

**EKSTRAK DAUN SUKET GAJAHAN (ARTEMISIA
VULGARIS) SEBAGAI ANTIPROLIFERATIF PADA SEL
KANKER PAYUDARA MCF-7**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh :

Achmad Diyas Kusuma

0910710022

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2013

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**Ekstrak Daun Suket Gajah (*Artemisia vulgaris*) sebagai
Antiproliferatif pada Sel Kanker Payudara MCF-7**

Oleh :

Achmad Diyas Kusuma

NIM: 0910710022

Telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal : 25 Februari 2013

Dan dinyatakan lulus oleh:
Penguji I



dr. Imam Sarwono, Sp.PA
NIP. 195211111198002 1 001

Penguji II/Pembimbing I



dr. Soemardini, MPd
NIK: 110446417

Penguji III/Pembimbing II



Prof. Dr. dr. Edi Widjajanto, MS, Sp.PK (K)
NIP: 1950 04 27 1980 02 1 001

Mengetahui,
Ketua Program Studi



Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H., M.Sc., Sp.Par.K
NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah member petunjuk dan hidayah sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Ekstrak Daun Suket Gajahan (*Artemisia vulgaris*) sebagai Antiproliferatif pada Sel Kanker Payudara MCF-7”.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. dr.Soemardini, MPd sebagai pembimbing pertama atas izin untuk penelitian di luar kota, kesabaran dan bimbingannya kepada penulis dalam penulisan Tugas Akhir.
3. Prof. Dr. dr. Edi Widjanto, MS, Sp.PK (K) sebagai dosen pembimbing kedua atas izin untuk penelitian di luar kota dan dengan sabar telah membimbing penulis hingga Tugas Akhir selesai.
4. dr Imam Sarwono,Sp. PA sebagai dosen penguji yang telah memberikan waktu dan saran untuk mengoreksi penyelesaian Tugas Akhir
5. Staf Laboratorium Farmakologi FKUB dan staf LPPT, Jogja yang telah banyak membantu, memberi nasihat dan saran dalam pelaksanaan Tugas Akhir.
6. Seluruh anggota Tim Tugas Akhir FKUB yang telah membantu penyelesaian Tugas Akhir
7. Yang tercinta Ayahanda Herriyono dan ibunda Luthfiyah serta kakak Septina Kusumaning Pratiwi, Della Kusumaning Putri, dan mas Cholid

atas semua kasih sayang, semangat dan doa. Terima kasih sudah menjadikan semangat bagi penulis dan menemani penulis dalam situasi apapun.

8. Ghaida Ramadhania M atas pengertian dan dukungannya dalam penyelesaian Tugas Akhir
9. Teman-teman terutama teman-teman TRR (Adma, Bobby, Mangku, Bimo, Hamada, Dimas Satryo, Dimas Jepri, Felix, Ego), Angga Dewantara, Aditya Indra, dan Dyah Lukito untuk kebersamaan dan semangat dalam pengerjaan Tugas Akhir
10. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala kritik dan saran. Semoga Tugas Akhir ini dapat memberi manfaat.

Malang, 25 Februari 2013

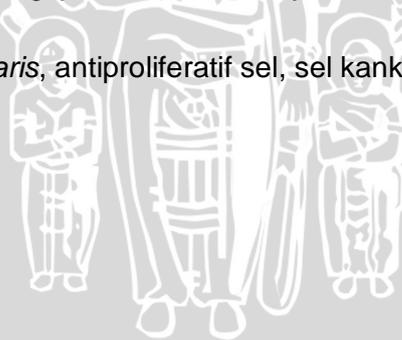
Penulis

ABSTRAK

Kusuma, AD. 2013. **Ekstrak Daun Suket Gajahan (*Artemisia vulgaris*) sebagai Antiproliferatif pada Sel Kanker Payudara MCF-7**. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Soemardini, MPd. (2) Prof. Dr. dr. Edi Widjanto, MS, Sp.PK (K)

Kanker payudara saat ini merupakan masalah global yang harus diperhatikan. Penilaian proliferasi dan apoptosis dapat untuk mengevaluasi pertumbuhan atau pengurangan massa tumor terhadap respon kemoterapi, radioterapi dan akhir-akhir ini dengan terapi hormonal. Terapi tersebut seringkali tidak terjangkau oleh masyarakat, maka dicari obat tradisional untuk pengobatan kanker. Ekstrak daun suket gajahan (*Artemisia vulgaris*) dengan kandungan eupatilin diharapkan menjadi salah satu alternatif obat yang mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara. Studi eksperimental dengan post-test only design dilakukan pada sel kanker MCF-7 in vitro. Penambahan ekstrak daun suket gajahan pada sel dilakukan dengan 9 kelompok dosis 3 kali pengulangan dan 1 kelompok kontrol. Viabilitas sel kanker diperiksa menggunakan ELISA reader. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penurunan viabilitas sel pada kelompok sel yang diberi perlakuan dengan kelompok kontrol memiliki perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Hasil uji korelasi juga menunjukkan bahwa semakin meningkatnya pemberian dosis ekstrak maka viabilitas sel MCF-7 cenderung menurun. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak daun suket gajahan (*Artemisia vulgaris*) dapat menurunkan viabilitas sel pada sel MCF-7. Berdasarkan hasil penelitian ini, disarankan penelitian lebih lanjut pada zat eupatilin pada daun suket gajahan dan efeknya terhadap antiproliferatif sel secara molekuler.

Kata kunci : *Artemisia vulgaris*, antiproliferatif sel, sel kanker payudara MCF-7

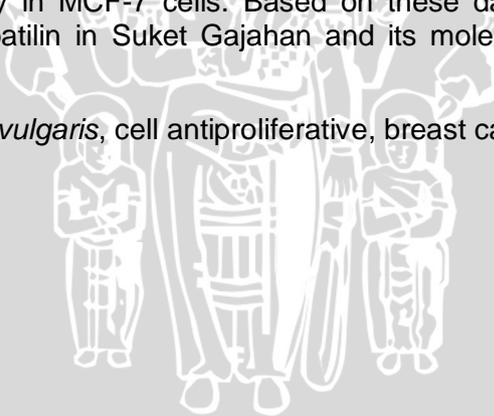


ABSTRACT

Kusuma, AD. 2013. **Suket Gajahan Leaf Extract (*Artemisia vulgaris*) as Antiproliferative in Breast Cancer MCF-7 Cells**. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) dr.Soemardini, M.Kes. (2) Prof. Dr. dr. Edi Widjajanto, MS, Sp.PK (K)

Breast cancer is the global issue that must be concerned now. Assessment of proliferation and apoptosis is able to evaluate the growth or reduction of tumor mass on the response of chemotherapy, radiotherapy and lately with hormonal therapy. Therapy is often unaffordable by the community, so that traditional medicine is considered for the treatment of cancer. Suket Gajahan leaf (*Artemisia vulgaris*) with eupatilin are expected to be one of alternative drug that can inhibit the growth of breast cancer cells. Experimental studies with a post-test only design were conducted on MCF-7 cancer cells in vitro. Addition of Suket Gajahan extract on cells was done with nine dosage repeated three times and one control group. Viability of cancer cells is determined by ELISA reader. The results showed that the decrease of cell viability in the group of treated cells with the control group had a significant difference ($p < 0.05$). Correlation test results also showed that increasing the dosage extract the cell viability of MCF-7 cell is likely to decrease. The conclusion of this study is Suket Gajahan extract can reduce cell viability in MCF-7 cells. Based on these data, it is suggested further research of eupatilin in Suket Gajahan and its molecular effects in cell antiproliferative

Keywords : *Artemisia vulgaris*, cell antiproliferative, breast cancer cells MCF-7



Daftar Isi

	Halaman
Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	x
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Akademik	5
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Definisi Kanker Payudara	6
2.1.1 Etiologi Kanker Payudara	6
2.1.1.1 Faktor Reproduksi	6
2.1.1.2 Penggunaan Hormon	7
2.1.1.3 Penyakit Fibrokistik	7
2.1.1.4 Obesitas	8
2.1.1.5 Konsumsi Lemak	8
2.1.1.6 Radiasi	8
2.1.1.7 Riwayat Keluarga dan Faktor Genetik	8
2.1.2 Patofisiologi Kanker Payudara	9
2.1.3 Stadium Kanker Payudara	10
2.1.4 Komplikasi	12
2.2 Sel MCF-7	12
2.3 Kultur Sel	13



2.4 Siklus Sel	15
2.4.1 Mekanisme Proliferasi	16
2.5 Tumbuhan Suket Gajahan (<i>Artemisia Vulgaris</i>)	17
2.5.1 Klasifikasi Tumbuhan Suket Gajahan	17
2.5.2 Morfologi dan Habitat Tumbuhan <i>Artemisisa Vulgaris</i>	18
2.6 Karakteristik Fitokimia Artemisia dan Biomekanisme Eupatilin	18

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Pikir	20
3.2 Hipotesis	21

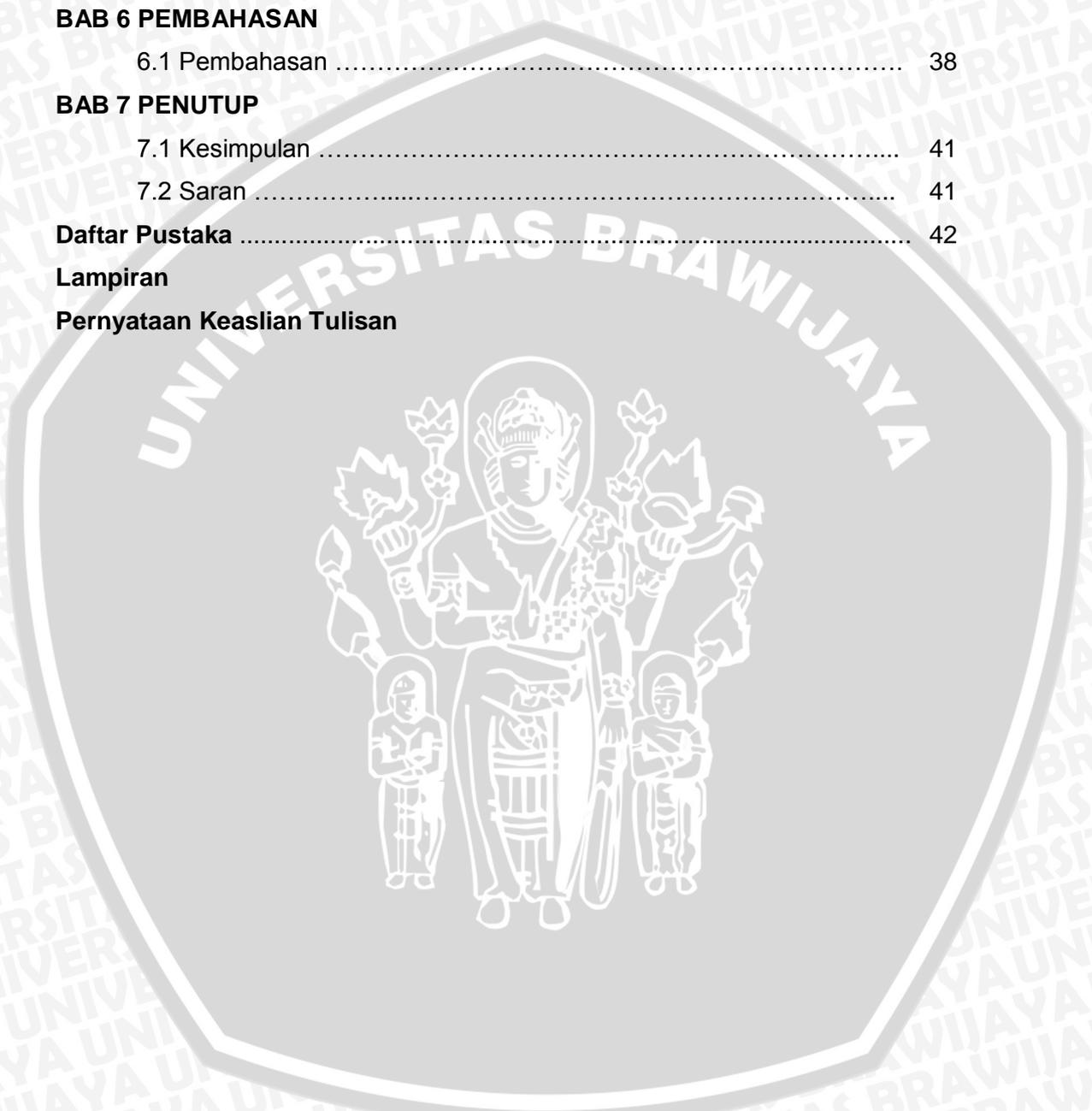
BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	22
4.2 Populasi dan Sampel	23
4.3 Variabel Penelitian	23
4.3.1 Variabel Bebas	23
4.3.2 Variabel Terikat	23
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	24
4.5 Bahan dan Alat	24
4.5.1 Bahan	24
4.5.2 Alat	24
4.6 Definisi Operasional	25
4.7 Prosedur Penelitian	27
4.7.1.1 Cell Thawing	27
4.7.1.2 Kultur Sel Kanker Payudara MCF-7	27
4.7.2 Proses Ekstraksi Daun <i>Artemisia Vulgaris</i>	27
4.7.2.1 Proses Ekstraksi	27
4.7.2.2 Proses Evaporasi	28
4.7.3 Metode MTT Assay	28
4.8 Jadwal Kegiatan	29
Analisa Data	30

Bab 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian	31
5.1.1 Hasil Viabilitas Sel	32
5.2 Analisis Data	36

5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas Data	36
5.2.2 Uji Kruskal-Wallis	37
5.2.3 Uji Korelasi	37
BAB 6 PEMBAHASAN	
6.1 Pembahasan	38
BAB 7 PENUTUP	
7.1 Kesimpulan	41
7.2 Saran	41
Daftar Pustaka	42
Lampiran	
Pernyataan Keaslian Tulisan	



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Suket Gajahan.....	19
Gambar 4.1 Rancangan Penelitian	23
Gambar 5.1 Grafik rata-rata indeks viabilitas pada sel MCF-7.....	35
Gambar 5.2 Morfologi MCF-7 dengan dan tanpa ekstrak	36



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sampai saat ini, kanker merupakan masalah kesehatan yang cukup serius. Berdasarkan *Global Cancer Statistic*, kanker merupakan penyebab kematian yang utama di negara ekonomi maju dan menjadi penyebab kematian kedua di negara berkembang (Jemal, 2011). Pada tahun 2007, sekitar 72% dari seluruh mortalitas kanker terjadi di negara yang berpendapatan rendah-menengah. Apabila tidak mendapatkan penanganan dan perhatian yang serius, diperkirakan pada tahun 2030, angka mortalitas kanker akan meningkat menjadi 12 juta orang per tahunnya (WHO, 2008). Salah satu kanker yang menjadi penyebab utama kematian adalah kanker payudara (Jemal, 2011).

Prevalensi kanker payudara mencapai 22% dari semua kanker yang terjadi pada wanita, sehingga kanker payudara merupakan karsinoma yang paling sering diderita oleh wanita (Tavassoli, 2011). Kanker payudara juga merupakan penyebab utama kematian akibat kanker pada wanita (Zeleniuch-Jacquotte, 2005). Pada tahun 2009, diperkirakan 192.370 wanita didiagnosis menderita kanker payudara, dan 41.170 di antaranya meninggal (Yang, 2011). Insiden kanker payudara pun cukup tinggi, yakni 2 dari 1000 wanita yang berumur 50 tahun keatas setiap tahunnya (McPherson, 2000). Berdasarkan data Sistem Informasi Rumah Sakit (SIRS) tahun 2007, kanker payudara menempati urutan pertama pada

pasien rawat inap di seluruh RS di Indonesia (16,85%), dan disusul dengan kanker leher rahim (11,78%). Hal ini didukung dengan data yang diperoleh Globocan, IARC pada tahun 2002, bahwa didapatkan estimasi insidens kanker payudara di Indonesia sebesar 26 per 100.000 perempuan, dan kanker leher rahim sebesar 16 per 100.000 perempuan. Hal ini merupakan angka kejadian kanker payudara tertinggi yang diderita oleh wanita Indonesia (KMK RI, 2010).

Penyakit kanker masih menjadi penyebab utama kematian di seluruh dunia saat ini. Berdasarkan WHO, diperkirakan sekitar 84 juta orang akan meninggal karena kanker dalam kurun waktu tahun 2005 sampai 2015 bila tanpa dilakukan intervensi (Yulvitrawasih, 2011). Diperkirakan angka kematian akibat kanker akan meningkat secara signifikan selama tahun-tahun mendatang dan akan mencapai sekitar 13 juta kematian per tahun di seluruh dunia pada tahun 2030. Kecenderungan ini bahkan lebih mencolok di Asia dimana jumlah kematian per tahun pada tahun 2002 sebesar 3,5 juta diperkirakan meningkat menjadi 8,1 juta pada tahun 2020 (Lancet, 2010). Kanker payudara merupakan salah satu contoh kanker yang menjadi perhatian dunia saat ini karena tingkat insiden yang sangat tinggi (Lancet, 2010).

Kanker payudara atau *breast cancer* adalah *neoplasma* ganas yang berasal dari *parenchyma* payudara. Kanker ini merupakan *carcinoma* yang paling sering terjadi pada perempuan, dengan estimasi jumlah sekitar 22% dari seluruh kanker yang diderita oleh perempuan. Kanker payudara menjadi penyebab utama kematian perempuan oleh karena *carcinoma*. Kejadiannya diperkirakan mencapai 1.000.000 kasus setiap tahunnya di

seluruh dunia. Insiden kanker payudara di negara Amerika Serikat mencapai 100.000 kasus baru yang terdiagnosis setiap tahunnya, dan sekitar 30.000 diantaranya meninggal karena penyakit ini (Rosai, 2011). Insiden kanker payudara tertinggi terdapat di Amerika Utara, Eropa Utara, dan Australia, dimana 6% dari jumlah penduduk perempuan menderita kanker payudara sebelum umur 75 tahun. Insiden sedang terdapat di negara Eropa bagian selatan, dan negara-negara Amerika Latin. Sedangkan, insiden rendah terdapat di hampir seluruh negara Asia dan Afrika (WHO, 2011).

Penyebab dari kanker payudara adalah multifaktor, dan diantaranya berkaitan dengan diet, faktor reproduksi, dan berhubungan dengan ketidakseimbangan hormonal. Pola hidup yang kurang sehat seperti terlalu banyak mengonsumsi makanan tinggi kalori, lemak, dan protein, serta kurangnya aktivitas tubuh dapat menambah risiko kanker payudara. Selain itu faktor risiko lain yang juga harus diperhatikan dalam penyakit kanker payudara adalah usia, jenis kelamin, riwayat keluarga, riwayat kesehatan sebelumnya, riwayat menstruasi, yaitu periode menstruasi yang terjadi lebih lama (menstruasi pertama lebih awal atau menopause lebih lambat), kontrasepsi, alkohol, dan rokok. Selain itu, upaya untuk menunda kehamilan atau kehamilan pertama yang terjadi di atas usia 30 tahun juga bisa meningkatkan risiko kanker payudara (Bai *et al.*, 2007).

Populasi sel atau homeostasis jaringan ditentukan oleh kecepatan proliferasi sel, differensiasi dan apoptosis. Tiap sel mempunyai mekanisme pengawasan supaya sel selalu konstan untuk menjaga kestabilan integritas dengan genomnya. Bila terjadi mutasi onkogen maka akan terjadi

mekanisme untuk membatasi perluasan atau perbanyakkan sel, dengan penekanan proliferasi dan meningkatkan (*triggering*) apoptosis. Gangguan keseimbangan antara apoptosis dan proliferasi adalah faktor penting untuk terjadinya perkembangan dan progresi tumor (Bai *et al.*, 2007).

Penilaian proliferasi dan apoptosis dapat untuk mengevaluasi pertumbuhan atau pengurangan massa tumor terhadap respon kemoterapi, radioterapi dan akhir-akhir ini dengan terapi hormonal. Terapi kanker payudara meliputi pembedahan, radiasi, hormonal, dan kemoterapi. Terapi tersebut seringkali tidak terjangkau oleh masyarakat, maka dicari obat tradisional untuk pengobatan kanker. Ada beberapa kelebihan penggunaan obat tradisional, harganya lebih murah karena dapat dibudidayakan, mudah didapat dan diharapkan efek samping lebih minimal dibanding obat antikanker sintetik (Shawi *et al.*, 2011).

Tanaman suket gajahan (*Artemisia vulgaris*) tersebar luas di seluruh dunia yang terdiri dari lebih 800 spesies. Daun tumbuhan suket gajahan (*Artemisia vulgaris*) berdasarkan laporan penelitian sebelumnya mengandung minyak atsiri, saponin, flavonoid dan polifenol (Bunrathep *et al.*, 2005). Daun tumbuhan suket gajahan mengandung zat eupatilin yang mampu menghambat pertumbuhan beberapa sel kanker. Eupatilin mampu menghambat proliferasi sel kanker melalui mekanisme *G2/M phase cell cycle arrest* pada sel kanker kolon. Sehingga diharapkan ekstrak daun suket gajahan dengan kandungan eupatilin di dalamnya merupakan salah satu alternatif obat yang diharapkan mampu menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (Shawi *et al.*, 2011).

1.2. Rumusan Masalah

Apakah ekstrak daun *Artemisia vulgaris* dapat menghambat proliferasi sel kanker payudara MCF-7?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk membuktikan bahwa ekstrak daun *Artemisia vulgaris* dapat diberikan sebagai pengobatan kanker payudara.

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk membuktikan bahwa ekstrak daun *Artemisia vulgaris* dapat menghambat proliferasi sel kanker payudara MCF-7.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Menciptakan teori baru bahwa ekstrak daun *Artemisia vulgaris* sebagai pendekatan terapi kanker payudara.

1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan informasi bagi masyarakat tentang penggunaan ekstrak daun *Artemisia vulgaris* untuk pengobatan kanker payudara.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Definisi Kanker Payudara

Kanker payudara atau *breast cancer* adalah *neoplasma* ganas yang berasal dari *parenchyma* payudara. Kanker ini merupakan *carcinoma* yang paling sering terjadi pada perempuan, dengan estimasi jumlah sekitar 22% dari seluruh kanker yang diderita oleh perempuan. Kanker payudara menjadi penyebab utama kematian perempuan oleh karena *carcinoma*. Kanker payudara menempati urutan pertama penyakit neoplasma ganas di rumah sakit sejak tahun 2004 – 2008 (Depkes RI, 2009).

2.1.1 Etiologi kanker Payudara

Penyebab pasti kanker payudara sampai saat ini belum diketahui. Kanker disebabkan oleh adanya genom abnormal yang terjadi karena ada kerusakan gen yang mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel, tetapi terdapat banyak faktor yang diperkirakan mempunyai pengaruh terhadap terjadinya kanker payudara diantaranya (LHS, 2009).

2.1.1.1 Faktor reproduksi

Karakteristik reproduktif yang berhubungan dengan risiko terjadinya kanker payudara adalah nuliparitas, *menarche* pada umur muda, *menopause* pada umur lebih tua, dan kehamilan pertama pada umur tua. Risiko utama kanker payudara adalah bertambahnya umur. Diperkirakan, periode antara terjadinya haid pertama dengan umur saat kehamilan

pertama merupakan *window of initiation* perkembangan kanker payudara. Secara anatomi dan fungsional, payudara akan mengalami atrofi dengan bertambahnya umur. Kurang dari 25% kanker payudara terjadi pada masa sebelum *menopause* sehingga diperkirakan awal terjadinya tumor terjadi jauh sebelum terjadinya perubahan klinis (LHS, 2009).

2.1.1.2 Penggunaan Hormon

Hormon estrogen berhubungan dengan terjadinya kanker payudara. Laporan dari *Harvard School of Public Health* menyatakan bahwa terdapat peningkatan kanker payudara yang signifikan pada para pengguna terapi *estrogen replacement*. Suatu meta-analisis menyatakan bahwa walaupun tidak terdapat risiko kanker payudara pada pengguna kontrasepsi oral, wanita yang menggunakan obat ini untuk waktu yang lama mempunyai risiko tinggi untuk mengalami kanker payudara sebelum *menopause*. Sel-sel yang sensitif terhadap rangsangan hormonal mungkin mengalami perubahan degenerasi jinak atau menjadi ganas (LHS, 2009).

2.1.1.3 Penyakit Fibrokistik

Pada wanita dengan adenosis, fibroadenoma, dan fibrosis, tidak ada peningkatan risiko terjadinya kanker payudara. Pada hiperplasis dan papiloma, risiko sedikit meningkat 1,5 sampai 2 kali. Sedangkan pada hiperplasia atipik, risiko meningkat hingga 5 kali (LHS, 2009).

2.1.1.4 Obesitas

Terdapat hubungan yang positif antara berat badan dan bentuk tubuh dengan kanker payudara pada wanita pasca-*menopause*. Variasi terhadap

kekerapan kanker ini di negara-negara barat dan bukan barat serta perubahan kekerapan sesudah migrasi menunjukkan bahwa terdapat pengaruh diet terhadap terjadinya keganasan ini (LHS, 2009).

2.1.1.5 Konsumsi Lemak

Konsumsi lemak diperkirakan sebagai suatu faktor risiko terjadinya kanker payudara. Willet dkk. melakukan studi prospektif selama 8 tahun tentang konsumsi lemak dan serat dalam hubungannya dengan risiko kanker payudara pada wanita umur 34 sampai 59 tahun (LHS, 2009).

2.1.1.6 Radiasi

Eksposur dengan radiasi ionisasi selama atau sesudah pubertas meningkatkan terjadinya risiko kanker payudara. Dari beberapa penelitian yang dilakukan disimpulkan bahwa risiko kanker radiasi berhubungan secara linier dengan dosis dan umur saat terjadinya eksposur (LHS, 2009).

2.1.1.7 Riwayat Keluarga dan Faktor Genetik

Riwayat keluarga merupakan komponen yang penting dalam riwayat penderita yang akan dilaksanakan *screening* untuk kanker payudara. Terdapat peningkatan risiko keganasan pada wanita yang keluarganya menderita kanker payudara. Pada studi genetik ditemukan bahwa kanker payudara berhubungan dengan gen tertentu. Apabila terdapat *BRCA-1* dan *BRCA-2*, yaitu suatu gen kerentanan terhadap kanker payudara, probabilitas untuk terjadi kanker payudara sebesar 60% pada umur 50 tahun dan sebesar 85% pada umur 70 tahun. Faktor usia sangat berpengaruh. Sekitar 60% kanker payudara terjadi di usia 60 tahun, sedangkan risiko terbesar usia 75 tahun (LHS, 2009).

2.1.2 Patofisiologi Kanker Payudara

Transformasi sel-sel kanker dibentuk dari sel-sel normal dalam suatu proses rumit yang disebut transformasi, yang terdiri dari tahap inisiasi, promosi, dan progresi. Pada tahap inisiasi terjadi suatu perubahan dalam bahan genetik sel yang memancing sel menjadi malignansi. Perubahan dalam bahan genetik sel ini disebabkan oleh suatu gen disebut karsinogen, yang bisa berupa bahan kimia, virus, radiasi (penyinaran) atau sinar matahari. Tetapi, tidak semua sel memiliki kepekaan yang sama terhadap suatu karsinogen. Karsinogen harus merupakan mutagen yang dapat menimbulkan mutasi pada gen. Apabila ditemukan suatu kesalahan, maka basa-basa DNA yang terlibat akan dipotong dan diperbaiki. Namun, kadang terjadi transkripsi dan tidak terdeteksi oleh enzim-enzim pengoreksi. Pada keadaan tersebut, akan timbul satu atau lebih protein regulator yang akan mengenali kesalahan tersebut dan menghentikan sel di titik tersebut dari proses pembelahan. Pada titik ini, kesalahan DNA dapat diperbaiki, atau sel tersebut akan diprogram untuk melakukan bunuh diri yang secara efektif menghambat pewarisan kesalahan sel-sel keturunan. Jika sel tersebut kembali lolos, maka kesalahan tersebut menjadi mutasi permanen dan akan bertahan di semua sel keturunan dan masuk ke tahap *irreversible* (Sukardja, 2000).

Pada tahap promosi, kelainan genetik dalam sel atau bahan lainnya yang disebut promotor, menyebabkan sel lebih rentan terhadap suatu karsinogen. Promotor adalah zat non-mutagen tetapi dapat menaikkan reaksi karsinogen dan tidak menimbulkan amplifikasi gen dan produksi *copy* multiple gen. Suatu sel yang telah mengalami inisiasi akan berubah menjadi

malignansi. Sel yang belum melewati tahap inisiasi tidak akan terpengaruh oleh promosi. Oleh karena itu, diperlukan beberapa faktor untuk terjadinya keganasan (gabungan dari sel yang peka dan suatu karsinogen) (Sukardja, 2000).

Pada tahap progresi, terjadi aktivasi, mutasi, atau hilangnya gen. Pada progresi ini timbul perubahan benigna menjadi pra-maligna dan maligna (Sukardja, 2000).

2.1.3 Stadium Kanker Payudara

Penentuan stadium yang paling banyak dianut saat ini ialah sistem TNM yang direkomendasikan oleh UICC/AJCC. UICC adalah *International Union Against Cancer* dari WHO. Tiga indikator utamanya ialah "T" yaitu *tumorsize* atau ukuran tumor, "N" yaitu *Node* atau kelenjar getah bening regional dan "M" yaitu metastasis atau penyebaran jauh. Penilaian dilakukan sebelum dan sesudah operasi, serta melalui pemeriksaan histopatologi (PA):

a. T (*Tumor size*), ukuran tumor:

- T0: tidak ditemukan tumor primer
- T1: ukuran tumor diameter 2 cm atau kurang
- T2: ukuran tumor diameter antara 2-5 cm
- T3: ukuran tumor diameter > 5 cm
- T4: ukuran tumor berapa saja, tetapi sudah ada penyebaran ke

kulit dan atau dinding dada, dapat berupa borok, bengkak, kulit payudara kemerahan atau ada benjolan kecil di kulit di luar tumor utama.

b. N (*Node*), kelenjar getah bening regional (kgb):

- N0: tidak terdapat metastasis pada kgb regional di ketiak/aksilla
- N1: ada metastasis ke kgb aksilla yang masih dapat digerakkan

- N2: ada metastasis ke kgb aksilla yang sulit digerakkan
- N3: ada metastasis ke kgb di atas tulang selangka

(supraklavikula) atau pada kgb *dimammry interna* di dekat tulang sternum

c. M (Metastasis), penyebaran jauh:

- Mx: metastasis jauh belum dapat dinilai
- M0: tidak terdapat metastasis jauh
- M1: terdapat metastasis jauh

Setelah masing-masing faktor T, N, M didapatkan, ketiga faktor tersebut kemudian digabung dan didapatkan stadium kanker:

- Stadium 0: T0 N0 M0
- Stadium 1 : T1 N0 M0
- Stadium IIA : T0 N1 M0/ T1 N1 M0/T2 N0 M0
- Stadium IIB : T2 N1 M0/ T3 N0 M0
- Stadium IIIA : T0 N2 M0/ T1 N2 M0/T2 N2 M0/T3 N1 M0/T2 N2 M0
- Stadium IIIB : T4 N0 M0/T4 N1 M0/T4 N2 M0
- Stadium IIIC : Tiap T N3 M0
- Stadium IV : Tiap T-Tiap N –M1 (Heriadi, 2009)

2.1.4 Komplikasi Kanker Payudara

Ada beberapa komplikasi dari kanker payudara, yaitu terjadinya gangguan neurovaskuler, fraktur patologi, dan fibrosis payudara. Akan tetapi, komplikasi yang paling serius dari kanker payudara adalah metastase atau penyebaran dari sel kanker ke jaringan tubuh yang lain, bisa melalui pembuluh darah maupun limfatik. Kebanyakan sel kanker payudara bermetastase ke otak, paru-paru, hati, tulang, dan kulit. Bila sel kanker

sudah menyebar ke bagian tubuh yang lain, maka peluang untuk sembuh sangat kecil, bahkan bisa menyebabkan kematian (Sjamsuhidayat, 2004).

2.2 Sel MCF-7

Sel MCF-7 merupakan salah satu model sel kanker payudara yang banyak digunakan dalam penelitian. Sel ini pertama kali diisolasi pada tahun 1970, diperoleh dari jaringan epitel payudara dengan titik metastasis *pleural effusion breast adenocarcinoma* seorang wanita Kaukasian berumur 69 tahun bergolongan darah O dengan RH positif. Akronim dari MCF-7 yaitu *Michigan Cancer Foundation-7*.

Karakteristik sel ini antara lain resisten terhadap agen kemoterapi, mengekspresikan reseptor estrogen (ER+), ekspresi berlebih Bcl-2, dan tidak mengekspresikan caspase-3. Sel MCF-7 merupakan *cell line adherent*, yang akan tumbuh melekat. Sel ini dapat ditumbuhkan pada media mengandung RPMI (*Roswell Park Memorial Institute Medium*) atau DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*), FBS (*Fetal Bovine Serum*), dan antibiotik antimikotik.

2.3 Kultur Sel

Kultur sel telah banyak digunakan dalam berbagai aplikasi ilmiah saat ini, seperti genetika, biologi molekuler, dan teknik kultur jaringan. Kultur sel dimulai pertama kali pada abad ke-20 sebagai pembelajaran tingkah laku sel hewan yang bebas dari sistem variasi yang mungkin meningkat secara *in vivo* selama homeostasis normal dan dibawah tekanan dari sebuah percobaan (Freshney 2005). Kultur sel merupakan pertumbuhan sel yang dikembangkan secara *in vitro* dengan lingkungan yang disesuaikan seperti dalam tubuh manusia atau hewan. Teknik *in vitro* ini dapat digunakan

dalam regulasi kandungan spesifik pada konsentrasi, waktu terpapar, dan tingkat metabolisme (Freshney 2005).

Keuntungan kultur sel dalam pengujian sitotoksik obat adalah karakteristik sel yang digunakan homogen, lingkungan hidup kimia fisika (pH, suhu, tekanan osmotik, CO₂, dan O₂) dapat dikontrol, serta biaya lebih ekonomis (Freshney 2005). Keterbatasan dalam kultur sel yaitu diperlukan teknik aseptik dalam menangani kultur sel, serta dibutuhkan keterampilan dan pemahaman yang mendalam bagi peneliti untuk menganalisis permasalahan yang terjadi dalam kultur sel. Sel yang dikultur dapat terdiferensiasi, sel akan kehilangan sifat fenotip dari sel yang diisolasi, serta sel mengalami ketidakstabilan menyebabkan heterogenitas dalam pertumbuhan dan terjadi variasi ketika sel disubkultur.

Sel yang digunakan dalam kultur berasal dari jaringan asli yang ditransformasi dalam laboratorium. Sel asli yang diambil dari jaringan atau organ merupakan sel primer. Sel primer adalah sel normal yang diambil dari jaringan normal, bukan jaringan tumor. Sel primer akan ditransformasi menjadi sel tumor yang dibutuhkan untuk percobaan dengan beberapa cara, diantaranya dipaparkan dengan karsinogen kimia, radiasi ion, serta dengan transfeksi retrovirus atau DNA virus tumor. Transformasi sel primer dapat juga terjadi secara spontan. Sel primer memiliki waktu hidup yang terbatas dan mungkin menunjukkan beberapa karakteristik seperti penurunan protein dan sintesis DNA. Sel yang ditransformasi terkadang memiliki waktu hidup yang tak terbatas disebut dengan *immortal cell* atau *countinous cell*. Waktu hidup sel yang tidak terbatas membuat sel akan

terus-menerus membelah, serta proses tersebut membuat sel secara terus-menerus dapat dikultur.

Teknik aseptik dalam kultur sel sangat dibutuhkan untuk mengurangi kontaminan, serta untuk melindungi kultur sel dan pekerja. Adanya mikroorganisme seperti bakteri ataupun jamur yang berada di dalam kultur sel dapat menghambat pertumbuhan kultur sel. Penggunaan *laminar flow cabinet* sangat penting dalam kultur sel, selain itu dibutuhkan alat-alat dan media yang steril. Alat-alat yang digunakan dalam kultur sel disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 20 menit. Selain itu, untuk menjaga lingkungan kultur sel, *laminar flow cabinet* dibersihkan terlebih dahulu sebelum digunakan dengan menggunakan alkohol 70%, serta lingkungan disekitar kultur sel dijaga dengan bunsen.

2.4 Siklus Sel

Adanya stimulus eksternal seperti *growth factor*, mengawali siklus sel. *Growth factor* tersebut memasuki G1, satu sel akan mengalami replikasi sampai akhir G1 kemudian *growth factor* akan menetap menjadi *growth factor induced signal* atau menjadi *growth factor inhibitor* seperti TGF- β . Mitogen dan *growth factor* menginduksi sel untuk memasuki siklus sel melalui kontrol point G1 *restriction point* (Kumar, 2007).

Selanjutnya proses pembelahan sel akan diteruskan melalui tahapan yang disebut siklus sel. Tahapan-tahapan dalam siklus sel antara lain G1 (*presynthetic*) yaitu sel menyiapkan diri untuk sintesis DNA dan biosintesis RNA dan protein. Selanjutnya adalah fase S (DNA Synthesis) yaitu replikasi DNA dan sintesa histone, pada fase akhir DNA mengandung sel ganda dan replikasi kromosom. Kemudian fase G2 (*premitotic*) yaitu sel

menyiapkan diri untuk membelah, replikasi kompleks DNA dengan protein dan biosintesis. Dilanjutkan dengan fase M yaitu saat pembelahan inti dan sitoplasma menjadi 2 sel (Kumar, 2007).

Sel keluar masuk ke dalam siklus sel dikontrol oleh perubahan tingkatan dan aktivitas protein yang disebut *cyclins*. Protein yang berhubungan dengan siklus sel yaitu *cyclins dependent kinase* (CDKs) dan *Cyclin-dependent kinase inhibitor* (CKIs). Cyclins tersebut sangat penting untuk signal transduksi dan koordinasi pada tiap tahapan siklus sel. Sintesis dan degradasi dari CDKs diatur oleh ikatan CDK inhibitors. Adanya checkpoints (G1→S dan G2→M) penting untuk pengaturan dalam siklus sel dimana menahan siklus sel bila terjadi kerusakan DNA supaya tidak terjadi replikasi (Macdonal, 2005).

Checkpoint juga berfungsi untuk merespon sel terhadap kerusakan DNA, proses ini sangat penting untuk menjaga integritas sel/genom. Terdapat beberapa *checkpoints* dalam siklus sel, yaitu: G1 *checkpoint* untuk pada fase S, G2 *checkpoint* menahan siklus sel sebagai respon kerusakan DNA yang tidak replikasi selama fase S, dan M *checkpoint* untuk menginaktifkan *chromosomal segregation* sebagai respon dari *misalignment* pada mitosis sel.

Adapun komponen dari *checkpoint* adalah protein yang beraksi sebagai sensor kerusakan DNA, *signal transducer* atau *effector*. Gangguan dari fungsi checkpoint akan mengakibatkan mutasi yang dapat menginduksi karsinogenesis (Macdonal, 2005).

2.4.1 Mekanisme Proliferasi Sel

Sel baru yang terbentuk di dalam jaringan ditentukan oleh kecepatan proliferasinya. Peningkatan jumlah sel dalam populasi tertentu dapat terjadi karena peningkatan proliferasi. Sedangkan yang lainnya dikarenakan penurunan apoptosis atau diferensiasi sel (Pecorico, 2005).

Diferensiasi sel pada fase G₀ (*resting/istirahat*) memungkinkan berproliferasi bila diperlukan, bila terjadi stimulasi akan terjadi proliferasi dengan memasuki siklus G₁. Ada beberapa faktor yang menstimulasi proliferasi sel antara lain, faktor pertumbuhan intrinsik, jejas, kematian dan kerusakan sel, mediator biokimiawi dari lingkungan (Pecorico, 2005).

Stimulus yang berlebihan akan menyebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkendali atau terjadinya kanker. Penginduksian pertumbuhan sel dihubungkan dengan pemendekan siklus sel pada fase G₀ sampai sel memasuki siklus sel. Pada fase G₀ sampai memasuki siklus sel terdapat penghambatan fisiologis untuk terjadinya proliferasi sel. Pertumbuhan sel dapat dicapai dengan memperpendek atau memperpanjang siklus sel. (Pecorico, 2005).

2.5 Tumbuhan Suket Gajahan (*Artemisia vulgaris*)

2.5.1 Klasifikasi Tumbuhan Suket Gajahan

Kingdom: Plantae

Super Divisi: Spermatophyta

Divisi: Magnoliophyta

Kelas: Magnoliopsida

Sub Kelas: Asteridae

Ordo: Asterales

Famili: Asteraceae

Genus: Artemisia

Spesies: *Artemisia vulgaris* (Iqbal, 2011).

2.5.2 Morfologi dan Habitat Tumbuhan *Artemisia Vulgaris*



Gambar 2.1 Suket Gajahan

Tumbuhan suket gajahan merupakan tumbuhan liar yang tumbuh di lapangan terbuka. Tanaman ini tersebar luas di seluruh dunia yang terdiri dari lebih 800 spesies, dengan ketinggian 50–150 cm, berwarna hijau dan berbunga. Daun tumbuhan suket gajahan (*Artemisia vulgaris* L.) berdasarkan laporan penelitian sebelumnya mengandung senyawa saponin, flavonoida, polifenol. Di pulau Sumatera tumbuhan ini disebut tumbuhan Baru Cina, dan di Maluku disebut Kolo. Tumbuhan ini dikenal tidak hanya sebagai tanaman yang bisa di makan, kebanyakan sebagai bumbu dan sebagai sumber obat–obatan tradisional (Judzientienedan Buzelyte, 2006).

2.6 Karakteristik Fitokimia *Artemisia v.* dan Biomekanisme Eupatilin

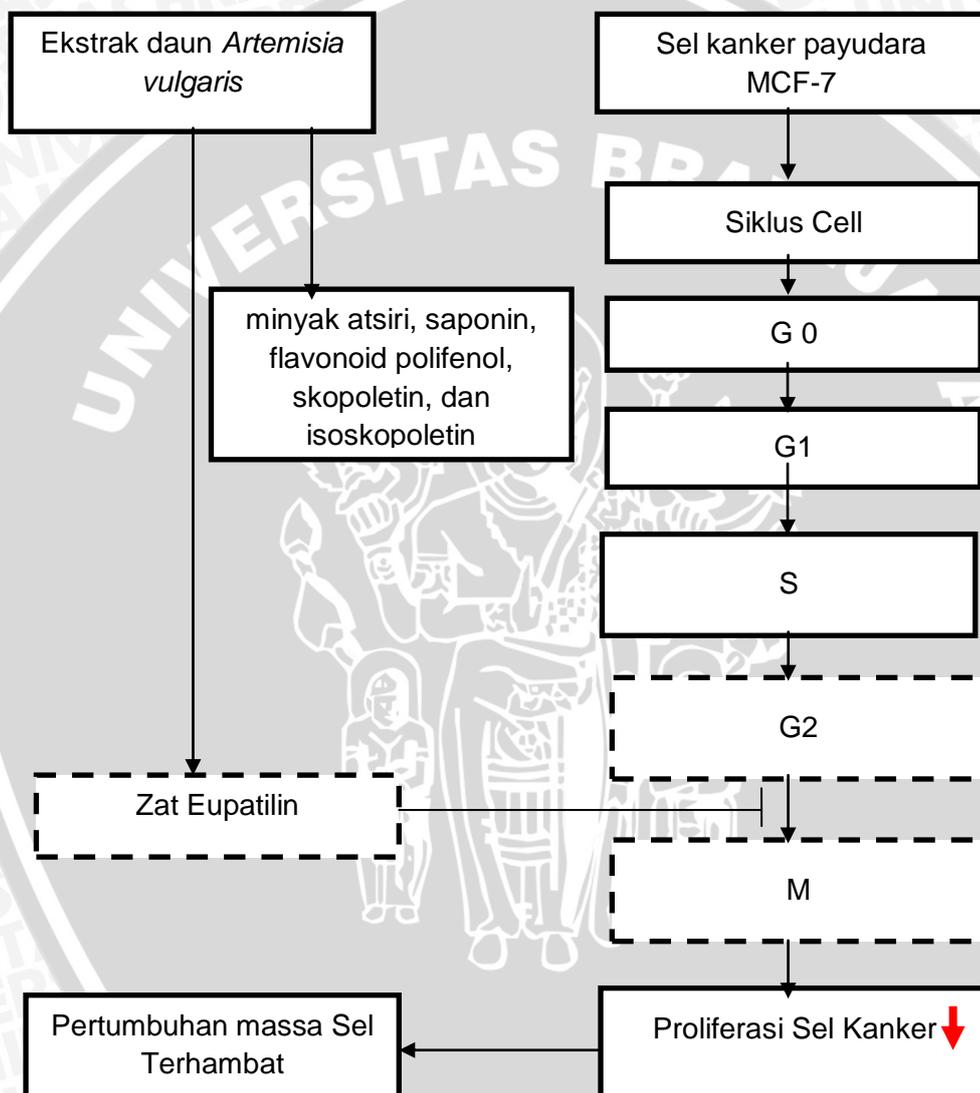
Minyak menguap (*Phellandrene, cadinene, thujvl alkohol*), *alfa-amirin, fernenol, dehydromatricaria ester, cineole, Terpinen-4-ol, beta-karyophyllene, 1-quebrachitol*). Akar dan batang mengandung Inulin (mengandung artemose), cabang kecil: Oxytocin, yomogi alcohol, dan ridentin. Daun mengandung skopoletin dan isoskopoletin (Iqbal M, 2011).

Selain itu daun *Artemisia vulgaris* juga mengandung 2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5,7-dihydroxy-6-methoxychromen-4-one atau bisa disebut eupatilin. Menurut penelitian terdahulu, terdapat zat eupatilin rata-rata sebesar 43,8 mg per 100g daun dari genus *Artemisia* (Ryu S, 2008). Zat aktif Eupatilin dapat menghambat proliferasi sel kanker melalui mekanisme penghambatan fase G2/M pada siklus sel. Dengan dihambatnya fase tersebut, maka pertumbuhan sel kanker yang tidak terkontrol diharapkan tidak akan terjadi (Kim *et al.*, 2005).

BAB III

KERANGKA PIKIR DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Pikir



Keterangan :

- : tidak diteliti
- : diteliti
- ↓ : menurun
- : menghambat
- : menyebabkan



Tumbuhan suket gajahan merupakan tumbuhan liar yang tumbuh di lapangan terbuka. Tanaman ini tersebar luas di seluruh dunia yang terdiri dari lebih 800 spesis, dengan ketinggian 50–150 cm, berwarna hijau dan berbunga. Daun tumbuhan suket gajahan (*Artemisia vulgaris* L.) berdasarkan laporan penelitian sebelumnya mengandung senyawa saponin, flavonoida, polifenol, eupatilin. Didalam ekstrak daun *Artemisia vulgaris* terdapat kandungan zat eupatilin. Menurut penelitian terdahulu, zat eupatilin mampu menghambat proliferasi sel kanker melalui mekanisme *G2/M phase cell cycle arrest*. Dengan dihambatnya fase tersebut, maka pertumbuhan massa sel kanker yang tidak terkontrol diharapkan tidak terjadi.

3.2 Hipotesis

Ekstrak daun suket gajahan (*Artemisia vulgaris*) dapat menghambat proliferasi sel kanker MCF-7.



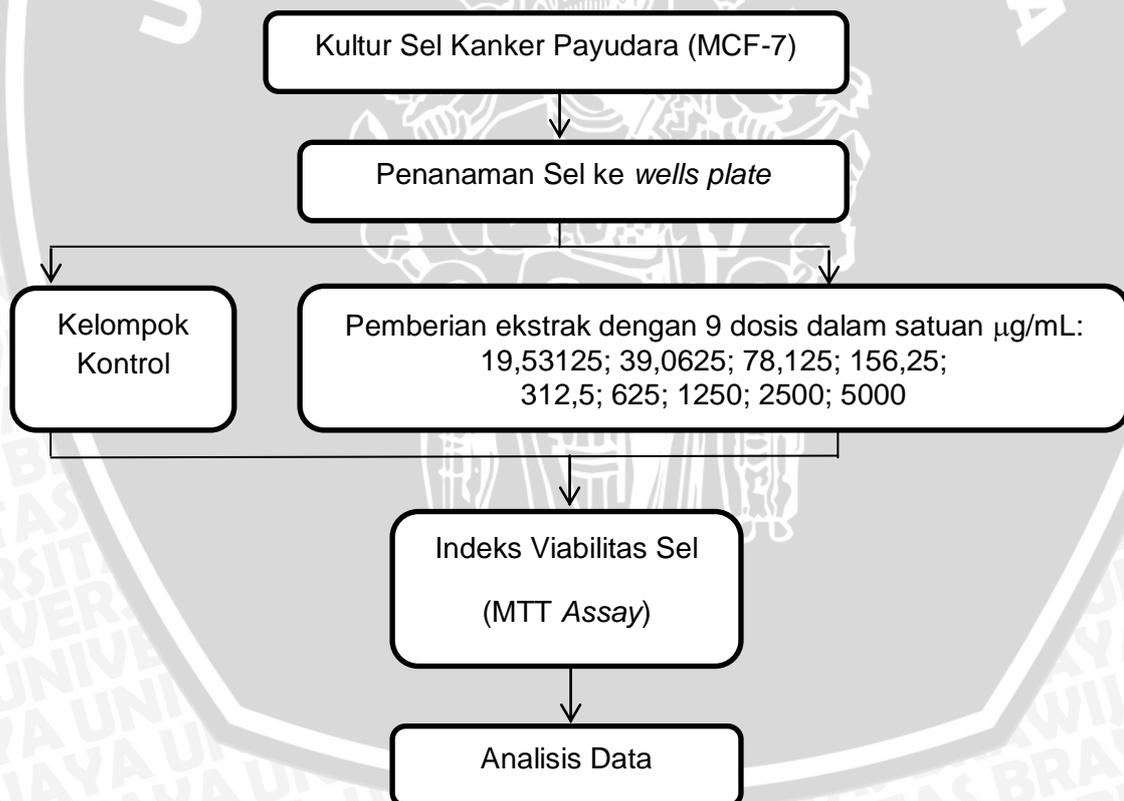
BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni (*true experimental*) yang dikerjakan di laboratorium secara *in vitro* dengan menggunakan rancangan percobaan *Randomized Group Post Test Only Design*.

Skema Penelitian



4.2 Populasi dan Sampel

Sampel penelitian adalah sel kanker payudara manusia dari kultur sel kanker payudara MCF7 *cell line*. Perhitungan besarnya pengulangan adalah:

$$(t-1) (r-1) \geq 15$$

Keterangan:

t = jumlah perlakuan

r = jumlah ulangan (Hanafiah, 2005)

Pada penelitian ini t = 10 sehingga jumlah pengulangan adalah:

$$(10-1) (r-1) \geq 15$$

$$r-1 \geq 15:9$$

$$r = 1,67 + 1 = 2,67 \quad (\text{Dibulatkan menjadi } 3)$$

Penelitian ini dilakukan sebanyak 3 pengulangan

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak kasar (tanpa proses isolasi) etanol daun *Artemisia vulgaris* pada dosis 19,53125 μ g/mL; 39,0625 μ g/mL; 78,125 μ g/mL; 156,25 μ g/mL; 312,5 μ g/mL; 625 μ g/mL; 1250 μ g/mL; 2500 μ g/mL; 5000 μ g/mL.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah proliferasi sel melalui viabilitas sel yang terlihat pada MTT ((3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay).

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan LPPT Jogja

4.5 Bahan dan Alat

4.5.1 Bahan

A. Bahan untuk kultur sel kanker payudara (MCF7 *cell line*)

Sel kanker payudara (MCF-7 *cell line*) diperoleh dari Laboratorium Biomedik FKUB, RPMI Penisilin-Streptomisin, FBS (*Fetal Bovine Serum*), L-*Glutamine*, Natrium bikarbonat, HCl, Tripsin-EDTA.

B. Bahan untuk ekstraksi daun *Artemisia vulgaris*

Daun *Artemisia vulgaris* diperoleh dari Unit Pelaksana Teknis (UPT) Materia Medika Batu, Malang, Jawa Timur.

4.5.2 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah sebagai berikut :

A. Peralatan kultur sel kanker payudara (MCF-7 *cell line*)

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Laminar air flow • autoclave • flask kultur • sentrifus dan alat vortex • mikropipet • shaker • beacker glass • eppendorf • disposable pipet • sumuran (well culture) • cover glass | <ul style="list-style-type: none"> • stirermagnetik • timer • inkubator • spuit • membrane filter 0,2m • falcon • blue tip • white tip • yellow tip • neraca analitik • Mikroskop inverted |
|---|---|

B. Peralatan ekstraksi

<ul style="list-style-type: none">• Satu set evaporator• Mortar• Labu destilasi• Gelas ekstraksi 250 ml• Neraca analitik• Pendingin spiral	<ul style="list-style-type: none">• Bak• Water bath• Sumberlistrik• Metanol• Aquades• Selang plastik
---	---

C. Peralatan pengukuran apoptosis dan proliferasi sel kanker payudara

Untuk pengukuran proliferasi menggunakan MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) Assay kit.

4.6 Definisi Operasional

A. Viabilitas sel adalah kemampuan sel untuk bertahan hidup, berkembang dan berproliferasi. Pada penelitian ini, viabilitas sel diukur dengan MTT assay, yaitu uji *colorimetric* standar yang mengukur perubahan warna untuk mengukur pertumbuhan sel. MTT adalah senyawa yang berubah menjadi ungu di dalam mitokondria hidup. Reduksi hanya terjadi apabila enzim reduktase yang diproduksi mitokondrial aktif, sehingga perubahan tersebut berkaitan dengan sel hidup.

B. Sel MCF-7 merupakan salah satu model sel kanker payudara yang banyak digunakan dalam penelitian. Sel ini pertama kali diisolasi pada tahun 1970, diperoleh dari jaringan epitel payudara dengan titik metastasis *pleural effusion breast adenocarcinoma* seorang wanita

Kaukasian berumur 69 tahun bergolongan darah O dengan RH positif.

Akronim dari MCF-7 yaitu Michigan Cancer Foundation-7.

Karakteristik sel ini antara lain resisten terhadap agen kemoterapi, mengekspresikan reseptor estrogen (ER+), ekspresi berlebih Bcl-2, dan tidak mengekspresikan caspase-3. Sel MCF-7 merupakan *cell line adherent*, yang akan tumbuh melekat. Sel ini dapat ditumbuhkan pada media mengandung RPMI (*Roswell Park Memorial Institute Medium*) atau DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*), FBS (*Fetal Bovine Serum*), dan antibiotik antimikotik.

C. Suket gajahan yang dipakai adalah jenis *Artemisia vulgaris*. Suket gajahan dideterminasi dan diperoleh dari Unit Pelaksana Teknis (UPT) Materia Medika Batu, Jawa Timur. Selanjutnya suket gajahan ini diekstrak dengan pelarut etanol.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1.1 Cell Thawing

1. Persiapkan DMEM, yaitu 3 ml medium dalam conical tube
2. Ambil *cryo tube* berisi sel dari freezer
3. Cairkan suspensi dalam suhu ruangan hingga mencair
4. Ambil suspensi dengan mikropipet 1 ml dan masukan ke dalam medium
5. Tutup conical tube dan sentrifugasi selama 5 menit
6. Semprot conical tube dengan alkohol
7. Tambahkan 4ml medium baru, resuspensi hingga homogen.

4.7.1.2 Kultur Sel Kanker Payudara MCF-7 (Johansson *et al.*, 2009):

- A. Sel MCF-7 dipanen dengan Tripsin-EDTA

- B. Sel MCF-7 di-sentrifuge 1500 rpm selama 8 menit
- C. Supernatan dibuang, kemudian pelet diresuspensi dengan medium kultur (RPMI) yang sudah ditambahkan serum
- D. Sel ditanam pada *well* dan diinkubasi 37°C, 95 % udara, 5 % CO₂, 100% kelembaban selama 3 hari

4.7.2 Proses Ekstraksi daun *Artemisia vulgaris*

4.7.2.1 Proses Ekstraksi

1. Daun suket gajahan dicuci lalu dikeringkan
2. Lalu dihaluskan dengan diblender.
3. Ditimbang 100 gram dengan timbangan analitik.
4. Bungkus daun suket gajahan yang telah halus dengan menggunakan kertas saring.
5. Rendam dalam ethanol dan inapkan semalam (\pm 12 jam).
6. Kemudian diteteskan pada beaker glass 20x/menit.
7. Tambahkan ethanol lagi sampai air ekstrak jernih.
8. Hasil siap dievaporasi.

4.7.2.2 Proses Evaporasi

1. Pasang evaporator pada tiang permanen agar dapat digantung dengan kemiringan 30-40° terhadap meja.
2. Hasil ekstraksi dimasukkan dalam labu ekstraksi.
3. Satu set alat evaporasi diletakkan sedemikian rupa sehingga sebagian labu ekstraksi terendam aquades pada *water bath*.
4. *Water bath* dihubungkan dengan sumber listrik dan dinaikkan suhunya sampai 70° C (sesuai dengan titik didih etanol).

5. Ditunggu proses berjalan (pengembunan dan pemisahan di pendingin) sampai hasil evaporasi tersisa dalam labu ekstraksi.

4.7.2 Metode MTT Assay

1. Siapkan sel 20.000 sel pada 100 uL media tiap sumuran dalam suatu 96 piringan sumur.
2. Inkubasi (37C, 5% CO₂) 24 jam untuk mendapatkan pertumbuhan yang baik
3. Medium diganti dengan yang baru
4. Tambahkan 100uL ekstrak daun sukut gajahan terlarut berbagai dosis pada tiap-tiap sumuran. Tempatkan pada meja kocok, 150 rpm selama 5 menit supaya tercampur ke media seluruhnya
5. Inkubasi (37C, 5% CO₂) selama 24 jam sehingga obat memberikan efek
6. Pada akhir inkubasi, media dan ekstrak dibuang kemudian sel dicuci dengan PBS
7. Pada masing-masing sumuran, ditambahkan 100 uL media kultur dan 10 uL dari 5 mg/mL MTT (Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide) pada masing-masing sumuran. Tempatkan pada mejak kocok, 150 rpm selama 5 menit supaya MTT tercampur ke media seluruhnya
8. Inkubasi (37C, 5% CO₂) selama 4 jam sehingga MTT termetabolisme sampai berwarna ungu
9. Keluarkan media (keringkan dengan tissue untuk menghilangkan residu bila penting)

10. Tambahkan 100 uL pelarut MTT. Tempatkan pada meja kocok, 150 rpm selama 5 menit supaya tercampur ke media seluruhnya
11. Simpan pada temperature ruangan di tempat gelap selama 4 jam
12. Baca melalui ELISA reader atau rekam absorbansi pada 550 nm.
13. Analisis data

4.8 Jadwal Kegiatan

No	Kegiatan	Bulan 1				Bulan 2				Bulan 3				
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
Tahap Persiapan														
1.	Mengurus ethical clearance penelitian	■												
2.	Mengurus perijinan laboratorium													
3.	Belanja alat dan bahan penelitian		■	■										
Tahap Pelaksanaan														
1.	Ekstraksi Daun Artemisia vulgaris				■									
2.	Kultur sel kanker payudara (MCF-7)					■	■							
3.	Pengukuran viabilitas sel(proliferasi)							■	■	■				
4.	Analisis data													
Tahap Penyelesaian														
1.	Penyusunan laporan akhir												■	

4.8 Analisis Data

Data indeks jumlah viabilitas sel dilakukan uji normalitas. dan dilakukan uji normalitas data dan uji varian. Bila sebaran data normal dan varian data sama, uji hipotesis *one way anova*. Jika tidak sama, digunakan *Kruskal Wallis*. Setelah itu dilakukan uji korelasi *Spearman*. Penelitian ini bermakna bila nilai $p <$

0,05 (Hanafiah, 2005). Seluruh teknis pengolahan data dianalisis secara komputerisasi dengan menggunakan *Software Statistical Product and Service Solution* (SPSS) seri 17.



BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

Pada penelitian ini, menggunakan sampel sel kanker payudara MCF-7 yang telah dibekukan dan disimpan dalam inkubator di LPPT Jogja. Karena MCF-7 dalam keadaan beku, Thawing sel dilakukan lebih dahulu. Kemudian MCF-7 disubkultur hingga beberapa kali agar mendapatkan jumlah sel yang diperkirakan cukup untuk melakukan penelitian. Sel kanker kemudian ditanam dalam 96 well plate dan dilakukan MTT assay. Penelitian ini didapatkan data hasil penelitian, untuk masing-masing kelompok kontrol dan perlakuan. Penelitian ini terdiri dari kelompok kontrol tanpa pemberian ekstrak daun suket gajahan dan kelompok perlakuan dengan sembilan dosis berbeda dari ekstrak daun suket gajahan selama 24 jam yaitu:

1. 19,53125 $\mu\text{g/ml}$
2. 39,0625 $\mu\text{g/ml}$
3. 78,125 $\mu\text{g/ml}$
4. 156,25 $\mu\text{g/ml}$
5. 312,5 $\mu\text{g/ml}$
6. 625 $\mu\text{g/ml}$
7. 1250 $\mu\text{g/ml}$
8. 2500 $\mu\text{g/ml}$
9. 5000 $\mu\text{g/ml}$

Penentuan dosis memakai seri dosis dengan rentang dosis yang lebar karena belum ada penelitian yang menggunakan daun suket gajahan (*Artemisia vulgaris*) terhadap sel kanker payudara MCF-7. Data hasil pengamatan pada kelompok kontrol dan sembilan kelompok uji yang masing-masing diberikan ekstrak etanol daun suket gajahan dapat dilihat pada tabel induk (lampiran 1).

5.1.1 Hasil Viabilitas Sel

Pengukuran viabilitas sel dilakukan ke seluruh kelompok dengan menggunakan ELISA *reader*. Hasil pengukuran rata-rata viabilitas sel pada masing-masing kelompok ditampilkan pada tabel 1. Gambaran mikroskop pada sel MCF-7 ditampilkan pada gambar 5.2.

Tabel 1. Hasil perhitungan dan statistika rata-rata viabilitas sel pada sel MCF-7.

Dosis	Mean	SD
Kontrol	1,053	±0,024
19,53125	0,995	±0,038
39,0625	0,866	±0,052
78,125	0,848	±0,036
156,25	0,861	±0,019
312,5	0,601	±0,047
625	0,164	±0,006
1250	0,139	±0,002
2500	0,155	±0,003
5000	0,185	±0,002

Keterangan :

Dosis : konsentrasi ekstrak daun suket gajahan.

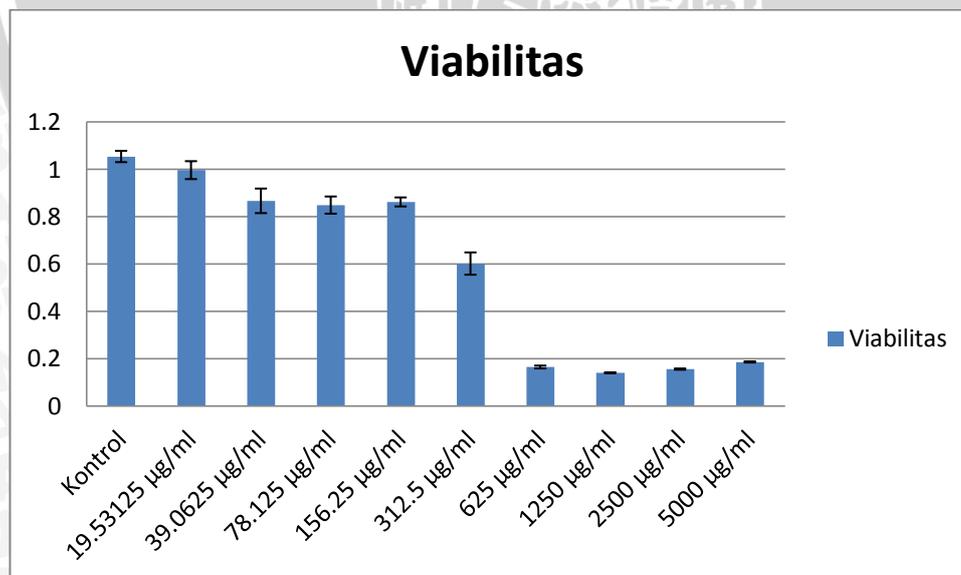
Mean : rata-rata dari persentase viabilitas sel dengan 3 kali pengulangan.

SD : *Standard Deviation*

Perhitungan viabilitas sel memberikan hasil :

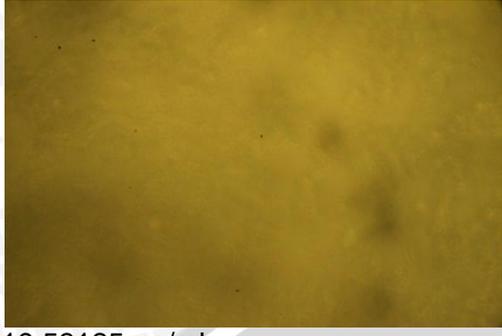
1. Pada kelompok kontrol diperoleh viabilitas sel rata-rata sebesar 1,053
2. Pada kelompok uji dosis 19,53125 $\mu\text{g/ml}$, sebesar 0,995
3. Pada kelompok uji dosis 39,0625 $\mu\text{g/ml}$, sebesar 0,866
4. Pada kelompok uji dosis 78,125 $\mu\text{g/ml}$, sebesar 0,848
5. Pada kelompok uji dosis 156,25 $\mu\text{g/ml}$, sebesar 0,861
6. Pada kelompok uji dosis 312,5 $\mu\text{g/ml}$, sebesar 0,601
7. Pada kelompok uji dosis 625 $\mu\text{g/ml}$, sebesar 0,164
8. Pada kelompok uji dosis 1250 $\mu\text{g/ml}$, sebesar 0,139
9. Pada kelompok uji dosis 2500 $\mu\text{g/ml}$, sebesar 0,155
10. Pada kelompok uji dosis 5000 $\mu\text{g/ml}$, sebesar 0,185

Perbedaan rata-rata viabilitas sel kanker payudara MCF-7 secara keseluruhan pada setiap perlakuan juga dapat digambarkan dalam bentuk grafik berikut:

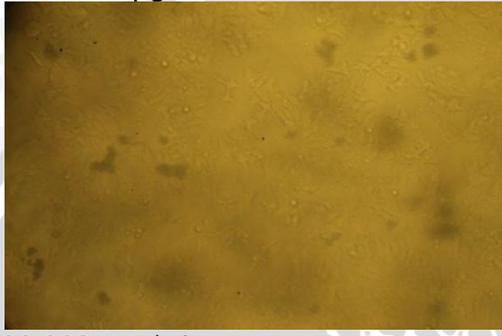


Gambar 5.1 Grafik rata-rata indeks viabilitas pada sel kanker payudara MCF-7

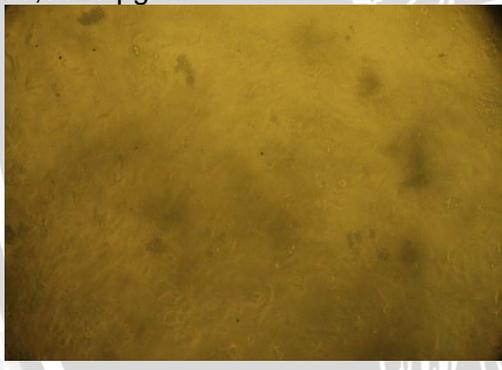
Kontrol



19,53125 µg/ml



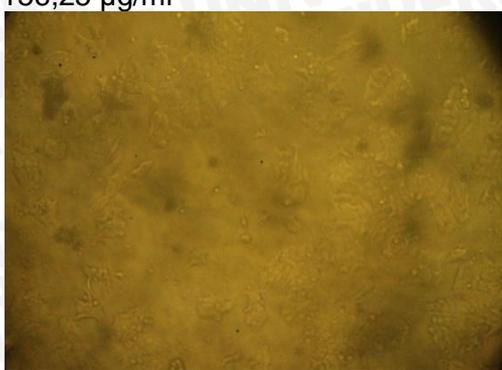
39,0625 µg/ml



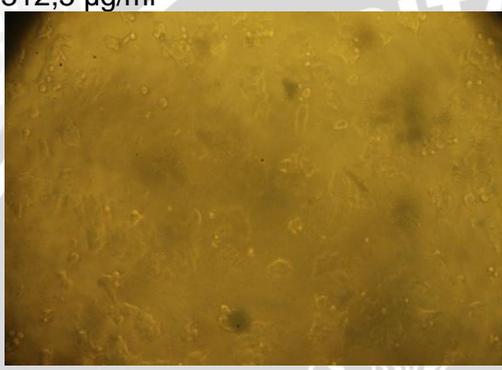
78,125 µg/ml



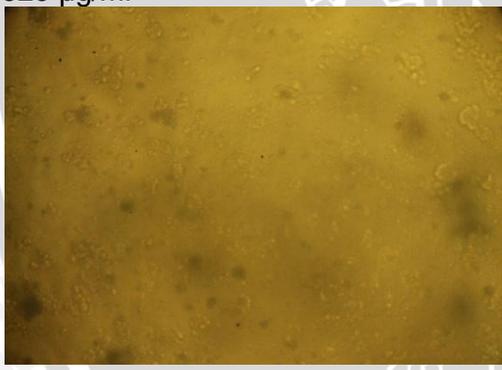
156,25 µg/ml



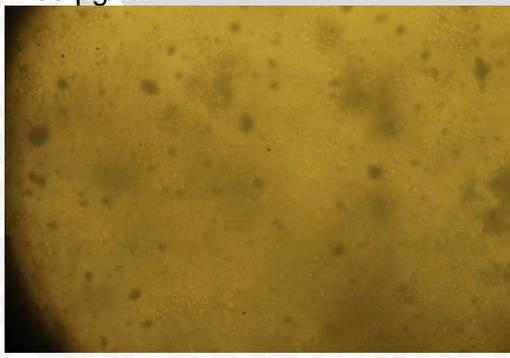
312,5 µg/ml



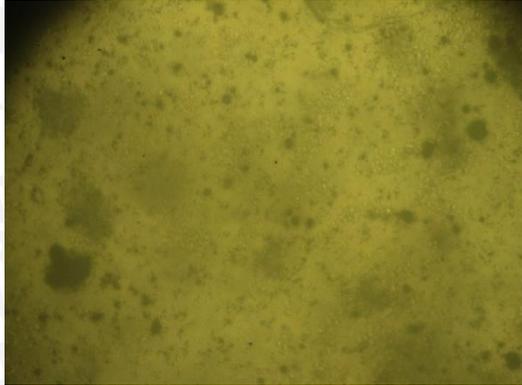
625 µg/ml



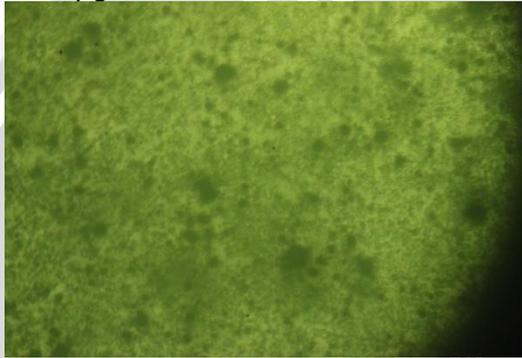
1250 µg/ml



2500 µg/ml



5000 µg/ml



Gambar 5.2 Gambar Morfologi Sel Kanker Payudara MCF-7 dengan dan Tanpa Ekstrak

5.2 Analisis Data

5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas Data

Dalam perhitungan hasil penelitian ini digunakan batas kepercayaan 95%. Uji statistik data menggunakan One-way ANOVA karena dalam penelitian ini data yang digunakan bersifat rasio serta memiliki satu variabel dependen dan satu variabel independen dengan beberapa kelompok berbeda (dosis ekstrak daun sukut gajah).

Uji normalitas data viabilitas sel dengan uji Saphiro-Wilk, dan menunjukkan bahwa data terdistribusi normal (lampiran 2). Sedangkan uji homogenitas varian menunjukkan bahwa data tidak homogen. Oleh karena data menunjukkan data tidak homogen, maka dari itu perlu dilakukan transformasi data. Setelah melakukan transformasi data, data tetap tidak homogen, sehingga sebagai alternatif peneliti menggunakan uji Kruskal-wallis. Data ini dapat dilihat di tabel yang ada di lampiran 3.

5.2.2 Analisa Kruskal-Wallis

Karena setelah melakukan transformasi data, data tetap tidak homogeny, sehingga sebagai alternatif, peneliti, menggunakan uji Kruskal-wallis. Analisis yang dilakukan dengan uji Kruskal-wallis memberikan hasil $p = 0.001$ ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok uji sehingga dapat disimpulkan bahwa paling tidak terdapat perbedaan viabilitas sel yang signifikan antara dua kelompok.

5.2.3 Uji Korelasi

Untuk mengetahui besarnya hubungan dan pengaruh dari pemberian ekstrak daun sudamala terhadap viabilitas sel MCF-7, maka digunakan uji korelasi Spearman (lampiran 7). Berdasarkan hasil analisis tersebut dapat diketahui bahwa pada analisis korelasi diperoleh signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa korelasi antara pemberian ekstrak daun suket gajahan terhadap viabilitas sel pada sel kanker MCF-7 adalah bermakna. Nilai korelasi Spearman sebesar -0,904 menunjukkan bahwa arah korelasi positif dengan kekuatan korelasi yg sangat kuat sehingga semakin meningkat pemberian dosis ekstrak maka viabilitas sel pada sel MCF-7 cenderung menurun.

BAB VI

PEMBAHASAN

Kanker payudara atau *breast cancer* adalah *neoplasma* ganas yang berasal dari *parenchyma* payudara. Kanker ini merupakan *carcinoma* yang paling sering terjadi pada perempuan, dengan estimasi jumlah sekitar 22% dari seluruh kanker yang diderita oleh perempuan. Kanker payudara menjadi penyebab utama kematian perempuan oleh karena *carcinoma*.

Berdasarkan penggunaan daun suket gajahan sebagai antikanker secara empiris, maka dilakukan penelitian ini sebagai salah satu usaha untuk membuktikan kebenaran penggunaan (*evidence based*) daun suket gajahan sebagai anti kanker khususnya kanker payudara. Antiproliferatif adalah proses penting untuk menjaga homeostasis dari sel. Banyak obat kemoterapi pada sel kanker, yang mekanismenya menghambat viabilitas sel. Pada penelitian-penelitian sebelumnya, diketahui bahwa zat eupatilin mampu menghambat pertumbuhan dari sel kanker (Kim *et al.*, 2005b; Lee *et al.*, 2008). Eupatilin (5,7-dihydroxy-3',4', 6-trimethoxyflavone) adalah salah satu flavonoid. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa eupatilin mampu menghambat viabilitas sel pada sel kanker payudara MCF10A. Mekanisme pada penelitian tersebut menunjukkan bahwa zat eupatilin mampu menghambat proliferasi sel kanker melalui mekanisme *G2/M phase cell cycle arrest* (Shawi *et al.*, 2011).

Pada penelitian sebelumnya, zat eupatilin telah diteliti dan ada pada daun *Artemisia princeps* yang berasal dari beberapa tempat. Penelitian itu menjelaskan bahwa kandungan zat eupatilin yang ada pada daun tersebut rata-rata sekitar 43,8mg per 100g daun. Zat eupatilin bisa mungkin tidak ada atau sebanyak 228mg. Hal tersebut dikarenakan tumbuhan tersebut tumbuh di tempat yang berbeda sehingga memiliki variasi kandungan zat.

Berdasarkan hal tersebut, diduga bahwa daun suket gajahan yang mengandung zat eupatilin juga memiliki potensi untuk menurunkan viabilitas sel pada sel kanker payudara

MCF-7. Penelitian ini menggunakan dosis ekstrak etanol daun suket gajahan 9 dosis. Hasil pengamatan dengan ELISA *reader* menunjukkan bahwa ekstrak daun suket gajahan untuk menghambat viabilitas sel menunjukkan hasil yang sangat menarik. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa penurunan viabilitas sel bernilai signifikan ($p = 0,01$). Dari hasil analisis data dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan antara kontrol dengan dosis perlakuan. Dosis 312,5 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak memberikan perbedaan yang signifikan dibanding dengan kelompok lain.

Hal ini mungkin berkaitan dengan zat eupatilin yang terkandung dalam daun suket gajahan (*Artemisia vulgaris*) mampu menghambat proliferasi sel kanker melalui mekanisme *G2/M phase cell cycle arrest* (Shawi *et al.*, 2011). Pada penelitian sebelumnya, zat aktif Eupatilin juga dapat menghambat proliferasi sel kanker melalui mekanisme penghambatan siklus sel. Tahapan-tahapan dalam siklus sel antara lain G1 (*presynthetic*) yaitu sel menyiapkan diri untuk sintesis DNA dan biosintesis RNA dan protein. Selanjutnya adalah fase S (*DNA Synthesis*) yaitu replikasi DNA dan sintesis histon, pada fase akhir DNA mengandung sel ganda dan replikasi kromosom. Kemudian fase G2 (*premitotic*) yaitu sel menyiapkan diri untuk membelah, replikasi kompleks DNA dengan protein dan biosintesis. Dilanjutkan dengan fase M yaitu saat pembelahan inti dan sitoplasma menjadi 2 sel (Kumar, 2007). Eupatilin menghambat siklus sel melalui penghambatan fase G2/M pada siklus sel (Kim *et al.*, 2005). Dari hal tersebut dapat disimpulkan bahwa eupatilin menghambat siklus sel kanker MCF-7 melalui penghambatan fase G2/M. Menurut Kim DH *et al.* (2011) eupatilin menghasilkan peningkatan yang signifikan dalam ekspresi p21 sehingga mengalami *cell cycle arrest*. Menurut Jae HC *et al.* (2011) eupatilin secara signifikan mampu mengurangi VEGF sehingga menghambat proses angiogenesis.

Ekstrak daun suket gajahan adalah ekstrak yang menarik karena variasi aktivitas biologinya khususnya anti kankernya. Hal ini perlu diteliti lebih lanjut apakah penurunan viabilitas sel oleh ekstrak daun suket gajahan dikarenakan oleh eupatilin itu sendiri atau merupakan efek gabungan atau *multiple agents* yang terkandung didalamnya. Namun

penelitian lebih lanjut diperlukan apakah kematian pada sel kanker disebabkan oleh mekanisme anti proliferasi sel atau mekanisme lain seperti aktivitas apoptosis.

Dalam penelitian ini telah dapat diketahui bahwa penurunan viabilitas sel mulai meningkat sejak pemberian ekstrak daun sukut gajahan (*Artemisia vulgaris*) kadar 19,53125 µg/mL pada sel MCF-7. Namun masih belum diperoleh dosis optimal yang bila ditingkatkan tidak memberi efek lebih baik dan memiliki efek samping minimal.



BAB 7**PENUTUP****7.1 Kesimpulan**

1. Ekstrak daun sukut gajahan (*Artemisia vulgaris*) dapat menghambat proliferasi sel pada sel MCF-7.
2. Peningkatan dosis dari ekstrak daun sukut gajahan (*Artemisia vulgaris*) mampu menurunkan viabilitas sel pada sel MCF-7.

7.2 Saran

1. Perlu diteliti lebih lanjut apakah penurunan viabilitas sel pada sel MCF-7 oleh ekstrak daun sukut gajahan adalah dikarenakan eupatilin itu sendiri atau merupakan efek gabungan senyawa yang terkandung di dalamnya.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang mekanisme molekular yang berperan dalam penurunan viabilitas sel.

DAFTAR PUSTAKA

Bai M, Agnantis NJ, Kamina S, Demou A, Zagorianakou P, Katsaraki A, Kanavaros P. 2001. In Vivo Cell Kinetics in Breast Carcinogenesis. *Breast Cancer*. Vol. 3: 276 - 283

Bunrathep S., Songsak T., Ruangrunsi N. 2005. Terpenoid Constituents from Leaves and Cell Cultures of *Artemisia vulgaris* var. *Indica* And Application of Biotechnological Techniques to Increase Davanone Level. *Thai J. Pharm, Sci*. Vol.29, No.3: 147 – 153

Cho JH, Lee JG, Yang YI, Kim JH, Ahn JH, Baik NI, Lee KT, Choi JH. Eupatilin, a dietary flavonoid, induces G2/M cell cycle arrest in human endometrial cancer cells. *Food Chem Toxicol*. 2011 Aug;49(8):1737-44

Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI). 2009. *Aktivitas Fisik dan Diet Seimbang Mencegah Kanker*. Jakarta: Depkes RI

Eun-Ju Choi, Hyun-Mee Oha, Hyun Wee, Chang-Soo Choi, Suck-Chei Choi, Ki-Hoon Kim, Weon-Cheol Han, Tae-Young Oh, Sang-Hyun Kim, Chang-Duk Jun. Eupatilin exhibits a novel anti-tumor activity through the induction of cell cycle arrest and differentiation of gastric carcinoma AGS cells. E.-J. Choi et al. / *Differentiation* 77 (2009) 412–423

Hanafiah. 2005. *Statistik Kedokteran*. Jakarta: Bumi Cipta

Iqbal M. 2011. *Ensiklopedia Tanaman Anti Kanker Mungsi Arab Artemisia Vulgaris I*. (Online). (<http://ccrcfarmasiugm.wordpress.com/ensiklopedia/ensiklopedia-tanaman-anti-kanker/ensiklopedia-4-2/mungsi-arab-artemisia-vulgaris-i>, diakses tanggal 05 Oktober 2011)

Jae-Ho Cheong, Sung Yi Hong, Yanjun Zheng, and Sung Hoon Noh. Eupatilin Inhibits Gastric Cancer Cell Growth by Blocking STAT3-Mediated VEGF Expression. *J Gastric Cancer* 2011;11(1):16-22 DOI:10.5230/jgc.2011.11.1.16

Johansson D. 2009. Expression of Verotoxin-1 Receptor Bg3 in Breast Cancer Tissue and Verotoxin-1 Signal Transduction to Apoptosis. *Bmc Cancer*. 9: 6-7

Judzentiene A dan Buzelyte J. 2006. Chemical composition of essential oils of *Artemisia vulgaris* L. (mugwort) from North Lithuania. *Chemija T*. 17: 1,12–15

Kim DH. 2004. Eupatilin, a pharmacologically active flavone derived from *Artemisia* plants, induces cell cycle arrest in ras-transformed human mammary epithelial cells. *Biochem. Pharmacol*. 68(6): 1081-1087

Kim MJ. 2005. Eupatilin, a pharmacologically active flavone derived from *Artemisia* plants, induces apoptosis in human gastric cancer (AGS) cells. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol*. 24: 261-269

Macdonal F, Ford C.H.J., and Casson A.G. 2005. *Molecular biology of Cancer*, 2nd Ed

Pecorico L. 2005. *Molecular biology of cancer, mechanism, targets and therapeutics*. New york: Oxford university press inc: 4-9

Ryu S. 2008. Environment Variation of Available Component in Mugwort (*Artemisia princeps* Pamp.). *Korean Journal International Agricultural*. 20(1): 40-46

Ali Al Shawi, Azhar Rasul, Muhammad Khan, Furhan Iqbal and Ma Tonghui. 2011. Eupatilin: A flavonoid compound isolated from the *Artemisia* plant, induces apoptosis and G2/M phase cellcycle arrest in human melanoma A375 cells. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. Vol. 5: 582-588

Sjamsuhidayat. 2004. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Jakarta: EGC

Yang, Stephen C. (Ed.). 2011. *Early Diagnosis and Treatment of Cancer*. Philadelphia: `Sauders Elsevier

Tavassoli, Fattaneh A., and Peter Devilee (Eds.). 2011. *The WHO Classification: Pathology & Genetics, Tumours of the Breast and Female Genital Organs*. Lyon: IARCPress

LHS. 2009. Data WHO 2008: Epidemiologi Kanker di Dunia. (Online). (<http://www.kalbefarma.com/?mn=news&tipe=detail&detail=20027>, diakses tanggal 22 Desember 2011)

Jemal, Ahmedin et al. 2011. Global Cancer Statistics. CA: A Cancer Journal for Clinicians. 61: 69-90

Roses, Daniel F.. 2005. Breast Cancer, 2nd Ed. Philadelphia: Elsevier

Mc Pherson, K., C. M. Steel, and J. M. Dixon. 2000. ABC of Breast Disease: Breast Cancer-epidemiology, Risk Factor, and Genetics. British Medical Journal. 321: 624-628

Surat Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia nomor 796 tahun 2010 Tentang Pedoman Teknis Pengendalian Kanker Payudara dan Kanker Leher Rahim. 2010. Jakarta: Menteri Kesehatan.

Rovere, G. Querci Della, Ruth Warren, & John R. Benson. 2006. Early Breast Cancer, from Screening to Multidisciplinary Management: Second Edition. London: Taylor & Francis.

Azizun-Nisa, Yasmin Bhurgri, Farrukh Raza, & Naila Kayani. 2008. Comparison of ER, PR, & HER-2/neu (C-erb B 2) Reactivity Pattern with Histologic Grade, Tumor Size, and Lymph Node Status in Breast Cancer. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 9:553-556.

IARC. 2008. Globocan 2008 Fast Stats: Indonesia, (Online), (<http://globocan.iarc.fr/factsheet.asp>, diakses 29 Desember 2011).

Parra-Palau, Josep Lluís. 2010. A Major Role of p95/611-CTF, a Carboxy-Terminal Fragment of HER2, in the Down-modulation of Estrogen Receptor in HER2-Positive Breast Cancer. American Association for Cancer Research, 70(21):8537-8546.

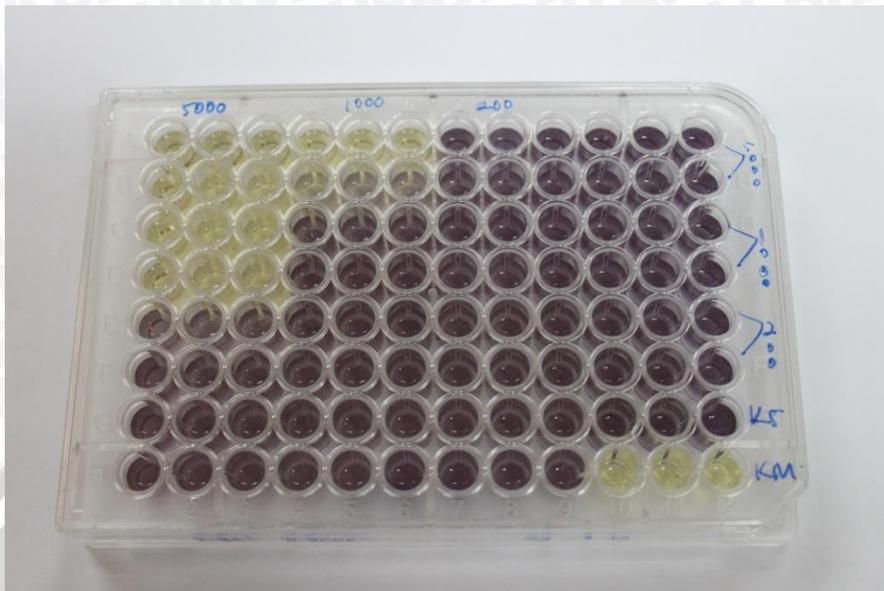
Levin, Ellis R.. 2005. Integration of the Extranuclear and Nuclear Actions of Estrogen. Mol Endocrinol, 19(8): 1951-1959.

Brooks, Susan A. & Adrian Harris (Eds.). 2006. Breast Cancer Research Protocols: Method in Molecular Medicine. Totowa: Humana Press.



LAMPIRAN

1. Hasil Pewarnaan MTT assay



2. Hasil Pembacaan ELISA reader

Microplate Manager Bio-Rad Laboratories, Inc.
Raw Data Report

Reader Type : Model 680 XR Plate File : Plate1
Date : 31/08/2012 7:46

Measurement Wavelength: 550nm
Incubator Temperature: 25.0 °C
Reading Type: Endpoint (Fast Read)
Mix Time: 0 sec

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.185	0.188	0.183	0.148	0.140	0.145	0.794	0.876	0.899	0.965	0.984	1.038
B	0.158	0.154	0.153	0.316	0.420	0.453	0.837	0.871	1.002	0.916	0.994	0.996
C	0.141	0.137	0.140	0.791	0.748	0.810	0.813	0.847	0.827	0.896	0.947	0.895
D	0.171	0.160	0.161	0.859	0.821	0.859	0.822	0.824	0.873	0.905	0.977	0.957
E	0.555	0.599	0.649	0.885	0.908	0.995	0.884	0.958	0.909	0.860	0.875	0.883
F	0.843	0.881	0.860	0.845	0.889	0.908	0.848	0.831	0.894	0.943	0.903	0.890
G	0.835	0.889	0.820	0.732	0.821	0.824	0.893	0.884	0.872	1.080	1.046	1.034
H	0.925	0.845	0.828	0.790	0.848	0.874	0.900	0.858	0.855	0.104	0.104	0.104

K-1 sel-
K-2 sel-
K-3 sel-
K-5
KM

3. Tes Normalitas

		Tests of Normality					
Dosis Ekstrak (µg/ml)		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Viabilitas Sel	Kontrol Sel	.287	3	.	.929	3	.485
	19,53125	.288	3	.	.929	3	.484
	39,0625	.324	3	.	.877	3	.315
	78,125	.307	3	.	.904	3	.398
	156,25	.195	3	.	.996	3	.884
	312,5	.184	3	.	.999	3	.930
	625.00	.356	3	.	.818	3	.157
	1250.00	.292	3	.	.923	3	.463
	2500.00	.314	3	.	.893	3	.363
	5000.00	.365	3	.	.797	3	.107

4. Tes Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Viabilitas Sel

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.976	9	20	.020

5. Tes One-Way ANOVA

ANOVA

Viabilitas Sel

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.035	9	.448	479.493	.000
Within Groups	.019	20	.001		
Total	4.053	29			

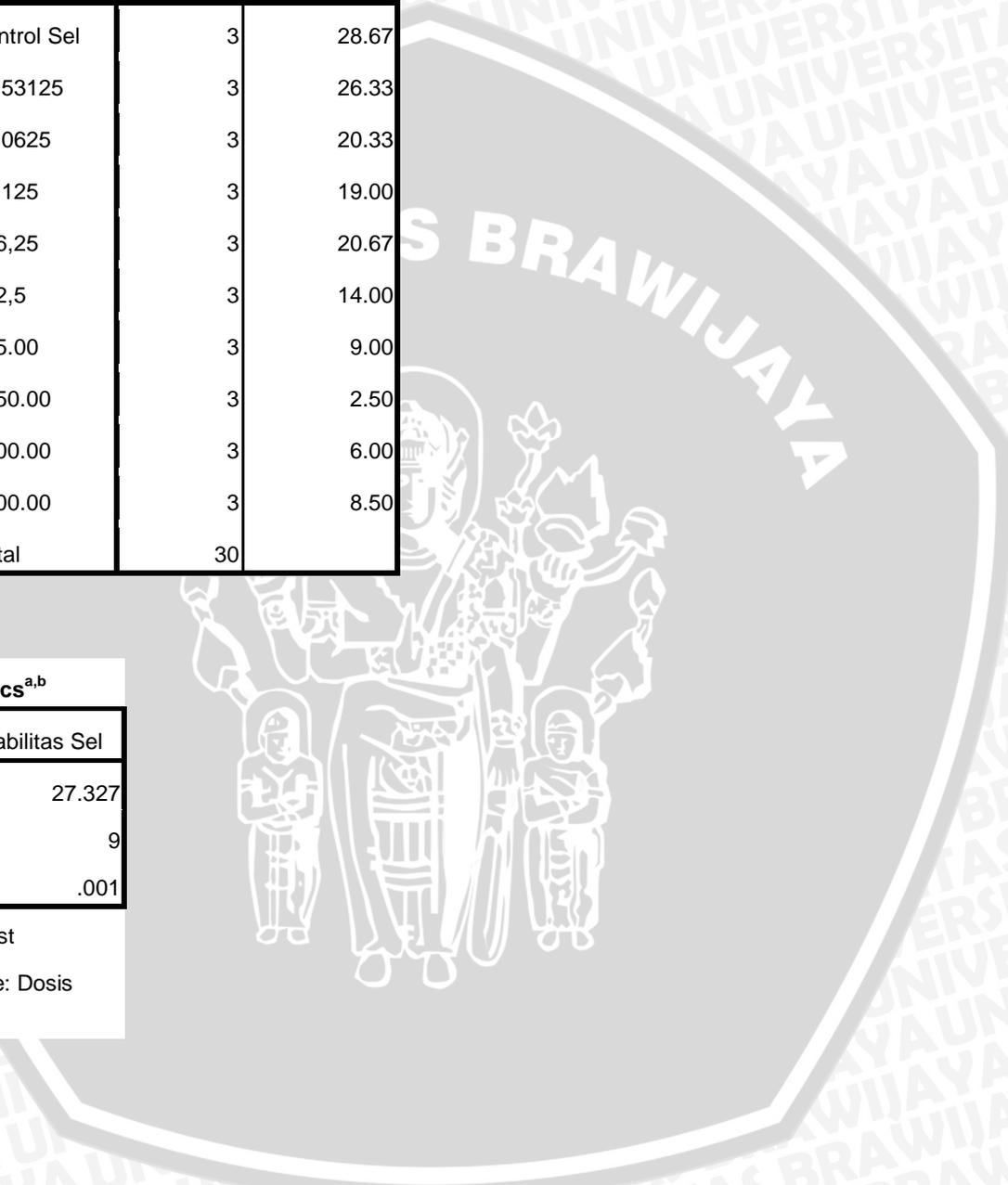
6. Kruskal-Wallis Test

		Ranks	
	Dosis Ekstrak ($\mu\text{g/ml}$)	N	Mean Rank
Viabilitas Sel	Kontrol Sel	3	28.67
	19,53125	3	26.33
	39,0625	3	20.33
	78,125	3	19.00
	156,25	3	20.67
	312,5	3	14.00
	625.00	3	9.00
	1250.00	3	2.50
	2500.00	3	6.00
	5000.00	3	8.50
	Total		30

Test Statistics ^{a,b}	
	Viabilitas Sel
Chi-Square	27.327
df	9
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Dosis Ekstrak ($\mu\text{g/ml}$)



7. Uji Korelasi Spearman

Correlations

			Viabilitas Sel	Dosis Ekstrak (µg/ml)
Spearman's rho	Viabilitas Sel	Correlation Coefficient	1.000	-.904**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	30	30
	Dosis Ekstrak (µg/ml)	Correlation Coefficient	-.904**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	30	30

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).





**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 074/EC/KEPK-S1-JK / 03 / 2012

Setelah Tim Etik Penelitian Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan :

Judul : Ekstrak Daun Suket Gajahan (*Artemisia vulgaris*) Sebagai Antiproliferasi dan Proapoptosis pada Sel Kanker Payudara MCF-7

Peneliti :
 Angga Dewantara NIM : 0910710033
 Achmad Diyas K NIM : 0910710022
 Vidi Prasetyo Utomo NIM : 0910710128
 Yurike Mandrasari NIM : 105070104121001
 Yosephine Adisti W NIM : 105070104111014

Unit / Lembaga : Jurusan Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

Tempat Penelitian : Laboratorium Biomedik, Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.

Malang, 01 MAR 2012

An. Ketua
 Koordinator Divisi I




Prof. Dr. dr. Teguh W. Sardjono, DTM&H, MSc, SpParK
 NIP. 19520410 198002 1 001



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Achmad Diyas Kusuma

NIM : 0910710022

Program Studi : Program Studi Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 25 Februari 2012

Yang membuat pernyataan

Achmad Diyas Kusuma

NIM. 0910710022