

**UJI AKTIVITAS FRAKSI ETIL ASETAT DARI EKSTRAK
ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium Guajava L.*) SEBAGAI
ANTI KANKER PAYUDARA DALAM BENTUK SEDIAAN
SNEDDS (*Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System*) SECARA
IN VITRO**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Gelar Sarjana Sains (S.Si.) pada Program Studi Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia
Yogyakarta



Disusun oleh:

EDHA TIA AMALIA RUMADAUL

No. Mahasiswa : 16612046

PROGRAM STUDI KIMIA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

YOGYAKARTA

2020

**UJI AKTIVITAS FRAKSI ETIL ASETAT DARI EKSTRAK
ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium Guajava L.*) SEBAGAI
ANTI KANKER PAYUDARA DALAM BENTUK SEDIAAN
SNEDDS (*Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System*) SECARA
IN VITRO**

SKRIPSI

yang diajukan oleh :

EDHA TIA AMALIA RUMADAUL

No. Mahasiswa : 16612046

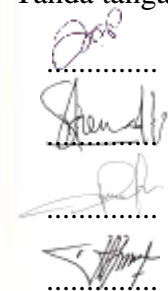
Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Prodi Ilmu Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 15 Oktober 2020

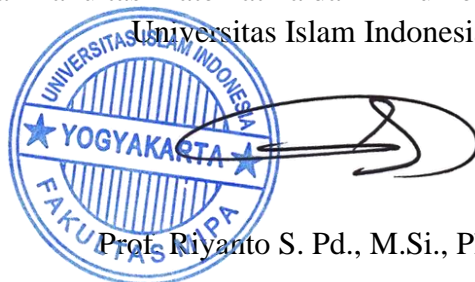
Dewan Penguji

1. Nurcahyo Iman Prakoso, S.Si., M.Sc.
2. Dhina Fitriastuti, S.Si., M.Sc.
3. Amri Setyawati, S.Si., M.Sc.
4. Febi Indah Fajarwati, S.si., M.Sc

Tanda tangan



Mengetahui,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



Prof. Riyanto S. Pd., M.Si., Ph.D

HALAMAN PERSEMBAHAN

Segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya. Sehinggasaya dapat menyusun dan menyelesaikan laporan skripsi ini di tengah wabah COVID-19. Untuk itu Ku persembahkan karya ini untuk orang-orang yang mengenalku, menyayangiku, mencintaiku dan secara khusus saya sampaikan banyak terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang selalu mendengarkan do'a dan memberikan segala kemudahan serta ridho-Nya hingga terselesaikannya laporan ini.
2. Mae yang selalu mendukung dan telah banyak berkorban untuk hidupku, agar kelak menjadi orang yang berguna.
3. Bapak Nur Cahyo Iman Prakoso selaku pembimbing I dan ibu Dhina Fitriastuti selaku pembimbing II dan segenap dosen Prodi Kimia FMIPA UII yang telah memberikan ilmu, bimbingan, dan dukungan.
4. Sahabat ku di Sorong Ayu (Si Sold Out), Muth (Si pengen punya pacar), Erin (Si enggak nyambung) dan Sahabat ku di jogja Elfara (Si Pacaran), Reliska (Si Nikah) dan Eldiva (Si Tempramen) Dan Terimakasih banyak telah mewarnai hidup ku, terus mendukungku. Semoga kita semua sukses di jalan masing-masing, Aminnnnn....
5. Teman Kimia B 2016, anak-anak kosan, teman-teman KKN, dan teman-teman sepembimbingan yang sama-sama berjuang denganku.
6. Dan untuk Adi Khoir Utomo, semoga cepat kelar juga kuliah Kedokteran nya. Aamiin....

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya kepada kita semua. Terselesaikannya laporan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS FRAKSI ETIL ASETAT DARI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium Guajava L.*) SEBAGAI ANTI KANKER PAYUDARA DALAM BENTUK SEDIAAN SNEDDS (*Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System*) SECARA IN VITRO”**. Ini, tentu tidak lepas dari bantuan segala pihak yang secara langsung ataupun tak langsung telah memberikan dorongan moral maupun material sehingga kami dapat memulai, mengerjakan, hingga menyelesaikan laporan skripsi ini. Untuk itu, saya menyampaikan terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang selalu mendengarkan do'a dan memberikan segala kemudahan serta ridho-Nya hingga terselesaikannya laporan ini.
2. Mae yang selalu mendukung dan telah banyak berkorban untuk hidupku, agar kelak menjadi orang yang berguna.
3. Bapak Dr. Dwiwarso Rubiyanto, S.Si., M.Sc selaku Ketua Prodi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
4. Nurcahyo Iman Prakoso, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing I dan Dhina Fitriastuti, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, serta berbagai masukan dalam penyusunan skripsi.

penulis menyadari mungkin masih terdapat kesalahan atau kekeliruan karena keterbatasan kemampuan dan pengetahuan. Harapannya semoga laporan skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan semua pihak yang membacanya.

Yogyakarta, 21 Februari 2020

Penulis

PERYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Edha Tia Amalia Rumadaul

NIM : 16612046

Program Studi : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya dengan judul **UJI AKTIVITAS FRAKSI ETIL ASETAT DARI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BJI (*Psidium Guajava L.*) SEBAGAI ANTI KANKER PAYUDARA DALAM BENTUK SEDIAAN SNEDDS (*Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System*) SECARA IN VITRO** bersifat asli dan tidak berisi material yang diterbitkan sebelumnya kecuali referensi yang disebutkan di dalam skripsi ini. Apabila terdapat kontribusi dari penulisan lain, maka penulis tersebut secara eksplisit telah disebutkan dalam skripsi ini.

Apabila dikamudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia dituntut dan diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku. Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan penuh tanggung jawab.



DAFTAR ISI

HALAMAN PERSEMBAHAN	II
KATA PENGANTAR	III
DAFTAR ISI	IV
DAFTAR GAMBAR	IXIII
DAFTAR TABEL	XI
INTISARI	XIII
ABSTRACT	XIV
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Kanker Payudara.....	7
2.2 Faktor Resiko Kemoterapi pada Pasien Kanker Payudara.....	7
2.3 Daun Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i> L.) sebagai Antikanker.....	8
2.4 Teknologi Nanopartikel sebagai Penghantaran Obat.....	10
2.5 <i>Self-Nano Emulsifying Drug Delivery Systems</i> (SNEDDS).....	11
2.6 Uji Aktivitas Antikanker Menggunakan Metode MTT Assay	13
BAB III DASAR TEORI	15
3.1 Daun Jambu Biji (<i>Psidium guajava</i> . L).....	15
3.2 Maserasi dengan Etanol 96%	16
3.3 Fraksinasi dengan Etil Asetat.....	17
3.4 <i>Self Nano-emulsifying Drug Delivery System</i> (SNEDDS).....	18
3.5 Kanker payudara	19
3.6 Sel Kanker MCF-7.....	20
3.7 Sel Kanker T47D	21
3.8 Sel Vero	22
3.9 Kemoterapi.....	23

3.10 Pengujian Sitotoksitas Secara <i>In Vitro</i>	24
3.11 Metode MTT assay	25
3.12 ELISA Reader.....	26
3.13 <i>Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)</i>	26
3.13.1 <i>Liquid Chromatography (LC)</i>	27
3.13.2 <i>Mass Spectroscopy (MS)</i>	28
3.14 <i>Transmission Electron Microscopy (TEM)</i>	29
3.15 <i>Particle Zise Analyzer (PSA)</i>	30
3.15.1 Ukuran Partikel dan Distribusi Partikel	31
3.15.2 Zeta Potensial.....	31
3.16 Hipotesis	32
BAB IV METODE PENELITIAN	33
4.1 Waktu dan Tempat.....	33
4.2 Alat dan Bahan.....	33
4.2.1 Alat.....	33
4.2.2 Bahan	33
4.3 Identifikasi Variabel.....	34
4.4 Cara Kerja.....	34
4.4 Penyiapan Daun Jambu Biji (<i>Psidium guajava L.</i>) sebagai Bahan Baku.....	34
4.5 Uji Determinasi.....	34
4.6 Ekstraksi dengan Metode Maserasi.....	34
4.7 Fraksinasi	35
4.8 Analisis dengan LC-MS/MS.....	35
4.9 Penapisan Fitokimia.....	35
4.9.1 Uji Alkaloid	35
4.9.2 Uji Flavonoid	36
4.9.3 Uji Tanin/Fenol.....	36
4.9.4 Uji Terpinoid.....	36
4.10 Pembuatan Nanoemulsi.....	36
4.11 Uji PSA	37
4.11.1 Ukuran Partikel	37
4.11.2 Zeta Potensial.....	37

4.12 Uji TEM.....	37
4.13 Uji Aktivitas Antikanker secara <i>In Vitro</i> (CCRC, 2009).....	37
4.13.1 Penyiapan Sel.....	37
4.13.2 Penel Sel.....	38
4.13.3 Penghitungan Sel Kanker.....	38
4.13.4 Peletakan Sel pada Plate	38
4.13.5 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada Plate.....	39
4.13.6 Penambahan Larutan MTT	39
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	41
5.1 Determinasi Tanaman	41
5.2 Preparasi Sampel.....	41
5.3 Ekstraksi daun jambu biji.....	41
5.4 Fraksinasi ekstrak etanol daun jambu biji (<i>Psidium guajava L.</i>)	42
5.5 Penapisan Fitokimia.....	44
5.5.1 Uji Aklaloid	44
5.5.2 Uji flavonoid	45
5.5.3 Uji Tanin/polifenol.....	46
5.5.4 Uji terpenoid	47
5.6 Analisis kandungan senyawa dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (<i>Psidium guajavaL.</i>) menggunakan LC-MS/MS	48
5.7 Pembuatan SNEDDS fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (<i>Pesidium</i> <i>guajava L.</i>)	60
5.8 Karakterisasi SNEDDS fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (<i>Pesidium</i> <i>guajava L.</i>)	62
5.8.1 Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel.....	63
5.8.2 Zeta Potensial.....	64
5.8.3 Morfologi	65
5.9 Pengujian sitotoksitas secara in vitro dengan metode MTT Assay.....	68
5.9.1 Penentuan nilai IC ₅₀ formulasi 40, 60% dan 80% terhadap sel T47D	75
5.9.2 Penentuan nilai IC ₅₀ formulasi 40, 60% dan 80% terhadap sel MCF-7.....	78
5.9.3 Penentuan nilai IC ₅₀ formulasi 40, 60% dan 80% terhadap sel Verro	80
5.9.4 Pengaruh konsentrasi fraksi dan ukuran partikel terhadap IC ₅₀	84

5.9.5 Kontrol negatif capryoll, tween 20 dan PEG terhadap sel T47D, MCF-7 dan Vero	85
5.9.6 Penentuan SI (<i>Selectivity Index</i>) terhadap sel vero	86
BAB VIKESIMPULAN DAN DARAN	87
6.1 Kesimpulan	87
6.2 Saran	87
DAFTAR PUSTAKA	88



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur senyawa yang terdapat pada daun jambu biji (<i>Psidium guajava</i> L.)	10
Gambar 2. Gambar daun jambu biji	15
Gambar 3 Morfologi sel MCF-7 (CCRC, 2009).	21
Gambar 4. Morfologi sel T47D (CCRC, 2009).....	22
Gambar 5. Morfologi sel vero(Sons, 2008).....	23
Gambar 6 Reaksi Reduksi MTT menjadi Formazan (Doyle & Grifliths, 2000)..26	
Gambar 7. Prinsip kerja TEM (Woodford, 2017).....	29
Gambar 8. Reaksi pada uji alkaloid (Setyowati dkk., 2014).....	45
Gambar 9. Reaksi flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat.....	46
Gambar 10. Reaksi uji tanin atau polifenol dengan FeCl ₃	47
Gambar 11. Reaksi pada uji terpenoid dengan pereaksi <i>Liebermann Burchard</i> (Setyowati dkk.,2014).....	48
Gambar 12. Kromatogram fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (<i>Psidium Guajava</i> L.).....	50
Gambar 13. Kromatogram senyawa yang teridentifikasi oleh LC-MS/MS, (A) waktu retensi 10.73 (B) 10.55 (C) 10.28 (D) 6.88 (E) 5.46.....	51
Gambar 14. Spektrum massa senyawa kandidat C ₃₅ H ₄₂ O ₉ ,(A) <i>low energy</i> (B) <i>highenergy</i>	53
Gambar 15. Struktur senyawa taxinine.....	54
Gambar 16. Spektrum massa senyawa kandidat C ₂₆ H ₄₈ O ₁₅ , (A) <i>low energy</i> (B) <i>high energy</i>	54
Gambar 17. Struktur senyawa oktil 4-O-[2-O-(α -L-fukopiranosil)- β -Dgalaktopiranosil]- β -Dglukopiranosida.....	55
Gambar 18. Spektrum massa senyawa kandidat C ₃₄ H ₄₀ O ₉ , (A) <i>low energy</i> (B) <i>high energy</i>	56
Gambar 19. Struktur senyawa 17-hidroksiingenol	56
Gambar 20. Spektrum massa kuersetin, (A) <i>low energy</i> (B) <i>high energy</i>	57
Gambar 21. Struktur senyawa kuersetin.....	58

Gambar 22. Spektrum massa kuersetin-3-O- α -L-arabinopiranosida, (A) <i>lowenergy</i> (B) <i>high energy</i>	59
Gambar 23. Struktur senyawa kuersetin-3-O- α -L-arabinopiranosida	59
Gambar 24. Hasil analisis TEM dengan perbesaran hingga 150.000 kali, (A) Globul (B) Air	66
Gambar 25. Morfoligo Sel sebelum dilakukan treatment (A) T47D, (B) MCF-7 dan (C) Vero.....	69
Gambar 26. Sel T47D, MCF7 dan Verro setelah <i>treatment</i> pada konsentrasi 40% dengan derat konsentrasi (a) tertinggi (1000) dan (b) terrendah (15.625) $\mu\text{g/L}$	70
Gambar 27. Sel T47D, MCF7 dan Verro setelah <i>treatment</i> pada konsentrasi 60% dengan derat konsentrasi (a) tertinggi (1000) dan (b) terrendah (15.625) $\mu\text{g/L}$	71
Gambar 28. Sel T47D, MCF7 dan Verro setelah <i>treatment</i> pada konsentrasi 80% dengan derat konsentrasi (a) tertinggi (1000) dan (b) terrendah (15,625) $\mu\text{g/L}$	72
Gambar 29. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 40% terhadap% viabilitas sel T47D.....	74
Gambar 30. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 60% terhadap% viabilitas sel T47D.	74
Gambar 31. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 80% terhadap% viabilitas sel T47D.....	75
Gambar 32. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 40% terhadap% viabilitas sel MCF-7.....	77
Gambar 33. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 60% terhadap% viabilitas sel MCF-7.....	77
Gambar 34. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 80% terhadap% viabilitas sel MCF-7.....	78

Gambar 35. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 40% terhadap%
viabilitas sel Vero.....80

Gambar 36. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 60% terhadap%
viabilitas sel Vero.....80

Gambar 37. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 80% terhadap%
viabilitas sel Vero.....81



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Absorbansi sel T47D setelah ditreatment dengan formulasi 40%.....	106
Tabel 2. Absorbansi sel T47D setelah ditreatment dengan formulasi 60%.....	106
Tabel 3. Absorbansi sel T47D setelah ditreatment dengan formulasi 80%.....	107
Tabel 4. Absorbansi sel T47D setelah ditreatment dengan formulasi 40%.....	107
Tabel 5. Absorbansi sel T47D setelah ditreatment dengan formulasi 60%.....	108
Tabel 6. Absorbansi sel T47D setelah ditreatment dengan formulasi 80%.....	108
Tabel 7. Absorbansi sel vero setelah ditreatment dengan formulasi 40%.....	109
Tabel 8. Absorbansi sel vero setelah ditreatment dengan formulasi 60%.....	109
Tabel 9. Absorbansi sel vero setelah ditreatment dengan formulasi 80%.....	110



UJI AKTIVITAS FRAKSI ETIL ASETAT DARI EKSTRAK ETANOL DAUN JAMBU BIJI (*Psidium Guajava L.*) SEBAGAI ANTI KANKER PAYUDARA DALAM BENTUK SEDIAAN SNEDDS (*Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System*) SECARA IN VITRO

INTISARI

Edha Tia Amalia Rumadaul
NIM 16612046

Obat Doxorubicin Hydrochloride yang digunakan untuk pengobatan kanker payudara masih kurang efisien dan efektif dalam pengobatannya. Oleh karena itu salah satu solusinya adalah pembuatan sediaan nanopartikel dengan bahan baku daun jambu biji daun jambu biji terbukti memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D dan MCF-7. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan sediaan obat untuk pengobatan antikanker payudara dalam bentuk sediaan nanopartikel. Proses ekstraksi daun jambu biji dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Dilanjutkan fraksinasi dengan metode kromatografi kolom menggunakan pelarut etil asetat. Hasil analisis dengan LC-MS/MS menunjukkan senyawa yang terdapat dalam fraksi adalah senyawa kandidat $C_{35}H_{42}O_9$, senyawa kandidat $C_{26}H_{48}O_{15}$, senyawa kandidat $C_{34}H_{40}O_9$, kuersetin dan kuersetin-3-O- α -L-arabinopiranosida. Pembuatan nanopartikel menggunakan metode SNEDDS dengan perbandingan minyak : surfaktan : ko-surfaktan (20:60:20) serta penambahan fraksi sebanyak 40%, 60% dan 80%. Hasil Analisis dengan PSA secara berturut-turut menunjukkan ukuran partikel sebesar 159,0 nm; 400,4 nm dan 345,2 nm, Formulasi 40%, 60% dan 80%. Berdasarkan uji sitotoksitas secara *in vitro* menggunakan metode MTT assay nilai IC_{50} yang diperoleh formulasi 40%, 60%, dan 80% terhadap sel T47D secara berturut-turut sebesar 140,68; 176,63 dan 201,98 $\mu\text{g/mL}$, terhadap sel MCF-7 sebesar 276,43; 404,75 dan 421,35 $\mu\text{g/mL}$ dan terhadap sel vero sebesar 484,95; 642,69 dan 742,48 $\mu\text{g/mL}$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa seluruh formulasi memiliki sitotoksitas moderat ($100 \mu\text{g/mL} < IC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$) terhadap seluruh sel.

Kata kunci: fraksi etil asetat, SNEDDS, sitotoksitas, sel T47D, sel MCF-7.

**ACTIVITY TEST OF ETHYLE ACETATE FRACTION FROM
ETHANOL EXTRACT OF JAMBU SEED (*Psidium Guajava L.*) AS ANTI-
BREAST CANCER IN VITRO PROVISION OF SNEDDS (Self-Nano
Emulsifying Drug Delivery System)**

ABSTRACT

**Edha Tia Amalia Rumadaul
NIM 16612046**

The drug Doxorubicin Hydrochloride which is used for the treatment of breast cancer is still less efficient and effective in its treatment. Therefore, one solution is the preparation of nanoparticles with guava leaves as the raw material, guava leaves are proven to have cytotoxic activity against T47D and MCF-7 cells. This study aims to develop drug preparations for the treatment of breast anticancer in the form of nanoparticles. The process of extracting guava leaves is carried out by maceration method using 96% ethanol as a solvent. Followed by fractionation by column chromatography method using ethyl acetate solvent. The results of the analysis by LC-MS / MS showed that the compounds contained in the fraction were candidate compounds C35H42O9, candidate compounds C26H48O15, candidate compounds C34H40O9, quercetin and quercetin-3-O- α -L-arabinopyranoside. Preparation of nanoparticles using the SNEDDS method with a ratio of oil: surfactant: co-surfactant (20:60:20) and the addition of fractions of 40%, 60% and 80%. The results of analysis with PSA showed a particle size of 159.0 nm, respectively; 400.4 nm and 345.2 nm, 40%, 60% and 80% formulations. Based on the in vitro cytotoxicity test using the MTT assay method, the IC50 value obtained 40%, 60%, and 80% formulations for T47D cells were 140.68; 176.63 and 201.98 $\mu\text{g} / \text{mL}$, for MCF-7 cells of 276.43; 404.75 and 421.35 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and for vero cells of 484.95; 642.69 and 742.48 $\mu\text{g} / \text{mL}$. These results indicated that all formulations had moderate cytotoxicity (100 $\mu\text{g} / \text{mL}$ < IC50 < 1000 $\mu\text{g} / \text{mL}$) against all cells.

Keywords: ethyl acetate fraction, SNEDDS, cytotoxicity, T47D cells, MCF-7 cells.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut World Health Organization atau WHO (2014) kanker atau biasa disebut neoplasma ganas merupakan penyakit yang muncul ketika sel-sel abnormal membelah secara tak terkendali dan menghancurkan jaringan tubuh. Kanker merupakan beban yang sangat besar di seluruh dunia, terutama bagi masyarakat di negara-negara berkembang seperti Indonesia. Jenis kanker yang banyak menyebabkan kematian diantaranya kanker paru-paru, hati, perut, kolorektal, payudara dan esofagus (WHO, 2015).

Kanker payudara adalah kondisi ketika sel kanker terbentuk di jaringan payudara. Kanker payudara bisa terbentuk di kelenjar yang menghasilkan susu (lobulus), atau di saluran (duktus) yang membawa air susu dari kelenjar ke puting payudara. Kanker payudara juga bisa terbentuk di jaringan lemak atau jaringan ikat di dalam payudara. Kanker payudara terbentuk saat sel-sel di dalam payudara tumbuh tidak normal dan tidak terkendali. Sel tersebut umumnya membentuk tumor yang terasa seperti benjolan. Meski biasanya terjadi pada wanita, kanker payudara juga bisa menyerang pria dengan perbandingan 1 : 1000 (Mulyani, 2013).

Di Indonesia, insiden kanker payudara sebesar 40,3 per 100.000 perempuan. Berdasarkan Sistem Informasi Rumah Sakit (SIRS), jumlah pasien rawat jalan maupun rawat inap pada kanker payudara terbanyak yaitu 12.014 orang (28,7%) dan kanker serviks 5.349 orang (12,8%) dari jumlah penderita kanker kurang lebih 42.000 (Rahajeng, 2014). (Robby, 2014) menyampaikan bahwa prevalensi kanker di Indonesia adalah 1,4 % setiap 1.000 penduduk atau sekitar 330 orang. Menurut data *Global Burden Cancer dalam International Agency for Research on Cancer (IARC)* diketahui bahwa kanker payudara merupakan penyakit kanker dengan persentase kasus baru (setelah dikontrol oleh umur) tertinggi, yaitu sebesar 43,3%, dan persentase kematian (setelah dikontrol oleh umur) akibat kanker payudara sebesar 12,9%. *World Health Organization (WHO)* berdasarkan data GLOBOCAN,

International Agency for Research on Cancer (IARC) tahun 2018 menyebutkan bahwa insiden kanker payudara meningkat dari 14,1 juta kasus tahun 2012 menjadi 58,256 juta kasus tahun 2018. Jumlah kematian meningkat dari 8,2 juta orang tahun 2012 menjadi 22,692 juta orang tahun 2018. Angka ini membuktikan bahwa masyarakat Indonesia sangat rentan terhadap kanker dan kanker payudara menjadi jenis penyakit kanker nomor satu dengan penderita terbanyak di Indonesia menurut catatan Kementerian Kesehatan (Basuki, dalam Widiyani 2011).

Walaupun pengobatan kanker telah berkembang pesat di Indonesia, kebanyakan pasien penderita kanker datang ke dokter pada stadium lanjut (Tjindarbuni, 2005). Kanker payudara bisa diobati dengan beberapa cara. Upaya pengobatan itu meliputi: pengobatan tradisional, terapi radiasi, terapi hormon, kemoterapi, prosedur bedah. Metode pengobatan yang paling sering di gunakan adalah kemoterapi. Kemoterapi atau biasa disebut kemo dikenal sebagai pengobatan untuk membunuh sel kanker. Metode pengobatan ini juga memiliki efek samping yang tidak sedikit. Efek samping kemoterapi muncul karena obat-obatan tersebut tidak memiliki kemampuan membedakan sel kanker yang berkembang pesat secara abnormal dengan sel sehat yang secara normal. Efek negatif akibat kemoterapi seperti rambut rontok, gangguan psikologis, dan mual. Oleh sebab itu, dibutuhkan pengembangan obat yang selektif sehingga dapat di gunakan tanpa menimbulkan efek yang fatal terhadap penderita kanker payudara.

Penelitian tentang antikanker mulai banyak dikembangkan diantaranya yaitu Dwitiyanti (2015) telah melakukan uji aktivitas terhadap sel T47D dari ekstrak etanol daun jambu biji secara *in vitro*, nilai IC_{50} yang diperoleh dari ekstrak etanol 70% daun jambu biji (*Psidium Guajava. L*) tersebut adalah sebesar 27,54 $\mu\text{g/mL}$. Nita (2019) meneliti tentang obat antikanker dari daun jambu biji (*Psidium Guajava. L*) menggunakan kultur sel. Nilai IC_{50} fraksi etanol, etil asetat, dan n-heksana berturut-turut terhadap sel T47D sebesar 279,23; 21,53; dan 8,89 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} fraksi etanol, etil asetat, dan n-heksana berturut-turut terhadap sel MCF-7 sebesar 16,15; 53,01; dan 5,04

$\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} fraksi etanol, etil asetat, dan n-heksana berturut-turut terhadap sel HeLa sebesar 72,53; 76,36; dan 48,83 $\mu\text{g/mL}$. Adapun sel kanker yang telah digunakan untuk uji aktivitas antikanker dari jambu biji (*Psidium guajava. L*) ini diantaranya adalah sel kanker prostat (Xu Y dkk., 2012), kanker usus (Lee dan Park, 2010), kanker serviks (Joseph dan Priya, 2010).

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang melimpah, ada sekitar 40.000 jenis tumbuhan dan 1.300 diantara jenis tumbuhan tersebut dapat dikembangkan sebagai tanaman obat yang sangat potensial. Terlebih lagi saat ini masyarakat Indonesia mulai melakukan *Trend Back to Nature* dalam pengobatan karena obat yang berasal dari tanaman atau obat herbal lebih mudah didapat, relatif murah, dan memiliki efek samping yang relatif rendah (Arnida dkk., 2016). Salah satu penggunaan tanaman obat tradisional yang digunakan adalah Jambu biji (*Psidium guajava. L*). Buah jambu biji (*Psidium guajava. L*) mempunyai kandungan vitamin C dan fenol yang bisa menjadi anti oksidan (Gull dkk, 2012). Buah jambu biji (*Psidium guajava. L*) memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu flavonoid, terpinoid, dan tannin (Rahmawati dkk., 2013). Menurut (Sangi dkk., 2008) buah jambu biji (*Psidium guajava. L*) juga mengandung metabolit sekunder lainnya yaitu saponin dan alkaloid. Bagian-bagian jambu biji seperti daun, buah, dan bahkan kulit memiliki potensi penggunaan sebagai agen terapi terhadap kanker (Sato dkk., 2016). Daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) juga memiliki khasiat seperti antibakteri, antioksidan, antikanker, anti ulkus (Porwal dkk., 2012).

Pada penelitian ini akan memanfaatkan daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) sebagai agen antikanker terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan T47D. Digunakannya daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) karena keberadaannya yang melimpah dan belum dimanfaatkan secara optimal sebagai pengobatan alternative kanker payudara. Kandungan senyawa bioaktif daun jambu biji yang diketahui aktif sebagai antikanker adalah katekin, galangin, asam homogentisat, asam galat, kaempferol dan sianidin 3-glukosida (Chen dkk., 2015). Dalam penelitian sebelumnya, fraksi-fraksi dari ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) dievaluasi kemampuannya untuk menghambat

pertumbuhan sel kanker paru-paru manusia (A549), payudara (MCF-7), hati (HepG2) dan usus (HT-29) dengan metode MTT assay. Polifenol yang terkandung dalam daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan karena sifat antikanker yang baik (Braga dkk., 2014).

Proses uji aktivitas antikanker dilakukan dengan melakukan preparasi sampel terlebih dahulu dengan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Kemudian dilakukan fraksinasi terhadap ekstrak kasar menggunakan pelarut organik etil asetat sebagai fase gerak. Karena fase geraknya adalah etil asetat yang bersifat semipolar, maka fraksi yang dihasilkan adalah kumpulan senyawa yang bersifat semipolar. Digunakannya pelarut etil asetat karena diperkirakan kandungan senyawa yang bersifat sebagai antikanker memiliki sifat semipolar Dwitiyanti (2015). Pada penelitian yang dilakukan oleh Maharani (2017) menunjukkan bahwa fraksi etanol-air (polar), etil asetat (semipolar) dan n-heksana (non-polar) daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) memiliki rendemen sebesar 28,12%, 47% dan 11,38%.

Fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) diubah dalam sediaan nanopartikel. Nanopartikel adalah sistem pengiriman obat terbaru yang dapat meningkatkan tingkat pengiriman obat ke reseptor (Anindhita & Oktaviani, 2016). Di pengembangan sistem pengiriman obat berdasarkan teknologi farmasi, suatu formulasi yang bisa meningkatkan kemampuan senyawa aktif untuk menembus sangat dibutuhkan, salah satunya adalah *Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS). Metode ini digunakan untuk dapat meningkatkan ketersediaan hayati zat aktif di dalam tubuh, menambah kelarutan, laju disolusi dan absorpsi zat aktif di dalam tubuh terutama untuk obat-obat yang memiliki kelarutan rendah di dalam air (Anindhita dan Oktaviani, 2016). Adapun keuntungan dari SNEDDS termasuk memiliki kemampuan untuk memberikan obat dalam bentuk terlarut dalam lumen saluran pencernaan (GI), dengan demikian menyediakan area antarmuka yang lebih besar untuk penyerapan obat. Nanoemulsi ialah sediaan yang stabil secara termodinamik, dispersi transparan dari minyak dan air yang

distabilisasi oleh interfasial film molekul surfaktan serta ko-surfaktan dan memiliki ukuran droplet kurang dari 100 nm. (Martien R dkk., 2017).

Uji aktivitas antikanker senyawa secara *invitro* menggunakan metode *Microtetrazolium* (MTT) *assay* untuk mengukur efek pencegahan pertumbuhan terhadap sel kanker payudara, sehingga dapat diketahui besarnya potensi antikanker dari ekstrak etanol. Prinsip dari metode MTT adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) oleh sistem reduktase (Avila dan Pugsley, 2011). Data yang dihasilkan digunakan untuk mengukur besarnya nilai IC₅₀. Sel uji yang dipakai dalam uji sitotoksik yaitu T47D, MCF-7 dan vero (sel normal).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang dari uraian diatas, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana formulasi pembuatan sediaan nanopartikel ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang paling optimal?
2. Komponen senyawa apakah yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) tersebut?
3. Bagaimana aktivitas sitotoksik dari sediaan SNEDDS fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan T47D sebagai antikanker?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan sebagai berikut :

1. Mengetahui formulasi sediaan nanopartikel ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang paling optimal sebagai antikanker.
2. Mengetahui komponen senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.).

3. Mengetahui aktivitas sitotoksik dari sediaan SNEDDS fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan T47D sebagai antikanker

1.4 Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini akan memberikan informasi mengenai formula yang paling optimal dalam menghambat pertumbuhan sel kanker MCF-7 dan T47D melalui uji *in vitro* yang diperoleh dari sediaan nanopartikel fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun jambu biji (*psidium guajava*. L) dalam bentuk *self-nano emulsifying drug delivery system* (SNEDDS) dengan memanfaatkan daun jambu biji (*psidium guajava*. L) sebagai bahan baku pembuatan sediaan nanopartikel untuk pengobatan alternatif kanker payudara.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker Payudara

Kanker merupakan suatu penyakit yang disebabkan pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh tidak normal (tumbuh sangat cepat dan tidak terkendali), menginfiltrasi/merembes, dan menekan jaringan tubuh sehingga mempengaruhi organ tubuh (Akmal dkk., 2010). Payudara tersusun atas kelenjar susu, jaringan lemak, kantung penghasil susu dan kelenjar getah bening. Sel abnormal bisa tumbuh di tempat bagian tersebut dan mengakibatkan kerusakan yang lambat tetapi pasti menyerang payudara (Nurchahyo, 2010). Kanker payudara merupakan jenis kanker karsinoma, karena pada umumnya tumor pada payudara bermula dari sel epitelial, sehingga kebanyakan kanker payudara dikelompokkan sebagai karsinoma (keganasan tumor epitelial) (Ariani, 2015).

Fase awal kanker payudara adalah asimtomatik (tanpa ada gejala dan tanda). Adanya benjolan atau penebalan pada payudara merupakan tanda dan gejala yang paling umum, sedangkan tanda dan gejala tingkat lanjut kanker payudara meliputi kulit cekung, retraksi atau deviasi puting susu dan nyeri, nyeri tekan atau rabas khususnya berdarah dari puting (Purwoastuti, 2012). Faktor yang berhubungan dengan kejadian kanker payudara adalah obesitas, usia melahirkan anak pertama, riwayat pemberian ASI (Air Susu Ibu), dan usia *menarche* (Anggorowati, 2013). Selain itu menurut penelitian Priyatin dkk (2013) faktor risiko lain yang dapat berpengaruh terhadap kejadian kanker payudara adalah paritas, riwayat menyusui, lama menggunakan kontrasepsi hormonal dan riwayat penyakit keluarga. Proporsi tertinggi penderita kanker payudara adalah usia >40 tahun (81,4%), perempuan (100%), menikah (97,1%) dan stadium III (49,0%) (Sinaga., dkk 2015).

2.2 Faktor Resiko Kemoterapi pada Pasien Kanker Payudara

Pengobatan kanker sangat tergantung pada jenis, lokasi dan tingkat penyebarannya. Kesehatan umum dan preferensi pasien juga menjadi bahan pertimbangan, sehingga pasien juga mengalami kesulitan untuk memutuskan

terapi, apakah menggunakan terapi modern atau terapi komplementer (Wang, 2017). Upaya pengobatan kanker payudara meliputi pengobatan tradisional, terapi radiasi, terapi hormon, kemoterapi dan prosedur bedah. Metode pengobatan yang sering digunakan adalah kemoterapi. Kemoterapi adalah penggunaan obat-obatan khusus untuk mematikan sel-sel kanker. Meskipun obat ini membunuh sel-sel kanker, mereka juga merusak beberapa sel normal, yang dapat menyebabkan efek samping.

Kemoterapi memiliki dampak dalam berbagai bidang kehidupan antara lain dampak terhadap fisik dan psikologis. Menurut Aydogan dkk (2004), efek samping sistemik kemoterapi pada kulit dapat berupa eritema atau garis hiperpigmentasi yang menyebar di sepanjang jaringan vena superfisial di anterior lengan kanan dan lengan kiri bagian distal. Sedangkan menurut American Cancer Society (2013), ketika obat kemoterapi diberikan melalui infus, obat kemoterapi tertentu dapat menggelapkan kulit sepanjang vena. Gejala pada kulit tersebut muncul selama dua minggu pertama pengobatan. Disertai dengan pruritus yang sangat rentan terhadap infeksi bakteri (Fabbrocini dkk., 2012). Dampak akan terasa lebih berat bila terjadi pada usia reproduksi karena berkaitan dengan seksualitas dan posisi perempuan sebagai istri dan ibu (Brousselle dkk., 2017).

2.3 Daun Jambu Biji (*Psidium guajava L.*) sebagai Antikanker

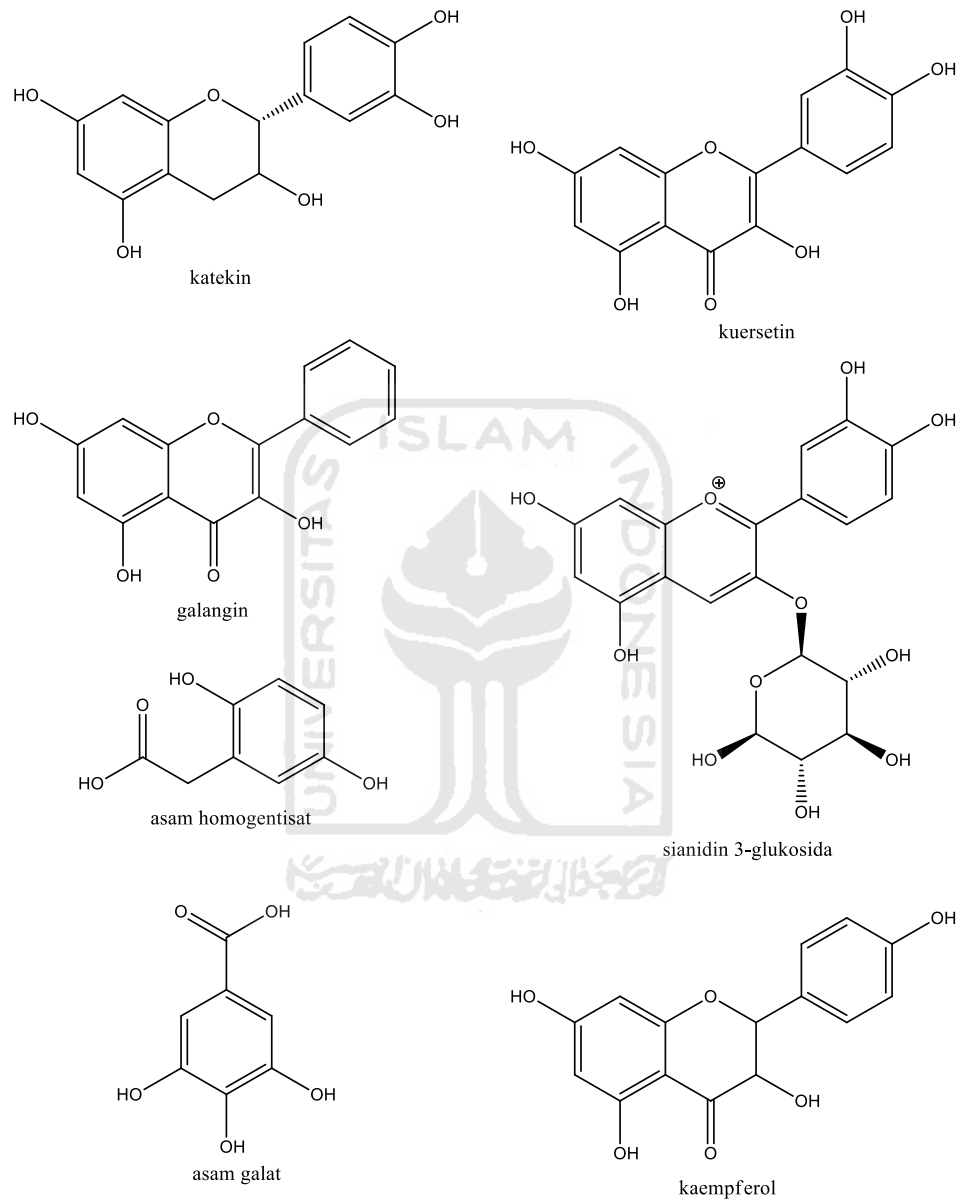
Kanker payudara merupakan salah satu penyebab kematian wanita terbanyak di dunia (WHO, 2015). Serta belum adanya terapi yang dianggap tepat untuk mengatasinya, sehingga memicu peneliti untuk menggunakan bahan alam yang dianggap memiliki potensial sebagai alternatif agen antikanker, salah satunya adalah daun jambu biji (*Psidium guajava L.*). Adapun sel kanker yang telah digunakan untuk uji aktivitas antikanker dari jambu biji (*Psidium guajava L.*) di antaranya adalah Dwitiyanti (2015) telah melakukan uji aktivitas terhadap sel T47D dari ekstrak etanol daun jambu biji secara *in vitro*, nilai IC₅₀ yang diperoleh dari ekstrak etanol 70% daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) tersebut adalah sebesar 27,54 µg/mL. Nita (2019)

melakukan uji antikanker dari daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) menggunakan kultur sel. Nilai IC₅₀ fraksi etanol, etil asetat, dan n-heksana berturut-turut terhadap sel T47D sebesar 279,23; 21,53; dan 8,89 µg/mL. Nilai IC₅₀ fraksi etanol, etil asetat, dan n-heksana berturut-turut terhadap sel MCF-7 sebesar 16,15; 53,01; dan 5,04 µg/mL. Nilai IC₅₀ fraksi etanol, etil asetat, dan n-heksana berturut-turut terhadap sel HeLa sebesar 72,53; 76,36; dan 48,83 µg/mL.

Widyasarin E (2019) melakukan uji aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 diperoleh nilai IC₅₀ ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air berturut-turut sebesar 320,4401 µg/mL, 71,473 µg/mL, 202,163 µg/mL, 244,054 µg/mL. Indeks selektivitas ekstrak etanol sebesar 4,04, fraksi n-heksana sebesar 8,52, fraksi etil asetat sebesar 6,6, dan fraksi air sebesar 12,11. Golongan senyawa kimia yang diduga memiliki aktivitas sitotoksik yaitu steroid, alkaloid, dan tanin. N-heksana adalah fraksi teraktif. Levy dan Carley (2012) melakukan uji aktivitas sitotoksik terhadap sel ov2008 dan sel kasumi dari ekstrak n-heksana daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) dengan nilai IC₅₀ 160 µL. telah terbukti oleh penelitian sebelumnya, bahwa fraksi-fraksi dari ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) dievaluasi kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan sel kanker.

Daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) digunakan sebagai pengobatan tradisional, karena mengandung senyawa bioaktif seperti katekin, galangin, asam homogentisat, asam galat, kaempferol dan sianodin 3 glikosida yang diketahui aktif sebagai antikanker (Chen dkk., 2015). Menurut penelitian Vijayakumar dkk (2015) daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) juga mengandung flavonoid, tannin (17,4 %), fenolat (575,3 mg/g), polifenol, karoten dan minyak atsiri. Adapun salah satu senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) yang memiliki potensi sebagai antikanker yaitu kuersetin (Daud M., dkk, 2011). Dalam penelitian Karyani (2005) membuktikan bahwa daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) mengandung kuersetin dalam kadar yang tinggi yaitu sebesar 61,71%. Kuersetin (3,3',4,5,7-pentahydroxyflavone) dapat beraksi sebagai antikanker

pada regulasi siklus sel, berinteraksi dengan reseptor estrogen (ER) tipe II dan menghambat enzim tirosin kinase (Lamson dkk., 2000).



Gambar 1. Struktur senyawa yang terdapat pada daun jambu biji (*Psidium guajava* L.).

2.4 Teknologi Nanopartikel sebagai Penghantaran Obat

Pengembangan metode untuk memperbaiki penghantaran obat yang digunakan pada penyakit-penyakit yang membahayakan jiwa seperti kanker dan infeksi virus sangat dibutuhkan saat ini. Efisiensi dari penggunaan obat

selalu terhambat oleh kemampuan obat itu sendiri dalam mencapai tempat aksinya. Dalam banyak kasus (ukuran normal), hanya sedikit jumlah obat yang dapat mencapai target tempat aksi, sementara sebagian besar dari obat didistribusikan keseluruh tubuh sesuai dengan kandungan *physicochemical* dan *biochemical*-nya. Dalam dunia farmasetika pemanfaatan nanopartikel bertujuan untuk berbagai hal antara lain untuk penghantaran tertarget dan meningkatkan bioavailabilitas obat (Friedman dkk., 2013).

Nanopartikel merupakan partikel koloid padat dengan diameter 1-1000 nm. Mengandung makromolekul material dan dapat digunakan untuk pengobatan sebagai pembawa obat yang senyawa aktifnya telah terlarut, terjerat dan *encapsulated*. Dengan pemanfaatan nanopartikel obat dapat dimasukkan kedalam sistem tanpa reaksi kimia dan sistem nanopartikel dapat diterapkan untuk berbagai sasaran pengobatan karena nanopartikel masuk kedalam sistem peredaran darah dan dibawah oleh darah menuju target pengobatan. Salah satu pemanfaatan nanopartikel adalah untuk penghantaran obat secara oral (Chopra, 2017; Alai dkk., 2015; Reddy dkk., 2012).

2.5 Self-Nano Emulsifying Drug Delivery Systems (SNEDDS)

Nanoteknologi akhir-akhir ini telah banyak menarik perhatian bagi peneliti, ilmuwan, karena diyakini mempunyai banyak kegunaan dan memiliki prospek ekonomi yang besar. Tujuan utama dalam merancang nanopartikel sebagai sistem pengiriman untuk mengontrol ukuran partikel, sifat permukaan dan pelepasan agen farmakologis aktif sehingga obat mencapai target spesifik pada tingkat kerasionalan. Partikel nano adalah sistem pengiriman obat terbaru yang dapat meningkatkan tingkat pengiriman obat ke reseptor (Anindhita dan Oktaviani, 2016). Pengembangan sistem pengiriman obat berdasarkan teknologi farmasi, suatu formulasi yang bisa meningkatkan kemampuan senyawa aktif untuk menembus sangat dibutuhkan, salah satunya adalah *Self Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS). Adapun keuntungan dari SNEDDS termasuk memiliki kemampuan untuk memberikan obat dalam bentuk terlarut dalam lumen saluran pencernaan (GI), dengan demikian

menyediakan area antarmuka yang lebih besar untuk penyerapan obat. Nanoemulsion adalah transparan, tembus cahaya sistem emulsi dan merupakan dispersi minyak air yang distabilkan dengan lapisan film surfaktan atau surfaktan molekul, memiliki ukuran tetesan 100 nm - 500 nm (Martien R dkk., 2017).

Self Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) adalah sediaan yang terdiri dari minyak, surfaktan, dan ko-surfaktan dengan komposisi yang sesuai sehingga mampu menciptakan campuran isotropik yang stabil. Pembuatan formulasi bahan alam salah satunya adalah dengan teknik *Self Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS), metode ini digunakan untuk dapat meningkatkan ketersediaan hayati zat aktif di dalam tubuh, menambah kelarutan, laju disolusi dan absorpsi zat aktif didalam tubuh terutama untuk obat-obat yang memiliki kelarutan rendah didalam air (Anindhita dan Oktaviani, 2016).

Beberapa kelebihan SNEDDS telah dibuktikan melalui penelitian yang dilakukan oleh Nugroho, B.H., dkk (2018) didapatkan formulasi sediaan *Self Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDSS) ekstrak daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) nanoemulsi lebih luas dengan perbandingan campuran minyak, surfaktan dan kosurfaktan dengan perbandingan 1:9, 2:8, dan 3:7, memenuhi syarat ukuran partikel ≤ 200 nm, indeks polidispersitas (IP) ≤ 0.7 , potensial zeta ≥ 30 mV dan % transmitan 70-100%. Nugroho, B.H., dkk (2017) tentang Formulasi dan evaluasi SNEDDS (*Self Nanoemulsifying Drug Delivery System*) ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) sebagai analgesic, diperoleh hasil uji formula SNEDDS ekstrak daun pepaya memenuhi parameter stabilitas yang baik dengan ukuran partikel 177,1 nm. Persen inhibisi nyeri dari SNEDDS ekstrak daun pepaya pada mencit galur balb-c yang diinduksi asam asetat adalah 94,55%. Dari penelitian yang telah dilakukan oleh Nugroho, B.H., dkk., 2017) dapat disimpulkan bahwa nanoteknologi SNEDDS sebagai sistem pengiriman obat mencapai target spesifik pada tingkat kerasionalan.

Pratiwi dkk (2018) melakukan uji stabilitas fisik dan kimia sediaan SNEDDS (*Self-Nano emulsifying Drug Delivery System*) dan nanoemulsi fraksi etil asetat kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*). Pada uji stabilitas fisik, diketahui bahwa semua sampel uji pada penelitian, yaitu nanoemulsi fraksi, SNEDDS fraksi, SNEDDS basis, SNEDDS vitamin E dengan nilai IC_{50} sebelum penyimpanan berturut turut yaitu $37,51 \pm 0,36$; $7,01 \pm 3,52$; $92,44 \pm 6,16$; $15,45 \pm 4,43$ ($\mu\text{g/mL}$), dan setelah penyimpanan nilai IC_{50} berturut-turut yaitu $37,45 \pm 1,64$; $7,06 \pm 4,93$; $131,11 \pm 2,98$; $34,92 \pm 3,05$ ($\mu\text{g/mL}$). Pada uji stabilitas kimia fraksi tidak terdapat perbedaan bermakna antara nilai IC_{50} sebelum dan setelah penyimpanan. Sedangkan pada SNEDDS basis dan nanoemulsi vitamin E terdapat perbedaan bermakna antara nilai IC_{50} sebelum dan setelah penyimpanan. Akan tetapi pada semua sampel uji stabilitas fisik dan kimia tidak mengalami pemisahan, pengendapan, *cracking*, maupun *creaming*, yang menandakan bahwa pembuatan obat dengan nanoteknologi SNEDDS tidak berpengaruh secara signifikan terhadap stabilitas fisik dan kimia.

Besarnya perubahan kimia sediaan farmasi ditentukan dari laju peruraian obat melalui hubungan antara kadar obat dengan waktu, atau berdasarkan derajat degradasi dari suatu obat yang jika dipandang dari segi kimia, stabilitas obat dapat diketahui dari ada atau tidaknya penurunan kadar selama penyimpanan. Penurunan kadar selama penyimpanan dapat dilakukan dengan membandingkan aktivitas sebelum penyimpanan dan setelah penyimpanan, yaitu uji penangkapan radikal bebas dengan metode DPPH.

2.6 Uji Aktivitas Antikanker Menggunakan Metode MTT Assay

Uji sitotoksik adalah uji *in vitro* menggunakan kultur sel untuk mengevaluasi tingkat ketoksikan suatu senyawa (Winarno, 2011). Ada berbagai metode yang digunakan untuk menguji sitotoksitas suatu bahan yaitu metode MTT assay, metode pewarnaan dengan *trypan blue*, dan metode pembebasan isotop kromiun (Siregar dkk, 2000). Metode yang paling sering digunakan untuk menetapkan jumlah sel dalam uji sitotoksik yaitu metode MTT assay (Putri, 2013). Prinsip metode MTT adalah terjadi reduksi dari

garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetil thiazol-2il)-2,5-difenil tetrazolium bromide) oleh sel-sel yang aktif secara metabolik dengan melibatkan enzim dehidrogenase yang dapat menyebabkan reduksi pada NADH dan NADPH (American Type Culture Collection, 2011). Suksinat tetrazolium juga berperan dalam respirasi di mitokondria sel-sel hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu yang tidak larut air. Penambahan reagen SDS (*Sodium Dodesil Sulfat*) akan melarutkan kristal sehingga absorbansinya dapat diukur menggunakan ELISA reader. Intensitas warna ungu yang terbentuk berbanding lurus dengan jumlah sel hidup (Putri, 2013).

Kelebihan metode MTT assay yaitu ujinya cukup sensitif, cepat, semiotomatis, dapat untuk mengukur sampel yang banyak dalam satu waktu, dan tidak menggunakan isotop radioaktif (Siregar dkk., 2000). Beberapa peneliti yang menggunakan metode MTT assay untuk uji antikanker diantaranya Emma Rahmawati dkk (2013) melakukan uji aktivitas antikanker dari ekstrak n-heksana dan metanol herba pacar air (*Impatiens balsamina Linn*) terhadap sel kanker payudara T47D. Yulianti dkk (2014) melakukan uji pengaruh ekstrak metanol daun sirsak (*Annona muricata Linn.*) terhadap viabilitas galur sel kanker prostat. Ismaryan dkk (2018) melakukan uji aktivitas sitotoksik antiproliferasi dan penginduksi apoptoksis daun salung (*Psychotria viridiflora Reinw. ex. Blume*) terhadap sel kanker serviks HeLa.

BAB III

DASAR TEORI

3.1 Daun Jambu Biji (*Psidium guajava. L*)

Nama ilmiah buah jambu biji adalah *Psidium guajava. L*. *Psidium* berasal dari bahasa Yunani yang berarti Delima. Sementara *Guajava* berasal dari nama yang diberikan oleh orang Spanyol. Jambu biji (*Psidium guajava. L*) bukan tanaman asli Indonesia. Tanaman ini pertama kali ditemukan di Amerika oleh Nikolai Ivanovich Vavilov antara tahun 1887-1942. Kemudian menyebar ke beberapa Negara seperti Thailand, Taiwan, Indonesia, Malaysia, Jepang dan Australia (Parimin, 2005). Jambu biji (*Psidium guajava. L*) merupakan tumbuhan perdu dengan tinggi 5-10 m, batang berkayu, kulit batang licin, mengelupas, bercabang, dan berwarna coklat, daun tunggal, dan berbentuk bulat telur.

Buah jambu biji (*Psidium guajava. L*) mempunyai kandungan vitamin C dan fenol yang bisa menjadi antioksidan (Gull dkk., 2012). Buah jambu biji merah memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu flavonoid, terpinoid, dan tannin (Rahmawati dkk., 2013). Daun jambu biji (*Psidium guajava. L*) banyak digunakan sebagai pengobatan tradisional, karena mengandung senyawa bioaktif seperti katekin, galangin, asam homogentisat, asam galat, kaempferol dan sianodin 3 glikosida yang diketahui aktif sebagai antikanker (Chen dkk., 2015).



Gambar 2. Gambar daun jambu biji

Menurut Joseph dan Priya, (2011) Klasifikasi tumbuhan jambu biji / nama ilmiah jambu biji adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Genus : *Psidium*
Spesies : *Psidium guajava* L.

3.2 Maserasi dengan Etanol 96%

Komponen-komponen kimia yang terkandung di dalam bahan organik seperti yang terdapat di dalam tumbuh-tumbuhan sangat dibutuhkan oleh keperluan hidup manusia, baik komponen senyawa tersebut digunakan untuk keperluan industri maupun untuk bahan obat-obatan. Komponen tersebut dapat diperoleh dengan metode ekstraksi dimana ekstraksi merupakan cara untuk memperoleh senyawa-senyawa bioaktif tanaman yang memiliki peran farmakologi dan menghilangkan senyawa-senyawa yang tidak diinginkan melalui perlakuan dengan pelarut selektif yang dikenal dengan istilah menstrum (Tiwari dkk., 2011). Prinsip dasar ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam pelarut non polar. Ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan dua acara yaitu ekstraksi panas dan ekstraksi dingin.

Berbagai metode ekstraksi bahan alam yang telah dilakukan yaitu metode maserasi, sokletasi, perlokasi, infundasi, digestasi, dekokta dan destilasi (Senja dkk., 2014). Maserasi atau *macerare* berasal dari bahasa Yunani yang artinya

merendam. Maserasi adalah salah satu jenis metode ekstraksi dengan sistem tanpa pemanasan atau dikenal dengan istilah ekstraksi dingin. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel dalam suhu ruang dengan pelarut organik yang cocok misalnya etanol (Aafifah, 2012). Pada metode ini saat perendaman sampel akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Perendaman dilakukan selama periode waktu tertentu sesuai dengan aturan dalam buku resmi kefarmasian (Sumarsono, 2014).

Maserasi merupakan teknik ekstraksi yang dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas (termolabil) ataupun tahan panas. Namun biasanya maserasi juga digunakan untuk mengekstrak senyawa yang belum diketahui sifatnya (Hamdani, 2014). Adapun kekurangan yang dimiliki metode ini yaitu proses penyariannya yang tidak sempurna, karena zat aktif hanya mampu terekstrak sebesar 50% saja, memakan banyak waktu dan kemungkinan ada beberapa senyawa yang mungkin saja sulit diekstraksi dalam suhu ruang. Namun metode ekstraksi dengan cara maserasi dapat terhindar dari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014; Darwis, 2000).

3.3 Fraksinasi dengan Etil Asetat

Fraksinasi adalah teknik pemisahan dan pengelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya. Pada umumnya dalam melakukan fraksinasi digunakan dua metode yaitu dengan menggunakan corong pisah dan kromatografi kolom (Trifani, 2012). Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah kromatografi kolom gravitasi. Kromatografi kolom adalah suatu teknik pemisahan yang didasarkan pada peristiwa adsorpsi dengan memanfaatkan kepolaran senyawa dan gaya gravitasi (Mutmainnah dkk., 2017).

Prinsipnya sampel berupa larutan pekat diletakkan pada ujung atas kolom. Eluen atau pelarut dialirkan secara kontinu ke dalam kolom. Dengan adanya

gravitasi atau karena bantuan tekanan maka eluen pelarut akan melewati kolom dan proses pemisahan akan terjadi. Kecepatan pergerakan suatu komponen tergantung pada kemampuannya untuk tertahan atau terhambat oleh penyerap di dalam kolom. Jadi suatu senyawa yang diserap lemah akan bergerak lebih cepat daripada yang diserap kuat (Sastrohamidjojo, 2002).

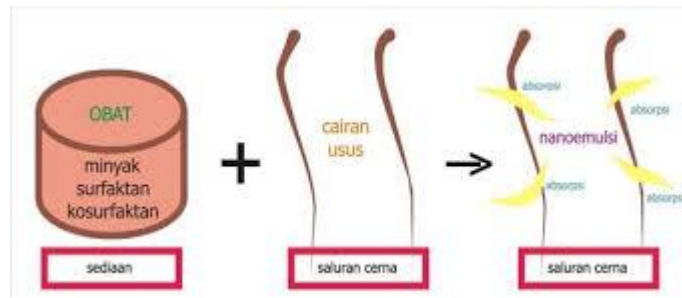
Pada metode kromatografi kolom hal penting yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut diantaranya adalah selektivitas, toksisitas, kepolaran, kemudahan untuk diuapkan, dan harga pelarut (Akbar, 2010). Pada penelitian ini digunakan pelarut etil asetat karena mudah diuapkan, tidak higroskopis, memiliki toksisitas rendah dan bersifat semi polar sehingga diharapkan dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun nonpolar dari sampel (USP, 2007; Rowe dkk., 2009; Wardhani dan Sulistyani, 2012).

3.4 Self Nano-emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS)

Pengembangan sistem pengiriman obat berdasarkan teknologi farmasi, suatu formulasi yang bisa meningkatkan kemampuan senyawa aktif untuk menembus sangat dibutuhkan, salah satunya adalah *Self Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS). SNEDDS (*Self Nano Emulsifying Drug Delivery System*) mampu menjadi sistem penghantaran obat yang baik untuk obat protein maupun obat dengan tingkat absorpsi yang rendah. Konsep dari teknologi ini adalah formulasi antara minyak, surfaktan, dan kosurfaktan yang mengandung obat. Nanoemulsion adalah transparan, tembus cahaya sistem emulsi dan merupakan dispersi minyak air yang distabilkan dengan lapisan film surfaktan atau surfaktan molekul, memiliki ukuran tetesan 100 nm - 500 nm (Martien R dkk., 2017).

Teknologi auto-emulsifikasi (*Self-nanoemulsifying drug delivery systems* (SNEDDS) untuk aplikasi oral melalui saluran gastrointestinal (Wadhwa dkk., 2011). Sistem ini selanjutnya akan masuk ke saluran cerna dan bercampur dengan cairan usus yang mengandung air. Ketika formula bercampur dengan cairan usus, maka akan terjadi emulsifikasi spontan yang menghasilkan globul

berukuran nanometer. Formulasi SNEDDS (*Self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS)*) yang optimal dipengaruhi oleh sifat fisikokimia dan sifat fisikokimia obat (Date dkk., 2010).



Gambar 3. Ilustrasi konsep sistem penghantaran obat auto nanoemulsifikasi.

Keuntungan dari SNEDDS yaitu dapat meningkatkan bioavailabilitas sediaan oral sehingga dosis dapat dikurangi, tetesan minyak yang halus akan terdistribusi secara cepat dan merata di seluruh gastrointestinal sehingga meminimalkan terjadinya iritasi selama kontak yang panjang antara zat obat dengan dinding usus (Makadia dkk., 2013). Selain itu, partikel zat aktif yang berukuran kecil akan meningkatkan luas permukaan secara signifikan sehingga mampu menambah kelarutan, laju disolusi dan absorpsi zat aktif di dalam tubuh (Lovelyn dan Attama 2011). Berbeda dengan emulsi, SNEDDS tidak berpengaruh dengan adanya garam empedu, enzim atau efek lain yang terkait pada kondisi di dalam perut.

3.5 Kanker payudara

Kanker merupakan istilah yang digunakan pada tumor ganas, yaitu tumor yang tumbuh dengan pesat, menginfiltrasi jaringan sekitar, bermetastasis dan dapat menyebabkan kematian apabila tidak mendapatkan penanganan dan terapi yang tepat. Kanker dapat menyerang semua kelompok umur, strata sosial ekonomi dan strata pendidikan dari strata pendidikan rendah hingga tinggi (Sri Guntari dkk., 2016). Kanker payudara adalah jenis tumor ganas yang

berkembang pada sel-sel payudara. Kanker ini dapat tumbuh jika terjadi pertumbuhan yang abnormal dari sel-sel pada payudara.

Faktor yang berhubungan dengan kejadian kanker payudara adalah obesitas, usia melahirkan anak pertama, riwayat pemberian ASI (Air Susu Ibu), dan usia *menarche* (Anggorowati, 2013). Selain itu menurut penelitian Priyatin dkk (2013) faktor risiko lain yang dapat berpengaruh terhadap kejadian kanker payudara adalah paritas, riwayat menyusui, lama menggunakan kontrasepsi hormonal dan riwayat penyakit keluarga. Proporsi tertinggi penderita kanker payudara adalah usia > 40 tahun (81,4%), perempuan (100%), menikah (97,1%) dan stadium III (49,0%) (Sinaga., dkk 2015).

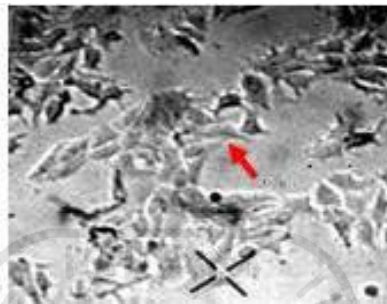
Gejala awal kanker payudara berupa sebuah benjolan yang biasanya dirasakan berbeda dari jaringan payudara di sekitarnya, tidak menimbulkan nyeri dan biasanya memiliki pinggiran yang tidak teratur. Pada stadium awal, jika didorong oleh jari tangan, benjolan bisa digerakkan dengan mudah di bawah kulit. Pada stadium lanjut, benjolan biasanya melekat pada dinding dada atau kulit di sekitarnya. Pada kanker stadium lanjut, bisa terbentuk benjolan yang membengkak atau borok di kulit payudara dan terjadi Perubahan ukuran atau bentuk payudara (Suryo, 2009).

3.6 Sel Kanker MCF-7

Salah satu model sel kanker yang dapat digunakan dalam pengujian obat terapi kanker payudara yaitu sel MCF-7 (*Michigan Cancer Foundation-7*). Sel MCF-7 memiliki beberapa karakteristik khusus yang sesuai, merujuk pada epitel payudara. Salah satu karakteristik khusus sel MCF-7 adalah kemampuan sel ini untuk membentuk estradiol dari estrogen melalui reseptor estrogen dalam sitoplasma sel. Hal ini membuat sel MCF-7 menjadi penerima estrogen (ER) positif dalam kontrol sel (ATCC, 2012).

Sel MCF-7 berasal dari jaringan payudara wanita kaukasian berumur 69 tahun, golongan darah O dan RH positif, berupa sel yang melekat (*adherent*). Sel MCF-7 menyerupai sel epitel yang tumbuh secara monolayer dan diambil

dari tempat efusi pleural metastasis kanker payudara pada penderita kanker payudara. Biakan sel MCF-7 memiliki beberapa karakteristik pada epitel mamari yang berbeda termasuk dalam kemampuannya untuk memproduksi estradiol via reseptor sitoplasma dan kesanggupannya untuk membentuk dome. Dalam pertumbuhannya sel ini akan membentuk kultur selapis pada labu kultur dan ditumbuhkan dalam medium DMEM (Widowati and Mudahar, 2009).

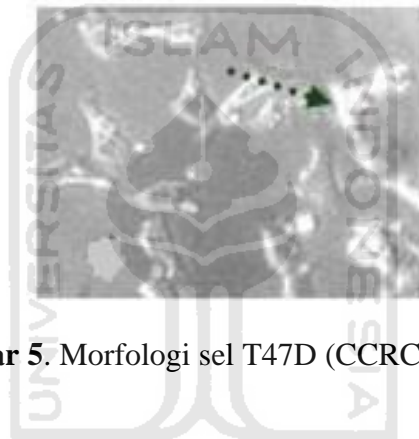


Gambar 4. Morfologi sel MCF-7 (CCRC, 2009).

3.7 Sel Kanker T47D

Sel T47D merupakan *continous cell lines* yang morfologinya seperti sel epitel yang diambil dari jaringan payudara seorang wanita berumur 54 tahun yang terkena ductal carcinoma. Sel ini dapat ditumbuhkan dengan media dasar penumbuh RPMI (*Roswell Park Memorial Institut*) 1640. Sel T47D adalah turunan sel kanker payudara yang mengekspresikan protein p53 yang termutasi dan merupakan sel kanker payudara dengan reseptor estrogen (ER) dan reseptor progesteron (PR) positif (Dogan dkk., 2015). Awalnya, proses metastase kanker payudara di inisiasi oleh adanya aktivasi atau overekspresi beberapa protein seperti reseptor estrogen (ER) dan c-erbB-2 (HER2) yang merupakan protein prediposisi kanker payudara. Sekitar 50% kasus kanker payudara merupakan kanker yang tergantung estrogen dan sekitar 30% kasus merupakan kanker yang positif mengekspresi HER-2 berlebihan. Gen ini berhubungan dengan pertumbuhan sel kanker yang agresif. 9 Pasien dikatakan HER2-positif jika pada tumor ditemukan HER2 dalam jumlah besar. Kanker dengan HER2-positif dikenal sebagai bentuk agresif dari kanker payudara dan memiliki

perkiraan perjalanan penyakit yang lebih buruk daripada pasien dengan HER2-negatif. Diperkirakan satu dari empat sampai lima pasien dengan kanker payudara tahap akhir memiliki HER2-positif (Robins dan Khumar, 2005). Adanya kompleks estrogen dengan reseptornya juga akan memacu transkripsi beberapa gen tumor suppressor seperti BRCA1, BRCA2, dan p53. Akan tetapi pada penderita kanker payudara (yang umumnya telah lewat masa menopause) gen-gen tersebut telah mengalami perubahan akibat dari hiperproliferasi sel-sel payudara selama perkembangannya sehingga tidak berperan sebagaimana mestinya (Chintamani, 2007).

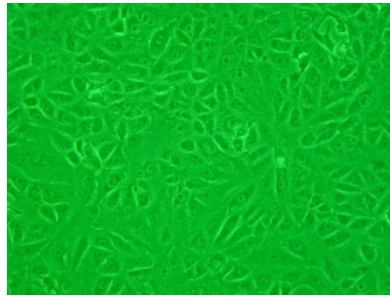


Gambar 5. Morfologi sel T47D (CCRC, 2009)

3.8 Sel Vero

Sel vero merupakan jalur sel (*continuous cell line*) yang berasal dari ginjal monyet hijau afrika (*African green monkey*). Monyet ini merupakan salah satu jenis mamalia yang biasanya digunakan dalam penelitian biologi molekuler dan mikrobiologi. Salah satu penggunaan sel vero adalah dalam pembuatan vaksin. Sel ini digunakan karena sensitif terhadap infeksi beberapa jenis virus seperti SV-40, SV-5, poliovirus, arbovirus, influenza virus. Sel ini tidak memproduksi interferon dan dapat mengalami *cytopathic effect* (CPE) yaitu perubahan morfologi di dalam sel ketika terinfeksi virus (Sheets, 2000). Sel Vero merupakan sel monolayer dan termasuk jenis *epithelial-like*. Sel ini menempel dengan kuat pada lapisan substrat yang berbahan polistiren dan membentuk ikatan kovalen. Sel Vero berbentuk polygonal dan pipih. Sel ini

juga direkomendasikan untuk dijadikan sebagai sel model dalam mempelajari karsinogenesis secara in vitro (Goncalves dkk. 2006). Kultur sel vero umumnya menggunakan media M199 dan diinkubasi pada suhu 37 °C pada incubator CO2 5% (Ammerman dkk., 2008).



Gambar 6. Morfologi sel vero(Sons, 2008).

3.9 Kemoterapi

Kemoterapi adalah penggunaan zat kimia untuk perawatan penyakit. *Doxorubicin* (Dox) merupakan salah satu agen kemoterapi yang banyak digunakan dalam terapi kanker. Pengobatan kanker sangat tergantung pada jenis, lokasi dan tingkat penyebarannya. Dalam penggunaan modernnya, istilah ini hampir merujuk secara eksklusif kepada obat sitostatik yang digunakan untuk menghambat atau membunuh sel kanker (Remesh, 2012). Dalam penggunaan selain kanker, istilah ini dapat juga menunjuk ke antibiotik (kemoterapi antibakteri).

Prinsip kerja obat kemoterapi aktif pada saat sel sedang bereproduksi, sehingga sel tumor yang aktif merupakan target utama bagi kemoterapi namun, oleh karena itu sel yang sehat juga bereproduksi, maka tidak tertutup kemungkinan mereka juga akan terpengaruh oleh kemoterapi yang akan muncul sebagai efek samping obat (Rasjidi, 2007). Pengobatan dengan kemoterapi banyak menimbulkan efek samping karena terapi ini tidak dapat membedakan sel abnormal dan sel normal. Kemoterapi memiliki dampak dalam berbagai bidang seperti dampak terhadap fisik dan psikologis. Dampak

fisik kemoterapi adalah kerontokan rambut (*alopecia*), mual, muntah dan konstipasi (Ambarwati, 2014). Dampak psikologi adalah ketidakberdayaan, kecemasan, rasa malu, stress dan depresi (Wijayanti, 2007).

3.10 Pengujian Sitotoksisitas Secara *In Vitro*

Dasar dari uji sitotoksik adalah kemampuan sel untuk bertahan hidup karena adanya senyawa toksik. Uji sitotoksik adalah uji *in vitro* menggunakan kultur sel untuk mengevaluasi tingkat ketoksikan suatu senyawa (Winarno, 2011). Senyawa sitotoksik merupakan suatu senyawa atau zat yang dapat merusak sel normal atau sel kanker, serta digunakan untuk menghambat pertumbuhan dari sel tumor maligna (Purwanto dkk., 2015). Senyawa sitotoksik berpotensi sebagai obat antikanker dengan cara menghambat pertumbuhan sel kanker (Lindholm, 2005).

In vitro (dari bahasa Latin, berarti "di dalam kaca") adalah istilah yang dipakai dalam biologi untuk menyebutkan kultur suatu sel, jaringan, atau bagian bagian organ tertentu di dalam laboratorium. Pengujian secara *in vitro* biasanya digunakan sebagai skrining awal pada pengujian sitotoksisitas suatu agen kimia terhadap berbagai sel kanker. Uji sitotoksisitas dilakukan secara *in vitro* yaitu untuk menentukan potensi sitotoksik suatu senyawa seperti obat antikanker (Kupcsik dan Stoddart, 2011).

Syarat yang harus dipenuhi untuk sistem uji sitotoksisitas diantaranya adalah sistem pengujian harus dapat menghasilkan kurva dosis-respon yang reproduibel dengan variabilitas yang rendah, kriteria respon harus menunjukkan hubungan linier dengan jumlah sel serta informasi yang didapat dari kurva dosis-respon harus sejalan dengan efek yang muncul pada *in vitro*. Penggunaan uji sitotoksik pada kultur sel merupakan salah satu cara penetapan *in vitro* untuk mendapatkan obat-obat sitotoksik. Sistem ini merupakan uji kuantitatif dengan cara menetapkan kematian sel.

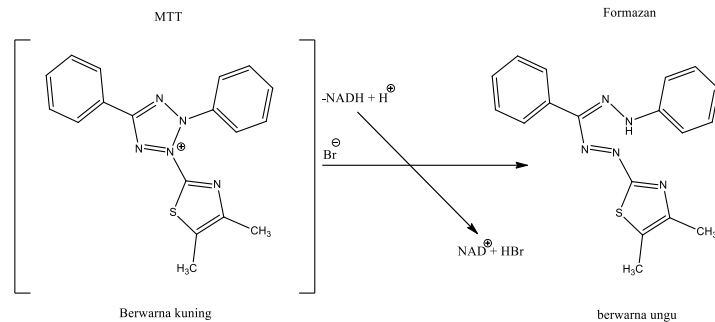
Parameter yang digunakan untuk uji sitotoksik yaitu nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel

sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai IC_{50} dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik. Akhir dari uji sitotoksitas pada organ target memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Djajanegara dan Wahyudi, 2009). *Continous cell line* sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya, dan memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas (Dwitiyanti, 2015).

3.11 Metode MTT assay

Ada berbagai metode yang digunakan untuk menguji sitotoksitas suatu bahan yaitu metode MTT assay, metode pewarnaan dengan *trypan blue*, dan metode pembebasan isotop kromium (Siregar dkk, 2000). Metode yang paling sering digunakan untuk menetapkan jumlah sel dalam uji sitotoksik yaitu metode MTT assay (Putri, 2013). Prinsip metode MTT adalah terjadi reduksi dari garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetil thiazol-2il)-2,5-difenil tetrazolium bromide) oleh sel-sel yang aktif secara metabolik dengan melibatkan enzim dehidrogenase yang dapat menyebabkan reduksi pada NADH dan NADPH (American Type Culture Collection, 2011). Suksinat tetrazolium juga berperan dalam respirasi di mitokondria sel-sel hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu yang tidak larut air. Penambahan reagen SDS (*Sodium Dodesil Sulfat*) akan melarutkan kristal sehingga absorbansinya dapat diukur menggunakan ELISA reader. Intensitas warna ungu yang terbentuk berbanding lurus dengan jumlah sel hidup (Putri, 2013).

Kelebihan metode MTT assay yaitu ujinya cukup sensitif, cepat, semiotomatis, dapat untuk mengukur sampel yang banyak dalam satu waktu, dan tidak menggunakan isotop radioaktif (Siregar dkk., 2000). Reaksi reduksi MTT dapat ditunjukkan pada Gambar 6.



Gambar 7. Reaksi reduksi MTT menjadi Formazan (Doyle dan Grifliths, 2000).

3.12 ELISA Reader

ELISA merupakan salah satu metode yang selama ini banyak digunakan untuk deteksi antibodi berdasarkan prinsip ikatan antigen-antibodi spesifik. Aplikasi metode ini digunakan untuk skrining maupun konfirmasi diagnosa suatu penyakit, akan tetapi pada kondisi tertentu uji ELISA terkadang tidak bisa dilakukan, hal tersebut dapat terjadi misalnya pada keperluan deteksi segera di lokasi kejadian penyakit, keterbatasan peralatan laboratorium, ketidakterediaan bahan kimia, maupun tidak adanya tenaga laboratorium yang memiliki keahlian menjalankan tes dan perlunya hasil tes untuk segera diketahui (Mufidah dkk., 2015).

3.13 Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)

Liquid chromatography-tandem mass spectrometry adalah teknik analisis yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dari kromatografi cair dengan spesifikasi deteksi spektrometri massa. Kromatografi cair memisahkan komponen komponen sampel dan kemudian ion bermuatan dideteksi oleh spectrometer massa, data LC-MS/MS dapat digunakan untuk memerikan informasi, tentang berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen sampel tertentu (Sumbono, 2010).

3.13.1 *Liquid Chromatography*(LC)

Kromatografi cair merupakan teknik yang tepat untuk memisahkan ion atau molekul yang terlarut dalam suatu larutan. Jika larutan sampel berinteraksi dengan fase stasioner, maka molekul-molekul didalamnya berinteraksi dengan fase stasioner, namun interaksinya berbeda dikarenakan adanya perbedaan daya serap (*adsorption*), pertukaran ion (*ion exchange*), partisi (*partitioning*), atau ukuran. Perbedaan ini membuat komponen terpisah satu dengan yang lain dan dapat dilihat perbedaannya dari lamanya waktu transit komponen tersebut melewati kolom. Terdapat beberapa jenis kromatografi cair yaitu *reverse phase chromatography*, *high performance liquid chromatography* (HPLC), *size exclusion chromatography*, serta *supercritical fluid chromatography* (Saifudin, 2014).

Cuplikan dimasukkan ke dalam aliran fasa gerak dengan cara penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan komponen-komponen campuran, campuran analit akan terpisah berdasarkan kepolarannya dan kecepatannya keluar dari kolom untuk sampai ke detektor (waktu retensinya) akan berbeda, hal ini akan teramati oleh detektor dalam bentuk kromatogram (Isnawati 2013; Himawan 2010). Komponen-komponen dari LC adalah : (Gandjar dan Rohman, 2007).

a. Wadah Fase gerak

Wadah fase gerak harus bersih dan lembam (inert). Wadah pelarut kosong ataupun labu laboratorium dapat digunakan sebagai wadah fase gerak dengan kapasitas 1-2 liter.

b. Pompa

pompa yang mempunyai syarat sebagaimana syarat wadah pelarut yakni: pompa harus inert terhadap fase gerak. Tujuan penggunaan pompa atau sistem penghantaran fase gerak adalah untuk menjamin proses penghantaran fase gerak berlangsung secara tepat, reproduibel, konstan, dan bebas dari gangguan.

c. Injector

Untuk memasukkan sampel ke dalam kolom.

d. Kolom

terdapat fase diam untuk berlangsungnya proses pemisahan solut/analit

e. Detector

Detektor digunakan untuk mendeteksi analit yang telah dipisahkan.

3.13.2 *Mass Spectroscopy* (MS)

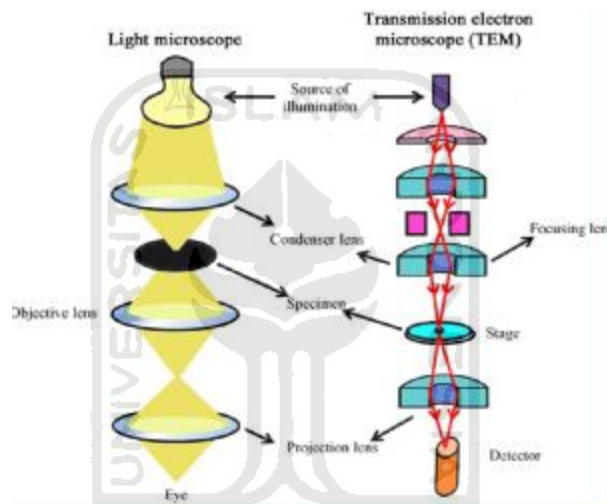
Spektroskopi massa adalah suatu teknik analisis dengan prinsip dasar membuat suatu molekul netral menjadi bermuatan sehingga bisa dideteksi. Tujuan utama dari spektroskopi massa adalah mengetahui berat molekul. Informasi yang diperoleh dari spektrum MS adalah berat ion, yakni massa molekul isolat ditambah atau dikurangi sumber ion. Berat ion biasanya disajikan dalam $[M+H]^+$ atau $[M+OH]^-$ atau dalam bentuk radikal $[M^*]^+$. Berat molekul sesungguhnya diperkirakan bertambah satu atau berkurang satu angka yang mendekati. Adakalanya ionisasi melalui penambahan berat molekul air (Saifudin, 2014).

Dalam spektrofotometer massa reaksi pertama suatu molekul adalah ionisasi pelepasan sebuah elektron, yang menghasilkan ion molekul. Peak untuk radikal ion ini biasanya adalah puncak paling kanan dalam spektrum, bobot molekul senyawa ini dapat ditentukan. Diduga bahwa elektron dalam orbital berenergi tinggi adalah elektron yang pertama-tama akan lepas. Jika sebuah molekul mempunyai elektron-elektron n menyendiri, maka salah satunya akan dilepaskan. Jika tidak terdapat elektron n , maka akan dilepaskan sebuah elektron pi (π). Jika tidak terdapat elektron n maupun elektron π , maka ion molekul yang akan terbentuk sengan lepasnya sebuah elektron sigma (σ) (Ginting, 2012).

Setelah ionisasi awal ion molekul akan mengalami fragmentasi, yaitu proses pelepasan radikal-radikal bebas atau molekul netral kecil dilepaskan dari ion molekul itu. Sebuah ion molekul tidak pecah secara acak, melainkan cenderung membentuk fragmen-fragmen yang paling stabil.

3.14 Transmission Electron Microscopy (TEM)

TEM (*Transmission Electron Microscopy*) merupakan teknik mikroskopis dimana sejumlah elektron ditransmisikan melalui spesimen tipis dan berinteraksi dengan spesimen yang di melewati. Gambar terbentuk dari interaksi elektron yang ditransmisikan melalui spesimen. Gambar diperbesar dan difokuskan ke perangkat visual , seperti layar fluorensen atau yang akan dideteksi oleh sensor seperti kamera CCD. Prinsip kerja TEM dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Prinsip kerja TEM (Woodford, 2017).

Prinsip kerja dari TEM (*Transmission Electron Microscopy*) secara singkat adalah sinar elektron mengiluminasi spesimen dan menghasilkan sebuah gambar diatas layar pospor. Gambar dilihat sebagai sebuah proyeksi dari spesimen. Adapun prinsip kerja dari bagian-bagian TEM (*Transmission Electron Microscopy*) adalah sebagai berikut :

1. *Electron source* : Menghasilkan elektron monokromatik.
2. *Condensor ions* : Memfokuskan berkas elektron.
3. *Condensor aperture* : Mengurangi intensitas sinar dengan menyaring elektron dari beam.

4. *Objective lens* : Memfokuskan berkas.
5. *Objective aperture* : Meningkatkan Kontras dengan menghalangi difraksi elektron.
6. *Projector lens* : Memperbesar gambar.
7. *Screen* : Melihat hasil gambar

Adpun kelebihan dan kekurangan yang di miliki oleh TEM (*Transmission Electron Microscopy*). Kelebihannyayaitu pembesaran yang paling kuat, hingga lebih dari satu juta kali pembesaran, sedangkan kekurangannya yaitu Persiapan sampel untuk TEM umumnya memerlukan lebih banyak daripada kebanyakan teknik karakterisasi lainnya.

3.15 Particle Zise Analyzer (PSA)

Pengukuran partikel dengan menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*) biasanya menggunakan metode basah. Metode ini dinilai lebih akurat jika dibandingkan dengan metode kering ataupun pengukuran partikel dengan metode ayakan dan analisa gambar. Terutama untuk sampel-sampel dalam orde nanometer yang cenderung memiliki aglomerasi yang tinggi. Hal ini dikarenakan partikel didispersikan ke dalam media sehingga partikel tidak saling aglomerasi. Dengan demikian, ukuran partikel yang terukur adalah ukuran dari single particle. Selain itu hasil pengukuran ditampilkan dalam bentuk distribusi, sehingga hasil pengukuran dapat diasumsikan sudah menggambarkan keseluruhan kondisi sampel. Melalui analisis *Particle Size Analyzer* (PSA) diharapkan distribusi ukuran nanopartikel yang dihasilkan berada pada rentang nanometer dengan keseragaman ukuran yang baik (Rusli, 2011).

metode laser diffraction (LAS) adalah prinsip dasar dalam instrumen *Particle Size Analyzer* (PSA). Prinsip dari Laser Diffraction sendiri ialah ketika partikel-partikel melewati berkas sinar laser dan cahaya dihamburkan oleh partikel-partikel tersebut dikumpulkan melebihi rentang sudut yang berhadapan langsung. Distribusi dari intensitas yang dihamburkan ini yang akan dianalisis oleh komputer sebagai hasil distribusi ukuran partikel (Lusi, 2011).

3.15.1 Ukuran Partikel dan Distribusi Partikel

Karakteristik pertama yang perlu diamati dalam sistem nanopartikel adalah ukuran dan distribusi partikel. Karena kedua hal ini yang digunakan untuk memperkirakan distribusi secara *in vivo*, toksisitas, serta kemampuan targeting dari nanopartikel. Obat yang terjerap saat terkena area permukaan partikel menyebabkan pelepasan obat yang sangat signifikan. Ukuran nanopartikel yang kecil akan berakibat pada pelepasan obat yang cepat. Semakin kecil ukuran partikel maka luas permukaannya pun semakin besar. Akan tetapi, semakin dekat letak obat dengan permukaan partikel karena ukuran kecil maka semakin cepat pula pelepasannya. Sedangkan pada partikel yang ukurannya lebih besar, lebih banyak menampung obat sehingga obat bisa lebih lambat dalam pelepasannya. Partikel yang terlalu kecil lebih cenderung mengalami agregasi selama penyimpanan dan pengangkutan dispersi nanopartikel. Sehingga diperlukan teknik untuk membentuk partikel dengan ukuran yang kecil namun dengan stabilitas yang baik (Bathia, 2016).

3.15.2 Zeta Potensial

Zeta potensial adalah muatan partikel dalam medium spesifik ataupun medium pendispersinya. Zeta potensial akan memperlihatkan besarnya gaya tolak menolak antara muatan partikel yang sama dan berdekatan. Nilai zeta potensial yang tinggi baik positif maupun negatif mampu memberikan stabilitas yang baik karena dapat mencegah terjadinya agregasi dari partikel, yaitu minimal cukup ± 30 mV atau mendekati 30 mV. Dengan adanya zeta potensial yang tinggi menimbulkan gaya tolak menolak dan stabilisasi secara elektrik dari dispersi nanopartikel. Ketika nilai zeta potensial yang dimiliki nanopartikel kecil maka akan terjadi gaya tarik menarik yang lebih besar dibandingkan gaya tolak menolaknya, sehingga dapat memicu terjadinya koagulasi dan flokulasi (Amalia dkk., 2015).

3.16 Hipotesis

1. Formulasi SNEDDS dapat menghasilkan ukuran tetesan berupa nanoemulsi. Ukuran tetesan yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh komposisi minyak, surfaktan dan kosurfaktan (Date dkk., 2010).
2. Penelitian yang dilakukan oleh Nita (2019) yang melakukan uji aktivitas antikanker fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji terhadap sel T47D dan MCF-7 menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 21,68 dan 31,02 $\mu\text{g/mL}$. Dari penelitian tersebut dapat di simpulkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) mengandung senyawa yang memiliki aktivitas antikanker terhadap sel T47D dan MCF-7.
3. Salah satu kelebihan nanopartikel adalah kemampuan untuk menembus ruang-ruang antar sel yang hanya dapat ditembus oleh ukuran partikel koloidal (Buzea dkk., 2007). Sehingga dari kelebihan itu diharapkan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang diformulasikan menjadi nanopartikel mampu meningkatkan aktivitas antikanker terhadap sel T47D dan MCF-7.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dimulai dari April 2019 sampai Februari 2020 di Laboratorium Riset dan Pengembangan Kimia, Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia, dan Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, D.I. Yogyakarta.

Alat dan Bahan

4.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, blender, neraca analitik, inkubator, kertas saring, klem dan statif, evaporator vakum Heidolph, sentrifugator Hettich, botol vial, vorteks, mikropipet, kolom kromatografi, tabung reaksi, rak tabung, *plate 96-well*, *yellow tip*, *conical tube*, hemositometer, *blue tip*, *laminar air flow* (LAF), *ELISA reader*, LC-MS/MS dan *Particle Size Analyzer* (Horiba Scientific, Nano Particle Analyzer SZ-100).

4.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun jambu biji (*Psidium guajava* L.), etanol 96%, etil asetat, silika, aseton, logam Mg, HCl (Asam klorida) pekat, reagen dragendroff, reagen mayer, FeCl₃ (besi (III) klorida), H₂SO₄ (asam sulfat) pekat, tween 20, capryol, PEG, PBS (*Phospat buffer saline*), media kultur RPMI, tripsin-EDTA, DMSO (Dimetil Sulfoksida), SDS (Sodium Dodesil Sulfat) 10% dalam 0,1 N HCl, DMEM (*Dulbecco's Modified EagleMedium*), MTT 5 mg/mL (50 mg MTT dan 10 mL PBS), aluminium foil, tissue, sel T47D, sel MCF-7 dan sel Verro.

4.3 Identifikasi Variabel

Pada percobaan kali ini variabel-variabel yang digunakan ditunjukkan pada table 1.

Tabel 1. Variabel Penelitian

Formula (%)	Capryoll (%)	Tween 20 (%)	PEG (%)	Konsentrasi fraksi (%)
2	20	60	20	40
2	20	60	20	60
2	20	60	20	80

4.4 Cara Kerja

Proses penelitian dilakukan dengan beberapa tahapan, yaitu persiapan bahan baku, uji determinasi, ekstraksi, fraksinasi, analisis dengan LC-MS/MS, penapisan fitokimia, Pembuatan nanoemulsi, uji PSA, uji TEM, uji aktivitas antikanker secara *in vitro*.

4.4 1 Penyiapan Daun Jambu Biji (*Psidium guajava L.*) sebagai Bahan Baku

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian daun dari tanaman jambu biji (*Psidium guajava L.*) yang diasumsikan sebagai variabel bebas dimana bahan baku tersebut didapatkan dari membeli kepada penyedia bahan baku. Bahan baku tersebut dikering-anginkan sampai kering. Sebanyak 700 gram sampel kering selanjutnya diblender hingga menjadi serbuk. Serbuk disimpan dalam botol untuk digunakan pada langkah penelitian selanjutnya.

4.5 Uji Determinasi

Uji determinasi dilakukan di Laboratorium Sistemika Tumbuhan Universitas Gajah Mada D.I Yogyakarta. Dengan sampel berupa ranting tanaman jambu biji (*Psidium guajava L.*) beserta daun dan bunganya.

4.6 Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi yaitu dengan memasukkan 750 gram serbuk kering simplisia ke dalam botol kemudian ditambahkan etanol 96% ke dalam botol sampai seluruh simplisia terendam, botol ditutup rapat.

Perendam selama 24 jam, setelah itu dipisahkan maserat dengan menggunakan corong Buchner, diulangi maserasi kurang lebih tiga kali. Maserat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *vakum rotary evaporator* pada temperatur $\pm 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ untuk mendapatkan ekstrak kental. Hasil kemudian ditimbang dan dihitung untuk mengetahui % rendemen yang didapatkan menggunakan persamaan (1).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat akhir sampel (g)}}{\text{berat awal sampel (g)}} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

4.7 Fraksinasi

Ekstrak kental etanol 96% sebanyak 263,935 gram diimpregnasi menggunakan silika dan dilakukan fraksinasi menggunakan metode kromatografi kolom menggunakan pelarut etil asetat. Fraksi yang diperoleh dipekatkan kembali dengan *vakum rotary evaporator* pada temperatur $\pm 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ untuk mendapatkan ekstrak kental. Hasil kemudian ditimbang dan dihitung untuk mengetahui % rendemen yang didapatkan menggunakan persamaan (1).

4.8 Analisis dengan LC-MS/MS

Analisis dilakukan di Pusat Penelitian kimia Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Dengan sampel berupa ekstrak kental daun jambu biji (*Psidium guajava* L.).

4.9 Penapisan Fitokimia

4.9.1 Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan melarutkan fraksi etil asetat ke dalam 5 mL pelarutnya, kemudian dibagi ke dalam dua tabung reaksi. Tabung pertama dijadikan sebagai tabung kontrol. Tabung kedua tiap fraksi ditambahkan 3 tetes pereaksi dragendorff dan wagner. Terbentuknya endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid. Reaksi dengan pereaksi dragendorff akan terbentuk bendapan merah jingga dan dengan pereaksi wagner terbentuk bendapan coklat (Harborne, 1987).

4.9.2 Uji flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan melarutkan fraksi etil asetat ke dalam 5 mL pelarutnya, kemudian dibagi ke dalam dua tabung reaksi. Tabung pertama dijadikan sebagai tabung kontrol. Tabung kedua ditambahkan 0,05 gram serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Harborne, 1987).

4.9.3 Uji Tanin/Fenol

Uji tannin/polifenol dilakukan dengan melarutkan fraksi dilarutkan fraksi etil asetat dengan 5 mL pelarutnya, kemudian dibagi ke dalam dua tabung reaksi. Tabung pertama sebagai kontrol, tabung kedua ditambahkan 3 tetes FeCl_3 1%. Uji positif ditandai dengan munculnya warna hitam atau biru tua (Harborne, 1987).

4.9.4 Uji Terpinoid

Uji terpenoid dilakukan dengan melarutkan fraksi etil asetat dengan 5 mL pelarutnya, kemudian dibagi ke dalam dua tabung reaksi. Tabung pertama sebagai kontrol, tabung kedua ditambahkan asam asetat anhidrat 0,5 mL dan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Terbentuknya cincin biru kehijauan menunjukkan adanya steroid, sedangkan adanya terpenoid ditunjukkan dengan cincin kecoklatan pada perbatasan larutan (Ciulei, 1984).

4.9 Pembuatan Nanoemulsi

Setiap formulasi dibuat sebanyak 1,25 mL dengan konsentrasi fraksi 40%, 60% dan 80%. Pembuatan nanoemulsi dilakukan dengan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) diambil sebanyak 0,5 gram ;0,75 gram dan 1 gram, masing-masing dimasukkan ke dalam vial, kemudian masing-masing vial ditambahkan 0,125 mL Capryoll, 0,875 mL tween 20, dan 0,25 mL PEG (*Poli Ethylen Glikol*). Setiap penambahan bahan disonikasi selama 4x2 menit.

4.10 Uji PSA

4.10.1 Ukuran Partikel

Sebanyak 1 mL sediaan nanopartikel ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dilarutkan dalam 100 mL aquades diaduk perlahan hingga terbentuk suspensi. Selanjutnya diukur ukuran partikel masing-masing formulasi menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) (Bhatia, 2016; Rahayu, 2016).

4.10.2 Zeta Potensial

Formulasi SNEDDS yang telah dibuat dilarutkan dalam aquades (1:100) dicampur dengan ultrasonik sampai homogen, kemudian larutan jernih ditentukan nilai zeta potensialnya dengan menggunakan *Particle size analyzer* (PSA) (Rahayu, 2016).

4.11 Uji TEM

Terhadap formulasi SNEDDS yang paling optimal diambil sebanyak 1 mL dilarutkan dalam 100 mL aquades, kemudian diambil 1 tetes larutan tersebut dan ditetaskan pada *copper grid* yang telah dilapisi dengan alat *Auto Carbon Coated* (JOEL JEC-560, Japan). Kemudian dimasukkan ke dalam holder dan dianalisis pada percepatan 120 kV dengan magnifikasi 60.000 (kristiani dkk., 2019).

4.13 Uji Aktivitas Antikanker secara *In Vitro* (CCRC, 2009)

4.13.1 Penyiapan Sel

Sel T47D dan MCF-7 diambil dari koleksi laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gajah Mada (UGM). Sel kanker dikeluarkan dari *freezer* (-80°C), dihangatkan dalam penangas air pada suhu 37°C selama 2-3 menit. Setelah mencair, sel dipindahkan ke dalam *conical tube* yang telah berisi 10 mL media DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*), kemudian disentrifugasi untuk memisahkan sel kanker (pelet) dengan media.

Pelet yang terbentuk dimasukkan kedalam *culture dish* yang telah berisi 10 mL media dan diinkubasi selama 3-4 jam pada suhu 37 °C/ 5% CO₂, lalu diamati dibawah mikroskop untuk melihat apakah sel melekat di dasar *culture dish* dan bila jumlah sel di dalam *culture dish* mencapai 70-85 % (konfluen), dilakukan panen sel.

4.13.2 Panen Sel

Dibuang media kultur terlebih dahulu, lalu dicuci dengan 10 mL PBS (*Phosphate Buffered Saline*) hingga sisa-sisa media hilang. Ditambahkan trispsin 0,1 % sebanyak 2 mL secara merata dan diinkubasi selama 3 menit, ditambahkan media DMEM 5 mL untuk menginaktifkan sel serta dilakukan resuspensi, diamati dibawah mikroskop *inverted*.

4.13.3 Penghitungan Sel Kanker

Diambil 10 µL panen sel dan dipipetkan ke hemositometer. Diamati dan dihitung dibawah mikroskop *inverted* dengan *counter*. Jumlah sel kanker dapat diketahui dengan perhitungan pada persamaan (2) sebagai berikut:

$$\text{Jumlah sel per mL} = \frac{n}{4} \times 10^4 \dots\dots\dots(2)$$

Keterangan :

N : jumlah sel pada seluruh kamar.

4.13.4 Peletakan Sel pada Plate

Jumlah sel yang diletakkan pada *plate* setiap sumur diketahui dengan menggunakan persamaan (3) sebagai berikut:

$$\frac{\sum \text{total sel yang diperlukan}}{\sum \text{sel terhitung/mL}} \dots\dots\dots(3)$$

Sel yang telah dihitung sesuai kebutuhan kemudian ditambahkan media DMEM hingga 10 mL, lalu diletakkan dalam setiap sumuran pada plate sebanyak 100 µL. Disisakan beberapa sumuran untuk kontrol sel dan kontrol

media. Selanjutnya diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 37 °C/ 5 % CO₂.

4.13.5 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada Plate

Ditimbang masing-masing formulasi SNEDDS sebanyak 10 mg dalam wadah yang berbeda, lalu dilarutkan masing-masing formulasi dalam 100 µL DMSO (*dimethyl sulfoxide*) dan dihomogenkan dengan vorteks. Dilakukan pengenceran bertingkat menggunakan pelarut media DMEM dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 dan 15,625 ppm. Diambil sel dari inkubator, kemudian dibuang media sel dengan cara dibalikkan *plate* 180 °C diatas tempat buangan dan ditekan secara perlahan diatas tissue untuk meniriskan sisa media. Dimasukkan 100 µL PBS kedalam semua sumuran yang terisi sel dan dibuang kembali. Lalu dimasukkan variasi konsentrasi larutan sampel masing-masing sebanyak 100 µL ke dalam sumuran yang telah dikultur sel secara berurutan, setiap konsentrasi diulang sebanyak 3x (triplo). Diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 37 °C / 5 % CO₂.

4.13.6 Penambahan Larutan MTT

Media sel dibuang dengan cara dibalik *plate* 180 °C dan setiap sumuran dicuci dengan 200 µL PBS, lalu ditambahkan larutan MTT (reagen 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide) berwarna kuning 100 µL kesetiap sumuran. Kemudian diinkubasi kembali selama 3-4 jam didalam inkubator pada suhu 37 °C / 5 % CO₂ (sampai terbentuk kristal formazan atau perubahan warna menjadi biru). Apabila kristal formazan telah terbentuk diamati kondisi sel dengan mikroskop *inverted*, lalu ditambahkan stopper SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*) 10 % dalam 0,1 N HCl sebanyak 100 µL, dibungkus *plate* dengan aluminium foil dan diinkubasi kembali di tempat gelap (suhu ruangan) semalam.

Langkah selanjutnya yaitu pembacaan nilai absorbansi dengan ELISA *reader* untuk mengetahui nilai IC₅₀ setiap Formulasi. Tahapan awalnya ini

dihidupkan ELISA reader dan ditunggu hingga *processing* selesai, dibuka pembungkus *plate* dan tutup *plate* kemudian dimasukkan ke ELISA reader, dibaca absorbansi masing-masing sumuran dengan panjang gelombang 595 nm. Dimatikan kembali ELISA reader. Lalu dihitung persentase sel hidup dengan persamaan (4).

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{A-B}{C-B} \times 100\% \dots\dots\dots(4)$$

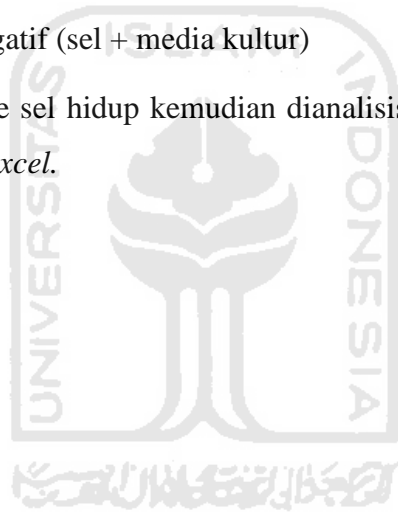
Keterangan :

A = absorbansi perlakuan (sel + media kultur + sampel)

B = absorbansi kontrol media (media kultur)

C = absorbansi control negatif (sel + media kultur)

Data dari persentase sel hidup kemudian dianalisis untuk mengetahui nilai IC_{50} dengan *microsoft excel*.



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran dari tanaman jambu biji yang digunakan sebagai bahan uji. Dengan tujuan yaitu agar dapat menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan yang akan digunakan sebagai bahan penelitian. Determinasi dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Berdasarkan hasil determinasi, diketahui bahwa sampel tanaman jambu biji yang digunakan berasal dari spesies *Psidium guajava* L., famili *myrtaceae*, Ordo *myrtales*, kelas *magnoliopsida*, sub divisi *spermatophytina*, divisi *tracheophyta*. Hasil determinasi disajikan pada Lampiran 1.

5.2 Preparasi Sampel

Daun jambu biji dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan tidak terpapar sinar matahari langsung untuk menghindari kerusakan komposisi kimia pada sampel daun jambu biji. Proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air dan mencegah tumbuhnya jamur pada daun jambu biji, sehingga daun dapat tahan lebih lama. Daun jambu biji yang telah kering dihaluskan hingga menjadi serbuk. Memperkecil ukuran daun dilakukan untuk memperbesar luas permukaan, sehingga kontak antara sampel dan pelarut juga semakin besar. Hal ini dapat memudahkan proses pengambilan komponen kimia yang terdapat dalam daun jambu biji.

5.3 Ekstraksi daun jambu biji

Sampel serbuk daun jambu biji diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Penggunaan pelarut etanol 96% karena sifatnya polar dan sangat volatil sehingga baik digunakan sebagai pelarut ekstrak (Aafifah, 2012). Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel sebanyak 750 gram dalam botol kaca dengan suhu ruang.

Pada saat proses ekstraksi, rendaman disimpan pada tempat yang tidak terpapar sinar matahari secara langsung karena dapat merusak metabolit sekunder pada sampel. Pada saat perendaman sampel akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Perendaman dilakukanselama 24 jam dan dilakukan remaserasi bertujuan untuk memperoleh hasil ekstraksi yang lebih optimal, karena detruksi dilakukan beberapa kali sehingga dapat mengambil senyawa dalam sampel dengan maksimal.

Maserat yang masih mengandung pelarut kemudian dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator* secara perlahan pada temperatur ± 50 °C hingga tidak ada lagi pelarut yang tersisa. Hasil maserasi dari serbuk daun jambu biji ditunjukkan pada Tabel 2. Perhitungan % rendemen dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel 2. Hasil rendemen ekstrak etanol daun jambu biji

Berat serbuk (g)	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%)
750	263,935	35,19

Pada tahap ini juga dilakukan pengamatan sifat fisik terhadap ekstrak etanol daun jambu biji. Hasil uji disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pengamatan sifat fisik ekstrak etanol daun jambu biji

Analisis ekstrak	Hasil
Bentuk	Ekstrak kental
Warna	Hijau tua pekat
Bau	Khas jambu buji

5.4 Fraksinasi ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)

Fraksi etil asetat merupakan pelarut dengan toksisitas rendah (mudah menguap, hidroskopis) yang bersifat semipolar sehingga diharapkan dapat

menarik senyawa yang bersifat polar maupun non polar pada daun jambu biji. Pada uji ini fraksinasi dilakukan untuk mengelompokkan senyawa atau komponen dalam ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya. Pada penelitian ini Pemisahan dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom gravitasi. Kromatografi kolom adalah suatu teknik pemisahan yang didasarkan pada peristiwa adsorpsi dengan memanfaatkan kepolaran senyawa dan gaya gravitasi (Mutmainnah dkk., 2017). Prinsipnya pada kolom terdapat fase diam dan dialiri fase gerak untuk memisahkan komponen berdasarkan kepolaran senyawa dengan gaya gravitasi. Fase diamnya adalah silica gel dan fase geraknya adalah pelarut etil asetat, sehingga senyawa yang didapat adalah senyawa yang bersifat semi-polar, karena etil asetat bersifat semi-polar.

Fraksi yang masih mengandung pelarut etil asetat di pekatkan dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* dengan suhu ± 50 °C hingga semua pelarut habis menguap. Rendemen dapat dilihat pada Tabel 4 dan perhitungan % rendemen dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel 4. Hasil rendemen fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji.

Berat fraksi (g)	Berat ekstrak pekat (g)	Rendemen (%)
263,93	46,06	17,45

Pada tahap ini juga dilakukan pengamatan sifat fisik terhadap fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji. Hasil uji disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil pengamatan sifat fisik fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji.

Organolepsi	Hasil
Bentuk	Cairan kental
Warna	Hijau tua
Bau	Tidak berbau

5.5 Penapisan Fitokimia

Identifikasi kandungan kimia dilakukan untuk memberikan gambaran mengenai golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam suatu ekstrak (Kristanti dkk., 2008). Uji fitokimia merupakan salah satu pengujian secara kualitatif yang bertujuan mengidentifikasi kandungan senyawa aktif dalam sampel. Uji yang dilakukan diantaranya uji senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid/steroid dan fenolik. Hasil uji tersebut seperti pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji fitokimia fraksi daun jambu biji

Bahan uji	Uji fitokimia	Pereaksi	pengamatan	Hasil uji
Fraksi etil asetat	Alkaloid	<i>Dragendorff</i>	Larutan kuning kecokatan	-
	Flavonoid	HCl + Mg	Ada endapan (larutan hijau)	+
	Tanin/polifenol	FeCl ₃	Ada endapan (Larutan kehijauan)	+
	Terpenoid	Asam asetat anhidrat +H ₂ SO ₄	Ada endapan (Larutan kehijauan)	+

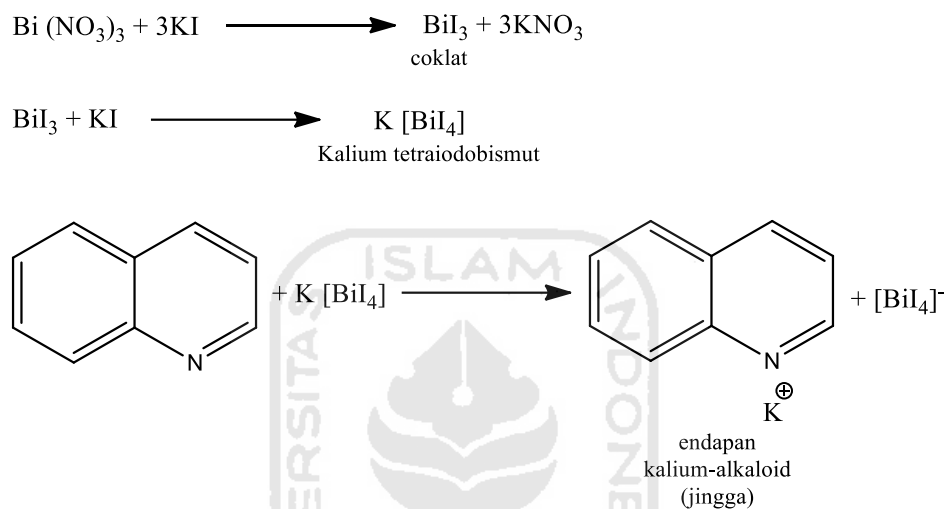
Keterangan : (+) : Positif (terdapat senyawa)

(-) : Negatif (tidak terdapat senyawa)

5.5.1 Uji alkaloid

Uji adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan warna jingga pada pereaksi *Dragendorff* yang dibuat dari bismuth nitrat dan dilarutkan pada HCl. Penambahan asam bertujuan untuk mencegah reaksi hidrolisis bismut karena garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil. Hasil positif alkaloid dengan reagen *Dragendorff* ditandai dengan munculnya warna coklat hingga jingga. Fraksi etil asetat tidak menunjukkan adanya perubahan warna setelah

penambahan pereaksi *Dragendorff*, sehingga menunjukkan bahwa tidak terdapat gugus N pada alkaloid yang berikatan kovalen dengan ion K^+ membentuk garam kalium alkaloid yang merupakan ion logam berwarna jingga. Hasil tersebut menunjukkan fraksi etil asetat negatif alkaloid. Reaksi antara alkaloid dengan reagen *Dragendorff* ditunjukkan pada Gambar 9.

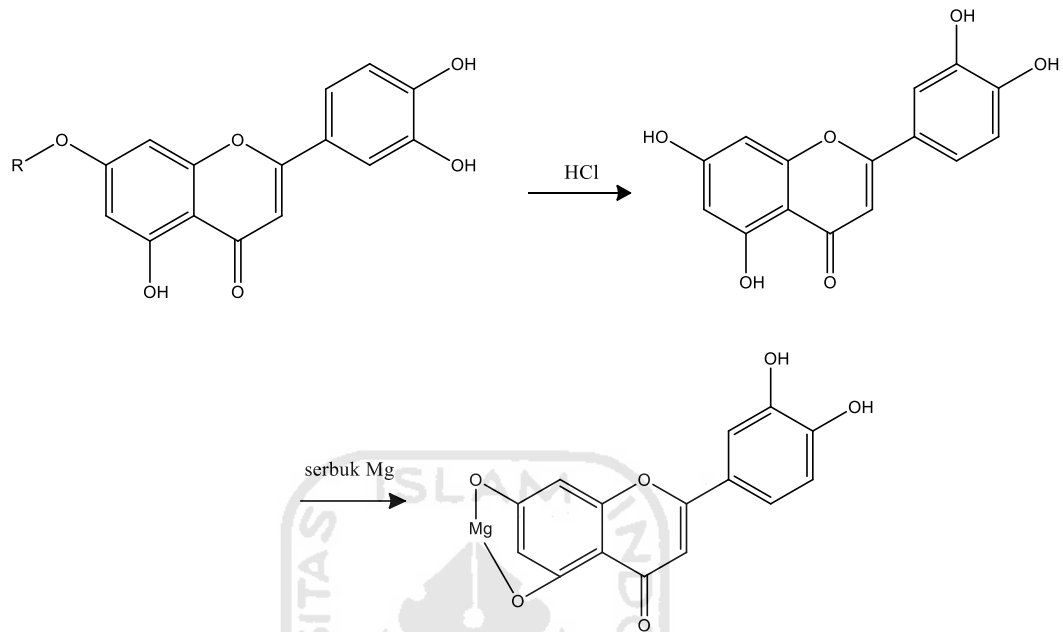


Gambar 9. Reaksi pada uji alkaloid (Setyowati dkk., 2014).

5.5.2 Uji flavonoid

Senyawa golongan flavonoid merupakan senyawa polifenol dengan susunan C₆-C₃-C₆ sebagai kerangka dasar. Senyawa flavonoid dilaporkan memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antibakteri, antidepresan, antioksidan dan antitumor. Uji senyawa flavonoid pada penelitian ini dilakukan dengan pereaksi *Wilstater* yaitu dengan penambahan asam klorida (HCl) pekat dan serbuk magnesium (Mg). Penambahan HCl pekat digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton. Hal ini

menandakan bahwa flavonoid bereaksi dengan pereaksi HCl dan Mg. Reaksi yang terjadi ditunjukkan seperti Gambar 10.

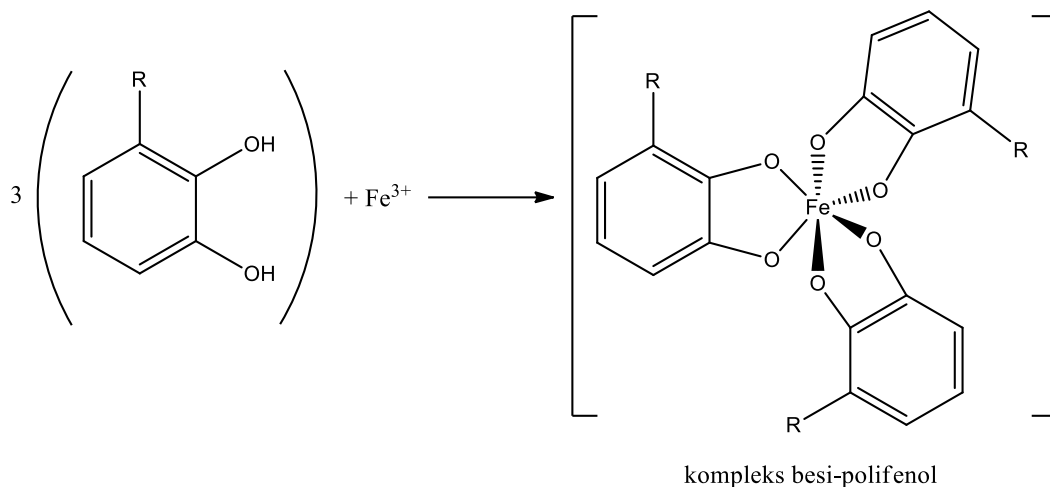


Gambar 10. Reaksi flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat.

Kemudian pada fraksi etil asetat terjadi perubahan warna larutan menjadi hijau serta terbentuk endapan, hal ini menunjukkan adanya senyawa flavonoid berupa glikon atau glikosida.

5.5.3 Uji Tanin/polifenol

Pada uji tanin digunakan pereaksi berupa FeCl_3 akan membentuk kompleks yang berwarna biru sampai hitam. Pada saat penambahan pereaksi FeCl_3 kedalam fraksi etil asetat menunjukkan adanya perubahan warna larutan menjadi kehijauan sampai hitam dan terbentuk endapan. Hasil ini diperkuat dengan penelitian laily (2014), yang menunjukkan bahwa hasil identifikasi tannin pada ekstrak etanol tanaman tersebut juga positif mengandung tannin. Endapan dan perubahan warna tersebut terjadi karena adanya ikatan kompleks antara Fe dengan senyawa tanin atau polifenol yang memiliki gugus hidroksil. Dimana Fe akan berikatan dengan O yang bersifat nukleofil (Halimah, 2010). Reaksi uji tanin atau polifenol dengan FeCl_3 ditunjukkan pada Gambar 11.

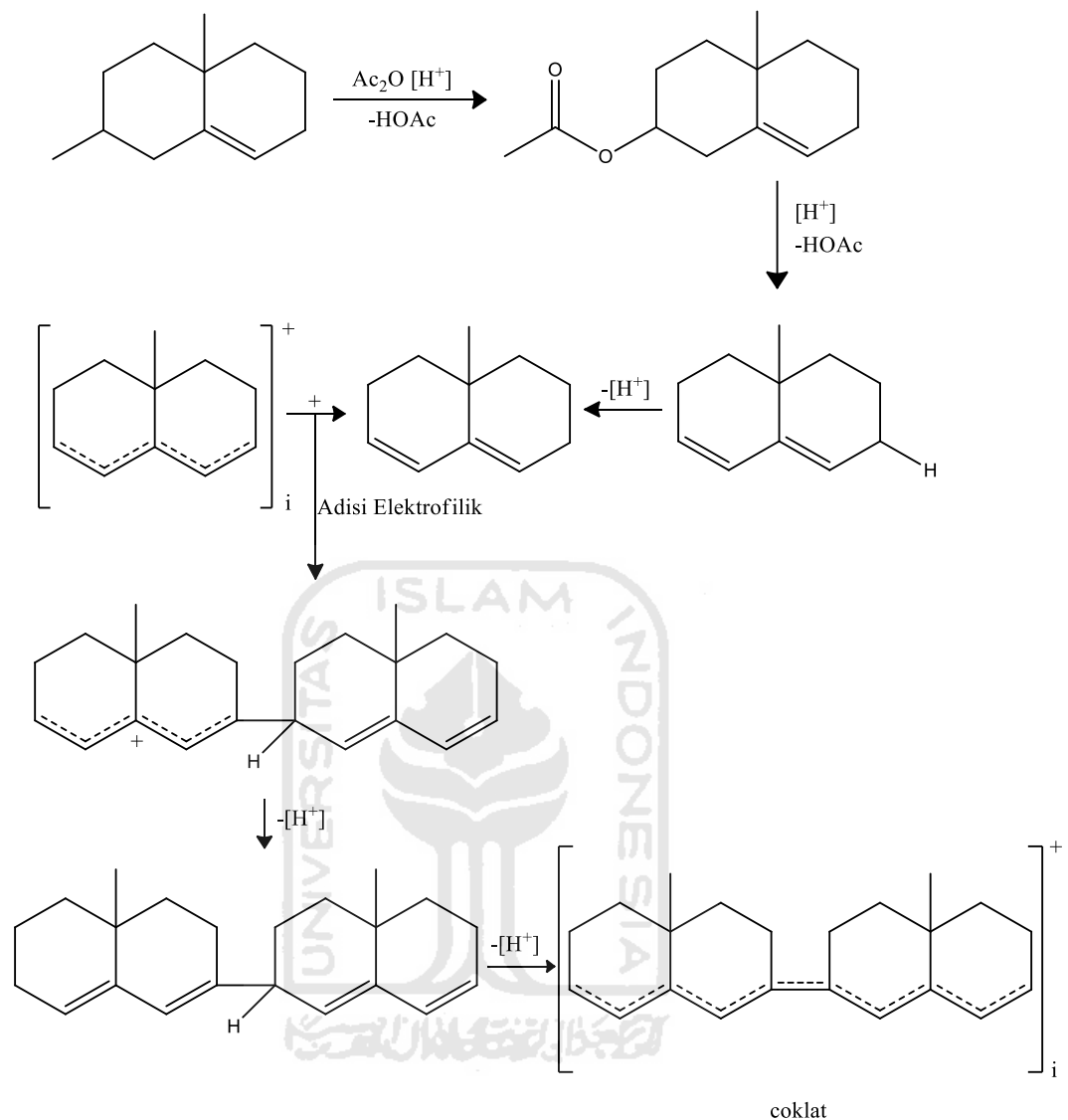


Gambar 11. Reaksi uji tanin atau polifenol dengan FeCl_3 .

5.5.4 Uji terpenoid

Untuk identifikasi senyawa golongan terpenoid menggunakan pereaksi *Liebermen-Burchard* yaitu berupa campuran antara asetat anhidrida dengan H_2SO_4 pekat. Pada percobaan dengan fraksi etil asetat menghasilkan endapan (Larutan kehijauan). Dimana timbulnya warna tersebut disebabkan oleh adanya oksidasi pada senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Prinsip dalam reaksi uji terpenoid adalah kondensasi atau pelepasan H_2O dan penggabungan karbokation. Reaksi tersebut dimulai dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrat. Kemudian gugus asetil lepas dan terbentuk ikatan rangkap. Reaksi berlanjut dengan terjadinya pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya dan mengakibatkan ikatan rangkap berpindah.

Selanjutnya senyawa mengalami resonansi dan bertindak sebagai karbokation. Karbokation menyebabkan terjadi reaksi adisi elektrofilik, diikuti dengan pelepasan hidrogen beserta elektronnya, sehingga senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan warna coklat pada larutan (Siadi, 2012). Reaksi tersebut dapat ditunjukkan pada Gambar 12.



Gambar 12. Reaksi pada uji terpenoid dengan pereaksi *Liebermann Burchard* (Setyowati dkk.,2014).

5.6 Analisis kandungan senyawa dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) menggunakan LC-MS/MS

Liquid chromatography-tandem mass spectrometry adalah teknik analisis yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dari kromatografi cair dengan spesifikasi deteksi spektrometri massa. Kromatografi cair memisahkan komponen komponen sampel dan kemudian ion bermuatan dideteksi oleh spektrometer massa, data LC-MS/MS dapat digunakan untuk memerikan informasi, tentang

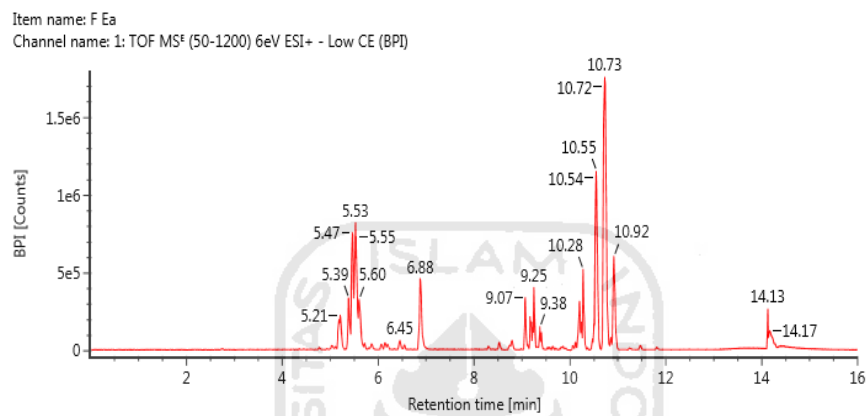
berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen sampel tertentu(Sumbono, 2010).

Analisis kandungan senyawa dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) digunakan jenis instrumen UPLC-QTOF-MS/MS. Pada sistem LC, eluen yang digunakan yaitu campuran dari fase gerak A (air + 0,1% asam format) dan fase gerak B (asetonitril + 0,1% asam format) dengan sistem elusi gradien, dimana perubahan waktu dapat mempengaruhi perbandingan jumlah kedua pelarut. Campuran dari fase gerak asetonitril/asam format mempercepat pemisahan di dalam kolom secara efisien dalam kurun waktu 10-15 menit (Farak dkk., 2016). Sedangkan fase diam yang digunakan adalah C18 atau oktadesil silika. Oktadesil silika (C18) dapat memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran yang rendah, sedang, maupun tinggi (Gupta dkk., 2013).

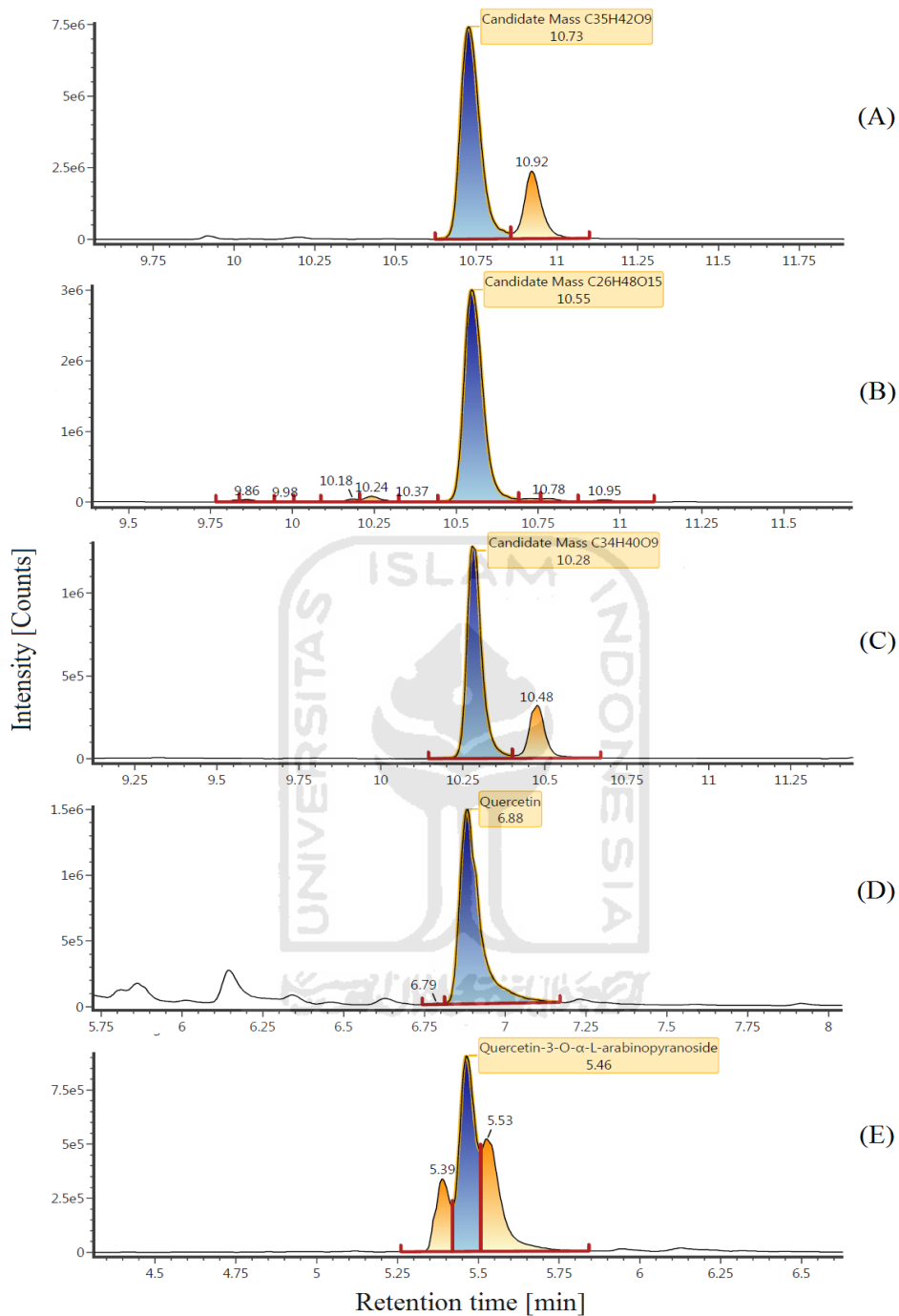
Pada sistem MS menggunakan sumber ion *Electrospray ionization* (ESI) pengionan positif dan analisator MS *Quadrupole time of flight* (Q-ToF). ESI merupakan metode ionisasi untuk mendapatkan berat molekul dari senyawa metabolit dengan teknik *spray*. Ion yang terdeteksi dapat berupa $[M+H]^+$, $[M-H]^-$, analit dengan tambahan seperti Na^+ , K^+ , H_3O^+ , NH_4^+ dan molekul dari fase gerak, seperti asetonitril atau metanol. Kation-kation yang sering terbentuk dalam metode ESI adalah ion pseudomolekul hasil adisi antara analit dengan proton $(H)^+$. Oleh karena itu, nilai m/z dalam spektra akan sering bernilai $(M+H)^+$ atau $(2M+H)^+$, dengan M adalah bobot molekul analit. Pengionan positif akan membuat analit menjadi terprotonasi atau menjadi kation (Kazakevich dan Lobrutto, 2007). Selanjutnya ion-ion yang diperoleh akan dipisahkan dengan analisator jenis Q-ToF-MS. Hasil pemisahan dari Q-ToF-MS akan dideteksi di detektor dan akan menampilkan kromatogram yang dapat diolah menggunakan aplikasi MassLynx versi 4.1 sehingga dapat ditampilkan spektra dari tiap-tiap kromatogram (Maharani dkk., 2016). Kromatogram dari fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium Guajava* L.) dapat dilihat pada Gambar 13.

Gambar 14 menunjukkan kandungan senyawa dalam fraksi etil asetat daun jambu biji. Hal tersebut ditunjukkan dari munculnya beberapa puncak yang cukup tajam/ dominan diataranya puncak lain dengan waktu retensi 10.55; 10.73; 5.47;

6.89; 10,29. Puncak-puncak tersebut merupakan suatu senyawa yang diduga masih berupa campuran atau belum tunggal karena dalam sebuah fraksi seharusnya masih terdiri dari berbagai macam senyawa. Sehingga pada beberapa puncak yang intensitasnya cukup tinggi dipisahkan kembali dan didapatkan spektrum massa. Spektrum massa fraksi aktif etil asetat disajikan pada Gambar 13.



Gambar 13. Kromatogram fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (Psidium Guajava L.).



Gambar 14. Kromatogram senyawa yang teridentifikasi oleh LC-MS/MS, (A) waktu retensi 10.73 (B) 10.55 (C) 10.28 (D) 6.88 (E) 5.46.

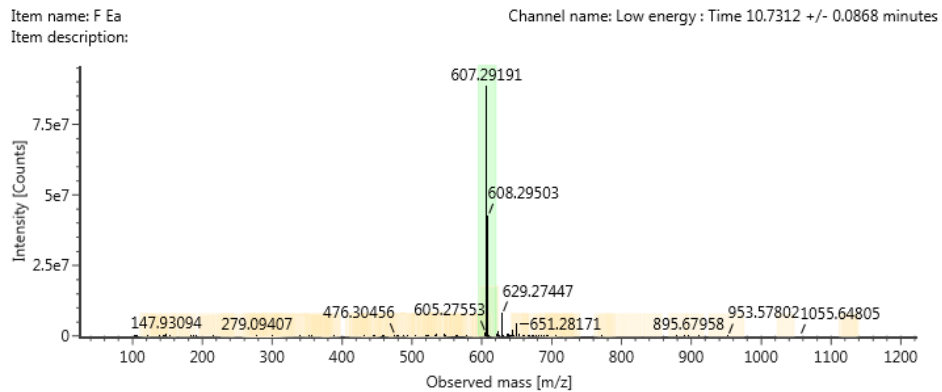
Pada Gambar 14 menunjukkan bahwa senyawa yang teridentifikasi memiliki waktu retensi yang berbea-beda. Waktu retensi adalah waktu yang dibutuhkan oleh senyawa untuk bergerak melalui kolom menuju detector. Waktu retensi

berhubungan dengan kepolaran dari senyawa yang teridentifikasi karena adanya interaksi antara senyawa didalam sampel dan fase diam yang terembankan didalam kolom. Fase diam yang digunakan bersifat non polar, sehingga senyawa yang memiliki waktu retensi terbesar adalah senyawa yang bersifat non polar dan akan terdeteksi terlebih dahulu oleh detector. Dari waktu retensi tersebut maka dapat diketahui urutan kepolaran senyawa yang teridentifikasi.

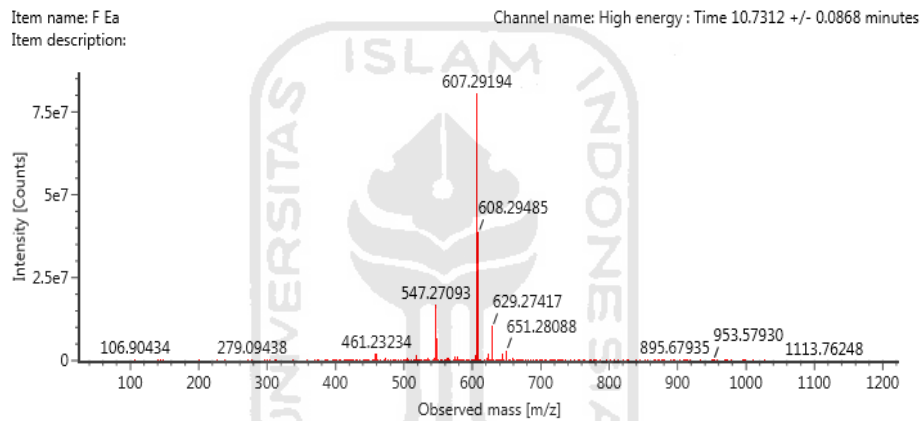
Tabel 7. Hasil analisis LC-MS/MS dengan sumber pengionan positif.

Nama senyawa	Observed m/z	Neutral mass (Da)	Observed RT (min)	Detector counts	Formula
<i>Candidate Mass</i> C ₃₅ H ₄₂ O ₉	607,2919	606,28288	10,73	4891824	C ₃₅ H ₄₂ O ₉
<i>Candidate Mass</i> C ₂₆ H ₄₈ O ₁₅	623,2871	600,29932	10.55	1917874	C ₂₆ H ₄₈ O ₁₅
<i>Candidate Mass</i> C ₃₄ H ₄₀ O ₉	593,2764	592,26723	10.29	543388	C ₃₄ H ₄₀ O ₉
Quercetin	303,0502	302,04265	6.88	663676	C ₁₅ H ₁₀ O ₇
Quercetin-3-O- α -L- arabinopyranoside	435,0925	434,08491	5.47	469330	C ₂₀ H ₁₈ O ₁₁

Tabel 7 diatas menunjukkan bahwa terdapat 5 senyawa yang terdeteksi oleh MS yaitu *Candidate Mass* C₃₅H₄₂O₉ dengan waktu retensi 10,73, *Candidate Mass* C₂₆H₄₈O₁₅ 10,55, *Candidate Mass* 10,29 C₃₄H₄₀O₉, Quercetin 6,88 dan Quercetin-3-O- α -L-arabinopyranoside 5,47 menit. Spektum Mass dari ke lima senyawa tersebut dapat dilihat pada Gambar 15-24.



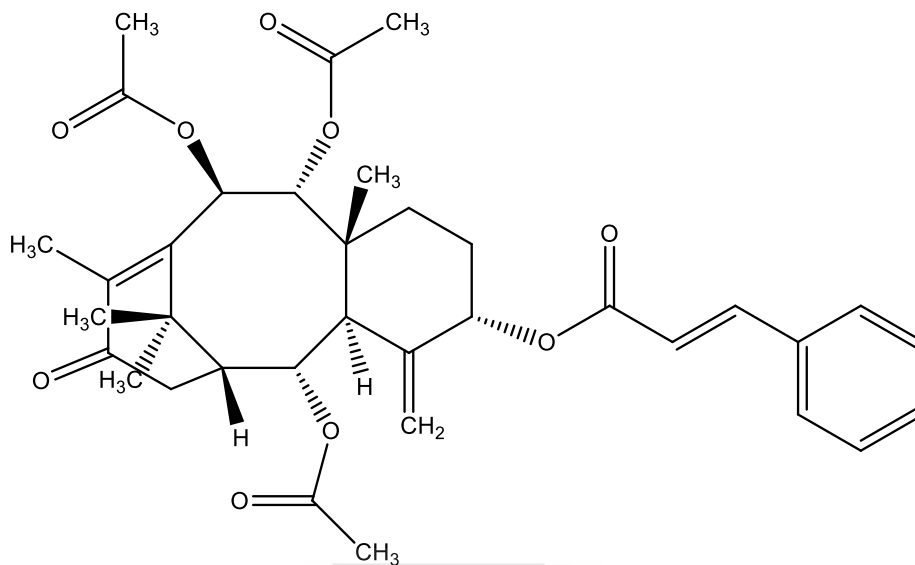
(A)



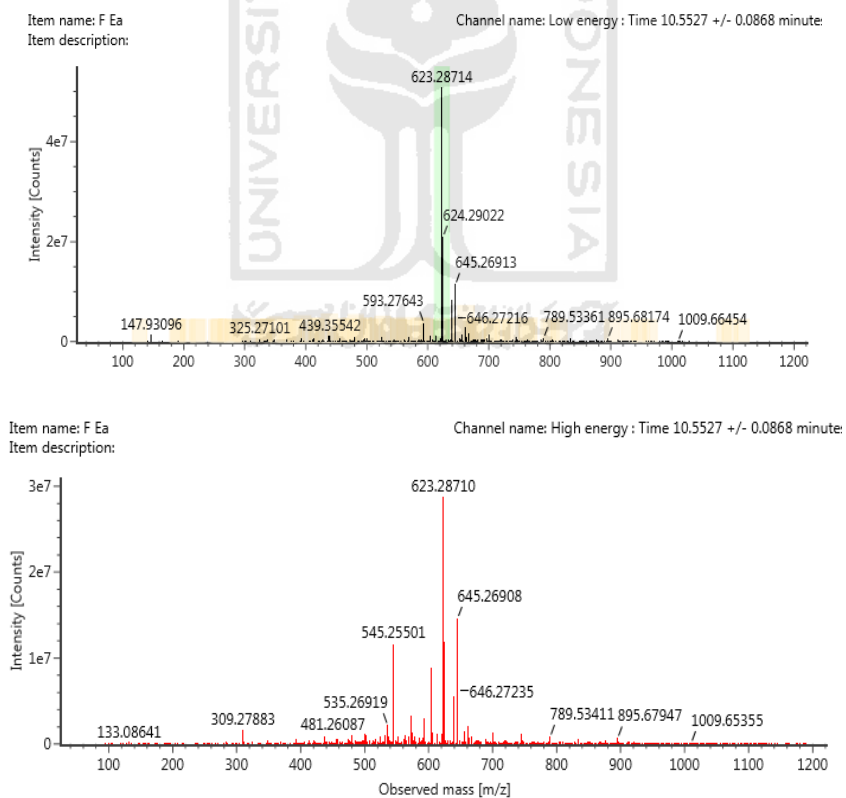
(B)

Gambar 15. Spektrum massa senyawa kandidat $C_{35}H_{42}O_9$, (A) *low energy*
(B) *high energy*.

Gambar 15 diatas menunjukkan spektrum massa senyawa kandidat $C_{35}H_{42}O_9$. Telah diketahui bahwa senyawa tersebut memiliki berat molekul sebesar 606,28288 (Da), namun berat molekul yang teridentifikasi sebesar 607,2919 m/z. Diperkirakan senyawa tersebut merupakan Taxinine. Ini terjadi dikarenakan molekul yang teridentifikasi teradisi oleh 1 proton H^+ sehingga berat molekul analit ditambah dengan berat 1 atom H yaitu 1.

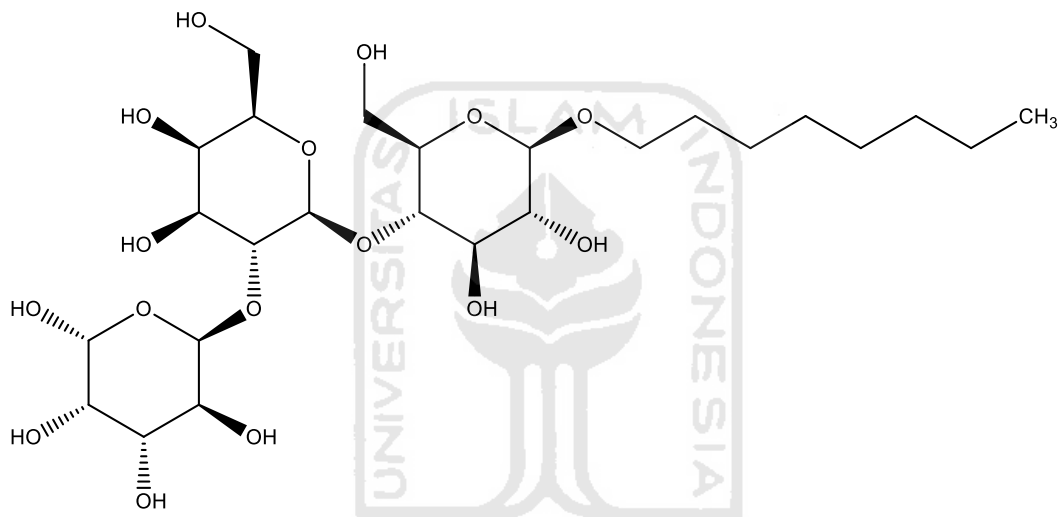


Gambar 16. Struktur senyawa taxinine

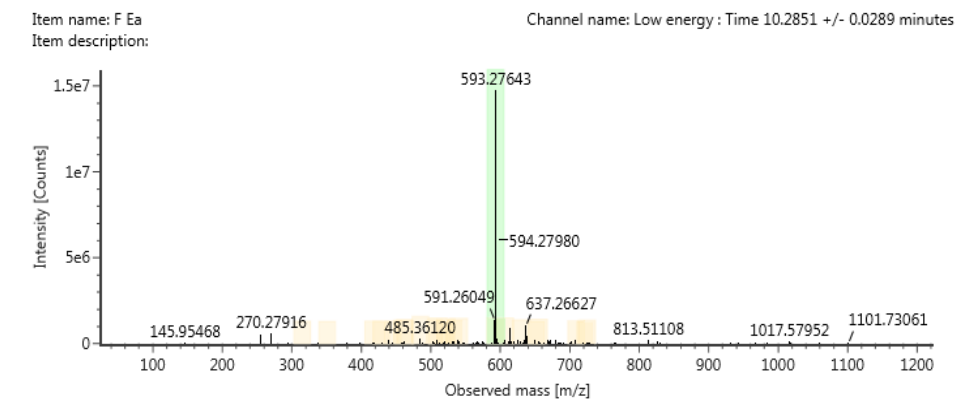


Gambar 17. Spektrum massa senyawa kandidat C₂₆H₄₈O₁₅, (A) *low energy* (B) *high energy*.

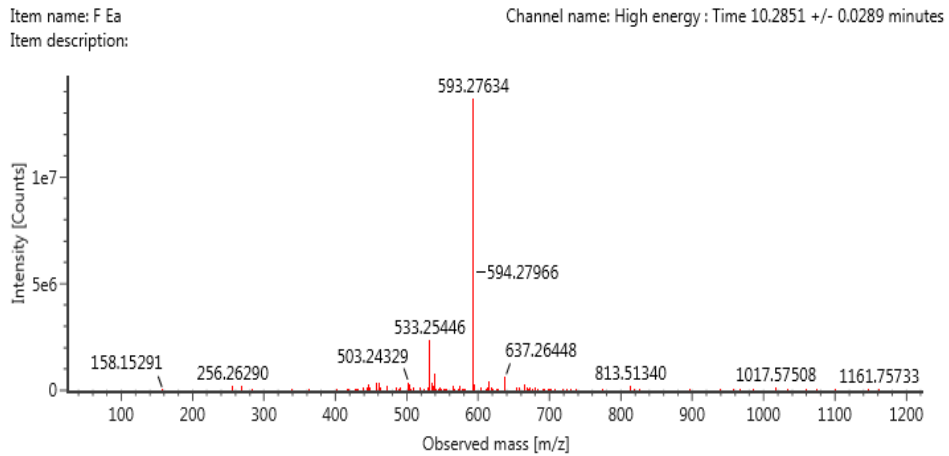
Pada Gambar 17 menunjukkan spektrum massa senyawa kandidat $C_{26}H_{48}O_{15}$. Telah diketahui bahwa senyawa tersebut memiliki berat molekul sebesar 600,29932 (Da), namun berat molekul yang teridentifikasi adalah 623,2871 m/z. Diperkirakan senyawa tersebut merupakan oktil 4-O-[2-O-(α -L-fukopiranosil)- β -D-galaktopiranosil]- β -D-glukopiranosida. Ini karena molekul yang teridentifikasi teradiasi oleh 1 proton Na^+ sehingga berat molekul analit ditambah dengan berat 1 atom Na yaitu 23.



Gambar 18. Struktur senyawa oktil 4-O-[2-O-(α -L-fukopiranosil)- β -D-galaktopiranosil]- β -D-glukopiranosida.



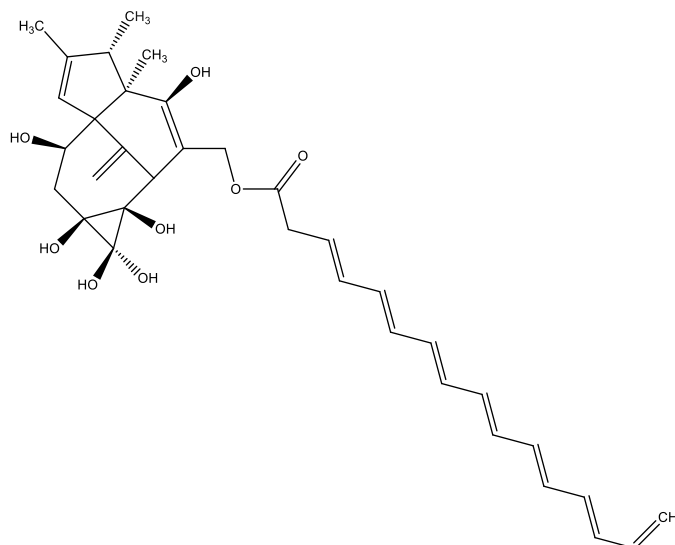
(A)



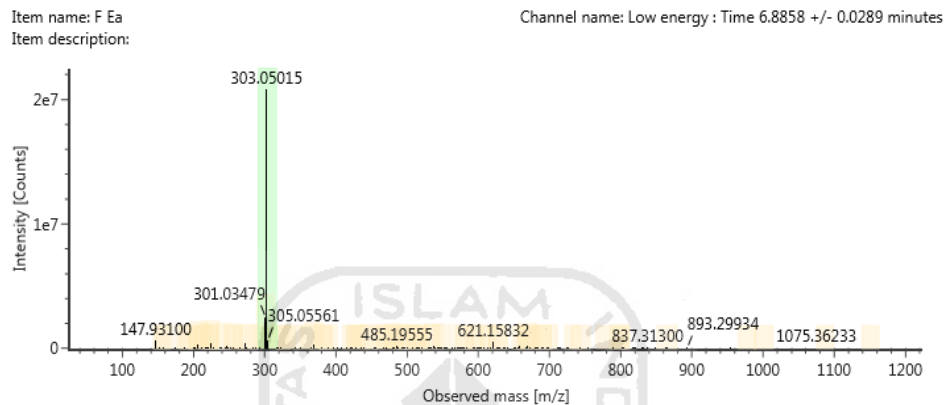
(B)

Gambar 19. Spektrum massa senyawa kandidat $C_{34}H_{40}O_9$, (A) *low energy* (B) *high energy*.

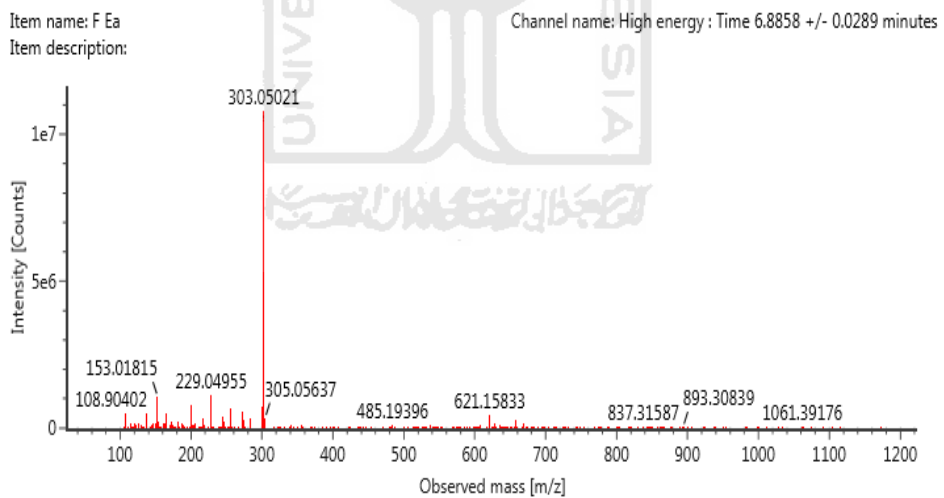
Pada Gambar 19 spektrum massa senyawa kandidat $C_{34}H_{40}O_9$. Telah diketahui bahwa senyawa tersebut memiliki berat molekul sebesar 592,26723 (Da), namun berat molekul yang teridentifikasi adalah 593,2764 m/z. Diperkirakan senyawa tersebut merupakan 17-hidroksiingenol. Ini karena molekul yang teridentifikasi teradisi oleh 1 proton H^+ sehingga berat molekul analit ditambah dengan berat 1 atom H yaitu 1.



Gambar 20. Struktur senyawa 17-hidroksiingenol.



(A)

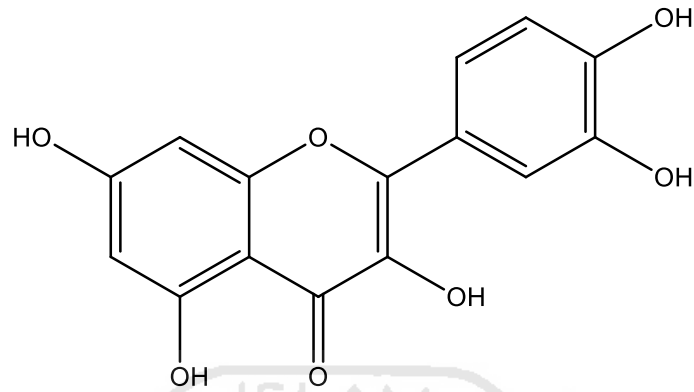


(B)

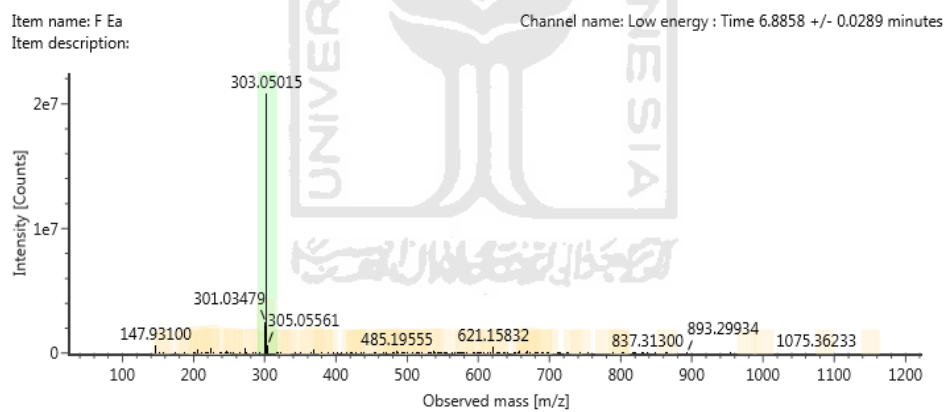
Gambar 21. Spektrum massa kuersetin, (A) *low energy* (B) *high energy*.

Pada Gambar 21 spektrum massa senyawa kandidat $C_{34}H_{40}O_9$. Telah diketahui bahwa senyawa tersebut memiliki berat molekul sebesar 592,26723 (Da), namun berat molekul yang teridentifikasi adalah 593,2764 m/z, ini karena molekul yang

teridentifikasi teradisi oleh 1 proton H^+ sehingga berat molekul analit ditambah dengan berat 1 atom H yaitu 1. Diperkirakan senyawa tersebut merupakan 17-hidroksiingenol.



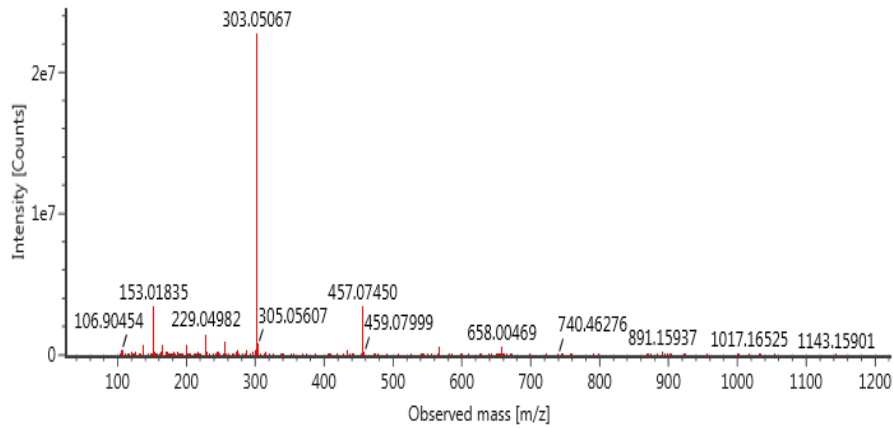
Gambar 22. Struktur senyawa kuersetin.



(A)

Item name: F Ea
Item description:

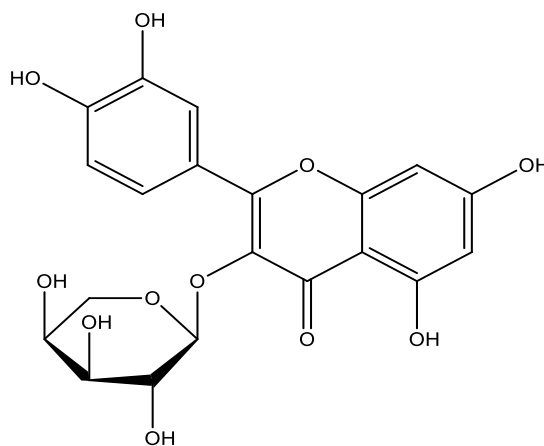
Channel name: High energy : Time 5.4710 +/- 0.0289 minutes



(B)

Gambar 23. Spektrum massa kuersetin-3-O- α -L-arabinopiranosida, (A) *low energy* (B) *high energy*.

Pada Gambar 23 menunjukan bahwa spektrum massa kuersetin-3-O- α -L-arabinopiranosida dengan formula $C_{20}H_{18}O_{11}$. Telah diketahui bahwa senyawa tersebut memiliki berat molekul sebesar 434,08491 (Da), namun berat molekul yang teridentifikasi adalah 435,0925 m/z, ini karena molekul yang teridentifikasi teradisi oleh 1 proton H^+ sehingga berat molekul analit ditambah dengan berat 1 atom H yaitu 1.



Gambar 24. Struktur senyawa kuersetin-3-O- α -L-arabinopiranosida.

Untuk menentukan senyawa manakah yang paling banyak terkandung di dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dapat dilihat pada Tabel 7, dari data *detector counts*. Dari data tersebut maka dapat diketahui bahwa senyawa terbanyak yang terkandung di dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) adalah senyawa kandidat $C_{35}H_{42}O_9$, senyawa kandidat $C_{26}H_{48}O_{15}$, kuersetin, senyawa kandidat $C_{34}H_{40}O_9$, kuersetin-3-O- α -L-arabinopiranosida.

Pada analisis kandungan senyawa dengan LC-MS/MS ini terdapat 5 senyawa yang teridentifikasi diantaranya $C_{26}H_{48}O_{15}$, $C_{35}H_{42}O_9$, Quercetin-3-O- α -L-arabinopyranoside, Quercetin, $C_{34}H_{40}O_9$. Daud M., dkk (2011) membuktikan bahwa salah satu senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang memiliki potensi sebagai antikanker yaitu Quercetin. Karyani (2005) juga membuktikan bahwa daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) mengandung Quercetin dalam kadar yang tinggi yaitu sebesar 61,71%. Quercetin (3,3',4,5,7-pentahydroxyflavone) dapat beraksi sebagai antikanker pada regulasi siklus sel, berinteraksi dengan reseptor estrogen (ER) tipe II dan menghambat enzim tirosin kinase (Lamson dkk., 2000).

5.7 Pembuatan SNEDDS fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)

SNEDDS (*Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System*) mampu menjadi sistem penghantaran obat yang baik untuk obat protein maupun obat dengan tingkat absorpsi yang rendah. Konsep dari teknologi ini adalah formulasi antara minyak, surfaktan, dan kosurfaktan yang mengandung obat. Nanoemulsion adalah transparan, tembus cahaya sistem emulsi dan merupakan dispersi minyak air yang distabilkan dengan lapisan film surfaktan atau surfaktan molekul, memiliki ukuran tetesan 100 nm - 500 nm (Martien R dkk., 2017).

Teknologi auto-emulsifikasi (*Self-nanoemulsifying Drug Delivery Systems*) SNEDDS untuk aplikasi oral melalui saluran gastrointestinal (Wadhwa dkk., 2011). Sistem ini selanjutnya akan masuk ke saluran cerna dan bercampur dengan cairan usus yang mengandung air. Ketika formula bercampur dengan cairan usus,

maka akan terjadi emulsifikasi spontan yang menghasilkan globul berukuran nanometer. Formulasi SNEDDS (*Self-nanoemulsifying Drug Delivery Systems*) yang optimal dipengaruhi oleh sifat fisikokimia dan sifat fisikokimia obat (Date dkk., 2010).

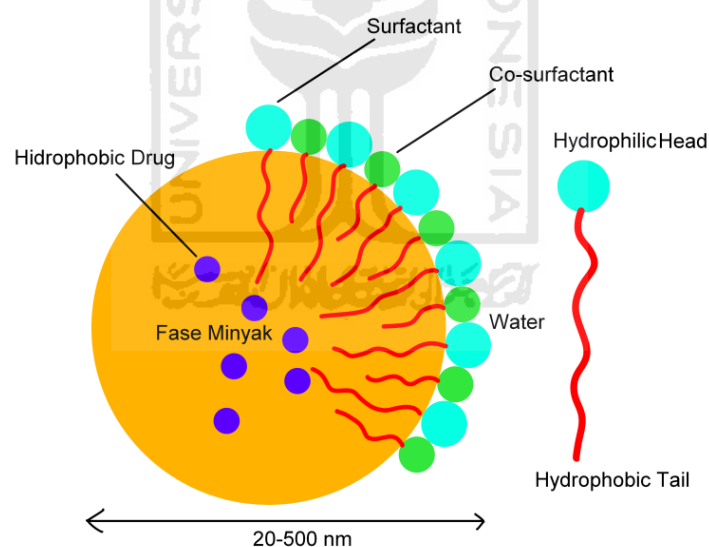
Keuntungan dari SNEDDS (*Self-nanoemulsifying Drug Delivery Systems*) yaitu dapat meningkatkan bioavailabilitas sediaan oral sehingga dosis dapat dikurangi, tetesan minyak yang halus akan terdistribusi secara cepat dan merata di seluruh gastrointestinal sehingga meminimalkan terjadinya iritasi selama kontak yang panjang antara zat obat dengan dinding usus (Makadia dkk., 2013). Selain itu, partikel zat aktif yang berukuran kecil akan meningkatkan luas permukaan secara signifikan sehingga mampu menambah kelarutan, laju disolusi dan absorpsi zat aktif di dalam tubuh (Lovelyn dan Attama 2011). Berbeda dengan emulsi, SNEDDS (*Self-nanoemulsifying Drug Delivery Systems*) tidak berpengaruh dengan adanya garam empedu, enzim atau efek lain yang terkait pada kondisi di dalam perut.

Pada Pembuatan SNEDDS (*Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System*) setiap formulasi dibuat sebanyak 1,25 mL dengan konsentrasi fraksi 40 %, 60 % dan 80 %. Pembuatan nanoemulsi dilakukan dengan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) diambil sebanyak 0,5 gram; 0,75 gram dan 1 gram, masing-masing dimasukkan ke dalam vial, kemudian masing-masing vial ditambahkan 0,125 mL Capryoll (minyak), 0,875 mL tween 20 (surfaktan) dan 0,25 mL PEG (*Poli Etylen Glikol*) (ko-surfaktan). Fungsi dari bahan-bahan tersebut yaitu minyak berfungsi untuk melarutkan atau sebagai pembawa bahan aktif yang bersifat lipofilik, surfaktan berfungsi sebagai pengemulsi minyak ke dalam air yang melalui pembentukan dan perpanjangan stabilitas lapisan film antar muka, dan ko-surfaktan berfungsi untuk membantu surfaktan menurunkan tegangan antar muka antara minyak dan air. Setiap penambahan bahan disonikasi selama 4x2 menit berfungsi sebagai memperkecil ukuran partikel.

5.8 Karakterisasi SNEDDS fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.)

Formulasi SNEDDS dibuat dengan variasi konsentrasi fraksi yang berbeda yaitu 40 %, 60 % dan 80 % dengan perbandingan capryoll, Tween 20 dan PEG 400 sebesar 20:60:20 seperti pada Tabel 1. Hal ini dilakukan untuk menentukan konsentrasi fraksi yang paling optimal untuk mencapai nanoemulsi dengan ukuran partikel terkecil. Karakterisasi formulasi SNEDDS (*Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System*) meliputi ukuran partikel, distribusi ukuran partikel, zeta potensial dan morfologi globul nanoemulsi terhadap formulasi SNEDDS (*Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System*) yang paling optimal.

Nanoemulsi yang terbentuk berupa bagian minyak yang terlindungi oleh bagian hidrofobik dari surfaktan, dan pada bagian hidrofil dari surfaktan akan berinteraksi dengan molekul air sehingga akan membentuk tetesan emulsi yang terdispersi dalam air.



Gambar 25. Ilustrasi terbentuknya nanoemulsi

Saat zat aktif fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) ditambahkan capryoll, zat aktif yang bersifat hidrofobik akan larut ke dalam capryoll. Kemudian saat ditambahkan Tween 20, maka bagian hidrofobik dari Tween 20 akan melindungi capryoll melalui interaksi yang terjadi, sedangkan

bagian hidrofilik dari Tween 20 dapat berinteraksi dengan air sehingga akan membentuk tetesan emulsi yang terdispersi dalam air. Sama seperti Tween 20, penambahan PEG 400 akan terjadi interaksi yang sama. Fungsi PEG 400 adalah membantu Tween 20 untuk mengemulsi capryoll yang membawa zat aktif ke dalam air. Ilustrasi terbentuknya nanoemulsi ditunjukkan pada Gambar 25. Penampilan visual dari formulasi SNEDDS yang telah terdispersi di dalam air dapat dilihat pada Lampiran 3.

5.8.1 Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel

Ukuran partikel sangat penting untuk menentukan laju dan jumlah obat yang dapat dilarutkan dan diserap pada sistem pencernaan dalam tubuh manusia. Obat akan menyebar lebih cepat ke dalam sistem pencernaan manusia dengan ukuran yang lebih kecil. Semakin kecil ukuran partikel, maka semakin besar luas permukaan obat yang didapatkan. Hal ini akan meningkatkan penyerapan obat oleh nanopartikel ke dalam sistem pencernaan manusia, sehingga aktivitas obat lebih optimal dan efisien. Hasil sediaan nanopartikel fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Pesidium guajava L.*) menggunakan metode SNEDDS (*Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System*) dengan variasi konsentrasi ekstrak 40 %; 60 % dan 80 %. Pada setiap variasi formula perbandingan antara capryoll : tween 20 : PEG (*Poli Etilen Glikol*) dengan masing-masing perbandingan yaitu (20:60:20) Tabel 8 menunjukkan bahwa ukuran partikel dengan berbagai konsentrasi ekstrak dapat dikategorikan sebagai nanopartikel, hal ini dikarenakan sebuah partikel dapat dikatakan nano apabila memiliki ukuran partikel diantara 1-1000 nm sudah dapat dikatakan sebagai sistem nanopartikel (Rawat dkk., 2006).

Selain itu formula yang dihasilkan sebagian besar telah memenuhi syarat ukuran yang bisa menembus jaringan epitel pada usus, yaitu berukuran di bawah 500 nm. Dari Tabel 8 dapat dijelaskan bahwa ukuran partikel pada formulasi dengan konsentrasi ekstrak 40% dapat dikatakan sebagai ukuran nano yang ideal. Hal ini dikarenakan ukuran partikel dari suatu ukuran nano yang ideal berada pada tidak lebih dari 200 nm atau berada disekitar 200 nm (Balakumar dkk., 2013). Sedangkan pada formulasi dengan konsentrasi ekstrak 60% dan 80% dapat

dikatakan sebagai ukuran nano yang kurang ideal , karena berada di atas 200 nm dengan kenampakan sedikit keruh.

Tabel 8 diketahui adanya pengaruh ukuran partikel disebabkan oleh peningkatan konsentrasi ekstrak dan minyak (capryoll), semakin besar konsentrasi ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dan minyak yang digunakan mengakibatkan semakin besar ukuran partikel yang didapatkan. Selain itu, peningkatan konsentrasi surfaktan dapat menyebabkan ukuran partikel yang lebih kecil. Hal ini dikarenakan dalam banyak kasus, peningkatan konsentrasi surfaktan akan menyebabkan terjadinya stabilisasi tetesan minyak yang dihasilkan dari lokalisasi surfaktan molekul pada antarmuka (diantara) minyak-air.

Berdasarkan nilai indeks polidispersitas Indeks (PI) yang diperoleh dari pengukuran sediaan nanopartikel ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) formulasi dengan berbagai variasi konsentrasi ekstrak menggunakan metode SNEDDS tidak melebihi 0,6 sehingga mengindikasikan bahwa dispersi partikel bersifat cukup homogen. Dalam sistem penghantaran obat, semakin kecil ukuran partikel maka akan menyebabkan semakin besar luas permukaan antarmuka yang disediakan untuk penyerapan obat (Balakumar dkk., 2013).

Tabel 8. Hasil karakterisasi ukuran dan distribusi ukuran partikel formulasi SNEDDS dengan PSA

Formulasi	Ukuran Partikel (nm)				Polidispers Index (PI)			
	I	II	III	\bar{X}	I	II	III	\bar{X}
40 %	163,1	156,3	157,7	159,0	0,333	0,381	0,268	0,327
60 %	408,1	391,4	401,7	400,4	0,578	0,588	0,554	0,573
80 %	345,3	341,5	348,9	345,2	0,364	0,475	0,366	0,401

5.8.2 Zeta Potensial

Zeta potensial biasanya digunakan untuk mengkarakterisasi sifat muatan permukaan nanopartikel, berkaitan dengan interaksi elektrostatik dari material nanopartikel tersebut. Interaksi elektrostatik akan menentukan kecenderungan

agregasi dan tolak menolak yang berdampak pada kestabilan ukuran partikel dari sediaan obat yang telah dibuat. Meningkatnya muatan elektrostatik di antara gumpalan-gumpalan akan mencegah penggabungan partikel dalam emulsi. Sebaliknya, Pengurangan muatan elektrostatik dapat menyebabkan pemisahan fasa. Muatan elektrostatik harus dapat dikendalikan dengan melihat nilai zeta potensial (Vaughn dan Williams, 2007). Pengukuran zeta potensial sangat penting dilakukan untuk mengetahui kestabilan ukuran partikel sediaan obat yang telah dibuat dalam ukuran nanopartikel tersebut. Nanopartikel dengan nilai potensial zeta lebih kecil dari - 30 mV dan lebih besar dari + 30 mV memiliki stabilitas lebih tinggi (Murdock dkk., 2008). Sistem dispersi dengan nilai zeta potensial yang rendah lebih mudah membentuk agregat seiring dengan gaya *Van der Waals* dalam interaksi partikel (Stefeld dkk., 2012). Tabel 9 menunjukkan bahwa nilai zeta potensial dari F1 hingga F3 dengan berbagai variasi konsentrasi ekstrak tidak mendekati 0, sehingga mengindikasikan bahwa kestabilan fasa pada sediaan nanopartikel cukup tinggi (Balakumar,2013). Oleh karena itu, nilai zeta potensial dapat dikatakan memenuhi kebutuhan standart zeta potensial untuk stabilitas sistem dan semakin tinggi nilai zeta potensial SNEDDS dapat menghasilkan formulasi nanopartikel yang stabil sehingga dapat bertahan untuk waktu yang lama. Ketika zeta potensial nilainya rendah, maka daya tarik akan meningkat dan akan menyebabkan agregasi yang dapat merusak sistem emulsi.

Tabel 9. Hasil karakterisasi zeta potensial formulasi SNEDDS dengan PSA.

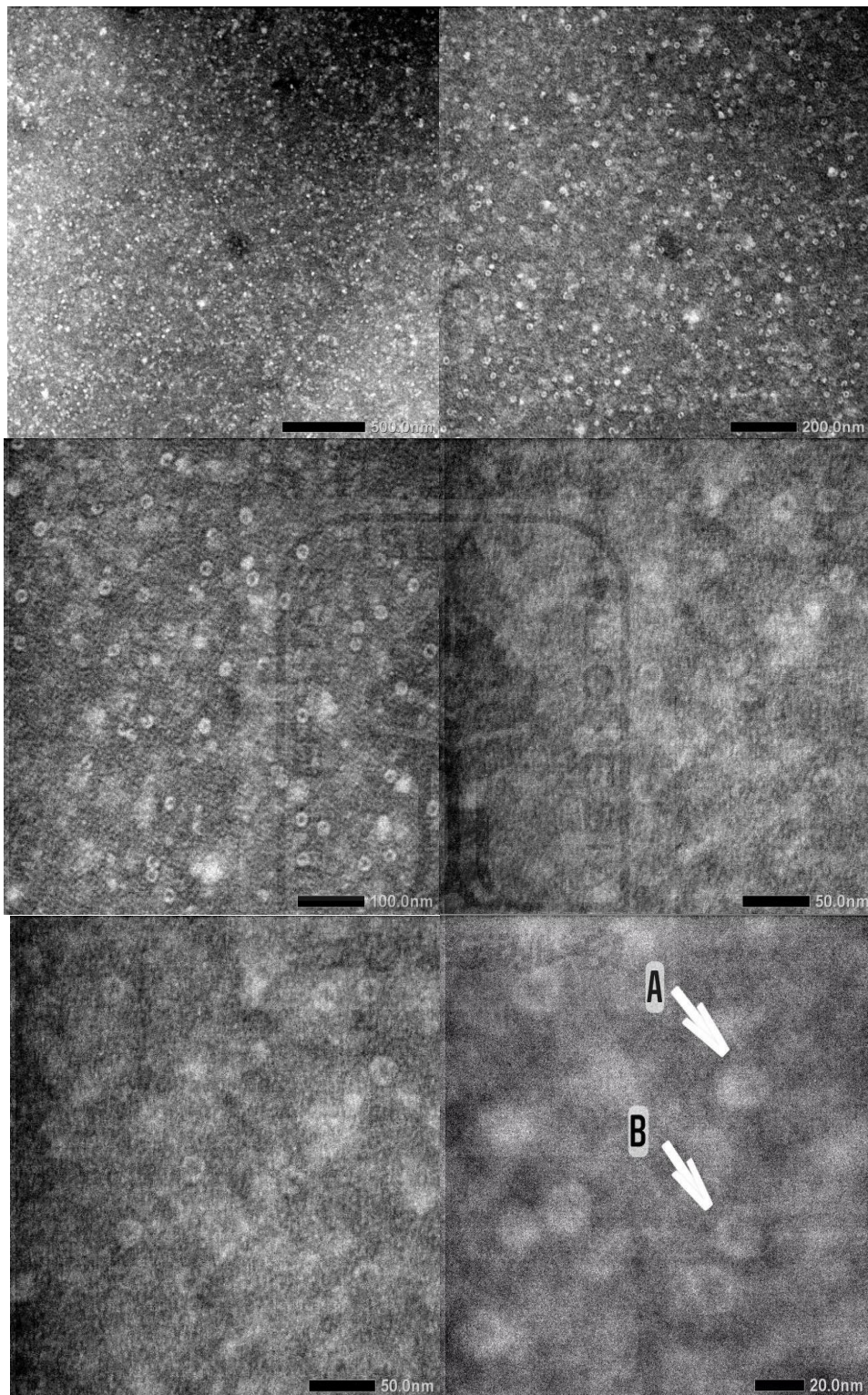
Formulasi	Zeta Potensial (mV)			
	I	II	III	\bar{X}
40 %	-25,1	-25,0	-25,6	-25,2
60 %	-26,2	-26,7	-25,3	-26,0
80 %	-29,2	-28,8	-28,6	-28,8

5.8.3 Morfologi

Karakterisasi morfologi dilakukan dengan menggunakan TEM terhadap formulasi SNEDDS yang memiliki ukuran partikel/globul terkecil yaitu formulasi

dengan konsentrasi fraksi 40 %. Melalui karakterisasi morfologi menggunakan TEM dapat dikonfirmasi ukuran partikel yang dihasilkan dari pengukuran distribusi ukuran partikel dan bentuk globul nanoemulsi. Hasil analisis TEM dapat dilihat pada Gambar 24.





Gambar 26. Hasil analisis TEM dengan perbesaran hingga 150.000 kali, (A) Globul (B) Air

Gambar 26 memperlihatkan globul nanoemulsi yang telah terdispersi didalam air. Dilihat dari gambar tersebut bahwa fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) telah berada dalam sistem nanoemulsi yang membentuk globul berukuran nanometer. Dilihat dari gambar tersebut bahwa globul memiliki bentuk sferis dengan distribusi yang cukup merata.

5.9 Pengujian sitotoksitas secara *in vitro* dengan metode MTT Assay

Pengujian antikanker ini dilakukan untuk mengetahui potensi lebih lanjut dari fraksietil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dalam menghambat pertumbuhan sel kanker dalam beberapa variasi fraksi konsentrasi yaitu 40%, 60% dan 80%. Uji aktivitas antikanker ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan sel kanker payudara T47D, MCF-7 dan sel Vero. Penelitian ini dilakukan berdasarkan uji bioaktivitas peneliti terdahulu yang menyebutkan bahwa ekstrak daun jambu biji memiliki aktivitas sebagai agen pencegahan kanker (Dwtiyanti, 2015). Dimana pada penelitian sebelumnya hanya dilakukan uji aktivitas berupa ekstrak etanol dari daun jambu biji terhadap sel kanker payudara T47D dan menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 27,54 µg/mL. Sehingga pada penelitian ini aktivitas antikanker diujikan pada fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dalam bentuk SNEDDS (*Self-nano emulsifying Drug Delivery System*) dengan modifikasi formulasi. Pengujian dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode MTT (*Microculture Tetrazolium*). Metode MTT digunakan untuk menetapkan jumlah sel dalam uji sitotoksik karena MTT merupakan metode yang cepat, sensitif, membutuhkan sedikit bahan uji serta paling umum digunakan dalam pengujian secara *in vitro* (Putri, 2013). Metode MTT menggunakan metode pewarnaan dengan *trypan blue*, dan metode pembebasan isotop kromiun (Siregar dkk, 2000).

Tahapan pengujian aktivitas antikanker secara *in vitro* yaitu penyiapan sel kanker, panen sel, uji sitotoksitas, pemberian reagen MTT, dan pembacaan absorbansi. Penyiapan sel dilakukan melalui beberapa tahap yaitu mengaktifkan sel serta menumbukan kembali hingga konfluen. Konfluensi sel adalah tumbuh homogennya atau meratanya sel sebagai sel *monolayer* yang menutupi *cover*

glass. Pada tahap panen sel yaitu terjadi penumbuhan dan pembiakan sel dengan penambahan media kultur. Prinsipnya adalah melepaskan ikatan antara sel dengan matriks dan ikatan antar sel tanpa merusak sel. Media kultur yang digunakan untuk sel T47D, MCF-7 dan Vero yaitu media DMEM.

Pada tahap panen sel ditambahkan tripsin tujuannya adalah untuk melepaskan interaksi antara sel dengan wadah. Penghitungan sel kanker dilakukan menggunakan hemositometer dan pengamatan dibawah mikroskop *inverted* untuk mengetahui jumlah sel yang akan digunakan bahan uji dengan *out put* berupa data.

Tahap uji sitotoksik meliputi subkultur sel, preparasi sampel dan *treatment* sel. Pada tahapan subkultur sel akan dilakukan pemindahan sel dari kondisi konfluen ketempat yang masih kosong. Tujuan subkultur adalah agar sel yang digunakan tumbuh secara maksimal pada medianya (CCRC, 2009).

Pada tahap panen sel, sel dikultur kembali dan dibagi menjadi 3 kelompok sesuai dengan formulasi yaitu 40 %, 60 %, 80 % dan pada sumuran paling bawah plate dibiarkan kosong sebagai control sel, control media, dan blank. Hasil perhitungan panen sel yang diperoleh untuk sel kanker payudara T47D, MCF-7 dan Vero berturut-turut adalah 142×10^4 mL, 61×10^4 mL, 225×10^4 mL. Sel yang diambil untuk dikultur kembali berturut-turut T47D, MCF-7 dan Vero adalah sejumlah 0,70; 1,63; 0,44 μ L. Suspensi sel kemudian dipipet 100 μ L kedalam plat 96 kecuali kelompok kontrol media. Selanjutnya plat diinkubasi didalam inkubator CO₂ 5 % / 37 °C selama 24 jam agar sel menempel pada dasar *plate*. Inkubasi digunakan agar sel mencapai fase logaritmik yaitu fase dimana sel berada pada pertumbuhan yang optimum, fase logaritmik ditandai dengan keadaan sel yang konfluen 80% menutupi permukaan wadah medium (CCRC, 2008).

Tahap selanjutnya adalah preparasi sampel meliputi pelarutan sampel dan pembuatan larutan seri konsentrasi. Pelarutan sampel dilakukan dengan pelarut dimetilsulfoksida (DMSO). Dimetilsulfoksida merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah fraksi etil asetat ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dalam bentuk SNEDDS. Hal pertama yang dilakukan yaitu membuat larutan stok dengan menimbang 0.01 mg sampel kemudian dilarutkan dengan DMSO 100

μL . Banyaknya larutan uji yang dipipet untuk formulasi 40 %, 60 % dan 80 % berturut-turut sebanya 4; 3,7; dan 3,7 lalu dimasukan larutan uji kedalam pengenceran bertingkat dengan konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625 $\mu\text{g/L}$ dengan pelarut media DMEM untuk sel T47D, MCF-7 dan Vero. Selanjutnya dipipet larutan uji kedalam sumuran masing-masing 4 kali replikasi. Untuk setiap konsentrasi kecuali untuk kontrol sel hanya dipipet dengan media 100 μL . Kemudian *plate* diinkubasi kembali dalam inkubator CO_2 5 % / 37 °C selama kurang lebih 24 jam. Pengamatan morfologi sel setelah di *treatment* dilakukan dibawah mikroskop *inverted*.

Hasil *treatment* tidak dapat diamati secara kasat mata, namun setelah penambahan reagen MTT dapat diamati karena terjadi reaksi kolorimetri dengan mikroskop *inverted*. Pengujian menggunakan larutan MTT (*4,5-dimethylthiazol-2-yl*)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) dilakukan dengan memasukkan larutan ini ke dalam setiap sumuran lalu diinkubasi selama 4 jam. Pada saat inkubasi, MTT yang berwarna kuning akan dimetabolisme oleh enzim suksinat dehidrogenase yang terdapat pada mitokondria sel hidup menjadi kristal formazan berwarna ungu. Kemudian reaksi dihentikan menggunakan reagen *stopper* yaitu SDS 10%. Reagen *stopper* bersifat detergenik berfungsi melarutkan kristal formazan yang direduksi oleh sistem reduktase sel. Kemudian plat diinkubasi dalam suhu kamar dalam waktu 24 jam. Selanjutnya absorbansi diukur menggunakan ELISA Reader dengan panjang gelombang 595 nm. Penggunaan panjang gelombang 595 nm karena warna yang tampak pada larutan adalah ungu kebiruan yang akan menyerap warna kuning dari spektrum sinar tampak (Effendy, 2007).

Pada penelitian ini dapat teramati perubahan warna yang terjadi dalam *plate* setelah proses MTT secara langsung dan jelas. Metode MTT merupakan metode dalam uji sitotoksitas yang sering digunakan karena dapat menunjukkan hubungan antara jumlah sel hidup dan absorbansi yang diperoleh untuk mendapatkan nilai IC_{50} . Morfologi Sel T47D, MCF-7 dan Vero sebelum dilakukan *treatment* (a) T47D, (b) MCF-7 dan (c) Vero ditunjukkan pada Gambar 25.



(A)

(B)

(C)

Gambar 27. Morfoligo Sel sebelum dilakukan treatment (A) T47D, (B) MCF-7 dan (C) Vero.

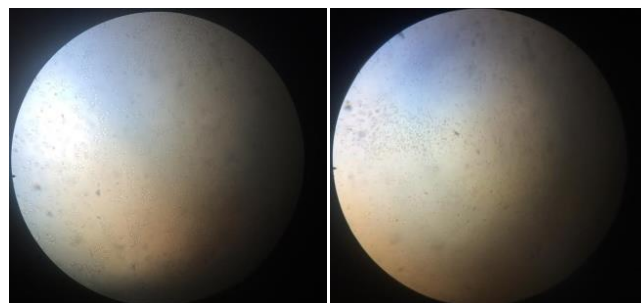
Pengamatan morfologi sel setelah di *treatment* dilakukan dibawah mikroskop *inverted* pada variasi formulasi 40%, 60% dan 80% dengan derat konsentrasi (a) tertinggi (1000) dan (b) terendah (15.625) $\mu\text{g/L}$ untuk sel T47D, MCF-7 dan Vero. Hal ini dapat ditunjukkan pada Gambar 28-30.



(a)

T47D

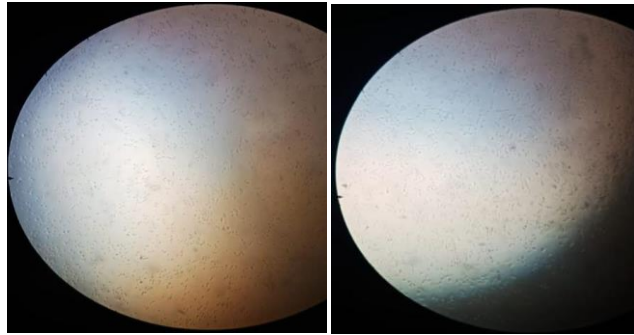
(b)



(a)

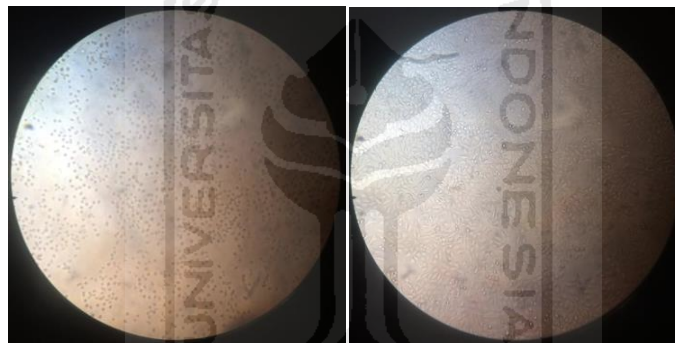
MCF7

(b)

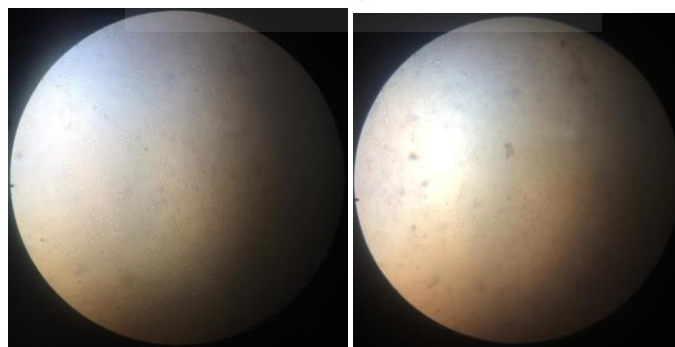


(a) Sel Vero (b)

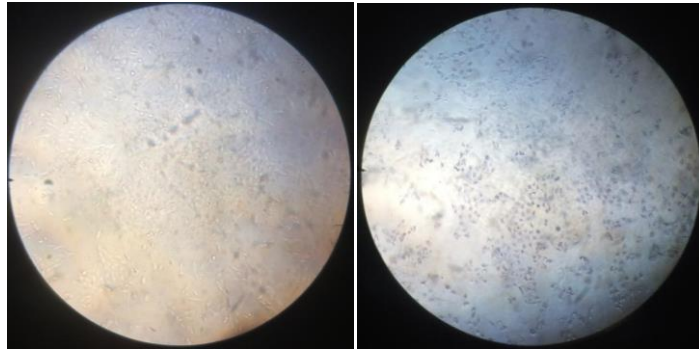
Gambar 28. Sel T47D, MCF7 dan Verro setelah *treatment* pada konsentrasi 40% dengan derat konsentrasi (a) tertinggi (1000) dan (b) terrendah (15.625) $\mu\text{g/L}$.



(a) Sel T47D (b)



(a) Sel MCF7 (b)

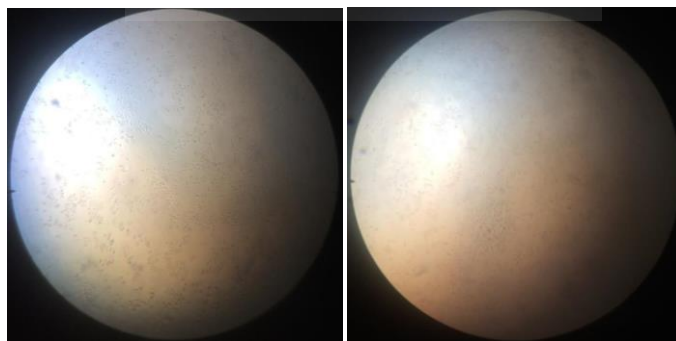


(a) Sel Vero (b)

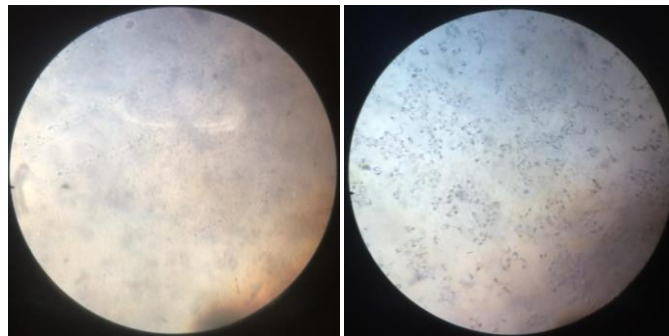
Gambar 29. Sel T47D, MCF7 dan Verro setelah *treatment* pada konsentrasi 60% dengan derat konsentrasi (a) tertinggi (1000) dan (b) terendah (15.625) $\mu\text{g/L}$



(a) Sel T47D (b)



(a) Sel MCF7 (b)



(a) Sel Verro (b)

Gambar 30. Sel T47D, MCF7 dan Verro setelah *treatment* pada konsentrasi 80% dengan derat konsentrasi (a) tertinggi (1000) dan (b) terendah (15,625) $\mu\text{g/L}$.

Dapat disimpulkan bahwa jumlah sel berbanding lurus dengan konsentrasi sampel uji. Setelah dilakukan uji kemudian dihitung nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan pertumbuhan sel sebesar 50% dari populasi sel hidup. Nilai IC_{50} dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik (Sitorus, 2013).

Obat-obatan kemoterapi terutama bekerja pada DNA yang merupakan komponen utama gen yang mengatur pertumbuhan dan differensiasi sel. Oleh karena itu, maka obat kemoterapi tidak hanya bekerja pada sel kanker tetapi juga pada sel sehat. Mekanisme kerja dari terapi kemoterapi sebagai berikut:

1. Menghambat atau mengganggu sintesa DNA dan RNA.
2. Merusak replikasi DNA.
3. Mengganggu transkripsi DNA oleh RNA.
4. Mengganggu kerja gen.

Obat-obatan kemoterapi ini ada yang bekerja pada fase spesifik (fase M, S, G1, G2) dan ada juga yang bekerja pada fase nonspesifik yaitu bekerja pada semua fase dalam siklus sel.

Sehingga tujuan dari uji ini diharapkan fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji dalam bentuk SNEEDS dapat bekerja secara optimal pada sel kanker

(Target sel) dan tidak memberikan efek samping yang dapat membahayakan penderita kanker tersebut.

5.9.1 Penentuan nilai IC₅₀ formulasi 40, 60% dan 80% terhadap sel T47D

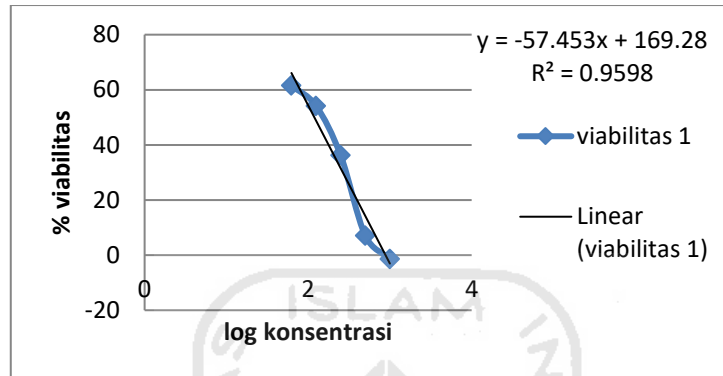
Setelah dilakukan uji maka didapatkan hasil pengujian aktivitas antikanker fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap sel kanker T47D berupa % viabilitas sel, dimana viabilitas sel merupakan nilai yang menunjukkan jumlah sel yang masih hidup. Hasil pengujian disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil pengujian dan grafik aktivitas antikanker formulasi 40%, 60% dan 80% terhadap sel T47D.

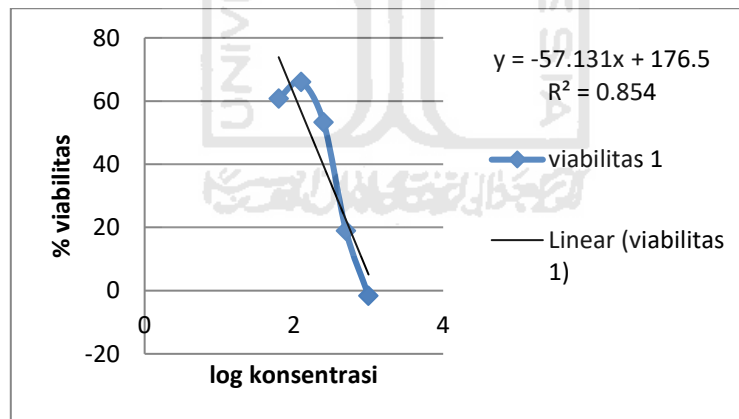
Formulasi	Konsentrasi (µg/mL)	Rata-rata Viabilitas sel (%)± standar deviasi	IC ₅₀ (µg/mL)± standar deviasi
40%	1000	-1,26 ± 0,95	140,68 ± 19,40
	500	7,64 ± 1,83	
	250	38,09 ± 1,89	
	125	64,66± 9,14	
	62,5	63,72± 2,03	
60%	1000	0,07± 1,99	176,63 ± 17,68
	500	19,05± 1,59	
	250	54,51± 4,01	
	125	67,35± 2,04	
	62,5	64,54± 3,45	
80%	1000	-0,70± 2,02	201,98±16,68
	500	16,71± 2,76	
	250	61,59± 3,22	
	125	72,08± 3,17	

	62,5	70,03± 2,40	
--	------	-------------	--

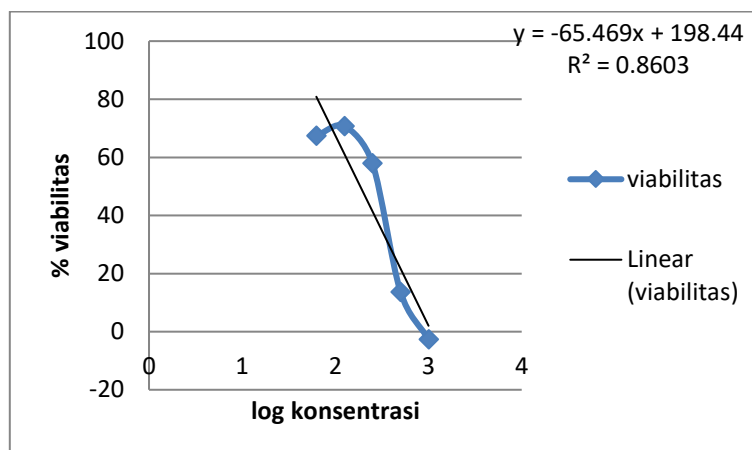
Grafik hubungan log konsentrasi formulasi terhadap % viabilitas sel.



Gambar 31. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 40% terhadap% viabilitas sel T47D.



Gambar 32. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 60% terhadap% viabilitas sel T47D.



Gambar 33. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 80% terhadap% viabilitas sel T47D.

Tabel 10 merupakan data pengaruh konsentrasi dari setiap formulasi terhadap % viabilitas sel T47D. Dilihat dari data tersebut bahwa konsentrasi seluruh formulasi berbanding terbalik terhadap % viabilitas sel T47D, dimana semakin besar konsentrasi maka viabilitas sel semakin kecil yang artinya semakin sedikit sel yang masih hidup, hingga pada titik tertentu tidak terdapat lagi sel yang masih hidup, dan begitu pula sebaliknya.

Formulasi 40% dan 80% pada konsentrasi 1000 µg/mL memiliki nilai viabilitas dibawah 0%, artinya seluruh formulasi pada konsentasi tersebut dapat membunuh seluruh sel T47D. Sedangkan formulasi 60%, pada konsentrasi 1000 µg/mL memiliki viabilitas yang sangat rendah yaitu 0,07%. Pada konsentrasi 500 µg/mL, formulasi 40%, 60% dan 80% memiliki viabilitas 7,64 %, 19,05%, dan 16.71% yang artinya pada konsentrasi tersebut memiliki daya hambat lebih besar. Viabilitas sel berbanding lurus dengan konsentrasi, sehingga dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 500µg/mL memiliki efektivitas yang lebih baik dalam menghambat sel kanker T47D dibanding dengan konsentras 1000 µg/mL. Hal ini dikarenakan menurut Rahmawati dkk., (2013) suatu ekstrak dikatakan efektif jika dapat menghambat pada konsentrasi yang rendah. Tabel 9 menunjukkan nilai IC₅₀ yang terkecil dimiliki oleh formulasi 40%, kemudian 60% dan yang terbesar

adalah 80%. Artinya formulasi yang memiliki aktivitas sitotoksik terbesar bagi sel T47D adalah formulasi 80%.

5.9.2 Penentuan nilai IC₅₀ formulasi 40, 60% dan 80% terhadap sel MCF-7

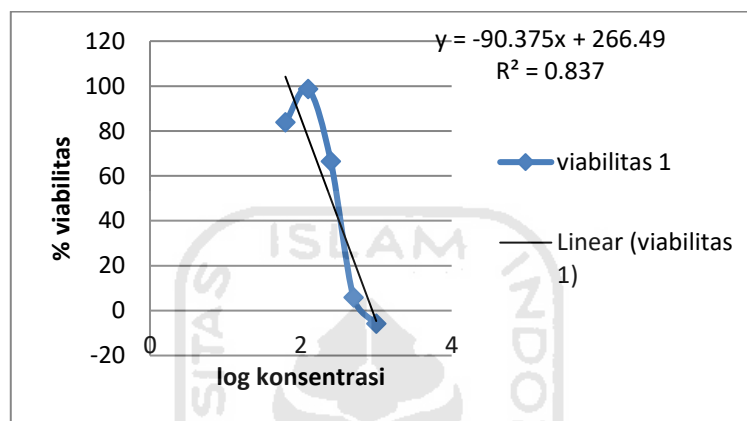
Setelah dilakukan uji maka didapatkan hasil pengujian aktivitas antikanker fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap sel kanker MCF-7 berupa % viabilitas sel, dimana viabilitas sel merupakan nilai yang menunjukkan jumlah sel yang masih hidup. Hasil pengujian disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11. Hasil pengujian dan grafik aktivitas antikanker formulasi 40%, 60% dan 80% terhadap sel MCF-7.

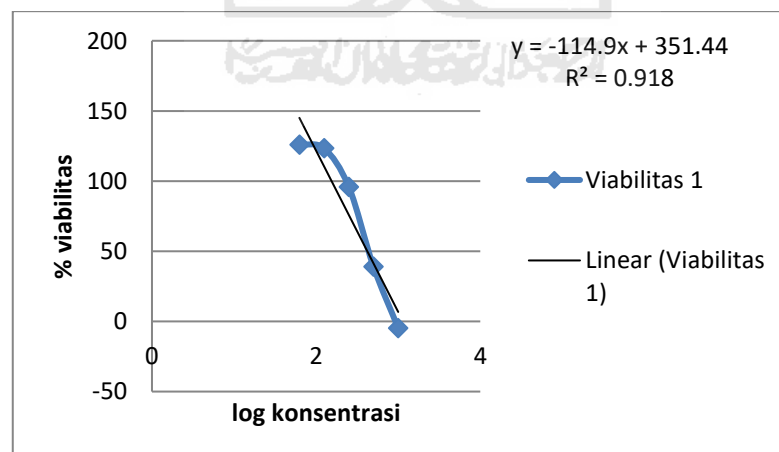
Formulasi	Konsentrasi (µg/mL)	Rata-rata Viabilitas sel (%)± standar deviasi	IC ₅₀ (µg/mL)± standar deviasi
40%	1000	-5,09 ± 3,74	276,43± 32,14
	500	8,08 ± 2,70	
	250	73,11 ± 12,96	
	125	99,82 ± 1,09	
	62,6	95,95 ± 12,68	
60%	1000	-5,09 ± 0,60	404,75± 14,90
	500	36,37 ± 4,11	
	250	96,66 ± 1,69	
	125	117,04 ± 5,50	
	62,6	120,38 ± 5,30	
80%	1000	-5,09 ± 2,65	421,35± 28,41
	500	45,166 ± 2,43	
	250	99,12 ± 4,56	

	125	117,39 ± 8,52	
	62,5	99,82 ± 7,19	

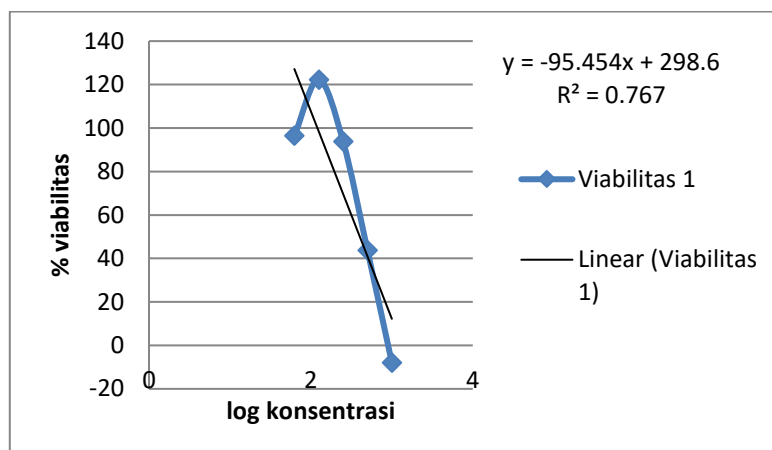
Grafik hubungan log konsentrasi formulasi terhadap % viabilitas sel.



Gambar 34. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 40% terhadap% viabilitas sel MCF-7.



Gambar 35. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 60% terhadap% viabilitas sel MCF-7.



Gambar 36. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 80% terhadap% viabilitas sel MCF-7.

Tabel 11 dapat dilihat bahwa konsentrasi seluruh formulasi berbanding terbalik terhadap % viabilitas sel MCF-7. Formulasi 40%,60% dan 80% pada konsentrasi 1000µg/mL memiliki nilai viabilitas dibawah 0%, artinya pada formulasi tersebut mampu membunuh seluruh sel MCF-7. Pada konsentrasi 500µg/mL, formulasi 40%, memiliki viabilitas 8,08% yang artrinya memiliki daya hambat lebih besar. Sedangkan pada konsentrasi 60% dan 80% memiliki nilai viabilitas sebesar 36,37% dan 45,16% artinya pada konsentrasi tersebut dapat membunuh sel MCF-7 lebih dari 50%.Sedangkan pada konsentrasi dibawah 250µg/mL, formulasi 40%, 60% dan 80% memiliki kemampuan membunuh sel MCF-7 yang kurang baik, ditandai dengan viabilitas sel yang mendekati 100%.Dari Tabel 11 menunjukkan nilai IC₅₀ yang terkecil dimiliki oleh formulasi 40%, kemudian 60% dan yang terbesar adalah 80%. Artinya formulasi yang memiliki aktivitas sitotoksik terbesar bagi sel MCF-7 adalah formulasi 80%.

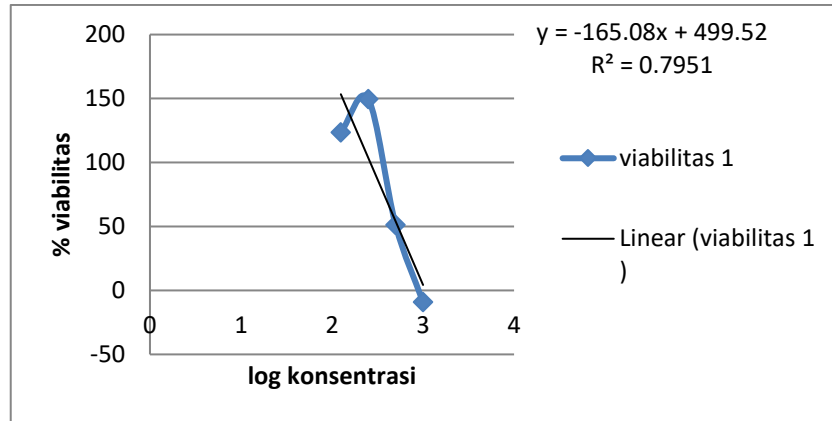
5.9.3 Penentuan nilai IC₅₀ formulasi 40, 60% dan 80% terhadap sel Verro

Setelah dilakukan uji maka didapatkan hasil pengujian aktivitas antikanker fraksi etil assetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap sel kanker vero berupa % viabilitas sel, dimana viabilitas sel merupakan nilai yang menunjukkan jumlah sel yang masih hidup. Hasil pengujian disajikan pada Tabel 12.

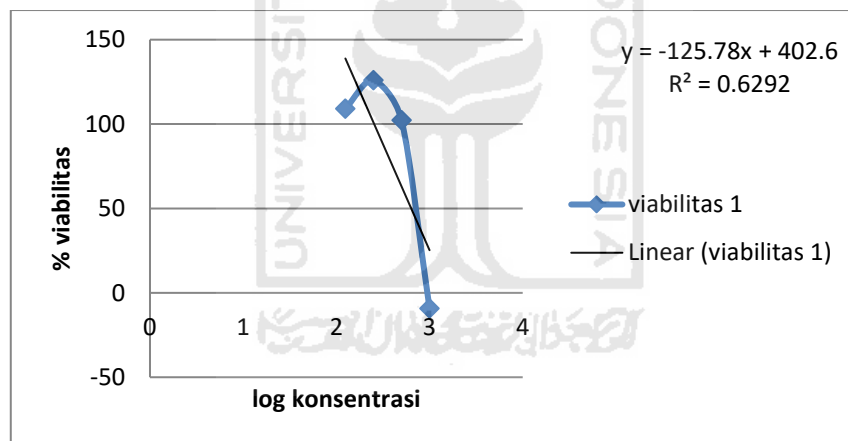
Tabel 12. Hasil pengujian dan grafik aktivitas antikanker formulasi 40%, 60% dan 80% terhadap sel Vero.

Formulasi	Konsentrasi (µg/mL)	Rata-rata Viabilitas sel (%)± standar deviasi	IC₅₀ (µg/mL) ± standar deviasi
40%	1000	-9,66 ± 0,88	484,95±56,32
	500	40,20 ± 17,00	
	250	137,40 ± 16,15	
	125	119,08 ± 4,58	
	62,5	101,27 ± 1,92	
60%	1000	-9,41 ± 0,88	642,69±3,90
	500	103,05 ± 2,75	
	250	125,25± 3,17	
	125	109,92 ± 1,32	
	62,5	98,21 ± 1,92	
80%	1000	-3,05 ± -5,59	742,48±37,16
	500	108,39 ± 118,32	
	250	135,11 ± 131,55	
	125	114,50 ± 111,95	
	62,5	106,10 ± 103,81	

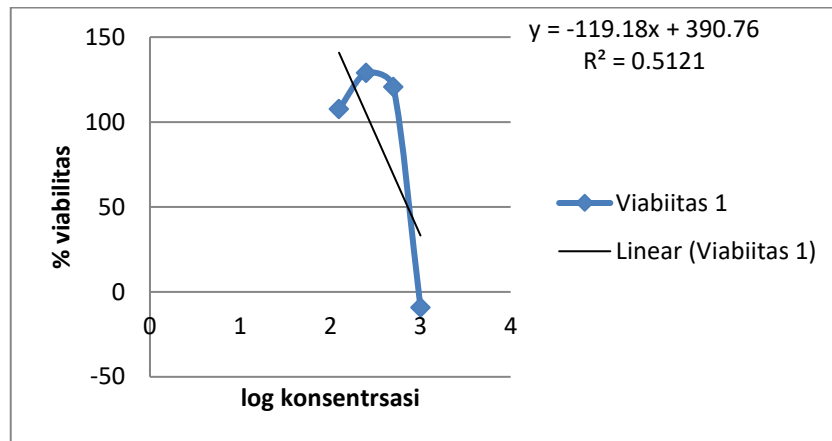
Grafik hubungan log konsentrasi formulasi terhadap % viabilitas sel.



Gambar 37. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 40% terhadap% viabilitas sel Vero



Gambar 38. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 60% terhadap% viabilitas sel Vero.



Gambar 39. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 80% terhadap% viabilitas sel Vero.

Tabel 12 dapat dilihat bahwa konsentrasi seluruh formulasi berbanding terbalik terhadap % viabilitas sel vero. Sel vero merupakan sel normal yang ada didalam tubuh manusia, sehingga dari uji ini diharapkan pada konsentrasi terbesar pun memiliki % viabilitas sel yang besar. Formulasi 40%, 60% dan 80 % pada konsentrasi 1000µg/mL memiliki nilai viabilitas dibawah 0%, artinya seluruh formulasi pada konsentasi tersebut dapat membunuh seluruh sel vero.

Pada konsentrasi dibawah 500µg/mL, Formulasi 40% memiliki viabilitas 40.20% yang artinya pada konsentrasi tersebut dapat membunuh sel vero lebih dari 50%. Sedangkan pada formulasi 60%, dan 80% memiliki viabilitas diatas 100%, artinya pada konsentrasi tersebut telah terjadi proliferasi sel, sehingga formulasi tersebut aman terhadap sel vero. Dari Tabel 112 menunjukkan nilai IC₅₀ yang terkecil dimiliki oleh formulasi 40%, kemudian 60% dan yang terbesar adalah 80%. Artinya formulasi yang memiliki aktivitas sitotoksik terbesar bagi sel vero adalah formulasi 40%. Seluruh nilai IC₅₀ pada Tabel 10, 11 dan 12 menunjukkan bahwa formulasi 40%, 60% dan 80% tergolong dalam sitotoksik moderat karena nilai IC₅₀ yang diperoleh dalam rentang 100-1000µg/mL (Prayong dkk., 2008). Selain itu dapat dilihat bahwa seluruh formulasi memiliki tingkat sitotoksik tertinggi saat diuji pada sel T47D.

5.9.4 Pengaruh konsentrasi fraksi dan ukuran partikel terhadap IC₅₀

Tabel 13. Hubungan konsentrasi fraksi dan ukuran partikel dengan nilai IC₅₀.

Konsentrasi fraksi	Ukuran partikel (nm)	IC ₅₀ (µg/mL)		
		T47D	MCF-7	Vero
40%	159,0	140,68 ± 19,40	276,43 ± 32,14	484,95 ± 56,32
60%	400,4	176,63 ± 19,40	404,75 ± 14,90	642,69 ± 3,90
80%	345,2	201,98 ± 16,68	421,35 ± 28,41	742,48 ± 37,16

Tabel 13 diatas, dapat dilihat bahwa konsentrasi fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) berbanding lurus dengan nilai IC₅₀ yang mana semakin besar konsentrasi fraksi maka semakin besar juga nilai dari IC₅₀ yang didapatkan. Pada formulasi 40% memiliki nilai IC₅₀ lebih kecil dari formulasi 60% dan 80%, hal ini disebabkan karena pada formulasi 40% lebih dipengaruhi oleh ukuran partikel, dimana formulasi tersebut adalah formulasi yang memiliki ukuran partikel yang paling kecil yaitu 159,0 nm, semakin kecil ukuran maka penetrasi partikel untuk menembus membran sel akan semakin mudah dan cepat sehingga reaksi penghambatan proliferasi yang terjadi didalam sel akan semakin optimal. Ini menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ tidak hanya dipengaruhi oleh jumlah zat aktif (fraksi) didalam formulasi, tetapi juga adanya pengaruh dari salah satu sifat nanopartikel yaitu mampu menembus membran sel.

Akan tetapi konsentrasi fraksi tidak berbanding lurus dengan ukuran partikel. Pada konsentrasi fraksi 60% memiliki ukuran partikel yang lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi fraksi 40% dan 80%. Mungkin ini disebabkan karena volume dari ekstrak, minyak dan emulsifier yang digunakan kurang presisi pada saat penambahan bahan. Jika diasumsikan bahwa ukuran partikel berbanding lurus dengan konsentrasi sampel, maka dapat disimpulkan bahwa ukuran partikel berpengaruh terhadap aktivitas antikanker payudara. Semakin kecil ukuran

partikel dari sediaan nanopartikel fraksi etil asetat daun jambu biji (*Psidium Guajava L.*) maka aktivitas antikanker payudara terhadap sel T47D dan MCF-7 semakin baik.

5.9.5 Kontrol negatif capryoll, tween 20 dan PEG terhadap sel T47D, MCF-7 dan Vero

Pada penelitian ini pula telah dilakukan uji kontrol negatif secara kualitatif terhadap bahan-bahan penyusun SNEDDS yaitu Capryoll, Tween 20 dan PEG 400. Pengujian dilakukan dengan melihat perubahan warna pada kultur sel T47D, MCF-7 dan vero setelah dilakukan *treatment* dengan bahan-bahan tersebut pada konsentrasi 1000µg/mL.

Tabel 14. kontrol negatif Capryoll, Tween 20 dan PEG 400 terhadap sel T47D, MCF-7 dan Vero.

Bahan-bahan	Perubahan warna		
	T47D	MCF-7	Vero
Capryoll	Kuning	kuning	Kuning
Tween 20	Ungu	ungu	Ungu
PEG 400	Ungu	ungu	Ungu

dapat dilihat bahwa Tween 20 dan PEG 400 memberikan hasil negatif pada seluruh sel, ditandai dengan perubahan warna pada sumuran menjadi ungu, warna ungu menandakan bahwa masih banyak sel hidup yang mereduksi garam MTT menjadi formazan berwarna ungu. Sedangkan pada capryoll memberikan hasil positif pada seluruh sel, ditandai dengan warna yang masih sedikit kekuningan, warna kuning menandakan bahwa hanya sedikit atau bahkan tidak ada lagi sel hidup yang tersisa, artinya reaksi reduksi garam MTT menjadi formazan berwarna ungu tidak berjalan. Namun hasil ini tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap aktivitas antikanker pada formulasi, karena pada uji kontrol negatif ini

konsentrasi capryoll yang digunakan sangat besar, yaitu 1000 μ g/mL. Selain itu juga, capryoll yang digunakan sebagai penyusun formulasi memiliki kadar yang cukup kecil, yaitu 10%.

5.9.6 Penentuan SI (*Selectivity Index*) terhadap sel vero

Indeks selektivitas atau *Selectivity Index*(SI) menunjukkan selektivitas sitotoksik dari formulasi terhadap sel kanker dibandingkan sel normal. SI diperoleh dari rasio IC₅₀ sel vero dibandingkan dengan sel T47D dan MCF-7. Nilai SI lebih dari 3 menunjukkan bahwa formulasi yang diuji memiliki selektivitas yang tinggi (Prayong dkk., 2008). Nilai SI dari formulasi 40%, 60% dan 80% disajikan pada Tabel 14.

Tabel 14. Nilai SI (*selectivity index*) formulasi 40%, 60% dan 80%.

Sampel	SI (<i>selectivity indeks</i>)	
	T47D	MCF-7
Formulasi 40%	3,447	1,754
Formulasi 60%	3,638	1,587
Formulasi 80%	3,676	1,762

Berdasarkan Tabel 14 diatas dapat diperoleh informasi bahwa ketiga formulasi memiliki selektivitas yang tinggi pada sel T47D. Sedangkan pada sel MCF-7 memiliki selektivitas yang rendah yaitu dibawah 3. Rendahnya nilai SI diakibatkan oleh konsentrasi formulasi yang mampu membunuh sel kanker ternyata mampu membunuh sel normal pula, sehingga selektivitas formulasi tersebut dapat dikatakan rendah.

BAB VI

KESIMPULAN DAN DARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa:

1. Kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*psidium guajava L.*) yaitu *Candidate Mass* $C_{35}H_{42}O_9$ dengan berat molekul 606,28288, *Candidate Mass* $C_{26}H_{48}O_{15}$ 600,29932, *Candidate Mass* $C_{34}H_{40}O_9$ 592,26723, kuersetin 302,04265 dan kuersetin-3-O- α -L-arabinopiranosida 434,08491.
2. Formulasi yang memiliki ukuran partikel terkecil adalah formulasi 40% dengan ukuran 159,0 nm, formulasi 60% 400,4 nm dan formulasi 80% dengan ukuran 345,2 nm.
3. Berdasarkan uji sitotoksitas secara *in vitro* diketahui nilai IC_{50} formulasi 40%, 60%, dan 80% berturut-turut terhadap sel T47D $140,68 \pm 19,40$; $176,63 \pm 19,40$ dan $201,98 \pm 16,68 \mu\text{g/mL}$, terhadap sel MCF-7 sebesar $276,43 \pm 32,14$; $404,75 \pm 14,90$ dan $421,35 \pm 28,41 \mu\text{g/mL}$ dan terhadap sel vero sebesar $484,95 \pm 56,32$; $642,69 \pm 3,90$ dan $742,48 \pm 37,16 \mu\text{g/mL}$.

6.2 Saran

Untuk kedepannya perlu dilakukan pengembangan lebih lanjut terkait dengan formulasi SNEDDS fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava L.*) dengan jenis dan minyak, surfaktan dan ko-surfaktan yang digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdorrhakman Ginting. (2012). Esensi Praktis Belajar & Pembelajaran (Disiapkan untuk Pendidikan Profesi dan Sertifikasi Guru-Dosen). Bandung: Humaniora.
- Afifah, E,N. 2012. Penggunaan Penanda Molekuler Untuk Mempercepat Dan Mempermudah Perbaikan Kualitas Tanaman Teh (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). Makalah Seminar Budidaya Pertanian. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Akbar, H.R., 2010,Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid DaunDandang Gendis (*Clinacanthus Nutans*) Berpotensi Sebagai Antioksidan,*Skripsi*,Bogor, IPB.
- Akbar B. 2010. Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas. Jakarta : Adabia Press pp 6-7.
- Akmal, Mutaroh, dkk,. 2010. Ensiklopedi Kesehatan untuk Umum,. Jogjakarta: Ar-Ruzz Media.
- Alegantina, S., dan Isnawati, A., 2010, Identifikasi Dan Penetapan Kadar Senyawa Kumarin Dalam Ekstrak Metanol *Artenisia Annu* L Secara Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri, *Bul. Penelit. Kesehat.*, 38(1) : 17-28.
- Amalia, A., Jufri, M. & Anwar, E. 2015, Preparasi dan karakterisasi sediaan solid lipid nanoparticle gliklazid, *J Pharm Sci*, 13(1): 108 – 114.
- Ambarwati, Eny Retna dan Wulandari Diah.2010.Asuhan Kebidanan Nifas.Jogjakarta: Nuha Medika.
- Ambarwati, Fitri Respati. 2014. Konsep Kebutuhan Dasar Manusia. Yogyakarta: Dua Satria Offset

- American Cancer Society (2013). *Cancer facts & figures 2013*. Atlanta: American Cancer Society.
- Aminingsing, S., Yulianti, T.S., & Rahmawan, T.B. (2014). Hubungan Tingkat Depresi Dengan Kualitas Tidur Pada Lansia Di Dusun Semenharjo Suruhkalang Jaten. *Jurnal Keperawatan*, 2 (4).
- Ammerman, R. T., Ph. D., & Hersen, M., Ph. D. (1997). *Handbook of Prevention and Treatment with Children and Adolescents*. New York: Wiley.
- Anggorowati. (2013). Faktor Resiko Kanker Payudara Wanita. *KEMAS* 8 (2) (2013) 121-126. Diakses tanggal 17 Desember 2013 time 19.20.
- Anindhita, M. A., Oktaviani, N. (2016). Formulasi Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Ekstrak Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*) dengan Virgin Coconut Oil (VCO) Sebagai Minyak Pembawa. *Jurnal Pena Madika*. 6 (2) : 103-111.
- Antono, D., dkk. (2017). Korelasi antara Lama Sakit, Derajat Aktivitas Penyakit, dan Skor Disabilitas dengan Disfungsi Diastolik pada Pasien Arthritis Reumatoid Wanita Di RS Dr. Cipto Mangunkusumo. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia* Vol. 4, No. 2 , 2.
- Anto Y. Analisis Preferensi Konsumen Jamu Serbuk Kemasan Di Kota Bogor, Jawa Barat [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor; 2009. p.123.
- Anwar, Saifuddin (2014). *Metode Penelitian*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Ariani, S., (2015). *STOP! KANKER*. Yogyakarta. Istana Media
- ATCC. 2012. Thawing, Propagating, and Cryopreserving Protocol: NCI-PBCFHTB133 (T-47D) Breast Carcinoma (ATCC®HTB-133TM). Manassas: Physical Science-Oncology Center Network Bioresource Core Facility.
- Aung, Sumbono. (2016). *Biokimia Pangan Dasar*. Deepublish. Yogyakarta.

- Avila, E.V., and Pugsley, M.K., 2011, An Overview of Colorimetric Assay Methods Used to Assess Survival or Proliferation of Mammalian Cells, Review Proc. West. Pharmacol. Soc., Vol 54, 10-14.
- Bachri, B. S. (2010). Menyakinkan validitas data melalui triangulasi pada penelitian kualitatif. Jurnal Teknologi Pendidikan, Vol.10 No. 1.
- Balakumar, K., Raghavan, C.V., Selvan, N.T., Prasad, R.H., dan Abdu, S., 2013. Self nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) of rosuvastatin calcium: design, formulation, bioavailability and pharmacokinetic evaluation. Colloids surfaces B Biointerfaces, 112:337-43.
- Balakumar, Rajkumar, Raghavan, V., Selvan, T., dan Prasad, H., 2014. Enabling the development and life cycle management of oral poorly soluble drugs using lipid-based drug delivery systems. Pharmaceutica Analytica Acta, 4th International Conference and Exhibition on Pharmaceutics & Novel Drug Delivery Systems, March 24-26, Hilton San Antonio Airport, USA.
- Braga, G. U. L., Rangel, D. E. N., Flint, S. D. C., Miller, D., Anderson, A. J., and Roberts, D. W. 2006. Conidial Pigmentation is Important to Tolerance Against Solar-Simulated Radiation in The Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae*. J. Photochemistry and Photobiology. 82 : 418–422.
- Basuki B. Prunomo, 2011, Dasar-Dasar Urologi, Perpustakaan Nasional RI, Katalog Dalam Terbitan (KTO) Jakarta.
- Bathia, S., 2016., Nanoparticles Types, Classification, Characterization, Fabrication Methods and Drug Delivery Applications, *Springer Int. Publ. Switz*, 29: 32–91.
- Beytkein, Yalcinkaya, Dogan & Karakoc. (2010). The Organizational Culture at The University. The International Journal of Educational Reserachers, Vol 2 ISSN:1308-9501.

- Buzea, C., Blandino, I. I. P, and Robbie, K.. 2007. Nanomaterial and Nanoparticles: Sources and Toxicity. *Biointerphases*, 2: MR170-MR172.
- CCRC, 2009, Prosedur tetap uji kombinasi dengan agen kemoterapi, Cancer Chemoprevention Research Center Farmasi UGM Yogyakarta, 1–7.
- CCRC, 2009, Prosedur tetap Uji Sitotoksik Metode MTT, Cancer Chemoprevention Research Center Farmasi UGM Yogyakarta, 6–9.
- Chabib, L., Ikawati, Zullies., Martien, Ronny., dan Ismali, Hilda. (2016). Review Rheumatoid Arthritis: Terapi Farmakologi, Potensi Kurkumin dan Analognya, serta Pengembangan Sistem Nanopartikel . *Jurnal Pharmascience*, Vol 3, No. 1 , 11.
- Chen, C.Y., Zhao, X.Q., Yen, H.W., Ho, S.H., Cheng, C.L., Lee, D.J., Bai, F.W., and Chang, J.S., (2013), Microalgae-based carbohydrates for biofuel production, *Biochemical Engineering Journal*, 78, pp. 1-10.
- Chen, et al. (2012). Graphene Oxide: Preparation, Functionalization, and Electrochemical Application. *Chemical Review*, 112, 6027-6053.
- Chintamani., R. Khandelwal., A. Mittal., S. Saijanani., A. Tuteja., A. Bansal., D. Bhatnagar and S. Saxena. 2007. Qualitative and Quantitative Dermatoglyphic Traits in Patients with Breast Cancer: a Prospective Clinical Study. *BMC Cancer of Journal* 7(44): 1-6.
- Chopra, S dan Meindl, P. 2011, *Supply Chain Management: Strategy, Planning, and Operations* edisi 3. New Jersey: Pearson Education.
- Ciulei, J. 1984. *Methodology for Analysis of vegetable and Drugs*.B Faculty of Pharmacy. pp 11-26.
- Darwis, D. 2000, *Teknik Dasar Laboratorium Dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati*, Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia Dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati. Padang: Universitas Andalas Press.

- Date, A., Desai, N., Dixit, R. & Nagarsenker, M. (2010). Self-nanoemulsifying drug delivery systems: formulation insights, applications and advances. *Nanomedicine (Lond.)*; 5(10); 1595- 1616.
- Daud, Anwar. 2011. Analisis Kualitas Lingkungan. Yogyakarta: Ombak.
- Dwitiyanti, 2015, Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) sebagai Antikanker Payudara, Original Article, Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka, Jakarta Timur 13460, 2 (2).
- Doyle, A., Griffith, S .J . B., 2000, Cell and Tissue Culture for Medical Research, 49, John Willey and Sons, Ltd., New York.
- Djajanegara I., & Prio Wahyudi, 2009, Pemakaian Sel HeLa dalam Uji Sitotoksitas Fraksi Kloroform dan Etanol Ekstrak Daun *Annona squamosa*, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, hal 7-11, 1693-1831.
- Effendy, Onong Uchjana. 2007. Ilmu Komunikasi Teori dan Praktek, Bandung : PT Remaja Rosdakarya.
- Erdag BB, Emek YC, Aydogan Sk. 2010. Clonal Propagation of *Dorystoechasnhasat* Via Axillary Shoot Proliferation. *Turk J Bot* (34): 233-240.
- Ernawati Sinaga, Nonon saribanon, Suprihantin, Nailus Sa'adah, Ummu Salamah, Yulia Andani Murti, Agusniar Trisnamiati, S. L. (2017). Manajemen Kesehatan Menstruasi.
- Fabbrocini G, Izzo R, Donnarumma M, Marasca C, Monfrecola G. Acne smart club : an educational program for patients with acne. Section of Dermatology, Department of Clinical Medicine and Surgery University Federico II of Naples. 2014; 229:136- 140.
- Farag., Mohamed, A., Dalia, M., Rasheed, M.K., dan Adreas, G.H., 2016, Metabolite Profiling in *Trigonella* Seeds via UPLC-MS and GC-MS

Analyzed Using Multivariate Data Analyses, *Journal Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 8065-78.

Friedman, M. 2010. Buku Ajar Keperawatan keluarga : Riset, Teori, dan Praktek. Edisi ke-5. Jakarta: EGC.

Gandjar, I. G. dan Rohman, A., 2007, Kimia Farmasi Analisis, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.

Gonçalves, dkk. (2016). Construct validity and reliability of Olweus bully/victim questionnaire-Brazilian version. *Psicologia: Reflexão e Crítica* Vol. 29 No. 27 hlm. 1-8.

Gupta, D.K.M.K., Anand, V.R., dan Khajuria, R.K., 2013, Development of a Validated UPLC-qTOF-MS/MS Method for Determination of Bioactive Constituent from *Glycyrrhiza Glabra*, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 3(3).

Gull, I., Saeed, M., Shaukat, H., Aslam, S. M., Samra, Z. Q., dan Athar, A. M. 2012. Inhibitory effect of *Allium sativum* and *Zingiber officinale* extracts on clinically important drug resistant pathogenic bacteria. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobial*. 11(8): 1-6.

Guptu dan Porwal. 2011 Obstructed Labour: Incidence, Cause and Outcome. *Int J Biol Med Res* 3(3):2185-2188.

Hamdani., 2014., Maserasi., <http://catatankimia.com>. Diakses tanggal 18 April 2014.

Huang, T. T., Sung, C. C., Wang, W. S., & Wang, B. H. (2017). The effects of the empowerment education program in older adults with total hip replacement surgery. *Journal of Advanced Nursing*.

Joseph B., and Priya, M., 2011, Review Oon Nutritional, Medicinal and Pharmacological Properties of Guava (*Psidium guajava* Linn.), *Int J Pharm and Bio Sci*, 2(1), 53-69.

- Kazakevich, Y., dan Lobrutto, R., 2007, HPLC for Pharmaceutical Scientist, John Wiley dan Sons, Inc: New Jersey. PP. 25 – 192.
- Kartikawati, E., 2013, *Awas!!! Bahaya Kanker Payudara dan Kanker Serviks*, Buku Baru, Bandung.
- Karyanti, D.E., 2005, Perbandingan kadar quercetin dan pola generik 35 varietas jambu biji (*Psidium guajava* L.), *Skripsi*, UHAMKA, Jakarta.
- Kemenkes RI. Profil Kesehatan Indonesia tahun 2014. Jakarta : Kemenkes RI; 2015.
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M., dan Kurniadi, B., 2008, *Buku Ajar Fitokimia*, Airlangga University Press, Surabaya.
- Kumar, R.S., Syamala, U.S., Revathi, P., Devaki, S., Raghuvver, P., Gowthamarjan, K., 2013, Self nano-emulsifying drug delivery system of olanzapine for enhanced oral bioavailability: in vitro, in vivo characterization and in vitro-in vivo correlation, *Journal of Bioequivalence and Bioavailability*, 5:201-208.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Buku ajar patologi. 7 nd ed , Vol. 1. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2007 : 189-1.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Buku ajar patologi .7 nd ed, Vol. 2. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2007 : 860-1.
- Kupcsik, L., dan Stoddart, M.J., 2011, *Mammalian Cell Viability: Methods and Protocols*, Humman Press, New York.
- Lamson, D.W dan brignall, M.S(2000). Antioxidant and Cancer III; Quercetin. journal Altern me rev 2000., vol 5 (3) 196 – 208.
- Lee, SB., and Park, HR., 2010, Anticancer activity of guava (*Psidium guajava* L.) branch extract against HT-29 human colon cancer cells, *J Med Plant Res*, 4, 891-896.
- Levy, A.S. & S.K Carley. 2012. Cytotoxic Activity of Hexane Extracts of *Psidium guajava* L (Myrtaceae) and *Cassia alata* L. (Caesalpineaceae) in Kasumi-1 and OV2008 Cancer Cell Lines. *Trop J Pharm Res* 11(2): 201-07.

- Lindholm, P. 2005. Cytotoxic Compounds Of Plant Origin-Biological and Chemical Diversity. Sweden: Uppsala University.
- Maharani, S.A., 2017, Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semipolar, Dan Nonpolar Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.) Terhadap Sel Kanker Kolon Widr, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Maharani, T., Sukandar, D., dan Hermanto, S., 2016, Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi dari Ekstrak Etil Asetat Daun Namnam (*Cynometra Cauliflora* L.) yang Memiliki Aktivitas Antibakteri, *Jurnal Kimia*, 2(1): 55–62.
- Makadia, H. A., Bhatt, A. Y., Parmar, R. B., Paun, J. S. & Tank, H. M. (2013). Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS): Future Aspects. *Asian J. Pharm. Res*; 3(1); 21-24.
- Mufida, dkk. (2015). Prinsip dasar makanan pendamping air susu ibu (MP-ASI) untuk bayi usia 6-24 Bulan. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol.3 No 4 p.1646-1651
- Mukhriani., 2014, Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif, *Jurnal Kesehatan*, Volume VII No.2.
- Mulyani, N.S., dan Rinawati, M., 2013, *Kanker Payudara Dan PMS Pada Kehamilan*, Nuha medika, Yogyakarta.
- Mulyani, S., 2013, *Menopause Akhir Siklus Menstruasi Pada Wanita di Usia Pertengahan*, NuhaMedika, Yogyakarta.
- Mutmainnah, P.A., Hakim, A., dan Savalas, L.R.T., 2017, Identifikasi Senyawa Turunan Hasil Fraksinasi Kayu Akar *Artocarpus Odoratissimus*, *JPPIPA*, 3(2).
- Murdock, R.C., Braydich, L., Schrand, A.M., Schlager, J.J., and Hussain, S.M., 2008, Characterization of Nanoparticle Dispersion in Solution Prior to In Vitro Exposure using Dynamic Light Scattering Tehnique, *Toxicol, Sci*, 101 : 239-253.

- Nasar, I made., Himawan, Sutisna., & Marwoto, Wirasmi. (2010). Buku Ajar Patologi II (Khusus). Edisi 1. Jakarta: CV. Sagung Seto.
- Nita, M.T., 2019,Uji Aktivitas Antikanker FraksiEtanol, Etil Asetat dan n-HeksanaDaun Jambu Biji (*Psidium Guajava* L.) secara *In Vitro* Terhadap Sel T47D, MCF-7 (Kanker Payudara) dan Sel HeLa (Kanker Serviks) dengan Metode MTTAssay,*Skripsi*, FMPAUniversitas Islam Indonesia,Yogyakarta.
- Nurchahyo, Jalu. (2010).Awas bahaya kanker rahim dan kanker payudara. Yogyakarta: Wahana Totalita Publisher.
- Nugroho, B.H., dkk (2018). Formulasi dan evaluasi SNEDDS (Self Nanoemulsifying Drug Delivery System) ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) sebagai analgesisi
- Parimin, 2005. Jambu Biji. Budi Daya dan Ragam Pemanfaatannya. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Prayong, P., Barusrux, S., and Weerapreeyakul, N., 2008, Cytotoxic activity screening of some indigenous Thai plants. *Fitoterapia*. 79(7): 598-601.
- Priyatin, Cici dkk (2013). Faktor Risiko Yang Berpengaruh terhadap Kejadian Kanker Payudara di RSUP.DR.Kariadi Semarang. Jurnal Kebidanan, vol 2 no.5 hal 9-19.
- Priya J., Rajkumar R. and Bakthasingh, 2014, International Journal of Medical Research & Health Sciences, Int J Med Res Health Sci, 3 (4), 856–860.
- Purwanto, B.T., 2018, Sintesis Senyawa N-(2-Klorobenzoil)-N'-Fenilurea dan Uji Aktivitas Anti Kanker terhadap Sel HeLa, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, vol 16, no 2.
- Putri N. Deteksi Dini Kanker Payudara. Yogyakarta: Aura Media; 2009.
- Purwanti. (2012). Studi Kasus Tentang Pemahaman Orang Tua yang Memiliki Anak Berkebutuhan Khusus di SDN Kembangan.

- Rahayu, E., 2016, Preparasi Dan Karakterisasi Nanosuspensi Kitosan-Tripolifosfat Sebagai Pembawa Deksametason Natrium Fosfat Menggunakan Metode Gelasi Ionik, *Skripsi*, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Rahmawati, Alni, dkk., 2013, Statistika, Edisi 1, Laboratorium Manajemen FE Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Rakkesh, R.A.. dan Balakumar S., 2014, Structural, electrical transport and Optical Studies of Li ion doped ZnO Nanostructures, *Journal Processing and Application of Ceramics*, Vol. 8, Issue 1, Hal. 7-13.
- Ramesh, B.M., Tara, S.H.B., Isac, S., Reynold, W., Latta, J., Sushena, R.P., James, F.B., et al., 2010. Changes in risk behaviours and prevalence of sexually transmitted infections following HIV preventive interventions among female sex workers in five districts in Karnataka State, South India. *Sex Trans Infect*, 5 (5): 17-24.
- Rasjidi, I. (2009). *Deteksi Dini dan Pencegahan Kanker Pada Wanita*. Jakarta: CV. Sagung Seto.
- Reddy LJ, dkk. 2012. Evaluation of Antibacterial and Atioxidant Activities of The Leaf Essential Oil and Leaf extract of Citrus Aurantifolia L. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*. May 2012;2: 346-53.
- Rowe, Raymond C, dkk. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 6th Ed. Pharmaceutical Press, USA. Hal: 110-11;242-243.
- Rusli, P. R. 2011. *Pembuatan dan Karakterisasi Nanopartikel Titanium Dioksida Fasa Anatase dengan Metode Sol Gel (Skripsi)*. Universitas Negeri Medan. Medan.
- Sangi M., dkk (2008) “ Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minsaha Utara”. *Chemistry Progress*. 1, 47-53.
- Sastrohamidjojo,H., 2002, *Kromatografi*, Edisi Kedua, 26-32, Penerbit Liberty Yogyakarta, Yogyakarta.

- Sato A dan Elizabeth F. 2012. Nutritional Status and Weight Gain in Pregnant Women. May-June; 2012 (3): 462-8.
- Senja, Yulia Rima, dkk. (2014). Perbandingan Metode Ekstraksi dan Variasi Pelarut Terhadap Rendemen dan Aktivitas antioksidan Ekstrak Kubis Ungu (*Brassica oleracea* L var. *capitata* f. *Rubra*). Journal of Faculty Of Pharmacy Univesitas Gadjah Mada, Vol 19 (1), 43-48.
- Setiadi.(2012). Konsep & penulisan dokumentasi asuhan keperawatan. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Setyowati, W.A.E, dkk. (2014). Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. Jurnal Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI. ISBN (979363175-0): 271-280.
- Sheets, R., 2000,*History and Characterization of the Vero Cell Line*, TechnicalReport: The Vaccines and Related Biological Products Advisory Committee.
- Sons, W.J., 2008, Vero Cell,Curr Protoc, *Microbiol*, 11.
- Sinaga, Rinaldi Febrianto dkk. 2014. “Pengaruh Penambahan Gliserol Terhadap Sifat Kekuatan Tarik dan Pemanjangan Saat Putus Bioplastik dari Pati Umbi Talas”. Jurnal Teknik Kimia USU. Vol. 3 No. 2.
- Sumarsono. 2014. Sosiolinguistik. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Suryo, Joko. (2009). Herbal penyembuh Kanker Pada Perempuan. Yogyakarta: B First.
- Tjindarbumi D. Penanganan kanker payudara masa kini dengan berbagai macam issue di indonesia. Dalam : Indonesian issues on breast cancer 1; Februari 2004, Surabaya.

- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur G. & Kaur H., 2011, Phytochemical Screening And Extraction: A Review, *International Pharmaceutica Scientia*, 1, 1, 98-106.
- Vaughn, J.M. and Williams R.O. 2007. Nanoparticle Engineering. In Swarbrick. James. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology Third Edition*. Volume 1. New York: Nova Science Publisher, 48.
- Vijayakumar S, Fareedullah M, Sudhakar Y, Venkateswarlu B, Kumar EA. Current Review on Organophosphorus Poisoning. *Arch. Appl. Sci. Res* 2010;2:199-215.
- Wadhwa, J., Nair, A., and Kumria, R., 2011, Self-emulsifying therapeutic system: a potential approach for delivery of lipophilic drugs, *Braz. J. Pharm. Sci*, 47, 447–465.
- Walyani, S. E. & Purwoastuti, E. (2015). *Asuhan Kebidanan Masa Nifas & menyusui*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Wardhani, Lilies Kusuma dan Nanik Sulistyani. 2012.” Uji Aktivitas Antibakteri Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq) Terhadap *Shigella flexeri* Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis”. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 2(1):14.
- Widyasari E., Shaluhayah Z., Margawati A. Implementasi Integrasi Program Prevention of Mother to Child HIV Transmission (PMTCT) dengan Layanan Antenatal di Puskesmas Wilayah Kota Surabaya. *J Manajemen Kesehatan Masyarakat*. 2014; 2: 10-18.
- Widowati L. and Mudahar H., 2009, Ujiaktivitas ekstrak etanol 50% umbi keladi tikus (*Typhonium flagelliforme* (lood) bi) terhadap sel kanker payudara MCF-7 in vitro, *Media Litbang Kesehatan*, 19 (1), 3–8.
- Winarno. 2011. *Pengembangan Sikap Entrepreneurship dan Intrapreneurship*. Jakarta: PT Indeks.

Wijayanti, T., 2007, Dampak psikologis pada perempuan penderita kanker payudara, *Skripsi*, Universitas Katolik Soegijapranata, Semarang.

Winarno, Wing Wahyu. 2009. Analisis Ekonometrika dan Statistika dengan Eviews. Yogyakarta: UPP STIM YKPN.

Xu Y, Jiang YF, Wu B. New agonist- and antagonist-based treatment approaches for advanced prostate cancer. *J Int Med Res*. 2012;40(4):1217–26.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman jambu biji



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS BIOLOGI
LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN

Jalan Teknika Selatan Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telpun (0274) 6492262/6492272; Fax: (0274)580839

SURAT KETERANGAN

Nomor : 014796/S.Tb./I/2020

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa,

Nama : Andri Ramadhani
NIDN : 16612073
Asal instansi : Fakultas MIPA - UII Yogyakarta

telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

Kingdom : Plantae
Divisio : Tracheophyta
Classis : Magnoliopsida
Ordo : Myrtales
Familia : Myrtaceae
Genus : Psidium
Species : *Psidium guajava* L.
Sinonim : *Guajava pumila* (Vahl.) Kuntze, *Myrtus guajava* (L.) Kuntze,
Psidium cujavus L., *Syzygium ellipticum* K. Schum & Lauterb
Nama Lokal : Jambu batu, Jambu biji, Jambu klutuk, Giawas

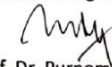
identifikasi tersebut dibantu oleh Abdul Razaq Chasani, Ph.D
Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Mengetahui,
Dekan Fakultas Biologi
Universitas Gadjah Mada



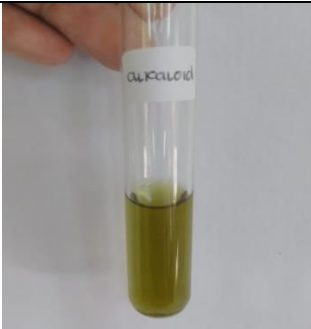
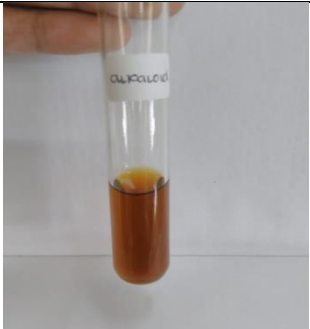




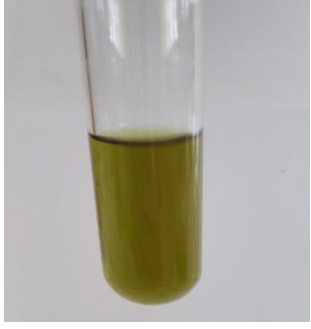


Prof. Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc.
NIP. 197003261995121001

Yogyakarta, 14 Januari 2020
Kepala Laboratorium
Sistematika Tumbuhan
Fakultas Biologi UGM



Prof. Dr. Purnomo, M.S.
NIP. 195504211982031005

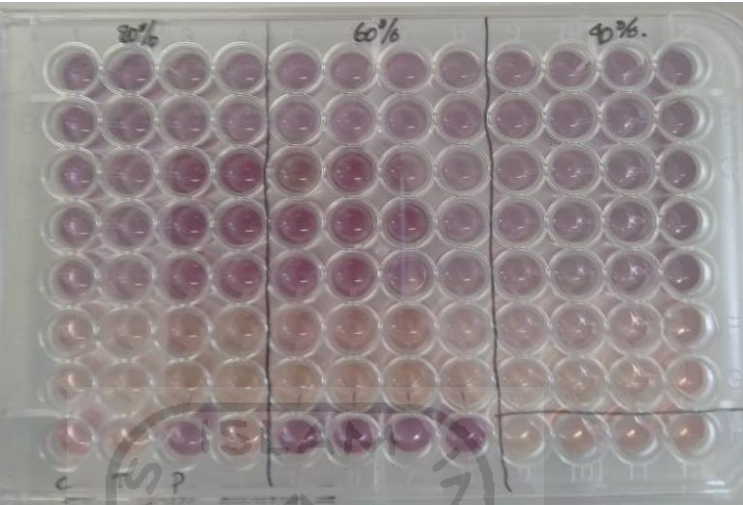

Lampiran 2. Hasil uji penapisan fitokimia

Uji Fitokimia	Gambar	
	Sebelum	Sesudah
Alkaloid		
Flavonoid		
Tanin/poli fenol		
Terpenoid		

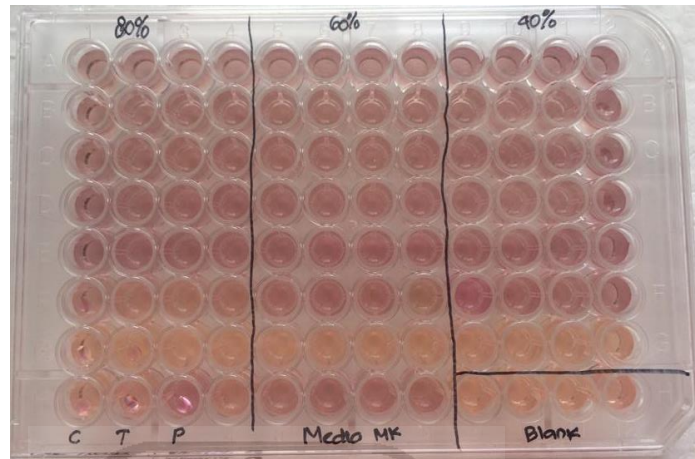
Lampiran 3. Nanoemulsi fraksi etil asetat ekstrak etanol daun jambu biji

Formulasi	Gambar
40%	
60%	
80%	

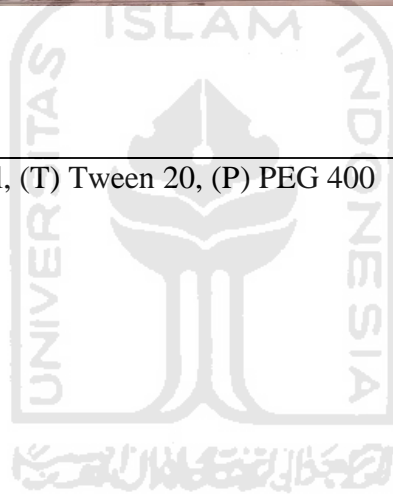
Lampiran 4. Hasil treatment pada *plate96-well*

Sel	Gambar
T47D	
MCF-7	

Vero



Keterangan: (C) Cappryoll, (T) Tween 20, (P) PEG 400



Lampiran 5. Hasil absorbansi pembacaan ELISA reader

CELL MCF-7

	1	2	3	4	5	6
A	0.284	0.213	0.25	0.264	0.278	0.261
B	0.273	0.259	0.258	0.277	0.293	0.285
C	0.269	0.273	0.319	0.291	0.318	0.353
D	0.301	0.296	0.303	0.301	0.348	0.327
E	0.243	0.24	0.279	0.234	0.296	0.293
F	0.151	0.125	0.133	0.125	0.168	0.188
G	0.103	0.096	0.117	0.109	0.105	0.103
H	0.187	0.112	0.293	0.19	0.229	0.304

7	8	9	10	11	12
0.253	0.278	0.261	0.269	0.277	0.286
0.28	0.294	0.297	0.32	0.279	0.267
0.339	0.33	0.297	0.289	0.292	0.316
0.328	0.31	0.346	0.316	0.314	0.343
0.315	0.298	0.292	0.305	0.287	0.304
0.185	0.171	0.197	0.195	0.18	0.202
0.1	0.1	0.099	0.1	0.103	0.106
0.308	0.294	0.111	0.114	0.112	0.111

CELL T47D

	1	2	3	4	5	6
A	0.393	0.389	0.371	0.405	0.381	0.399
B	0.378	0.395	0.361	0.351	0.35	0.338
C	0.354	0.345	0.364	0.369	0.32	0.384
D	0.323	0.413	0.389	0.387	0.393	0.384
E	0.247	0.256	0.259	0.281	0.328	0.346
F	0.124	0.134	0.113	0.139	0.177	0.178
G	0.088	0.086	0.089	0.098	0.087	0.097
H	0.101	0.091	0.377	0.141	0.569	0.52

7	8	9	10	11	12
0.387	0.387	0.389	0.418	0.408	0.394
0.374	0.367	0.385	0.388	0.399	0.395
0.341	0.361	0.379	0.354	0.392	0.396
0.374	0.389	0.393	0.407	0.409	0.393
0.323	0.348	0.339	0.408	0.352	0.369
0.175	0.167	0.152	0.178	0.168	0.171
0.096	0.082	0.083	0.09	0.093	0.094
0.423	0.458	0.094	0.111	0.087	0.098

CELL VERO

	1	2	3	4	5	6
A	0.207	0.196	0.202	0.201	0.2	0.2
B	0.192	0.2	0.204	0.198	0.193	0.197
C	0.212	0.208	0.21	0.204	0.203	0.205
D	0.247	0.241	0.225	0.23	0.222	0.222
E	0.275	0.263	0.281	0.23	0.242	0.244
F	0.146	0.147	0.139	0.101	0.213	0.226
G	0.067	0.061	0.062	0.069	0.067	0.068
H	0.974	0.105	0.2	0.135	0.21	0.207

7	8	9	10	11	12
0.189	0.193	0.196	0.203	0.208	0.211
0.197	0.198	0.202	0.197	0.203	0.199
0.205	0.203	0.204	0.214	0.209	0.213
0.22	0.22	0.22	0.216	0.224	0.224
0.251	0.247	0.248	0.246	0.251	0.245
0.214	0.206	0.237	0.24	0.216	0.216
0.061	0.063	0.067	0.069	0.072	0.07
0.203	0.211	0.068	0.075	0.074	0.079

Lampiran 6. Data hasil uji antikanker

Tabel 1. Absorbansi sel T47D setelah ditreatment dengan formulasi 40%

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Rata-rata
	I	II	III	
62,5	0.354	0.364	0.369	0.362333
125	0.323	0.387	0.389	0.366333
250	0.247	0.256	0.259	0.254
500	0.124	0.113	0.139	0.125333
1000	0.088	0.086	0.089	0.087667
kontrol sel	0.569	0.52	0.458	0.515667
Blank	0.094	0.087	0.098	0.093

Tabel 2. Absorbansi sel T47D setelah ditreatment dengan formulasi 60%

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Rata-rata
	I	II	III	
62.5	0.361	0.384	0.384	0.376333
125	0.384	0.393	0.389	0.388667
250	0.328	0.346	0.323	0.332333
500	0.177	0.178	0.175	0.176667
1000	0.087	0.097	0.096	0.093333
kontrol sel	0.569	0.569	0.458	0.532
blanko	0.094	0.087	0.098	0.093

Tabel 3. Absorbansi sel T47D setelah ditreatment dengan formulasi 80%

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Rata-rata
	I	II	III	
62,5	0.379	0.392	0.396	0.389
125	0.393	0.407	0.393	0.397667
250	0.339	0.352	0.369	0.353333
500	0.152	0.168	0.171	0.163667
1000	0.083	0.093	0.094	0.09
kontrol sel	0.569	0.52	0.458	0.515667
Blanko	0.094	0.087	0.098	0.093

Tabel 4. Absorbansi sel MCF-7 setelah ditreatment dengan formulasi 40%

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Rata-rata
	I	II	III	
62,5	0.273	0.319	0.291	0.294333
125	0.301	0.303	0.301	0.301667
250	0.24	0.279	0.234	0.251
500	0.125	0.133	0.125	0.127667
1000	0.103	0.096	0.109	0.102667
kontrol sel	0.304	0.308	0.294	0.302
Blanko	0.114	0.112	0.111	0.11233

Tabel 5. Absorbansi sel MCF-7 setelah ditreatment dengan formulasi 60%

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Rata-rata
	I	II	III	
62.5	0.353	0.339	0.33	0.340667
125	0.348	0.327	0.328	0.334333
250	0.296	0.293	0.298	0.295667
500	0.188	0.185	0.171	0.181333
1000	0.105	0.103	0.1	0.102667
kontrol sel	0.304	0.308	0.294	0.302
blanko	0.114	0.112	0.111	0.112333

Tabel 6. Absorbansi sel MCF-7 setelah ditreatment dengan formulasi 80%

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Rata-rata
	I	II	III	
62,5	0.297	0.292	0.316	0.301667
125	0.346	0.316	0.343	0.335
250	0.292	0.305	0.304	0.300333
500	0.197	0.195	0.202	0.198
1000	0.099	0.103	0.106	0.102667
kontrol sel	0.304	0.308	0.294	0.302
blanko	0.114	0.112	0.111	0.112333

Tabel 7. Absorbansi sel vero setelah ditreatment dengan formulasi 40%

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Rata-rata
	I	II	III	
62.5	0.212	0.21	0.204	0.208667
125	0.241	0.225	0.23	0.256
250	0.275	0.263	0.23	0.256
500	0.146	0.139	0.101	0.128667
1000	0.067	0.061	0.062	0.063333
kontrol sel	0.211	0.207	0.203	0.207
blanko	0.079	0.075	0.074	0.076

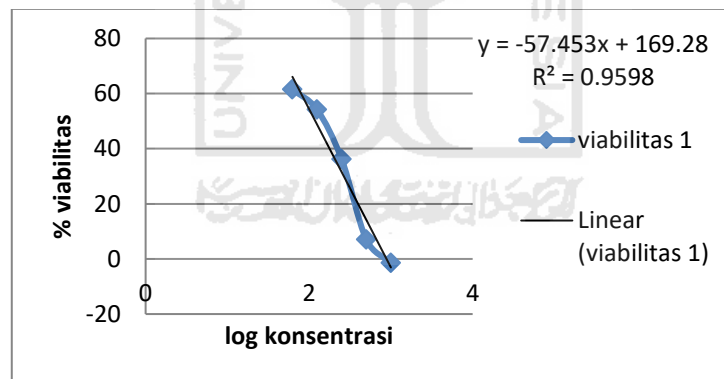
Tabel 8. Absorbansi sel vero setelah ditreatment dengan formulasi 60%

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			Rata-rata
	I	II	III	
62.5	0.205	0.204	0.205	0.204667
125	0.222	0.222	0.22	0.221333
250	0.244	0.242	0.247	0.244333
500	0.213	0.214	0.206	0.211
1000	0.067	0.061	0.063	0.063667
kontrol sel	0.211	0.207	0.203	0.207
Blanko	0.079	0.075	0.203	0.076

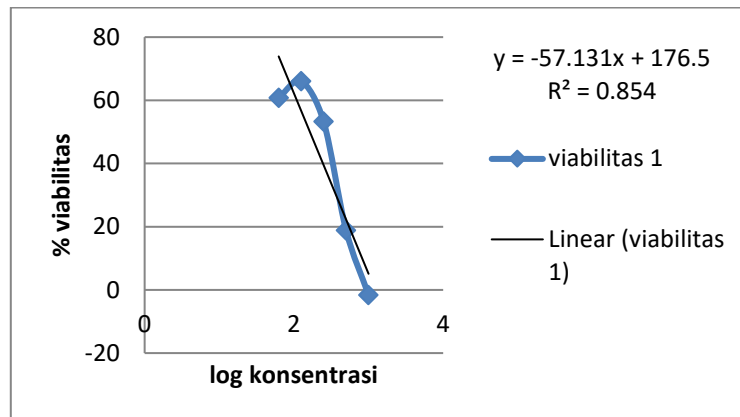
Tabel 9. Absorbansi sel vero setelah ditreatment dengan formulasi 80%

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi			
	I	II	III	Rata-rata
62.5	0.214	0.209	0.213	0.212
125	0.22	0.224	0.224	0.222667
250	0.248	0.246	0.251	0.248333
500	0.237	0.24	0.216	0.231
1000	0.067	0.069	0.07	0.068667
kontrol sel	0.211	0.207	0.203	0.207
Blanko	0.079	0.075	0.074	0.076

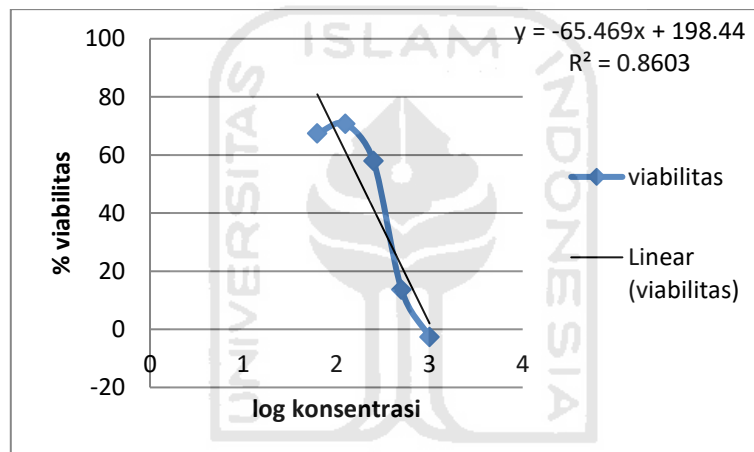
6.2 Grafik hubungan log konsentrasi formulasi terhadap % viabilitas sel



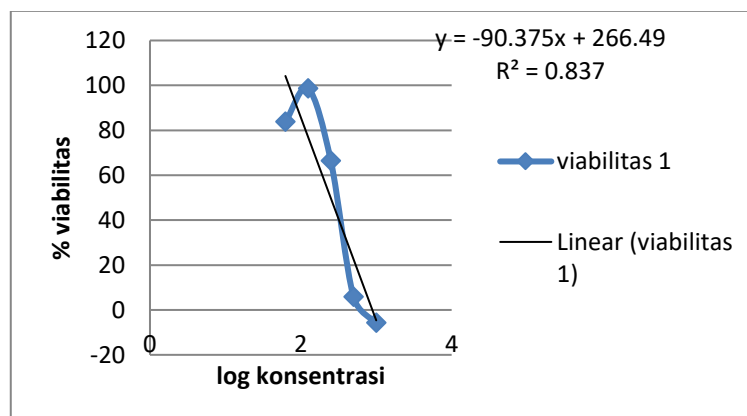
Gambar 1. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 40% terhadap % viabilitas sel T47D



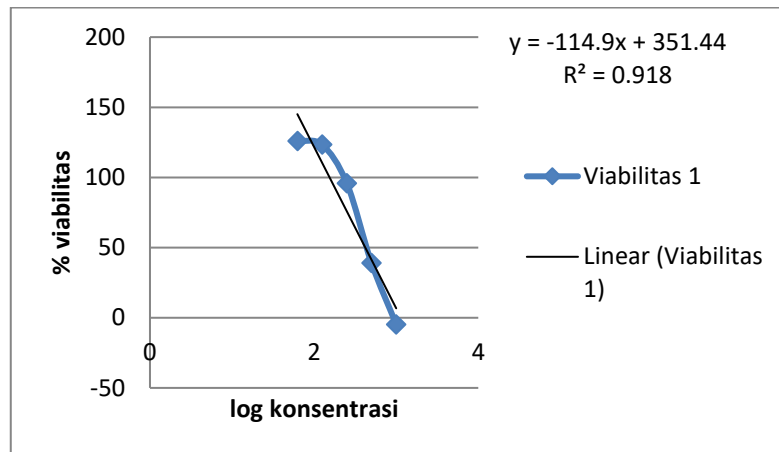
Gambar 2. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 60% terhadap% viabilitas sel T47D



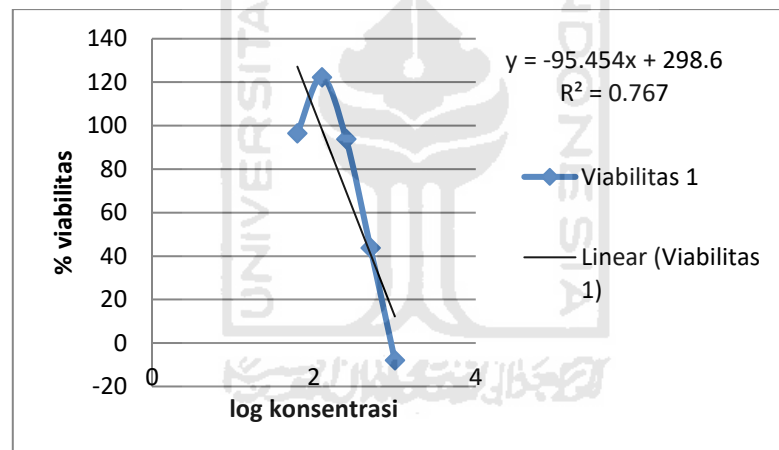
Gambar 3. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 80% terhadap% viabilitas sel T47D



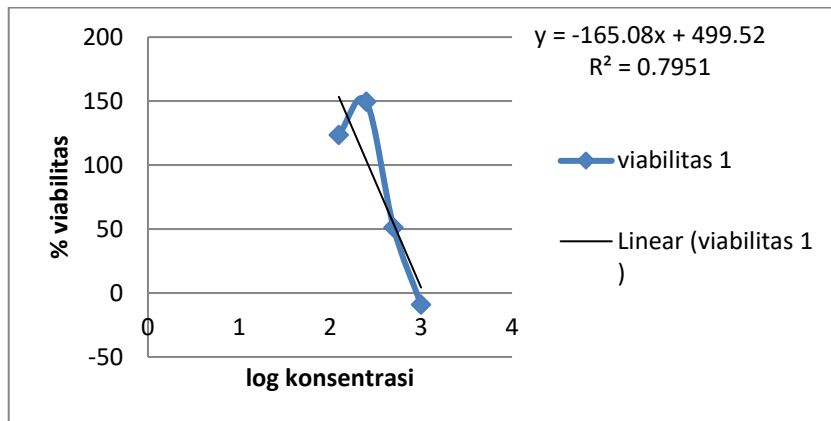
Gambar 4. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 40% terhadap% viabilitas sel MCF-7



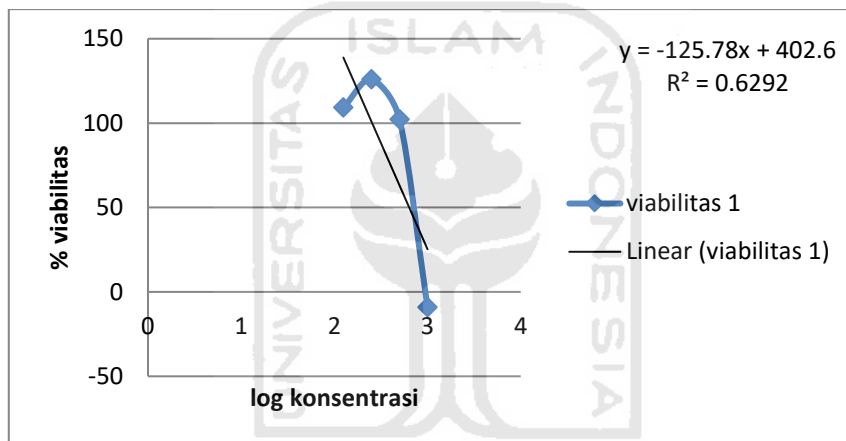
Gambar 5. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 60% terhadap% viabilitas sel MCF-7



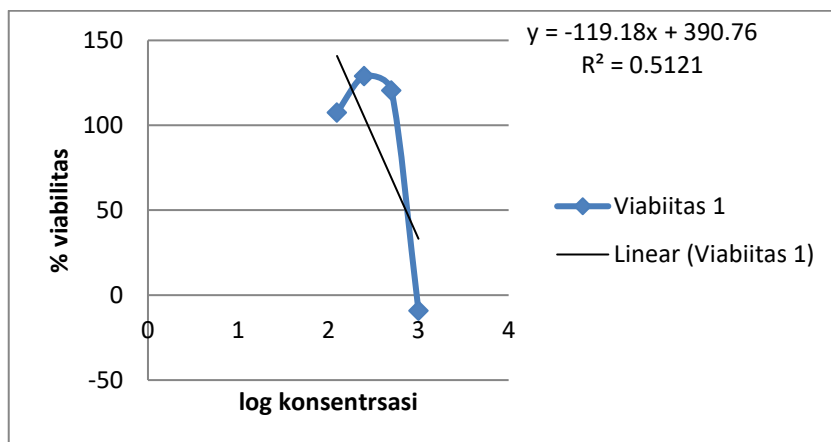
Gambar 6. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 80% terhadap% viabilitas sel MCF-7



Gambar 7. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 40% terhadap % viabilitas sel vero



Gambar 8. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 60% terhadap % viabilitas sel vero



Gambar 9. Grafik hubungan log konsentrasi formulasi 80% terhadap % viabilitas sel vero

Lampiran 7. Perhitungan

7.1 Perhitungan rendemen ekstrak kasar dan fraksi

- **Rendemen ekstrak kasar**

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{berat hasil}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

$$\% \text{Rendemen} = \frac{263,935 \text{ g}}{750 \text{ g}} \times 100\% = 35,19\%$$

- **Rendemen fraksi**

$$\% \text{Rendemen fraksi etanol} = \frac{103,87}{139,1} \times 100\%$$

$$\% \text{Rendemen} = \frac{46,06 \text{ g}}{263,935 \text{ g}} \times 100\% = 17,451\%$$

7.2 Perhitungan panen sel

$$\text{Jumlah sel/mL} = \frac{n}{4} \times 10^4$$

1. Sel T47D

- Bilik 1 = 122
- Bilik 2 = 136
- Bilik 3 = 113
- Bilik 4 = 180

$$\text{Jumlah sel/mL} = \frac{122+136+113+180}{4} \times 10^4$$

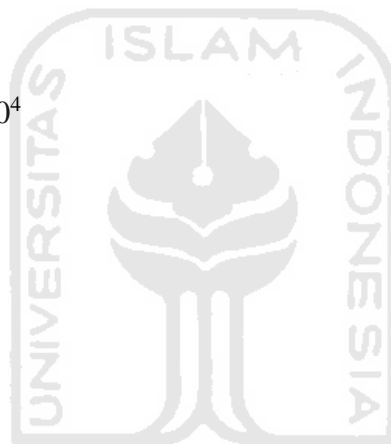
$$= 138 \times 10^4/\text{mL}$$

2. Sel MCF-7

- Bilik 1 = 72
- Bilik 2 = 59
- Bilik 3 = 63
- Bilik 4 = 50

$$\text{Jumlah sel/mL} = \frac{72+59+63+50}{4} \times 10^4$$

$$= 61 \times 10^4/\text{mL}$$



3. Sel vero

- Bilik 1 = 244
- Bilik 2 = 209
- Bilik 3 = 233
- Bilik 4 = 214

$$\begin{aligned}\text{Jumlah sel/mL} &= \frac{244+209+233+214}{4} \times 10^4 \\ &= 225 \times 10^4/\text{mL}\end{aligned}$$

7.3 Perhitungan membuat sel dengan kepadatan $1 \times 10^6/\text{mL}$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

- **Sel T47D**

$$\begin{aligned}138 \times 10^4/\text{mL} \cdot V_1 &= 10 \times 10^4 \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,724 \text{ mL} \\ &= 724 \mu\text{L}\end{aligned}$$

- **Sel MCF-7**

$$\begin{aligned}61 \times 10^4/\text{mL} \cdot V_1 &= 10 \times 10^4 \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 1,639 \text{ mL} \\ &= 1.639 \mu\text{L}\end{aligned}$$

- **Sel vero**

$$\begin{aligned}225 \times 10^4/\text{mL} \cdot V_1 &= 10 \times 10^4 \cdot 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,444 \text{ L} \\ &= 444 \mu\text{L}\end{aligned}$$

7.4 Perhitungan membuat sampel $1000 \mu\text{g}/\text{mL}$

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

- **Formulasi 40%**

$$= 0,0100 \text{ g}/100 \mu\text{L}$$

$$= 10 \text{ mg}/100 \mu\text{L}$$

$$= 100 \text{ mg}/1000 \mu\text{L}$$

$$= 100.000 \mu\text{g}/1000 \mu\text{L} = 100.000 \mu\text{g}/\text{mL}$$

$$100.000 \mu\text{g}/\text{mL} \cdot V_1 = 1000 \mu\text{g}/\text{mL} \cdot 1 \text{ mL}$$

$$= 10 \mu\text{L}$$

- **Formulasi 60%**

$$= 0,0109 \text{ g}/100 \mu\text{L}$$

$$= 10,9 \text{ mg}/100 \mu\text{L}$$

$$= 109 \text{ mg}/1000 \mu\text{L}$$

$$= 109.000 \mu\text{g}/1000 \mu\text{L} = 109.000 \mu\text{g}/\text{mL}$$

$$109.000 \mu\text{g}/\text{mL} \cdot V_1 = 1000 \mu\text{g}/\text{mL} \cdot 1 \text{ mL}$$

$$= 9,1 \mu\text{L}$$

- **Formulasi 80%**

$$= 0,0107 \text{ g}/100 \mu\text{L}$$

$$= 10,7 \text{ mg}/100 \mu\text{L}$$

$$= 107 \text{ mg}/1000 \mu\text{L}$$

$$= 107.000 \mu\text{g}/1000 \mu\text{L} = 107.000 \mu\text{g}/\text{mL}$$

$$107.000 \mu\text{g}/\text{mL} \cdot V_1 = 1000 \mu\text{g}/\text{mL} \cdot 1 \text{ mL}$$

$$= 9,3 \mu\text{L}$$

7.5 Perhitungan % viabilitas sel

$$\% \text{ Viabilitas sel} = \frac{\text{rata-rata absorban sel uji} - \text{rata-rata absorban blanko}}{\text{rata-rata absorban kontrol sel} - \text{rata-rata absorban blanko}} \times 100 \%$$

- **Uji aktivitas antikanker terhadap sel T47D**

- a. Formulasi 40%**

- 1. Konsentrasi 62,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$**

$$\% \text{ viabilitas sel} = \frac{0.362333 - 0.093}{0.515667 - 0.093} \times 100\%$$

$$= 63,72155858\%$$

- 2. Konsentrasi 125 $\mu\text{g}/\text{ml}$**

$$\% \text{ viabilitas sel} = \frac{0.366333 - 0.093}{0.515667 - 0.093} \times 100\%$$

$$= 64,66863985\%$$

- 3. Konsentrasi 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$**

$$\% \text{ viabilitas sel} = \frac{0.254 - 0.093}{0.515667 - 0.093} \times 100\%$$

=38,09145261%

4. Konsentrasi 500 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0.125333 - 0.093}{0.515667 - 0.093} \times 100\%$$

=7,649757374 %

5. Konsentrasi 1000 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0.087667 - 0.093}{0.515667 - 0.093} \times 100\%$$

= -1,261749794%

b. Formulasi 60%

1. Konsentrasi 62,5 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0.376333 - 0.093}{0.515667 - 0.093} \times 100\%$$

=67,03456858%

2. Konsentrasi 125 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0.388667 - 0.093}{0.515667 - 0.093} \times 100\%$$

=69,95270508%

3. Konsentrasi 250 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0.332333 - 0.093}{0.515667 - 0.093} \times 100\%$$

= 56,62448216%

4. Konsentrasi 500 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0.176667 - 0.093}{0.515667 - 0.093} \times 100\%$$

=19,79501593 %

5. Konsentrasi 1000 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0.093333 - 0.093}{0.515667 - 0.093} \times 100\%$$

=0,07878542683%

c. Formulasi 80%

1. Konsentrasi 62,5 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0.389-0.093}{0.515667-0.093} \times 100\%$$

$$= 70,03149051\%$$

2. Konsentrasi 125 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0.397667-0.093}{0.515667-0.093} \times 100\%$$

$$= 72,08204094\%$$

3. Konsentrasi 250 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0.353333-0.093}{0.515667-0.093} \times 100\%$$

$$= 61,5929325\%$$

4. Konsentrasi 500 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0.163667-0.093}{0.515667-0.093} \times 100\%$$

$$= 16,71930858\%$$

5. Konsentrasi 1000 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0.09-0.093}{0.515667-0.093} \times 100\%$$

$$= -0,70977862\%$$

• Uji aktivitas antikanker terhadap sel MCF-7

a. Formulasi 40%

1. Konsentrasi 62,5 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0.294333-0.112333}{0.302-0.112333} \times 100\%$$

$$= 95,9576521\%$$

2. Konsentrasi 125 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0.301667-0.112333}{0.302-0.112333} \times 100\%$$

$$= 99,82442913\%$$

3. Konsentrasi 250 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,251 - 0,112333}{0,302 - 0,112333} \times 100\%$$

$$= 73,11076782\%$$

4. Konsentrasi 500 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,127667 - 0,112333}{0,302 - 0,112333} \times 100\%$$

$$= 8,084695809\%$$

5. Konsentrasi 1000 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,102667 - 0,112333}{0,302 - 0,112333} \times 100\%$$

$$= -5,096300358\%$$

b. Formulasi 60%

1. Konsentrasi 15,625 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,340667 - 0,112333}{0,302 - 0,112333} \times 100\%$$

$$= 120,386783 \%$$

2. Konsentrasi 31,25 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,334333 - 0,112333}{0,302 - 0,112333} \times 100\%$$

$$= 117,0456643\%$$

3. Konsentrasi 250 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,295667 - 0,112333}{0,302 - 0,112333} \times 100\%$$

$$= 96,66099005\%$$

4. Konsentrasi 500 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,181333 - 0,112333}{0,302 - 0,112333} \times 100\%$$

$$= 36,37954942 \%$$

5. Konsentrasi 1000 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,102667 - 0,112333}{0,302 - 0,112333} \times 100\%$$

$$= -5,096300358\%$$

c. Formulasi 80%

1. Konsentrasi 62,5 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,301667 - 0,112333}{0,302 - 0,112333} \times 100\%$$

$$= 99,82442913\%$$

2. Konsentrasi 125 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,335 - 0,112333}{0,302 - 0,112333} \times 100\%$$

$$= 117,3989149\%$$

3. Konsentrasi 250 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,300333 - 0,112333}{0,302 - 0,112333} \times 100\%$$

$$= 99,12109118 \%$$

4. Konsentrasi 500 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,198 - 0,112333}{0,302 - 0,112333} \times 100\%$$

$$= 45,16705595 \%$$

5. Konsentrasi 1000 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,102667 - 0,112333}{0,302 - 0,112333} \times 100\%$$

$$= -5,096300358\%$$

• Uji aktivitas antikanker terhadap sel vero

a. Formulasi 40%

1. Konsentrasi 15,625 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,208667 - 0,076}{0,207 - 0,076} \times 100\%$$

$$= 101,2725191\%$$

2. Konsentrasi 62,5 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,232 - 0,076}{0,207 - 0,076} \times 100\%$$

$$= 119,0839695 \%$$

3. Konsentrasi 125 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,256 - 0,076}{0,207 - 0,076} \times 100\%$$

$$= 137,4045802\%$$

4. Konsentrasi 500 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,128667 - 0,076}{0,207 - 0,076} \times 100\%$$

$$= 40,20381679\%$$

5. Konsentrasi 1000 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,063333 - 0,076}{0,207 - 0,076} \times 100\%$$

$$= -9,669465649\%$$

b. Formulasi 60%

1. Konsentrasi 15,625 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,204667 - 0,076}{0,207 - 0,076} \times 100\%$$

$$= 98,21908397\%$$

2. Konsentrasi 62,5 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,221333 - 0,076}{0,207 - 0,076} \times 100\%$$

$$= 110,9412214\%$$

3. Konsentrasi 125 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,244333 - 0,076}{0,207 - 0,076} \times 100\%$$

$$= 128,4982733\%$$

4. Konsentrasi 500 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,211 - 0,076}{0,207 - 0,076} \times 100\%$$

$$= 103,0534351 \%$$

5. Konsentrasi 1000 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,063667 - 0,076}{0,207 - 0,076} \times 100\%$$

$$= -9,414503817\%$$

c. Formulasi 80%

1. Konsentrasi 15,625 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,212 - 0,076}{0,207 - 0,076} \times 100\%$$

$$= 103,8167939\%$$

2. Konsentrasi 31,25 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,222667 - 0,076}{0,207 - 0,076} \times 100\%$$

$$= 111,9600763\%$$

3. Konsentrasi 62,5 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,248333 - 0,076}{0,207 - 0,076} \times 100\%$$

$$= 131,5519084 \%$$

4. Konsentrasi 500 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,231 - 0,076}{0,207 - 0,076} \times 100\%$$

$$= 118,3206107 \%$$

5. Konsentrasi 1000 µg/ml

$$\% \text{viabilitas sel} = \frac{0,068667 - 0,076}{0,207 - 0,076} \times 100\%$$

$$= -5,597709924\%$$

7.6 Perhitungan nilai IC₅₀

- **Sel T47D**

- a. Formulasi 40%**

$$y = -57,45x + 169,2$$

$$50 = -57,45x + 169,2$$

$$X = (50 - 169,2) / -57,45$$

=

- b. Formulasi 60%**

$$y = -57,13x + 176,5$$

$$50 = -57,13x + 176,5$$

$$X = (50 - 176,5) / -57,13$$

=

- c. Formulasi 80%**

$$y = -65,46x + 198,4$$

$$y = -65,46x + 198,4$$

$$x = (50 - 198,4) / -65,46$$

=

- **Sel MCF-7**

- a. Formulasi 40%**

$$y = -90,37x + 266,4$$

$$50 = -90,37x + 266,4$$

$$x = (50 - 266,4) / -90,37$$

=

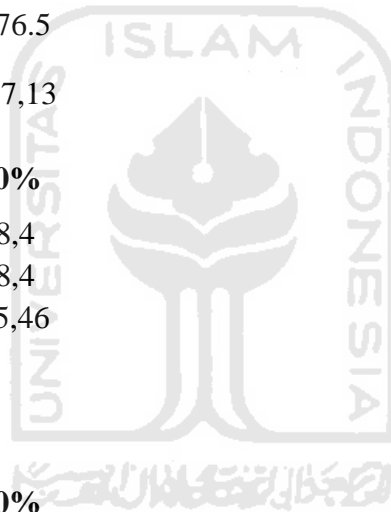
- b. Formulasi 60%**

$$y = -114,9x + 351,4$$

$$50 = -114,9x + 351,4$$

$$x = (50 - 351,4) / -114,9$$

=



c. Formulasi 80%

$$y = -95,45x + 298,6$$

$$50 = -95,45x + 298,6$$

$$X = (50 - 298,6) / -95,45$$

=

• **Sel vero**

a. Formulasi 40%

$$y = -165,0x + 499,5$$

$$50 = -165,0x + 499,5$$

$$X = (50 - 499,5) / -165,0$$

=

b. Formulasi 60%

$$y = -125,7x + 402,6$$

$$y50 = -125,7x + 402,6$$

$$x = (50 - 402,6) / -125,7$$

=

c. Formulasi 80%

$$y = -119,1x + 390,7$$

$$50 = -119,1x + 390,7$$

$$x = (50 - 390,7) / -119,1$$

=

7.7 Perhitungan Nilai SI (selectivity Indeks)

$$\text{Nilai SI} = \frac{\text{nilai IC50 vero}}{\text{nilai IC50 Sel kanker}}$$

• **SI Terhadap Sel T47D**

a. Formulasi 40%

$$SI = \frac{818,46}{366,43} = 2,233$$

b. Formulasi 60%

$$SI = \frac{912,01}{446,68} = 2,041$$

c. Formulasi 80%

$$SI = \frac{837,529}{380,189} = 2,202$$

- **SI Terhadap Sel MCF-7**

- a. **Formulasi 40%**

$$SI = \frac{818,46}{743,019} = 1,101$$

- b. **Formulasi 60%**

$$SI = \frac{912,01}{829,85} = 1,099$$

- c. **Formulasi 80%**

$$SI = \frac{837,529}{776,24} = 1,078$$

