

**UJI SITOTOKSISITAS MINUMAN FUNGSIONAL BERBASIS JAHE  
(*Zingiber officinale*) DAN KACANG-KACANGAN TERHADAP SEL KANKER**

**SERVIKS ( Sel HeLa)**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan**

**Memperoleh Gelar Sarjana Gizi**



**Oleh :**

**Annelia Putri Kinanti**

**155070300111040**

**PROGRAM STUDI ILMU GIZI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2019**

## DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
KATA PENGANTAR .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
ABSTRAK.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
ABSTRACT .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
DAFTAR TABEL .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
DAFTAR GAMBAR .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
DAFTAR SINGKATAN.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
DAFTAR LAMPIRAN .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.2 Rumusan Masalah.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.3 Tujuan .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.3.1 Tujuan Umum .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.3.2 Tujuan Khusus.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.4 Manfaat .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.4.1 Bagi Akademik.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
1.4.2 Bagi Masyarakat .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Kanker Serviks.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.1.1 Pengertian Kanker Serviks .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.1.2 Pengobatan Kanker .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.1.3 Sel HeLa .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.2 Jahe .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.2.1 Gambaran umum jahe.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.2.2 Jenis-jenis jahe .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
2.2.3 Manfaat jahe .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

- 2.3 Kacang-kacangan..... **Error! Bookmark not defined.**
  - 2.3.1 Kacang kedelai ..... **Error! Bookmark not defined.**
  - 2.3.2 Kacang hijau ..... **Error! Bookmark not defined.**
- 2.4 Manfaat Kacang Hijau dan Kacang Kedelai ..... **Error! Bookmark not defined.**
- 2.5 Minuman Fungsional ..... **Error! Bookmark not defined.**
  - 2.5.1 Definisi ..... **Error! Bookmark not defined.**
  - 2.5.2 Fungsi fisiologis ..... **Error! Bookmark not defined.**
- 2.6 Aktivitas antikanker..... **Error! Bookmark not defined.**

### **BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN**

- 3.1 Kerangka Konsep ..... **Error! Bookmark not defined.**
- 3.2 Hipotesa Penelitian..... **Error! Bookmark not defined.**

### **BAB 4 METODE PENELITIAN**

- 4.1 Rancangan Penelitian..... **Error! Bookmark not defined.**
- 4.2 Sampel Penelitian..... **Error! Bookmark not defined.**
- 4.3 Kriteria..... **Error! Bookmark not defined.**
  - 4.3.1 Kriteria Inklusi ..... **Error! Bookmark not defined.**
  - 4.3.2 Kriteria Eksklusi ..... **Error! Bookmark not defined.**
- 4.4 Variabel Penelitian..... **Error! Bookmark not defined.**
  - 4.4.1 *Variable Dependent*..... **Error! Bookmark not defined.**
  - 4.4.2 Variabel Independent..... **Error! Bookmark not defined.**
- 4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian ..... **Error! Bookmark not defined.**
  - 4.5.1 Lokasi Penelitian..... **Error! Bookmark not defined.**
  - 4.5.2 Waktu penelitian ..... **Error! Bookmark not defined.**
- 4.6 Bahan Alat/ Intrumen Penelitian..... **Error! Bookmark not defined.**
  - 4.6.1 Bahan Penelitian..... **Error! Bookmark not defined.**
  - 4.6.2 Alat Penelitian ..... **Error! Bookmark not defined.**
- 4.7 Definisi Operasional..... **Error! Bookmark not defined.**
- 4.8 Prosedur Penelitian ..... **Error! Bookmark not defined.**

- 4.8.1 Alur Penelitian..... **Error! Bookmark not defined.**
- 4.8.2 Penjelasan Alur Penelitian..... **Error! Bookmark not defined.**
- 4.8.3 Proses Pembuatan Minuman Fungsional ..... **Error! Bookmark not defined.**
- 4.8.4 Metode Freeze Drying ..... **Error! Bookmark not defined.**
- 4.8.5 Uji Sitotoksisita  
..... **Error! Bookmark not defined.**
- 4.9 Analisis Data ..... **Error! Bookmark not defined.**

## **BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA**

- 5.1 Hasil Pengeringan Sari Jahe dan kacang-kacangan dengan Metode Freeze Drying ..... **Error! Bookmark not defined.**
- 5.2 Hasil Uji Sitotoksisitas Minuman Fungsional Berbasis Jahe dan Kacang-kacangan pada sel HeLa dengan Metode MTT Assay secara *In Vitro* ..... **Error! Bookmark not defined.**

## **BAB 6 PEMBAHASAN**

- 6.2 Minuman Fungsional berbasis Jahe dan Kacang-kacangan..... **Error! Bookmark not defined.**
- 6.2 Uji Sitotoksisitas Minuman Fungsional berbasis jahe dan kacang-kacangan pada sel HeLa dengan Metode MTT Assay Secara *In Vitro*..... **Error! Bookmark not defined.**
- 6.3 Implikasi Bidang Gizi ..... **Error! Bookmark not defined.**
- 6.4 Keterbatasan Penelitian ..... **Error! Bookmark not defined.**

## **BAB 7 PENUTUP**

- 7.1 Kesimpulan ..... **Error! Bookmark not defined.**
- 7.2 Saran..... **Error! Bookmark not defined.**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI SITOTOSISITAS PADA MINUMAN FUNGSIONAL BERBASIS JAHE (*Zingiber officinale*) DAN KACANG-KACANGAN TERHADAP SEL KANKER SERVIKS ( Sel HeLa)

Oleh:

Annelia Putri Kinanti  
NIM 155070300111040

Telah diuji pada

Hari : Kamis

Tanggal : 17 Januari 2019

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I



Tunjung Mahatmanto STP., MSI., Ph.D  
NIP.198109082008011007

Pembimbing I/ Penguji II,



Fuadiyah Nila K., S.Gz., MPH  
NIP. 2009088608202001

Pembimbing II/ Penguji III



Rahma Mucho Widyanto, S.Si., MP.  
NIP. 2016078408251001

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Ilmu Gizi  
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

  
Dian Handayani, SKM, M.Kes. PhD  
NIP. 197404022003122002

Annelia Putri Kinanti<sup>1</sup>, Fuadiyah Nila K<sup>2</sup>, Rahma Micho Widiyanto<sup>2</sup>

### ABSTRAK

Kinanti, Annelia Putri. 2019. **Uji Sitotoksisitas Minuman Fungsional Berbasis Jahe (*Zingiber Officinale*) Dan Kacang-Kacangan Terhadap Sel Kanker Serviks ( Sel Hela)**. Tugas Akhir, Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Fuadiyah Nila K. , S.Gz., MP. (2) Rahma Micho Widiyanto, S.Si., MP.

Kanker serviks adalah kanker leher rahim yang disebabkan oleh HPV ( *Human Papiloma Virus*). Biasanya penderita kanker mengalami gejala mual dan muntah. Selain disebabkan karena penyakit kanker sendiri gejala mual muntah juga disebabkan karena pengobatan kemoterapi yang dijalani pasien kanker. Jahe (*Zingiber officinale*) merupakan tanaman herbal yang biasanya digunakan untuk mengurangi gejala mual dan muntah. Selain dapat mengurangi gejala mual dan muntah, jahe juga memiliki kandungan antioksidan yang berpotensi sebagai antikanker. Kacang hijau dan kacang kedelai memiliki kandungan kandungan antioksidan yang juga berfungsi sebagai antiinflamasi dan meningkatkan kekebalan imun tubuh. Ketiga bahan tersebut dapat diformulasikan menjadi minuman fungsional yang bermanfaat bagi tubuh. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui potensi antikanker pada minuman fungsional yang terbuat dari jahe dan kacang-kacangan. Pembuatan minuman fungsional ini diawali dengan pembuatan sari jahe, sari kedelai dan sari kacang hijau. Selanjutnya minuman fungsional yang terbuat dari jahe dan kacang-kacangan dikeringkan menggunakan metode pengeringan Freeze drying dan dilanjutkan dengan uji sitotoksisitas. Potensi antikanker dapat diukur melalui Uji sitotoksisitas dengan metode MTT Assay yang dilihat dari hasil IC<sub>50</sub>. Besar nilai IC<sub>50</sub> pada penelitian ini yaitu 2767,449 (µg/ml). Hasil Uji sitotoksisitas tidak menunjukkan adanya potensi antikanker pada minuman fungsional yang terbuat dari jahe dan kacang-kacangan. Kesimpulan dari penelitian ini adalah minuman fungsional yang terbuat dari jahe dan kacang-kacangan tidak berpotensi sebagai antikanker.

**Kata Kunci:** uji sitotoksisitas, minuman fungsional, jahe, kanker serviks

## ABSTRACT

Kinanti, Annelia Putri. 2019. **Cytotoxicity Test of Functional Drinks Based on Ginger (*Zingiber Officinale*) and Beans on Cervical Cancer Cells (Cell Hela)**. Tugas Akhir, Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Fuadiyah Nila K. , S.Gz., MP. (2) Rahma Micho Widyanto, S.Si., MP.

Cervical cancer is cancer caused by HPV (Human Papilloma Virus). Usually cancer patients experience symptoms of nausea and vomiting. In addition to being caused by cancer itself the symptoms of nausea and vomiting are also caused due to chemotherapy treatment that cancer patients undergo. Ginger (*Zingiber officinale*) is an herbal plant that is usually used to reduce symptoms of nausea and vomiting. Besides being able to reduce symptoms of nausea and vomiting, ginger also contains antioxidants that have the potential to be anticancer. Mung beans and soybeans contain antioxidants which also function as anti-inflammatory and enhance the body's immune system. These three ingredients can be formulated into functional drinks that are beneficial to the body. The purpose of this study was to determine the anticancer potential of ginger and nuts based functional drinks. Making this functional drink begins with making ginger juice, soybean juice and green bean extract. Furthermore, the ginger and beans based functional drinks were dried using the Freeze drying method and continued with the cytotoxicity test. Anticancer potential can be measured through cytotoxicity test with MTT Assay method which is seen from the  $IC_{50}$  results. The  $IC_{50}$  value in this study was 2767,449 ( $\mu\text{g} / \text{ml}$ ). Results Cytotoxicity tests did not show any anticancer potential in ginger and nuts based functional drinks. The conclusion of this study is that ginger-based and legume-based functional drinks have no potential as anticancer.

**Kata kunci:** Cytotoxicity Test, Functional Drinks, Ginger, Cervical Cancer

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama diseluruh dunia. Jumlah penderita kanker terus meningkat dari tahun ke tahun dan diperkirakan kematian akibat kanker mencapai 12 juta jiwa pada tahun 2030. Setiap tahun, terdapat 6,25 juta orang yang menderita kanker (Globocan, 2012).

Kanker dibagi menjadi beberapa penyakit sesuai organ tubuh yang diserang, salah satunya adalah kanker serviks. Kanker serviks merupakan penyebab kematian nomor dua pada wanita setelah kanker payudara. Kanker serviks ini terjadi didaerah organ reproduksi wanita yang merupakan pintu masuk ke rahim, terletak antara Rahim (*uterus*) dan lubang vagina. Kanker serviks ditandai dengan pertumbuhan sel-sel abnormal pada serviks dimana sel-sel normal berubah menjadi sel kanker. Pada tahap awal, gejala yang ditimbulkan seperti gangguan menstruasi, keputihan, pendarahan vagina diluar masa menstruasi, keluhan sakit perut dibagian bawah dan infeksi pada saluran kandung kemih. ( Fisca,2012).

Di Indonesia, prevalensi penyakit kanker juga cukup tinggi. Menurut data Kemenkes RI,2015, prevalensi kanker di Indonesia adalah 1,4 per 100 penduduk atau sekitar 347.000 orang. Untuk kanker serviks sendiri merupakan penyebab kematian pertama pada wanita diseluruh dunia. Diperkirakan 274.000

kematian terjadi setiap tahun akibat penyakit ini (Kemenkes RI,2015).

Pasien kanker biasanya mengalami mual dan muntah dikarenakan kemoterapi yang dijalannya. Pada sistem saraf pusat, terdapat tiga struktur yang berlaku sebagai pusat koordinasi reflek muntah, yaitu *nucleus tractus solitaries*, pusat muntah dan *chemoreseptor trigger zone* (CTZ). Mual dan muntah dapat mengganggu sistem pernafasan, meningkatkan denyut jantung serta dapat menurunkan nafsu makan hingga malnutrisi (Fithrah, 2014).

Mual dan muntah dapat diobati atau ditangani dengan terapi farmakologis dan non farmakologis. Ada beberapa obat antimual (antiemetik) yang sudah tersedia untuk membantu mengurangi gejala mual muntah, namun obat-obatan tersebut memiliki efek samping seperti sedasi, kebingungan, pusing, mulut kering dan konstipasi (Susanti & Tarigan, 2013). Dengan adanya efek samping tersebut maka perlu adanya alternatif untuk mengatasi mual dan muntah dengan memberikan terapi non farmakologis. Terapi non farmakologis tersebut dapat memanfaatkan bahan alamiah yang mengandung zat aktif yang dapat mengurangi rasa mual muntah juga dapat berpotensi sebagai antikanker pada pasien kanker. Bahan-bahan alamiah tersebut antara lain adalah jahe (*Zingiber officinale*) dan kacang-kacangan. Jahe (*Zingiber officinale*) dan kacang-kacangan ini mengandung antioksidan. Dimana antioksidan sendiri berfungsi sebagai *scavenger* dan meningkatkan kekebalan imun (Stoilova *et al.*, 2007).

Jahe (*Zingiber officinale*) merupakan tanaman herbal alami yang memiliki zat aktif antara lain *gingerol*, *shagaol*, *zingerone*, *zingiberol* dan *paradol*. Jahe memiliki kandungan antioksidan seperti polifenol dan flavonoid. Antioksidan pada jahe ini dapat mengurangi atau mencegah generasi radikal bebas. Jahe juga digolongkan sebagai tanaman herbal yang aman dan tidak banyak memiliki efek samping ( Ali BH, 2008). Selain itu, kandungan *Gingerol* pada jahe dapat bekerja pada sistem saraf pusat sehingga menurunkan frekuensi mual muntah, karena biasanya orang kanker memiliki rasa mual dan muntah ketika akan makan (Wiraharja S, 2011).

Kacang kedelai (*Glycine max*) dan kacang hijau (*Vigna radiata*) memiliki kandungan antioksidan tinggi dibandingkan dengan kacang hitam. Antioksidan yang sangat tinggi pada kacang kedelai dan kacang hijau adalah flavonoid. Flavonoid bermanfaat sebagai antioksidan, antiinflamasi dan meningkatkan kekebalan imun (Xue et al., 2016). Ketiga bahan tersebut (sari jahe, sari kedelai dan sari kacang hijau) dapat diformulasikan menjadi minuman fungsional yang memiliki manfaat bagi tubuh manusia.

Pada penelitian sebelumnya, telah dilakukan penelitian terkait aktivitas antioksidan pada minuman fungsional berbasis jahe dan kacang-kacangan, tetapi belum ada penelitian terkait uji sitotoksitasnya. Maka dari itu peneliti tertarik untuk melakukan uji sitotoksitas pada minuman fungsional berbasis jahe (*Zingiber officinale*) dan kacang-kacangan terhadap sel kanker serviks (sel *HeLa*) secara in vitro.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah minuman fungsional berbasis jahe dan kacang-kacangan memiliki potensi sitotoksik terhadap sel kanker serviks (sel *HeLa*) ?

### 1.3 Tujuan

#### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui potensi sitotoksik minuman fungsional berbasis dari jahe (*Zingiber officinale*) dan kacang-kacangan terhadap sel kanker serviks (sel *HeLa*) secara in vitro.

#### 1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui nilai  $IC_{50}$  dari minuman fungsional berbasis jahe (*Zingiber officinale*) dan kacang-kacangan terhadap sel kanker serviks ( sel *HeLa*).

### 1.4 Manfaat

#### 1.4.1 Bagi Akademik

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait adanya minuman fungsional berbasis jahe (*Zingiber officinale*) dan kacang-kacangan yang memiliki potensi antikanker.

#### 1.4.2 Bagi Masyarakat

Sebagai alternatif pangan fungsional berbasis jahe (*Zingiber officinale*) dan kacang-kacangan yang berpotensi antikanker yang dapat digunakan sebagai minuman fungsional.



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kanker Serviks

##### 2.1.1 Pengertian Kanker Serviks

Kanker leher rahim atau yang biasa dikenal dengan kanker serviks adalah keganasan dari serviks yang ditandai dengan adanya pendarahan lewat jalan lahir di mana tanda dan diagnosis bisa ditegakkan dengan menggunakan *Pap Smear* (Rahayu S, 2015)

##### 2.1.2 Pengobatan Kanker

Pengobatan kanker terdiri dari dua macam, yaitu :

1. Pengobatan Modern/Terapi Modern
  - a. Kemoterapi : biasanya diberikan untuk kanker yang diyakini telah menyebar.
  - b. Terapi antibiotik : pemberian obat-obatan yang dapat membunuh bakteri yang menyebabkan infeksi pada serviks dan organ reproduksi.
2. Pengobatan Tradisional

Pengobatan tradisional kanker biasanya menggunakan bahan-bahan alami seperti kayu putih, bawang putih, sarang semut, dan mengkudu (Rahayu,2015).

### 2.1.3 Sel HeLa

Sel HeLa merupakan sel epitel manusia yang diambil dari leher Rahim (*cervix*) seorang wanita penderita kanker leher Rahim. Kultur sel ini memiliki sifat semi melekat dan digunakan sebagai model sel kanker. Sel HeLa ini cukup aman dan merupakan sel manusia yang umum digunakan untuk kepentingan kultur sel. Sel HeLa dapat tumbuh dengan agresif dalam media kultur. Media kultur yang digunakan adalah media RPMI 1640-serum. Didalamnya terkandung nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan, yaitu asam amino, vitamin, garam-garam organik dan glukosa (Anggrianti,2008).

## 2.2 Jahe

### 2.2.1 Gambaran umum jahe

Jahe merupakan tanaman yang sering digunakan sebagai obat. Jahe termasuk tanaman yang berasal dari daerah Asia Tropik, yang tersebar di berbagai wilayah dari India sampai Cina. Sejak zaman Kong Hu (551-479 SM), jahe sudah dibudidayakan di India dan diekspor ke Cina. Saat ini tanaman jahe dibudidayakan diberbagai daerah di Indonesia antara lain adalah Sumatra Utara, Bengkulu, Jawa Barat, Jawa Tengah dan Jawa Timur. Jahe merupakan tanaman semu tahunan, berbatang semu dengan tinggi antara 30-75 cm. berdaun sempit memanjang menyerupai pita dengan panjang 15-23 cm, lebar sekitar 2,5 cm (Wiraharja *et al*,2011)

### 2.2.2 Jenis-jenis jahe

Terdapat tiga jenis jahe berdasarkan ukuran, bentuk, dan warna rimpang yaitu :

- a. Jahe Putih (*Zingiber officinale Amarum*) atau biasa disebut dengan jahe emprit memiliki bentuk yang lebih kecil dari jenis jahe lainnya. Kandungan minyak atsiri pada jahe ini lebih besar dari jahe lainya sehingga rasanya lebih pedas. Selain kandungan yang besar, jahe ini juga mengandung serat yang lebih tinggi (Wirahaja *et al.*, 2011).



Gambar 2.1 Jahe Putih

Sumber: [www.hellosehat.com](http://www.hellosehat.com)

- b. Jahe gajah (*Zingiber officinale Roscoe*) atau biasa disebut dengan jahe kuning. Rimpang pada jahe ini lebih besar dibandingkan dengan jenis jahe lainnya. (Wiraharja *et al.*, 2011). Jahe ini mengandung minyak atsiri sebesar 0,82-1,66 %. Aroma dari jahe ini sedikit kurang tajam dan kurang pedas jika dibandingkan dengan jahe lainnya (Hanief, 2013).



Gambar 2.1 Jahe Gajah  
 Sumber: [www.hellosehat.com](http://www.hellosehat.com)

- c. Jahe merah (*Zingiber officinale Rubrum*) memiliki rimpang berwarna merah dan ukurannya lebih kecil dari jahe putih. Jahe ini memiliki kandungan minyak atsiri yang sama dengan jahe putih (Wiraharja et al., 2011)



Gambar 2.1 Jahe Merah  
 Sumber : [www.hellosehat.com](http://www.hellosehat.com)

Tabel 2.1 Kandungan Senyawa yang Terdapat dalam Jahe

Kandungan senyawa dalam jahe	Senyawa
Minyak atsiri	- <i>Eugenol</i> (49,8%) - <i>Zingeron</i> (14,5%) - <i>Trans-6-shogaol</i> (5,9%) - <i>Geraniol</i> (3,7%) - <i>Borneol</i> (1,9%)
Etanol oleoresin jahe	- <i>Gernial</i> (25,9%) - <i>A-zingiberen</i> ( 9,5%) - <i>Neral</i> (7,6%) - <i>Beta-sesquiphellandren</i> (27,16%) - <i>Caryophyllen</i> ( 15,29%)
Methanol oleoresin jahe	- <i>zingeron</i> (33,6%) - <i>trans-6-shogaol</i> (14,9%) - <i>decanal</i> (3,8%) - <i>a-zingiberen</i> (2,7%)
Isooktan oleoresin jahe	- <i>zingeron</i> (30,5%) - <i>palmitoleic acid</i> (10,9%) - <i>trans-6-shogaol</i> (9,3%) - <i>palmitic acid</i> (8,9%)
CC14 oleoresin jahe	- <i>zingeron</i> (33,3%) - <i>trans-6-shogaol</i> (10,4%) - <i>geranial</i> (7,5%) - <i>neral</i> (4,9%)

Sumber : Singh *et al.*( 2008); El-Baroty *et al.*(2010)

### 2.2.3 Manfaat jahe

Adapun beberapa manfaat jahe adalah sebagai berikut:

- a. Gingerol dan komponen jahe lainnya memiliki aktivitas sebagai anti-hidroksitripamin. Gonalakton merupakan antagonis kompetitif pada ileus 5-HT<sub>3</sub> reseptor sehingga menimbulkan efek anti emetik. Gingerol juga dapat bekerja pada system saraf pusat sehingga dapat menurunkan frekuensi mual muntah (Wlrahaja *et al.*,2011)

- b. Memodulasi efek saluran gastrointestinal seperti menstimulasi motilitas, sekresi saliva dan empedu untuk menurunkan rasa mual muntah. Jahe mempunyai efek yang hampir sama dengan *dymenhydinate* sebagai anti mual dan muntah. (Fithrah,2014).

## 2.3 Kacang-kacangan

### 2.3.1 Kacang kedelai

Kacang kedelai adalah tanaman yang berasal dari Negara China. Kacang kedelai merupakan sumber protein tercerna yang sangat baik. Meskipun kandungan vitamin (vitamin A, E, K dan beberapa jenis vitamin B) dan mineral (K, Fe, Zn dan P) di dalamnya tinggi, kedelai rendah akan kandungan asam lemak jenuh, dengan 60 % kandungan asam lemak tidak jenuhnya terdiri atas asam linoleat dan linolenat, yang keduanya diketahui membantu kesehatan jantung. Kacang kedelai tidak mengandung kolesterol.

**Table 2.2 Kandungan Zat Gizi Kacang Kedelai dalam 100 gram**

Zat Gizi	Jumlah
Energi	381 kkal
Protein	40,4 g
Lemak total	16,7 g
Karbohidrat	24,9 g
Serat total	3,2 g
Abu	5,5 g
	222 mg
Kalsium (Ca)	682 mg
Fosfor	10 mg
Besi (Fe)	31
Karoten total	0,52 mg
Vitamin B1	2,251 mg
Niasin	0,12 mg
Riboflavin	

Sumber: Mahmud *et al.*,(2009)

### 2.3.2 Kacang hijau

Kacang hijau (*Vigna radiata L.*) merupakan salah satu komoditas tanaman kacang-kacangan yang banyak tumbuh di Indonesia. Tanaman ini mengandung zat-zat gizi, antara lain: amylum, protein, besi, belerang, kalsium, minyak lemak, mangan, magnesium, niasin, vitamin (B1, A, dan E). Manfaat lain dari tanaman ini adalah dapat melancarkan buang air besar. Selain itu juga dapat digunakan untuk pengobatan hepatitis, terkilir, beri-beri, demam nifas, kepala pusing/vertigo, memulihkan kesehatan, kencing kurang lancar, kurang darah, dan kepala pusing. Dibanding dengan tanaman kacang-kacangan lainnya, kacang hijau memiliki kelebihan ditinjau dari segi agronomi dan ekonomis, seperti:

- a. Lebih tahan kekeringan
- b. Serangan hama dan penyakit lebih sedikit
- c. Dapat dipanen pada umur 55-60 hari
- d. Dapat ditanam pada tanah yang kurang subur
- e. Cara budidayanya mudah

(Atman,2007)

**Tabel 2.3 Kandungan gizi kacang hijau dalam 100 gram**

Zat gizi	Jumlah
Energi	345 kkal
Protein	22,2 g
Lemak	1,2 g
Karbohidrat	62,9 g
Kalsium	125 mg
Fosfor	320 mg
Zat besi	7 mg
Vitamin A	157 IU
Vitamin B1	0,64 mg
Vitamin C	6 mg
Vitamin K	0,51 µg
SAFA ( <i>Saturated Fatty Acid</i> )	0,348 g
MUFA ( <i>Monosaturated Fatty Acid</i> )	0,161 g
PUFA ( <i>Polyunsaturated Fatty Acid</i> )	0,384 g

#### 2.4 Manfaat Kacang Hijau dan Kacang Kedelai

Berikut merupakan manfaat dari kacang hijau dan kacang kedelai, yaitu :

1. Mengandung antioksidan seperti flavonoid yang dapat meningkatkan kekebalan imun dan sebagai anti inflamasi (Ghasemzadeh, 2011)
2. Kacang hijau mengandung asam amino cukup tinggi dan beberapa vitamin yang sangat dibutuhkan tubuh, yakni asam amino tryptofan dan lysin. Dalam 100 g biji kacang hijau Belu terdapat tryptofan 96 mg, lysine 197 mg, asam amino glutamat 297 mg, juga mengandung beberapa vitamin seperti vitamin B1, B2, B3, B5, B12, D, E, dan vitamin K (Yusuf, 2014).
3. Kandungan isoflavon pada kedelai sering dimanfaatkan untuk penanganan menopause, kanker payudara, osteoporosis dan meningkatkan kinerja kognitif.

## 2.5 Minuman Fungsional

### 2.5.1 Definisi

Pangan fungsional adalah pangan olahan yang mengandung satu atau lebih komponen pangan yang memiliki fungsi fisiologis tertentu diluar fungsi dasarnya dan bermanfaat bagi kesehatan ( Anggraini,2011). Salah satu jenis pangan fungsional adalah minuman fungsional. Minuman fungsional harus memiliki tiga fungsi dasar pangan fungsional yaitu *sensory* (warna dan penampilannya menarik dan memiliki cita rasa yang enak), *nutritional* (bernilai gizi tinggi), *phsycological* (memberikan pengaruh fisiologis yang menguntungkan bagi tubuh) (Herawati, 2012). Sehingga dapat disimpulkan bahwa minuman fungsional adalah minuman yang memiliki efek positif terhadap kesehatan.

### 2.5.2 Fungsi fisiologis

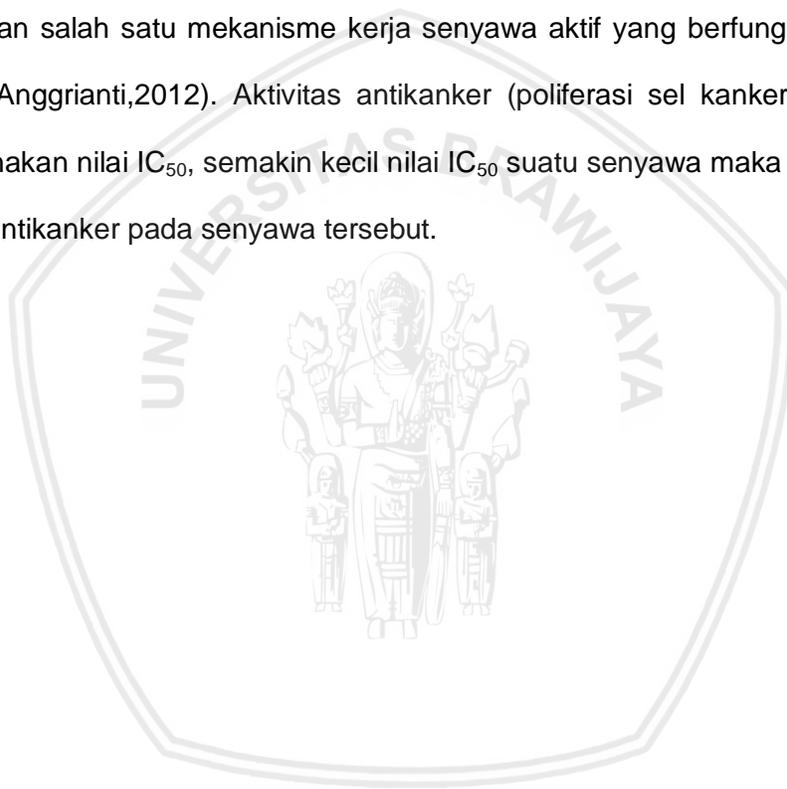
Minuman fungsional dibuat bertujuan untuk memberikan fungsi fisiologis yang dapat memberikan manfaat untuk meningkatkan kesehatan. Manfaat yang diharapkan ada pada minuman fungsional adalah sebagai berikut:

1. Dapat mencegah timbulnya penyakit
2. Meningkatkan daya tahan tubuh
3. Memperlambat proses penuaan
4. Menyehatkan tubuh kembali (*recovery*)

## 2.6 Aktivitas antikanker

Mekanisme kerja suatu bahan aktif dari bahan alami sangat penting diketahui untuk menjelaskan bagaimana cara kerja anti kanker. Mekanisme kerja beberapa bahan anti kanker diantaranya adalah senyawa yang langsung bekerja

pada target molekul DNA, terbentuknya senyawa metabolit lainnya yang dapat menghambat jalannya metabolisme, dan penghambatan proses proliferasi sel. Mekanisme lainnya yang diharapkan dapat memperbaiki sistem sel kanker adalah menginduksi proses apoptosis. *Apoptosis* merupakan kematian sel yang terprogram. *Apoptosis* memiliki peran penting dalam menjaga keseimbangan (*homeostatis*) perkembangan sel organisme pada tingkat seluler. Meningkatnya *apoptosis* merupakan salah satu mekanisme kerja senyawa aktif yang berfungsi sebagai anti kanker (Anggrianti,2012). Aktivitas antikanker (poliferasi sel kanker) dapat diukur menggunakan nilai  $IC_{50}$ , semakin kecil nilai  $IC_{50}$  suatu senyawa maka semakin besar potensi antikanker pada senyawa tersebut.

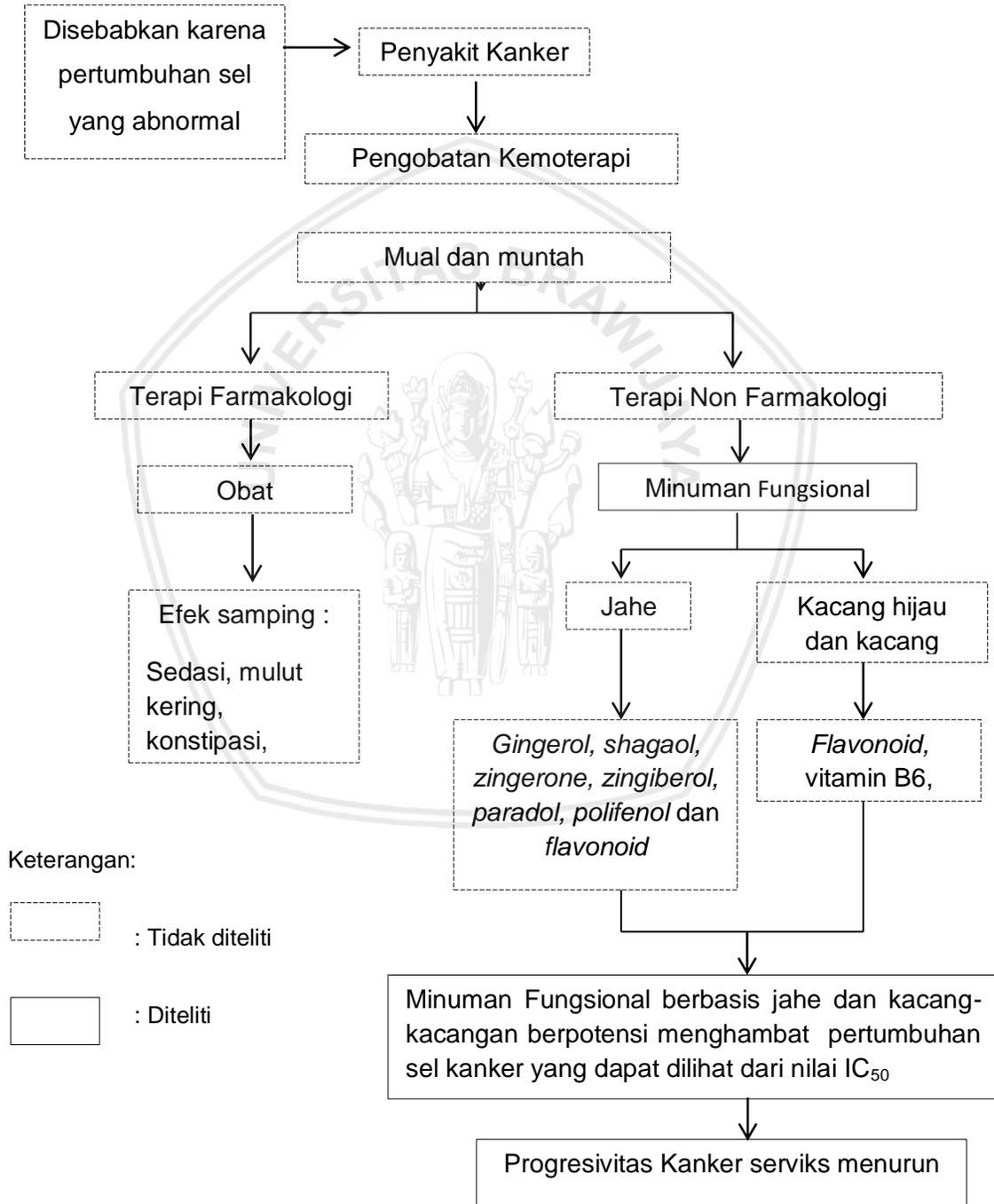




BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep

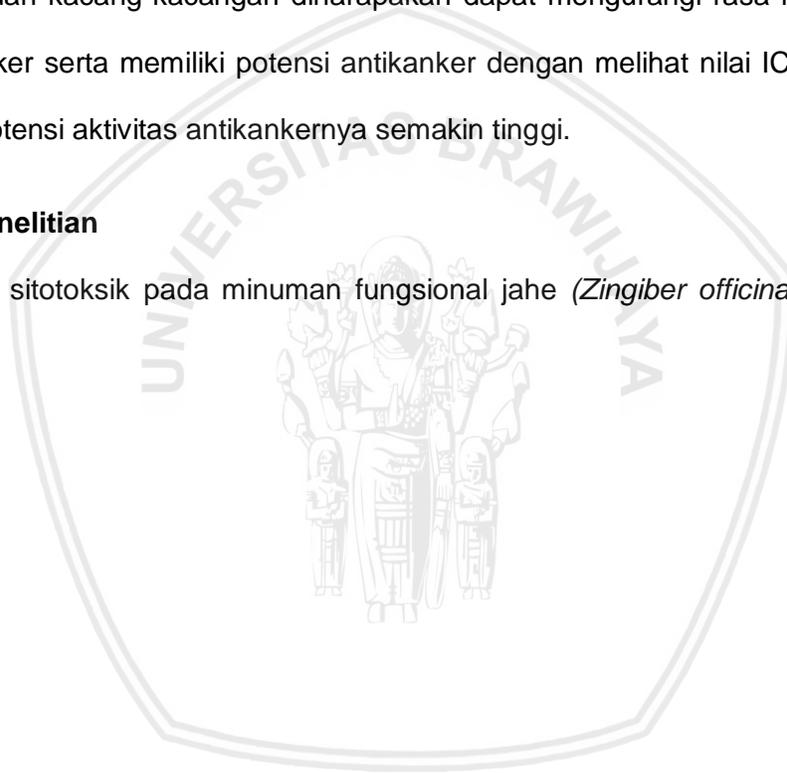


## Penjelasan Kerangka Konsep

Kanker merupakan penyakit yang disebabkan karena adanya pertumbuhan sel yang abnormal ( Siegel, *et al.* 2015). Penderita kanker biasanya melakukan pengobatan secara modern seperti operasi, kemoterapi, dan radioterapi. Namun pengobatan tersebut memiliki efek samping mual dan muntah. Jahe mengandung antioksidan dan senyawa yang dapat mengurangi rasa mual muntah. Selain itu, kacang-kacangan juga mengandung antioksidan seperti flavonoid yang terbukti dapat memodulasi aktivitas penyakit kanker (Xue *et al* ,2016). Kombinasi jahe dan kacang-kacangan diharapkan dapat mengurangi rasa mual dan muntah pada pasien kanker serta memiliki potensi antikanker dengan melihat nilai  $IC_{50}$ . Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka potensi aktivitas antikankernya semakin tinggi.

### 3.2 Hipotesa Penelitian

Terdapat potensi sitotoksik pada minuman fungsional jahe (*Zingiber officinale*) dan kacang-kacangan.



## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan sel HeLa sebagai sel uji yang diberi sari Jahe (*Zingiber officinale*) dan kacang-kacangan yang selanjutnya akan dilihat potensi anti kankernya.

#### 4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah formula minuman fungsional berbasis jahe (*Zingiber officinale*) dan kacang-kacangan dengan formulasi yang telah ditetapkan pada penelitian sebelumnya.

#### 4.3 Kriteria

##### 4.3.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah bahan segar yang akan digunakan sebagai sari jahe dan kacang-kacangan. Kriteria inklusi pada penelitian ini yaitu:

1. Jahe
  - a. Varietas jahe gajah.
  - b. Tidak ada serangga.
  - c. Tidak ada rimpang yang bertunas.
  - d. Rimpang jahe berbentuk utuh.
  - e. Penampakan irisan melintang cerah.
  - f. Kulit rimpang tidak terkelupas.
  - g. Usia jahe 8-10 bulan.

2. Kacang-kacangan (kacang hijau dan kacang kedelai)
  - a. Bentuk kacang-kacangan utuh.
  - b. Kacang tidak berbau tengik.
  - c. Tidak ada kotoran.
  - d. Bentuk kacang-kacangan tidak keriput.
  - e. Butir memiliki warna yang sama.

#### 4.3.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah bahan segar yang akan digunakan sebagai sari jahe dan kacang-kacangan. Kriteria eksklusi pada penelitian ini yaitu:

1. Bahan mentah jahe:
  - a. Rimpang jahe berkapang.
  - b. Rimpang jahe busuk.
2. Bahan mentah kacang-kacangan:
  - a. Biji kacang busuk.
  - b. Biji kacang berkecambah.
  - c. Terdapat jamur pada biji kacang.

#### 4.4 Variabel Penelitian

##### 4.4.1 Variable *Dependent*

Variable terikat pada penelitian ini adalah efek toksisitas yang didapat dari nilai  $IC_{50}$  pada sampel ekstrak minuman fungsional Jahe (*Zingiber officinale*) dan kacang-kacangan.

#### 4.4.2 Variabel Independent

Variabel bebas pada penelitian ini adalah formula ekstrak minuman fungsional berbasis Jahe (*Zingiber officinale*) dan kacang-kacangan.

#### 4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

##### 4.5.1 Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian minuman fungsional berbasis jahe dan kacang-kacangan yaitu:

##### 1. Pembuatan Minuman Fungsional

Pembuatan minuman fungsional pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penyelenggaraan Makanan Jurusan Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

##### 2. Ekstraksi Minuman Fungsional

Ekstraksi minuman fungsional dengan metode freeze drying pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Entomologi Balijestro Batu Malang.

##### 3. Uji Aktivitas Antikanker/ Uji Sitotoksitas

Uji aktivitas antikanker pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Sel, LAPTIAB, BPPT, Serpong-Tangerang

##### 4.5.2 Waktu penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Juli 2018-Oktober 2018.

## 4.6 Bahan Alat/ Intrumen Penelitian

### 4.6.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

- a. Bahan yang akan digunakan pada penelitian ini adalah jahe yang didapatkan dari petani jahe di Poncokusumo, Kabupaten Malang, Jawa Timur. Kacang kedelai dan kacang hijau yang didapatkan dari Materia Medika, Batu, Jawa Timur. Gula pasir, gula merah, kayu manis bubuk, serai yang didapatkan dari Toko Kue Prima Rasa Malang, Jawa Timur.
- b. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *Phosphat Buffer Saline 1x*, media kultur lengkap (MK), DMSO, MTT 0,5 mg/ml PBS, SDS 10% dalam 0,1 N HCL, tissue, aluminum foil.

### 4.6.2 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

- a. Alat yang digunakan dalam pembuatan minuman fungsional yaitu blender, gelas ukur, panci, kain saring, sendok, wadah besar , panci dengan tenakan tinggi (presto).
- b. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Cyro tube*, *96-well plate*, *yellow tip* dan *blue tip*, *ELISA reader*, rak cyro kecil, mikropipet 10µl, 100 µl dan 1000 µl, *conical tube*.

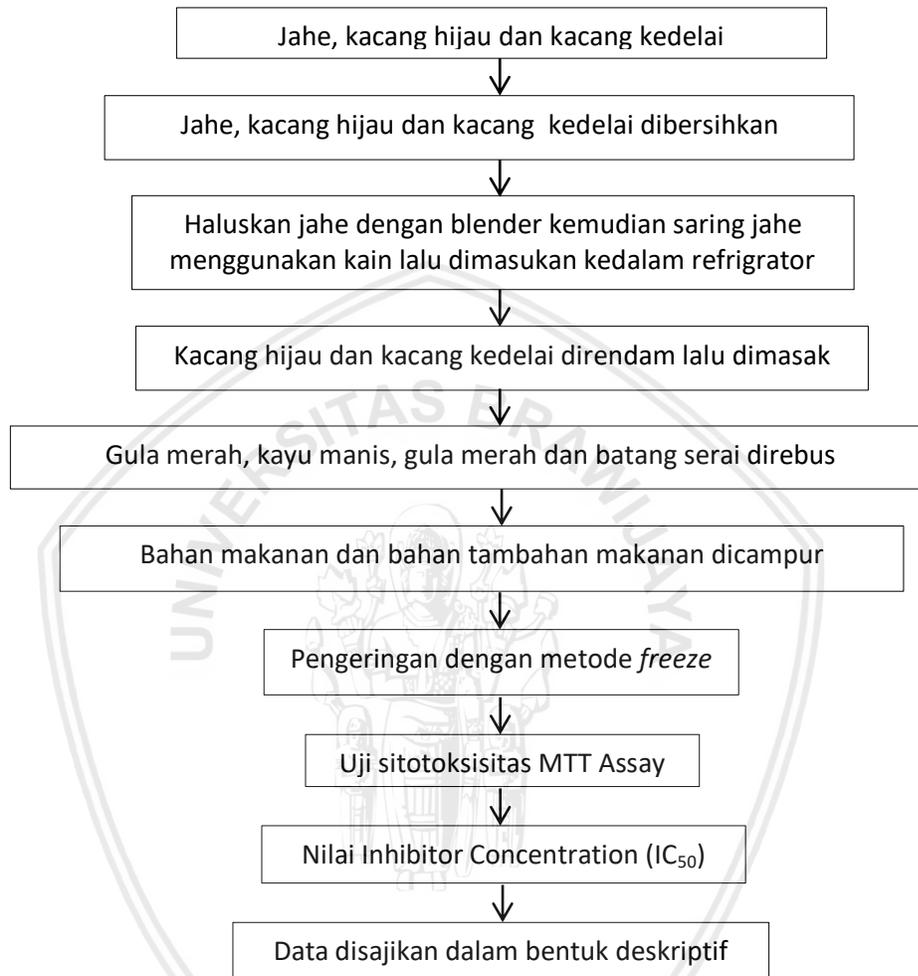
#### 4.7 Definisi Operasional

**Tabel 4.1 Definisi Operasional**

Nama Variabel	Definisi	Alat ukur	Hasil	Skala
Minuman Fungsional Berbasis Jahe ( <i>Zingiber officinale</i> ) dan kacang-kacangan	Minuman yang mengandung nilai gizi yang bermanfaat untuk kesehatan yang terbuat dari jahe ( <i>Zingiber officinale</i> ), kacang hijau, dan kacang kedelai. Bahan yang ditambahkan adalah bubuk kayu manis, cengkeh, gula merah dan gula pasir.	-	-	-
Aktivitas Antikanker	Aktivitas antikanker merupakan mekanisme kerja dari beberapa senyawa aktif yang dapat menghambat proses proliferasi sel atau apoptosis.	Metode MTT Essay	-	Rasio

## 4.8 Prosedur Penelitian

### 4.8.1 Alur Penelitian



**Gambar 4.1** Alur Prosedur Penelitian

### 4.8.2 Penjelasan Alur Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan pembuatan minuman fungsional yang akan digunakan untuk pengujian. Pembuatan Minuman fungsional diawali dengan pencucian bahan dan pemasakan bahan kemudian semua bahan dicampur menjadi

satu. Minuman fungsional akan di keringkan dengan metode *freeze drying*. Kemudian akan dilakukan uji aktivitas antikanker atau uji sitotoksitas pada sampel.

### **4.8.3 Proses Pembuatan Minuman Fungsional**

#### **4.8.3.1 Proses Pembuatan Sari Jahe**

Tahapan pembuatan sari jahe pada proses pembuatan minuman fungsional adalah:

1. Jahe dipilih sesuai dengan kriteria inklusi.
2. Jahe dibersihkan dengan cara dicuci dengan air yang mengalir dan disikat. Hal ini dilakukan bertujuan untuk menghilangkan tanah dan kotoran yang menempel pada kulit jahe.
3. Jahe dipotong kemudian dihaluskan dengan mesin penghalus bumbu tanpa penambahan air.
4. Menyaring dan memeras jahe yang telah dihaluskan dengan mesin penghalus menggunakan kain saring untuk mendapatkan sari jahe.
5. Sari jahe yang telah disaring dalam botol di endapkan dengan suhu *refrigator* selama 2-3 hari untuk memisahkan sari jahe yang terbentuk dengan pati yang masih tersaring pada proses sebelumnya. Dalam proses ini akan terbentuk tiga lapisan yaitu lapisan paling bawah berupa pati dari sari jahe, lapisan tengah merupakan sari jahe berwarna dan lapisan paling bawah merupakan sari jahe yang berwarna bening.
6. Sari jahe yang berwarna bening pada botol diambil menggunakan pipet yang nantinya akan menjadi bahan baku minuman fungsional.

#### 4.8.3.2 Proses Pembuatan Sari Kacang Hijau

Tahapan pembuatan sari kacang hijau pada proses pembuatan minuman fungsional adalah:

1. Kacang hijau dipilih sesuai dengan kriteria inklusi.
2. Kacang hijau dicuci hingga bersih tidak terdapat kotoran atau kerikil.
3. Kacang hijau dimasak dengan panci bertekanan tinggi (presto) dengan perbandingan air 1:5 dalam waktu 7 menit, kemudian didinginkan.
4. Kacang hijau yang telah dimasak dihaluskan menggunakan *blender* dengan air sisa proses pemasakan kacang hijau dengan tekanan tinggi.
5. Kacang hijau yang telah dihaluskan disaring menggunakan kain saring. Hasil pada proses ini kemudian digunakan sebagai bahan baku pembuatan formulasi minuman fungsional.

#### 4.8.3.3 Proses Pembuatan Sari Kacang Kedelai

Tahapan pembuatan sari kacang kedelai pada proses pembuatan minuman fungsional adalah:

1. Kacang kedelai dipilih sesuai dengan kriteria inklusi.
2. Kacang kedelai dicuci hingga bersih dari kerikil dan kotoran lain.
3. Kacang kedelai direndam selama satu malam yang bertujuan untuk mendapatkan kacang kedelai yang empuk agar mudah dihaluskan.
4. Air rendaman dibuang dan mencuci kembali kacang kedelai untuk memastikan kebersihan kacang kedelai.
5. Menghaluskan kacang kedelai menggunakan *blender* dengan tambahan dengan perbandingan 1:3 dari berat mentah kedelai sebelum direndam.

6. Menyaring dan memeras kedelai menggunakan kain saring untuk mendapatkan sari kacang kedelai
7. Dipasteurisasi selama 30 menit. Hasil pada proses ini kemudian digunakan sebagai bahan baku pembuatan formulasi minuman fungsional.

#### 4.8.3.4 Proses Pembuatan Bahan Tambahan

Pada tahapan ini pembuatan bahan campuran digunakan untuk menambah cita rasa pada minuman fungsional. Berikut adalah tahapan pembuatan bahan campuran:

1. Menyiapkan bahan-bahan yaitu gula pasir 100 gram, gula merah 50 gram, kayu manis bubuk 5 gram dan 2 batang serai yang telah dimemarkan.
2. Merebus bahan-bahan yang telah disiapkan dalam 100 ml air hingga larut dan mendidih.
3. Menyaring dengan saringan teh agar serai yang telah dimasukkan tidak ikut dalam bahan campuran.

#### 4.8.3.5 Proses Pembuatan Minuman Fungsional

Pada proses ini dilakukan pencampuran bahan sesuai dengan formulasi yang telah ditetapkan. Berikut tahapan proses pembuatan minuman fungsional:

1. Mengukur kebutuhan sari jahe, sari kedelai, dan sari kacang hijau sesuai dengan formulasi yang telah ditentukan pada penelitian sebelumnya.
2. Mencampurkan sari jahe, sari kacang hijau dan sari kacang kedelai.
3. Melakukan *pasteurisasi* dengan metode *Low Temperature Long Time (LTLT)* dengan menggunakan suhu 61-63<sup>0</sup>C selama 30 menit.

4. Menambahkan bahan campuran sebanyak 10 ml pada masing-masing formulasi sehingga total volume campuran yang didapatkan pada setiap formulasi sebanyak 100 ml.

#### 4.8.4 Metode Freeze Drying

Proses freeze drying dibagi menjadi tiga tahap yaitu, proses pembekuan, pengeringan primer dan pengeringan sekunder. Metode pengeringan ini dilakukan oleh laboran di Laboratorium Entomologi Balijestro Kota Batu. Pada tahap pertama yang dilakukan adalah proses pembekuan dengan cara menyimpan produk didalam freezer dengan suhu sekitar  $-70^{\circ}\text{C}$  selama tiga hari. Tahap kedua adalah proses pengeringan primer melalui mekanisme sublimasi. Mekanisme sublimasi adalah proses mengeluarkan atau memisahkan sebagian besar air yang terdapat pada produk dari fase padat (es) ke fase gas (uap) dengan mengendalikan tekanan dan suhu. Pada tahap ketiga akan dilakukan proses pengeringan sekunder dengan cara produk kembali dibekukan ke dalam freezer dengan suhu  $-70^{\circ}\text{C}$  selama semalam untuk membekukan sisa air yang belum teruapkan. Bahan dimasukan kembali ke dalam freeze dryer untuk dilakukan proses pengeringan selama kurang lebih 30 jam dengan tekanan vakum dan suhu condenser yang sama. Setelah selesai produk akan disimpan di dalam freezer dengan suhu kurang lebih  $-20^{\circ}\text{C}$  untuk menjaga kualitas produk (Hariyadi,2013).

#### 4.8.5 Uji Sitotoksisitas

Uji sitotoksik adalah uji *in vitro* dengan menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa. Uji sitotoksisitas ini dilakukan oleh tim laboran di Laboratorium Kultur Sel, LAPTIAB, BPPT, Serpong. Penggunaan uji sitotoksisitas pada suatu sel merupakan salah satu cara penetapan *in vitro* untuk mendapatkan obat-obat sitotoksik. Sistem ini merupakan uji kualitatif dengan cara menetapkan kematian sel. Uji sitotoksik ini digunakan untuk menentukan nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitostatik. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka senyawa tersebut semakin toksik (Anggrianti,2008).

Salah satu metode yang umum digunakan untuk menentukan uji sitotoksisitas adalah metode MTT. Prinsip dari metode MTT adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida) oleh sistem reduktase menjadi formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup. Penambahan MTT diabsorpsi ke dalam sel hidup dan dipecah melalui reaksi reduksi oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi mitokondria menjadi formazan yang terlarut dalam SDS 10% berwarna ungu. Penambahan *reagen stepper* (bersifat detergenik) akan melarutkan Kristal berwarna ungu yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan ELISA *reader*. Semakin besar absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel yang hidup.

Langkah kerja :

1. Sel diambil dari inkubator CO<sub>2</sub>, kemudian kondisi sel diamati. Gunakan kultur sel dalam kondisi 80% konfluen untuk dipanen.
2. Sel dipanen sesuai dengan protokol panen.
3. Jumlah sel dihitung dan buat pengenceran sel dengan MK sesuai dengan kebutuhan mengikuti protokol perhitungan sel.
4. Sel ditransfer ke dalam sumuran, masing-masing 100 $\mu$ l. Setiap kali mengisi 12 sumuran, kemudian resuspensi kembali sel agar tetap homogen.
5. Disiapkan 3 sumuran kosong (tidak diisi dengan sel) untuk kontrol media.
6. Kondisi sel diamati menggunakan mikroskop inverted untuk melihat distribusi sel lalu didokumentasikan.
7. Sel diinkubasi dalam inkubator selama semalam (agar sel memutih kembali setelah dipanen).
8. Perlakuan sel dengan sampel dilakukan setelah sel kembali dalam keadaan normal. Jika kondisi sel belum pulih selama semalam maka diinkubasikan kembali. ( kondisi sel selalu diamati sebelum dilakukan perlakuan dan tidak diperkenankan melakukan perlakuan pada sel yang kondisinya belum 80% konfluen).
9. Setelah sel normal kembali, konsentrasi sampel dibuat untuk perlakuan (termasuk kontrol sel dan kontrol DMSO) sesuai dengan protokol preparasi sampel.
10. Kemudian ambil plate yang telah berisi sel dari inkubator CO<sub>2</sub>.

11. Seri konsentrasi sampel dimasukkan ke dalam sumuran (triplo). Lalu inkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> selama semalam. Menjelang akhir waktu inkubasi, kondisi sel di dokumentasikan untuk setiap perlakuan.
12. Media sel dibuang diatas tempat buangan dengan jarak 15 cm, kemudian plate ditekan secara perlahan diatas tisu makan untuk meniriskan sisa cairan.
13. 100µl PBS dimasukkan ke dalam semua sumuran yang terisi sel, kemudian PBS dibuang dengan cara membalik plate . Lalu sisa cairan ditiriskan dengan tisu. Diulangi sekali lagi.
14. Reagen MTT disiapkan untuk perlakuan (0,5 mg/ml) dalam PBS, dengan cara ambil 1 ml stok MTT ditambah 10 ml MK (untuk 1 buah 96-well plate).
15. Reagen MTT 110 µl ditambahkan ke setiap sumuran, termasuk kontrol media (tanpa sel). Kemudian diinkubasi selama 2-4 jam di dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5%, inkubasi ini dilakukan sampai terbentuk formazan.
16. Kondisi sel diperiksa dengan mikroskop *inverted* . Jika formazan telah terbentuk ditambahkan stopper 100µl SDS 10% dalam 0,1 N HCL.
17. Plate dibungkus dengan kertas aluminium foil dan diinkubasi ditempat gelap pada suhu kamar selama semalam.
18. ELISA reader dihidupkan, tunggu proses progressing sampai selesai.
19. Plate dibuka dan ditutup kembali. Masukkan ke dalam ELISA reader, lalu baca absobansi masing-masing sumuran dengan ELISA reader dengan  $\lambda = 550-60$  nm (595 nm).
20. ELISA reader dimatikan lalu simpan sampel dan tempel kertas hasil ELISA pada logbook.

21. Langkah terakhir adalah menghitung persentase sel hidup dan analisis harga  $IC_{50}$  dengan Excell (Regresi Linier dari log konsentrasi) atau SPSS (probit/logit).

#### 4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa absorbansi masing-masing sumuran dikonversi ke dalam persen sel hidup. Kemudian dicari persamaan regresi linearnya dan dihitung konsentrasi  $IC_{50}$  yaitu konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% populasi sel sehingga dapat diketahui potensi sitotoksitasnya. Parameter  $r$  dilihat pada persamaan regresi linier. Jika  $r$  lebih besar dari  $r$  table maka persamaan regresi linier memenuhi standar untuk mencari  $IC_{50}$ . Kemudian  $y = 50\%$  dimasukkan pada persamaan regresi linier dan cari  $x$  nya kemudian dihitung antilog dari konsentrasi tersebut sehingga diperoleh nilai  $IC_{50}$ . Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  suatu senyawa maka semakin besar potensi antikanker pada senyawa tersebut.



## BAB 5

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

#### 1.1 Hasil Pengeringan Sari Jahe dan kacang-kacangan dengan Metode Freeze Drying

Pada penelitian ini pengeringan *freeze drying* dilakukan di Laboratorium Entomologi, Balijestro Kota Batu. Dibutuhkan 100 ml sari jahe dan kacang-kacangan untuk dilakukan pengeringan. Sebelum dikirimkan ke Laboratorium Entomologi, Baljestro, sari jahe dan kacang-kacangan dikemas dalam dua botol kaca masing-masing berisi 50 ml. Setelah itu 100 ml sari jahe dan kacang-kacangan dipindahkan kedalam cawan petri lalu dibekukan hingga suhu -23,8°C. Setelah beku sari jahe dan kacang-kacangan dikeringkan sehingga dihasilkan sari jahe dan kacang-kacangan dengan tekstur mirip seperti selai.



**Gambar 5.1** sampel minuman fungsional sebelum dan sesudah dikeringkan

## 1.2 Hasil Uji Sitotoksisitas Minuman Fungsional Berbasis Jahe dan Kacang-kacangan pada sel HeLa dengan Metode MTT Assay secara In Vitro

Pada penelitian ini dilakukan uji sitotoksisitas terhadap sel HeLa secara *in vitro* (Tabel 5.1) pada masing-masing bahan yaitu sari jahe 22,24 %, sari kedelai 31,78 %, dan sari kacang hijau 45,98 % yang terkandung dalam 100 ml minuman fungsional.

**Table 5.1** Uji sitotoksisitas sampel sari jahe dan kacang-kacangan terhadap sel HeLa dengan 4 rentang konsentrasi

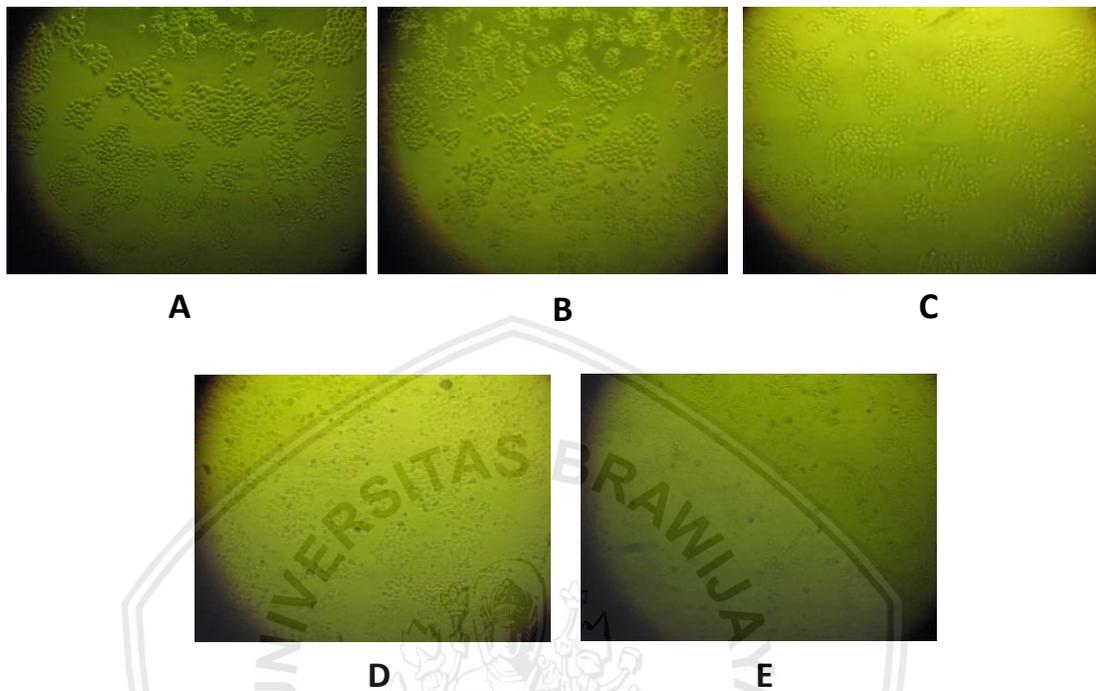
Sampel	Konsentrasi (µg/ml)	%PP1	% PP 2	% PP3	Rata-rata	SD
ENK II	31,25	4,011	5,105	4,011	4,376	1,094
	125	8,660	9,207	8,113	8,660	0,547
	500	10,301	17,958	10,301	12,853	7,657
	1000	23,428	20,146	21,787	21,787	1,641

Keterangan:

PP = Penghambatan Proliferasi

SD = Standar Deviasi

Konsentrasi sampel sari jahe dan kacang-kacangan yang diberikan pada pengujian ini terdiri dari 4 rentang konsentrasi yaitu dari 31,25 hingga 1000 µg/ml. Penghambatan proliferasi tertinggi diperoleh pada perlakuan sampel sari jahe dan kacang-kacangan konsentrasi 1000 µg/ml yaitu sebesar 21,787 %. Untuk mendapatkan nilai  $IC_{50}$  dibuat kurva regresi linier dari konsentrasi sampel 3 yang diberikan dan persen penghambatan proliferasi sel, sehingga diperoleh nilai  $R^2 = 0,9711$ .

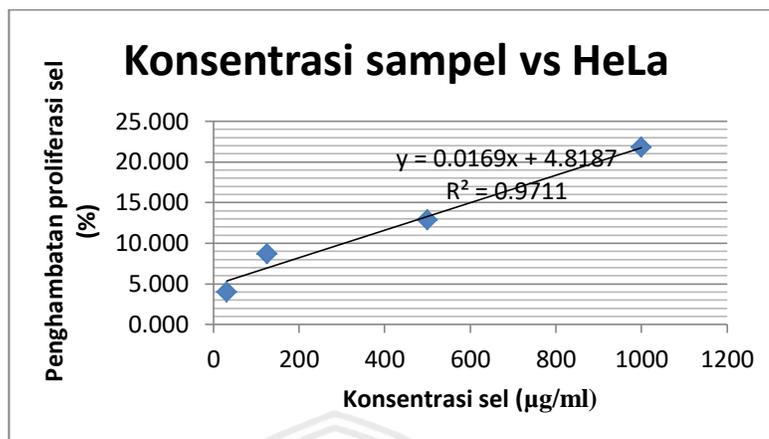


**Gambar 5.2** Sel HeLa Yang Diberi Perlakuan Dengan Rentang Konsentrasi Tertentu

KETERANGAN :

- A: Kontrol Sel HeLa tanpa perlakuan
- B: Konsentrasi 31,25
- C: Konsentrasi 125

- D: Konsentrasi 500
- E :Konsentrasi 1000



**Gambar 5.3.** kurva regresi linier dari konsentrasi sampel sari jahe dan kacang-kacangan dan persentase penghambatan proliferasi sel HeLa.

**Tabel 5.2** Hasil IC<sub>50</sub> Uji Sitotoksitas sampel sari jahe dan kacang-kacangan

Keterangan	Y=mx+c			IC <sub>50</sub> (µg/ml)
	M	c	Y	
Sampel sari jahe dan kacang-kacangan	0,0169	4,8187	50	2767,449

Dari persamaan regresi linier dihitung nilai IC<sub>50</sub> (inhibitory concentration 50) yaitu konsentrasi sampel sari jahe dan kacang-kacangan yang mampu menghambat 50 % proliferasi sel kanker HeLa. Nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh sebesar 2767,449 µg/ml artinya bahwa pada konsentrasi 2767,449 µg/ml tersebut sampel sari jahe dan kacang-kacangan menghambat proliferasi sel sebesar 50% dibandingkan dengan kontrol sel yang tidak mendapatkan perlakuan sampel sari jahe dan kacang-kacangan. Akan tetapi nilai IC<sub>50</sub> ini didapatkan dari hasil ekstrapolasi, karena pada penelitian ini hanya dilakukan hingga konsentrasi 1500 µg/ml.



## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.2 Minuman Fungsional berbasis Jahe dan Kacang-kacangan

Penelitian ini diawali dengan pembuatan minuman fungsional berbasis jahe dan kacang-kacangan. Jahe yang digunakan dalam penelitian ini adalah jahe gajah (*Zingiber officinale var. Roscoe*). Jahe gajah memiliki ukuran rimpang yang besar, aroma tidak terlalu tajam, rasanya tidak terlalu pedas dan berwarna putih kekuningan (Fakhrudin, 2008). Jahe gajah memiliki kandungan minyak atsiri sebesar 0,8% sampai 2,8%. Jahe mengandung komponen minyak tidak menguap (*non volatile oil*) dan minyak menguap (*volatile oil*), senyawa flavonoid dan polifenol dan pati. Minyak atsiri tergolong dalam minyak menguap yang merupakan komponen pemberi bau yang khas pada jahe. Kandungan dari minyak atsiri pada jahe antara lain *α pinen*, *βphellandren*, *borneol*, *limonene*, *linalool*, *citral*, *nonylaldehyde*, *decylaldehyde*, *methylepteno*, *1,8 sineol*, *bisabelin*, *1-α-curcumi*, *farnese*, *humulen*, *phenol*, *asetat* dan yang paling banyak adalah *zingiberen* dan *zingiberol*. Minyak yang tidak menguap atau oleoresin merupakan komponen yang memberikan rasa pedas dan pahit. Oleoresin terdiri atas gingerol dan zingiberen, shagol dan resin. Gingerol memiliki efek sebagai antiinflamasi, anti kanker dan antioksidan (Pairul dan Nasution, 2017).

Pada penelitian ini pembuatan sari jahe dilakukan dengan cara menghaluskan jahe tanpa dikupas menggunakan blender, sedangkan pada penelitian sebelumnya oleh (Mayani *et al.* (2014) menyebutkan bahwa hasil

antioksidan akan lebih optimal apabila jahe diparut karena permukaan jahe yang diparut akan lebih luas dan senyawa antioksidan yang terekstraksi akan lebih banyak, sehingga pada penelitian ini aktivitas antioksidanya rendah dan hasil antioksidan yang rendah tersebut mempengaruhi hasil dari uji sitotoksitas. Pada saat pemanasan minuman fungsional panci yang digunakan tidak ditutup sehingga terjadi penguapan, hal tersebut memungkinkan adanya penurunan aktivitas antioksidan yang juga berpengaruh terhadap hasil  $IC_{50}$  uji sitotoksitas.

Pembuatan sari kedelai diawali dengan perendaman kedelai kering selama semalam. Tujuan perendaman adalah untuk mengurangi bau langu pada kedelai. Setelah melunak kedelai dihaluskan dengan perbandingan air 1:3 dari berat mentah kedelai sebelum direndam. Setelah dihaluskan dan disaring sari kedelai dipasteurisasi dengan metode *Low Temperature Long Time (LTLT)* dengan menggunakan suhu  $61-63^{\circ}C$  selama 30 menit. Kemudian dilakukan pasteurisasi kembali dengan metode yang sama setelah ketiga bahan (sari jahe, sari kedelai, dan sari kacang hijau) dicampur. Pada penelitian ini sari kedelai mengalami pemanasan sebanyak 2 kali. Pada penelitian sebelumnya oleh Salem *et al.* (2015) disebutkan bahwa pemanasan pada sari kedelai dapat menurunkan kandungan antioksidannya. Sehingga pada penelitian ini pemanasan dapat menurunkan hasil antioksidan pada sari kedelai hal tersebut juga mempengaruhi hasil  $IC_{50}$  pada uji sitotoksitas, terlebih lagi sari kedelai mengalami pemanasan sebanyak 2 kali setelah disaring dan setelah ketiga bahan dicampurkan menjadi satu.

Pada proses pembuatan sari kacang hijau terjadi pemanasan sebanyak 3 kali. Pemanasan pertama terjadi saat pembuatan sari kacang hijau dengan

menggunakan panci bertekanan tinggi (*presto*) selama kurang lebih 7 menit. Pemanasan kedua dilakukan saat ketiga bahan telah dicampurkan untuk dibuat formula minuman fungsional. Menurut penelitian oleh Chakraborty & Battacharyya (2014) dikatakan bahwa pemasakan atau pemanasan dapat menurunkan kandungan antioksidan pada kacang hijau.

## **6.2 Uji Sitotoksisitas Minuman Fungsional berbasis jahe dan kacang-kacangan pada sel HeLa dengan Metode MTT Assay Secara *In Vitro***

Pada penelitian ini dilakukan uji sitotoksisitas dengan metode MTT Assay yaitu kemampuan sel hidup mereduksi garam MTT (3-(4,5-dimethylazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) menjadi Kristal formazan. Uji sitotoksisitas dilakukan dengan cara memanen sel yang telah dikultur, kemudian sel HeLa dimasukkan dalam sumuran *96-well plate*. Sel didistribusikan ke dalam 96 sumuran dan diinkubasi selama 24 jam. Pada masing-masing sumuran ditambah 100  $\mu$ l MTT. Selanjutnya diinkubasi kembali selama kurang lebih 2-4 jam. Sel yang hidup akan bereaksi dengan reagen MTT dan membentuk warna ungu. Reaksi MTT dihentikan dengan *reagen stopper* SDS dalam 0,01% HCL sebanyak 100  $\mu$ l, kemudian diinkubasi semalam pada suhu kamar dan ditutup dengan aluminium foil pada tempat gelap selama 24 jam. Absorbansi masing-masing sumuran dibaca menggunakan *ELISA reader* dengan gelombang 595 nm. Pada penelitian ini dilakukan pengukuran absorbansi dari perlakuan dan kontrol pada masing-masing konsentrasi ekstrak minuman fungsional berbasis jahe dan kacang-kacangan. Perlakuan adalah sel HeLa dengan ekstrak minuman fungsional berbasis jahe dan kacang-kacangan dan kontrolnya adalah sel HeLa tanpa ada perlakuan.

Hasil uji sitotoksitas pada penelitian ini ditunjukkan dengan hasil  $IC_{50}$  sebesar 2673,449  $\mu\text{g/ml}$ . Menurut US National Cancer Institute sebuah sampel dikatakan berpotensi antikanker apabila memiliki nilai  $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/ml}$ . Pada penelitian Widowati (2015) menyebutkan bahwa sebuah sampel berpotensi antikanker apabila memiliki rentang nilai berkisar 23  $\mu\text{g/ml}$  sampai dengan 110  $\mu\text{g/ml}$ . Sehingga dapat disimpulkan bahwa minuman fungsional berbasis jahe dan kacang-kacangan pada penelitian ini tidak berpotensi sebagai antikanker karena memiliki nilai lebih dari 110  $\mu\text{g/ml}$ .

Besarnya nilai  $IC_{50}$  pada uji sitotoksitas dapat disebabkan oleh beberapa hal, pada penelitian ini besarnya nilai  $IC_{50}$  kemungkinan bisa disebabkan karena sel HeLa mempunyai membran sel yang tebal. Setiap sel kanker memiliki karakteristik yang berbeda-beda seperti struktur dan permeabilitas membran sel sehingga berpengaruh terhadap efek sitotoksitas suatu senyawa terhadap sel kanker. Semakin tinggi permeabilitas membran sel maka senyawa tersebut akan lebih mudah menembus ke dalam sel (Atmaningsih,2008). Proses pemanasan juga dapat mempengaruhi kandungan antioksidan pada sari jahe, sari kedelai dan sari kacang hijau. Pada penelitian ini dilakukan beberapa kali pemanasan pada saat pembuatan minuman fungsional. Sehingga lemahnya efek sitotoksik dipengaruhi kandungan antioksidan yang menurun pada saat pemanasan. Selain disebabkan karena pemanasan dan ketebalan membran sel pada sel HeLa, jenis pelarut yang digunakan juga mempengaruhi hasil antioksidan pada minuman fungsional berbasis jahe dan kacang-kacangan. Pada penelitian ini jenis pelarut yang digunakan adalah air sedangkan pada penelitian Fadilah (2013) mengatakan bahwa pelarut n-heksana

memiliki efek sitotoksik yang kuat dibandingkan dengan pelarut lainnya. Hal ini dibuktikan dengan nilai  $IC_{50}$  ekstrak jahe merah yang diinkubasi menggunakan fraksi n-heksana mempunyai efek sitotoksik yang kuat dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 20.105  $\mu\text{g/ml}$ .

Pada penelitian ini inkubasi ekstrak dilakukan selama 24 jam hal tersebut juga dapat mempengaruhi besarnya nilai  $IC_{50}$ . Menurut penelitian Fadilah (2013) dikatakan bahwa waktu inkubasi ekstrak mempengaruhi aktivitas poliferasi sel, semakin lama waktu inkubasi maka aktivitas poliferasi sel semakin rendah. Sehingga diperkirakan hasil  $IC_{50}$  yang besar dapat dipengaruhi oleh beberapa hal yaitu proses pemanasan, ketebalan membrane sel, jenis pelarut yang digunakan dan lamanya waktu inkubasi ekstrak yang diujikan.

### **6.3 Implikasi Bidang Gizi**

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa minuman fungsional berbasis jahe dan kacang-kacangan tidak terbukti atau tidak berpotensi sebagai antikanker pada sel kanker serviks HeLa. Hal ini mungkin disebabkan karena sampel jahe yang digunakan merupakan jahe gajah. Menurut penelitian Fadilah (2013) ekstrak jahe merah memiliki potensi sitotoksik terhadap sel HeLa lebih baik. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak jahe merah memiliki potensi antikanker yang lebih baik jika dibandingkan dengan jahe gajah. Akan tetapi terdapat perbedaan perlakuan pada penelitian Fadilah (2013) dengan penelitian ini. Pada penelitian Fadilah (2013) ekstrak jahe diberikan larutan n-heksan sedangkan pada penelitian ini sari jahe tidak diberikan larutan apapun selain air. Larutan n-heksan sendiri memiliki efek sitotoksik yang lebih baik dibandingkan dengan pelarut yang lainnya. Walaupun ekstrak jahe

merah memiliki efek sitotoksik lebih baik jika dibandingkan dengan minuman fungsional berbasis jahe dan kacang-kacangan, namun ekstrak jahe merah ini bukanlah bahan makanan yang dapat secara langsung dikonsumsi sebagai makanan atau minuman sehari-hari karena rasa dari produk ekstrak jahe merah memiliki tingkat kepedasan yang kurang bisa diterima.

#### **6.4 Keterbatasan Penelitian**

Penelitian ini telah dilaksanakan sesuai kemampuan peneliti, namun demikian masih memiliki beberapa keterbatasan yaitu:

1. Pada penelitian ini proses pasteurisasi dengan metode *Low Temperature Long Time (LTLT)* masih menggunakan peralatan yang sederhana sehingga sulit untuk menstabilkan suhunya.
2. Tidak dilakukan proses fraksinasi pada ekstrak minuman fungsional berbasis jahe dan kacang-kacangan. Proses fraksinasi sendiri bertujuan untuk memisahkan senyawa khusus yang akan diteliti.

## BAB 7

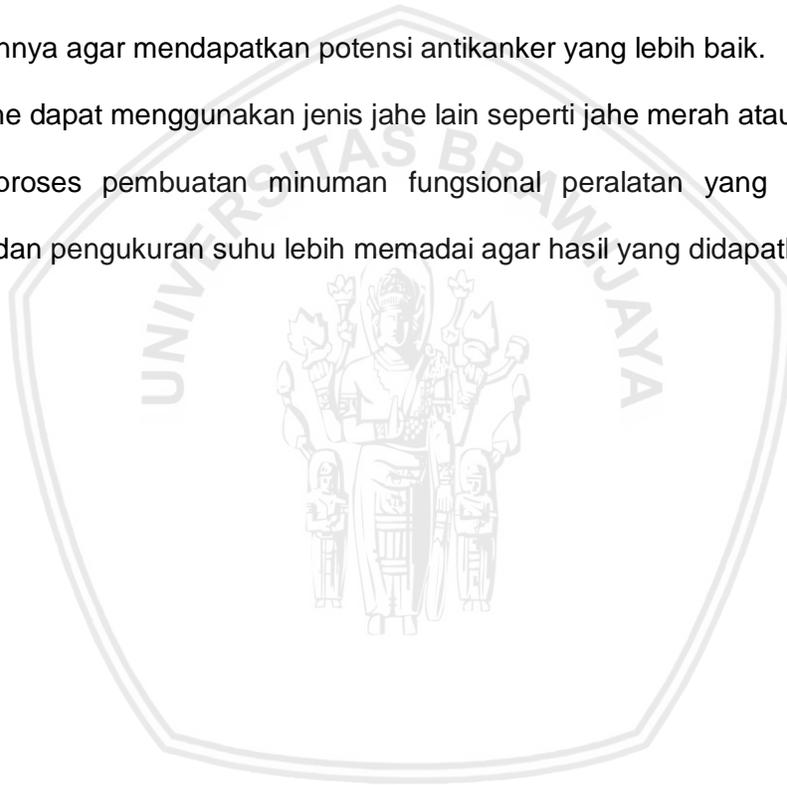
### PENUTUP

#### 1.1 Kesimpulan

Dari hasil Uji Sitotoksisitas minuman fungsional berbasis jahe dan kacang-kacangan tidak terbukti berpotensi sebagai antikanker.

#### 1.2 Saran

1. Dalam proses ekstraksi dapat menggunakan pelarut lain selain air seperti fraksi n-heksana atau yang lainnya agar mendapatkan potensi antikanker yang lebih baik.
2. Pemilihan jahe dapat menggunakan jenis jahe lain seperti jahe merah atau jahe emprit.
3. Pada saat proses pembuatan minuman fungsional peralatan yang digunakan untuk pasteurisasi dan pengukuran suhu lebih memadai agar hasil yang didapatkan lebih optimal.



## DAFTAR PUSTAKA

- Ali, B.H., G. Blunden, M.O. Tanira, dan A. Nemmar. Some Phytochemical, Pharmacological, and Toxicological Properties of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). a Review of Recent Research. *Food and Chemical Toxicology*, 2008; 46:409-420.
- Anggraini, F. N. 2011. *Intensitas Kepedasan dan Penerimaan Oanelis terhadap Oleoresin Jahe Gajah (Zingiber officinale var. Amarum), dan jahe Merah (zingiber officinale var. rubrum)*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Anggrianti, 2008. *Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Kemukus (Piper cubela L.) Terhadap Sel HeLa*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Atman, 2007. *Teknologi Budidaya Kacang Hijau (Vigna radiataL) Dilahan Sawah*. Peneliti Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Sumatra Barat.
- Atmaningsih, F.R. 2008. *Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanolik Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav) Terhadap Kultur Sel HeLa*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Chakraborty, S. dan Battacharya, J. *Contraception and The Fertility Transition*. 2014.
- El-Baroty, G.S., El-Baky, H.H.A., Farag.R.S. and Saleh, M.A. Characterization of antioxidant and antimicrobial compounds of cinnamon and ginger essential oils, *Afr. J. Biochem. Res*, 2010; 167-174.
- Fadlilah, Maya. 2013. *Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Dan Fraksi Jahe Merah (Zingiber Officinale) ) Terhadap Sel Hela Secara In Vitro*. Prodi DIII Keperawatan Stikes Muhammadiyah Palembang
- Fakhrudin, 2008. *Kajian Karakteristik Oleoresin Jahe Berdasarkan Ukuran Dan Lama Perendaman Serbuk Jahe Dalam Etanol*. (Skripsi). Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Fithrah, B. A. (2014). *Penatalaksanaan Mual Muntah Pascabedah di Layanan Kesehatan Primer*, 41(6), 407–411.
- Fisca, 2012. *Wanita dan kanker rahim*. Diakses tanggal 30 Januari 2019. [http://www.kanker\\_insiden.com](http://www.kanker_insiden.com).
- Ghasemzadeh, A. dan Ghasemzadeh, N. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2011, 5(31):6697-6703.
- GLOBOCAN. 2012. *International Agency For Research On Cancer*.
- Hanief, S. (2013). *Efektivitas Ekstrak Jahe ( Zingiber officinale Roscoe) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus viridans*.
- Hariadi, 2013. Freeze drying Technology: For Better Quality and Flavor of Dried Product. *FOOD REVIEW INDONESIA | VOL. VIII/NO. 2/FEBRUARI 2013*
- Herawati, N., Sukatiningsih, dan Windrati, W. S. (2009). Pembuatan Minuman Fungsional Berbasis Ekstrak Kulit Buah Naga Merah ( *Hylocereus polyrhizus* ) , Rosela ( *Hibiscus sabdariffa* L.) Dan Buah Salam ( *Syzygium Polyanthum* Wigh Walp ). *Jurnal Agroteknologi*, 6(1), 40–50.
- Kemkes RI. Panduan Program Nasional Gerakan Pencegahan dan Deteksi Dini Kanker: Kanker Leher Rahim dan Kanker Payudara. Jakarta; 2015
- Mahmud, Mien K., Zulfianto, dan Aria, Nils. 2009. *Tabel Komposisi Pangan Indonesia*. PT Elex

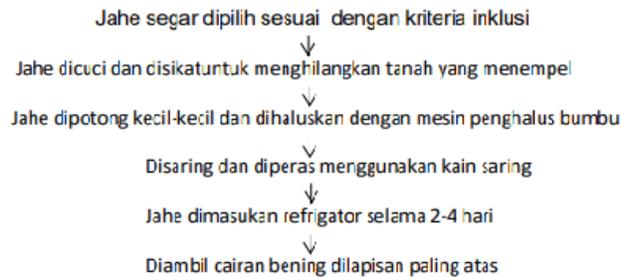
Media Komputindo, Jakarta.

- Masrurah, S. Wulan, A.J. *Khasiat Jahe (Zingiber officinale) sebagai Anti Mual dan Muntah pada Wanita Hamil*. Majority, 2016,5:107-111.
- Mayani, L., Yuwono, Sudarminto S., dan Ningtyas. Dian W. Pengaruh Pengecilan Ukuran Jahe dan Ratio Air Terhadap Sifat Fisik Kimia dan Organoleptik Pada Pembuatan Sari Jahe (*Zingiber officinale*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2014, 2(4):148-158.
- Pairul dan Nasution, 2017. *Jahe (Zingiber Officinale) Sebagai Anti Ulserogenik*. Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung
- Peckenpaugh J. Nancy.2009. *Nutrition Essentials and Diet Therapy*. Philadelphia:Saunders Elsevier.
- Prayetni. (2007). *Gambaran umum kanker leher rahim*. Disajikan Dalam Kanker Serviks Usia Subur. (Darmawati 2017) Fakultas Kedokteran, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.
- Rahayu S .,2015. *Asuhan Ibu Dengan Kanker Serviks*. Jakarta: Salemba Medika
- Rasjidi, I. (2007). *Vaksin Human Papilloma Virus Dan Eradikasi Kanker Mulut Rahim*. Surabaya: FKU Brawijaya.
- Salem, S.A, El-Mergawi, R.A & I. S. Ashoush. Effect Of Technological Processing And Fermentation Of Soy Milk on The Content of Isoflavones and Antioxidant Status IMPACT. *International Journal of Research in Applied, Natural and Social Sciences (IMPACT:IJRANSS)*, 200, 3(5):1-8
- Siegel RL, Ferlay J, Lortet-tieulent J, Torre LA, Bray F, Jemal A. Global Cancer Statistics, 2013. *CA a cancer J Clin*. 2015;65(2):87-108.
- Singh, N.P. dan Mishra, B.K. A Double-edge Sword To Force Posterior Dominance of Hox Genes. *BioEssays*, 2008, 30:1058-1061.
- Stoilova, I., Krastanov, A. & Stoyanova, A. Food Chemistry Antioxidant Activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*) . *Elsevier Food Chemistry*, 2007,102:764-770.
- Susanti, L., dan Tarigan, M. (2013). Karakteristik Mual dan Muntah Serta Upaya Penanggulangan Oleh Penderita Kanker yang Menjalani Kemoterapi. *Universitas Sumatera Utara*, 1–5.
- Widowati, W., Widyanto, R.M., Lakmitawati, D.R., Erawijantari, P.P., Wijaya, L., & Sandra, F. (2015). Phytochemical, Free Radical Scavenging and Cytotoxic Assay of Cucumis Melo L. Extract an  $\beta$ -Carotene. *journal of Advanced Agricultural Technologies*, 2(2).doi:10.12720/joaat.2.2.114-119.
- Wiraharja S *et al*. 2011. Kegunaan Jahe Untuk Mengatasi Gejala Mual dan Muntah Pada Kehamilan. Departemen Ilmu Kesehatan Masyarakat - Gizi, Fakultas Kedokteran Unika Atma Jaya.
- Xue, zhaohui., Wang, Cen., Zhai,.Lijuan., Yu, Wangchong., Chang, Huiru., Kou, Xiahang & Zou, Fengjuan. Bioactive Compounds and antioxidants Activity of Mung Bean (*Vigna radiate L.*) Soybean (*Glycine max L.*) and Black Bean (*Phaseolus vulgaris L.*) during the Germination Process. *Czech Journal Food Science*, 2016, 68-87
- Yusuf, 2014. Pemanfaatan Kacang Hijau Sebagai Pangan Fungsional Mendukung Diversifikasi Pangan Di Nusa Tenggara Timur. Peneliti Balai Pengkajian Teknologi Pertanian NTT.

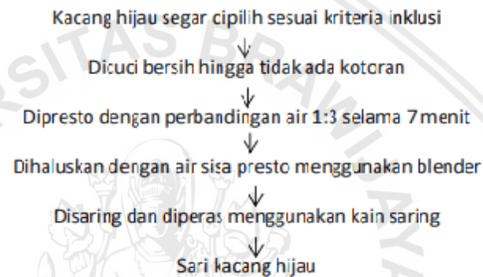


## Lampiran 1. Alur Pembuatan

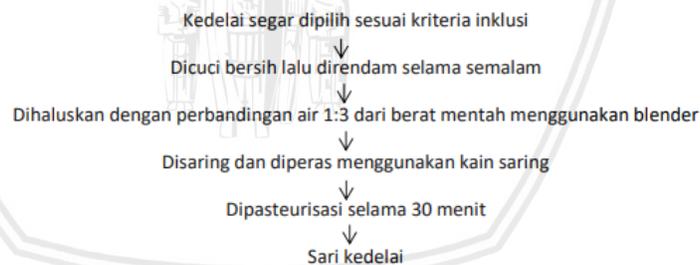
### Alur pembuatan Sari jahe



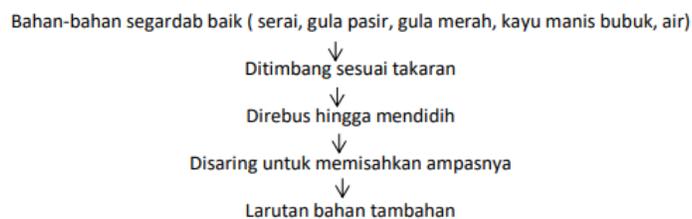
### Alur pembuatan sari kacang hijau



### Alur pembuatan sari kedelai



### Alur pembuatan bahan tambahan



## Lampiran 2. Laporan Hasil Analisa

**Laporan Hasil Analisa***Report of Analysis*

No. /LAP UJI/LAPTIAB/X/2018

1. Prinsipal
  - 1.1. Nama : Micho
  - 1.2. Alamat : Universitas Brawijaya, Malang
  - 1.3. Alamat email :
  - 1.4. Telp./Fax/HP :
2. Barang yang diuji (sampel)
  - 2.1. Jenis sampel : Ekstrak kering  
Jumlah sampel : 1 (satu)
  - 2.2. Nama sampel : -
  - 2.3. Jenis pengujian : Uji Sitotoksitas terhadap sel HeLa
  - 2.4. Metode pengujian : Metode MTT (IP.05-03/FAR/LAPTIAB/BPPT)

## 3. Hasil pengujian :

Hasil uji sitotoksitas sampel terhadap sel kanker HeLa

No.	Kode Sampel	Nama Sampel	IC50 ( $\mu\text{g/mL}$ )	Teknik Pengujian
1.	Sampel 1	Minuman fungsional	2767,449	Pengujian sitotoksitas metode MTT menggunakan sel kanker HeLa

\*) Pengujian dilakukan triplo

### Lampiran 3. Lampiran Hasil Pengujian

#### LAMPIRAN HASIL PENGUJIAN

Uji sitotoksitas sampel menggunakan metode MTT yang dibaca dengan ELISA Reader dengan panjang gelombang 570 nm dengan hasil sebagai berikut :

##### 1. Sampel 1 vs HeLa

Hasil uji sitotoksitas sampel 1 tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji sitotoksik sampel 1 terhadap sel HeLa dengan 4 rentang konsentrasi

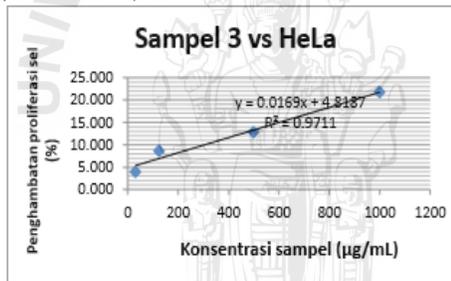
Sampel	Konsentrasi (µg/ml)	%PP1	% PP 2	% PP3	Rata-rata	SD
ENK II	31,25	4,011	5,105	4,011	4,376	1,094
	125	8,660	9,207	8,113	8,660	0,547
	500	10,301	17,958	10,301	12,853	7,657
	1000	23,428	20,146	21,787	21,787	1,641

Keterangan:

PP = Penghambatan Proliferasi

SD = Standar Deviasi

Konsentrasi sampel 3 yang diberikan pada pengujian ini terdiri dari 4 rentang konsentrasi yaitu dari 31,25 hingga 1000 µg/ml. Penghambatan proliferasi tertinggi diperoleh pada perlakuan sampel 1 konsentrasi 1000 µg/ml yaitu sebesar 21,787 %. Untuk mendapatkan nilai IC<sub>50</sub> dibuat kurva regresi linier dari konsentrasi sampel 3 yang diberikan dan persen penghambatan proliferasi sel, sehingga diperoleh nilai R<sup>2</sup> = 0,9711



Gambar 3. kurva regresi linier dari konsentrasi sampel 3 dan persentase penghambatan proliferasi sel HeLa

Keterangan	Y = mx + c			
	m	c	y	IC50(µg/ml)
Sampel 1	0,0165	4,3371	50	2767,449

Dari persamaan regresi linier dihitung nilai IC<sub>50</sub> (inhibition concentration 50) yaitu konsentrasi sampel 1 yang mampu menghambat 50 % proliferasi sel kanker HeLa. Nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh sebesar 2767,449 µg/ml artinya bahwa pada konsentrasi 2767,449 µg/ml tersebut sampel 1 menghambat proliferasi sel sebesar 50% dibandingkan dengan kontrol sel yang tidak mendapatkan perlakuan sampel 1.

Lampiran 4. Peta Plate



Peta Plate

### Lampiran 5. Pembuatan sari jahe



Penimbangan jahe (yang sudah dipilih)



Jahe yang sudah dipotong kecil



Pencucian jahe



Penghalusan jahe dengan blender



jahe yang sudah dicuci dan disikat



Pemerasan sari jahe



Pemotongan jahe tanpa dikupas kulitnya



Pengendapan sari jahe untuk diambil cairan beningnya

### Lampiran 6. Pembuatan sari kedelai dan kacang hijau



**Kedelai aniasmoro**



**Kacang hijau Vima-1**



**Kedelai yang sudah dicuci bersih**



**Pemasakan kacang hijau dengan panci presto**



**Penghalusan kedelai**



**Penghalusan kacang hijau**



**Sari kedelai yang sudah dipanaskan**



**Sari kacang hijau yang sudah diperas**

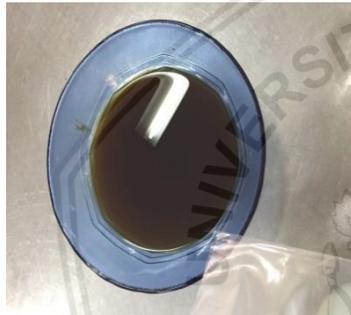
**Lampiran 7. Pembuatan bahan tambahan dan pengeringan Freeze Drying**



**Serai (bahan tambahan)**



**Gula merah dan gula pasir  
(bahan tambahan)**



**Hasil bahan tambahan**



**Minuman fungsional (sari jahe dan kacang-kacangan)**

### Lampiran 8. Hasil Pengeringan Freeze Drying



Sampel jahe dalam cawan petri



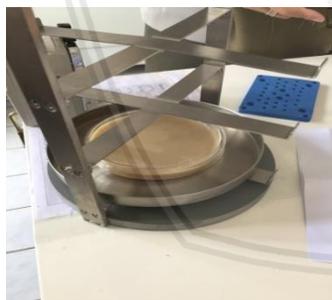
Sampel dikeringkan selama 2 minggu



Proses pembekuan sampel



Hasil pengeringan freeze drying



Sampel dimasukkan ke rak pengeringan