanya *Epstein-Barr virus* (EBV), digunakan untuk memulai penelitian dan isolasi virus ini (Anonim, 2004). EBV adalah suatu *B-lymphotropic human herpesvirus*. Seperti halnya virus herpes lain, EBV berada di sepanjang kehidupan hostnya. EBV menginfeksi lebih dari 90% populasi dunia, secara klinik terjadi pada anak-anak atau usia belasan tahun, dan sebagian besar menyerang orang dewasa (Rickinson *et al.*, 1987). EBV dikenal sebagai penyebab *nasopharyngeal carcinoma* (Huang *et al.*, 1977), *Burkitt's lymphoma* (Boulter *et al.*, 1996), dan *B-cell lymphoma* pada sistem immunosupresan individual (Ottonello *et al.*, 1999).

Sel Raji adalah *Lymphoblastoid cell-lines* (LCL) yang diinfeksi dengan antigen, berasal dari *P3HR-1 cell-lines*. Penginfeksian ini dimaksudkan untuk

memacu ekspresi gen *LCL* yang lambat (Raiter *et al.*, 1999). Sel Raji dan *LCL* mempunyai sifat seperti sel kanker dan melayang dalam media kultur dan pada dasarnya merupakan sel limfosit B yang diinfeksi oleh *EBV* (Alfieri *et al.*, 1991). Sel limfosit B yang diinfeksi oleh *EBV* akan tetap hidup dan mengalami proliferasi terus menerus dalam waktu yang cukup singkat. Secara spesifik infeksi *EBV* menyebabkan sintesis DNA dan RNA, sekresi immunoglobulin (Ig), aktivasi dan pembelahan sel limfosit B (Kieff, 1996).

Medium pertumbuhan adalah medium basal (Eagle) 70%, serum manusia 30%, atau medium yang kemudian diganti dengan RPMI 1629 dengan suplemen serum bayi sapi 10-25% dan ditambah antibiotika. Sel ditumbuhkan dalam medium kultur 37° C dengan aliran gas CO<sub>2</sub> dan menggandakan diri 4-6 kali selama 5 hari (Anonim, 2001<sup>a</sup>).

*Burkitt's lymphoma* manusia pada level molekuler dikarakterisasikan dengan terjadinya peningkatan ekspresi *Bcl-2* dan *c-myc* yang bersifat sinergis. *c-myc* merupakan upregulasi *Bcl-2*, sehingga peningkatan ekspresi *c-myc* dapat meningkatkan pula ekspresi *Bcl-2*. Akibat dari peningkatan ekspresi tersebut, maka sel tidak mengalami apoptosis (Arcinas *et al.*, 2001; Kanda *et al.*, 2000).



**Gambar 2. Sel Raji (Anonim, 2005i)**

Dari gambar diatas terlihat sel yang berbentuk bulat. Sel berwarna ungu dan mengkerut adalah sel Raji yang mati.

#### **4. *Burkitt's lymphoma***

*Burkitt lymphoma* dinamakan setelah Denis Parsons Burkitt, yang memetakan penyebarannya di Afrika. *Burkitt's lymphoma* adalah tumor anak-

anak tetapi diobservasi pada orang dewasa. Tingkat kejadian *Burkitt lymphoma* sangat jarang di Amerika Serikat, sekitar 100 kasus baru tiap tahun (Anonim, 2005<sup>b</sup>).

*Burkitt's lymphoma* adalah bentuk kanker yang mempengaruhi sistem limfatik. Juga merupakan *non-Hodgkin's lymphoma* yang mirip dengan leukemia. Sel maligna pada *Burkitt's lymphoma* disebut sel B dan kadang-kadang Burkitt's mengacu ada *lymphoma* sel B atau leukemia. Burkitt's jarang terjadi; anak laki-laki lebih sering menderita berbagai macam *lymphoma* daripada anak perempuan. Tanda Burkitt's tergantung dari penyakit tersebut bermula. Daerah perut adalah daerah yang sering mengalami tumor, walaupun dapat juga mempengaruhi rahang dan mulut. Daerah terinfeksi mungkin akan sakit untuk menelan. Anak akan mengalami mual dan muntah. Malignansi ini akan tumbuh secara cepat, dan anak yang sehat 6 bulan lalu mungkin akan dalam kondisi kritis sekarang. Kadang-kadang sumsum tulang juga terpengaruh, hal ini dapat menyebabkan anemia dan meningkatkan timbulnya memar (Anonim, 2005<sup>a</sup>).

## 5. Ekstraksi Tanaman

### (a). Metode penyarian

Penyarian merupakan peristiwa perubahan massa zat aktif yang semula berada di dalam sel, sel ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari. Pada umumnya penyarian akan bertambah baik apabila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan penyari semakin luas (Anonim, 1986).

Metode penyarian merupakan salah satu bagian dari isolasi bahan alam. Metode dasar penyarian adalah maserasi, perkolasi, dan soxhletasi. Pemilihan terhadap ketiga metode tersebut disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik. Pada metode penyarian dengan alat soxhlet, bahan yang akan diekstraksi berada dalam sebuah kantong ekstraksi dalam sebuah kantong ekstraksi di dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja secara kontinyu (Voight, 1995).

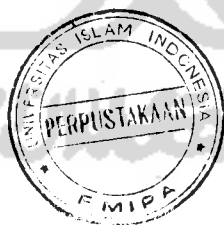
Kemudian dielusi dengan pelarut yang cocok sedemikian rupa sehingga terjadi 2 kali sirkulasi dalam  $\pm 30$  menit. Pada cara ini dibuat sedikit pelarut juga bahan yang secara terus - menerus dapat diperbaharui artinya dimasukkan bahan

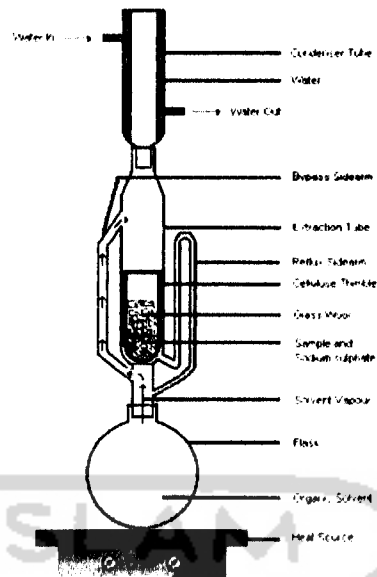
pelarut bebas bahan aktif, tetapi dalam metode ini dibutuhkan suatu ekstraksi yang cukup lama dan kebutuhan energi meningkat (Voight, 1995).

(b). Cara Soxhletasi

Soxhlet merupakan alat ekstraksi dengan penyarian berkesinambungan. Penyarian berkesinambungan menggabungkan dua proses. Uap cairan penyari naik ke atas melalui pipa samping. Kemudian diembunkan lagi oleh pendingin balik dan oleh pendingin tegak. Cairan turun ke labu melalui tabung yang berisi serbuk simplisia. Cairan penyari sambil turun melarutkan zat aktif serbuk simplisia. Karena adanya sifon setelah pelarut mencapai permukaan sifon, seluruh cairan akan kembali ke labu. Cara ini lebih menguntungkan karena uap panas tidak melalui serbuk simplisia, tetapi melalui pipa samping.

Keuntungan ekstraksi dengan soxhletasi adalah cairan penyari yang diperlukan lebih sedikit dan secara langsung diperoleh hasil yang lebih pekat. Serbuk simplisia disari oleh cairan penyari murni, sehingga dapat menyari zat aktif lebih banyak. Penyarian dapat diteruskan sesuai dengan keperluan tanpa menambah volume cairan penyari. Sedangkan kerugian dari metode Soxhletasi adalah larutan dipanaskan terus-menerus sehingga zat aktif yang tidak tahan pemanasan kurang cocok, hal ini dapat diperbaiki dengan menambahkan peralatan untuk mengurangi tekanan udara. Cairan penyari dididihkan terus-menerus, sehingga cairan penyari yang baik harus murni atau campuran azeotrop (Anonim, 1986).





**Gambar 3. Soxhlet ekstraktor (Wild dan de Koning, 1997).**

Gambar diatas merupakan susunan alat dalam proses penyarian menggunakan metode soxletasi. Soxhlet ekstraktor terdiri atas 4 bagian yaitu : *condenser tube*, soxhlet, labu alas bulat dan sumber panas.

## 6. Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.)

### a. Klasifikasi ilmiah

Klasifikasi dari Rambutan adalah sebagai berikut:

*kingdom* : Plantae

*division* : Magnoliophyta

*class* : Magnoliopsida

*order* : Sapindales

*family* : Sapindaceae

*genus* : *Nephelium*

*species* : *Nephelium Lappaceum*



**Gambar 4. Buah Rambutan (Anonim, 2005<sup>d</sup>).**

Pada gambar di atas terlihat buah rambutan yang berbentuk bulat lonjong, dengan duri tempel yang bengkok, lemas sampai kaku.

**b. Nama**

1). Nama daerah

Sumatera : rambutan, rambot, rambut, rambuteun, rambuta, jailan, folui, bairabit, puru biancak, p. biawak, hahujam, kakapas, likes, alu.

Jawa : rambutan, corogol, tundun, bunglon, buwa buluwan

Nusa tenggara : buluan, rambutan.

Kalimantan : rambutan, siban, banamon, beriti, sanggalaong, sagalong, beliti, maliti, kayokan, bengayau, puson.

Sulawesi : rambutan, rambuta, rambusa, barangkasa, bolangat, balatu, balatung, walatu, wayatu, wilatu, wulangas, lelamu, lelamun, toleang.

Maluku : rambutan, rambuta.

2). Nama asing

Indonesia, Inggris (Rambutan), Spanyol (rambután), Perancis (rambután), rambutan usan (Fillipina), saaw maaw, ser mon (Kamboja), ngoh, phruan (Thailand), chôm chôm, vai thiêu (Vietnam) (Anonim, 2003).

3). Nama simplisia

*Nephelii lappecei semen* (biji rambutan), *Nephelii lappecei pericarpium* (kulit buah rambutan) (Dalimartha, 2004).

### c. Uraian Tumbuhan

Rambutan banyak ditanam sebagai pohon buah, kadang-kadang ditemukan tumbuh liar. Tumbuhan tropis ini memerlukan iklim lembab dengan curah hujan tahunan paling sedikit 2.000 mm. Rambutan merupakan tanaman dataran rendah hingga ketinggian 300-600 dpl (Dalimartha, 2004).

Pohon dengan tinggi 15-25 m ini mempunyai banyak cabang. Daun majemuk menyirip letaknya berseling, dengan anak daun 2-4 pasang. Helaian anak daun bulat lonjong, panjang 7,5-20 cm, lebar 3,5-8,5 cm, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, tangkai silindris, warnanya hijau, kerap kali mengering. Bunga tersusun pada tandan di ujung ranting, harum, kecil-kecil, warnanya hijau muda. Bunga jantan dan bunga betina tumbuh terpisah dalam satu pohon. Buah bentuknya bulat lonjong, panjang 4-5 cm, dengan duri tempel yang bengkok, lemas sampai kaku. Kulit buahnya berwarna hijau, dan menjadi kuning atau merah kalau sudah masak. Dinding buah tebal. Biji bentuk elips, terbungkus daging buah berwarna putih transparan yang dapat dimakan dan banyak mengandung air, rasanya bervariasi dari masam sampai manis. Kulit biji tipis berkayu (Dalimartha, 2004).

Rambutan var. *Aceh Lebak bulus* pohonnya tinggi dan lebat buahnya dengan hasil rata-rata 160-170 ikat per pohon, kulit buah berwarna merah kuning, halus, rasanya segar manis-asam banyak air dan ngelotok daya simpan 4 hari setelah dipetik, buah ini tahan dalam pengangkutan (Anonim, 2002).

### d. Sifat dan Khasiat

Kulit buah berkhasiat sebagai penurun panas. Bijinya berkhasiat menurunkan kadar gula darah (hipoglikemik) (Dalimartha, 2004).

### e. Kandungan Kimia

Buah mengandung karbohidrat, protein, lemak, fosfor, besi, kalsium, dan vitamin C. Kulit buah mengandung tanin dan saponin. Kulit batang mengandung tanin, saponin, flavonoida, *peptic substances*, dan zat besi (Dalimartha, 2004).

100 g sampel buah rambutan terdiri dari 82.1% air, 0.9% protein, 0.3% lemak, 0.3% ash, 2.8 g glukosa, 3.0 g fruktosa, 9.9 g sukrosa, tanpa *starch*, 2.8 g serat,



0.05% asam maleat, 0.31% asam sitrat, 0.5 mg *niacin*, 15 mg kalsium, 0.1 2.5 mg besi, 70 mg vitamin C, 0.01 mg tiamin, 0.07 mg riboflavin, 140 mg potasium, 2 mg sodium, 10 mg magnesium. Sekitar 37% dari berat kering biji adalah lemak, yang terdiri dari asam lemak, yang terdiri dari asam arakhidat (34.7%), asam oleat (45.3%), asam stearat (13.8%), *ericosenoic* (4.2%) dan asam palmitat (2%) dan gliserida tersaturasi 1.4% (Zee, T., 1995).

#### f. Bagian yang digunakan

Bagian tanaman yang digunakan adalah kulit buah, kulit kayu, daun, biji, dan akarnya (Dalimartha, 2004).

Indikasi :

Kulit buah digunakan untuk mengatasi : disentri, demam.

Daun digunakan untuk mengatasi : diare, menghitamkan rambut.

Kulit kayu digunakan untuk mengatasi : sariawan.

Akar digunakan untuk mengatasi : demam.

Biji digunakan untuk mengatasi : kencing manis (diabetes melitus)

(Dalimartha, 2004).

#### 7. Kromatografi gas

Kromatografi gas adalah salah satu cara pemisahan yang sekaligus untuk analisis senyawa-senyawa organik maupun anorganik, yang bersifat termostabil, dan mudah menguap. Kromatografi gas dinamakan pula kromatografi padat gas, atau *Gas Solid Chromatography* (GSC) yang pemisahannya atas dasar adsorpsi, dan penyaringan molekul atau *molecul shiever*. Bila pemisahannya atas dasar partisi dinamakan kromatografi cair gas (*Gas liquid Chromatography*). Alat ini dapat digabungkan dengan spektrometer massa untuk menganalisis bobot molekul dan penyebitannya (Willard *et al*, 1989). Alat ini begitu cepat perkembangannya, pada tahun 1976 telah menjadi 3000 publikasi (Skoog, 1985).

Sebagai alat analisis kromatografi gas sangat luas penggunaannya walaupun hanya dibatasi untuk senyawa-senyawa yang termostabil. Jenis fase diam yang digunakan beraneka ragam dan cara pembuatan kolom untuk fase diam juga menggunakan teknologi modern dengan ukuran dan bentuk yang telah

dirancang agar dapat digunakan untuk analisis sekelompok senyawa (pestisida, narkotik, dan obat berbahaya), yang sekaligus dengan kaset pembandingnya yang dapat digunakan secara otomatis (Sumarno, 2000).

a. Kolom atau Fase diam

Dua tipe kolom yang banyak digunakan dalam kromatografi gas ialah kolom yang dikapak dan kolom kapiler terbuka. Kolom tersebut umumnya berisi fase diam dengan polaritas berbeda-beda tergantung jenis sampel yang akan dianalisis.

1) fase diam gas kromatografi (*gas solid chromatography*)

- a) *moleculer siever*
- b) *silica gel*
- c) chromosorb dan porapak
- d) tenax-GC
- e) carbopak B dan C

2) fase diam untuk kromatografi gas cair (*gas liquid chromatography*)

Fase diam yang digunakan dalam kromatografi ini umumnya cairan bertitik lebur tinggi yang dilapiskan pada pendukung, seperti halnya karbowaks, dan THEED.

b. Pemilihan fase diam

Fase diam yang digunakan dipilih sesuai dengan senyawa yang dianalisis. (Willard *et al.*, 1989 ; Moffat, 1986) yang kadang-kadang telah diberi keterangan tentang indeks retensi atau *retension index* = RI), ditentukan oleh Kovats. Misalnya untuk parafin normal mempunyai RI = 100 jumlah atom karbon penyusun, sehingga pentan RI = 500, heksana = 600, heptana = 700. hal tersebut bila operasional dan jenis fase diam harus spesifik. Contoh kolom skuelen, waktu tambat heksana, 1-nitropropana, dan oktana adalah 15,16,dan 25 menit.

c. Peralatan

Susunan alat kromatografi mempunyai urutan yang sama dengan KCKT, tetapi perlengkapannya agak sedikit berbeda. Pompa untuk menghisap dan mengalirkan fase gerak tidak ada. Pada kromatografi gas tempat injeksi, kolom dan detektor perlu pemanasan suhu yang lebih dari titik didih sampel yang diuji.

### 1) Gas pembawa

Agar analisis tidak terganggu oleh cemaran, maka gas pembawa harus mempunyai tingkat kemurnian yang tinggi (99.99%). Walaupun kemurnian sudah cukup tinggi tetapi masih digunakan penyaring gas untuk menghindari kontaminan. Umumnya yang dipakai adalah nitrogen, helium atau xenon. Untuk detektor tertentu harus digunakan helium, dalam analisis metanol digunakan gas helium, walaupun sebenarnya menggunakan nitrogenpun tidak menjadi masalah. Kebetulan yang digunakan kolom adalah WCOT (*wall coated open tubular*) sehingga diperlukan gas pembawa khusus. Penggunaan gas pembawa helium ataupun xenon sering digunakan apabila yang dianalisis berupa gas atau senyawa yang mengandung unsur N dengan detektor *electron capture detector*.

### 2) Tempat injeksi

Suhu tempat injeksi paling tidak  $10^{\circ}\text{C}$  lebih tinggi dari suhu kolom, yang terakhir (bagian suhu kolom yang diprogram). Dengan demikian pengembunan solut dalam tempat injeksi dapat dihindari. Dalam injeksi ini diperlukan teknik agar volume larutan solut tepat pembacaannya, dan tidak terjadi puncak yang berekor. Penekanan pendorong atau *plunger* harus cepat dan setelah ujung jarum sampai dasar. Dapat pula digunakan autoinjektor seperti halnya pada KCKT.

### 3) Suhu kolom

Bentuk dan fase diam dalam kolom dapat bermacam-macam, suhunya perlu diatur agar daya pisah dan efisiensi dapat dicapai. Untuk analisis campuran yang kompleks, misalnya minyak atsiri dari suku rendah (monoterpen 225 $^{\circ}\text{C}$ ) bila suhu jauh dibawah suhu didih analit tak akan dapat terelusi sehingga akan menyumbat kolom. Sebaliknya bila suhu analit terlalu tinggi kemungkinan terjadi pirolisis, dengan demikian akan sulit ditentukan senyawa yang dianalisis.

### 4) Detektor

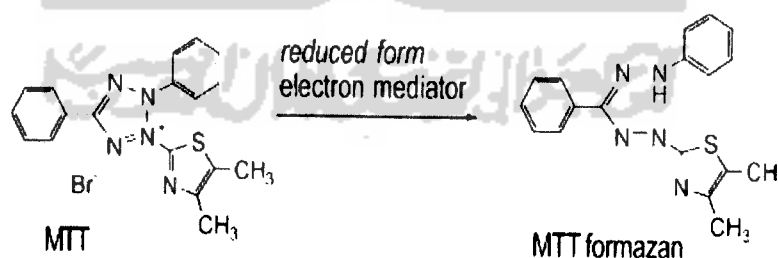
Penggunaan detektor sangat menentukan hasil karena detektor mempunyai spesifikasi dan kepekaan yang berbeda-beda. Detektor untuk semua senyawa yang mengandung atom C dapat digunakan *Flame Ionization Detector* atau FID (Sumarno, 2000).

## 8. Uji Sitotoksisitas

Sitotoksik adalah sifat toksis/beracun suatu senyawa terhadap sel hidup uji sitotoksisitas merupakan suatu uji yang cepat, terstandarisasi, sensitif dan tidak terlalu mahal, dengan kepentingan untuk menentukan apakah suatu material mengandung bahan yang berbahaya (toksis) secara biologis dalam jumlah yang signifikan. Sensitifitas yang tinggi dari uji ini karena adanya sel uji yang terisolasi dalam kultur dan tidak adanya mekanisme protektif tubuh yang mempengaruhi sel uji. Antibiotik dapat ditambahkan pada medium untuk mikroba yang mungkin ada pada material uji dan sample kontrol (Wallin, 1998).

Pemilihan sel untuk uji sitotoksisitas tergantung pada tujuan yang ingin dicapai. Pada umumnya untuk penapisan senyawa uji selalu dipilih sel yang cepat tumbuh dan penanganannya mudah. Umumnya uji sitotoksisitas secara *in vitro* ini dapat digunakan untuk kultur primer maupun subkultur yang merupakan turunan dari sel primer yang disebut sebagai *cell lines* (Freshney, 2000).

Metode MTT menggunakan pereaksi garan tetrazolium MTT (3-(4,4-dimetiltiazol-2,5-difenil tetrazolium bromida) yang ditambahkan pada media setelah diinkubasi selama 24 dan 48 jam. Garam tetrazolium MTT akan direduksi oleh sistem reduktase suksinat tetrazolium dalam rantai respirasi mitokondria aktif menjadi formazan. Formazan yang berwarna ungu ini tidak larut dalam air maka dilarutkan menggunakan HCl 0,04 N dalam isopropanol (Sigma, 1999) atau dengan 10% SDS dalam 0,01 N HCl (Tada, dkk, 1986). Reaksi yang terjadi antara MTT dengan sistem reduktase suksinat dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 5. Reaksi reduksi MTT menjadi formazan (Anonim, 2006<sup>b</sup>)**

MTT berwarna kuning akan direduksi oleh sistem reduktase suksinat tetrazolium dalam rantai respirasi mitokondria aktif menjadi MTT formazan yang berwarna ungu.

### 9. *Lethal Concentration 50 (LC<sub>50</sub>)*

Beberapa kriteria atau petunjuk dapat digunakan, misalnya untuk zat-zat baru, kriteria awal yang biasa digunakan dalam evaluasi toksikologi dengan menggunakan kematian sebagai indeks untuk memperkirakan dosis lethal yang mungkin terjadi. Pengukuran kematian tepat, kuantal dan tidak meragukan berguna untuk memperkirakan suatu tingkat atau derajat dan besarnya potensi suatu zat. Kematian memberikan suatu ukuran perbandingan diantara banyak zat yang mempunyai dan tempat aksi yang mungkin berbeda nyata (Cassarett dan Doull, 1975).

Respon apapun yang dipilih sebagai ukuran, hubungan antar respon pada sistem biologis dan jumlah zat toksik yang diberikan ditunjukkan sebagai hubungan dosis-respon. Bila kematian merupakan responnya maka dosis yang menimbulkan kematian pada 50% populasi pada spesies yang sama, dalam waktu yang spesifik dan kondisi percobaan yang sesuai diistilahkan sebagai median *lethal dose* atau LD<sub>50</sub>. pemberian obat bila dinyatakan sebagai konsentrasi maka diistilahkan sebagai media *lethal Concentration* atau LC<sub>50</sub> (Cassarett dan Doull, 1975). Hubungan dosis-respon dapat dibedakan dalam 2 tipe yaitu *Graded Response* dan *Quantal Response*. Tipe yang pertama, *graded response* yaitu respon bertingkat antara nol dan nilai maksimum dan intensitas respon tergantung pada dosis. Tipe kedua, *quantal response* yaitu suatu respon dimana efek bisa diamati hanya ada dua kemungkinan yaitu ada atau tidaknya respon (*all or none*). Pada respon quantal, respon yang timbul terdistribusi secara normal (Cassarett dan Doull, 1975)

### 10. Obat – obatan Antikanker

Berdasarkan mekanisme kerjanya Tjay dan Rahardja membagi obat antikanker dalam berbagai golongan sebagai berikut :

#### a) Zat-zat Alkilasi

Zat-zat alkilasi berkhasiat kuat terhadap sel-sel yang sedang membelah. Mekanismenya berdasarkan gugusan alkilnya yang sangat reaktif dan menyebabkan *cross-linking* (saling mengikat) antara rantai-rantai DNA di dalam

inti sel. Dengan demikian, penggandaan DNA terganggu dan pembelahan sel dapat dirintangi. Contoh obatnya yaitu Klorambusil dan Siklofosamid.

b) Antimetabolit

Obat-obatan antimetabolit mengganggu sintesa DNA, tetapi dengan jalan antagonisme saingan. Rumus kimia obat golongan ini sangat mirip dengan rumus beberapa metabolit tertentu yang penting bagi fisiologi sel, yakni asam folat, purin dan pirimidin. Obat menduduki tempat metabolit tersebut dalam sistem enzim tanpa mengambil alih fungsinya, sehingga sintesa DNA atau RNA gagal dan kebanyakan terhenti. Contoh obatnya 5-Fluorourasil (antagonis pirimidin) dan Merkarptopurin (antagonis purin).

c) Antimitotika

Zat-zat antimikotika menghindarkan pembelahan pada fase metafase sehingga merintangi terjadinya pembelahan inti. Zat antimitotika mencegah masuknya belahan kromosom ke dalam anak inti. Contoh obat golongan ini adalah Vinblastin dan Vinkristin.

d) Antibiotika

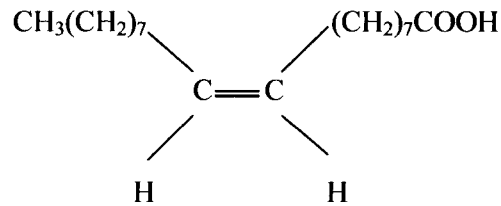
Beberapa antibiotik dapat mengikat DNA secara kompleks sehingga sintesanya terhenti. Contohnya Doksorubisin dan Bleomisin.

e) Hormon dan Antihormon

Sejumlah kanker yang bersifat *estrogen dependent* atau *adrogen dependent* ternyata dapat dihambat pertumbuhannya oleh hormon lawannya. Misalnya digunakan Tamoxifen (anti-estrogen) untuk pengobatan kanker payudara.

f) Antioksidan

Senyawa yang memiliki gugus C ikatan rangkap dapat bersifat antioksidan yaitu mengikat gugus C radikal bebas sehingga dapat menghindari kerusakan sel akibat radikal bebas. Asam oleat memiliki satu ikatan rangkap sehingga dapat dimasukkan ke dalam golongan antioksidan.



**Gambar 6. Struktur asam oleat**

Asam oleat memiliki satu ikatan rangkap sehingga dapat bersifat sebagai antioksidan

Asam oleat bekerja sebagai antioksidan dengan mekanisme menangkap radikal bebas. Asam oleat memiliki atom C $\alpha$  yang dapat melepaskan atom H radikal bebas sehingga atom C $\alpha$  pada asam oleat menjadi C radikal bebas yang dapat menangkap radikal – radikal bebas di dalam tubuh.

### B. Keterangan Empiris

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Dr. Menendez asam oleat yang berasal dari minyak zaitun dapat menekan resiko terkena kanker payudara (Anonim, 2005<sup>e</sup>), berdasarkan hal tersebut maka dapat dijadikan alasan untuk melakukan penelitian uji sitotoksik biji rambutan (*Nephelium lappaceum, L*) var. *aceh lebah bulus* yang kandungan terbesar asam lemaknya adalah asam oleat dengan mekanisme sebagai antioksidan.

### BAB III METODE PENELITIAN

#### A. Bahan dan alat

##### 1. Bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan untuk uji antikanker ini adalah : biji rambutan (*Nephelium lappaceum*, L) var. *aceh lebak bulus* dari daerah Wedomartani, kloroform p.a, etanol 70% (E-merk), pelarut DMSO (*dimethyl sulfoxide*) (E-merk), media RPMI 1640 (*Roswell Park Memorial Institute*) (Sigam), kultur sel Raji (Laboratorium Hayati UGM), FBS 10 % (*Fetal Bovine Serum*) (Gibco), penstrep (penisilin- streptomisin) (Gibco BRL), fungizon (Gibco), pereaksi MTT ( 3- ( 4,5-dimetiltiazol-2,5-difenil tetrazolium bromida ) (Sigma), pereaksi penghenti MTT (SDS 10 % dalam HCl 0, 01M) .

##### 2. Alat

Alat-alat yang digunakan untuk uji sitotoksitas adalah *plate 96-well* (Nunc), *LAF cabinet*(EACI), sentrifuge (LBS), inkubator 37°C dengan 5% CO<sub>2</sub> (memmert), *tissue culture flask* (Nunc), tabung conical steril (Nunclon) (Nunc), tabung effendorf (Eppendorf), hemositometer (Neubauer), mikroskop elektron (Olympus), alat-alat gelas, ELISA (*Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay*) *reader* (SLT/ siltlabsinstruments), *blue tip*, *yellow tip*, foto mikroskop elektron (Olympus), vortex (K-Gemmy Industrial Corp), counter-count(Niko), mikropipet (Labsystem).

#### B. Cara Penelitian

##### 1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII dengan berdasarkan buku *Flora of Java*. Tanaman yang digunakan adalah biji rambutan (*Nephelium lappaceum*, L) var. *aceh lebak bulus* dari daerah Wedomartani, Sleman.



## **2. Pengeringan dan Penyerbukan simplisia kering biji rambutan**

Biji rambutan hasil sortasi dikeringkan di lemari pengering pada suhu sekitar 40-50° C selama 5 hari dan diserbuk menggunakan mesin penyerbuk, kemudian ditempatkan dalam plastik bersih.

## **3. Pembuatan ekstrak kloroform biji rambutan**

Serbuk diekstraksi dengan kloroform menggunakan alat Soxhlet. Untuk setiap 30 g serbuk digunakan 300 mL kloroform. Setelah cairan penyari jernih, proses ekstraksi dihentikan dan selanjutnya ekstrak kloroform diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian dianalisis dengan GC.

## **4. Identifikasi kandungan asam lemak dengan Gas Chromatography**

Ekstrak kloroform diidentifikasi dengan GC dengan menggunakan standar minyak zaitun. Waktu retensi yang diperoleh dibandingkan dengan waktu retensi standar (Christie, 1993).

## **5. Pembuatan larutan uji**

Ekstrak yang diperoleh dibuat larutan stok 3200 µg/mL sebanyak 4 ml. Masukkan dalam conical steril ditutup dengan aluminium foil. Selanjutnya dibuat seri kadar ekstrak dari larutan stok dalam media kultur RPMI 1640. Untuk mencampurkan ekstrak kloroform dengan media kultur diperlukan DMSO.

## **6. Uji sitotoksistas ekstrak kloroform biji Rambutan terhadap sel Raji**

### **a. Propagasi sel Raji**

Sel diambil dari tangki nitrogen cair, kemudian segera dicairkan dalam penangas air pada suhu 37°C. Ampul disemprot dengan etanol 70% kemudian dibuka dan sel dipindahkan kedalam tabung steril yang berisi media RPMI 1640. suspensi sel disentrifugasi 1500 g selama 5 menit, supernatan yang diperoleh dibuang, diganti dengan media RPMI yang baru lalu disuspensi pelan-pelan. Suspensi sel disentrifugasi lagi 1500 g selama 5 menit dan supernatan yang diperoleh dibuang. Sel ditambah dengan 1 mL medium pertumbuhan yang

mengandung 10% FBS dan diresuspensikan hingga homogen. Kemudian sel ditumbuhkan dalam beberapa tabung biakan kecil, inkubasikan pada suhu 37°C dengan aliran CO<sub>2</sub> 5%. Setelah 24 jam, media diganti dan sel ditumbuhkan hingga konfluen dan jumlahnya cukup untuk penelitian lebih lanjut (Anonim, 2001<sup>b</sup>).

b. Panen sel Raji

Setelah jumlah sel cukup, medium diganti dengan medium RPMI 1640 sebanyak 5 mL dan sel dilepaskan dari dinding tabung. Sel dipindahkan ke dalam tabung steril dan ditambahkan tripsin 0,25% kemudian inkubasi selama 5 sampai 10 menit dalam inkubator hingga sel melayang, cuci menggunakan media RPMI disentrifugasi pada 1500 g selama 5 menit, sel dicuci sekali lagi menggunakan medium yang sama, sel dihitung jumlahnya dengan hemositometer. Pada suspensi sel ditambah sejumlah medium sehingga memperoleh konsentrasi sel  $3 \times 10^4$  sel/100 $\mu$ L dan siap untuk penelitian lebih lanjut (Anonim, 2001<sup>b</sup>).

c. Uji sitotoksisitas dengan metode MTT

Sel dengan kepadatan  $3 \times 10^4$  sel/100  $\mu$ L didistribusikan kedalam sumuran dan diinkubasikan bersama ekstrak kloroform biji rambutan dengan satu seri kadar selama 24 jam dan 48 jam. Pada akhir inkubasi, masing-masing sumuran ditambahkan 10  $\mu$ L MTT 2.5  $\mu$ g/mL dalam medium RPMI. Kemudian diinkubasikan minimum 9 jam pada suhu 37°C. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk warna ungu. Reaksi MTT dihentikan dengan pereaksi penghenti SDS 10% dalam HCl 0,01 M sebanyak 100  $\mu$ L dan diinkubasikan semalam pada suhu kamar. Serapan dibaca dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 550 nm.

d. Analisis Data Uji sitotoksisitas

Uji sitotoksisitas menggunakan metode MTT, dimana absorbansi yang didapat dari ELISA *reader* mencerminkan jumlah sel yang hidup. Maka prosentase kematian sel dapat dihitung dengan rumus :

Misal,

A = absorbansi sampel / ekstrak + sel

B = absorbansi sampel / ekstrak + media

C = absorbansi media + sel

D = absorbansi media

$$\%kematian = \frac{(C - D) - (A - B)}{(C - D)} \times 100\%$$

Kemudian dihitung juga harga  $LC_{50}$  nya (*Lethal Concentration 50*) dengan metode probit untuk mengetahui potensi ketoksikannya.

Perhitungan  $LC_{50}$

- Regresi linear 1:  $x = \%kematian$

$$y = \text{probit}$$

$$\text{Persamaan garis : } y = bx + a \dots\dots\dots(1)$$

Probit untuk 50% kematian ( $x = 50$ )

$$x = 50 \rightarrow y = b(50) + a$$

$$y = c$$

- Regresi Linear 2 :  $x = \log \text{dosis}$

$$y = \text{probit}$$

$$\text{Persamaan garis : } y = bx + a \dots\dots\dots(2)$$

Substitusi (1) ke (2) :

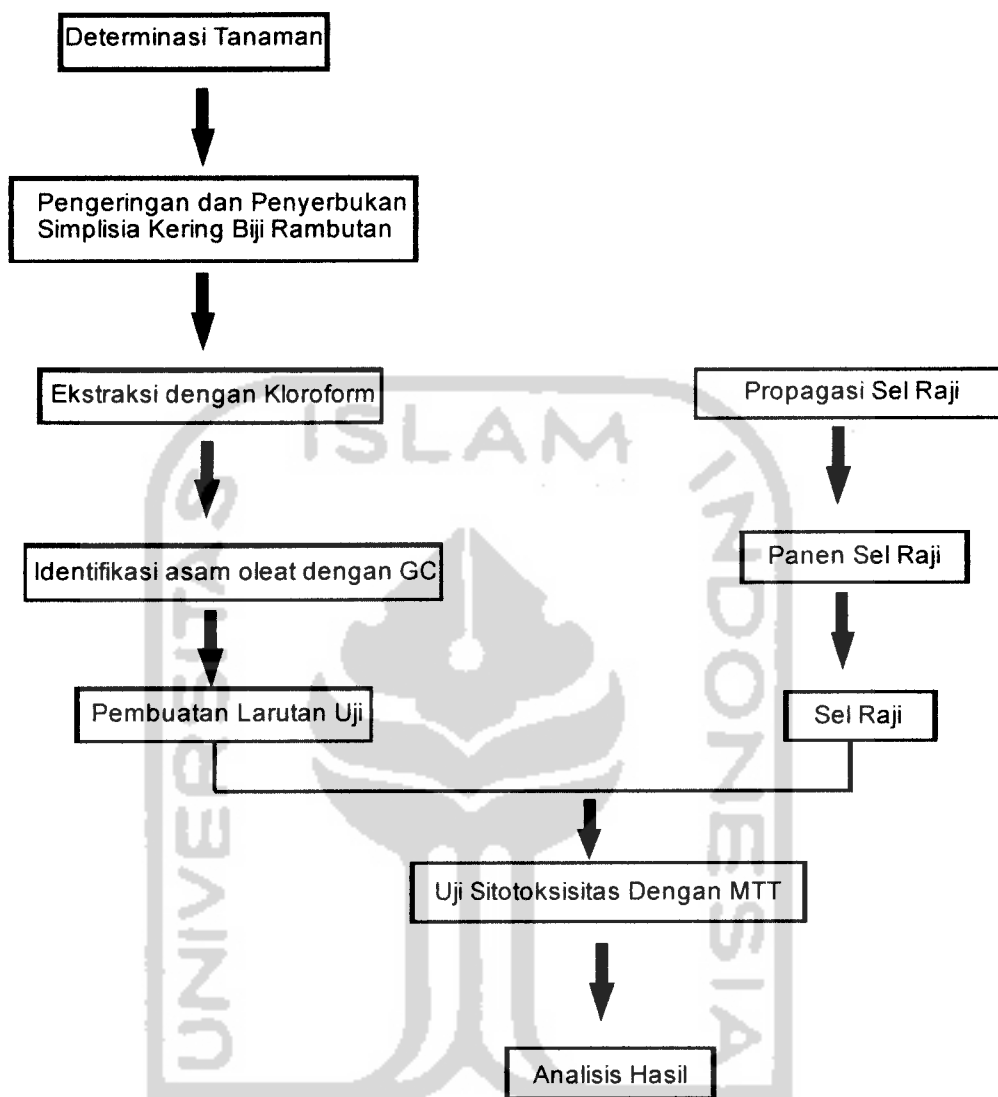
$$y = c \rightarrow y = bx + a$$

$$x = d$$

$$\text{anti log } x = LC_{50} \quad \mu\text{g/mL}$$

$$\text{anti log } d = LC_{50} \quad \mu\text{g/mL}$$

### C. Skema cara kerja



Gambar 6. skema kerja

#### D. Analisis Hasil

% kematian sel karena sampel dapat dihitung dengan rumus :

Misal,

A = absorbansi sampel / ekstrak + sel

B = absorbansi sampel / ekstrak + media

C = absorbansi media + sel

D = absorbansi media

$$\%kematian = \frac{(C - D) - (A - B)}{(C - D)} \times 100\%$$

Kemudian dihitung juga harga LC<sub>50</sub> nya (*Lethal Concentration 50*) dengan metode probit untuk mengetahui potensi ketoksikannya.

Perhitungan LC<sub>50</sub>

- Regresi linear 1:  $x = \%kematian$

$$y = probit$$

$$\text{Persamaan garis : } y = bx + a \dots\dots\dots(1)$$

Probit untuk 50% kematian ( $x = 50$ )

$$x = 50 \rightarrow y = b(50) + a$$

$$y = c$$

- Regresi Linear 2 :  $x = \log dosis$

$$y = probit$$

$$\text{Persamaan garis : } y = bx + a \dots\dots\dots(2)$$

Substitusi (1) ke (2) :

$$y = c \rightarrow y = bx + a$$

$$x = d$$

$$\text{anti log } x = LC50 \quad \mu\text{g/mL}$$

$$\text{anti log } d = LC50 \quad \mu\text{g/mL}$$

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dimaksudkan untuk memastikan identitas tanaman yang akan diteliti sehingga dapat menghindari kesalahan dalam pengambilan biji tanaman yang akan diuji. Determinasi dilakukan di Laboratorium Bagian Biologi Farmasi dengan merujuk pada buku Flora Of Java karangan Becker, B.A. and Bakhulzen, R.C. (1968), dan didapatkan hasil determinasi sebagai berikut :

1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 10b - 11b - 12b - 13b - 14a - 15b (Golongan 9)

Golongan 9 - 197b - 208b - 219b - 220a - 221b - 222 a (69. Sapindaceae)

69. Sapindaceae - 1b - 5a (*Nephelium*) - 1b (*Nephellium lappaceum*, L)

Varietas : *aceh lebak bulus*

Dari hasil determinasi yang dilakukan, tanaman yang digunakan memiliki ciri-ciri sebagaimana *Nephelium lappaceum*, L var. *aceh lebak bulus*.

### B. Pembuatan Ekstrak Kloroform

#### 1. Penyiapan Serbuk

Bahan yang berupa biji rambutan (*Nephelium lappaceum*, L) dikumpulkan dari satu tempat yaitu di daerah Wedomartani, Sleman. Hal ini dilakukan untuk mengurangi variasi zat yang dikandung oleh biji rambutan tersebut karena pengaruh tempat tumbuhnya.

Biji baik yang tua maupun muda diambil dari tanaman yang telah dewasa. Biji tersebut kemudian dicuci dengan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan benda-benda asing seperti kotoran dan daging buah yang melekat pada permukaan biji. Biji kemudian diiris tipis dan dikeringkan dengan menggunakan lemari pemanas dengan suhu 50<sup>0</sup> C sampai mencapai bobot yang konstan. Hal tersebut dimaksudkan untuk mencegah kerusakan enzimatik akibat tingginya kadar air dalam biji, selain itu dapat mencegah timbulnya jamur dan bakteri serta dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama.

Setelah biji mencapai bobot kering yang konstan, biji diserbuk agar didapatkan ukuran partikel biji yang lebih kecil dan diayak menggunakan ayakan

untuk menyeragamkan ukuran serbuk. Selain itu tujuan penyerbukan adalah untuk memperluas permukaan kontak serbuk biji dengan larutan penyari sehingga proses penyarian dapat berlangsung dengan lebih efektif dan efisien.

## 2. Pembuatan Ekstrak

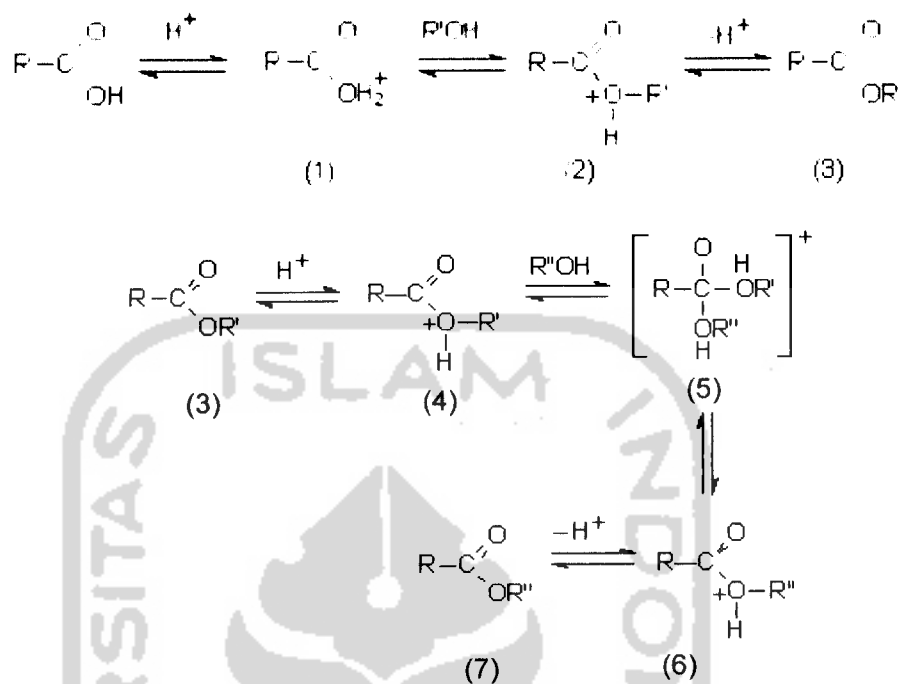
Penyarian dilakukan menggunakan metode sokhletasi dengan larutan penyari kloroform. Proses ekstraksi dengan larutan penyari kloroform dimaksudkan untuk menarik zat-zat yang bersifat non polar. Pemilihan metode menggunakan sokhlet pada proses ekstraksi untuk memperoleh ekstrak yang mengandung zat aktif lebih banyak karena proses penyarian berjalan secara berkesinambungan. Selain itu pelarut yang dibutuhkan tidak terlalu banyak.

Kemudian ekstrak kloroform diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental berupa minyak. Dari 90 gram serbuk yang diekstrak didapatkan ekstrak kental 9 ml. Ekstrak yang didapat disimpan dalam eksikator untuk mencegah pertumbuhan spora jamur.

## C. Identifikasi Kandungan Kimia

Untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak kloroform biji tanaman *Nephelium lappaceum* yang akan diteliti maka dilakukan uji kualitatif menggunakan kromatografi gas. Sebelum pemeriksaan kromatografi gas ini dilakukan, ekstrak kloroform biji tanaman *Nephelium lappaceum* diesterkan terlebih dahulu agar didapatkan derivat asam lemak yang non reaktif dalam bentuk metil ester, selain itu jika dalam bentuk metil ester asam lemak akan lebih volatil dibanding bentuk aslinya. Reaksi transesterifikasi asam lemak dilakukan dengan menggunakan larutan  $\text{BF}_3$  (Boron Trifluorida), metanol, yang direfluks pada suhu  $60^\circ\text{-}70^\circ\text{C}$  selama 1 jam. Prinsip reaksi transesterifikasi ini adalah mengganti gugus gliserol pada asam oleat dengan gugus alkohol pada metanol dalam suasana asam.  $\text{BF}_3$  berfungsi memberikan suasana asam pada reaksi transesterifikasi tersebut. Setelah dingin diekstrak dengan n-heksana kemudian larutan diinjeksikan, n-heksana berfungsi untuk menarik metil ester dari larutan. Pembanding yang digunakan adalah asam oleat murni karena senyawa

tersebut merupakan kandungan asam lemak terbanyak dalam ekstrak dan diduga memiliki aktivitas sebagai antikanker. Reaksi transesterifikasi yang terjadi dapat dilihat pada gambar 7:



**Gambar 7. Reaksi transesterifikasi**

Pada gambar di atas terlihat perubahan yang terjadi yaitu asam lemak menjadi derivatnya dalam bentuk metil ester.

Profil hasil kromatografi gas yang diperoleh dianalisis dengan membandingkan waktu retensi asam oleat murni dengan waktu retensi profil grafik salah satu senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak. Dari hasil analisis diketahui bahwa salah satu senyawa kimia yang terkandung memiliki waktu retensi yang mirip dengan waktu retensi asam oleat murni standar yaitu 27,853 sedangkan waktu retensi senyawa kimia ekstrak adalah 27,175. Dari profil kromatogram tersebut juga diperoleh nilai AUC metil oleat yaitu 35,538 %.

Pemilihan metode ini didasarkan atas sifat senyawa yang akan dianalisis yaitu selain bersifat non polar juga memiliki titik didih yang sangat tinggi. Kolom yang digunakan adalah Chrompack CP-Sil 5 CB sepanjang 50 meter, kolom ini dapat diaplikasikan secara luas dengan range temperature yang luas pula. Detektor



yang digunakan adalah FID (*Flame Ionization Detector*), merupakan detektor untuk semua senyawa yang mengandung atom C sehingga pemisahan berdasarkan jumlah atom C, semakin banyak atom C maka waktu retensinya akan semakin besar.

#### **D. Uji Sitotoksisitas Ekstrak Kloroform Biji *Nephelium Lappaceum* var. *aceh lebak bulus* Terhadap Sel Raji**

Uji sitotoksisitas merupakan sistem uji kualitatif dan kuantitatif dengan cara menetapkan kematian sel. Selain respon kematian, kerusakan sel seperti bentuk sel yang mengerut, lisisnya dinding sel dihitung sebagai sel yang mati. Uji sitotoksisitas dilakukan dengan cara menginkubasikan sel Raji dalam *mikroplate* (96 sumuran) dengan kepadatan  $3 \times 10^4$  sel/100  $\mu$ L media bersama seri kadar ekstrak kloroform biji *Nephelium lappaceum* selama 24 jam dan 48 jam pada suhu 37°. Kepadatan sel diatur agar tidak lebih ataupun kurang dari  $3 \times 10^4$  sel karena jika lebih dari  $3 \times 10^4$  sel maka sel akan terlalu padat dan menyulitkan saat dilakukan pengamatan. Untuk mengatur kepadatan sel dilakukan penghitungan sel menggunakan hemositometer. Ekstrak kloroform terlebih dahulu dilarutkan menggunakan DMSO 100% kemudian ekstrak dibuat seri kadar 50  $\mu$ g/mL, 100  $\mu$ g/mL, 200  $\mu$ g/mL, 400  $\mu$ g/mL, 800  $\mu$ g/mL, 1600  $\mu$ g/mL, dengan media RPMI sebagai pelarut. Seri kadar ekstrak dimasukkan ke dalam sumuran dan dibuat 3x replikasi untuk masing-masing seri kadar. Selain itu kedalam *plate* 96 sumuran dimasukkan : media+DMSO yang dibuat seri kadar seperti pada ekstrak, media+sel, DMSO seri kadar+sel. Setelah 24 dan 48 jam masing-masing sumuran ditambahkan MTT 10  $\mu$ L dan diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37 °C. Reaksi MTT dihentikan dengan pereaksi penghenti SDS (Sodium Dodesil Sulfat) 100% dalam HCl 0,01 M sebanyak 100  $\mu$ L kemudian diinkubasi semalam pada suhu kamar.

Pengamatan bisa dilakukan dengan metode MTT atau dengan metode penghitungan langsung tetapi yang digunakan adalah metode MTT. Metode ini menggunakan pereaksi garan tetrazolium MTT (3-(4,4-dimetiltiazol-2,5-difenil tetrazolium bromida) yang ditambahkan pada media setelah diinkubasi selama 24 dan 48 jam, membentuk cairan berwarna ungu.

Intensitas warna ungu diukur menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 550 nm. Sebagai pelarut ekstrak digunakan DMSO 100% agar ekstrak dapat bercampur dengan media yang digunakan. Untuk mengetahui pengaruh DMSO terhadap sel maka perlu dilakukan kontrol terhadap DMSO dengan menginkubasi DMSO bersama sel. DMSO dibuat berbagai seri kadar sesuai seri kadar ekstrak uji. Berikut gambar sel yang diberi perlakuan DMSO dan sel yang diberi ekstrak :



**Gambar 8. Sel Raji perbesaran 100x dengan perlakuan DMSO 1600  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (a) dan sel Raji yang diberi perlakuan ekstrak 1600  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (b).**

Pada gambar 8, dapat dilihat perbandingan antara sel Raji yang diberi perlakuan DMSO 1600  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (a) dan sel Raji yang diberi perlakuan ekstrak 1600  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (b). Gambar (a) menunjukkan banyak sel Raji hidup dan gambar (b) menunjukkan banyak sel Raji yang mati (berwarna hitam)

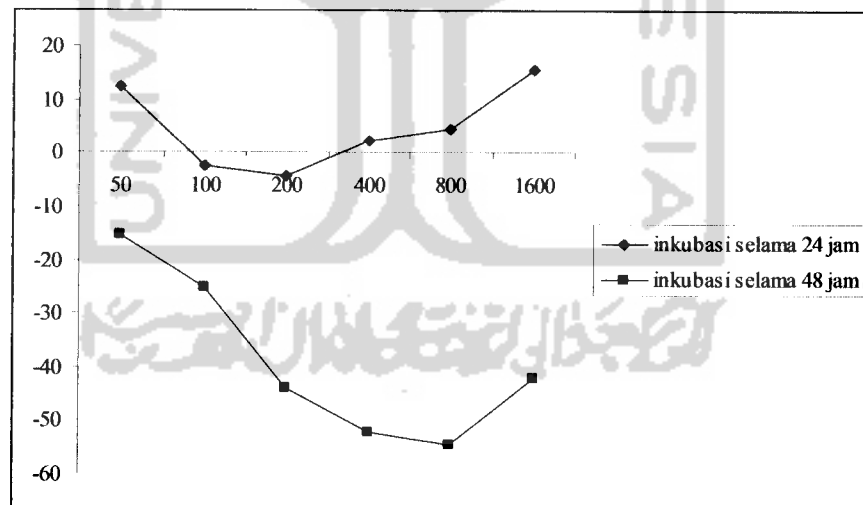
Gambar 8 menunjukkan bahwa pertumbuhan sel Raji yang diberi perlakuan DMSO masih banyak sel yang hidup jika dibandingkan dengan pertumbuhan sel Raji yang diberi perlakuan ekstrak. Hal ini berarti DMSO yang digunakan sebagai pelarut tidak mempengaruhi pertumbuhan sel Raji, sehingga pengaruh DMSO terhadap pertumbuhan sel dapat diabaikan.

Hasil yang diperoleh adalah absorbansi dari tiap sumuran. Nilai absorbansi yang tinggi mencerminkan bahwa banyak sel yang masih hidup karena garam tetrazolium MTT akan direduksi oleh sistem reduktase suksinat tetrazolium dalam rantai respirasi mitokondria aktif menjadi formazan sehingga hanya sel hidup yang mampu menyerap formazan yang berwarna ungu. Hasil penghitungan % kematian sel pada berbagai seri kadar dapat dilihat pada tabel I :

**Tabel I. Kadar ekstrak vs % kematian sel pada inkubasi selama 24 jam dan 48 jam**

Kadar ( $\mu\text{g/mL}$ )	% kematian	
	24 jam	48 jam
50	12,555	-15,377
100	-2,601	-25,216
200	-4,290	-43,742
400	2,437	-52,101
800	4,489	-54,461
1600	15,507	-42,079

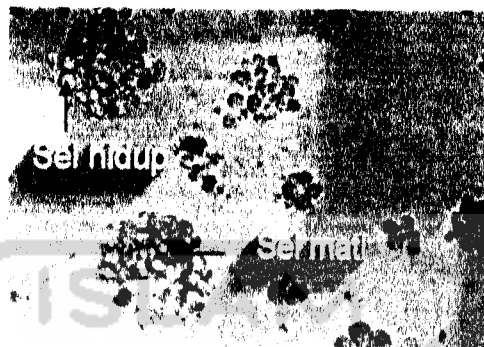
Dari tabel tersebut dapat ditentukan kadar ekstrak tertinggi yang mampu mematikan sel sebesar 15,507% populasi sel adalah kadar 1600  $\mu\text{g/mL}$  pada waktu inkubasi 24 jam sedangkan pada waktu inkubasi 48 jam ekstrak tidak menimbulkan kematian sel karena nilai % kematian sel negatif. Uji ini dilakukan tiap 24 jam sekali dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh senyawa uji terhadap penghambatan pertumbuhan sel. Berdasarkan tabel tersebut diketahui bahwa nilai % kematian pada waktu inkubasi 48 jam lebih rendah dari % kematian pada waktu inkubasi 24 jam sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak kloroform biji *Nephelium lappaceum*, L var. *aceh lebak bulus* tidak menghambat pertumbuhan sel Raji. Berikut grafik kadar ekstrak vs % kematian sel :



**Gambar 9. Kadar ekstrak vs % kematian sel pada inkubasi selama 24 jam dan 48 jam.**

Dari gambar 9 dapat dilihat bahwa semakin besar kadar maka nilai % kematian sel akan semakin besar dan terlihat bahwa % kematian lebih besar saat inkubasi 24 jam. Dari grafik juga dapat diketahui bahwa potensi ketoksikan lebih besar saat inkubasi 24 jam.

Potensi ketoksikan ekstrak kloroform biji rambutan dapat dilihat secara mikroskopik dengan membandingkan morfologi sel Raji pada kontrol dan sel yang diberi perlakuan ekstrak. Pada gambar dapat dilihat bahwa yang normal berbentuk bulat sempurna sedangkan sel Raji yang mati berwarna hitam dan mengkerut. Hal ini ditunjukkan pada gambar 10 :



**Gambar 10. Sel Raji secara mikroskopik dengan perbesaran 100x**

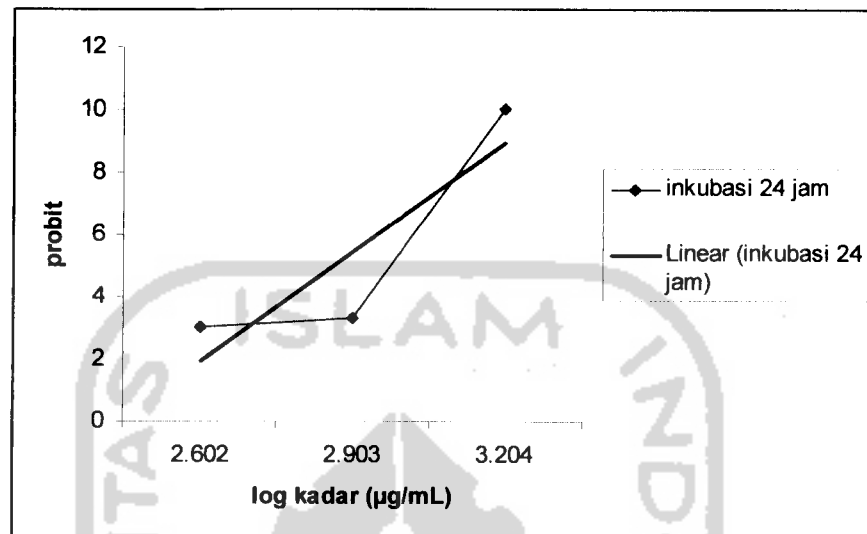
Dari gambar 10 dapat dilihat bahwa sel Raji hidup berbentuk bulat sempurna sedangkan sel Raji yang mati mengkerut dan berwarna lebih gelap

Hasil perhitungan % kematian sel kemudian dihitung dengan metode probit dengan cara memasukkan nilai % kematian sel ke dalam tabel probit. Tabel probit ini memiliki kelemahan yaitu nilai yang terhitung hanya nilai positif saja sehingga nilai % kematian sel hanya dihitung pada inkubasi 24 jam pada 3 data terakhir. Potensi ketoksikan ekstrak pada inkubasi 24 jam dan 48 jam dapat dilihat pada tabel II :

**Tabel II. Potensi ketoksikan pada inkubasi 24 jam**

Kadar ( $\mu\text{g/mL}$ )	Log kadar	% kematian sel		Angka probit	
		24 jam	48 jam	24 jam	48 jam
50	1,6989	12,555	-15,377	-	-
100	2	-2,601	-25,216	-	-
200	2,301	-4,290	-43,742	-	-
400	2,602	2,437	-52,101	3,0192	-
800	2,903	4,489	-54,461	3,2988	-
1600	3,204	15,507	-42,079	9,9804	-

Dari tabel II dibuat grafik antara log kadar vs probit yang meliputi 3 kadar terakhir. Sebagai pembanding grafik inkubasi 24 jam dibuat garis linier untuk melihat penyimpangan data yang terjadi. Grafik log kadar vs probit dapat dilihat pada gambar :



**Gambar 11. Grafik antara log kadar vs probit pada inkubasi 24 jam.**

Dari gambar 11 dapat dilihat bahwa log kadar berbanding lurus dengan angka probit. Semakin besar log kadar maka angka probit akan semakin besar.

Dari gambar 11, terlihat bahwa terdapat penyimpangan data karena ada titik yang melebar dari garis linier. Dari hasil perhitungan menggunakan tabel probit diperoleh nilai  $LC_{50}$  89,446 mg/mL. Berdasarkan nilai  $LC_{50}$  tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak kloroform biji rambutan (*Nephelium Lappaceum*, L) var. *aceh lebak bulus* tidak poten untuk membunuh sel Raji, karena dibutuhkan kadar ekstrak sebesar 89,446 mg/mL untuk membunuh 50% populasi sel Raji. Hal ini disebabkan oleh struktur asam oleat yang diduga memiliki aktifitas sebagai sitotoksik hanya memiliki 1 ikatan rangkap sehingga kurang berpotensi sebagai agen sitotoksik namun cenderung bersifat sebagai antioksidan.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. KESIMPULAN**

Ekstrak kloroform biji rambutan (*Nephelium lappaceum*, L) var. *aceh lebak bulus* memiliki nilai  $LC_{50}$  89,446 sebesar mg /mL yang menunjukkan bahwa ekstrak kloroform tersebut tidak bersifat sitotoksik terhadap sel Raji.

#### **B. SARAN**

1. Mengingat tingginya angka kematian akibat kanker maka perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang obat antikanker baru yang lebih efektif dan efisien.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang keefektifan asam oleat sebagai obat antikanker mengingat asam oleat efektif dalam menghambat kanker payudara pada penelitian secara *invivo*.
3. Perlu dicari cara yang efektif untuk memisahkan asam oleat dari ekstrak kloroform biji rambutan (*Nephelium lappaceum*, L) dengan cara hidrolisis menggunakan metanol.

## DAFTAR PUSTAKA

- Albert, B., D., Lewis, J., Raff, J., Robert, K., Watson, J.D., 1994, *Molecular Biology of the cell* 3<sup>rd</sup> ed, Garland Publ. Inc., New York
- Alfieri, C., Birkenbach, M., and Kieff, E., 1991, Early Events in Epstein-Barr Virus Infection of Human B-Lymphocytes, *J.Virology*, 141, 221-234
- Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 17.
- Anonim, 1997, *Contaminant Analysis Technique*, available at <http://www.csp.trentu.ca/csjpgd/> (diakses 9 Desember 2005)
- Anonim, 2001<sup>a</sup>, *Raji cell*, available at <http://www.Biotech.ist.unique> (diakses 13 Oktober 2005)
- Anonim, 2001<sup>b</sup>, *Myeloma Cell Line Preparation*, available at <http://www.rit.edu/~gtfsbi/hytc/myeloma.htm> (diakses tanggal 10 Desember 2005)
- Anonim, 2001<sup>c</sup>, *MTT Cell Proliferation Assay Instruction*, available at <http://www.atcc.org/pdf/30-1010k> (diakses tanggal 10 Desember 2005)
- Anonim, 2002, *Teknologi Tepat Guna*, available at <http://www.ipitek.net.id>, (diakses 15 Desember 2005)
- Anonim, 2003, *Nephelium lappaceum*, available at <http://www.montosogardens.com> (diakses 13 Agustus 2005)
- Anonim, 2005<sup>a</sup>, *Burkitt's Lymphoma*, available at <http://webbugs.wustl.edu/docs/burkitts.html> (diakses 27 Desember 2005)
- Anonim, 2005<sup>b</sup>, *Burkitt's Lymphoma*, available at <http://www.emedicine.com/med/topic256.htm> (diakses 27 Desember 2005)
- Anonim, 2005<sup>c</sup>, *Cell Cycle In Cancer*, available at [http://www.cyclacel.com/cyclacel science/ apoptopsis.htm](http://www.cyclacel.com/cyclacel%20science/apoptosis.htm) (diakses 10 Desember 2005)

- Anonim, 2005<sup>d</sup>, *Nephelium lappaceum* (sapindaceae), available at <http://www.montosogardens.com> (diakses 13 Agustus 2005)
- Anonim, 2005<sup>e</sup>, *Olive Oil May Protect Against Breast Cancer*, available at <http://www.medicinenet.com/script/main/art.asp?articlekey=41386> (diakses 10 November 2005)
- Anonim, 2005<sup>f</sup>, *Raji revisited : cytogenetics of the original Burkitt's lymphoma cell line*, available at <http://www.nature.com/leu/jurnal/v19/n1/full/2403534a.html> (diakses 29 November 2005)
- Anonim, 2005<sup>g</sup>, *Cancer Overview*, available at [http://www.rush.edu/rume/page\\_p07300.html](http://www.rush.edu/rume/page_p07300.html) (diakses 14 Desember 2005)
- Anonim, 2005<sup>h</sup>, *The Cell Cycle*, available at <http://www.cancerquest.com> (diakses 14 Desember 2005)
- Anonim, 2005<sup>i</sup>, *Non-Hodgkin Lymphoma: Classification*, available at <http://www.med-ed.virginia.edu/courses/path/innes/wcd/index.cfm> (diakses 27 juni 2006)
- Anonim, 2006<sup>a</sup>, *Cell Cycle*, available at <http://www.cancerline.com/cancerlinehcp/registration.asp> (diakses 26 Juni 2006)
- Anonim, 2006<sup>b</sup>, *Product Name : MTT*, available at <http://www.dojindo.com/products.html> (diakses 7 Juli 2006)
- Arcinas, M., Heckman, C.A., Mehew, J.W., and Boxer, L.M., 2001, *Molecular Mechanism of Transcriptional Control of bcl-2 and c-myc in Follicular and Transformed Lymphoma*, *Cancer Res.*, 61, 5202-5206
- Backer, C.A., and Bakhuizen Van Den Brink, R.C., 1965, *Flora of Java*, N.V.P. Noordhroff-Gronigen-The Netherlands, Leyden
- Benards, R, 2005, *Cell cycle regulation and cancer*, available at [http://streaming.cineca.it//sistri\\_courses/cancgen/img/Benards/images005\\_b.gif](http://streaming.cineca.it//sistri_courses/cancgen/img/Benards/images005_b.gif) (diakses 9 Desember 2005)
- Bosman, F., T., 1999, *Aspek-aspek Fundamental Kanker, Onkologi*, diterjemahkan oleh Arjono, ed. Ke V, Panitia Kanker RSUP Dr Sardjito, Jakarta



- Cassarett, L., J., and Doull, J., 1975, *Toxicology, The Basic Science of Poison*, 19-21, 112-113, Macmillan Publishing, Co. Inc., New York
- Corwin, E. J., 1997, *Buku Saku Patofisiologi*, diterjemahkan oleh Brahm U. Pedit, Penerbit EGC, Jakarta
- Dalimarta, S., 2004, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Penerbit Trubus Agriwidya, Jakarta
- Freshney, R. I., 2000, *Animal Cell Culture, a Practical Approach*, 2<sup>nd</sup> edition, IRL press, Washington DC, 3-214.
- Gibbs, J. B., 2000, *Mechanism Based Target Identification and drug Disc in Cancer Research*, Science, 287,1970.
- Huang, D.P, HO, H.C., Mun, H.NG., and lui, M., 1997, Possible Tranformation of Nasopharyngeal Epithelial Cells in Culture with Epstein-Barr Virus from B95-8 Cells, *Br.J.Cancer*, 35, 630-634
- Kanda, K., Hu, H.M., Zhang, L., Grand Champs, J., and Boxer, L.M, 2000, NF-kappa B activity is required for the deregulation of c-myc expression by the immunoglobulin heavy chain enhancer, *J.Biol.Chem*, 10, 1074
- Kieff, E., 1996, Epstein Barr Virus and Its Replication, *J. of Virology*, 2, 2343-2396
- King, R. J. B., 2000, *Cancer Biology*, 2<sup>nd</sup> ed., Pearson Education Limited, London
- Loomis, T.A., 1978, *Toksikologi Dasar*, Lea dan Febiger, Philadelphia, diterjemahkan oleh Donatus, I. A., 16-331, 180-2338, Fakultas Farmasi UGM, Jogjakarta
- Menendez, J. A., Vellon L., Colomer R., Lupu R., 2005, *Oleic acid, the main monounsaturated fatty acid of olive oil, suppresses Her-2/neu (erbB-2) expression and synergistically enhances the growth inhibitory effects of trastuzumab (Herceptin<sup>TM</sup>) in breast cancer cells with Her-2/neu oncogene amplification, available at <http://www.intl-announc.oxfordjournals.org/cgi/content/full/16/3/359> (diakses tanggal 10 November 2005)*
- Ottonello, L. Moreno, P., Mancini, M. Amelotti, M., and Dallegri, F., 1999, FMLP and TNF-Stimulated Monoclonal Lym-1 Antibody-Dependent Lysis of B-

lymphoblastoid Tumor Targets by Neutrophils, *Br.J. cancer*, 80 (3), 331-337

Raiter, A., Novogrodsky, A. and Hardy, B., 1999, *Activation of lymphocytes by BAT and Anti CTLA-4 Comparison of Binding to T and B cells*, *Immunol.Lett* 69 (2), 247251

Rickinson, A.B., Young, L.S., and Rowe, M., 1987, Influence of The Epstein-Barr Virus Nuclear Antigen EBNA 2 on The Growth Phenotype of Virus-Transformed B-cells, *J.Virology*, 61,1310-1317

Sumarno, 2003, *Analisis Instrumen I*, UGM Press, Yogyakarta

Tada, H., Shiho, O., Kuroshima, K., Koyama, M., Tsukamoto, K., 1986, An Improved Colorimetric Assay for Interleukin-2, *J. Immunological methods*, 93, 156-157

Tjay, Tan Hoan dan Rahardja, Kirana, 2002, *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan Dan Efek-Efek Sampingnya*, Penerbit Gramedia Jakarta, 206-219.

Tjindarbumi, D., dan Mangunkusumo, R., 2002, *Cancer in Indonesia, Present and Future*, Jpn. Clin. Oncol

Tortora, Gerard, J., 2000, *Principles of Anatomy and Physiology, 9 th ed.*, Von Hoffmann Press, inc., New York

Wallin, Richard F., 1998, *A Practical Guide to ISO 10993-5*, available at <http://www.devicelink.com/mddi/archive/98/04/013.html> (diakses tanggal 23 Juli 2006)

Wild Geoff and de Konning Jason, 1997, *Contaminant Analysis Technique*, available at <http://www.csp.trentu.ca/csjpgd/> (diakses 9 Desember 2005)

Zee, T., 1995, *Rambutan*, available at <http://www.hotpurdue.edu/cropfactsheets/Rambutan.html> (diakses 13 Agustus 2005)

## Lampiran 1. Surat keterangan identifikasi rambutan

**UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
JURUSAN FARMASI FMIPA UII  
BAGIAN BIOLOGI FARMASI**

---

Alamat : Jl.Kaliurang Km 14,4 Yogyakarta  
Telpon : (0274) 895920 Ext. 3033

**SURAT KETERANGAN**  
Nomor:57/ UII/Jur Far/ det/II/2006

Yang bertanda tangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi FMIPA UII menerangkan bahwa:

Nama : Nita Widhatiningsih  
NIM : 02613197  
Pada Tanggal : 2 Februari 2006

Telah mendeterminasi 1 (satu) species tanaman dengan bimbingan Dra. Iyok Budiarti, di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII.

Tanaman tersebut: *Nephelium lappaceum*,L (rambutan)

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan semestinya.

Yogyakarta, 3 Februari 2006  
Bagian Biologi Farmasi  
Kepala



Asih Triastuti, S.F., Apt  
NIP. 03.469/MP

## Lampiran 2. Data identifikasi asam oleat murni dengan kromatografi gas

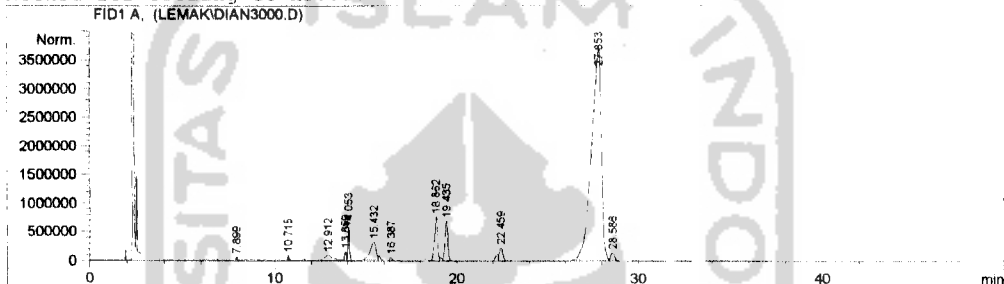
Data File C:\HPCHEM\1\DATA\LEMAK\DIAN3000.D

Sample Name: Ester biji Rambu

Dian 1 Ester Biji Rambutan Spiking Met.Oleat;160-4-40-2  
50;5ul;Chrompack CP-Sil 5 CB 50 meter; FID; Split 70; f  
80 HP 5890 Series II

```
=====
Injection Date   : 3/14/06 3:34:11 PM
Sample Name     : Ester biji Rambu           Vial :    1
Acq. Operator   : Maryati
                                           Inj Volume : Manually

Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\OLEAT.M
Last changed    : 3/14/06 3:46:06 PM by Maryati
                 (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\OLEAT.M
Last changed    : 3/15/06 12:47:37 PM by Maryati
                 (modified after loading)
Method for cooling GC HP5890
FID1 A, (LEMAKDIAN3000.D)
=====
```



### Area Percent Report

```
Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area counts*s	Height [counts]	Area
1	7.899	VP	0.0497	1.54701e5	4.78541e4	0.08853
2	10.715	BB	0.0704	3.70366e5	8.24987e4	0.21194
3	12.912	BV	0.4257	2.68437e6	8.95647e4	1.53611
4	13.859	VV	0.1027	1.01494e6	1.50463e5	0.58079
5	14.053	VB	0.0992	3.40771e6	5.28618e5	1.95004
6	15.432	BV	0.3378	7.24342e6	3.10873e5	4.14499
7	16.387	PB	0.1230	4.00133e5	5.13107e4	0.22897
8	18.862	VV	0.1640	8.26859e6	7.65653e5	4.73164
9	19.435	VB	0.1577	6.98342e6	6.92370e5	3.99621
10	22.459	VB	0.2024	2.94165e6	2.19394e5	1.68333
11	27.853	BV	0.4866	1.39362e8	3.69049e6	79.74898
12	28.586	VV	0.2201	1.91959e6	1.34860e5	1.09847

Totals : 1.74751e8 6.76395e6

Results obtained with enhanced integrator!

\*\*\* End of Report \*\*\*

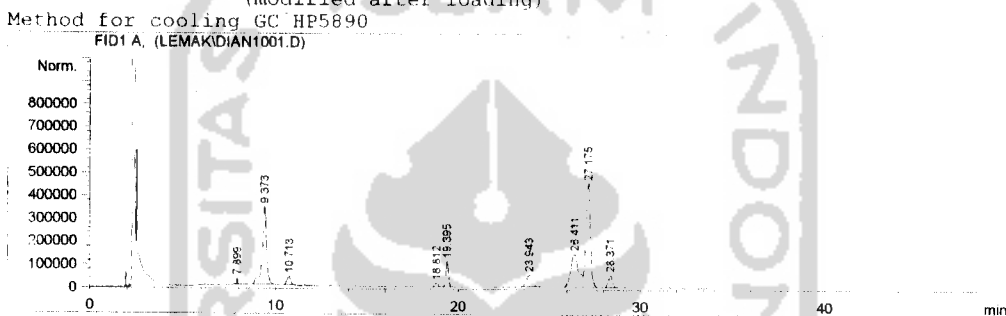
**Lampiran 3. Data identifikasi kandungan kimia ekstrak kloroform biji Rambutan (*Nephelium lappaceum*, L) var. Aceh Lebak Bulus Dengan kromatografi gas.**

Data File C:\HPCHEM\1\DATA\LEMAK\DIAN1001.D

Sample Name: Ester biji Rambu

Dian 1 Ester Biji Rambutan;160-4-40-250;5ul;Chrompack C  
P-Sil 5 CB 50 meter; FID; Split 70; f80 HP 5890 Series  
II

```
=====
Injection Date   : 3/14/06 2:20:43 PM
Sample Name     : Ester biji Rambu           Vial : 1
Acq. Operator   : Maryati
Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\OLEAT.M
Last changed    : 3/14/06 2:18:08 PM by Maryati
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\OLEAT.M
Last changed    : 3/14/06 3:46:06 PM by Maryati
                  (modified after loading)
Inj Volume      : Manually
Method for cooling GC HP5890
FID1 A, (LEMAKDIAN1001.D)
=====
```



```
=====
Area Percent Report
=====
```

```
Sorted By      : Signal
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
```

Signal 1: FID1 A,

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area counts*s	Height [counts]	Area
1	7.899	VB	0.0497	9.47339e4	2.93521e4	0.45245
2	9.373	BB	0.2096	5.28796e6	3.39778e5	25.25512
3	10.713	BB	0.1889	5.87122e5	4.05645e4	2.80408
4	18.812	BB	0.1763	1.89099e5	1.57234e4	0.90313
5	19.395	BB	0.1559	1.09754e6	1.10491e5	5.24183
6	23.943	BB	0.3641	1.17867e6	5.05344e4	5.62930
7	26.411	BV	0.4408	4.26007e6	1.42492e5	20.34592
8	27.175	VB	0.2481	7.44107e6	4.51816e5	35.53827
9	28.371	BP	0.2362	8.01912e5	5.19258e4	3.82990

```
Totals :                2.09382e7  1.23268e6
```

Results obtained with enhanced integrator!

```
=====
*** End of Report ***
=====
```

### Lampiran 4. Data ELISA reader pada inkubasi 24 jam

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
H	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.029	0.033	0.002	0.002	0.004
B	0.355	0.544	0.527	0.534	0.137	0.277	0.344	0.619	0.567	0.614	0.301	0.360
C	0.328	0.564	0.532	0.676	0.198	0.201	0.334	0.705	0.557	0.611	0.326	0.360
D	0.242	0.550	0.713	0.695	0.224	0.119	0.297	0.545	0.602	0.614	0.311	0.345
E	0.203	0.645	0.567	0.656	0.311	0.201	0.324	0.700	0.616	0.375	0.335	0.307
F	0.325	0.574	0.547	0.630	0.327	0.309	0.323	0.299	0.605	0.595	0.313	0.340
G	0.338	0.544	0.606	0.613	0.336	0.329	0.342	0.323	0.557	0.590	0.324	0.344
H	0.001	0.000	0.000	0.001	0.014	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000

#### Keterangan :

A 1-12 : kosong

H 1-12 : kosong

B 2-4, C 2-4, D 2-4, E 2-4, F 2-4, G 2-4 : Media RPMI + Ekstrak Kloroform biji *N. lappaceum*, L + sel Raji (perlakuan)

B 5-7, C 5-7, D 5-7, E 5-7, F 5-7, G 5-7 : Media RPMI + Ekstrak Kloroform biji *N. lappaceum*, L + DMSO (kontrol)

B 8, C 8, D 8 : Media RPMI + Sel Raji (kontrol media)

E 8, F 8, G 8 : Media RPMI

B 9-10, C 9-10, D 9-10, E 9-10, F 9-10, G 9-10 : variasi kadar DMSO + Sel Raji

B 1, 11-12; C 1, 11-12, D 1, 11-12, E 1, 11-12, F 1, 11-12, G 1, 11-12 : variasi kadar DMSO

### Lampiran 5. Data ELISA reader pada inkubasi 48 jam

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
H	0,000	0,004	0,007	0,005	0,002	0,003	0,004	0,005	0,040	0,035	0,018	0,001	A
e	0,280	0,616	0,604	0,587	0,346	0,380	0,353	0,566	0,566	0,563	0,044	0,070	B
g	0,260	0,621	0,588	0,600	0,313	0,337	0,342	0,320	0,556	0,570	0,037	0,075	C
d	0,359	0,658	0,648	0,631	0,394	0,332	0,323	0,510	0,573	0,517	0,023	0,055	D
E	0,380	0,686	0,657	0,657	0,317	0,348	0,336	0,310	0,585	0,615	0,024	0,051	E
F	0,240	0,602	0,651	0,534	0,313	0,315	0,321	0,312	0,621	0,391	0,017	0,052	F
g	0,352	0,634	0,607	0,646	0,210	0,316	0,333	0,329	0,564	0,573	0,021	0,033	G
H	0,000	0,006	0,006	0,004	0,005	0,003	0,003	0,004	0,004	0,004	0,007	0,000	H

#### Keterangan :

A 1-12 : kosong

H 1-12 : kosong

B 2-4, C 2-4, D 2-4, E 2-4, F 2-4, G 2-4 : Media RPMI + Ekstrak Kloroform biji *N. lappaceum*, L + sel Raji (perlakuan)

B 5-7, C 5-7, D 5-7, E 5-7, F 5-7, G 5-7 : Media RPMI + Ekstrak Kloroform biji *N. lappaceum*, L + DMSO (kontrol)

B 8, C 8, D 8 : Media RPMI + Sel Raji (kontrol media)

E 8, F 8, G 8 : Media RPMI

B 9-10, C 9-10, D 9-10, E 9-10, F 9-10, G 9-10 : variasi kadar DMSO + Sel Raji

B 1, 11-12; C 1, 11-12, D 1, 11-12, E 1, 11-12, F 1, 11-12, G 1, 11-12 : variasi kadar DMSO

**Lampiran 6. Data Hasil % kematian sel pada inkubasi 24 jam**

Kadar ( $\mu\text{g/mL}$ )	% kematian sel			
	Replikasi I	Replikasi 2	Replikasi 3	X $\pm$ SD
50	2,508	27,9	7,256	12,555 $\pm$ 13,499
100	-14,734	21,127	-14,196	-2,601 $\pm$ 20,551
200	-5,329	6,338	-13,880	-4,290 $\pm$ 10,149
400	-4,389	16,432	-4,732	2,437 $\pm$ 12,121
800	-10,345	20,657	3,155	4,489 $\pm$ 15,544
1600	4,075	27,934	14,511	15,507 $\pm$ 11,961

Keterangan :

X = rata-rata % kematian

SD = simpangan deviasi

$$\%kematian = \frac{(C - D) - (A - B)}{(C - D)} \times 100\%$$

A = absorbansi sampel / ekstrak + sel

B = absorbansi sampel / ekstrak + media

C = absorbansi media + sel

D = absorbansi media



**Lampiran 7. Data Hasil % kematian sel pada inkubasi 48 jam**

Kadar ( $\mu\text{g/mL}$ )	% kematian sel			
	Replikasi I	Replikasi 2	Replikasi 3	X $\pm$ SD
50	-1,504	-22,115	-22,513	-15,377 $\pm$ 12,016
100	-14,662	-20,673	-40,314	-25,216 $\pm$ 13,416
200	-18,045	-51,923	-61,257	-43,742 $\pm$ 22,738
400	-38,722	-49,519	-68,068	-52,101 $\pm$ 14,843
800	-37,970	-61,538	-63,874	-54,461 $\pm$ 14,329
1600	-14,286	-48,077	-63,874	-42,079 $\pm$ 25,332

Keterangan :

X = rata-rata % kematian

SD = simpangan deviasi

$$\%kematian = \frac{(C - D) - (A - B)}{(C - D)} \times 100\%$$

A = absorbansi sampel / ekstrak + sel

B = absorbansi sampel / ekstrak + media

C = absorbansi media + sel

D = absorbansi media

### Lampiran 8. Hasil perhitungan LC<sub>50</sub>

LR I

X = % Kematian

Y = Angka Probit

X	Y
2,437	3,0192
4,489	3,2988
15,507	9,9804

$$r = 0,994$$

$$a = 1,266$$

$$b = 0,557$$

$$y = bx + a$$

$$y = 0,557x + 1,266 \rightarrow x = 50\%$$

$$y = (0,557 \times 50\%) + 1,266$$

$$y = 29,116$$

LR II

X = Log dosis

Y = Angka Probit

X	Y
Log 400 = 2,602	3,0192
Log 800 = 2,903	3,2988
Log 1600 = 3,204	9,9804

$$r = 0,883$$

$$a = -28,134$$

$$b = 11,562$$

$$y = bx + a$$

$$y = 11,562x + -28,134 \rightarrow y = 29,116$$

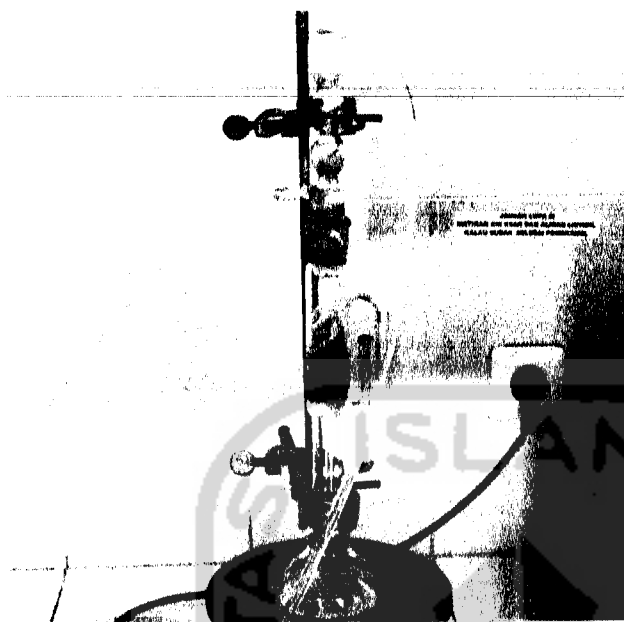
$$29,116 = 11,562x - 28,134$$

$$x = 4,952$$

$$\text{Log LC}_{50} = 4,952$$

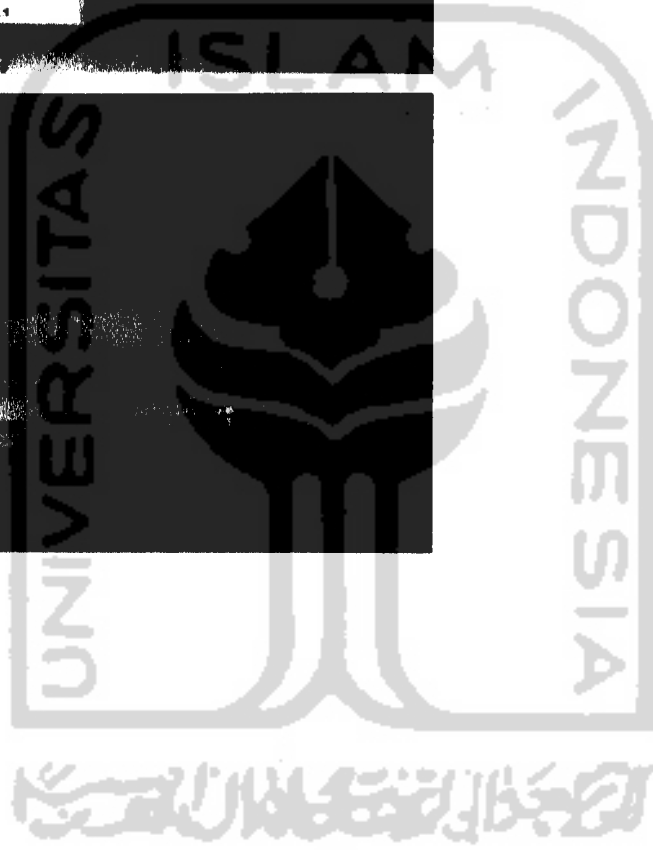
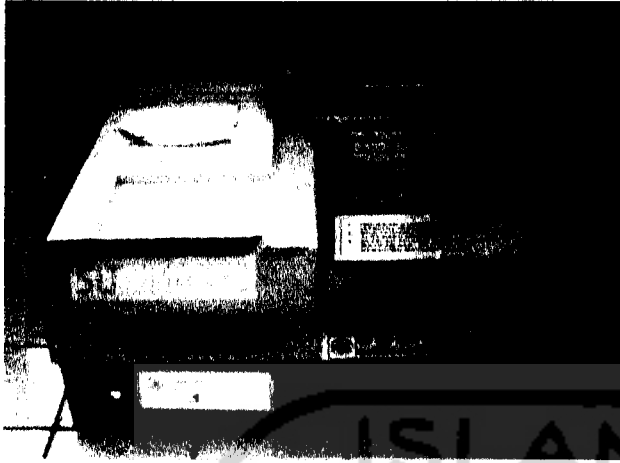
$$\text{LC}_{50} = 89446,937 \mu\text{g/mL}$$

**Lampiran 9. Foto Mesin Penyerbuk**

**Lampiran 10. Foto Alat Soxhlet**

**Lampiran 11. Foto Rotary Evaporator**

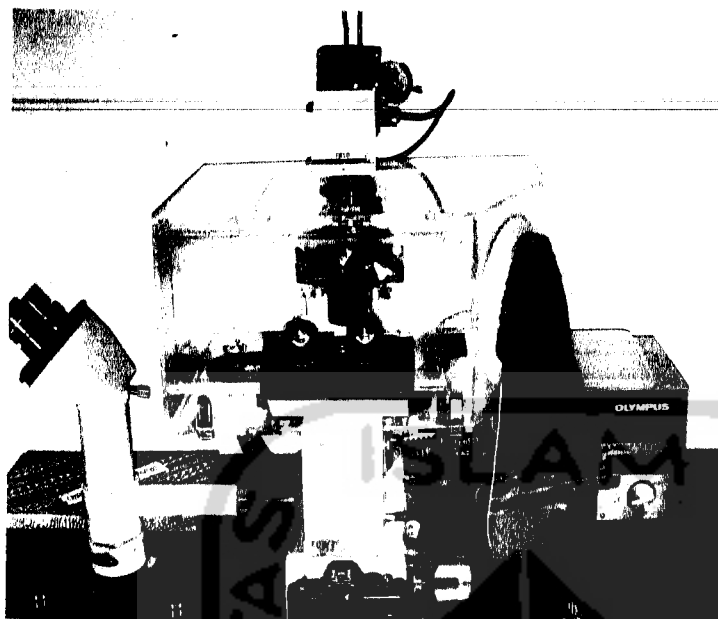
**Lampiran 12. Foto ELISA Reader**



Lampiran 13. Foto LAF Cabinet



#### Lampiran 14. Foto Mikroskop Elektron





Lampiran 15. Foto sel Raji pada kadar ekstrak 400  $\mu\text{g/mL}$  (a) dan 800  $\mu\text{g/mL}$  (b) pada inkubasi 24 jam



(a)

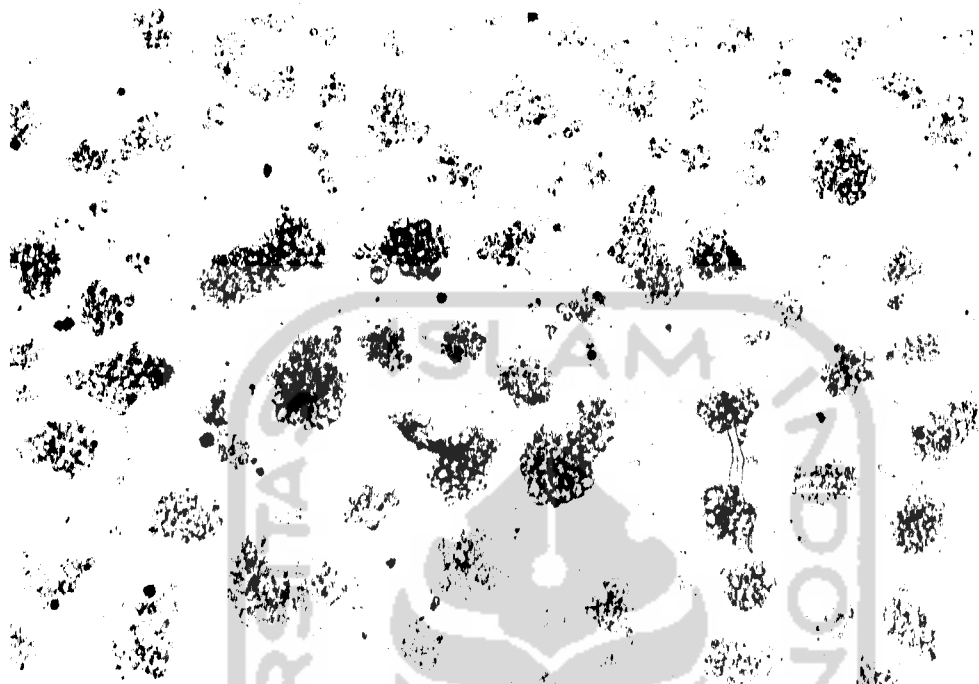


(b)

**Lampiran 16. Foto sel Raji pada kadar ekstrak 1600  $\mu\text{g/mL}$  24 jam**



Lampiran 17. Foto sel Raji+DMSO (1600  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) (a) dan sel+RPMI (b) inkubasi 24 jam



(a)



(b)