

Bab II Tinjauan Pustaka

II.1 Buah Ranti Hitam



Gambar II. 1 Tanaman Buah Ranti Hitam (*Solanum nigrum* L.)
(Chauhan et al., 2012)

Klasifikasi Tumbuhan :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Solanales
Famili	: Solanaceae
Genus	: Solanum
Spesies	: <i>Solanum nigrum</i> L.

(Depkes RI, 1994)

Morfologi

Solanum nigrum merupakan tumbuhan semak yang mempunyai tinggi $\pm 1,5$ cm. Batang berbentuk tegak, bulat, lunak dan hijau. Daun berbentuk tunggal, lonjong dan tersebar dengan panjang

5–7 cm dan lebar 5–7,5 cm, pangkal runcing, tepi rata, ujung runcing, pertulangan menyirip, tangkai panjang ± 1 cm dan berwarna hijau. Bunga majemuk, berbentuk corong, dicabang berbulu, tangkai $\pm 0,3$ cm, bertaju lima berwarna hijau, benang sari putih kehujauan, mahkota lonjong berbentuk corong dengan panjang $\pm 0,4$ cm berwarna putih. Buah berbentuk bulat dengan buah muda berwarna hijau dan setelah tua berwarna coklat kehitaman. Biji berbentuk bulat pipih dengan ukuran kecil-kecil dan berwarna putih. Akar ranti tunggang dan berwarna putih kecoklatan (Depkes RI, 1994).

Kandungan Fitokimia

Tabel II.1
Kandungan Fitokimia pada *Solanum nigrum* L.

Nutrient per 100g edible portion	Range of values
Water (%)	83 – 91
Crude Protein (g)	2,8 – 5,8
Crude fibre (g)	0,6 – 1,4
Fat (g)	0,8
Carbohydrate (g)	3,3 – 5,0
Calories (kcal)	38
Etheral extract (g)	38 – 44
Total ash (g)	3,3 – 8,8
Iron (mg)	1,0 – 4,2
Calcium (mg)	99 – 442
Phosphorus (mg)	75
Beta-carotene (mg)	1,7 – 11,6
Ascorbic acid (mg)	20 – 158
Oxalate (mg)	58,8 – 98,5
Nitrate-N (mg)	29–400
Total Phenolics (mg)	68,3–73,4

(Edmonds and Chweya, 1997)

Solanum nigrum mengandung banyak senyawa yang bertanggung jawab dalam aktivitas farmakologis. Komponen aktif didalamnya adalah protein, serat, karbohidrat, kalori, kalsium, fosfat, beta karoten, asam askorbat dan fenol (Edmonds and Chweya, 1997). Selain itu, hasil penapisan metabolit sekunder menyatakan bahwa ekstrak daun *Solanum nigrum* L. mengandung alkaloid, tanin, flavonoid, phlobatanin, dan steroid, sedangkan pada ekstrak aqua dan ekstrak petroleum eter daun *Solanum nigrum* L. mengandung alkaloid, tanin, flavonoid, dan steroid (Modilal et al., 2015).

Pada ekstrak n-heksan daun dan buah terdapat banyak steroid dan triterpenoid dan untuk fenol lebih banyak terdapat pada daun daripada pada buah serta untuk alkaloid hanya sedikit terdapat pada ekstrak daun. Pada ekstrak etil asetat sama-sama terdapat banyak steroid dan triterpenoid, tetapi ada ekstrak etil asetat daun lebih banyak terdapat alkaloid, flavonoid, fenol, dan tanin. Pada ekstrak etanol daun lebih banyak mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, kuinon, tanin, steroid dan triterpenoid dibandingkan dengan ekstrak etanol buah (Simorangkir et al., 2017).

Untuk kandungan alkaloid, banyak terdapat pada ekstrak etanol daun dan kemudian diikuti oleh ekstrak etil asetat daun, ekstrak etil asetat buah, dan ekstrak etanol buah. Fenol banyak terdapat pada ekstrak n-heksan dan ekstrak etil asetat daun serta ekstrak etil asetat buah. Kandungan saponin, kuinolon dan tanin paling banyak terdapat pada ekstrak etanol daun. Kandungan alkaloid dapat dikatakan sebagai penanda taksonomi oleh sejumlah peneliti. Kandungan alkaloid pada *solanum nigrum complex* adalah glikoalkaloid dan aglikonnya. Glikoalkaloid pada tanaman *solanum nigrum complex* adalah

solasonin, α -Solamargin, β -solamargin, dan α -solanin serta marginnya (Simorangkir et al., 2017).

Aktivitas Farmakologi

Solanum nigrum L. adalah buah yang kaya akan kandungan glikoalkaloidnya, dalam hal ini seperti solamargin, solasonin dan solanin. Kandungan tersebut memiliki aktivitas antikanker seperti pada pengujian dengan metode MTT-assay, solanin yang menunjukkan keefektivannya dengan menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 164,7 μ g/mL terhadap sel LIM-1863 atau kanker kolon (Sammani et al., 2014).

Pada pengujian terhadap sel HELA atau kanker serviks, *Solanum nigrum* L. juga menunjukkan aktivitas antikanker dengan menghasilkan IC₅₀ sebesar 227 μ g/mL. Selain itu, cisplatin sebagai agen antikanker jika dikombinasikan dengan ekstrak etanol ranti hitam akan memiliki efek sinergis dengan menghasilkan IC₅₀ sebesar 0,58 μ g/mL, dimana kombinasi tersebut akan menghambat pertumbuhan sel Hela hingga 46%. Hal tersebut dikarenakan Solamargin dan Solanin dapat mempengaruhi hulu BCL-2, sehingga menghambat transkripsi protein BCL-2 hingga akhirnya apoptosis dapat terjadi. Selain itu, dari data tersebut dapat dinyatakan bahwa ekstrak etanol herba ranti hitam menginduksi aktivitas sitotoksik cisplatin (Istiaji et al., 2010).

Selain itu, pada pengujian terhadap sel Leukimia₁₂₁₀ ekstrak etanol buah ranti hitam juga menunjukkan aktivitas antikanker dengan menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 14,88 μ g/mL yang kemungkinan disebabkan karena etanol yang digunakan sebagai pelarut pada

penelitian tersebut merupakan pelarut polar yang mudah menarik senyawa aktif pada simplisia buah ranti hitam seperti fenol, alkaloid, dan glikosida yang menunjukkan daya toksik terhadap sistem zoologis (Simorangkir et al., 2017).

Ekstrak etanol buah ranti berwarna hijau mempunyai nilai IC_{50} yang lebih kecil jika dibandingkan dengan ekstrak daun buah ranti hijau. Nilai IC_{50} pada buah sebesar 12,7 $\mu\text{g/mL}$ dan pada daun sebesar 89,1 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel kanker payudara MCF-7. Sedangkan pada kanker hati HepG2, IC_{50} ekstrak buah sebesar 16,6 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan pada ekstrak etanol daun mempunyai nilai IC_{50} sebesar 95,7 $\mu\text{g/mL}$ (El-hawary et al., 2015).

II.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat terlarut sehingga kemudian terpisah dari bahan yang tidak terlarut dengan menggunakan pelarut tertentu (Depkes RI, 2000). Ekstraksi didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen dari zat ke pelarut dimana perpindahan tersebut mulai terjadi pada lapisan antarmuka yang kemudian berdifusi masuk kedalam pelarut (Harbone, 1987). Ekstrak adalah sediaan pekat yang didapatkan dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, selanjutnya semua atau hampir semua pelarut diuapkan hingga massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000).

Maserasi

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana dan dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas ataupun tahan panas. Maserasi dilakukan menggunakan pelarut bukan air (pelarut nonpolar) atau setengah air, misalnya etanol encer dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruang (kamar). Secara teknologi, maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinyu (terus menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Depkes RI, 2000).

Ekstraksi Cair-cair

Fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair atau *solvent extraction* merupakan suatu proses ekstraksi atau pemisahan yang didasarkan pada perbedaan distribusi komponen yang dipisahkan antara dua fase cair (Febriyanti at al., 2004). Proses pemisahan komponen tersebut dilakukan di dalam dua macam pelarut yang tidak saling bercampur. Fraksinasi dilakukan secara berkelanjutan dimulai dengan pelarut non polar (n-heksan, benzena, dan toluena, dll), dilanjutkan dengan pelarut semi polar (etil asetat dan diklorometan) dan diakhiri dengan menggunakan pelarut polar (etanol, metanol, air, dll). Proses fraksinasi akan menghasilkan senyawa yang larut dalam pelarut yang sesuai dengan kelarutannya (Purwanto, 2015).

II.3 Kombucha

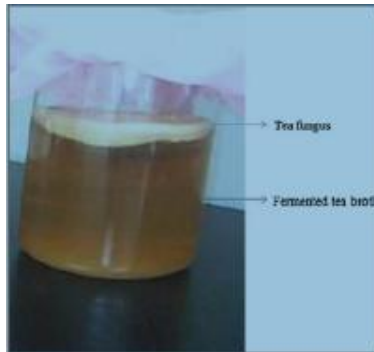
Kombucha adalah minuman sehat yang diproduksi secara tradisional yang merupakan hasil fermentasi SCOBY (*Symbiotic Colony of*

Bacteria and Yeast) dengan substrat larutan teh dan penambahan gula. SCOBY merupakan kultur simbiotik kombinasi antara bakteri asam asetat dan ragi (Kurniawan et al., 2017).

Fermentasi teh kombucha sangat tergantung pada SCOBY. Bakteri yang paling sering digunakan dalam simbiois tersebut adalah genus *Acetobacter* dan *Gluconobacter*. Yang termasuk dalam genus *Acetobacter* adalah *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus*, *Acetobacter pomorum*, *Acetobacter peroxydans*, *Acetobacter lovaniensis*, *Acetobacter estunensis*, *Acetobacter orleanensi*, *Acetobacter indonesiensis*, dan *Acetobacter tropicalis* (Cleenwerck et al. 2002). Sedangkan pada genus *Gluconobacter* adalah *Gluconoacetobacter hansenii*, *Gluconoacetobacter swingsii* sp., *Gluconoacetobacter rhaeticus* sp., dan *Gluconoacetobacter kombuchae* sp.nov. Ragi yang termasuk didalam jamur teh meliputi genus *Zygosaccharomyces bailii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Candida stellata*, dan *Torulospira delbreuckii* (Teoh et al., 2004).

Kombucha adalah minuman yang rasanya seperti cuka dari sari buah apel. Rasa kombucha dapat berubah dari rasa asam ringan menjadi sangat asam selama fermentasi, selain itu warna dan aromanya pun dapat berubah menjadi lebih pekat (Kurniawan et al., 2017). Teh hijau maupun teh hitam dapat digunakan untuk pembuatan kombucha. Teh kombucha dibuat dengan menginokulasi koloni/starter indukan teh ditambah gula yang direndam bersama sejumlah fermentasi teh sebelumnya, dimasukkan kedalam toples kaca dan disimpan dalam keadaan gelap selama 7-21 hari. Selama fermentasi, pH akan berkurang drastis karena selama proses

fermentasi ragi menghasilkan gula menjadi etanol dan oleh bakteri asetat diubah menjadi asam organik (Ansari et al., 2017; Júnior et al., 2009; Nurikasari et al., 2017).



Gambar II. 2 Fermentasi Kombucha Teh Hitam (Jayabalan *et al.*, 2014).

Fermentasi kombucha akan menghasilkan penurunan pH, peningkatan kadar selulosa dan penurunan gula reduksi. Fermentasi menghasilkan berbagai komponen antioksidan seperti polifenol dan katekin. Efek antioksidan pada kombucha dihasilkan karena metabolisme mikroorganisme di kombucha selama proses fermentasi. Dalam kombucha, peningkatan fenolik dapat meningkatkan aktivitas antioksidan. Tetapi, mengonsumsi kombucha yang difermentasi juga tidak dianjurkan karena mengandung asam asetat yang tinggi yang dapat menyebabkan asidosis (Nurikasari et al., 2017).

Kombucha memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker. Hal itu disebabkan karena kandungan polifenol, asam glukonat, asam glukuronat, asam laktat dan vitamin. Selain itu kombucha juga memiliki kandungan D-saccharic acid-1,4-lactone (DSL) yang dapat

menghambat aktivitas glucoronidase, yaitu enzim yang secara tidak langsung berkaitan dengan sel kanker. Kombucha teh hijau terbukti memiliki aktivitas antiproliferasi terhadap sel kanker A549 dan HepG2 (kanker hati) dengan menunjukkan nilai IC_{50} masing-masing sebesar $250 \pm 0,6$ dan $200 \pm 0,9$. Selain itu, kombucha teh hitam menunjukkan nilai IC_{50} sebesar $386 \pm 0,4$ terhadap sel HepG2 (Deghrigue et al., 2013).

II.4 Kanker

Penyakit kanker adalah penyakit yang timbul akibat perubahan sel-sel dalam jaringan tubuh dan menyebar diluar kendali yang selanjutnya dapat menginvasi jaringan lokal serta bermetastasis ke tubuh bagian lainnya. Sedangkan tumor dapat disebabkan karena adanya pertumbuhan atau perkembangan jaringan yang tidak wajar dalam tubuh mengakibatkan terjadi peradangan atau inflamasi. Benjolan yang timbul akibat adanya pertumbuhan jaringan abnormal akibat kanker berbeda dengan tumor. Pada kanker, benjolan tidak memiliki selaput atau kantung selimut, saat ditekan atau diraba akan terasa agak keras. Pada tumor, pertumbuhan jaringan akan menimbulkan benjolan yang memiliki selaput atau kantung yang menyelimutinya, apabila ditekan biasanya benjolan terasa agak lunak (Chisholm-Burns et al., 2016).

Penyebab Kanker

Kanker disebabkan oleh siklus sel yang terganggu akibat mutasi dari gen-gen yang mengatur pertumbuhan. Selain itu, kanker juga disebabkan oleh adanya defek pada gen. Defek pada gen dapat disebabkan oleh:

- a. Radiasi dari X-ray, Gamma-ray, dan UV-C (260 nm) yang diabsorpsi kuat oleh DNA.
- b. Zat-zat kimia dari lingkungan (polusi, asap rokok dengan zat karbon hidrogen)
- c. Radikal bebas yang sangat reaktif (O_2 , H_2O_2 , OH^-) dari pernafasan biasa dan proses-proses fasa lainnya.
- d. Sitostatika, obat-obat untuk kemoterapi kanker juga memiliki risiko besar untuk menimbulkan kanker baru seperti leukimia. Sitostatika dapat merusak DNA dan bersifat karsinogen (Tjay dan Rahardja, 2007).

Patogenesis Terjadinya Kanker

Kanker dapat terjadi melalui beberapa tingkat, yaitu:

- a. Fase inisiasi : DNA dirusak oleh radiasi dan zat karsinogen seperti radikal bebas. Zat-zat ini kemudian mengganggu proses reparasi normal, mutasi DNA kemudian terjadi dengan adanya kelainan pada kromosomnya. Lalu kerusakan DNA diturunkan ke anak-anak sel dan seterusnya. Mutasi sel pada fase ini bersifat *irreversible*.
- b. Fase promosi : *co-carcinogens* atau zat karsinogen tambahan diperlukan karena merupakan promotor yang mencetuskan proliferasi sel. Sehingga demikian sel-sel yang semula rusak berubah menjadi ganas.
- c. Fase progresi : kerusakan DNA mengaktivasi gen-gen pertumbuhan yang menyebabkan dipercepatnya mitose dan pertumbuhan sel-sel ganas menjadi liar. Tumor menjadi manifes.

Dibandingkan sel-sel normal, sel-sel tumor dapat menggandakan gen-gennya sampai 10.000 kali lebih cepat. Hal itu menyebabkan

mutasi berlangsung secara serentak dan juga pertumbuhan genetik spontan. Rata-rata dalam beberapa fase selama siklusnya, sel membelah dalam waktu sekitar 20 jam (Tjay dan Rahardja, 2007).

Siklus sel yang berlangsung dari satu pembelahan sel ke pembelahan berikutnya melibatkan lima fase, yaitu fase G_1 dimana terjadi sintesis enzim yang dibutuhkan untuk sintesis DNA, fase S dimana terjadi replikasi DNA, fase G_2 dimana terjadi sintesis komponen seluler yang dibutuhkan untuk mitosis, fase M yaitu fase mitotik (sel membelah), dan terakhir fase G_0 dimana sel tidak membelah atau dalam keadaan istirahat. Pada saat di fase G_0 , sel yang sehat akan kembali ke fase G_1 untuk tetap melakukan pembelahan kembali, sedangkan sel yang tidak sehat akan mengalami apoptosis (Chisholm-Burns, et al., 2016).

Apoptose merupakan kematian sel yang memang sudah terprogram. Didalam embrio, setiap sel praktis menerima secara genetik suatu aksi, yaitu mematikannya setelah sejumlah pembelahan selesai. Begitupun dengan sel-sel kanker. Pada sel kanker, gen supresor tumor atau gen yang bekerja untuk menghambat pertumbuhan sel dan meregulasi pertumbuhan sel dimutasi sehingga tidak aktif. Untuk hal tersebut menyebabkan apoptose tidak dapat terjadi karena gen yang mencetuskannya sudah tidak aktif. Contoh gen supresor tumor adalah gen p53, BRCA-1, BRCA-2 dan sebagainya (Chisholm-Burns, et al., 2016).

II. 5 Kanker Payudara

Pengertian Kanker Payudara

Sebagian besar jenis sel kanker pada akhirnya akan membentuk benjolan atau massa yang disebut tumor dan biasanya diberi nama sesuai dengan bagian tubuh tempat tumor berasal. Sebagian besar kanker payudara dimulai di jaringan payudara yang terdiri dari kelenjar untuk produksi susu yang disebut lobus atau disaluran yang menghubungkan lobulus ke puting. Sisa dari payudara terdiri dari jaringan lemak, konektif, dan limfatik (WHO, 2018).

Presentasi Klinis

Tanda-tanda awal yang umum dan gejala yang terjadi adalah adanya benjolan tidak nyeri, tersendiri, unilateral, padat, keras, dan tidak teratur. Tanda dan gejala awal yang tidak umum adalah nyeri dan terjadi perubahan pada puting seperti lesung. Kemudian dapat juga terjadi edema kulit yang menonjol, kemerahan, hangat dan indurasi jaringan dibawahnya. Tanda-tanda dan gejala metastasis jaringan yang paling umum terjadi pada kelenjar getah bening (selain aksila atau mamaria interna), kulit, tulang, hati, paru-paru, dan otak. Gejala-gejala metastasis yang akan terjadi pada sekitar 10% pasien ketika mereka mencari pengobatan pertama pada nyeri tulang, kesulitan bernafas, nyeri perut atau pembesaran pada perut, sakit kuning, dan perubahan status mental (Chisholm-Burns, et al., 2016).

Diagnosis

Kanker payudara biasanya terdeteksi baik selama pemeriksaan skrining, sebelum gejala berkembang, atau setelah seorang wanita mengetahui adanya benjolan. Kebanyakan massa terlihat pada mammogram dan sebagian besar benjolan payudara merupakan

tumor jinak (bukan kanker), tidak tumbuh tidak terkendali atau menyebar, dan tidak mengancam jiwa. Ketika diagnosis diduga kanker, analisis mikroskopis jaringan payudara diperlukan untuk diagnosis dan untuk menentukan tingkat penyebaran (stadium) serta ciri jenis penyakit. Jaringan untuk analisis mikroskopis dapat diperoleh dari biopsi jarum (jarum halus atau jarum inti yang lebih lebar) atau sayatan bedah. Pemilihan jenis biopsi didasarkan pada beberapa faktor, yaitu ukuran, lokasi massa, faktor pasien, dan sumber daya (Chisholm-Burns, et al., 2016).

Stadium

Stadium pada kanker payudara didasarkan pada ukuran tumor primer (T_{1-4}), adanya dan ukuran luasnya melibatkan nodus limfa (N_{1-3}), dan keberadaan jarak metastasis (M_{0-1}). Stadium-stadium ini dapat dipresentasikan sebagai berikut :

a. Kanker Payudara Awal

Stadium 0 : Karsinoma in situ atau penyakit yang belum menginvasi membran dasar.

Stadium I : Tumor primer kecil tanpa keterlibatan nodus limfa

Stadium II : Keterlibatan nodus limfa regional.

b. Kanker Payudara yang Berkembang secara Lokal

Stadium III : Biasanya suatu tumor dengan ukuran besar yang melibatkan nodus yang luas, dimana nodus atau tumor terfiksasi pada dinding dada; juga termasuk kanker payudara *inflammatory*, yang progresifnya cepat.

c. Kanker Payudara Stadium Lanjut atau Metastasis

Stadium IV : metastasis ke organ jauh dari tumor primer (Sukandar et al., 2011).

II.6 Uji MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)

Pemeriksaan uji sitotoksik dan proliferasi sel dapat dilakukan dengan menggunakan metode MTT assay, karena memang merupakan cara yang dapat diandalkan. MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) dapat dikurangi oleh sel-sel aktif secara metabolik, sebagian aksi oleh enzim dehidrogenase. Hasil yang berupa formazan ungu intraseluler dapat dilarutkan dan dikuantifikasi dengan cara spektrofotometri. Metode MTT sel proliferasi mengukur tingkat proliferasi sel dan ketika terjadi apoptosis atau nekrosis yang disebabkan oleh peristiwa metabolisme, dapat terjadi penurunan viabilitas sel. Pengerjaan uji telah sangat disederhanakan agar dapat memungkinkan untuk mempercepat pemrosesan sampel (ATTC, 2011).

Pereaksi MTT stabil pada suhu 4°C dalam gelap dan dapat bertahan hingga delapan belas bulan asalkan tidak ada kontaminasi. Selama pipetasi, pengerjaan harus dilakukan dengan akurat secara aseptik agar tidak ada kontaminasi yang dapat merusak reagen MTT. Selain itu, suhu harus tetap dipertahankan dan tetap ditempat yang gelap. Reagen MTT dapat berupa *bluegreen* ataupun *detergen*. Untuk penanganan reagen *bluegreen* harus hati-hati dan harus memperhatikan panduan. Untuk reagen *Deterjen* penanganannya lebih sederhana karena tersedia untuk siap digunakan. Reagen *Deterjen* disimpan pada suhu 4°C, kemudian botol dihangatkan selama 5 menit pada 37°C lalu campurkan dengan cara dibalikkan secara perlahan untuk menghindari busa. Detergen stabil hingga delapan belas bulan pada suhu kamar (ATTC, 2011).

Jumlah sel dipengaruhi tingkat aktivitas mitokondria dan laju proliferasi. Pelarut organik dapat digunakan untuk melarutkan kristal formazan organik, terutama alkohol. Etanol dapat digunakan namun juga dapat menyebabkan pengendapan protein dalam media kultur. Isopropanol juga merupakan pelarut yang sama baiknya dan pada kebanyakan kasus tidak memiliki efek samping seperti etanol. Selain itu, *Deterjen* (10% sodium-dodecyl-sulfate [SDS], Triton X-100, Nonidet P-40) juga di lakukan pengujian, dan hasilnya menunjukkan bahwa *detergen* dapat digunakan bila isopropanol tidak sesuai dengan aplikasinya (Bahuguna et al. 2017).

Untuk interpretasi hasilnya, jika nilai absorbansi yang dihasilkan lebih rendah dari sel kontrol itu berarti menunjukkan bahwa terjadi penurunan laju proliferasi sel. Sebaliknya jika menghasilkan tingkat absorbansi yang lebih tinggi maka berarti dapat menunjukkan peningkatan proliferasi sel. Peningkatan proliferasi yang diimbangi dengan kematian sel jarang terjadi karena kematian sel dapat disimpulkan dari perubahan morfologis. Keuntungan dari pengujian MTT yang paling utama adalah kesederhanaan dan keefektifannya, yang membuatnya lebih cocok untuk menilai aktivitas anti-inflamasi dan anti-kanker dari setiap sampel uji pada tingkat awal (ATTC, 2011).

Hasil absorbansi yang diperoleh pada pengujian aktivitas sitotoksik dengan metode MTT selanjutnya dihitung persen viabilitas sel dengan rumus :

$$\% \text{ Viabilitas} = \frac{\text{Abs sampel} - \text{Abs blanko}}{\text{Abs kontrol} - \text{Abs blanko}} \times 100\%$$

Keterangan :

Abs (Absorbansi) kontrol = Medium, DMSO dan sel MDA-MB 231

Abs (Absorbansi) blanko = Medium komplet

Kemudian dicari persen inhibisi (% kematian sel) dengan cara 100 dikurangi hasil persen viabilitas. Setelah persen inhibisi didapat, dibuat grafik antara konsentrasi (x) terhadap persen inhibisi (y) dan diregresi linier. Kemudian didapatkan persamaan $y = bx + a$. Setelah itu, dimasukkan nilai $y = 50$ dan didapatkan nilai x yang selanjutnya diantilog. Sehingga didapat nilai konsentrasi hambat 50 (IC_{50}).

IC_{50} (*Inhibitory concentration* 50) adalah konsentrasi sampel uji yang memberikan hambatan pada 50% subyek uji. Dalam hal ini berarti, menghambat 50% pertumbuhan sel kanker payudara MDA-MB 231.

Tabel II.2
Tingkat Nilai *Inhibitory Concentration* (IC_{50})

No.	Tingkat Nilai IC_{50}	Tingkat Penghambatan
1.	$\leq 20 \mu\text{g/mL}$	Sangat aktif
2.	21-200 $\mu\text{g/mL}$	Cukup aktif
3.	201-500 $\mu\text{g/mL}$	Lemah
4.	$\geq 500 \mu\text{g/mL}$	Tidak Aktif

Catatan: Semakin kecil nilai IC_{50} yang diperoleh maka aktivitas sitotoksik semakin tinggi (Srisawat et al., 2013).