

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
ABSTRAK.....	xii
I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Permasalahan.....	4
C. Tujuan.....	4
D. Manfaat.....	5
E. Ruang Lingkup.....	5
II. KAJIAN PUSTAKA.....	6
A. Tumbuhan <i>Aquilaria malaccensis</i> Lamk.....	6
B. Tumbuhan Gaharu <i>Gyrinops versteegii</i> (Gilg.) Domke.....	7
C. Metabolit sekunder.....	9
D. Ekstraksi.....	11
E. Fraksinasi.....	16
F. Kromatografi.....	18
G. Kanker kolon.....	21
H. Sel Vero.....	23
I. Sitotoksitas.....	24
J. Kematian sel.....	26
K. MTT Assay.....	30
L. Flow Cytometry.....	31
M. Pewarna <i>Acridine Orange-Ethidium Bromide</i>	34
III. LANDASAN TEORI DAN HIPOTESIS.....	37
A. Landasan Teori.....	37
B. Hipotesis.....	39
IV. METODE PENELITIAN.....	40
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	40
B. Bahan.....	40
C. Alat.....	41
D. Rancangan Penelitian.....	41
E. Prosedur Kerja.....	43
1) Ekstraksi.....	43
2) Uji sitotoksitas ekstrak pada sel kanker kolon WiDr.....	44

3) Penentuan profil senyawa ekstrak potensial dengan menggunakan metode kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	48
4) Fraksinasi hasil ekstraksi	49
5) Penentuan profil senyawa fraksi dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	50
6) Uji sitotoksitas fraksi pada sel kanker kolon WiDr	51
7) Uji sitotoksitas dan selektivitas fraksi pada sel kanker kolon WiDr dan sel Vero	55
8) Uji apoptosis dengan <i>Flowcytometry</i>	60
9) Uji kualitatif mekanisme kematian sel dengan <i>Double Staining</i>	61
10) Identifikasi golongan senyawa fraksi potensial sebagai antikanker kolon	63
F. Analisis Data.....	64
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Ekstrak daun Gaharu (<i>A. malaccensis</i> dan <i>G. versteegii</i>).....	65
B. Aktivitas sitotoksitas ekstrak Gaharu (<i>A. malaccensis</i> dan <i>G. versteegii</i>) pada sel kanker kolon WiDr.....	70
C. Profil metabolit sekunder ekstrak potensial Gaharu terpilih.....	73
D. Fraksi Ekstrak potensial Gaharu	76
E. Profil metabolit sekunder dari hasil fraksinasi ekstrak potensial.....	79
F. Aktivitas sitotoksitas fraksi ekstrak potensial Gaharu terpilih.....	81
G. Sitotoksitas fraksi potensial terhadap sel kanker kolon dan sel normal Vero	83
H. Mekanisme kematian sel oleh fraksi potensial ekstrak terpilih pada sel kanker WiDr melalui <i>Flowcytometry</i> dan <i>Double Staining</i>	87
I. Identifikasi Golongan Senyawa fraksi potensial terpilih.....	96
VI. PENUTUP	
A. Simpulan	103
B. Saran	103
DAFTAR PUSTAKA	104

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jenis-jenis pelarut organik untuk ekstraksi senyawa aktif.....	14
2. Jenis dan perbandingan eluen untuk fraksinasi.....	50
3. Senyawa standar dan reagen semprot untuk deteksi golongan senyawa.....	63
4. Hasil ekstraksi metabolit sekunder daun Gaharu.....	67
5. Nilai IC50 sitotoksisitas ekstrak daun Gaharu <i>A.malaccensis</i> dan <i>G.versteegii</i> terhadap sel kanker kolon WiDr.....	71
6. Pemantauan jumlah spot pada kromatogram.....	76
7. Hasil fraksinasi berdasarkan jenis dan perbandingan eluen.....	78
8. Penggabungan fraksi dari ekstrak potensial (ekstrak kloroform <i>G.versteegii</i>).....	81
9. Bilai IC50 sitotoksisitas fraksi ekstrak kloroform daun <i>G.versteegii</i>	82
10. Sitotoksisitas dan indeks selektivitas Fraksi 4 pada sel WiDr dan sel Vero.....	87
11. Hasil pengujian persentase keadaan sel dengan <i>Flowcytometry</i>	89
12. Hasil identifikasi golongan senyawa Fraksi 4.....	100

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tumbuhan <i>Aquilaria malaccensis</i>	7
2. Pohon dan dan morfologi daun <i>Gyrinops versteegii</i>	8
3. Perangkat Soxhlet	13
4. Perangkat <i>Vaccum liquid Chromatography</i>	17
5. Kondisi plate di bejana pengembang	19
6. Perhitungan nilai Rf di atas kromatogram	20
7. Morfologi sel kanker WiDr	22
8. Proses reduksi Doxorubicin	26
9. Jalur kematian sel melalui apoptosis	28
10. Reaksi reduksi MTT menjadi Formazan	30
11. Lokasi reaksi reagen untuk mendeteksi viabilitas sel	31
12. Spektrum emisi tiga Fluorokrom	32
13. Contoh hasil pengamatan <i>Flowcytometry</i>	33
14. Struktur <i>Acridine orange</i>	34
15. Struktur <i>Ethidium Bromide</i>	35
16. Bagan alur kerja penelitian yang dilakukan	42
17. Mekanisme pembuatan larutan uji dengan mekanisme <i>serial dillution</i>	46
18. Desain perlakuan uji sitotoksisitas ekstrak Gaharu terhadap sel WiDr	47
19. Desain perlakuan uji sitotoksisitas fraksi Gaharu terhadap sel WiDr	53
20. Desain perlakuan uji sitotoksisitas fraksi Gaharu terhadap sel WiDr	55
21. Desain perlakuan uji sitotoksisitas Fraksi 4 Gaharu terhadap sel WiDr	58
22. Desain perlakuan pada <i>plate 6 well</i> untuk <i>Flowcytometry</i>	60
23. Daun gaharu <i>A.malaccensis</i> dan <i>G.versteegii</i>	65
24. Diagram hasil ekstraksi daun Gaharu	68
25. Kromatogram optimasi campuran n-heksan dan etil asetat dari ekstrak kloroform daun <i>G.versteegii</i>	72
26. Pemantauan profil ekstrak potensial <i>G.versteegii</i>	73
27. Pemantauan jumlah spot ekstrak <i>A.malaccensis</i> dan <i>G.versteegii</i>	74
28. Proses fraksinasi ekstrak potensial <i>G.versteegii</i> (kloroform)	75
29. Kromatogram fraksi dari ekstrak potensial	78
30. Perbandingan IC50 dari fraksi-fraksi yang diuji aktivitas sitotoksisitas pada sel WiDr	80



31.	Pengaruh Fraksi 4 pada sel WiDr	86
32.	Induksi kematian sel pada sel WiDr dengan <i>Flowcytometry</i>	91
33.	Pengamatan sel WiDr diwarnai dengan <i>Acridine orange</i> dan <i>Ethidium bromide</i> diamati pada mikroskop fluoresen	93
34.	Hasil identifikasi golongan senyawa bioaktif farksis potensial (F4)	99

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Data Viabilitas sel hidup dan nilai IC 50 ekstrak <i>Aquilaria malaccensis</i> dan <i>Gyrinops versteegii</i> terhadap sel kanker kolon WiDr.....	112
2. Grafik Viabilitas Sel WiDr terhadap Log Konsentrasi Ekstrak.....	113
3. Data Viabilitas sel hidup dan nilai IC 50 fraksi dari ekstrak kloroform <i>Gyrinops versteegii</i> terhadap sel kanker kolon WiDr	114
4. Grafik Viabilitas Sel WiDr terhadap Log Konsentrasi fraksi.....	115
5. Data Viabilitas sel hidup dan nilai IC 50 fraksi potensial (F4) dari ekstrak kloroform <i>Gyrinops versteegii</i> , Doxorubicin dan kontrol media DMSO terhadap sel kanker kolon WiDr	116
6. Data Viabilitas sel hidup dan nilai IC 50 fraksi potensial (F4) dari ekstrak kloroform <i>Gyrinops versteegii</i> , dan Doxorubicin terhadap sel Vero	116
7. Data Induksi kematian sel WiDR dengan <i>Flow cytometer</i>	117