ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

SKRIPSI

YANU ANDHIARTO

FRAKSINASI EKSTRAK *n*-HEKSANA HERBA ARBENAN (*Fragaria indica* Andr.) DAN UJI PRASKRINING AKTIVITAS ANTIKANKER DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BST).

FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
BAGIAN ILMU BAHAN ALAM
SURABAYA

2006

PERPUSTAKAAN NASIONAL
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

Lembar Pengesahan

FRAKSINASI EKSTRAK *n*-HEKSANA HERBA ARBENAN (*Fragaria indica* Andr.) DAN UJI PRASKRINING AKTIVITAS ANTIKANKER DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BST).

SKRIPSI

Dibuat Untuk Memenuhi Syarat Mencapai Gelar Sarjana Farmasi
Pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
2006

Oleh :

YANU ANDHIARTO
050110018E

Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama	Pembimbing Serta
Drs. Sukardiman, Apt., MS	Drs. Abdul Rahman, Apt., MSi
NIP. 131801629	NIP. 131653432

nta
92

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Alhamdulillahirobbil'alamin, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala atas segala limpahan rahmat, nikmat dan pertolonganNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan "FRAKSINASI EKSTRAK *n*-HEKSANA HERBA ARBENAN (*Fragari indica* Andr.) DAN UJI PRASKRINING AKTIVITAS ANTIKANKER DENGAN METODE BRINE SHRIMP LETHALITY TEST (BST)" yang diajukan untuk memenuhi persyaratan akademis Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Penulisan skripsi ini dapat diselesaikan dengan adanya bantuan dari berbagai pihak oleh karena itu, dengan hati tulus perkenankan penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. H. Noor Cholies Zaini selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
2. Drs. Sukardiman, MS. selaku dosen pembimbing utama yang senantiasa membimbing dan banyak memberikan semangat serta bantuan baik material maupun spiritual.
3. Drs. Abdul Rahman, MSi. Selaku dosen pembimbing serta yang sabar dalam memberikan bimbingan, saran, dan kritikan kepada penulis.
4. Dra. Wiwied Ekasari, Apt., MS., Dr. Bambang Prayogo E.W., Apt., MS., dan Dra. Aty Widyawaruyanti, Apt., MSi. Selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan kritik dan saran kepada penulis.
5. Laboran di Bagian Ilmu Bahan Alam, P.Jarwo, mas Iwan, mas Machfud, P.Lismo

1. Para dosen yang telah mendidik dan mengajarkan ilmu pengetahuan sampai penulis dapat menyelesaikan pendidikan Sarjana Farmasi.
2. Keluarga tercinta (Bapak-Ibu dan adikku "dinar imut"), yang senantiasa selalu memberikan dukungan, kasih sayang dan doanya.
3. Dek Nita dengan sabar memberikan semangat, pengertian, dan kasih sayang.

4. Keluarga P.Ren (SBY), Keluarga Tante Har, dek Hendra, dek Kiki yang selau memberikan semangat , dukungan dan bantuan yang sangat berharga.
5. Teman-teman seperjuangan 2001 Elly M (Trims bgt yach), mbak Ani, Wahyu H., Robby, Ardis, Indah K.S
6. Teman-teman di lab. Adit, Farida, Arum, Nia, Afraz, Veri, Astri, Eko.
7. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah banyak membantu dan memberikan dukungan kepada penulis

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan, untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran bagi semua pihak. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi illmu pengetahuan dan pembaca pada umumnya demi kemajuan farmasi.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Surabaya, Februari, 2007

Penulis

RINGKASAN

Kanker merupakan salah satu ancaman utama di bidang kesehatan. Guna mendukung pencarian obat kanker yang spesifik, saat ini banyak dilakukan penggalian dari bahan-bahan alam. Indonesia terkenal dengan kekayaannya akan berbagai jenis tumbuhan yang berkhasiat obat, bahkan temasuk salah satu negara yang memiliki keanekaragaman flora terbesar didunia. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian-penelitian yang berguna bagi pengembangan dalam pemanfaatan flora yang ada secara maksimal alam termasuk untuk pengobatan kanker.

Dalam suatu penelitian yang dilakukan oleh Koshiura dkk (1985) ekstrak metanol dari akar *Agrimoma pilosa* Leded (Familia Rosaceae) dengan senyawa aktif *agrimonine* yang menunjukkan aktivitas sitotoksik dimana dapat menghambat sarkoma$_{180}$, fibrosarkoma dan kanker payudara. Berdasarkan studi kemotaksonomi maka tanaman yang memiliki kekerabatan cukup dekat kemungkinan memiliki kandungan senyawa yang hampir sama. Jenis lain dari suku Rosaceae yang tumbuh di Indonesia yaitu *Fragaria indica* Andr.

Salah satu metode untuk menguji senyawa yang berkhasiat sitotoksik adalah dengan uji toksisitas terhadap kematian larva udang dari *Artemia salina* Leach atau *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Penelitian dengan metode ini menghitung respon kematian 50% larva udang (LC_{50}). Tingkat toksisitas fraksi tanaman dapat ditentukan dengan melihat harga LC_{50} nya. Apabila harga $LC_{50} < 200$ µg/ml dikatakan toksik, sebaliknya apabila harga $LC_{50} > 200$ µg/ml dikatakan tidak toksik (Meyer *et al.*, 1982).

Hasil fraksinasi ekstrak *n*-heksana herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) diperoleh enam fraksi. Dari keenam fraksi yang di uji ada empat fraksi yang mempunyai harga $LC_{50} < 200$ µg/ml, yaitu fraksi III LC_{50} 132,89 ± 6,41 µg/ml; fraksi IV LC_{50} 118,25 ± 8,12 µg/ml; fraksi V LC_{50} 87,39 ± 3,26 µg/ml; fraksi VI LC_{50} 128,22 ± 8,61 µg/ml. Penelitian ini masih merupakan pendahuluan yang perlu dilanjutkan dengan uji aktivitas antikanker secara invivo maupun invitro.

ABSTRACT

Rosaceae have been showed as anticancer activity. *Fragaria indica Andr.* is an example of a rosaceae. It has a toxicity in *n*-heksane extract. Fractination of *n*-heksane exstract arbenan herbs (*Fragaria indica Andr.*) with decrease 5-10% by Vaccum Chromatography result *n*-heksane fraction. Identification each *n*-heksane fraction used Thin layer Chromatography with Anisaldehide sulfate.

The aim of this reseach was to examine the toxicity of *n*-heksane of *Fragaria indica Andr.* againts *Artemia salina* Leach. by *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) method. The fraction effect on *Artemia salina* Leach was eaxamined in 24 hours to find out the death percentage of *Artemia salina* Leach caused by each fraction concentration. The data were analyzed statistically to find out the LC_{50} using *Probit Analysis*.

The Result showed that *n*-heksana fraction had anticancer activity where the fifth fraction (LC_{50} 87,39 ± 3,26 μg/ml.) had highest anticancer activity compared the others. Further characterization and isolation are still for development in future.

Keywords : *Fragaria indica* And., anticancer activity, *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) method, *Probit Analysis*

DAFTAR ISI

Halaman

KATA PENGANTAR v
RINGKASAN vii
ABSTRACT viii
DAFTAR ISI ix
DAFTAR TABEL xi
DAFTAR GAMBAR xii
DAFTAR LAMPIRAN xiii
BAB I PENDAHULUAN 1
1.1 Latar Belakang Masalah 1
1.2 Rumusan Masalah 4
1.3 Tujuan Penelitian 4
1.1.1. Tujuan Umum 4
1.1.2. Tujuan Khusus 4
1.4 Hipotesa Penelitian 4
1.5 Manfaat Penelitian 4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 6
2.1 Tinjauan tentang *Fragaria indica* Andr 6
2.1.1 Klasifikasi Tanaman 6
2.1.2 Nama Daerah 6
2.1.3 Penyebaran Dan Tempat Tumbuh Tanaman 6
2.1.4 Morfologi Tanaman 7
2.1.5 Khasiat Tanaman 7
2.1.6 Kandungan Tanaman 7
2.1.7 Penelitian Aktivitas Herba Arbenan 7
2.2 Tinjauan Kanker 8
2.2.1 Definisi Kanker 8
2.2.2 Penyebab Kanker 9
2.2.3 Sifat Kanker 11
2.2.4 Perbedaan Sel Kanker Dan Sel Normal 11

2.3 Tinjauan Tentang Brine Shrimp Lethality Test.....12
2.4 Tinjauan Tentang Antikanker.....15
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL.....18
3.1 Kerangka Konseptual.....18
3.2 Bagan Kerangka Konseptual.....19
BAB IV BAHAN, ALAT DAN METODE PENELITIAN.....20
4.1 Bahan Penelitian.....20
4.1.1 Bahan Tanaman.....20
4.1.2 Bahan Kimia Lain.....21
4.2 Alat-alat Penelitian.....21
4.3 Prosedur Penelitian.....22
4.3.1 Penyiapan Bahan.....22
4.3.2 Pembuatan Ekstrak n-heksana.....22
4.3.3 Pembuatan Fraksi-fraksi *n*-heksana.....22
4.3.4 Uji Praskrining Antikanker Fraksi-fraksi *n*-heksana Dengan Metode BST.....24
4.4 Analisis Data.....26
BAB V Hasil Penelitian.....28
5.1 Hasil KLT Fraksi *n*-heksana.....28
5.2 Pembuatan Larutan Uji.....31
5.3 Hasil Uji AktivitasAntikanker Fraksi *n*-heksana herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) Dengan Metode BST.....27
5.4 Penentuan Harga LC_{50} Fraksi *n*-heksan Terhadap Larva *Artemia salina* Leach. dengan *Probit Análisis*.....37
5.5 Hasil KLT Steroid Fraksi *n*-heksana.....40
BAB VI. PEMBAHASAN.....41
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN.....44
DAFTAR PUSTAKA.....45
LAMPIRAN.....46

DAFTAR TABEL

halaman

TABEL IV.1 Fraksi-fraksi n-heksana (n-heksana : etil asetat) Secara Gradien Dengan Penurunan 5% - 10% 23

TABEL IV.2 Data Probit Analysis 26

TABEL V.1 Nilai Rf Fraksi yang Diuji 30

TABEL V2 Berat Gabungan Fraksi 30

TABEL V3 Pembuatan Larutan Uji 31

TABEL V4 Hasil Uji Aktivitas Antikanker Fraksi n-heksana Herba Arbenan (*Fragari indica* Andr.) 32

TABEL V5 Hasil Penentuan Harga LC50 Fraksi n-heksana Herba Arbenan (*Fragari indica* Andr.) Dengan *Probit Analysis*..... 38

DAFTAR GAMBAR

halaman

Gambar 2.1 Larva Udang *Artemia salina* Leach. 14
Gambar 3.1 Skema Kerangka Konseptual 19
Gambar 4.1 Gambar Herba Arbenan (*Fragaria indica* Andr.) 20
Gambar 4.2 Skema Rancangan Kerja 27
Gambar 5.1 Hasil Analisis KLT Fraksi *n*-heksana Herba Arbenan (*Fragaria indica* Andr.) 28
Gambar 5.2 Hasil Analisis KLT Setelah Penggabungan 29
Gambar 5.3 Histogram Aktivitas Antikanker Dengan Metode BST Dari Fraksi-fraksi *n*-heksan Hasil Pemisahan Dengan Kromatografi Kolom Vakum 39
Gambar 5.4 Hasil Analisis KLT Fraksi n-heksana Herba Arbenan (*Fragaria indica* Andr.) Dengan Pembanding Standart Sterol 40

DAFTAR LAMPIRAN

halaman

1. Surat Keterangan Determinasi Tanaman.....47
2. Ilustrasi konsep dosis efektif median (ED_{50}) dan dosis kematian median(LD_{50}).....48
3. Kurva konsentrasi-respon toksisitas menggunakan unit probit pada kertas semi log.....49
4. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana I replikasi I.....50
5. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana I replikasi II.....52
6. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana I replikasi III.....54
7. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana II replikasi I.....56
8. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana II replikasi II.....58
9. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana II replikasi III.....60
10. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana III replikasi I.....62
11. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana III replikasi II.....64
12. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana III replikasi III.....66
13. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana IV replikasi I.....68
14. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana IV replikasi II.....70
15. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana IV replikasi III.....72
16. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana V replikasi I.....74
17. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana V replikasi II.....76
18. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana V replikasi III.....78
19. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana VI replikasi I.....80
20. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksanaVI replikasi II.....82
21. Penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksana VI replikasi III.....84

BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Kanker merupakan salah satu ancaman utama di bidang kesehatan. Di Inggris, kematian akibat penyakit kanker menduduki peringkat kedua setelah penyakit kardiovaskuler. Sedangkan di Indonesia, kematian akibat kanker menduduki peringkat keenam (Anonim, 1988).

Insiden kanker di Indonesia diperkirakan 100 per 100.000 penduduk per tahun atau sekitar 200.000 penduduk per tahun. Pada survei kesehatan rumah tangga yang disenggarakan Badan Litbangkes, ditemukan bahwa 1,4% dari seluruh kematian disebabkan oleh kanker. Angka ini meningkat menjadi 3,4% pada tahun 1980 dan 4,3% pada tahun 1986 (Dalimartha, 2003). Tingginya angka kematian yang disebabkan oleh kanker karena pasien yang pengindap kanker terlambat dideteksi dan baru diketahui setelah melewati stadium tertentu.

Kanker merupakan kata yang lebih sering digunakan dalam lingkungan masyarakat dibandingkan dalam lingkungan kedokteran; secara umum mempunyai arahan kepada tumor malignant (ganas) atau neoplasma. Menurut Robinson dan Kumar (1992), kanker adalah masa jaringan abnormal dengan pertumbuhan berlebih dan tidak ada koordinasi dengan jaringan normal dikarenakan terjadi gangguan atau kehilangan mekanisme pengontrol pertumbuhan dan pembelahan sel dan tetap tumbuh secara berlebih setelah stimulus yang menyebabkan pertumbuhan tersebut terhenti.

Penyakit kanker merupakan salah satu penyakit yang ditakuti oleh sebagian besar manusia karena sifatnya yang mematikan dan belum ada obat yang memuaskan. Walaupun telah banyak dilakukan penelitian untuk mendapatkan obat kanker baru yang lebih poten untuk mengobatinya (Oetari R.A., 1999). Kanker tidak pandang bulu, dapat menyerang siapa pun pada semua golongan umur, tanpa memandang jenis kelamin, kebangsaan, atau golongan. Namun demikian, kanker lebih sering menyerang manusia yang berusia lebih dari 40 tahun. Jenis kanker tertentu dapat lebih banyak mengenai golongan tertentu pula.

Kelompok utama bahan penyebab kanker (karsinogenik) dapat berasal dari luar tubuh (Eksogen) dan yang berasal dari dalam tubuh (Endogen). Karsinogenik yang berasal dari luar tubuh yang telah diketahui adalah karsinogen kimiawi, karsinogen virus, karsinogen radiasi, dan agen biologik (Djojopranoto, 1963; Tjarta, 1996). Sedangkan karsinogen yang berasal dari dari dalam tubuh adalah faktor genetik, diet atau makanan, faktor konstitusional, rangsang menahun, lesi dan kondisi pramaligna serta paparan transplasenta (Underwood, 1999; Tjarta, 1996).

Badan WHO menyatakan bahwa sepertiga dari seluruh kejadian kanker dapat dicegah, sepertiga lagi dapat disembuhkan, dan sisanya dapat dibebaskan dari rasa nyerinya jika diberikan pengobatan. Jenis pengobatan kanker yang digunakan pada dasarnya sama, yaitu dengan pembedahan (operasi), penyinaran atau radiasi (radioterapi), obat-obatan pembunuh sel kanker (khemoterapi), pengobatan dengan hormon, serta tumbuhan obat atau simplisia dari binatang dan mineral lainnya. Pada umumnya, pengobatan dilakukan dengan salah satu jenis atau kombinasi cara-cara diatas tergantung dari stadium kankernya (Dalimartha, 2003).

Guna mendukung pencarian obat kanker yang spesifik, saat ini banyak dilakukan penggalian dari bahan-bahan alam. Indonesia terkenal dengan kekayaannya akan berbagai jenis tumbuhan yang berkhasiat obat, bahkan temasuk salah satu negara yang memiliki keanekaragaman flora terbesar didunia. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian-penelitian yang berguna bagi pengembangan dalam pemanfaatan flora yang ada secara maksimal alam termasuk untuk pengobatan kanker.

Dalam suatu penelitian yang dilakukan oleh Koshiura dkk (1985) ekstrak metanol dari akar *Agrinoma pilosa* Leded (Familia Rosaceae) dengan senyawa aktif *agrimonine* yang menunjukkan aktivitas sitotoksik dimana dapat menghambat sarkoma$_{180}$, fibrosarkoma dan kanker payudara. Berdasarkan studi kemotaksonomi maka tanaman yang memiliki kekerabatan cukup dekat kemungkinan memiliki kandungan senyawa yang hampir sama. Jenis lain dari suku Rosaceae yang tumbuh di Indonesia yaitu *Fragaria indica* Andr. Penggunaan *Fragaria indica* Andr sebagai tanaman obat yang digunakan adalah

ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

herba keringnya. Aktivitas antikankernya sebagaian besar hanya berdasarkan bukti-bukti empiris, yaitu pembuktian yang hanya berdasarkan pada pengalaman pengguna. Mengacu dari penelitian tersebut diharapkan dalam *Fragaria indica* Andr. juga terdapat senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik.

Tingkat toksisitas dari ekstrak tanaman dapat ditentukan dengan melihat harga LC_{50} nya. Apabila harga $LC_{50} < 1000$ µg/ml dikatakan toksik, sebaliknya apabila harga $LC_{50} > 1000$ µg/ml dikatakan tidak toksik. Sedangkan fraksi suatu tanaman dikatakan aktif (mempunyai aktivitas antikanker) menurut metode BST jika mempunyai harga $LC_{50} < 200$ µg/ml (Meyer *et al.*, 1982). Tingkat toksisitas tersebut akan memberikan makna terhadap potensi aktivitasnya sebagai antikanker.

Pada tahun 2004 pernah dilakukan penelitian mengenai aktivitas antikanker ekstrak *n*-heksana dan ekstrak metanol dari herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) secara invitro dengan metode kematian larva udang atau *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Dari penelitian tersebut didapatkan aktivitas biologis antikanker dari ekstrak *n*-heksana dengan harga LC_{50} 808,28±6,51 ppm dan ekstrak metanol mempunyai LC_{50} >1000 ppm (tidak toksik). Sedangkan hasil skrining fitokimia, diketahui bahwa ekstrak n-heksana herba arbenan mengandung suatu senyawa golongan steroid/triterpenoid (Mardiani, 2005).

Penelitian ilmiah yang akan dilakukan adalah membuktikan aktivitas fraksi-fraksi ekstrak *n*-heksana dari herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) sebagai obat antikanker. Untuk membuktikan adanya aktivitas antikanker dengan beberapa metode yaitu uji kematian larva udang laut atau *Brine Shrimp Lethality Test* (BST), uji hambatan tumor pada lempeng kentang atau *Potato Disc Crown Gall tomour Inhibition assay*, uji proliferasi kuncup lemma atau *Frond Proliferation Assay*, uji kultur sel tumor manusia atau *Cell Cultur Human Cell Line Assay*, dan uji P-388 (leukemia in vivo pada mencit) atau P-388 mouse leukemia (Meyer, 1982).

Salah satu metode untuk menguji senyawa yang berkhasiat sitotoksik adalah dengan uji toksisitas terhadap kematian larva udang dari *Artemia salina* Leach atau *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Metode ini digunakan untuk skrining awal terhadap zat aktif suatu tanaman karena murah, cepat, mudah, dan hasilnya

dapat dipercaya (Meyer, 1982). Uji BST dapat dipakai untuk skrining awal senyawa yang diduga berkhasiat sebagai antikanker karena uji ini mempunyai korelasi positif dengan potensinya sebagai antikanker (Anderson, 1991).

Berdasarkan uraian diatas, maka pada penelitian ini akan melakukan fraksinasi ekstrak *n*-heksana dari herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) dan uji praskrining aktivitas antikanker dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST. Fraksinasi dari ekstrak *n*-heksana herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) dilakukan dengan kolom cepat (*vacum*) dengan fase gerak *n*-heksana dan etil asetat.

1.2 Rumusan Permasalahan

Apakah fraksi-fraksi *n*-heksana herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) menunjukkan aktivitas antikanker dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Melakukan fraksinasi ekstrak *n*-heksana dari herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) dan melakukan uji praskrining aktivitas antikanker dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST).
2. Menentukan harga LC_{50} fraksi-fraksi *n*-heksana dari herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST).

1.4 Hipotesis Penelitian

Dari uraian latar belakang dan masalah yang ada dapat disusun hipotesis bahwa fraksi-fraksi *n*-heksana herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) memiliki antivitas antikanker menurut metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST).

ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

1.5 Manfaat Penelitian

1. Memberikan landasan ilmiah mengenai tanaman arbenan (*Fragaria indica* Andr.) yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat antikanker menjadi lebih optimal.
2. Dapat memberikan sumbangan bagi perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya dibidang pruduk bahan alam dari tumbuhan.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang *Fragaria indica* Andr.

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Rosales
Familia : Rosaceae
Genus : *Fragaria*
Species : *Fragaria indica* Andr.
Sinonim : *Duchesnea indica* (Andr.) Focke.
(Anonim, 2005)

2.1.2 Nama Daerah

Jawa : Arben leuweung, Seladren
Sunda : Arbenan
(Anonim, 2005).

2.1.3 Penyebaran Dan Tempat TumbuhTanaman

Merupakan tumbuhan liar di pinggir-pinggir jalan, di tepi sungai atau di tempat-tempat yang sedikit basah dan mendapat cukup sinar matahari. Tumbuh dari dataran menengah sampai pegunungan dari ketinggian 800 m sampai 1800 m di atas permukaan laut. Berbunga pada bulan Juni-Agustus, pemanenan sebaiknya dilakukan pada musim kemarau (Anonim, 2005).

2.1.4 Morfologi Tanaman

Habitus : Terna, menahun, tinggi 20-30 cm.

Batang : Batang melata atau merayap di atas tanah berupa stolon yang akan menumbuhkan tunas baru, berwarna hijau keunguan.

Daun : Majemuk, berbagi 3, asimetris, anak daun bentuk oval, petulangan daun menyirip tegas, permukaan berbulu, kasar, warna hijau.

Bunga : Majemuk, bentuk tandan, terletak diketiak daun, bunga lepas, bentuk segi tiga, tepi bergerigi, berbulu, hijau, bakal buah menumpang, benang sari dan putik jumlah banyak, mahkota berlepasan, 5 helai panjang 8-13 mm, halus, putih.

Buah : Beri, bentuk bulat telur atau bulat, lunak, diameter 0,5-1 cm, merah.

Biji : Bentuk lancet, kecil, keras, berwarna putih.

Akar : Serabut, berwarna putih kotor (Anonim, 2005).

2.1.5 Khasiat Tanaman

Menghilangkan panas dan racun, antibiotika, antiradang, menghentikan pendarahan, menghancurkan darah beku, dan mengurangi pembengkakan (Dalimartha, 2003).

2.1.6 Kandungan Tanaman

Herba : emodin, asam krisofanat, fitosterol, minyak atsiri, dan kalsium.

Biji : asam linoleat, asam oleat, dan beta-sitosterol, saponin, flavonoid, tanin (Dalimartha, 2003).

2.1.7 Penelitian Aktivitas Herba Arbenan

Pada tahun 2005, dilakukan penelitian tentang ekstrak *n*-heksana dan metanol dari herba arbenan. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antikanker ekstrak *n*-heksana dan metanol dari herba arbenan dengan uji toksisitas terhadap kematian anak udang dari *Artemia salina* Leach atau *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Tingkat toksisitas dari ekstrak tanaman dapat ditentukan dengan melihat harga LC_{50} nya. Apabila harga $LC_{50} < 1000$ μg/ml dikatakan

toksik, sebaliknya apabila harga LC_{50} > 1000 µg/ml dikatakan tidak toksik (Meyer *et al.*, 1982).

Dari penelitian tersebut didapatkan aktivitas biologis antikanker dari ekstrak *n*-heksana dengan harga LC_{50} 808,28 ± 6,51 ppm. Sedangkan ekstrak methanol mempunyai LC_{50} 1687,88 ± 40,69 ppm. Karena LC_{50} >1000 ppm, sehingga ekstrak metanol dapat dikategorikan tidak aktif (Mardiani, 2005).

2.2 Tinjauan Tentang Kanker

2.2.1 Definisi Kanker

Tumor adalah istilah umum untuk menunjukkan adanya pertumbuhan tidak normal dari massa atau jaringan yang tidak membahayakan kehidupan. Tumor terbentuk karena adanya mutasi pada biosintesis sel, yaitu kekeliruan urutan DNA karena terpotong, tersubsitusi atau ada pengaturan kembali, adanya adisi dan disintegrasi bahan genetik virus kedalam gen dan adanya perubahan ekspresi genetik. Tumor yang membahayakan (malignant tumor) disebut kanker, sedang penyebab kanker disebut karsinogen (Siswandono dan Soekardjo, 2000)

Tumor adalah istilah umum yang digunakan untuk segala pembengkakan atau benjolan yang disebabkan oleh apapun, baik oleh pertumbuhan jaringan baru maupun adanya pengumpulan cairan seperti kista atau benjolan yang berisi darah akibat benturan. Benjolan yang disebabkan oleh pertumbuhan jaringan baru, nantinya dikenal istilah tumor jinak (*benign*) dan tuimor ganas (*malign*) yang disebut kanker (Dalimartha, 2003).

Kanker adalah segolongan penyakit neoplasma yang bersifat ganas, penyakit yang terjadi karena timbul daii tumbuhnya sel-sel abnormal dalam tubuh. Sel-sel tubuh timbul secara teratur dan mempunyai fungsi tertentu dan ada koordinasi yang baik dengan yang lainnya. Sel kanker tumbuh dengan tidak teratur dan tidak berfungsi serta tidak ada koordinasi yang baik dengan sel tubuh yang lain (Rochadi, 1986).

Menurut Robinson dan Kumar (1992), kanker adalah masa jaringan abnormal dengan pertumbuhan berlebih dan tidak ada koordinasi dengan jaringan normal dikarenakan terjadi gangguan atau kehilangan mekanisme pengontrol

ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

pertumbuhan dan pembelahan sel dan tetap tumbuh secara berlebih setelah stimulus yang menyebabkan pertumbuhan tersebut terhenti.

Kanker merupakan kata yang lebih sering digunakan dalam lingkungan masyarakat dibandingkan dalam lingkungan kedokteran; secara umum mempunyai arahan kepada tumor *malignant* (ganas) atau neoplasma.

Neoplasma secara umum sering diartikan sebagai tumor dan dibagi dalam dua kategori, jinak dan ganas. Suatu tumor dikatakan jinak jika ciri-ciri mikroskopis dan sitologisnya tergolong relatif tidak berbahaya. Sedangkan suatu tumor dinyatakan ganas jika menembus dan menghancurkan struktur yang berdekatan dan dapat menyebar ke tempat yang jauh (metastasis) dan dapat menyebabkan kematian tumor ganas secara keseluruhan dinyatakan sebagai kanker (Robinson, 1992).

2.2.2 Penyebab Kanker

Segala sesuatu yang menyebabkan terjadinya kanker disebut karsinogen. Karsinogen menyebabkan perubahan pada DNA yang satuan kecilnya adalah gen, sehingga karsinogen sering disebut bersifat mutagenik. Sangat sering lebih dari satu karsinogen diperlukan untuk terjadinya perubahan sel normal menjadi neoplasia (proses terbentuknya neoplasma) yang terjadi dalam beberapa tahap dan sering memerlukan waktu yang panjang. Terdapat masa laten (tidak menunjukkan penampilan gejala klinis) sebelum menjadi progresif. Pada masa progresif terjadi invasi ke jaringan sekitarnya dan menyebar ke tempat yang jauh.

Kelompok utama bahan penyebab kanker (karsinogenik) yang telah diketahui, dilihat dari asalnya dapat dibagi menjadi dua yaitu:

A. Karsinogen yang berasal dari luar tubuh

(1) Bahan kimia

Kebanyakan karsinogen kimia adalah prokarsinogen yang memerlukan perubahan metabolik agar menjadi perubahan pada DNA, RNA atau protein sel tubuh. Beberapa contoh karsinogen kimia:

a. Hidrokarbon polisiklik aromatik. Hidrokarbon polisiklik aromatik mengandung Benzo (*a*) pyrene yang merupakan hasil antara pada proses pembakaran yang tidak sempurna.

b. Amin aromatik dan pewarna Azo. Zat pewarna amin adalah prokarsinogen, masuk ke dalam tubuh melalui kulit, paru-paru, atau saluran cerna. Banyak digunakan untuk pewarna di industri.

c. Nitrosamin

Nitrosamin terbentuk di dalam saluran cerna dari gugus nitrat dan nitrit yang sering dipakai sebagai bahan tambahan pada makanan.

d. Unsur logam

Unsur logam antara lain nikel dan timah bersifat elektrofilik, dapat bereaksi dengan pusat nukleofilik pada DNA menimbulkan kanker pada orang yang pekerjaannya banyak berhubungan dengan unsur logam tersebut.

(2) Virus

Virus bersifat karsinogen disebut virus onkogenik. Dari berbagai penelitian diketahui bahwa virus DNA maupun virus RNA dapat menimbulkan transformasi sel.

(3) Radiasi

Radiasi UV, panjang gelombang 290-370 nm berkaitan dengan terjadinya kanker kulit terutama pada orang kulit putih yang sering mendapat sinar matahari berlebihan. Radiasi pengion dapat langsung menimbulkan kerusakan "macromolecules" atau berinteraksi dengan cairan sel menimbulkan radikal bebas yang kemudian menimbulkan kerusakan atau perubahan ikatan kimia.

(4) Agen biologik

Yaitu hormon, mikotoksin dan parasit. Contoh mikotoksin adalah steroid androgenik dan steroid estrogen. Contoh mikotoksin adalah aflatoksin yang diproduksi oleh *Aspergillus flavus.* Contoh parasit adalah *Schisiosoma sp.* dan *Clonorchis sinensis* (Tjarta, 1996; Djojopranoto, 1963).

B. Karsingen yang berasal dari dalam tubuh:

1. Suku/ras.
2. Diet/makanan.
3. Faktor konstitusional, yaitu jenis kelamin, resiko bawaan, umur dan sebagainya. Lesi dan kondisi premaglina.
4. Paparan transplasentral.

2.2.3 Sifat kanker

Melalui perkembangan diagnostik, dapat diketahui sifat-sifat umum dari kanker (Nafrialdi,1995; Bellanti,1985) antara lain:

1. Otonomi, sel kanker mempunyai kemampuan untuk tumbuh dibatas-batas normal.
2. Anaplasia, hilangnya kemampuan mengorganisasi dan melaksanakan fungsinya sehingga menyebabkan gangguan deferensiasi sel dan jaringan.
3. Invasif, kemampuan sel menembus jaringan yang ada disekitarnya dan menyebabkan rusaknya jaringan yang ditempati.
4. Metastasis, kemampuan sel kanker untuk menyebar ke tempat lain melalui aliran darah atau limfe dan menyebabkan pertumbuhan baru.
5. Memiliki hereditas bawaan, yaitu turunan sel kanker juga dapat menimbulkan kanker.

2.2.4 Perbedaan Sel Kanker Dengan Sel Normal

Sel kanker mempunyai beberapa ciri yang membedakannya dengan sel normal, antara lain

1. Bentuk dan ukuran sel lebih besar daripada sel normal.
2. Inti sel kelihatan membesar karena jumlah sitoplasma berkurang.
3. Anak inti mengalami perubahan bentuk dan ukuran.
4. Mitokotadria berkurang jumlahnya

(Ahern, 1992; Robbins, 1971).

ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

2.3 Tinjauan Tentang *Brine Shrimp Lethality Test*

Brine Shrimp Lethality Test (BST) atau metode kematian larva udang adalah uji praskrining dalam memprediksikan senyawa-senyawa bioaktif. Metode ini memiliki beberapa keuntungan antara lain cepat, murah, sederhana, dan cukup dilakukan di dalam ruangan sebagai alat untuk menapis dan memantau hasil ekstraksi dan fraksinasi ekstrak aktif fisiologis, serta untuk mendeteksi senyawa aktif biologi dalam suatu isolasi.

Uji ini berdasar pemikiran bahwa toksikologi adalah farmakologi dalam dosis tinggi atau farmakologi, secara sederhana adalah toksikologi dalam dosis rendah (Laughlin, 1991), yang artinya bila ditemukan suatu senyawa yang toksik maka dosis rendah non toksiknya dapat menimbulkan kegunaan farmakologi atau gangguan pada sistem fisiologi. Seperti diketahui, senyawa-senyawa yang aktif biologi hampir selalu toksik pada dosis tinggi sehingga kematian *in vivo* suatu organisme zoologi sederhana seperti *Artemia salina* Leach, dapat digunakan untuk memantau atau menampis secara cepat dan sederhana fraksinasi ekstrak suatu bahan alam yang aktif fisiologi serta untuk memantau pendeteksian dan isolasi senyawa aktif biologi dari suatu bahan alam.

Metode BST menggunakan hewan uji larva udang *Artemia salina* Leach. yang merupakan salah satu metode yang banyak digunakan pencarian senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman. Hasil uji toksisitas ini dapat diketahui dari jumlah kematian larva udang *Artemia salina* Leach. karena pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam tumbuhan tertentu dari dosis yang telah ditentukan (Laughlin, 1991). Metode ini dilakukan dengan menentukan besarnya LC_{50} selama 24 jam (Meyer, 1982). Suatu ekstrak tanaman atau senyawa hasil isolasi yang memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ mg/ml dapat diduga memiliki efek sitotoksik (Dwiatmaka, 2000). Fraksi suatu tanaman dikatakan aktif (mempunyai aktivitas antikanker) menurut metode BST jika mempunyai harga $LC_{50} < 200$ μg/ml (Meyer *et al.*, 1982).

Udang air laut telah digunakan terlebih dahulu dalam berbagai sistem uji hayati antara lain untuk analisis residu pestisida, mikotoksin, polutan air, bahan anaestesi, toksin dinoflagellata, senyawa serupa morfin, toksisitas pendispersi minyak dan ester forbol kokarsinogenik. Banyak peneliti yang telah mencipta

kegunaan nauplii yang ditetaskan, bahkan penghambat penetasan telur juga telah diteliti (Meyer, 1982).

Artemia atau Brine Shrimp adalah sejenis udang-udangan primitif. Nama lainnya adalah *Cancer salinus* atau *Artemia salina*. Artemia hidup planktonik di perairan yang berkadar garam tinggi antara 15-300 per mil, temperatur 25-30°C dan pH sekitar 7,3-8,4. Larva yang keluar disebut sebagai nauplius dan langsung hidup sebagai anemia muda. Terjadi proses ovovivar sangat tergantung pada kadar garam dan oksigen. Artemia mulai dewasa pada umur sekitar 2 minggu dan dapat hidup hingga 6 bulan, apabila keadaan lingkungannya cukup baik (Mulyadi,1995).

Dan penelitian yang dilakukan oleh Meyer dkk (1982) terbukti uji hayati terhadap larva udang memiliki korelasi yang baik terhadap uji antikanker menggunakan 9-PS. Penelitian tersebut menseleksi ekstrak etanol biji tanaman suku Euphorbiaceae, 24 ekstrak aktif terhadap uji antikanker menggunakan 9-PS dan 14 diantara ke-24 ekstrak tersebut juga aktif pada uji terhadap anak udang.

Pada penelitian, yang dilakukan oleh Laughlin (1991) terhadap sejumlah alkaloid kaktus dan derivat dihidrosokuinolin baik dengan udang air laut maupun dengan sel tumor 9-KB ditemukan suatu korelasi positif antara toksisitas udang air laut dan sitotoksisitas 9-KB.

Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Anderson dkk meneliti 10 senyawa murni yang diperoleh dari NCI, diperoleh hasil uji hayati terhadap anak udang berkorelasi baik terhadap antikanker, menggunakan P-388 (3-PSO (p=0,33 clan kappa=0,78). Demikian pula terhadap kultur sel tumor manusia A-549, MCF-7 dan HT-29, uji hayati terhadap anak udang ini mampu mendeteksi 5 senyawa dari 6 senyawa yang berkhasiat antitumor terhadap *A-549* dan HT-29, sedangkan dari 6 senyawa yang berkhasiat antitumor terhadap MCF-7 uji ini hanya mendeteksi 4 senyawa.

Dari penelitian diatas para penelitian di Purdue University Amerika Serikat mengembangkan metode ini sebagai uji untuk menyeleksi ekstrak tumbuhan yang diduga berkhasiat antikanker.

ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

Beberapa keuntungan pemakaian metode *Brine Shrimp Lethality Test (BST)*, adalah sebagai berikut:

1. Waktu pelaksanaannya cepat
2. Biayanya relatif murah
3. Pengerjaannya sederhana, tidak memerlukan teknik aseptis
4. Tidak memerlukan perawatan khusus
5. Menggunakan satu sampel yang relatif sedikit
6. Tidak memerlukan serum hewan (Laughlin, 1991)

Gambar 2.1 Larva udang, *Artemia salina* Leach. yang berumur 48 jam (Pembesaran 400x)

ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

2.4 Tinjauan Tentang Antikanker

Bentuk pengobatan utama untuk penyakit kanker adalah pembedahan, terapi radiasi dan obat (bahan kemoterapetik kanker). Bahan-bahan kemoterapetik kanker sering kali dapat memberikan pertolongan pada penderita, perpanjangan umur dan kadangkala penyembuhan (Dewick, 1983).

Antikanker diharapakan memiliki toksisitas yang selektif, artinya menghancurkan tanpa merusak jaringan normal. Pada umumnya anti neoplastik menekan pertumbuhan atau proliferasi cepat seperti sumsum tulang, epitel germinativun, mukosa saluran cerna dan folikel rambut. Tetapi dikatakan berhasil balk bila dosis yang digunakan dapat mematikan sel kanker dan tidak terlalu mengganggu sel normal yang berproliferasi (Nafrialdi dan Ganiswara,1995).

Tujuan ini sering mengalami kegagalan yang disebabkan antara lain oleh perbedaan morfologi dan biokimia set normal dengan sel kanker kecil sekali sehingga obat antikanker tidak ada yang selektif terhadap sel tumor tertentu. Kegagalan ini disebabkan pula karena banyak sel kanker bukan sesuatu yang asing bagi tuan rumah, sehingga tidak menimbulkan respon imunologis. Selain itu sel kanker cepat menjadi kebal terhadap obat antikanker dan banyak obat antikanker bersifat karsinogenik, teratogenik dan mutagenik.

Proses kehidupan set merupakan suatu siklus yang terdiri beberapa fase sebagai berikut:

1. Fase mitosis (M), yaitu fase dimana terjadi pembelahan sel aktif.
   Setelah melalui fase ini ada dua alternatif
   a. Menuju fase G1 dan memulai proses proliferasi.
   b. Masuk ke fase istirahat (G0), pada fase ini, kemampuan set untuk berproliferasi hilang dan sel meninggalkan siklus secara tak terpulihkan.
2. Fase post mitotik (G1). Pada fase ini, terjadi sintesis RNA dan protein dan mencapai optimum pada akhir fase.
3. Fase sintetik (S), pada fase ini, terjadi replikasi DNA sel.
4. Fase post sintetik (G2), fase dimulai bila sel sudah menjadi tetraploid dan mengandung dua DNA, kemudian sintesis RNA dan protein dilanjutkan. Selanjutnya sel kembali ke fase mitotik, demikian seterusnya sehingga merupakan suatu siklus (Siswandono dan Soekardjo, B., 2000).

ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

Cara kerja antikanker :

(1) Alkilator

Senyawa pengalkilasi adalah senyawa relatif yang dapat mengalkilasi DNA, RNA dan enzim-enzim tertentu. Senyawa pengalkilasi dapat membentuk senyawa kationik antara yang tidak stabil, diikuti pemecahan cincin membentuk ionkarbonium reaktif Ion ini bereaksi, memalui reaksi alkilasi membentuk ikatan kovalen dengan gugus gugus donor elektron seperti karboksilat, amin, fosfat dan tiol yang terdapat pada struktur asam amino, asam nukleat dan protein yang sangat dibutuhkan untuk biosintesa sel. Reaksi ini membentuk hubungan melintang antara dua rangkaian DNA dan mencegah mitosis. Akibatnya proses pembentukan sel terganggu dan terjadi pertumbuhan sel kanker. Contoh : siklofosfamid, klorambusil, busufan, karmustin dan semistin.

(2) Antimetabolit

Antimetabolit adalah senyawa yang dapat menghambat jalur metabolik yang penting bagi kehidupan dan reproduksi sel kanker melalui penghambatan asam fotat, purin, puridin dan asam amino serta jalur nukleosida pirimidin yang diperlukan dalam sintesi DNA. Hambatan replikasi DNA ini dapat secara langsung maupun tidak langsung, sehingga sel tidak berproliferāsi dan mengalami kematian. Contoh : sitarabin, foksuridin, 6-mertapkopurin dan metotreksat.

(3) Produk alam

a. Antibiotik Antikanker

Beberapa antibiotik yang mula-mula dikembangkan sebagai senyawa antibakteri ternyata didapatkan mempunyai efek sitotoksik tinggi. Efek samping tersebut dievaluasi dan kemudian dikembangkan menjadi obatobat antikanker. Contoh : mitomisin, daktiomisin, doksorubisin dan bleomisin (Siswandono dan Soekardjo,B., 2000)

b. Antikanker Produk Tanaman

Senyawa antitumor yang berhasil diisolasi dari tanaman memiliki struktur kimia berbeda dan dikelompokkan berdasarkan struktur kimianya, sebagai berikut :

1) Monoterpen, contohnya allamandin diisolasi dari *Allamanda cathartica,*

Apocinaceae.

2) Seskuiterpen, contohnya baccharin diisolasi dari *Baccharia megapolamica,* compositae, helenalin dari Helenium automnale, Compositae.
3) Diterpen, contohnya taxol diisolasi dan *Taxus brevifolia,* Taxacea.
4) Triperpenoid, steroid dan lain-lain, contohnya cucurbitacin diisolasi dari *Marah oreganus,* Aslepidaceae.
5) Alkaloid, contohnya emetin diisolasi dari *Cephaelis acumuna,* Rubiaceae.
6) Peptida, contohnya vinkristin dan vinblastin diisolasi dari *Catharanthus roseus,* Apocynaceae.

c. Antikanker Produk Rekayasa Genetik

Contohnya: antineoplaston, interferon dan avaron (Dewick, 1983).

(4) Hormon

Beberapa neoplasma dapat dikontrol dengan baik oleh hormon seks, seperti androgen, progestin, estrogen dan adrenokortikoid. Biasanya untuk pengobatan tambahan sesudah pembedahan, dikombinasi dengan obat antikanker yang lain. Contoh hormon dan antihormon yang digunakan sebagai antikanker adalah:

Hormon androgen	: testoteron propionate, testolakton, fluoksimesteron
Hormon estrogen	: dietilbestrol, etinilestradol, klortiasin
Hormon progestin	: hiroksiprogesteron
Glukokortikoid	: prednison, kortison, deksametason
Antiestrogen	: tamoksifen sitrat
Antiandrogen	: flutamid

BAB III
KERANGKA KONSEPTUAL

Kanker merupakan salah satu ancaman utama di bidang kesehatan. Di Inggris, kematian akibat penyakit kanker menduduki peringkat kedua setelah penyakit kardiovaskuler. Sedangkan di Indonesia, kematian akibat kanker mencapai 4,3% atau menduduki peringkat keenam (Anonim, 1988).

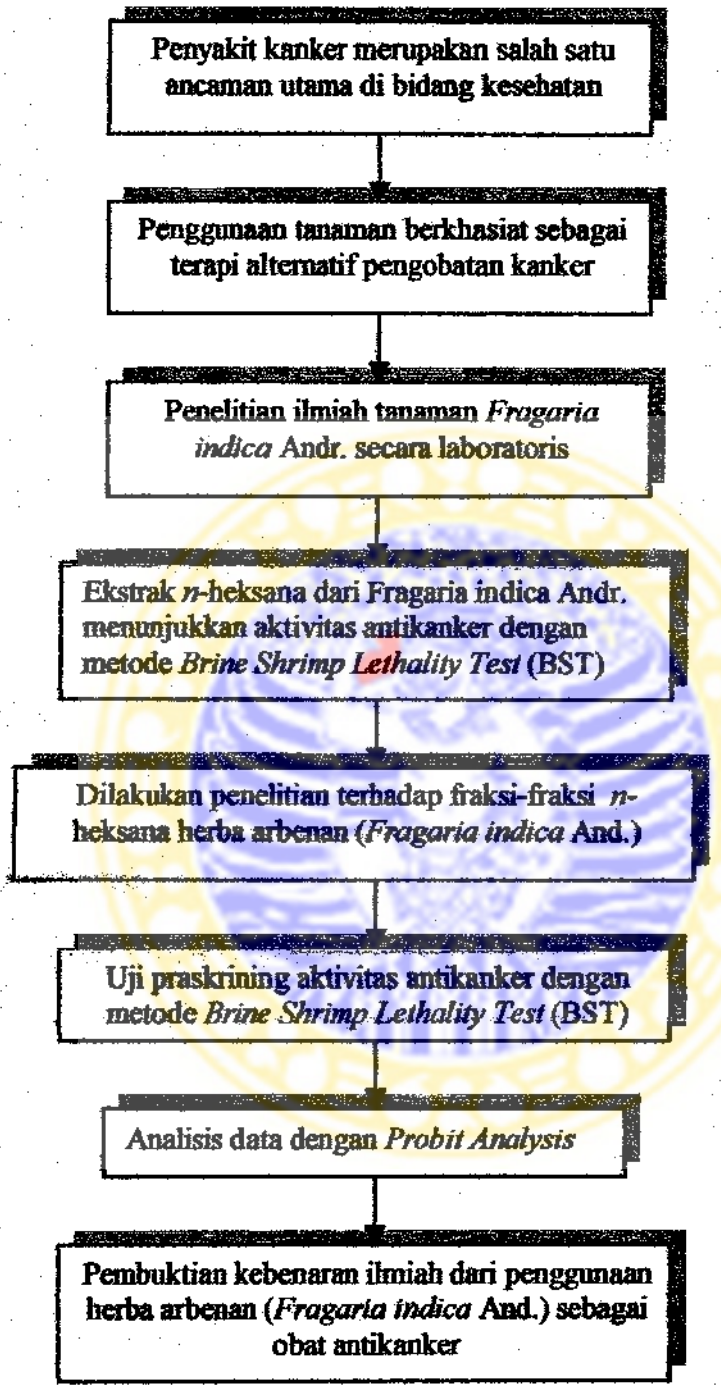
Usaha penyembuhan kanker dengan obat (Farmakoterapi) atau dengan senyawa kimia (khemoterapi) pada umumnya belum mampu memberikan hasil yang memuaskan sehingga dijumpai cara-cara pengobatan alternatif antara lain dengan obat tradisional. Cara-cara pengobatan dengan menggunakan tanaman obat tradisional tersebut umumnya belum mempunyai dasar yang rasional baik secara laboratoris maupun klinis.

Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat kanker adalah *Fragaria indica* Andr. atau tanaman arbenan. Salah satu bukti laboratoris dengan suatu penelitian yang dilakukan oleh Koshiura dkk (1985) ekstrak metanol dari akar *Agrinoma pilosa* Leded (familia Rosaceae) dengan senyawa aktif agrimonine yang menunjukkan aktivitas sitotoksik dimana dapat menghambat $sarkoma_{180}$, fibrosarkoma dan kanker payudara.

Berdasarkan studi kemotaksonomi maka tanaman yang memiliki kekerabatan cukup dekat kemungkinan memiliki kandungan senyawa yang hampir sama. Jenis lain dari suku Rosaceae yang tumbuh di Indonesia yaitu *Fragaria Indica* Andr. Mengacu dari penelitian tersebut diharapkan dalam *Fragaria indica* Andr. juga terdapat senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik. Pada penelitian ini dilakukan praskrining terhadap fraksi-fraksi *n*-heksana pada herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) yang digunakan sebagai aktivitas antikanker dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST).

Pada tahun 2004 pernah dilakukan penelitian mengenai aktivitas antikanker ekstrak *n*-heksana dan ekstrak metanol dari herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) secara invitro dengan metode kematian larva udang atau *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Dari penelitian tersebut didapatkan aktivitas biologis antikanker dari ekstrak *n*-heksana,. sedangkan ekstrak metanol tidak toksik (Mardiani, 2005).

Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan penelitian lebih lanjut fraksi *n*-heksana dari herba arbenan terhadap aktivitas anti kankernya.



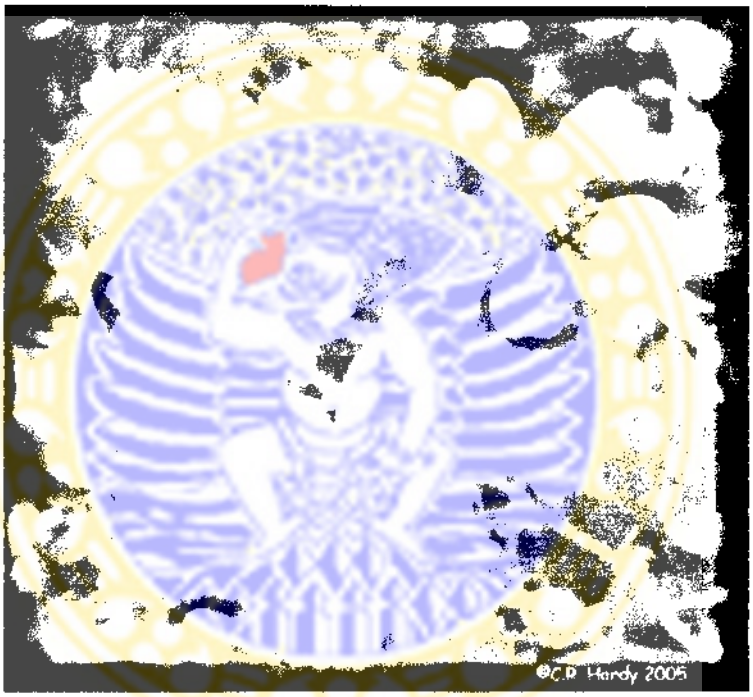
Gambar 3.1 Skema kerangka konseptual

BAB IV
METODE PENELITIAN

4.1 Bahan Penelitian

4.1.1 Bahan Tumbuhan

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah herba arbenan, *Fragaria indica* Andr. yang diambil dari Kebun Raya Purwodadi pada bulan maret 2005. Determinasi tanaman diperoleh dari UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwadadi.



Gambar 4.1 Herba Arbenan (*Fragaria indica* Andr.)

(http://www.missouriplant.com/yellow_flowers_alternate_page2.hml)

ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

4.1.2 Bahan kimia dan Bahan Lain

Bahan yang digunakan untuk fraksinasi :

a. *n*-heksana teknis
b. Etil asetat teknis

Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas :

a. *n*-heksana p.a
b. metanol p.a
c. Telur udang *Artemia salina*, Ocean Star International, U.S.A
d. Dimetil sulfoksida (DMSO)
e. Air laut

4.2 Alat Penelitian

a. Maserator dan alat pengaduk
b. Penyaring Buchner
c. Pipet tetes
d. Vial volume 10 ml
e. Pipet dan mikro pipet (Socorec, Swiss)
f. Bejana kromatografi
g. Rotavapor
h. Cawan penguap
i. Tabung reaksi
j. Gelas ukur
k. Penyemprot untuk KLT
l. Kolom Kromatografi
m. KLT Densitometri
n. Kolom vakum

4.3 Prosedur Penelitian

4.3.1 Penyiapan Bahan

Tumbuhan arbenan (*Fragaria indica* Andr.) yang akan diteliti dan telah dideterminasi, dicuci bersih dengan air dan dilanjutkan denagn pengeringan yang dilakukan tidak dibawah sinar matahari langsung (cukup diangin-anginkan). Jika bahan sudah cukup kering, bahan tersebut dihaluskan dan diayak hingga diperoleh serbuk halus.

4.3.2 Pembuatan Ekstrak *n*- Heksan

Bahan yang sudah dikeringkan dan diserbuk, kemudian diekstraksi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana dengan cara maserasi. Tujuan pemilihan pelarut ini untuk memisahkan komponen non polar, semipolar dan polar.

Serbuk bahan dimasukkan dalam bejana, ditambahkan dengan pelarut *n*-heksana sampai terbasahi dan selanjutnya tertutup rapat. Kemudian dibiarkan selama 24 jam, saring filtrat dengan penyaring buchner dengan bantuan pompa vakum. Maserasi ini dilakukan beberapa kali dengan pelarut baru hingga filtrat jernih atau sampai filtrat memberikan reaksi negatif terhadap pereaksi tertentu atau filtrat diuapkan kemudian dilakukan penotolan pada KLT.

Setelah itu filtrat ditampung kemudian diuapkan dengan rotavapor hingga diperoleh ekstrak *n*-heksan. Hasil ekstraksi dengan *n*-heksana kemudian disimpan dalam lemari asam, ditutup, dan disimpan dalam lemari es sebelum digunakan.

4.3.3 Pembuatan Fraksi-fraksi *n*-Heksana

Pembuatan fraksi-fraksi *n*-heksana dari ekstrak n-heksana pemisahannya dilakukan dengan menggunakan Vakum Liquid Chromatografi (VLC) :

Fase diam : silika gel 60 G

Fase gerak : *n*-heksana : etil asetat (100% - 0%)

Dilakukan secara gradien dengan penurunan 5% - 10%

Tabel IV.I Fraksi-fraksi *n*-heksana (*n*-heksana : etil asetat) secara gradien dengan penurunan 5% - 10%

No. Fraksi	*n*-Heksana	Etil asetat
1	100	0
2	95	5
3	90	10
4	85	15
5	80	20
6	75	25
7	70	30
8	65	35
9	60	40
10	50	50
11	40	60
12	30	70
13	20	80
14	10	90
15	0	100

Cara Kerja :

1. Fasa diam dalam keadaan kering dimasukkan kedalam sinterglass, kemudian dimampatkan sambil pompa vakum dihidupkan.
2. Dilakukan Tes Cracking fase diam yang sudah dimampatkan dengan dituangi *n*-heksana sambil pompa vakum dihidupkan kemudian diperiksa apakah terjadi keretakan pada fasa diam atau tidak.
3. Ekstrak *n*-heksana kemudian dicampur dengan sebagaian fasa diam, dicampur sampai rata dan kering.
4. Fase gerak (*n*-heksana : etilasetat) kemudian dimasukkan diatas fasa diam kemudian dimampatkan, diatasnya ditutup kertas.
5. Fasa gerak pertama dalam hal ini *n*-heksana : etil asetat (100% - 0%) dituang kedalam sinterglass dan pompa vakum dihidupkan.

Cairan yang menetes ditampung, demikian seterusnya sampai pelarut yang terakhir. Masing-masing fraksi diuapkan sampai kering. Selanjutnya fraksi dilarutkan dengan solvent (*n*-heksana) sampai larut, kemudian ditotolkan pada lempeng KLT setelah itu dieluasi dengan :

Fase diam : Silika gel 60 G

Fase gerak : *n*-heksana : etil asetat

Penampak noda : Anisaldehida sulfat

Dari perlakuan tersebut, setelah dilakukan pengamatan masing-masing fraksi-fraksi *n*-heksana yang menunjukkan noda dengan Rf yang sama dikumpulkan dan diuapkan unuk digunakan sebagai uji praskrining antikanker dengan metode BST.

4.3.4 Uji Praskrining Antikanker Fraksi-fraksi *n*-Heksana Dengan Metode BST (Meyer, 1982)

1. Disiapkan air laut yang jernih.
2. Air laut dimasukkan dalam wadah kecil yang sudah dibagi menjadi dua bagaian rungan dengan menggunakan sekat. Sedikit telur udang *Artemia salina* Leach. Dimasukkan dalam salah satu ruang, kemudian ruang ini ditutup sedang sisi lain dibiarkan terbuka atau diberi lampu untuk menarik udang yang telah menetas melalui lubang sekat, sehingga anak udang dapat terpisahkan dari bagaian telur.
3. Setelah dua hari, telur udang akan menetas menjadi udang-udang kecil yang disebut nauplii dan siap digunakan untuk melakukan pengujian.
4. Disiapkan vial volume 10 ml untuk melakukan uji. Lalu masing-masing ekstrak diujikan pada konsentrasi 20, 40, 100, 200, dan 300 ppm. Disiapkan 3 vial volume 10 ml untuk replikasi pada masing-masing konsentrasi dan sebuah vial volume 10 ml untuk kontrol.

5. Pembuatan larutan dari fraksi-fraksi ekstrak *n*-heksana
   a) Pembuatan larutan induk

      Ditimbang masing-masing fraksi *n*-heksana dengan Rf sama 10 mg, ditambahkan n-heksana ad 5,0 ml campur sampai homogen sehingga didapatkan konsentrasi 2000 ppm sebagai larutan induk.

      Perhitungan konsentrasi larutan induk :

      10 mg/ 5,0 ml = 2000 μg/ml. Selanjutnya dibuat larutan tiap fraksi dengan replikasi 3 kali.

   b) Pembuatan larutan uji

      Dimasukkan sejumlah tertentu larutan induk dalam vial 10 mL, uapkan sampai kering. Masing-masing konsentrasi disiapkan dalam 3 vial sebagai replikasi.

      Perhitungan larutan uji :

      (750 μ/5,0 ml) x 2000 μg/mL = 300 μg/ mL

      (500 μ/5,0 ml) x 2000 μg/mL = 200 μg/ mL

      (250 μ/5,0 ml) x 2000 μg/mL = 100 μg/ mL

      (100 μ/5,0 ml) x 2000 μg/mL = 40 μg/ mL

      (50 μ/5,0 ml) x 2000 μg/mL = 20 μg/ mL

   c) Pembuatan larutan kontrol

      Digunakan kontrol negatif. Sebagai kontrol negatif digunakan media DMSO untuk memastikan bahwa bila terjadi efek sitotoksik maka efek ini tidak disebabkan oleh medianya.

6. Setelah telur udang menetas, maka larva udang (nauplii) telah siap digunakan sebagai uji aktivitas. Pada masing-masing vial ditambahkan 5 ml air laut dan 10 ekor larva udang (10 larva udang tiap-tiap konsentrasi).

7. Setelah 24 jam, jumlah larva udang yang mati untuk tiap-tiap konsentrasi dihitung dan dicatat. Bila dalam larutan kontrol terdapat larutan larva udang yang mati, maka pada tiap-tiap konsentrasi dikurangi jumlah larva udang yang mati dalam larutan kontrol.

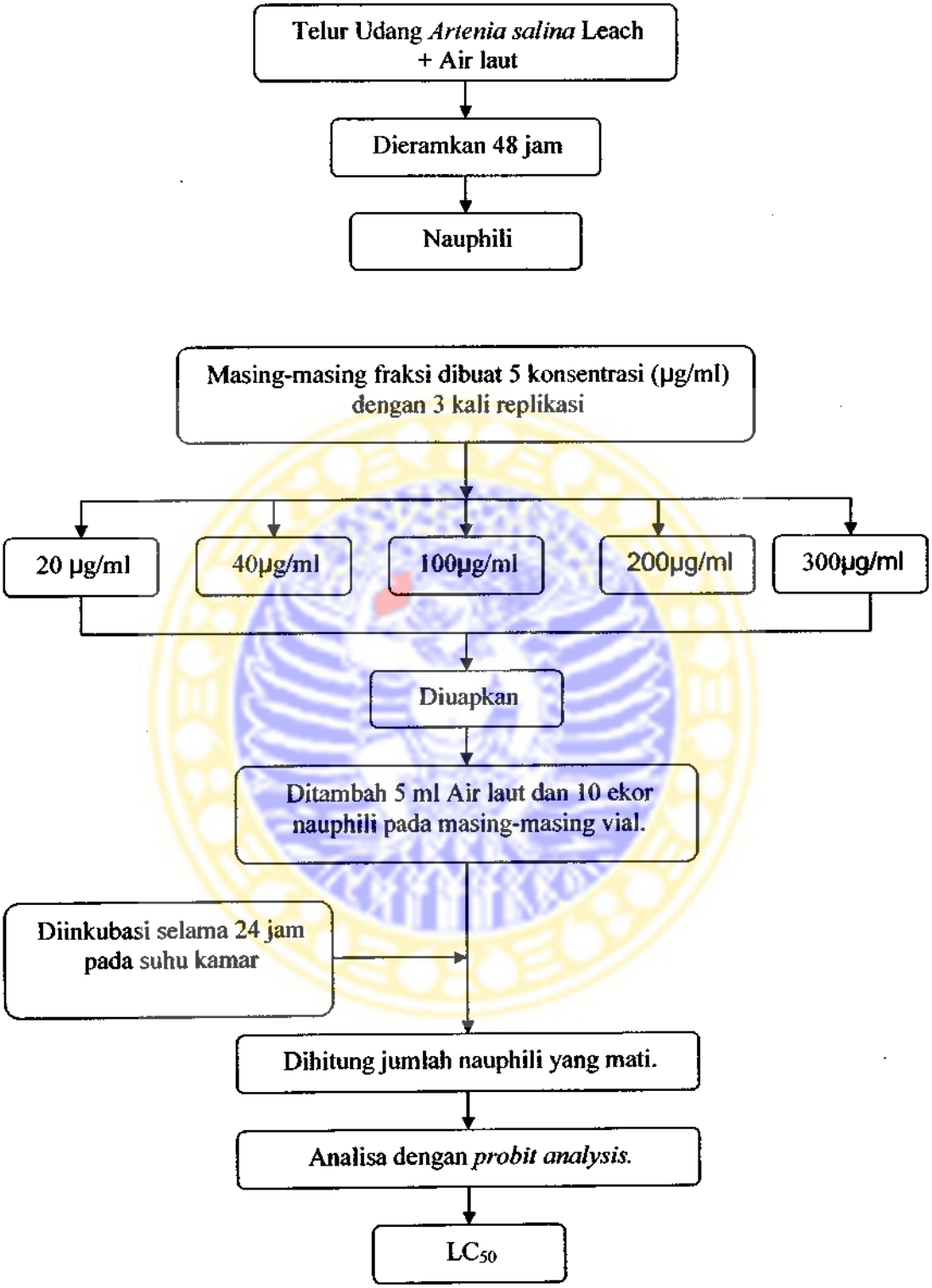
4.4 Analisis Data

Data-data yang diperoleh dari hasil penelitian diolah dengan menggunakan program *Probit Analysis*.

Analisis probit digunakan untuk mengukur suatu hubungan antara kekuatan suatu stimulus dengan proporsi dari respon yang terjadi. Metode ini dapat digunakan untuk menimbulkan respon dalam proporsi tertentu, seperti data ED_{50} (*Median Effective Dose*) dan LC_{50} (*Median Lethal Concetration*). Dengan menggunakan analisis probit akan diperoleh kekuatan hubungan antara konsentrasi dan hewan coba yang mati dan dapat ditentukan pula berapa dosis efektif pada obat tersebut. Data yang diperlukan untuk masing-masing bahan yang dapat dilihat pada tabel IV.2 berikut :

Tabel IV.2 Data yang diperlukan untuk mencari harga LC_{50} masing-masing bahan yang diuji menggunakan "*Probit Analysis*"

Jumlah larva udang yang mati (P)	**Jumlah larva udang yang diuji (N)**	**Konsentrasi larutan uji mcg/ml (D)**
X_1	10	300
X_2	10	200
X_3	10	100
X_4	10	40
X_5	10	20



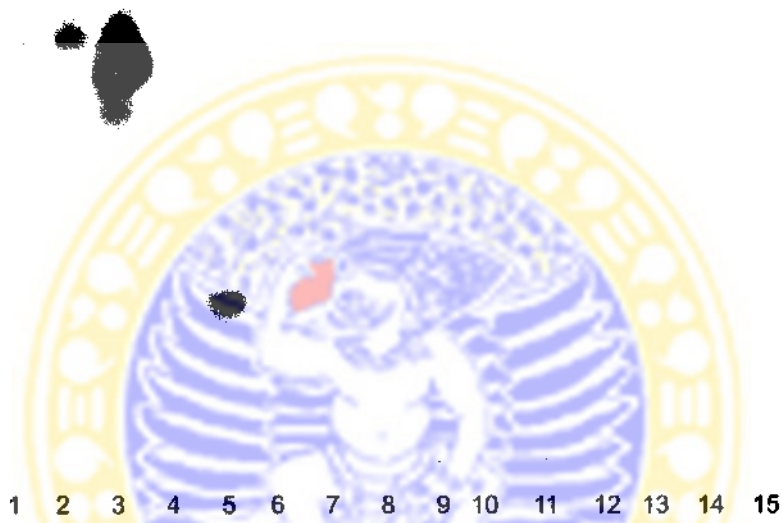
Gambar 4.1 Skema Rancangan Kerja

ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

BAB V
HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil KLT Fraksi *n*-heksana

Dari kromatografi kolom vakum diperoleh 15 fraksi, dan dilakukan analisis KLT setelah disemprot penampak noda Anisaldehida sulfat seperti terlihat pada gambar 5.1 berikut:



Gambar 5.1 Hasil analisis KLT fraksi *n*-heksana herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) setelah disemprot Anisaldehida sulfat

Fase diam	:	Silika gel G 60
Fase gerak	:	n-heksana : etil asetat (4:1)
Penampak noda	:	Anisaldehida sulfat

Berdasarkan uji KLT masing-masing fraksi yang menunjukkan noda dengan harga Rf sama digabung dan diuapkan sampai didapat fraksi yang kering. Berdasarkan noda dan harga Rf yang sama didapat enam kelompok fraksi sebagai berikut:

Kelompok I (FI) : hasil gabungan dari F1 dan F2, diuapkan sampai kering.

Kelompok II (FII) : hasil dari F3, diuapkan sampai kering.

Kelompok III (III) : hasil dari F4, diuapkan sampai kering.

Kelompok IV (IV) : hasil dari F5, diuapkan sampai kering.

Kelompok V (FV) : hasil dari F6, F7, F8, F9, F10, diuapkan sampai kering.

Kelompok VI (FVI): hasil dari F11, F12, F13, F14, F15, diuapkan sampai kering.

Selanjutnya keenam fraksi tersebut dianalisis dengan KLT dan disemprotkan penampak noda Anisaldehida sulfat seperti tampak pada gambar 5.2 berikut:

Gambar 5.2 Hasil analisis KLT setelah penggabungan dari 15 fraksi

Tabel V.1 Nilai Rf fraksi yang diuji pada KLT

Fraksi yang diuji	Nilai Rf
Fraksi 1	0,8
Fraksi 2	0,67; 0,56
Fraksi 3	0,34; 0,49; 0,60
Fraksi 4	0,34; 0,49
Fraksi 5	0,34; 0,49; 0,69; 0,84
Fraksi 6	0,49; 0,69; 0,84

Tabel V.2 Berat hasil gabungan fraksi setelah pengeringan

Macam fraksi	Berat yang Ditimbang
Fraksi 1	0,1890 gram
Fraksi 2	0,3173 gram
Fraksi 3	0,1131 gram
Fraksi 4	0,0928 gram
Fraksi 5	0,2995 gram
Fraksi 6	0,1174 gram

5.2 Pembuatan Larutan Uji

Dari masing-masing fraksi yang dipeoleh ditimbang 10,00 mg, kemudian ditambahkan pelarut n-heksana masing-masing tepat 5,0 ml untuk mendapatkan larutan baku induk dengan konsentrasi 2000 µg/ml. Dari larutan baku induk dibuat 5 macam konsentrasi larutan uji seperti tertera pada tabel V.5

Tabel V.3 Pembuatan larutan uji dari hasil fraksinasi

Fraksi	Berat yang ditimbang	Konsentrasi larutan induk	Konsentrasi larutan uji (µg/ml)
Fraksi I	10,4	2080	20,8; 41,6; 104; 208; 312
	10,5	2100	21; 42; 105; 210; 315
	10,6	2120	21,2; 42,2; 106; 212; 318
Fraksi II	10,5	2100	21; 42; 105; 210; 315
	10,5	2100	21; 42; 105; 210; 315
	10,5	2100	21; 42; 105; 210; 315
Fraksi III	10,2	2040	21,2; 42,4; 106; 212; 318
	10,6	2120	21; 42; 105; 210; 315
	10,5	2100	21; 42; 105; 210; 315
Fraksi IV	10,5	2100	21; 42; 105; 210; 315
	10,4	2080	20,8; 41,6; 104; 208; 312
	10,4	2080	20,8; 41,6; 104; 208; 312
Fraksi V	10,5	2100	21; 42; 105; 210; 315
	10,4	2080	20,8; 41,6; 104; 208; 312
	10,5	2100	21; 42; 105; 210; 315
Fraksi VI	10,3	2060	20,6; 41,2; 103; 206; 309
	10,2	2040	20,4; 40,8; 102; 204; 306
	10,5	2100	21; 42; 105; 210; 315

5.3 Hasil Uji AktivitasAntikanker Fraksi *n*-heksana herba arbenan (Fragaria indica Andr.) Dengan Metode BST

Metode uji aktivitas antikanker dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) dilakukan dengan menghitung larva *Artemia salina* Leach. yang mati pada masing-masing larutan. Hasil pengamatan uji aktivitas dapat dilihat pada tabel V.6 berikut :

ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

Tabel V.4 Hasil uji aktivitas antikanker dari fraksi n-heksana herba arbenan

Nama bahan	Replikasi	Konsentrasi (µg/ml)	Jumlah larva yang diuji	Jumlah larva yang mati setelah perlakuan
Fraksi I	I	0	10	0
			10	0
			10	0
		20,8	10	0
			10	1
			10	0
		41,6	10	1
			10	1
			10	2
		104	10	2
			10	2
			10	2
		208	10	2
			10	3
			10	3
		312	10	4
			10	4
			10	5
	II	0	10	0
			10	0
			10	0
		21	10	1
			10	0
			10	1
		42	10	2
			10	1
			10	2
		105	10	2
			10	1
			10	2
		210	10	3
			10	3
			10	2
		315	10	3
			10	3
			10	4
	III	0	10	0
			10	0
			10	0
		21,2	10	1
			10	1
			10	1
		42,2	10	2
			10	2
			10	2
		106	10	2
			10	1
			10	2
		212	10	3
			10	3
			10	3
		318	10	5
			10	4
			10	5

Nama bahan	Replikasi	Konsentrasi (µg/ml)	Jumlah larva yang diuji	Jumlah larva yang mati setelah perlakuan
Fraksi II	I	0	10	0
			10	0
			10	0
		21	10	1
			10	2
			10	1
		42	10	3
			10	3
			10	2
		105	10	2
			10	3
			10	4
		210	10	3
			10	3
			10	5
		315	10	6
			10	5
			10	6
	II	0	10	0
			10	0
			10	0
		21	10	1
			10	2
			10	2
		42	10	3
			10	2
			10	1
		105	10	3
			10	3
			10	4
		210	10	5
			10	3
			10	4
		315	10	5
			10	6
			10	6
	III	0	10	0
			10	0
			10	0
		21	10	1
			10	1
			10	2
		42	10	2
			10	1
			10	2
		105	10	3
			10	2
			10	4
		210	10	4
			10	3
			10	5
		315	10	6
			10	6
			10	7

ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

Nama bahan	Replikasi	Konsentrasi (µg/ml)	Jumlah larva yang diuji	Jumlah larva yang mati setelah perlakuan
Fraksi III	I	0	10	0
			10	0
			10	0
		21,2	10	2
			10	3
			10	3
		42,4	10	3
			10	5
			10	5
		106	10	6
			10	5
			10	6
		212	10	5
			10	7
			10	6
		318	10	9
			10	8
			10	9
	II	0	10	0
			10	0
			10	0
		21	10	3
			10	3
			10	3
		42	10	5
			10	5
			10	4
		105	10	6
			10	4
			10	6
		210	10	6
			10	5
			10	6
		315	10	7
			10	8
			10	8
	III	0	10	0
			10	0
			10	0
		21	10	3
			10	2
			10	2
		42	10	4
			10	6
			10	4
		105	10	7
			10	6
			10	6
		210	10	6
			10	7
			10	6
		315	10	7
			10	8
			10	8

ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

Nama bahan	Replikasi	Konsentrasi (µg/ml)	Jumlah larva yang diuji	Jumlah larva yang mati setelah perlakuan
Fraksi IV	I	0	10	0
			10	0
			10	0
		21	10	3
			10	3
			10	3
		42	10	5
			10	4
			10	5
		105	10	6
			10	6
			10	5
		210	10	6
			10	7
			10	7
		315	10	8
			10	8
			10	7
	II	0	10	0
			10	0
			10	0
		20,8	10	3
			10	2
			10	3
		41,6	10	4
			10	5
			10	7
		104	10	6
			10	6
			10	7
		208	10	7
			10	6
			10	6
		312	10	8
			10	8
			10	8
	III	0	10	0
			10	0
			10	0
		20.8	10	3
			10	4
			10	4
		41,6	10	5
			10	6
			10	6
		104	10	7
			10	6
			10	6
		208	10	6
			10	7
			10	7
		312	10	8
			10	8
			10	7

Nama bahan	Replikasi	Konsentrasi (µg/ml)	Jumlah larva yang diuji	Jumlah larva yang mati setelah perlakuan
Fraksi V	I	0	10	0
			10	0
			10	0
		21	10	5
			10	5
			10	5
		42	10	5
			10	6
			10	5
		105	10	7
			10	7
			10	7
		210	10	8
			10	8
			10	7
		315	10	7
			10	7
			10	8
	II	0	10	0
			10	0
			10	0
		20,8	10	5
			10	4
			10	5
		41,6	10	6
			10	5
			10	6
		104	10	6
			10	7
			10	7
		208	10	7
			10	7
			10	8
		312	10	8
			10	8
			10	7
	III	0	10	0
			10	0
			10	0
		21	10	5
			10	5
			10	5
		42	10	6
			10	7
			10	5
		105	10	6
			10	7
			10	6
		210	10	8
			10	8
			10	6
		315	10	8
			10	8
			10	7

ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

Nama bahan	Replikasi	Konsentrasi (µg/ml)	Jumlah larva yang diuji	Jumlah larva yang mati setelah perlakuan
Fraksi VI	I	0	10	0
			10	0
			10	0
		20,6	10	5
			10	3
			10	3
		41,2	10	4
			10	5
			10	5
		103	10	6
			10	5
			10	6
		206	10	7
			10	6
			10	7
		309	10	7
			10	6
			10	7
	II	0	10	0
			10	0
			10	0
		20,4	10	3
			10	3
			10	4
		40,8	10	4
			10	5
			10	5
		102	10	5
			10	6
			10	6
		204	10	7
			10	8
			10	6
		306	10	8
			10	7
			10	7
	III	0	10	0
			10	0
			10	0
		21	10	4
			10	5
			10	3
		42	10	5
			10	5
			10	5
		105	10	6
			10	6
			10	6
		210	10	7
			10	6
			10	8
		315	10	7
			10	7
			10	7

5.4 Penentuan Harga LC_{50} Fraksi *n*-heksan Terhadap Larva *Artemia salina* Leach. dengan *Probit Análisis*

Dari hasil pengamatan respon kematian larva udang *Artemia salina* Leach. Pada masing-masing konsentrasi larutan uji ditentukan harga LC_{50} fraksi-fraksi *n*-heksana dengan menggunakan *Probit Análisis*.

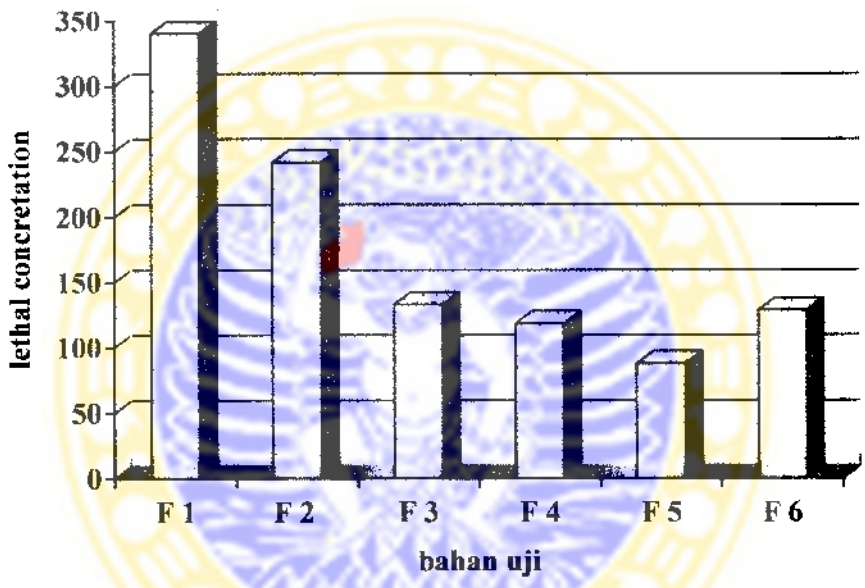
Tabel V.5 Hasil penentuan harga LC_{50} fraksi *n*-heksan *Fragaria indica* terhadap larva *Artemia salina* Leach. Dengan *Probit Analysis*

Nama bahan	Replikasi	Harga LC_{50} (µg/ml)	Rata-rata harga LC_{50} (µg/ml)
Fraksi I	I	323,86	
	II	384,61	340,33 ± 31,65
	III	312,51	
Fraksi II	I	245,72	
	II	246,74	241,69 ± 6,43
	III	232,62	
Fraksi III	I	126,41	
	II	141,62	132,89 ± 6,41
	III	130,64	
Fraksi IV	I	127,90	
	II	118,81	118,25 ± 8,12
	III	108,03	
Fraksi V	I	85,26	
	II	92,00	87,39 ± 3,26
	III	84,92	
Fraksi VI	I	139,61	
	II	126,23	128,22 ± 8,61
	III	118,81	

Fraksi suatu tanaman dikatakan aktif (mempunyai aktivitas antikanker) menurut metode BST jika mempunyai harga LC_{50} < 200 µg/ml (Meyer *et al.*, 1982). Dari keenam fraksi yang di uji ada empat fraksi yang mempunyai harga LC_{50} < 200 µg/ml, yaitu fraksi III LC_{50} 132,89 ± 6,41 µg/ml; fraksi IV LC_{50} 118,25

± 8,12 μg/ml; fraksi V LC_{50} 87,39 ± 3,26 μg/ml; fraksi VI LC_{50} 128,22 ± 8,61 μg/ml. Sedangkan fraksi I dan fraksi II mempunyai harga LC_{50} > 200 μg/ml sehingga dapat dikategorikan tidak toksik. Dari kelompok fraksi yang diteliti ternyata fraksi V mempunyai aktivitas terbesar dengan harga LC_{50} 87,39 ± 3,26 μg/ml. Untuk mengetahui adanya senyawa sterol dilakukan KLT dengan pembandingnya digunakan standart sterol (isolat *Marcahntia geminata*) dengan penampak noda Anisaldehida-asam sulfat. Berdasarkan hasil KLT diperoleh hasil yang positif dengan penampakan noda warna ungu.

Histogram Bahan Uji vs Lethal Concentration 50



Gambar 5.3 Histogram aktivitas antikanker dengan metode BST dari fraksi-fraksi *n*-heksan hasil pemisahan dengan kromatografi kolom vakum

5.5 Hasil KLT Steroid Fraksi *n*-heksana

Gambar 5.4 Hasil analisis KLT fraksi n-heksana herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) dengan pembanding standart sterol setelah disemprot Anisaldehida sulfat

Fase diam	:	Silika gel G 60
Fase gerak	:	*n*-heksana : etil asetat (4:1)
Penampak noda	:	Anisaldehida sulfat

BAB VI
PEMBAHASAN

Pencarian obat kanker yang spesifik saat ini banyak dilakukan dari pemanfaatan bahan-bahan alam. Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat kanker adalah *Fragaria indica* Andr. (familia Rosaceae) atau tanaman arbenan. Salah satu bukti laboratoris dengan suatu penelitian yang dilakukan oleh Koshiura dkk (1985) ekstrak metanol dari akar *Agrinoma pilosa* Leded (familia Rosaceae) dengan senyawa aktif agrimonine yang menunjukkan aktivitas sitotoksik dimana dapat menghambat sarkoma$_{180}$, fibrosarkoma dan kanker payudara. Pada penelitian ini dilakukan praskrining terhadap fraksi-fraksi *n*-heksana pada herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) yang digunakan sebagai aktivitas antikanker dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST).

Uji aktivitas antikanker pada penelitian ini menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) yaitu uji toksisitas senyawa terhadap terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Uji BST dapat dipakai untuk skrining awal senyawa yang diduga berkhasiat sebagai antikanker karena uji ini mempunyai korelasi positif dengan potensinya sebagai antikanker, meskipun metode uji aktivitas antikanker ini sifatnya yang tidak spesifik. Pada penelitian yang dilakukan oleh Laughlin (1991) terhadap sejumlah alkaloid kaktus dan derivat dihidrosokuinolin baik dengan udang air laut maupun dengan sel tumor 9-KB ditemukan suatu korelasi positif antara toksisitas udang air laut dan sitotoksisitas 9-KB. Selain itu penelitian Anderson, dkk. BST mampu mendeteksi 6 dari 7 senyawa murni yang aktif pada uji P-388 sehingga penggunaan BST sebagai uji praskrining aktivitas biologik menggantikan uji sitotoksik yang lebih mahal dan membutuhkan waktu yang lebih lama. Disamping itu, BST memiliki keuntungan lain seperti pelaksanaannya sederhana, waktu relatif cepat, tidak memperlukan peralatan khusus dan hanya memperlukan sedikit sampel ekstrak untuk diteliti.

Berdasarkan bukti empirik dan hasil penelitian sebelumnya, dapat diduga ada kandungan dalam herba arbenan (*Fragaria indica*) yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antikankernya. Maka dari itu, dilakukan penelitian lanjutan dari ekstrak *n*-heksana herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) yang selanjutnya

terhadap aktivitas antikankernya. Maka dari itu, dilakukan penelitian lanjutan dari ekstrak *n*-heksana herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) yang selanjutnya difraksinasi untuk mendapatkan fraksi n-heksana dan untuk mengetahui apakah fraksi tersebut memiliki aktivitas antikanker dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST).

Pada metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) ini digunakan larva udang jenis *Artemia salina* Leach. yang berumur 48 jam dan biasa disebut nauplii. Fraksi yang sudah dikeringkan masing-masing dibuat 5 macam konsentrasi sebagai larutan uji dalam vial. Tiap-tiap vial ditambahkan 5 ml air laut dan 10 ekor larva udang dengan replikasi 3 kali. Setelah 24 jam jumlah larva udang yang mati pada masing-masing konsentrasi dihitung.

Untuk meningkatkan kelarutan fraksi n-heksana yang sulit terdifusi dalam air laut digunakan DMSO. Batas penggunaan DMSO adalah 50 µl tiap 5 ml air laut sebelum menimbulkan efek toksik (Lauglin, 1991). Sebagai larutan kontrol ditambahkan DMSO sebanyak 50 µl tiap 5 ml air laut tanpa fraksi. Larutan kontrol ini juga berfungsi untuk menghilangkan pengaruh lain diluar ekstrak uji yang menyebabkan kematian nauplii misalnya salinitas air laut, suhu percobaan, pengotor-pengotor toksik dari air laut dan sebagainya. Berdasarkan pengalaman yang telah dilakukan, ada berapa hal yang perlu diperhatikan dalam pelaksanaan penelitian, yaitu fraksi yang ditimbang sebisa mungkin bebas dari pelarutnya sehingga pembuatan larutan uji harus berderajat *p.a* dengan harapan pelarut tersebut dapat menguap sempurna sehingga tidak menyebabkan kematian larva udang. Perhitungan jumlah larva udang harus dilakukan dengan teliti, sebisa mungkin diusahakan agar pencahayaan, suhu, dan sirkulasi udara pada tiap wadah uji (vial) harus disamakan sehingga larva benar-benar mendapatkan perlakuan yang sama, selain itu untuk menghomogenkan larutan dengan ultrasonic. Kreteria mati untuk larva udang adalah jika larva tidak menunjukkan gerakan sama sekali selama pengamatan.

Penelitian dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) ini menghitung respon kematian 50% larva udang (LC_{50}) yaitu dengan mengkorelasikan jumlah kematian larva udang dengan konsentrasi larutan uji.

Tingkat toksisitas fraksi tanaman dapat ditentukan dengan melihat harga LC_{50} nya. Apabila harga $LC_{50} < 200$ µg/ml dikatakan toksik, sebaliknya apabila harga $LC_{50} > 200$ µg/ml dikatakan tidak toksik (Meyer *et al.*, 1982. Dari hasil uji aktivitas fraksi kemudian diolah dengan *Probit Analysis* untuk mengetahui potensi aktivitas antikankernya melalui harga LC_{50}.

Dari keenam fraksi yang di uji ada empat fraksi yang mempunyai harga $LC_{50} < 200$ µg/ml, yaitu fraksi III LC_{50} 132,89 ± 6,41 µg/ml; fraksi IV LC_{50} 118,25 ± 8,12 µg/ml; fraksi V LC_{50} 87,39 ± 3,26 µg/ml; fraksi VI LC_{50} 128,22 ± 8,61 µg/ml. Sedangkan fraksi I dan fraksi II mempunyai harga LC_{50} sebesar 340,33 ± 31,65 µg/ml dan 241,69 ± 6,43 µg/ml. Karena $LC_{50} > 200$ µg/ml sehingga fraksi I dan fraksi II dapat dikategorikan tidak toksik. Dari kelompok fraksi yang diteliti ternyata fraksi V mempunyai aktivitas terbesar dengan harga LC_{50} 87,39 ± 3,26 µg/ml.

Dari hasil skrining fitokimia, diketahui bahwa ekstrak *n*-heksan herba arbenan mengandung suatu senyawa golongan steriod/triterpenoid (Mardiani, 2005). Fito-sterol mempunyai efek biologi yang efektif menghambat pertumbuhan kanker, antioksidan, mempunyai efek biologi yang efektif menghambat pertumbuhan mikroba dan menurunkan kadar kolesterol dalam darah (Anonim, 2006). Dalam penelitian tanaman dari famili Araceae telah dibuktikan mempunyai aktivitas antikanker, diantaranya akar tanaman *Pinellia pedatisecta* memiliki kandungan β-sitosterol-3-0-0β-D-glukosida (Sue Hock Goh, 1997). Untuk mengetahui adanya senyawa sterol dilakukan KLT dengan poembanding digunakan standart sterol (Isolat Marchantia geminata; terdiri dari kampersterol, stigmasterol, dan sitosterol) penampak noda Anisaldehida asm sulfat dengan penampakan noda warna ungu pada standart sterol.

Dari kelompok fraksi *n*-heksana herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) yang diteliti ternyata fraksi V mempunyai aktivitas terbesar sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan kandungan kimia antikankernya dengan mengisolasi zat tunggal sehingga dapat diketahui senyawa yang digolongkan toksik. Tingkat toksisitas tersebut akan memberikan makna terhadap potensi aktivitasnya sebagai antikanker.

BAB VII
KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Hasil fraksinasi ekstrak *n*-heksana herba arbenan (*Fragaria indica* Andr.) diperoleh enam fraksi. Dari keenam fraksi yang di uji ada empat fraksi yang mempunyai harga LC_{50} < 200 μg/ml, yaitu fraksi III LC_{50} 132,89 ± 6,41 μg/ml; fraksi IV LC_{50} 118,25 ± 8,12 μg/ml; fraksi V LC_{50} 87,39 ± 3,26 μg/ml; fraksi VI LC_{50} 128,22 ± 8,61 μg/ml. Dari kelompok fraksi yang diteliti ternyata fraksi V mempunyai aktivitas terbesar dengan harga LC_{50} 87,39 ± 3,26 μg/ml.

SARAN

1. Dilakukan uji aktivitas antikanker fraksi n-heksana lebih lanjut dengan metode uji aktivitas yang lain seperti dengan kultur sel kanker secara invivo dengan menggunakan hewan coba.
2. Sebaiknya pada fraksi V yang mempunyai aktivitas terbesar perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengisolasi zat aktif tunggal dan mengidentifikasinya untuk mengetahui senyawa yang berperan sebagai antikanker.

DAFTAR PUSTAKA

Anderson, J.E and Mc. Laughlin, J.L., 1991. A Blind Comporison of Simple Bench Top Bioassay and Human Tumour Cell Cytotoxicities as Antitumour Prescreens, **Phytochemical Analysis**, Vol.2, hal. 107-111

Anonim, 2005. http://iptek. Apjii.or.id/Artikel/ttg tanaman obat/depkes/Buku5/5-027.pdf

Anonim, 1988. **Profil Kesehatan Indonesia**, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Pusat Data Kesehatan, Jakarta, hal.14-36

Bellanti, A.J., 1985. **Imunologi III**, W.B. Sounders Company, Philadelphia, hal. 356-359

Dalimartha, Setiawan, 2003. Ramuan **Tradisional Untuk Pengobatan Kanker**, Seri Agreschat, Penebar Swadaya, Jakarta

Dewick, P.M., 1989 Tumour Inhibitor From Plants, in: **Trease and Evan's Pharmacognosy**, 13th edition Bailiere Tindal: English Language Book Society, hal.629, 631-632

Djoyopranoto, Moeljono, 1963. **Buku Pelajaran patologi, Djilid I s.d. IV**, Dasar-dasar Patologi, Departemen Urusan Research Nasional RI, hal.50-51

Harbone, J.B., 1973. **Phytochenical Methods**, London: Champman and Hall LTD.

Koshiura, R.,et all, 1985. **Antitumour activity of methanol extract from roots of Agrimonia pilosa Ledep**, from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dot=Abstract&list uids

Lee, H. and Lin, J.Y., 1988. **Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese medicine**

Mardiani, E., 2005. **Uji praskrining Aktivitas Antikanker Ekstrak Heksana Dan Ekstrak Metanol *Duchesnea indica* (Andr.) Focke Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST)**, Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

Mc, Laughlin, J.L., 1991. **Grown Gall Tumour on Potato Disc and Brine Shrimp Lethality: Two Simple Bioassay for Higher Plant Screning and Fractination**, Metods in Plant Biochemistry, Assay for Bioactivity, vol.6, London:Academic Press

Meyer, Laughlin and Ferrigni, 1982. Brine Shrimp: Convenient General Bioassay for Active Constituens, **Planta Medica**, Vol.45, hal.31-34

Mulyadi, S.M., 1995. **Isolasi Struktur Kandungan Daun Euatorium Inufolium yang Bersifat Sitotoksik**, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta

Nafrialdi dan Ganiswara,S., 1995. Antikanker dan Imunosupresan, **Farmakologi dan Terapi**, edisi 4, Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal.686-687

Robinson, S.L. and Kumar, V., 1992., Neoplasi, **Buku Ajar Patologi**, edisi 4, Editor alih bahasa jonatha Uswari, Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, hal.203-238

Setiawati, A.,2005. **Uji Praskrining Aktivitas Antikanker Fraksi Alkaloid Dari Daun Pepaya (Carica papaya L.) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*** (BST), Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

Siswandono dan Soekardjo, B., 2000. **Kimia Medisinal**, Edisi Kedua, Surabaya: Airlangga University Press

Sukardiman, 1994, **Fraksinasi Ekstrak Heksana dari Daun Gynura rocumbens yang memiliki Aktivitas Antikanker dengan Metode Brine Shrim Lethality Test**, Surabaya Lembaga Penelitian Univ. Airlangga, hal.77-109

Tjarta, Ahmad, 1996. Neoplasma, **Patologi**, Edisi I, Jakarta: Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Univ. Indonesia. hal. 77-109

Underwood, J.C.E, 1999. **Patologi Umum dan Sistemik**, edisi kedua, Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC, hal.258-304

ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

LAMPIRAN 1

Surat Keterangan Determinasi Tanaman

LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(Indonesian Institute of Sciences)
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN KEBUN RAYA PURWODADI
(Purwodadi Botanic Garden)
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65, Purwodadi - Pasuruan 67163
Telepon : 0341 - 426046 Fax. : 0341 - 426046
e-mail : kriplipi@indo.net.id

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI
No.:[illegible]IPH.UPT.03/HM/2003

Kepala Kebun Raya Purwodadi dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh .

ELLY MARDIANI ,NIM. 050110114 E

Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya di Surabaya datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 3 Maret 2005 berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer, Vol I, (1963) hal. 517, nama ilmiahnya adalah :

Marga	. *Fragaria*
Jenis	. *Fragaria indica* Andr
Synonim	. *Duchesnea indica* (Andr) Focke

Adapun menurut buku The Standard Cyclopedia of Horticulture karangan L.H. Bailey jilid I (1953) halaman 3, klasifikasinya adalah sebagai berikut

Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	. Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo / Bangsa	: Rosales
Family / Suku	: Rosaceae

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 7 Maret 2005

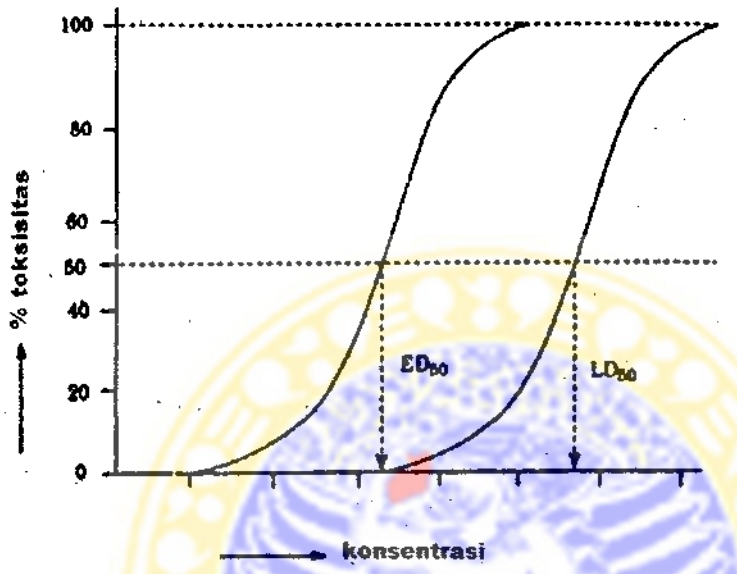
An. Kepala
UPT Balai Konservasi Tumbuhan
Kebun Raya Purwodadi
Koordinator Jasa & Informasi

WARDAYA
NIP.320003343

ADLN-Perpustakaan Univesitas Airlangga

LAMPIRAN 2

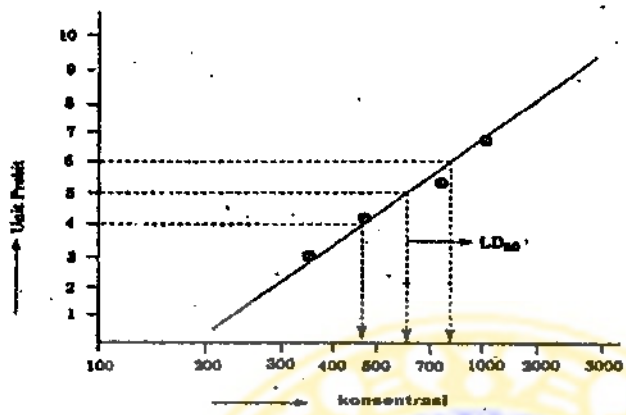
Ilustrasi konsep dosis efektif median (ED50) dan dosis kematian median (LD50)

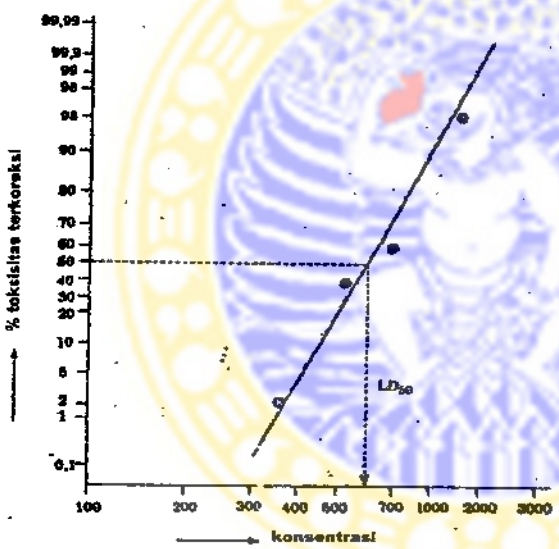


(Disadur dari Siswandono dan Soekardjo, B., 2000. **Kimia Medisinal**, Edisi kedua, Surabaya: Airlangga University Press, hal 247, dengan modifikasi)

LAMPIRAN 3

Kurva konsentrasi-respon toksisitas menggunakan unit probit pada kertas semi log





(Disadur dari Siswandono dan Soekardjo, B., 2000. **Kimia Medisinal**, Edisi kedua, Surabaya: Airlangga University Press, hal 248-249, dengan modifikasi)

Lampiran 4

Harga LC50 Fraksi I-1

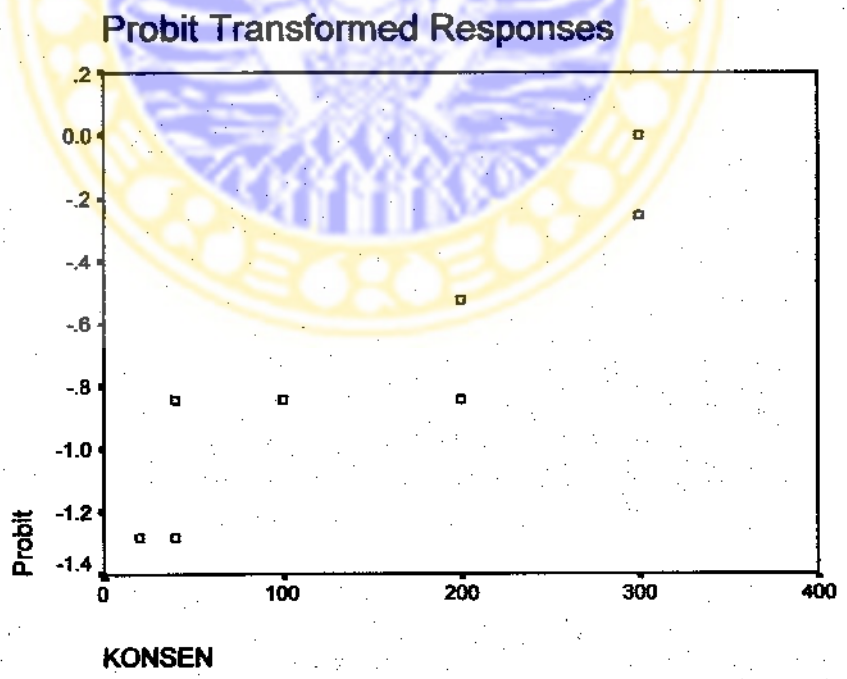
```
* * * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
DATA  Informatio
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requested.
* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Parameter estimates converged after 11 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
           Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.

   KONSEN            .00477          .00105         4.56000
                  Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.

                  -1.54418          .19307        -7.99802
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =      6.030    DF = 16    P
=  .988
  Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no
heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
.00	10.0	.0	.613	-.613	.06127
.00	10.0	.0	.613	-.613	.06127
.00	10.0	.0	.613	-.613	.06127
20.00	10.0	1.0	.737	.263	.07369
20.00	10.0	.0	.737	-.737	.07369
20.00	10.0	1.0	.737	.263	.07369
40.00	10.0	1.0	.880	.120	.08796
40.00	10.0	1.0	.880	.120	.08796
40.00	10.0	2.0	.880	1.120	.08796
100.00	10.0	2.0	1.429	.571	.14290
100.00	10.0	2.0	1.429	.571	.14290
100.00	10.0	2.0	1.429	.571	.14290
200.00	10.0	2.0	2.774	-.774	.27741
200.00	10.0	3.0	2.774	.226	.27741
200.00	10.0	3.0	2.774	.226	.27741
300.00	10.0	4.0	4.547	-.547	.45472
300.00	10.0	4.0	4.547	-.547	.45472
300.00	10.0	5.0	4.547	.453	.45472

```
* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
.01	-164.04275	-407.21530	-62.08541
.02	-106.87113	-308.68978	-20.35563
.03	-70.59757	-246.59761	6.53970

.04	-43.31039	-200.21354	27.09746
.05	-21.11437	-162.77089	44.10682
.06	-2.22207	-131.17173	58.85487
.07	14.34278	-103.73007	72.05065
.08	29.17463	-79.42474	84.13130
.09	42.66360	-57.59054	95.38869
.10	55.08022	-37.77062	106.02964
.15	106.48835	40.07340	154.30174
.20	147.34590	94.44760	200.16064
.25	182.39804	134.33762	246.26169
.30	213.87595	165.52830	292.29365
.35	243.04492	191.68498	337.69525
.40	270.72342	214.90064	382.38141
.45	297.50269	236.37918	426.59866
.50	**323.85738**	**256.87545**	**470.75660**
.55	350.21208	276.92546	515.36079
.60	376.99135	296.96955	561.01250
.65	404.66985	317.43078	608.45309
.70	433.83882	338.78405	658.65810
.75	465.31673	361.64613	713.01865
.80	500.36887	386.93740	773.71846
.85	541.22642	416.25188	844.63708
.90	592.63455	452.95124	934.05384
.91	605.05117	461.79106	955.67489
.92	618.54014	471.38532	979.17222
.93	633.37199	481.92478	1005.01874
.94	649.93684	493.68445	1033.89651
.95	668.82914	507.08325	1066.84492
.96	691.02516	522.80905	1105.57114
.97	718.31234	542.12087	1153.20114
.98	754.58590	567.76157	1216.54793
.99	811.75752	608.11539	1316.44941



Lampiran 5

Harga LC50 Fraksi I-2

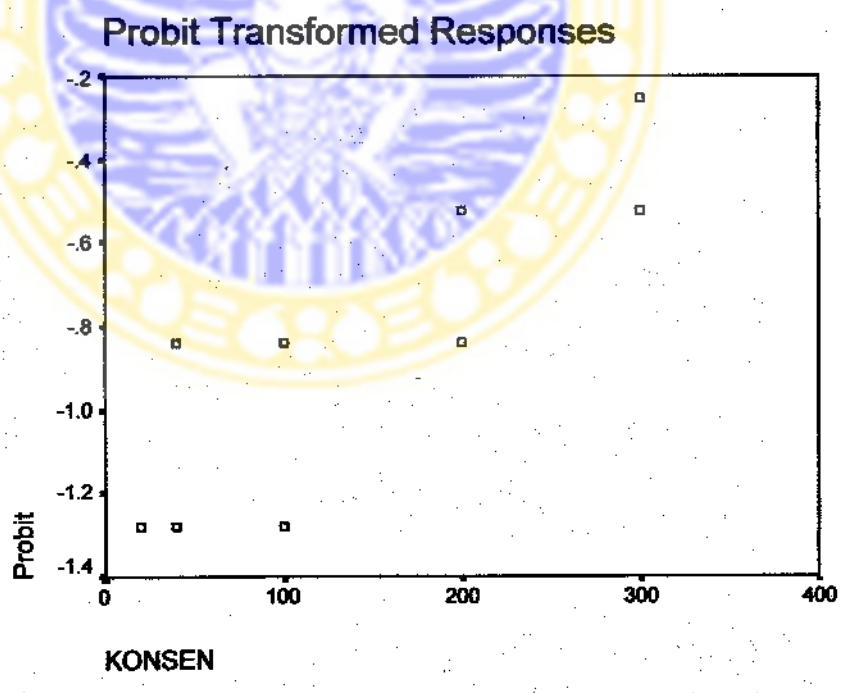
```
* * * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
DATA  Information
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requested
* * * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Parameter estimates converged after 11 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
           Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.
   KONSEN              .00382           .00104         3.66834
                  Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                   -1.46984           .18882        -7.78418
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =      7.643    DF = 16    P
=  .959
  Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no
heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence

* * * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
.00	10.0	.0	.708	-.708	.07080
.00	10.0	.0	.708	-.708	.07080
.00	10.0	.0	.708	-.708	.07080
20.00	10.0	1.0	.817	.183	.08175
20.00	10.0	.0	.817	-.817	.08175
20.00	10.0	1.0	.817	.183	.08175
40.00	10.0	2.0	.939	1.061	.09392
40.00	10.0	1.0	.939	.061	.09392
40.00	10.0	2.0	.939	1.061	.09392
100.00	10.0	2.0	1.384	.616	.13837
100.00	10.0	1.0	1.384	-.384	.13837
100.00	10.0	2.0	1.384	.616	.13837
200.00	10.0	3.0	2.402	.598	.24025
200.00	10.0	3.0	2.402	.598	.24025
200.00	10.0	2.0	2.402	-.402	.24025
300.00	10.0	3.0	3.732	-.732	.37322
300.00	10.0	3.0	3.732	-.732	.37322
300.00	10.0	4.0	3.732	.268	.37322

```
* * * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
.01	-224.11729	-654.07513	-87.40842
.02	-152.78783	-502.96579	-38.86130
.03	-107.53157	-407.65032	-7.50114
.04	-73.48705	-336.40695	16.54863
.05	-45.79446	-278.88343	36.53873
.06	-22.22371	-230.34713	53.97870
.07	-1.55678	-188.23072	69.71056

.08	16.94799	-150.98886	84.26493
.09	33.77734	-117.62576	98.00843
.10	49.26879	-87.46941	111.21379
.15	113.40751	27.77693	175.49648
.20	164.38293	100.66858	245.28881
.25	208.11530	148.44941	319.91814
.30	247.38832	183.89346	394.40219
.35	283.78063	213.30141	466.85902
.40	318.31337	239.47525	537.34488
.45	351.72420	263.81875	606.52076
.50	**384.60531**	**287.16291**	**675.21328**
.55	417.48642	310.09014	744.32272
.60	450.89724	333.08312	814.84912
.65	485.42999	356.61339	887.97855
.70	521.82229	381.21874	965.23797
.75	561.09531	407.60570	1048.77912
.80	604.82769	436.83595	1141.95903
.85	655.80311	470.75514	1250.72382
.90	719.94183	513.26253	1387.74547
.91	735.43327	523.50694	1420.86275
.92	752.26262	534.62775	1456.84854
.93	770.76739	546.84643	1496.42610
.94	791.43433	560.48230	1540.63851
.95	815.00507	576.02181	1591.07526
.96	842.69766	594.26371	1650.34698
.97	876.74218	616.67011	1723.23372
.98	921.99844	646.42643	1820.15302
.99	993.32791	693.27046	1972.96546



Lampiran 5

Harga LC50 Fraksi I-3

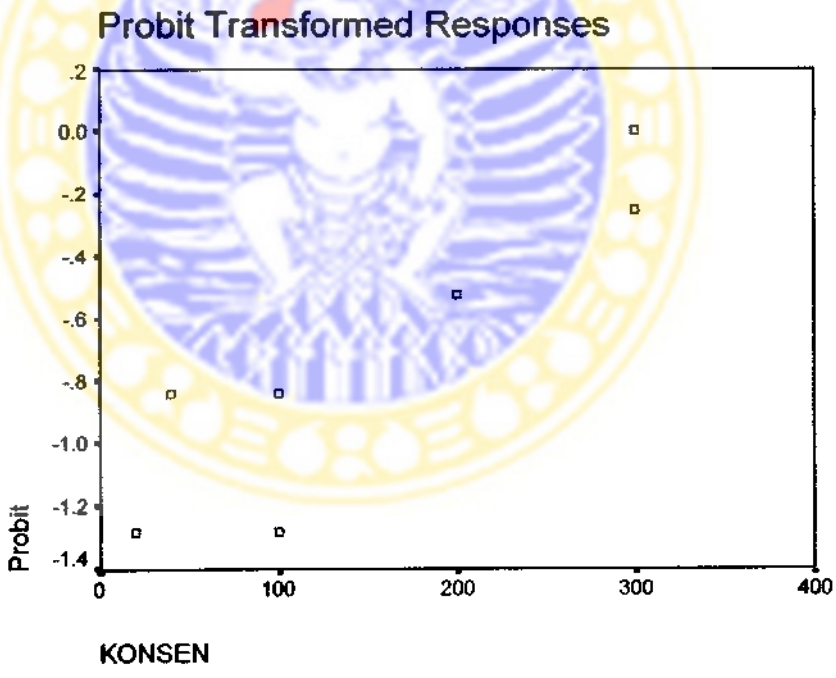
```
* * * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
DATA  Information
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requeste
* * * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Parameter estimates converged after 10 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
           Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.

   KONSEN            .00452          .00101         4.48777
                  Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                   -1.41290          .18093        -7.80928
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =      5.908    DF = 16    P
=  .989
  Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no
heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.
* * * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
.00	10.0	.0	.788	-.788	.07884
.00	10.0	.0	.788	-.788	.07884
.00	10.0	.0	.788	-.788	.07884
20.00	10.0	1.0	.930	.070	.09301
20.00	10.0	1.0	.930	.070	.09301
20.00	10.0	1.0	.930	.070	.09301
40.00	10.0	2.0	1.090	.910	.10897
40.00	10.0	2.0	1.090	.910	.10897
40.00	10.0	2.0	1.090	.910	.10897
100.00	10.0	2.0	1.683	.317	.16833
100.00	10.0	1.0	1.683	-.683	.16833
100.00	10.0	2.0	1.683	.317	.16833
200.00	10.0	3.0	3.055	-.055	.30549
200.00	10.0	3.0	3.055	-.055	.30549
200.00	10.0	3.0	3.055	-.055	.30549
300.00	10.0	5.0	4.775	.225	.47745
300.00	10.0	4.0	4.775	-.775	.47745
300.00	10.0	5.0	4.775	.225	.47745

```
* * * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
.01	-202.03932	-475.73992	-90.04778
.02	-141.74531	-370.25320	-46.52351
.03	-103.49069	-303.68576	-18.54826
.04	-74.71323	-253.88675	2.77352
.05	-51.30499	-213.62185	20.35989
.06	-31.38090	-179.57748	35.55604
.07	-13.91137	-149.94910	49.10197
.08	1.73052	-123.64281	61.45312
.09	15.95618	-99.94539	72.91309

.10	29.05093	-78.36678	83.69691
.15	83.26668	7.31502	132.00426
.20	126.35565	68.32823	177.48136
.25	163.32214	113.25497	223.91384
.30	196.51920	147.84803	271.36418
.35	227.28122	176.31232	318.92532
.40	256.47136	201.22732	366.15103
.45	284.71317	224.07847	413.09684
.50	**312.50721**	**245.77017**	**460.09550**
.55	340.30125	266.92151	507.63452
.60	368.54306	288.02423	556.32877
.65	397.73320	309.53856	606.95515
.70	428.49522	331.97216	660.54698
.75	461.69228	355.97779	718.58474
.80	498.65877	382.52457	783.39718
.85	541.74773	413.28713	859.12494
.90	595.96349	451.79389	954.60732
.91	609.05824	461.06858	977.69508
.92	623.28390	471.13470	1002.78634
.93	638.92579	482.19241	1030.38608
.94	656.39532	494.53023	1061.22256
.95	676.31941	508.58772	1096.40559
.96	699.72765	525.08658	1137.75800
.97	728.50511	545.34780	1188.61757
.98	766.75973	572.24924	1256.25882
.99	827.05374	614.58793	1362.93111



Lampiran 6

Harga LC50 Fraksi II-1

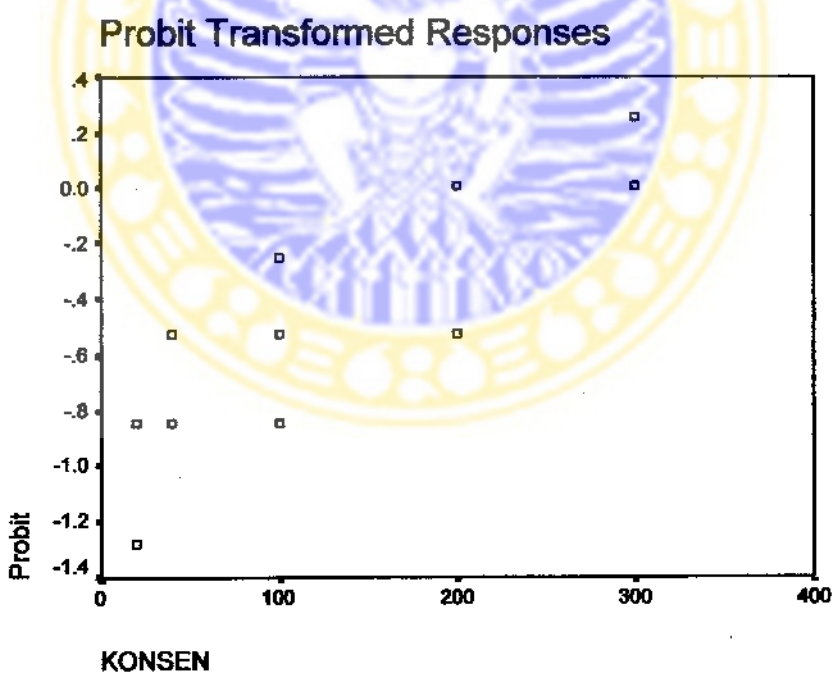
```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
DATA  Information
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requested.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Parameter estimates converged after 8 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
            Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.
   KONSEN            .00468          .00097         4.84480
                  Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                  -1.19031          .16508        -7.21037
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =     11.092    DF = 16   P
=  .804
  Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no
heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
.00	10.0	.0	1.170	-1.170	.11696
.00	10.0	.0	1.170	-1.170	.11696
.00	10.0	.0	1.170	-1.170	.11696
20.00	10.0	1.0	1.364	-.364	.13637
20.00	10.0	2.0	1.364	.636	.13637
20.00	10.0	1.0	1.364	-.364	.13637
40.00	10.0	3.0	1.579	1.421	.15786
40.00	10.0	3.0	1.579	1.421	.15786
40.00	10.0	2.0	1.579	.421	.15786
100.00	10.0	2.0	2.349	-.349	.23492
100.00	10.0	3.0	2.349	.651	.23492
100.00	10.0	4.0	2.349	1.651	.23492
200.00	10.0	3.0	3.993	-.993	.39930
200.00	10.0	3.0	3.993	-.993	.39930
200.00	10.0	5.0	3.993	1.007	.39930
300.00	10.0	6.0	5.841	.159	.58411
300.00	10.0	5.0	5.841	-.841	.58411
300.00	10.0	6.0	5.841	.159	.58411

```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
.01	-242.96466	-503.77084	-128.74558
.02	-184.66389	-406.97810	-86.11839
.03	-147.67392	-345.78993	-58.84907
.04	-119.84781	-299.92443	-38.17145
.05	-97.21341	-262.75431	-21.21388
.06	-77.94798	-231.24123	-6.65579
.07	-61.05597	-203.72790	6.22628

.08	-45.93119	-179.20714	17.87479
.09	-32.17581	-157.01982	28.58197
.10	-19.51396	-136.71067	38.55226
.15	32.90949	-54.33705	81.54362
.20	74.57399	7.75728	119.08540
.25	110.31842	56.72260	155.59898
.30	142.41802	95.89971	193.18457
.35	172.16308	127.91423	232.30214
.40	200.38824	155.14662	272.56714
.45	227.69641	179.41998	313.59828
.50	**254.57161**	**201.96881**	**355.31859**
.55	281.44682	223.62817	397.92835
.60	308.75498	245.01756	441.84347
.65	336.98014	266.67116	487.68726
.70	366.72520	289.13901	536.35149
.75	398.82481	313.09680	589.15641
.80	434.56923	339.52264	648.20948
.85	476.23373	370.08633	717.28189
.90	528.65718	408.28791	804.44529
.91	541.31903	417.48259	825.53004
.92	555.07442	427.45969	848.44745
.93	570.19920	438.41725	873.65916
.94	587.09121	450.64080	901.83100
.95	606.35663	464.56529	933.97768
.96	628.99103	480.90481	971.76586
.97	656.81714	500.96638	1018.24740
.98	693.80711	527.59734	1080.07394
.99	752.10788	569.50103	1177.59018



Lampiran 7

Harga LC50 Fraksi II-2

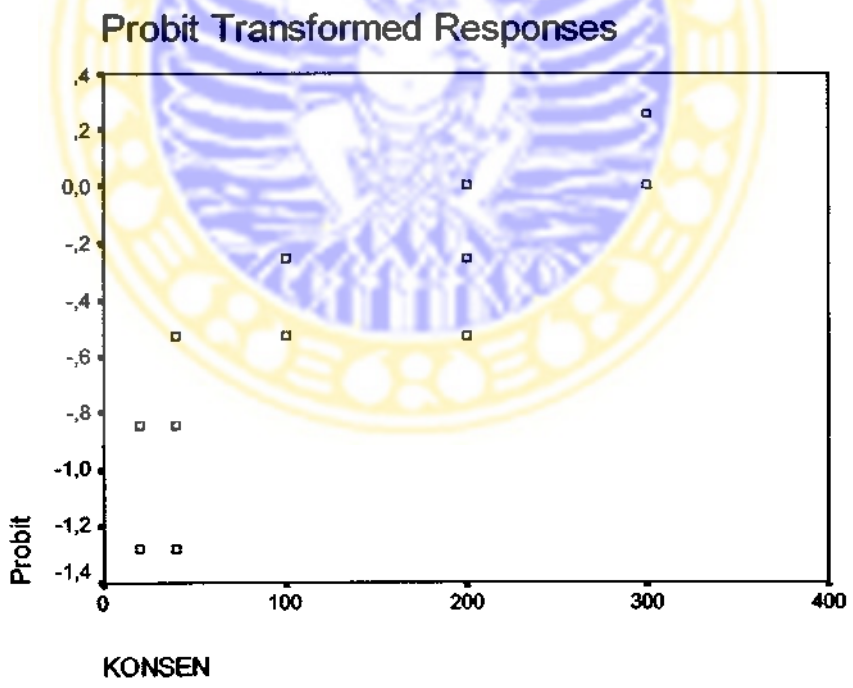
```
* * * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
DATA  Information
          18 unweighted cases accepted.
           0 cases rejected because of missing data.
           3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requested.

* * * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Parameter estimates converged after 21 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
            Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.
   KONSEN             ,00484          ,00097         5,01226
                   Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                   -1,19535          ,16539        -7,22758
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =      9,759    DF = 16    P
=  ,879
  Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no
heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
,00	10,0	,0	1,160	-1,160	,11598
,00	10,0	,0	1,160	-1,160	,11598
,00	10,0	,0	1,160	-1,160	,11598
20,00	10,0	1,0	1,360	-,360	,13600
20,00	10,0	2,0	1,360	,640	,13600
20,00	10,0	2,0	1,360	,640	,13600
40,00	10,0	3,0	1,583	1,417	,15828
40,00	10,0	2,0	1,583	,417	,15828
40,00	10,0	1,0	1,583	-,583	,15828
100,00	10,0	3,0	2,386	,614	,23858
100,00	10,0	3,0	2,386	,614	,23858
100,00	10,0	4,0	2,386	1,614	,23858
200,00	10,0	5,0	4,104	,896	,41043
200,00	10,0	3,0	4,104	-1,104	,41043
200,00	10,0	4,0	4,104	-,104	,41043
300,00	10,0	5,0	6,018	-1,018	,60181
300,00	10,0	6,0	6,018	-,018	,60181
300,00	10,0	6,0	6,018	-,018	,60181

```
* * * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
,01	-233,45711	-474,25784	-124,52171
,02	-177,18822	-382,94420	-82,98267
,03	-141,48742	-325,22231	-56,41380
,04	-114,63109	-281,95597	-36,27147
,05	-92,78554	-246,89224	-19,75714
,06	-74,19155	-217,16433	-5,58403

,07	-57,88825	-191,20835	6,95260
,08	-43,29060	-168,07377	18,28356
,09	-30,01461	-147,13834	28,69316
,10	-17,79405	-127,97211	38,38008
,15	32,80236	-50,16725	80,03499
,20	73,01477	8,68130	116,12927
,25	107,51345	55,42700	150,83607
,30	138,49432	93,23198	186,17794
,35	167,20272	124,42833	222,76306
,40	194,44419	151,10347	260,40591
,45	220,80062	174,91225	298,82551
,50	**246,73918**	**197,01957**	**337,95999**
,55	272,67774	218,23432	377,98702
,60	299,03417	239,16424	419,28549
,65	326,27563	260,33504	462,43267
,70	354,98403	282,28705	508,26213
,75	385,96490	305,68205	558,01398
,80	420,46358	331,47582	613,67271
,85	460,67600	361,29776	678,79360
,90	511,27240	398,56096	760,99017
,91	523,49297	407,52839	780,87589
,92	536,76895	417,25838	802,49093
,93	551,36661	427,94401	826,27085
,94	567,66990	439,86361	852,84386
,95	586,26389	453,44115	883,16734
,96	608,10944	469,37271	918,81384
,97	634,96577	488,93234	962,66287
,98	670,66658	514,89547	1020,99051
,99	726,93546	555,74556	1112,99309



Lampiran 8

Harga LC50 Fraksi II-3

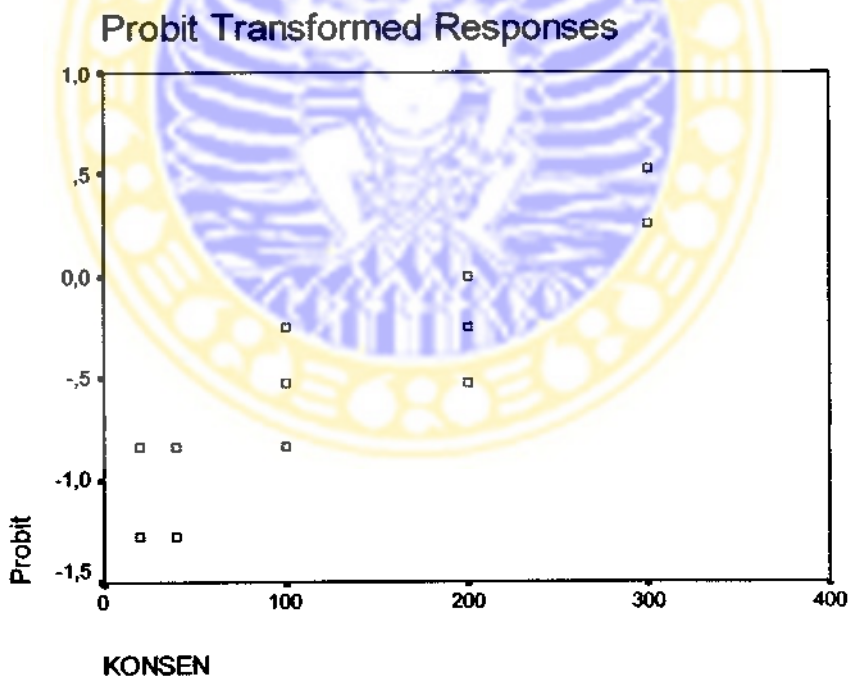
```
* * * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
DATA  Information
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requested.
* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Parameter estimates converged after 10 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
            Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.
   KONSEN             ,00579          ,00100         5,79595
                   Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                   -1,34767          ,17407        -7,74200
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =      8,166    DF = 16    P
=  ,944
  Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no
heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
,00	10,0	,0	,889	-,889	,08888
,00	10,0	,0	,889	-,889	,08888
,00	10,0	,0	,889	-,889	,08888
20,00	10,0	1,0	1,090	-,090	,10901
20,00	10,0	1,0	1,090	-,090	,10901
20,00	10,0	2,0	1,090	,910	,10901
40,00	10,0	2,0	1,322	,678	,13223
40,00	10,0	1,0	1,322	-,322	,13223
40,00	10,0	2,0	1,322	,678	,13223
100,00	10,0	3,0	2,211	,789	,22115
100,00	10,0	2,0	2,211	-,211	,22115
100,00	10,0	4,0	2,211	1,789	,22115
200,00	10,0	4,0	4,251	-,251	,42506
200,00	10,0	3,0	4,251	-1,251	,42506
200,00	10,0	5,0	4,251	,749	,42506
300,00	10,0	6,0	6,519	-,519	,65188
300,00	10,0	6,0	6,519	-,519	,65188
300,00	10,0	7,0	6,519	,481	,65188

```
* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
,01	-168,92431	-331,14956	-85,47249
,02	-121,87232	-261,14130	-49,22577
,03	-92,01934	-216,92894	-26,02276
,04	-69,56211	-183,81702	-8,42072
,05	-51,29488	-157,00427	6,01842
,06	-35,74660	-134,28953	18,41552
,07	-22,11380	-114,47195	29,38416

,08	-9,90725	-96,82151	39,29910
,09	1,19411	-80,86007	48,40728
,10	11,41294	-66,25699	56,88082
,15	53,72160	-7,04984	93,21704
,20	87,34719	37,80273	124,29932
,25	116,19495	73,85461	153,39277
,30	142,10113	103,77249	181,97741
,35	166,10706	129,29926	210,66196
,40	188,88635	151,77076	239,63168
,45	210,92557	172,21393	268,95851
,50	**232,61537**	**191,39562**	**298,75771**
,55	254,30517	209,89627	329,23796
,60	276,34439	228,18739	360,71683
,65	299,12368	246,70062	393,64483
,70	323,12961	265,89493	428,66183
,75	349,03579	286,34163	466,71766
,80	377,88355	308,87106	509,33356
,85	411,50914	334,90136	559,23811
,90	453,81780	367,40398	622,27886
,91	464,03663	375,22253	637,53694
,92	475,13799	383,70468	654,12440
,93	487,34454	393,01850	672,37596
,94	500,97734	403,40627	692,77441
,95	516,52562	415,23698	716,05554
,96	534,79285	429,11648	743,42793
,97	557,25008	446,15359	777,10478
,98	587,10306	468,76368	821,91007
,99	634,15505	504,32909	892,59962



Lampiran 9

Harga LC50 Fraksi III-1

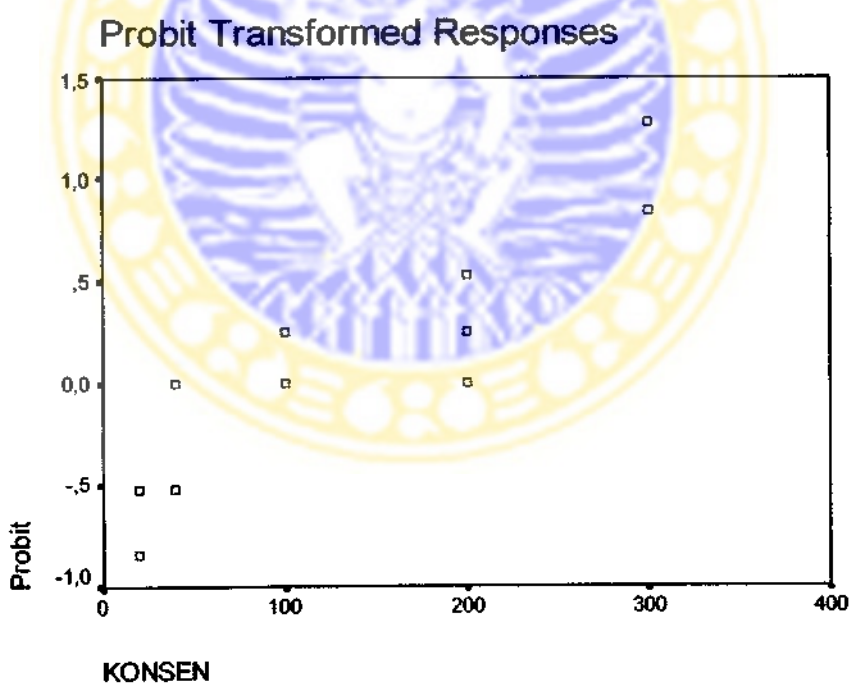
```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
DATA  Information
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requested.
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Parameter estimates converged after 9 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
            Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.
   KONSEN            ,00660          ,00103         6,40776
                  Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                   -,83396          ,14912        -5,59265
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =     17,771    DF = 16    P
=  ,337
  Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no
heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
,00	10,0	,0	2,022	-2,022	,20215
,00	10,0	,0	2,022	-2,022	,20215
,00	10,0	,0	2,022	-2,022	,20215
20,00	10,0	2,0	2,413	-,413	,24134
20,00	10,0	3,0	2,413	,587	,24134
20,00	10,0	3,0	2,413	,587	,24134
40,00	10,0	3,0	2,843	,157	,28432
40,00	10,0	5,0	2,843	2,157	,28432
40,00	10,0	5,0	2,843	2,157	,28432
100,00	10,0	6,0	4,309	1,691	,43085
100,00	10,0	5,0	4,309	,691	,43085
100,00	10,0	6,0	4,309	1,691	,43085
200,00	10,0	5,0	6,864	-1,864	,68636
200,00	10,0	7,0	6,864	,136	,68636
200,00	10,0	6,0	6,864	-,864	,68636
300,00	10,0	9,0	8,740	,260	,87396
300,00	10,0	8,0	8,740	-,740	,87396
300,00	10,0	9,0	8,740	,260	,87396

```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
,01	-226,20538	-376,83478	-144,05639
,02	-184,88692	-317,91219	-111,81234
,03	-158,67169	-280,61794	-91,26427
,04	-138,95099	-252,62369	-75,74601
,05	-122,90972	-229,90005	-63,07558
,06	-109,25608	-210,59882	-52,25088
,07	-97,28451	-193,71103	-42,72414

,08	-86,56540	-178,62261	-34,16149
,09	-76,81679	-164,93086	-26,34354
,10	-67,84318	-152,35673	-19,11796
,15	-30,69005	-100,68170	11,18312
,20	-1,16192	-60,25379	35,90721
,25	24,17058	-26,28945	57,83749
,30	46,91995	3,36420	78,37894
,35	68,00064	29,83420	98,42218
,40	88,00415	53,78153	118,61137
,45	107,35777	75,67006	139,42542
,50	**126,40455**	**95,91881**	**161,20223**
,55	145,45134	114,96986	184,17674
,60	164,80496	133,29390	208,55529
,65	184,80847	151,37874	234,60696
,70	205,88915	169,74118	262,75776
,75	228,63853	188,98299	293,71105
,80	253,97103	209,91921	328,66945
,85	283,49916	233,87742	369,86325
,90	320,65229	263,57270	422,14407
,91	329,62590	270,69081	434,82568
,92	339,37450	278,40460	448,62159
,93	350,09362	286,86579	463,81147
,94	362,06519	296,29299	480,79880
,95	375,71883	307,01909	500,19862
,96	391,76010	319,59047	523,02132
,97	411,48080	335,00696	551,11735
,98	437,69603	355,44610	588,52052
,99	479,01449	387,56207	647,57119



Lampiran 10

Harga LC50 Fraksi III-2

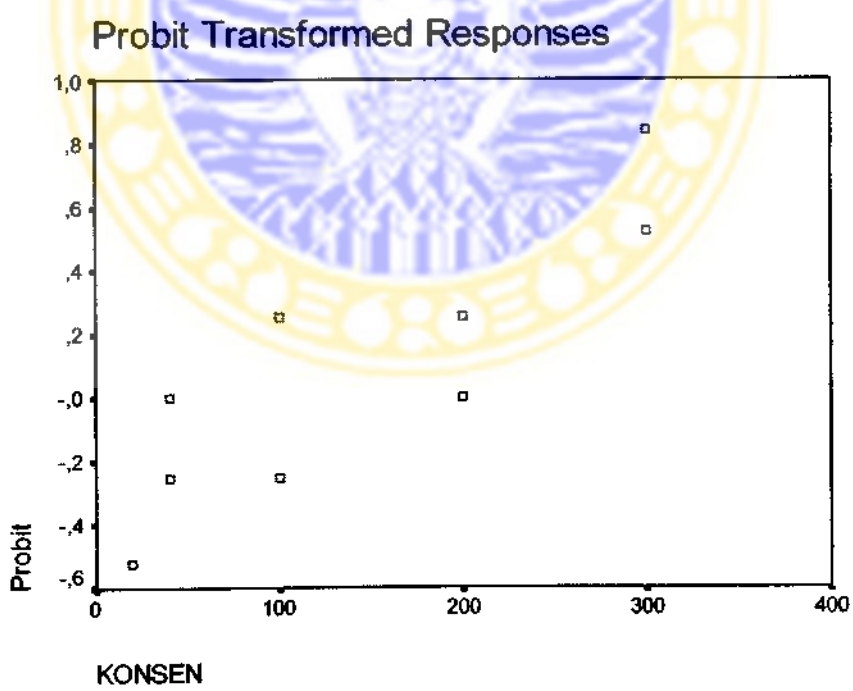
```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
DATA  Information
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requested.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Parameter estimates converged after 20 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
            Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.

   KONSEN          ,00519          ,00096          5,41629

                  Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                   -,73476          ,14537        -5,05441
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =     17,589    DF = 16   P
=  ,349
  Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no
heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
,00	10,0	,0	2,312	-2,312	,23124
,00	10,0	,0	2,312	-2,312	,23124
,00	10,0	,0	2,312	-2,312	,23124
20,00	10,0	3,0	2,640	,360	,26402
20,00	10,0	3,0	2,640	,360	,26402
20,00	10,0	3,0	2,640	,360	,26402
40,00	10,0	5,0	2,990	2,010	,29902
40,00	10,0	5,0	2,990	2,010	,29902
40,00	10,0	4,0	2,990	1,010	,29902
100,00	10,0	6,0	4,145	1,855	,41452
100,00	10,0	4,0	4,145	-,145	,41452
100,00	10,0	6,0	4,145	1,855	,41452
200,00	10,0	6,0	6,190	-,190	,61901
200,00	10,0	5,0	6,190	-1,190	,61901
200,00	10,0	6,0	6,190	-,190	,61901
300,00	10,0	7,0	7,944	-,944	,79437
300,00	10,0	8,0	7,944	,056	,79437
300,00	10,0	8,0	7,944	,056	,79437

```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
,01	-306,77120	-548,22870	-191,19512
,02	-254,22897	-466,52990	-151,97502
,03	-220,89260	-414,79397	-126,99178
,04	-195,81496	-375,94280	-108,13011

,05	-175,41623	-344,39399	-92,73397
,06	-158,05370	-317,58683	-79,58361
,07	-142,83016	-294,12326	-68,01225
,08	-129,19930	-273,15246	-57,61345
,09	-116,80258	-254,11638	-48,12013
,10	-105,39137	-236,62842	-39,34673
,15	-58,14594	-164,69641	-2,54971
,20	-20,59677	-108,35529	27,52356
,25	11,61708	-61,02280	54,32692
,30	40,54611	-19,81099	79,69140
,35	67,35317	16,67912	104,89414
,40	92,79045	49,15142	130,96232
,45	117,40131	78,08411	158,66823
,50	**141,62197**	**104,06228**	**188,43067**
,55	165,84263	127,86750	220,36605
,60	190,45349	150,35295	254,51920
,65	215,89077	172,32358	291,08906
,70	242,69783	194,53351	330,57197
,75	271,62686	217,77944	373,90233
,80	303,84071	243,08316	422,73446
,85	341,38988	272,07266	480,15935
,90	388,63532	308,05593	552,90511
,91	400,04652	316,68890	570,53350
,92	412,44324	326,04726	589,70454
,93	426,07410	336,31563	610,80578
,94	441,29764	347,76004	634,39629
,95	458,66017	360,78564	661,32821
,96	479,05890	376,05741	693,00139
,97	504,13654	394,79231	731,97934
,98	537,47291	419,64099	783,84982
,99	590,01514	458,70437	865,70535



Lampiran 11

Harga LC50 Fraksi III-3

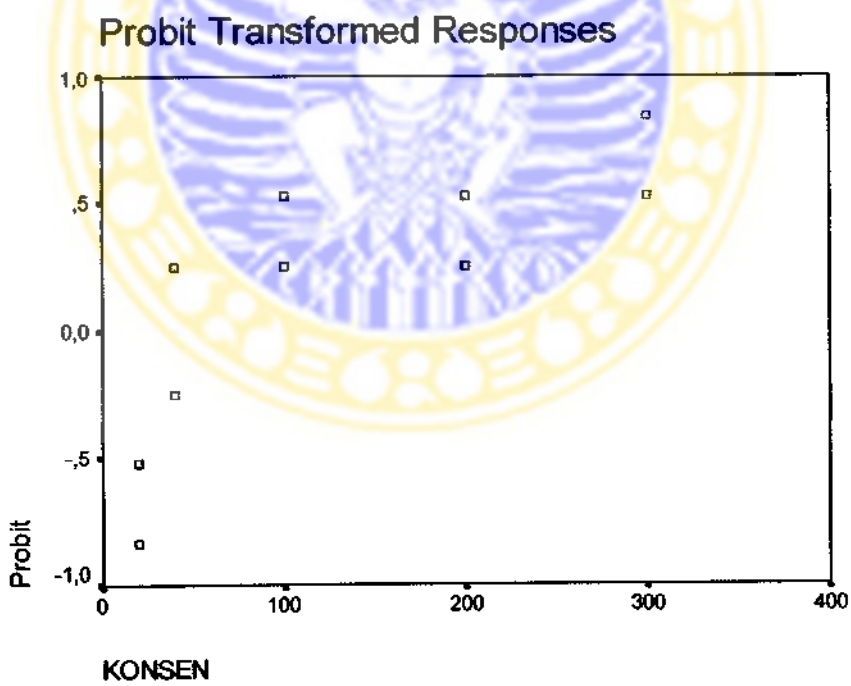
```
* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
DATA  Information
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requested.

* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Parameter estimates converged after 8 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
            Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.
   KONSEN             ,00570          ,00098         5,83855
                  Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                   -,74440          ,14634        -5,08687
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =     21,511    DF = 16    P
=  ,160
  Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no
heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
,00	10,0	,0	2,283	-2,283	,22832
,00	10,0	,0	2,283	-2,283	,22832
,00	10,0	,0	2,283	-2,283	,22832
20,00	10,0	3,0	2,642	,358	,26420
20,00	10,0	2,0	2,642	-,642	,26420
20,00	10,0	2,0	2,642	-,642	,26420
40,00	10,0	4,0	3,028	,972	,30276
40,00	10,0	6,0	3,028	2,972	,30276
40,00	10,0	4,0	3,028	,972	,30276
100,00	10,0	7,0	4,307	2,693	,43071
100,00	10,0	6,0	4,307	1,693	,43071
100,00	10,0	6,0	4,307	1,693	,43071
200,00	10,0	6,0	6,537	-,537	,65367
200,00	10,0	7,0	6,537	,463	,65367
200,00	10,0	6,0	6,537	-,537	,65367
300,00	10,0	7,0	8,327	-1,327	,83275
300,00	10,0	8,0	8,327	-,327	,83275
300,00	10,0	8,0	8,327	-,327	,83275

```
* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
,01	-277,61830	-477,68887	-175,85767
,02	-229,77948	-406,28549	-139,43163
,03	-199,42729	-361,07439	-116,22843
,04	-176,59452	-327,12608	-98,71133
,05	-158,02182	-299,56061	-84,41364
,06	-142,21353	-276,13954	-72,20260

,07	-128,35276	-255,64076	-61,45899
,08	-115,94209	-237,32047	-51,80544
,09	-104,65508	-220,69086	-42,99397
,10	-94,26537	-205,41390	-34,85237
,15	-51,24920	-142,57296	-,73422
,20	-17,06132	-93,32737	27,08022
,25	12,26885	-51,89245	51,75593
,30	38,60824	-15,68925	74,92211
,35	63,01561	16,58739	97,66006
,40	86,17582	45,64359	120,80733
,45	108,58359	71,93808	145,02029
,50	**130,63610**	**95,92033**	**170,74473**
,55	152,68860	118,14447	198,22727
,60	175,09637	139,24867	227,63052
,65	198,25658	159,89094	259,19172
,70	222,66396	180,73470	293,36254
,75	249,00335	202,51050	330,95614
,80	278,33351	226,16903	373,40824
,85	312,52140	253,22763	423,40965
,90	355,53757	286,76510	486,83128
,91	365,92728	294,80526	502,20969
,92	377,21428	303,51887	518,93716
,93	389,62495	313,07751	537,35235
,94	403,48573	323,72841	557,94385
,95	419,29401	335,84802	581,45634
,96	437,86671	350,05425	609,11327
,97	460,69948	367,47778	643,15515
,98	491,05168	390,58132	688,46592
,99	538,89049	426,89077	759,98589



Lampiran 12

Harga LC50 Fraksi IV-1

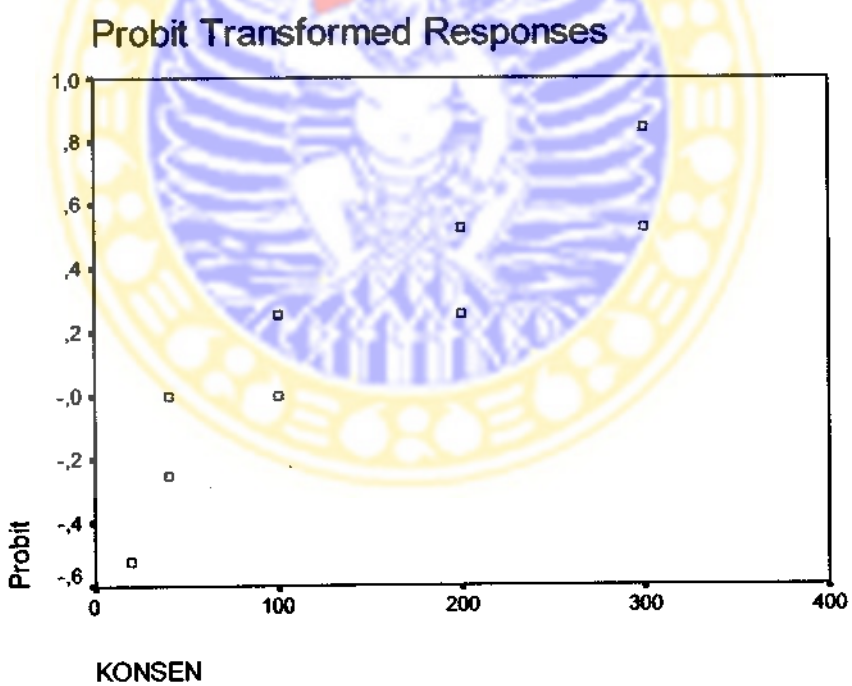
```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
DATA  Information
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requested.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Parameter estimates converged after 18 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
            Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.
   KONSEN             ,00558          ,00097         5,74218
                   Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                    -,71406          ,14508        -4,92166
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =     17,096    DF = 16    P
=  ,379
  Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no
heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
,00	10,0	,0	2,376	-2,376	,23760
,00	10,0	,0	2,376	-2,376	,23760
,00	10,0	,0	2,376	-2,376	,23760
20,00	10,0	3,0	2,735	,265	,27346
20,00	10,0	3,0	2,735	,265	,27346
20,00	10,0	3,0	2,735	,265	,27346
40,00	10,0	5,0	3,118	1,882	,31181
40,00	10,0	4,0	3,118	,882	,31181
40,00	10,0	5,0	3,118	1,882	,31181
100,00	10,0	6,0	4,381	1,619	,43812
100,00	10,0	6,0	4,381	1,619	,43812
100,00	10,0	5,0	4,381	,619	,43812
200,00	10,0	6,0	6,564	-,564	,65637
200,00	10,0	7,0	6,564	,436	,65637
200,00	10,0	7,0	6,564	,436	,65637
300,00	10,0	8,0	8,317	-,317	,83169
300,00	10,0	8,0	8,317	-,317	,83169
300,00	10,0	7,0	8,317	-1,317	,83169

```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
,01	-288,77955	-499,04603	-183,25909
,02	-239,95399	-425,52153	-146,25490
,03	-208,97574	-378,96328	-122,68625
,04	-185,67200	-344,00058	-104,89521
,05	-166,71621	-315,60923	-90,37546
,06	-150,58186	-291,48454	-77,97607
,07	-136,43519	-270,36821	-67,06792
,08	-123,76853	-251,49445	-57,26759

,09	-112,24871	-234,36094	-48,32314
,10	-101,64470	-218,61966	-40,05963
,15	-57,74126	-153,84983	-5,44321
,20	-22,84820	-103,06137	22,75737
,25	7,08694	-60,29461	47,75618
,30	33,96962	-22,89264	71,20979
,35	58,88043	10,48346	94,22544
,40	82,51836	40,54310	117,67607
,45	105,38832	67,72665	142,26431
,50	**127,89569**	**92,46355**	**168,47839**
,55	150,40306	115,30915	196,58377
,60	173,27303	136,92743	226,73729
,65	196,91095	158,01214	259,16284
,70	221,82176	179,25988	294,30686
,75	248,70444	201,42880	332,99351
,80	278,63958	225,49504	376,69283
,85	313,53265	253,00665	428,17027
,90	357,43609	287,09604	493,46713
,91	368,04010	295,26767	509,30029
,92	379,55992	304,12355	526,52236
,93	392,22658	313,83803	545,48198
,94	406,37325	324,66238	566,68211
,95	422,50760	336,97916	590,88941
,96	441,46339	351,41632	619,36334
,97	464,76712	369,12293	654,41047
,98	495,74538	392,60168	701,05863
,99	544,57094	429,50078	774,68821



Lampiran 13

Harga LC50 Fraksi IV-2

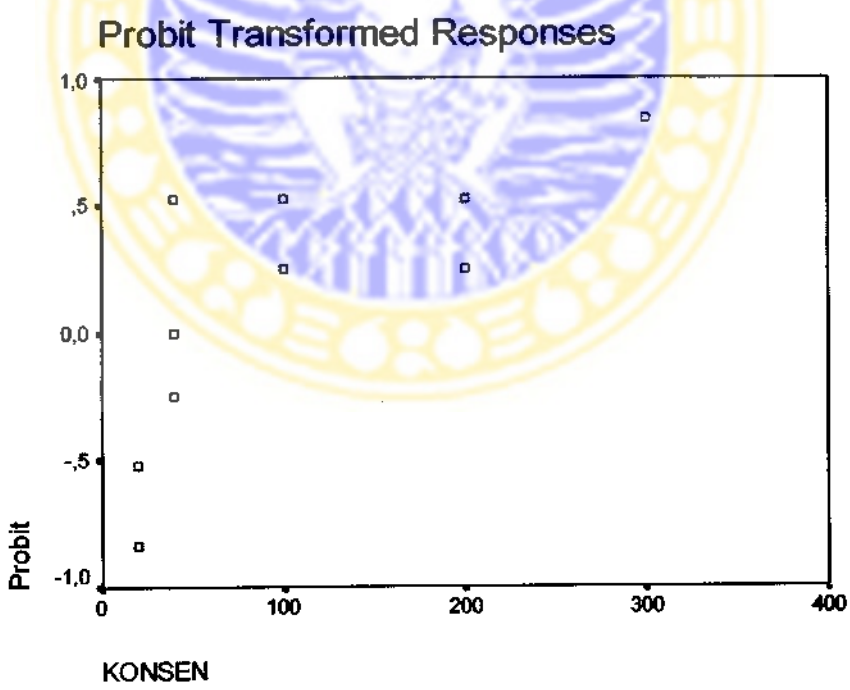
```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
DATA  Information
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requested.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Parameter estimates converged after 15 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
            Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.

   KONSEN            ,00568          ,00098          5,76705
                  Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                   -,67453          ,14443        -4,67016
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =     23,414    DF = 16    P
=  ,103
  Since Goodness-of-Fit Chi square is significant, a heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
,00	10,0	,0	2,500	-2,500	,24999
,00	10,0	,0	2,500	-2,500	,24999
,00	10,0	,0	2,500	-2,500	,24999
20,00	10,0	3,0	2,874	,126	,28741
20,00	10,0	2,0	2,874	-,874	,28741
20,00	10,0	3,0	2,874	,126	,28741
40,00	10,0	4,0	3,273	,727	,32728
40,00	10,0	5,0	3,273	1,727	,32728
40,00	10,0	7,0	3,273	3,727	,32728
100,00	10,0	6,0	4,575	1,425	,45748
100,00	10,0	6,0	4,575	1,425	,45748
100,00	10,0	7,0	4,575	2,425	,45748
200,00	10,0	7,0	6,776	,224	,67759
200,00	10,0	6,0	6,776	-,776	,67759
200,00	10,0	6,0	6,776	-,776	,67759
300,00	10,0	8,0	8,482	-,482	,84820
300,00	10,0	8,0	8,482	-,482	,84820
300,00	10,0	8,0	8,482	-,482	,84820

```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
,01	-290,94018	-614,54641	-163,05375
,02	-242,92647	-528,84284	-129,06166
,03	-212,46331	-474,57891	-107,38255
,04	-189,54706	-433,83387	-90,99858
,05	-170,90646	-400,75017	-77,61225

,06	-155,04038	-372,64090	-66,16822
,07	-141,12894	-348,03913	-56,08948
,08	-128,67290	-326,05211	-47,02425
,09	-117,34462	-306,09427	-38,74131
,10	-106,91693	-287,75989	-31,08000
,15	-63,74350	-212,34310	1,13230
,20	-29,43062	-153,24425	27,57365
,25	,00677	-103,52825	51,24351
,30	26,44246	-60,12360	73,74163
,35	50,93906	-21,52379	96,21057
,40	74,18394	12,99305	119,64200
,45	96,67364	43,77511	144,92556
,50	**118,80676**	**71,14340**	**172,73399**
,55	140,93989	95,64317	203,41093
,60	163,42958	118,05939	237,06033
,65	186,67446	139,26490	273,80309
,70	211,17107	160,11197	314,02477
,75	237,60676	181,45513	358,58438
,80	267,04415	204,29894	409,12644
,85	301,35702	230,13645	468,82912
,90	344,53046	261,89038	544,70428
,91	354,95815	269,47209	563,11826
,92	366,28642	277,67838	583,15275
,93	378,74246	286,66938	605,21401
,94	392,65391	296,67574	629,88816
,95	408,51999	308,04848	658,06871
,96	427,16059	321,36362	691,22360
,97	450,07684	337,67487	732,04136
,98	480,54000	359,27663	786,38264
,99	528,55371	393,17840	872,17652



Lampiran 14

Harga LC50 Fraksi IV-3

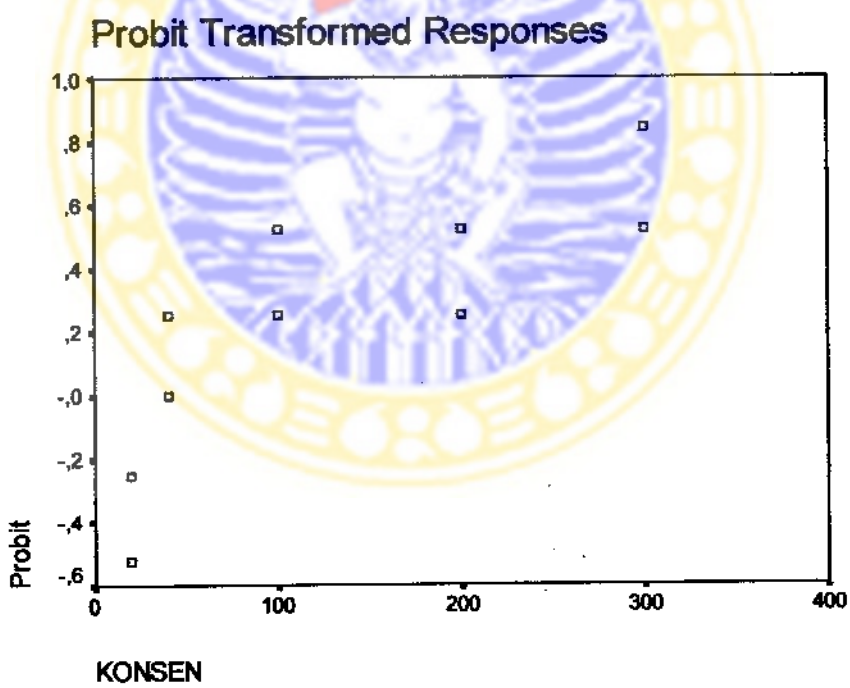
```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
DATA  Information
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requested.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Parameter estimates converged after 8 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
            Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.
   KONSEN            ,00499          ,00096         5,19739
                  Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                   -,53906          ,14097        -3,82408
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =     23,079    DF = 16    P
=  ,112
  Since Goodness-of-Fit Chi square is significant, a heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
,00	10,0	,0	2,949	-2,949	,29492
,00	10,0	,0	2,949	-2,949	,29492
,00	10,0	,0	2,949	-2,949	,29492
20,00	10,0	3,0	3,302	-,302	,33024
20,00	10,0	4,0	3,302	,698	,33024
20,00	10,0	4,0	3,302	,698	,33024
40,00	10,0	5,0	3,671	1,329	,36713
40,00	10,0	6,0	3,671	2,329	,36713
40,00	10,0	6,0	3,671	2,329	,36713
100,00	10,0	7,0	4,840	2,160	,48402
100,00	10,0	6,0	4,840	1,160	,48402
100,00	10,0	6,0	4,840	1,160	,48402
200,00	10,0	6,0	6,769	-,769	,67686
200,00	10,0	7,0	6,769	,231	,67686
200,00	10,0	7,0	6,769	,231	,67686
300,00	10,0	8,0	8,310	-,310	,83095
300,00	10,0	8,0	8,310	-,310	,83095
300,00	10,0	7,0	8,310	-1,310	,83095

```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
,01	-358,17583	-808,70754	-200,30624
,02	-303,54641	-702,33600	-162,92196
,03	-268,88579	-634,95121	-139,09829
,04	-242,81195	-584,33050	-121,10642
,05	-221,60290	-543,20939	-106,41649
,06	-203,55067	-508,25533	-93,86660
,07	-187,72239	-477,64869	-82,82156
,08	-173,55006	-450,28194	-72,89421

,09	-160,66088	-425,42855	-63,83009
,10	-148,79638	-402,58504	-55,45249
,15	-99,67417	-308,46264	-20,31113
,20	-60,63339	-234,43930	8,40026
,25	-27,13988	-171,86651	33,96472
,30	2,93833	-116,88657	58,13477
,35	30,81028	-67,60889	82,20134
,40	57,25803	-23,21143	107,40040
,45	82,84653	16,46779	135,05662
,50	**108,02933**	**51,36513**	**166,42715**
,55	133,21214	81,77469	202,28544
,60	158,80064	108,64201	242,75357
,65	185,24839	133,27530	287,71680
,70	213,12034	156,95988	337,37647
,75	243,19854	180,87411	392,61222
,80	276,69206	206,26385	455,35974
,85	315,73284	234,85180	529,50652
,90	364,85505	269,90182	623,72026
,91	376,71955	278,26376	646,57943
,92	389,60873	287,31285	671,44784
,93	403,78106	297,22572	698,82908
,94	419,60934	308,25668	729,44980
,95	437,66157	320,79275	764,41768
,96	458,87062	335,46893	805,55254
,97	484,94446	353,44679	856,18725
,98	519,60507	377,25563	923,58688
,99	574,23450	414,62266	1029,97567



Lampiran 15

Harga LC50 Fraksi V-1

```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
DATA  Information
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requested.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Parameter estimates converged after 8 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
            Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.
   KONSEN            ,00468          ,00095         4,91154
                   Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                    -,39931          ,13852        -2,88268
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =     27,268    DF = 16    P
=  ,039
  Since Goodness-of-Fit Chi square is significant, a heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
```

Observed and Expected Frequencies

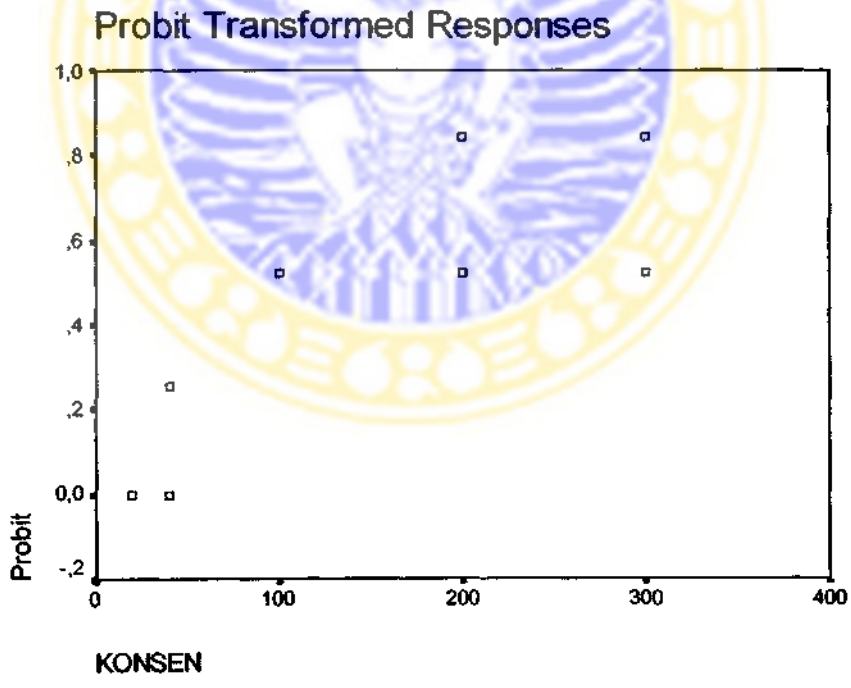
KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
,00	10,0	,0	3,448	-3,448	,34483
,00	10,0	,0	3,448	-3,448	,34483
,00	10,0	,0	3,448	-3,448	,34483
20,00	10,0	5,0	3,799	1,201	,37994
20,00	10,0	5,0	3,799	1,201	,37994
20,00	10,0	5,0	3,799	1,201	,37994
40,00	10,0	5,0	4,161	,839	,41607
40,00	10,0	6,0	4,161	1,839	,41607
40,00	10,0	5,0	4,161	,839	,41607
100,00	10,0	7,0	5,275	1,725	,52752
100,00	10,0	7,0	5,275	1,725	,52752
100,00	10,0	7,0	5,275	1,725	,52752
200,00	10,0	8,0	7,045	,955	,70450
200,00	10,0	8,0	7,045	,955	,70450
200,00	10,0	7,0	7,045	-,045	,70450
300,00	10,0	7,0	8,427	-1,427	,84273
300,00	10,0	7,0	8,427	-1,427	,84273
300,00	10,0	8,0	8,427	-,427	,84273

```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
```

Confidence Limits for Effective KONSEN

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
,01	-411,44800	-1080,97150	-220,37829
,02	-353,24447	-948,36172	-182,43140
,03	-316,31620	-864,32588	-158,25449
,04	-288,53650	-801,17613	-140,00002
,05	-265,93985	-749,86080	-125,09929
,06	-246,70656	-706,22719	-112,37263

,07	-229,84273	-668,00770	-101,17519
,08	-214,74317	-633,82199	-91,11394
,09	-201,01073	-602,76445	-81,93064
,10	-188,37000	-574,20738	-73,44594
,15	-136,03399	-456,38993	-37,90059
,20	-94,43899	-363,45654	-8,94609
,25	-58,75418	-284,55491	16,72124
,30	-26,70812	-214,76643	40,83891
,35	2,98733	-151,58063	64,67116
,40	31,16541	-93,80722	89,46937
,45	58,42803	-41,22507	116,77621
,50	**85,25841**	**5,61655**	**148,55698**
,55	112,08879	45,99801	186,79791
,60	139,35141	80,13892	232,54600
,65	167,52949	109,58781	285,66872
,70	197,22494	136,39344	345,88114
,75	229,27100	162,41283	413,76791
,80	264,95581	189,33370	491,41600
,85	306,55081	219,15047	583,48711
,90	358,88682	255,32101	700,67938
,91	371,52755	263,91176	729,13039
,92	385,25999	273,19650	760,08649
,93	400,35955	283,35532	794,17464
,94	417,22338	294,64730	832,29958
,95	436,45667	307,46647	875,84068
,96	459,05332	322,45903	927,06419
,97	486,83302	340,80671	990,12073
,98	523,76129	365,08210	1074,05808
,99	581,96482	403,14315	1206,55370



Lampiran 16

Harga LC50 Fraksi V-2

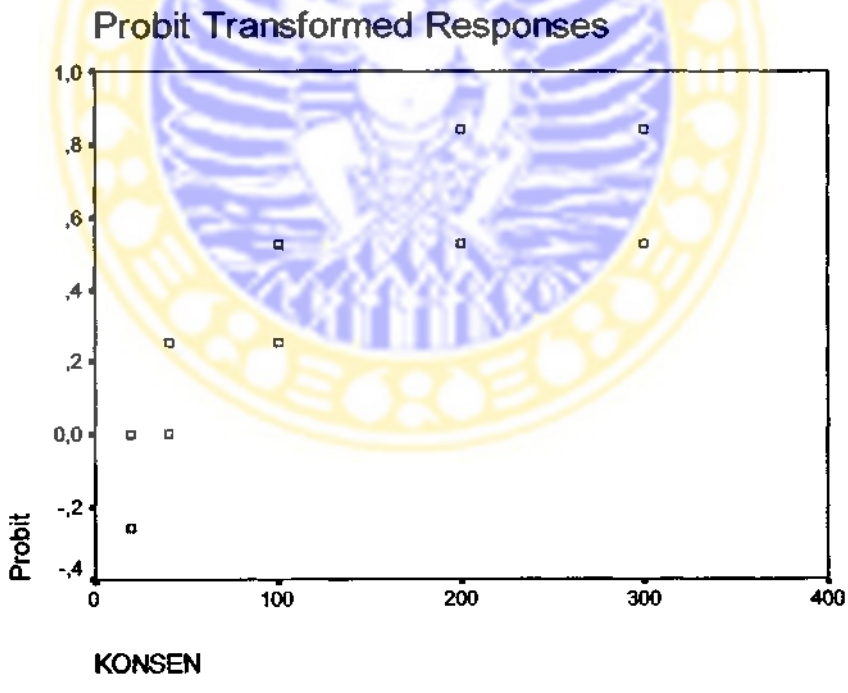
```
* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
DATA  Information
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requested.

* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Parameter estimates converged after 8 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
            Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.
   KONSEN             ,00490          ,00096         5,08814
                   Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                    -,45112          ,13932        -3,23796
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =     24,355    DF = 16    P
=  ,082
  Since Goodness-of-Fit Chi square is significant, a heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
,00	10,0	,0	3,260	-3,260	,32595
,00	10,0	,0	3,260	-3,260	,32595
,00	10,0	,0	3,260	-3,260	,32595
20,00	10,0	5,0	3,620	1,380	,36202
20,00	10,0	4,0	3,620	,380	,36202
20,00	10,0	5,0	3,620	1,380	,36202
40,00	10,0	6,0	3,994	2,006	,39937
40,00	10,0	5,0	3,994	1,006	,39937
40,00	10,0	6,0	3,994	2,006	,39937
100,00	10,0	6,0	5,156	,844	,51564
100,00	10,0	6,0	5,156	,844	,51564
100,00	10,0	7,0	5,156	1,844	,51564
200,00	10,0	7,0	7,018	-,018	,70179
200,00	10,0	7,0	7,018	-,018	,70179
200,00	10,0	8,0	7,018	,982	,70179
300,00	10,0	8,0	8,461	-,461	,84611
300,00	10,0	8,0	8,461	-,461	,84611
300,00	10,0	7,0	8,461	-1,461	,84611

```
* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
,01	-382,43527	-900,93463	-212,30563
,02	-326,84113	-787,22898	-174,89379
,03	-291,56843	-715,18440	-151,05915
,04	-265,03415	-661,05349	-133,06387
,05	-243,45056	-617,07302	-118,37524
,06	-225,07953	-579,68153	-105,83012
,07	-208,97174	-546,93432	-94,79269

,08	-194,54913	-517,64764	-84,87544
,09	-181,43234	-491,04491	-75,82377
,10	-169,35832	-466,58790	-67,46084
,15	-119,36864	-365,73837	-32,42708
,20	-79,63843	-286,27885	-3,89085
,25	-45,55344	-218,92241	21,40343
,30	-14,94407	-159,47849	45,16273
,35	13,42007	-105,82869	68,61311
,40	40,33487	-56,98001	92,92496
,45	66,37525	-12,71102	119,43963
,50	**92,00276**	**26,71216**	**149,67786**
,55	117,63028	61,09478	184,95666
,60	143,67066	90,97635	225,85875
,65	170,58546	117,66237	272,33326
,70	198,94960	142,68737	324,40844
,75	229,55897	167,48512	382,81391
,80	263,64395	193,48011	449,46964
,85	303,37417	222,50682	528,43867
,90	353,36385	257,90091	628,92788
,91	365,43787	266,32537	653,32336
,92	378,55466	275,43602	679,86711
,93	392,97726	285,41009	709,09696
,94	409,08506	296,50269	741,78901
,95	427,45608	309,10189	779,12642
,96	449,03967	323,84430	823,05310
,97	475,57395	341,89426	877,12934
,98	510,84665	365,78679	949,11602
,99	566,44080	403,26587	1062,75444



Lampiran 17

Harga LC50 Fraksi V-3

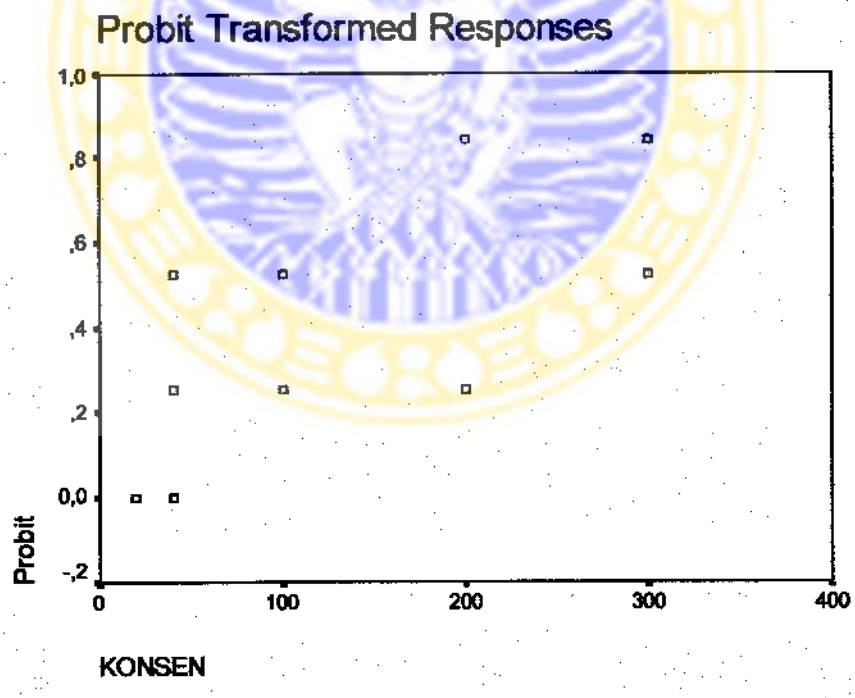
```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
DATA  Information
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information

      ONLY Normal Sigmoid is requested.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Parameter estimates converged after 8 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
           Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.
   KONSEN            ,00469          ,00096         4,88303
                   Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                   -,39804          ,13846        -2,87478
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =     27,449    DF = 16   P
=  ,037
  Since Goodness-of-Fit Chi square is significant, a heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
,00	10,0	,0	3,453	-3,453	,34530
,00	10,0	,0	3,453	-3,453	,34530
,00	10,0	,0	3,453	-3,453	,34530
20,00	10,0	5,0	3,805	1,195	,38045
20,00	10,0	5,0	3,805	1,195	,38045
20,00	10,0	5,0	3,805	1,195	,38045
40,00	10,0	6,0	4,166	1,834	,41662
40,00	10,0	7,0	4,166	2,834	,41662
40,00	10,0	5,0	4,166	,834	,41662
100,00	10,0	6,0	5,282	,718	,52818
100,00	10,0	7,0	5,282	1,718	,52818
100,00	10,0	6,0	5,282	,718	,52818
200,00	10,0	8,0	7,052	,948	,70521
200,00	10,0	8,0	7,052	,948	,70521
200,00	10,0	6,0	7,052	-1,052	,70521
300,00	10,0	8,0	8,433	-,433	,84331
300,00	10,0	8,0	8,433	-,433	,84331
300,00	10,0	7,0	8,433	-1,433	,84331

```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
,01	-411,38510	-1093,92814	-219,54469
,02	-353,22898	-959,82931	-181,75179
,03	-316,33078	-874,84870	-157,67260
,04	-288,57371	-810,98826	-139,49160
,05	-265,99547	-759,09487	-124,65061
,06	-246,77784	-714,96930	-111,97475

,07	-229,92774	-676,31850	-100,82179
,08	-214,84049	-641,74666	-90,80031
,09	-201,11923	-610,33802	-81,65311
,10	-188,48879	-581,45784	-73,20158
,15	-136,19541	-462,30389	-37,79225
,20	-94,63428	-368,31140	-8,94274
,25	-58,97854	-288,50655	16,63990
,30	-26,95858	-217,91674	40,69131
,35	2,71269	-154,00700	64,48077
,40	30,86782	-95,58350	89,27524
,45	58,10823	-42,44538	116,65146
,50	**84,91676**	**4,81173**	**148,63217**
,55	111,72528	45,42348	187,25824
,60	138,96570	79,62458	233,57148
,65	167,12083	109,03280	287,38123
,70	196,79209	135,75521	348,35802
,75	228,81205	161,67478	417,07967
,80	264,46779	188,48542	495,65653
,85	306,02892	218,17801	588,80593
,90	358,32230	254,19778	707,34944
,91	370,95274	262,75279	736,12614
,92	384,67400	271,99895	767,43582
,93	399,76125	282,11560	801,91249
,94	416,61135	293,36075	840,47109
,95	435,82898	306,12682	884,50646
,96	458,40722	321,05734	936,31032
,97	486,16429	339,32919	1000,07991
,98	523,06249	363,50436	1084,96454
,99	581,21861	401,40849	1218,95215



Lampiran 18

Harga LC50 Fraksi VI-1

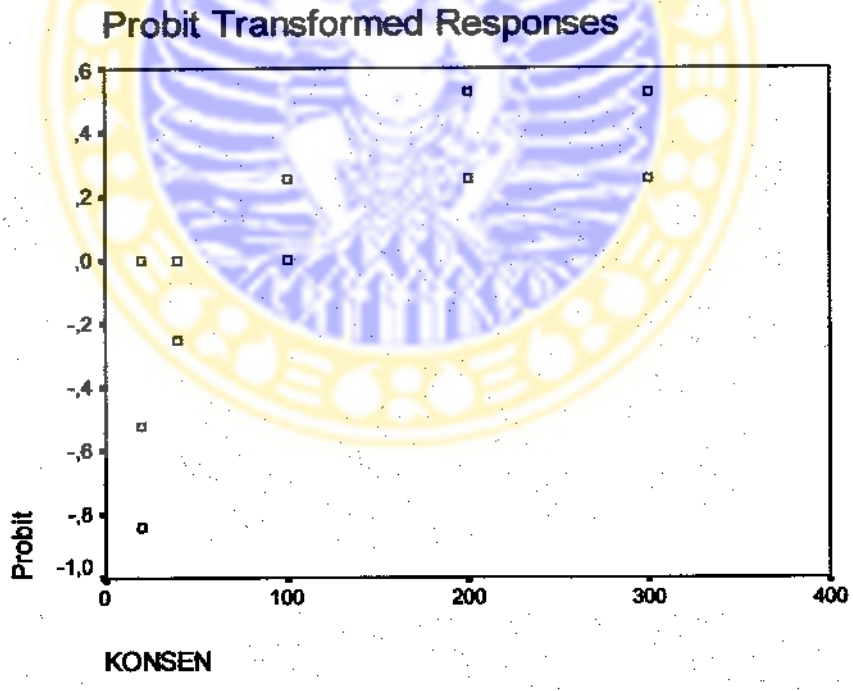
```
* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
DATA  Information
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requested.

* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Parameter estimates converged after 7 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
            Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.
   KONSEN             ,00455          ,00093         4,89168
                   Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                    -,63502          ,14274        -4,44894
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =     21,602    DF = 16    P
=  ,157
  Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no
heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.
* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
,00	10,0	,0	2,627	-2,627	,26271
,00	10,0	,0	2,627	-2,627	,26271
,00	10,0	,0	2,627	-2,627	,26271
20,00	10,0	5,0	2,932	2,068	,29320
20,00	10,0	3,0	2,932	,068	,29320
20,00	10,0	2,0	2,932	-,932	,29320
40,00	10,0	4,0	3,252	,748	,32525
40,00	10,0	5,0	3,252	1,748	,32525
40,00	10,0	5,0	3,252	1,748	,32525
100,00	10,0	6,0	4,285	1,715	,42851
100,00	10,0	5,0	4,285	,715	,42851
100,00	10,0	6,0	4,285	1,715	,42851
200,00	10,0	7,0	6,082	,918	,60822
200,00	10,0	6,0	6,082	-,082	,60822
200,00	10,0	7,0	6,082	,918	,60822
300,00	10,0	7,0	7,672	-,672	,76716
300,00	10,0	6,0	7,672	-1,672	,76716
300,00	10,0	7,0	7,672	-,672	,76716

```
* * * * * * * * * * * *  P R O B I T   A N A L Y S I S  * * * * *
 Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
,01	-371,84172	-699,71310	-228,95532
,02	-311,91033	-600,34122	-185,54080
,03	-273,88578	-537,38995	-157,89868
,04	-245,28139	-490,10034	-137,03842
,05	-222,01393	-451,68628	-120,01780
,06	-202,20966	-419,03472	-105,48576
,07	-184,84520	-390,44590	-92,70378

,08	-169,29739	-364,88531	-81,22176
,09	-155,15728	-341,67436	-70,74393
,10	-142,14129	-320,34288	-61,06484
,15	-88,25159	-232,49298	-20,52268
,20	-45,42177	-163,50408	12,53036
,25	-8,67760	-105,35399	41,92316
,30	24,31980	-54,53263	69,71802
,35	54,89681	-9,40530	97,44034
,40	83,91140	30,68815	126,47408
,45	111,98336	66,01339	158,03020
,50	**139,61024**	**97,04503**	**192,81954**
,55	167,23713	124,76380	230,92175
,60	195,30908	150,40463	272,16228
,65	224,32367	175,12019	316,57391
,70	254,90068	199,91130	364,63245
,75	287,89809	225,75125	417,40872
,80	324,64226	253,81959	476,88328
,85	367,47208	285,94497	546,79984
,90	421,36177	325,80618	635,33068
,91	434,37776	335,36907	656,77836
,92	448,51787	345,73558	680,10063
,93	464,06568	357,11035	705,76847
,94	481,43015	369,78825	734,46137
,95	501,23441	384,21829	767,21493
,96	524,50188	401,13753	805,73037
,97	553,10626	421,89474	853,12304
,98	591,13081	449,42781	916,18336
,99	651,06221	492,71572	1015,68184



Lampiran 19

Harga LC50 Fraksi VI-2

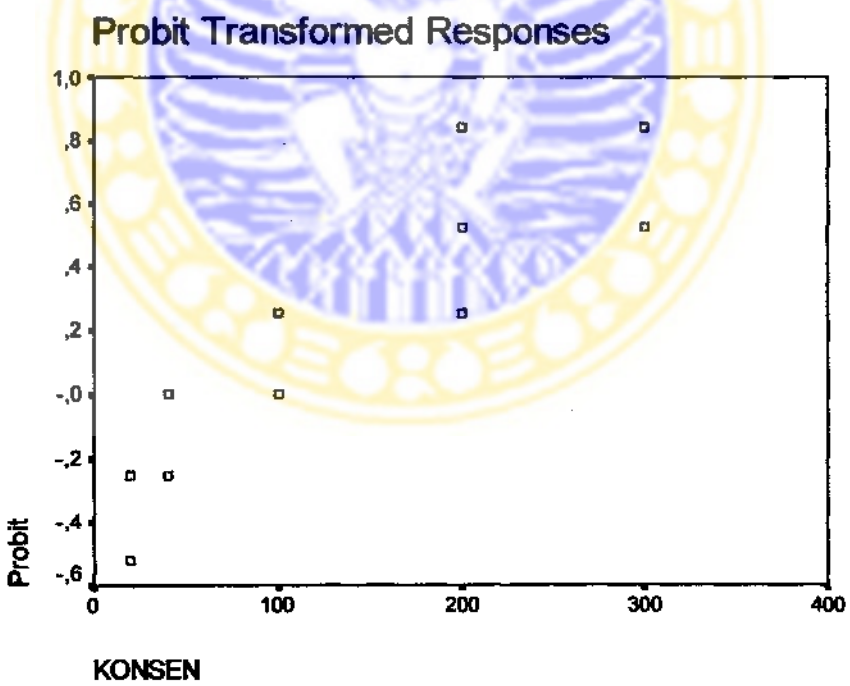
```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
DATA  Information
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requested.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Parameter estimates converged after 14 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
           Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.
   KONSEN            ,00527          ,00096         5,49761
                  Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                   -,66469          ,14364        -4,62749
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =     19,083    DF = 16   P
=  ,264
  Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no
heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
,00	10,0	,0	2,531	-2,531	,25312
,00	10,0	,0	2,531	-2,531	,25312
,00	10,0	,0	2,531	-2,531	,25312
20,00	10,0	3,0	2,880	,120	,28795
20,00	10,0	3,0	2,880	,120	,28795
20,00	10,0	4,0	2,880	1,120	,28795
40,00	10,0	4,0	3,249	,751	,32489
40,00	10,0	5,0	3,249	1,751	,32489
40,00	10,0	5,0	3,249	1,751	,32489
100,00	10,0	5,0	4,451	,549	,44508
100,00	10,0	6,0	4,451	1,549	,44508
100,00	10,0	6,0	4,451	1,549	,44508
200,00	10,0	7,0	6,512	,488	,65117
200,00	10,0	8,0	6,512	1,488	,65117
200,00	10,0	6,0	6,512	-,512	,65117
300,00	10,0	8,0	8,199	-,199	,81992
300,00	10,0	7,0	8,199	-1,199	,81992
300,00	10,0	7,0	8,199	-1,199	,81992

```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
,01	-315,55472	-555,01179	-199,63454
,02	-263,78709	-475,16025	-160,87467
,03	-230,94218	-424,58664	-136,19315
,04	-206,23424	-386,60265	-117,56562
,05	-186,13623	-355,75318	-102,36599
,06	-169,02967	-329,53581	-89,38835

,07	-154,03056	-306,58426	-77,97354
,08	-140,60065	-286,06697	-67,71986
,09	-128,38669	-267,43847	-58,36338
,10	-117,14371	-250,32083	-49,72082
,15	-70,59479	-179,85064	-13,53685
,20	-33,59918	-124,53286	15,91073
,25	-1,86024	-77,89176	41,99074
,30	26,64231	-37,04397	66,44876
,35	53,05417	-,55360	90,47396
,40	78,11644	32,30157	115,04215
,45	102,36448	61,92034	140,98114
,50	**126,22807**	**88,69320**	**168,88519**
,55	150,09167	113,20073	199,05457
,60	174,33971	136,19753	231,61554
,65	199,40198	158,48607	266,75036
,70	225,81384	180,85627	304,89572
,75	254,31639	204,14105	346,91675
,80	286,05532	229,38571	394,39320
,85	323,05093	258,22514	450,31913
,90	369,59986	293,94907	521,24936
,91	380,84284	302,51189	538,44674
,92	393,05680	311,79163	557,15198
,93	406,48671	321,97104	577,74354
,94	421,48582	333,31347	600,76747
,95	438,59238	346,21988	627,05607
,96	458,69039	361,34840	657,97665
,97	483,39833	379,90333	696,03323
,98	516,24323	404,50769	746,68401
,99	568,01087	443,17752	826,62560



Lampiran 20

Harga LC50 Fraksi VI-3

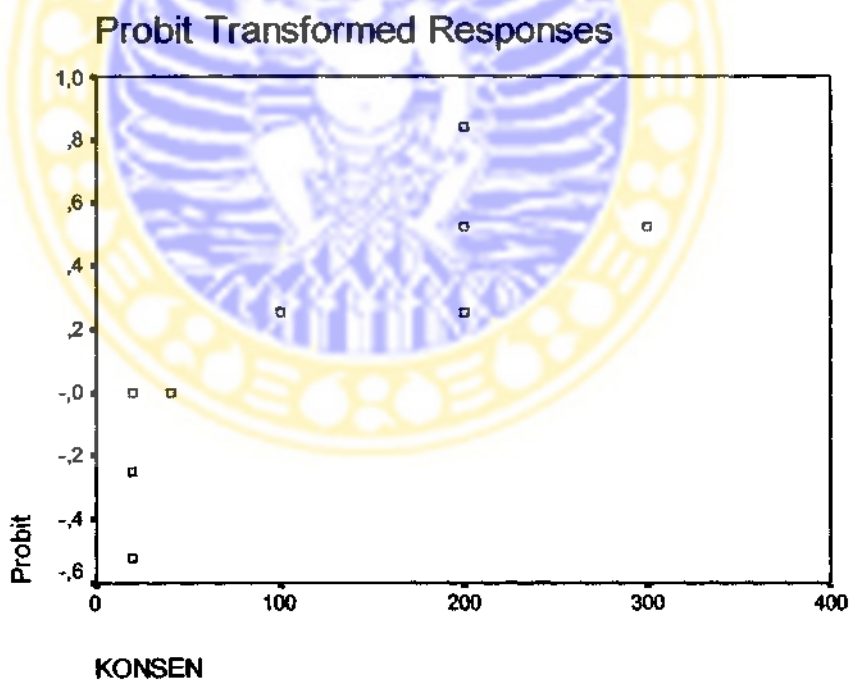
```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
DATA  Information
         18 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          3 cases are in the control group.
MODEL Information
      ONLY Normal Sigmoid is requested.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Parameter estimates converged after 7 iterations.
 Optimal solution found.
 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept +
BX):
            Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.
   KONSEN             ,00459          ,00094         4,89970
                   Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.
                    -,54522          ,14073        -3,87437
  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =     21,894    DF = 16    P
=  ,147
  Since Goodness-of-Fit Chi square is significant, a heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Observed and Expected Frequencies
```

KONSEN	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
,00	10,0	,0	2,928	-2,928	,29280
,00	10,0	,0	2,928	-2,928	,29280
,00	10,0	,0	2,928	-2,928	,29280
20,00	10,0	4,0	3,251	,749	,32512
20,00	10,0	5,0	3,251	1,749	,32512
20,00	10,0	3,0	3,251	-,251	,32512
40,00	10,0	5,0	3,588	1,412	,35880
40,00	10,0	5,0	3,588	1,412	,35880
40,00	10,0	5,0	3,588	1,412	,35880
100,00	10,0	6,0	4,656	1,344	,46561
100,00	10,0	6,0	4,656	1,344	,46561
100,00	10,0	6,0	4,656	1,344	,46561
200,00	10,0	7,0	6,453	,547	,64528
200,00	10,0	6,0	6,453	-,453	,64528
200,00	10,0	8,0	6,453	1,547	,64528
300,00	10,0	7,0	7,972	-,972	,79716
300,00	10,0	7,0	7,972	-,972	,79716
300,00	10,0	7,0	7,972	-,972	,79716

```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * *
 Confidence Limits for Effective KONSEN
```

Prob	KONSEN	95% Confidence Limits Lower	Upper
,01	-388,11908	-902,27508	-215,82757
,02	-328,71794	-782,73371	-175,65574
,03	-291,02981	-706,99772	-150,05883
,04	-262,67851	-650,09830	-130,72945
,05	-239,61691	-603,87307	-114,94844
,06	-219,98786	-564,57747	-101,46699
,07	-202,77703	-530,16692	-89,60238

,08	-187,36678	-499,39695	-78,93847
,09	-173,35178	-471,45121	-69,20176
,10	-160,45094	-445,76398	-60,20223
,15	-107,03805	-339,91077	-22,44297
,20	-64,58717	-256,65419	8,43908
,25	-28,16809	-186,29731	36,00299
,30	4,53736	-124,55158	62,19314
,35	34,84384	-69,38708	88,51435
,40	63,60172	-20,04956	116,49880
,45	91,42530	23,42511	147,83403
,50	**118,80776**	**60,88007**	**184,00288**
,55	146,19021	92,88734	225,61943
,60	174,01379	120,89490	272,42176
,65	202,77168	146,58442	324,05421
,70	233,07815	171,41392	380,71042
,75	265,78361	196,63529	443,42494
,80	302,20268	223,55265	514,42837
,85	344,65356	253,98569	598,13395
,90	398,06646	291,41699	704,31512
,91	410,96729	300,36067	730,05820
,92	424,98229	310,04392	758,05741
,93	440,39254	320,65633	788,87887
,94	457,60337	332,47099	823,33936
,95	477,23242	345,90352	862,68389
,96	500,29402	361,63592	908,95774
,97	528,64532	380,91591	965,90654
,98	566,33345	406,46057	1041,69478
,99	625,73459	446,57177	1161,29679



DAFTAR PUSTAKA

Anderson, J.E and Mc. Laughlin, J.L., 1991. A Blind Comporison of Simple Bench Top Bioassay and Human Tumour Cell Cytotoxicities as Antitumour Prescreens, **Phytochemical Analysis**, Vol.2, hal. 107-111

Anonim, 2005. http://iptek. Apjii.or.id/Artikel/ttg tanaman obat/depkes/Buku5/5-027.pdf

Anonim, 1988. **Profil Kesehatan Indonesia**, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Pusat Data Kesehatan, Jakarta, hal.14-36

Bellanti, A.J., 1985. **Imunologi III**, W.B. Sounders Company, Philadelphia, hal. 356-359

Dalimartha, Setiawan, 2003. Ramuan **Tradisional Untuk Pengobatan Kanker**, Seri Agresehat, Penebar Swadaya, Jakarta

Dewick, P.M., 1989 Tumour Inhibitor From Plants, in: **Trease and Evan's Pharmacognosy**, 13th edition Bailiere Tindal: English Language Book Society, hal.629, 631-632

Djoyopranoto, Moeljono, 1963. **Buku Pelajaran patologi, Djilid I s.d. IV**, Dasar-dasar Patologi, Departemen Urusan Research Nasional RI, hal.50-51

Harbone, J.B., 1973. **Phytochenical Methods**, London: Champman and Hall LTD.

Koshiura, R.,et all, 1985. **Antitumour activity of methanol extract from roots of Agrimonia pilosa Ledep**, from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dot=Abstract&list uids

Lee, H. and Lin, J.Y., 1988. **Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese medicine**

Mardiani, E., 2005. **Uji praskrining Aktivitas Antikanker Ekstrak Heksana Dan Ekstrak Metanol *Duchesnea indica* (Andr.) Focke Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST)**, Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga