

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
PERNYATAAN .....	iii
PRAKATA .....	iv
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
INTISARI .....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
Bab I. PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Permasalahan .....	4
C. Tujuan .....	5
D. Manfaat .....	5
E. Ruang Lingkup Penelitian .....	6
Bab II. KAJIAN PUSTAKA .....	7
A. <i>Gyrinops versteegii</i> (Gilg.) Domke .....	7
B. <i>Aquilaria malaccensis</i> Lamk. ....	9
C. Metabolit Sekunder .....	10
D. Ekstraksi .....	13
E. Fraksinasi .....	16
F. Kromatografi Lapis Tipis .....	18
G. Kanker Payudara .....	22
H. Sel Kanker Payudara T47D .....	24
I. Sel Vero .....	27
J. Sitotoksitas Senyawa Bioaktif .....	28
K. <i>MTT assay</i> .....	28
L. Kematian sel .....	31
M. <i>Flow Cytometry</i> .....	36
N. <i>Double Staining</i> .....	39
Bab III. LANDASAN TEORI DAN HIPOTESIS .....	43
A. Landasan Teori .....	43
B. Hipotesis .....	46
Bab IV. METODE PENELITIAN .....	47
A. Waktu dan Tempat Penelitian .....	47
B. Bahan .....	47
C. Alat .....	49
D. Rancangan Penelitian .....	50
E. Prosedur Kerja .....	51

1. Preparasi dan ekstraksi daun <i>G. versteegii</i> dan <i>A. malaccensis</i> (soxhletasi bertingkat).....	51
2. Uji Sitotoksik Ekstrak Daun <i>G. versteegii</i> dan <i>A. malaccensis</i> .....	53
3. Pemantauan Profil Ekstrak Kloroform Daun <i>G. versteegii</i> dan <i>A. malaccensis</i> .....	57
4. Fraksinasi Ekstrak Potensial .....	58
5. Pemantauan Profil Hasil Fraksinasi .....	59
6. Uji sitotoksik Fraksi terhadap sel kanker payudara T47D dan selektivitas fraksi potensial pada sel normal Vero.....	60
7. Identifikasi Golongan Senyawa Bioaktif dari Fraksi Potensial.....	66
8. Uji kematian sel .....	68
a. Uji apoptosis dengan <i>flow cytometry</i> .....	68
b. Uji apoptosis dengan <i>double staining</i> .....	70
F. Analisis Data.....	71
1. Uji sitotoksik.....	71
2. Uji kematian sel (apoptosis) .....	71
3. Identifikasi golongan senyawa toksik.....	71
 BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	72
A. Ekstraksi Metabolit Sekunder Daun Gaharu .....	72
B. Uji Sitotoksik Ekstrak Daun <i>G. versteegii</i> dan <i>A. malaccensis</i> .....	76
C. Pemantauan Profil Ekstrak Kloroform Daun Gaharu <i>G. versteegii</i> dan <i>A. malaccensis</i> .....	79
D. Fraksinasi Ekstrak Potensial.....	83
E. Pemantauan Profil Hasil Fraksinasi.....	86
F. Uji sitotoksik Fraksi Ekstrak Potensial terhadap sel kanker payudara T47D dan sel normal Vero .....	89
G. Identifikasi Golongan Senyawa Bioaktif dari Fraksi Potensial.....	98
H. Uji Aktivitas Kematian Sel (Apoptosis) Melalui Metode <i>Flowcytometry</i> .....	104
I. Deteksi kematian sel kanker payudara T47D secara mikroskopik dengan metode <i>AO/EB double staining</i> .....	110
 BAB VI.SIMPULAN DAN SARAN .....	115
A. Simpulan.....	115
B. Saran .....	115
 DAFTAR PUSTAKA .....	116
LAMPIRAN.....	125
RINGKASAN .....	137
SUMMARY .....	142

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Urutan eluen fase gerak fraksinasi ekstrak kloroform <i>G. versteegii</i> .....	59
2. Reagen deteksi dan larutan standar untuk identifikasi golongan senyawa fraksi potensial .....	67
3. Hasil ekstraksi metabolit sekunder daun Gaharu <i>G. versteegii</i> dan <i>A. malaccensis</i> .....	74
4. Nilai IC <sub>50</sub> sitotoksik ekstrak daun gaharu <i>A. malaccensis</i> dan <i>G. versteegii</i> terhadap sel kanker payudara T47D .....	78
5. Hasil pemantauan profil ekstrak daun <i>G. versteegii</i> dan <i>A. malaccensis</i> .....	80
6. Hasil Fraksinasi ekstrak kloroform <i>G. versteegii</i> .....	85
7. Penggabungan fraksi ekstrak daun <i>G. versteegii</i> .....	88
8. Nilai IC <sub>50</sub> sitotoksik fraksi terhadap sel kanker payudara T47D .....	90
9. Nilai IC <sub>50</sub> dan Indeks Selektivitas fraksi yang dielusi dengan n-heksan : kloroform (50:50) .....	93
10. Nilai IC <sub>50</sub> dan Indeks Selektivitas Doxorubicin HCl .....	96
11. Hasil Identifikasi golongan senyawa bioaktif fraksi yang dielusi dengan n-heksan : kloroform (50:50) .....	100

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pohon dan morfologi daun serta biji gaharu <i>G. versteegii</i> (Gilg.) Domke .....	7
2. Pohon dan morfologi daun gaharu <i>A. malaccensis</i> Lamk.....	9
3. Jalur biosintesis senyawa metabolit sekunder tumbuhan.....	11
4. Perangkat Soxhletasi .....	14
5. Perangkat VLC .....	17
6. Pemantauan profil senyawa dengan metode KLT .....	19
7. Kromatogram dan kalkulasi harga Rf .....	21
8. Reduksi tetrazolium menjadi formazan .....	29
9. Tiga proses kematian sel apoptosis, autofagi dan nekrosis.....	32
10. Jalur pensinyalan apoptosis .....	35
11. Pendeteksian morfologi sel yang mengalami apoptosis .....	37
12. Hasil analisis apoptosis dan nekrosis sel menggunakan FACS Calibur dengan kit <i>Annexin-V-FLUOS</i> dan <i>PI</i> .....	38
13. Struktur molekul <i>acridine orange</i> dan <i>ethidium bromide</i> .....	41
14. Bagan alir penelitian uji potensi senyawa bioaktif daun gaharu.....	50
15. Cara pembuatan seri konsentrasi larutan uji .....	55
16. Desain perlakuan uji sitotoksitas ekstrak gaharu terhadap sel kanker payudara T47D.....	56
17. Desain perlakuan sitotoksitas fraksi terhadap sel T47D dan uji selektivitas fraksi potensial terhadap sel T47D dan sel Vero .....	65
18. Desain perlakuan uji kematian sel terhadap sel T47D melalui metode <i>flow cytometry</i> . .....	69
19. Perbedaan warna daun gaharu <i>G. versteegii</i> dan <i>A. malaccensis</i> sebelum dan sesudah dikeringkan .....	72
20. Ekstraksi metabolit sekunder daun gaharu.....	75
21. Uji sitotoksik ekstrak daun gaharu <i>G. versteegii</i> dan <i>A. malaccensis</i> terhadap sel kanker payudara T47D.....	77
22. Profil KLT ekstrak kloroform daun <i>G. versteegii</i> dan <i>A. malaccensis</i> di bawah sinar tampak .....	81
23. Profil KLT ekstrak kloroform daun <i>G. versteegii</i> dan <i>A. malaccensis</i> di bawah sinar UV $\lambda 254\text{nm}$ dan $\lambda 366\text{nm}$ .....	82
24. Profil KLT fraksi ekstrak kloroform daun <i>G. versteegii</i> di bawah sinar tampak, UV $\lambda 254\text{nm}$ dan $\lambda 366\text{ nm}$ .....	87
25. Perubahan morfologi sel kanker payudara T47D pada uji sitotoksik fraksi IV .....	91
26. Morfologi sel T47D dan sel Vero dalam merespon fraksi yang dielusi dengan n-heksan : kloroform (50:50) .....	94
27. Morfologi sel T47D dan sel Vero dalam merespon Doxorubicin HCl.....	96

28. Hasil identifikasi golongan senyawa bioaktif fraksi potensial .....	99
29. Persentase sel kanker T47D terhadap pemberian Fraksi IV (n-heksan : kloroform = 50:50) dan Doxorubicin HCl melalui metode <i>flow</i> <i>cytometry</i> .....	105
30. Uji apoptosis sel kanker T47D dengan metode <i>flow cytometry</i> .....	108
31. Morfologi sel kanker payudara T47D dengan pewarnaan AO/EB <i>double</i> <i>stainning</i> .....	111

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Nilai IC <sub>50</sub> Ekstrak Daun Gaharu <i>Gyrinops versteegii</i> dan <i>Aquilaria malaccensis</i> terhadap Sel Kanker T47D .....	125
2. Nilai IC <sub>50</sub> Fraksi Ekstrak Daun Gaharu <i>Gyrinops versteegii</i> terhadap Sel Kanker T47D .....	126
3. Nilai IC <sub>50</sub> Fraksi Potensial Daun Gaharu <i>Gyrinops versteegii</i> terhadap Sel kanker T47D dan Sel normal Vero .....	128
4. Data Indeks Selektivitas Fraksi Potensial dan Doxorubicin HCl .....	128
5. Morfologi sel T47D Ekstrak Gaharu <i>Gyrinops versteegii</i> dan <i>Aquilaria malaccensis</i> .....	129
6. Morfologi Sel T47D pada Fraksi Ekstrak Kloroform daun <i>G. versteegii</i> .....	133
7. Morfologi Sel Vero pada Fraksi Potensial dan Doxorubicin HCl .....	134
8. Proses Fraksinasi dan Hasil Fraksi Ekstrak Kloroform Daun <i>Gyrinops versteegii</i> .....	135