

TUGAS AKHIR - SF234801

Fabrikasi Photosensitizer *Ar Tumeron* dengan Pelarut *Diklorometana* berbasis Komponen Komplit Kunyit (*Curcuma Longa Linn*) Sebagai Agen Anti Kanker Darah

MUHAMMAD SIROJ AT TAMIMI

NRP 5001201133

Dosen Pembimbing

Dr.rer.nat. Nasori, S.Si., M.Si.

NIP 1981201831065

Program Studi Fisika

Departemen Fisika

Fakultas Sains dan Analitika Data

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Surabaya

2024



TUGAS AKHIR - SF234801

**FABRIKASI PHOTSENSITIZER *AR TUMERON*
DENGAN PELARUT *DIKLOROMETANA* BERBASIS
KOMPONEN KOMPLIT KUNYIT (*CURCUMA LONGA
LINN*) SEBAGAI AGEN ANTI KANKER DARAH**

MUHAMMAD SIROJ AT TAMIMI

NRP 5001201133

Dosen Pembimbing

Dr.rer.nat. Nasori, S.Si.,M.Si.

NIP 1981201831065

Program Studi Fisika

Departemen Fisika

Fakultas Sains dan Analitika Data

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Surabaya

2024



FINAL PROJECT - SF234801

**FABRICATION OF AR TUMERON PHOTSENSITIZER
WITH DICHLOROMETHANE SOLVENT BASED ON
COMPLETE COMPONENTS OF TURMERIC (CURCUMA
LONGA LINN) AS AN ANTI-BLOOD CANCER AGENT**

MUHAMMAD SIROJ AT TAMIMI

NRP 5001201133

Advisor

Dr.rer.nat. Nasori, S.Si.,M.Si.

NIP 1981201831065

Study Program Bachelor

Department of Physics

Faculty of Science and Data Analytics

Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Surabaya

2024

LEMBAR PENGESAHAN

FABRIKASI PHOTSENSITIZER AR TURMERONE DENGAN PELARUT DIKLOROMETANA BERBASIS KOMPONEN KOMPLIT KUNYIT SEBAGAI AGEN ANTI KANKER DARAH

TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) pada
Program Studi S-1 Fisika
Departemen Fisika
Fakultas Sains dan Analitika Data
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh : MUIHAMMAD SIROJ AT TAMIMI

NRP: 5001201133

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir:

1. Dr.rer.nat. Nasori, S.Si.,M.Si.
NIP 1981201831065

Pembimbing



2. Prof. Endarko, M.Si., Ph.D.
NIP 197411171999031001

Penguji



3. Dr.rer.nat. Eko Minarto
NIP 197502051999031004

Penguji



SURABAYA

Agustus, 2024

PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama mahasiswa / NRP : Muhammad Siroj At Tamimi / 5001201133
Program studi : Fisika
Dosen Pembimbing / NIP : Dr.rer.nat. Nasori, S.Si.,M.Si. / 1981201831065

dengan ini menyatakan bahwa Tugas Akhir dengan judul "*Fabrication of Ar Tumeron Photosensitizer with Dichloromethane Solvent based on Complete Components of Turmeric (Curcuma Longa Linn) as an Anti-Blood Cancer Agent*" adalah hasil karya sendiri, bersifat orisinal, dan ditulis dengan mengikuti kaidah penulisan ilmiah.

Bilamana di kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan yang berlaku di Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Surabaya, 8 Agustus 2024

Mengetahui
Dosen Pembimbing



Dr.rer.nat. Nasori, S.Si.,M.Si.
NIP. 1981201831065

Mahasiswa



Muhammad Siroj At Tamimi
NRP. 5001201133

ABSTRAK

FABRIKASI PHOTSENSITIZER AR TURMERONE DENGAN PELARUT DIKLOROMETANA BERBASIS KOMPONEN KOMPLIT KUNYIT (*CURCUMA LONGA LINN*) SEBAGAI AGEN ANTI KANKER DARAH

Nama Mahasiswa / NRP : Muhammad Siroj At Tamimi / 5001201133
Departemen : Fisika FSAD-ITS
Dosen Pembimbing : Dr.rer.nat. Nasori, S.Si.,M.Si.

Abstrak

Curcumin Longa Linn ialah bahan nabati hasil ekstrak kunyit yang memiliki manfaat yang begitu banyak dalam bidang baik pengobatan tradisional maupun bidang medis dan telah dilirik banyak orang karena kandungannya. Dimana senyawa turmeron tersebut tersusun atas *ar-turmerone*, *α-turmerone*, *tumerol*, *β-turmerone*, *β-caryophyllene*, dan *1,8-cineole*. Senyawa ar-turmeron mempunyai kemampuan regenerasi sel yang tinggi, senyawa tersebut mampu mengaktifkan protein mitokondria untuk menimbulkan apoptosis (kematian sel terprogram). Studi farmakologi membuktikan bahwa *Ar Tumeron* telah terbukti memiliki aktivitas *imunostimulator* pada sel *mononuklear* darah tepi manusia, Apoptosis, anti-platelet, anti-inflamasi, anti-invasi, anti-tumor, dan anti-efekdermatofitas. Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui aktivitas fraksi *diklorometana* dan senyawa *Ar Tumeron* dari rimpang kunyit terhadap sel kanker darah, untuk mengetahui hasil identifikasi senyawa *Ar Tumeron* menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis, dan untuk mengetahui aktivitas antikanker pada senyawa *Ar Tumeron* secara *in vitro* terhadap sel kanker darah. Metode penelitian ini dilakukan dengan proses ekstraksi yang menggunakan pelarut DCM (*diklorometana*), kemudian dilakukan proses pemisahan dengan metode KCV, kemudian diidentifikasi kandungan dari fraksi menggunakan spektrofotometri UV-Visibel, dan di uji MTT. Setelah dilakukan analisis, diketahui aktivitas fraksi *diklorometana* dan senyawa *Ar Tumeron* terhadap sel kanker darah sukses menunjukkan bahwa fraksi *diklorometana* dan senyawa *Ar Tumeron* tersebut memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan yang signifikan terhadap sel kanker darah dalam konsentrasi tinggi. Dengan menggunakan metode *tauc plot* didapatkan nilai *bandgap energy indirect* sebesar 2,47eV dan *bandgap energy direct* sekitar 2,62 Ev.

Kata kunci: *Ar Tumeron*, *Bandgap Energy*, *Curcuma longa linn*, *Diclorometana*, *Tauc Plot*.

ABSTRACT

FABRICATION OF *AR TUMERON* PHOTSENSITIZER WITH DICHLOROMETHANE SOLVENT BASED ON COMPLET COMPONENTS OF TURMERIC (*CURCUMA LONGA LINN*) AS AN ANTI-BLOOD CANCER AGENT

Student Name / NRP : **Muhammad Siroj At Tamimi / 5001201133**
Department : **Fisika FSAD-ITS**
Advisor : **Dr.rer.nat. Nasori, S.Si.,M.Si.**

Abstract

Curcumin Longa Linn is a vegetable material extracted from turmeric which has so many benefits in the field of both traditional medicine and the medical field and has been seen by many people because of its content. Where the turmeron compound is composed of ar-turmerone, α -turmerone, tumerol, β -turmerone, β -caryophyllene, and 1,8-cineole. The ar-turmerone compound has a high cell regeneration ability, the compound is able to activate mitochondrial proteins to cause apoptosis (programmed cell death). Pharmacological studies prove that ar-turmeron has been shown to have immunostimulatory activity on human peripheral blood mononuclear cells, apoptosis, anti-platelet, anti-inflammatory, anti-invasion, anti-tumor, and anti-efficacy. This study aims to determine the activity of the dichloromethane fraction and *Ar Tumerone* compounds from turmeric rhizomes against blood cancer cells, to determine the identification results of *Ar Tumerone* compounds using the UV-Vis spectrophotometer method, and to determine the anticancer activity of *Ar Tumerone* compounds *in vitro* against blood cancer cells. This research method is carried out by the extraction process using DCM (diclorometana) solvent, then the separation process is carried out by the KCV method, then the content of the fraction is identified using UV-Visible spectrophotometry, and MTT test. After analysis, it is known that the activity of the dichloromethane fraction and *Ar Tumeron* compound against blood cancer cells is successful in showing that the dichloromethane fraction and *Ar Tumeron* compound have the ability to inhibit significant growth of blood cancer cells in high concentrations. By using the *tauc plot* method, the indirect bandgap energy value is 2.47eV and the direct bandgap energy is around 2.62 Ev.

Keywords: *Ar Tumeron, Bandgap Energy, Curcuma longa linn, Dicloromethane, Tauc Plot.*

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN ORISINALITAS	i
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR SIMBOL.....	x
KATA PENGANTAR	xi
BAB 1 PENDAHULUAN.....	12
1.1 Latar Belakang.....	12
1.2 Rumusan Masalah.....	13
1.3 Batasan Masalah	13
1.4 Tujuan.....	13
1.5 Manfaat.....	13
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	15
2.1 Hasil Penelitian Terdahulu	15
2.2 Kanker Darah.....	17
2.3 Kunyit	17
2.4 Pembuatan Ekstrak dan Pemisahan Senyawa Turmeron.....	18
2.4.1 .Maserasi	18
2.4.2.Kromatografi Cair Vakum (KCV)	19
2.5 Spektrofotometri UV-Vis	19
2.5.1 .Komponen Instrumen	20
2.5.2.Mekanisme Spektrofotometri UV-Vis	20
2.5.3.Transmitansi dan Absorbansi	21
2.6 <i>Photodynamic Theraphy</i> (PDT).....	22
2.6.1 .Mekanisme Reaksi <i>Photodynamic</i> Tipe I	23
2.6.2.Mekanisme Reaksi <i>Photodynamic</i> Tipe II	24
2.6.3.Diagram Jablonski	24
2.7 <i>Microtetrzolium</i> (MTT).....	25
BAB 3 METODOLOGI	26
3.1 Metode yang digunakan.....	26

3.2	Bahan dan peralatan yang digunakan	27
3.3	Urutan pelaksanaan penelitian.....	27
3.3.1	Persiapan Ekstrak Kunyit	28
3.3.2	Pembuatan Ekstrak Kunyit dengan Pelarut <i>Diklorometana</i>	29
3.3.3	Proses Pemisahan Senyawa Turmeron dengan Kromatografi Cair Vakum (KCV) dan Uji Plat KLT	29
3.3.4	Proses Karakterisasi Turmerone dengan Metode Spektrofotometer UV-Visible	30
3.3.5	Uji Aktivitas Anti Kanker Metode Microtetrazolium (MTT)	30
BAB 4	Hasil dan Pembahasan	32
4.1	Preparasi Pemisahan Ekstraksi dengan Metode Kromatografi Cair Kolom.....	32
4.2	Analisis Spektrofotometer UV-VIS.....	33
4.2.1	Analisis Spektrum UV-VIS	33
4.2.2	Analisis <i>Bandgap Energy</i> Dengan Metode <i>Tauc Plot</i>	34
4.3	Proses Pengaktifan Photosensitizer <i>Ar Turmeron</i> Dalam Terapi Fotodinamika .	36
4.4	Analisis Uji MTT.....	37
4.4.1	Analisis Viabilitas Sel	37
4.4.2	Analisis IC50	39
BAB 5	Kesimpulan dan Saran	42
5.1	Kesimpulan.....	42
5.2	Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	48
BIODATA PENULIS	53

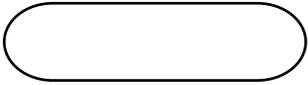
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Struktur kimia <i>Ar Tumeron</i>	18
Gambar 2. 2 Struktur kimia <i>diklorometana</i> (Nafis, 2016).....	19
Gambar 2. 3 Mekanisme Spektrofotometri UV-Vis	21
Gambar 2. 4 komponen yang digunakan untuk penurunan hukum Lambert Beer. (Bambang Yudono, 2017).....	22
Gambar 2. 5 Diagram Jablonski mengenai proses yang terjadi pada <i>Photodynamic Therapy</i> (Donnelly, 2008).....	24
Gambar 3. 1 Diagram alir penelitian.....	28
Gambar 3. 2 Bahan kunyit yang sudah siap dijadikan Ekstrak.....	28
Gambar 3. 3 Proses maserasi (pembuatan ekstraksi) dengan pelarut <i>diklorometana</i>	29
Gambar 3. 4 Proses pemisahan senyawa ar-turmerone dengan metode KCV	29
Gambar 3. 5 Pembacaan output panjang gelombang dari alat Spektrofotometer UV-Vis	30
Gambar 3. 6 Rangkaian Penyinaran <i>photodynamic therapy</i>	31
Gambar 4. 1 Profil KLT ekstrak kunyit yang telah dilakukan pemisahan KCV	33
Gambar 4. 2 Grafik hasil analisa UV-Vis ekstrak kunyit	33
Gambar 4. 3 Grafik <i>Bandgap Direct Energy</i>	35
Gambar 4. 4 Grafik <i>Bandgap Indirect Energy</i>	36
Gambar 4. 5 a) Grafik IC50 pada data uji MTT 450 nm tanpa PDT dan b) Grafik IC50 pada data uji MTT 450 nm dengan PDT	40
Gambar 4. 6 a) Grafik IC50 pada data uji MTT 560 nm tanpa PDT dan b) Grafik IC50 pada data uji MTT 560nm dengan PDT.....	40

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Penelitian terdahulu	15
Tabel 3. 1 Variabel penelitian	27
Tabel 4. 1 Hasil Pengujian GCMS Sampel Ekstrak Kunyit	32
Tabel 4. 2 Hasil data persentase sel hidup dengan uji MTT	37

DAFTAR SIMBOL

	<p><i>Terminator</i> merupakan simbol yang menyatakan awal atau akhir dari suatu arus program</p>
	<p>Symbol proses yang menunjukkan sebuah fungsi pemrosesan yang dilaksanakan oleh komputer biasanya menghasilkan perubahan terhadap data atau informasi</p>
	<p>Arus atau <i>flow</i> digunakan untuk menyatakan arus atau proses</p>

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT, yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan Tugas Akhir dengan judul “Fabrikasi Photosensitizer *Ar Tumeron* dengan Pelarut *Diklorometana* berbasis Komponen Komplit Kunyit (*Curcuma Longa Linn*) Sebagai Agen Anti Kanker Darah” dengan sehat wal afiat dan sempurna. Tugas Akhir tersebut disusun oleh penulis dengan tujuan agar dapat memenuhi persyaratan menyelesaikan pendidikan S1 di Departemen Fisika Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya (ITS). Untuk itu, penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada beberapa pihak yang telah membantu dalam pembuatan tugas akhir ini:

1. Allah SWT yang telah memberikan limpahan nikmat serta karunianya sehingga penulis diberikan kesempatan untuk menyelesaikan tugas akhir dengan sempurna.
2. Almarhumah ibu Farikha dan Bapak Fathoni yang menjadi alasan penulis menyelesaikan tugas akhir ini. Dimana beliau telah mendorong penulis untuk kuliah dan juga selalu memberikan doa yang terbaik serta dukungan kepada penulis. rela bertahajud, tirakad agar penulis dapat dimudahkan jalannya dalam menempuh Pendidikan S1 dan lulus tepat waktu.
3. Mas Ali Mashuri dan istri selaku kakak kedua dari penulis yang telah membiayai penulis dari awal kuliah di ITS hingga sekarang.
4. Bapak Dr.rer.nat. Nasori, M.Si. selaku dosen pembimbing Tugas Akhir yang telah memberikan ilmu selama proyek penelitian hingga penyusunan laporan.
5. Saudara kandung dan saudara kembar penulis yang selalu memberikan nasihat, dukungan dan doa tanpa henti.
6. Almarhumah Mbah Ti dan keluarga yang telah sukarela mengizinkan rumahnya untuk ditempati oleh penulis secara gratis dari awal kuliah setelah masa hybrid hingga sekarang.
7. Mbak Putri Wulandari dan juga anggota tim penelitian kunyit yang memberikan arahan dan membantu penulis dalam menyelesaikan proyek tugas akhir.
8. Mas jihar selaku kakak sepupu penulis yang telah bersedia meminjamkan laptopnya kepada penulis dalam penyusunan laporan tugas akhir.
9. Mas Rizky Agung, Mas Makinun, dan Mas Ikhsan yang telah senantiasa menemani penulis dalam menyelesaikan tugas akhir.
10. Teman-teman Regulus fisika ITS 2020 yang telah membantu memberikan dukungan serta semangat terhadap penulis.

Demikian, yang penulis dapat ucapkan mohon maaf apabila masih terdapat ketidaksempurnaan dari segi penulisan dan juga pemaparan. Penulis berharap laporan ini dapat bermanfaat dan dikembangkan untuk penelitian selanjutnya.

Surabaya, 08 Agustus 2024

Penulis

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan suatu masalah utama pada kesehatan dalam global yang dapat menyebabkan banyak kematian pada semua kalangan dan tak pandang siapapun. Diketahui berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) penyebab utama kematian hingga hampir 10 juta jiwa kasus di tahun 2020. Terdapat 437.000 kasus *leukemia* terbaru dan kematian karena kasus tersebut diketahui sebanyak 309.000 kematian pada tahun 2018 menurut Globocan. *Leukemia* masuk peringkat dalam 10 besar kanker terbanyak di Indonesia dimana sebanyak 13.400 dan kematian akibat kasus tersebut sebanyak 11.300 kematian pada tahun 2018. Pada tahun 2020 berdasarkan data *Global Cancer Observatory International Agency for Research on Cancer* (IARC) terdapat 474.519 kasus dan jumlah kematian karena kasus tersebut sebanyak 311.594 jiwa di seluruh dunia yang menyerang baik pria maupun wanita di semua kalangan, menempati urutan ke- 15. (Hyuna Sung PhD, 2021).

Leukemia adalah jenis kanker yang menyerang banyak orang dari segala usia dan menjadi penyebab utama kematian di seluruh dunia. (Ridka Rahmat, 2022). *Leukemia* juga memiliki beberapa jenis yakni, *leukemia* limfositik akut (LLA), *leukemia* mieloid akut (LMA), *leukemia* limfositik kronis (LLK), dan *leukemia* mieloid kronis (LMK). Walaupun perkembangan dalam pengobatan kanker semakin bagus dan harapan sembuh bagi banyak pasien mulai meningkat dalam beberapa tahun, namun kanker darah masih menjadi salah satu faktor utama penyebab kematian akibat kanker di seluruh penjuru dunia. Secara global prevalensi kanker darah semakin banyak yakni lebih dari 474.000 kasus baru dan sekitar 312.000 kasus kematian akibat kanker tersebut yang secara global dilaporkan pada tahun 2020. (R.L. Siegel, 2020). Sangat perlu juga untuk dipelajari dan dipahami kasus kanker darah sebagai suatu masalah kesehatan global untuk mendukung usaha penelitian dan perkembangan di seluruh dunia. Agar diagnosis dini semakin meningkat, kualitas hidup pasien meningkat, dan pengobatan bisa menjadi lebih efektif. Telah banyak perkembangan dan kemajuan yang mendalami tentang tumor dan perancangan yang modern, dan pengujian klinis yang berkembang pesat pada pengobatan leukemia ini. Namun, masih terdapat beberapa kekurangan yakni, seperti skala kemampuan pendeteksinya masih kurang, hanya bisa mendeteksi perbedaan kecil pada hasil pengobatan, obat yang terdaftar secara klinis masih sangat sedikit, dan masih banyak contoh yang lainnya. Dari pernyataan tersebut terlihat bahwa agar kemajuan bisa lebih lanjut, perlu diberikan pemfokusan pada beberapa terapi yang masih kurang dilihat. Seperti terapi fotodinamik (PDT). (Patrizia Agostinis PhD, 2011). Sel kanker darah yang digunakan pada penelitian ini ialah sel kanker darah jenis CCRF-CEM yang merupakan sel T *lymphoblastoid* yang umumnya didapat dari anak perempuan, yang memiliki *acute lymphoblastic leukemia* (ALL).

Photodynamic therapy (PDT) dengan kombinasi ekstrak bahan alam rempah-rempah yang sering kita gunakan untuk penambah resep makanan di Indonesia, dan biasa juga andil dalam berbagai pengobatan seperti *Curcumin Longa Linn* (kunyit) sebagai zat fotosensitisasi yang dibarengi dengan iradiasi pada panjang gelombangnya sehingga dapat mengaktifkan aktivitas sitotoksik selektif terhadap sel-sel ganas. Prosedur terapi tersebut dapat memiliki potensi menjadi pelengkap kebutuhan medis saat ini, terapi ini juga sukses dan disetujui secara klinis. (Patrizia Agostinis PhD, 2011). Terapi fotodinamik juga merupakan suatu terapi yang non-invasif yang telah sukses dikembangkan dalam bidang onkologi, dermatologi, ginekologi, dan urologi. (cancer, 2022). Di beberapa penelitian pun *Photodynamic therapy* berhasil dan

efektif penggunaannya sebagai metode pengobatan kanker. (cancer, 2022). Beberapa penelitian onkologi membuktikan penggunaannya dalam onkologi dapat meningkatkan keefektifan antikanker *Curcumin* dalam periode terakhir. (cancer, 2022).

Curcumin Longa Linn ialah bahan nabati hasil ekstrak kunyit yang memiliki manfaat yang begitu banyak dalam bidang baik pengobatan tradisional maupun bidang medis dan telah dilirik banyak orang karena kandungannya. (cancer, 2022). *Curcumin Longa Linn* juga dapat dimanfaatkan dalam berbagai keperluan medis, seperti di bidang antibakteri, anti-kanker, anti-inflamasi, anti-oksidasi, anti-proliferasi, dan termasuk senyawa polifenol alami yang banyak tersebar di Asia Tenggara. (cancer, 2022). studi epidemiologi sebelumnya membuktikan bahwa rendahnya kasus kanker di India terdapat adanya kontribusi dari kunyit yang digunakan dalam masakan india. Bahkan dalam kasus lain misalnya kanker usus besar di India. (Vesna Milacic, 2009). (R Sinha, 2003). Oleh karena itu, pada penelitian ini kunyit digunakan sebagai salah satu bahan objek penelitian ini karena kandungannya yang sangat banyak dan perlu dikembangkan di berbagai penelitian fisika medis.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini antara lain:

1. Bagaimana reaksi sitotoksik senyawa *Ar Tumerone* hasil ekstrak kunyit terhadap sel kanker darah CCRF-CEM?
2. Bagaimana hasil identifikasi senyawa *Ar Tumerone* dari rimpang kunyit pada spektrofotometer UV-Vis?

1.3 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian ini diantaranya adalah:

1. Proses ekstraksi menggunakan pelarut *DCM (DICHLOROMETANA)* & Pemisahan senyawa turmeron dengan KCV menggunakan eluen.
2. Sel yang digunakan adalah sel kanker darah CCRF.
3. Uji antikanker dilakukan secara *in vitro* dengan metode MTT (*microtetrazolium*).

1.4 Tujuan

Adapun tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui aktivitas fraksi *diklorometana* dan senyawa *Ar Tumeron* dari rimpang kunyit terhadap sel kanker darah.
2. Mengetahui hasil identifikasi senyawa *Ar Tumeron* menggunakan metode spektrofotometer UV-Vis.
3. Mengetahui aktivitas antikanker pada senyawa *Ar Tumeron* secara *in vitro* terhadap sel kanker darah.

1.5 Manfaat

Adapun manfaat dari penelitian dengan judul *Fabrikasi Photosensitizer Ar Tumerone* dengan Pelarut *Diklorometana* berbasis Komponen Komplit Kunyit Sebagai Agen Anti Kanker Darah adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi masyarakat mengenai kandungan senyawa turmeron dari kunyit yang memiliki aktivitas antikanker pada senyawa turmeron.

2. Hasil yang sempurna bisa dimanfaatkan dan dikembangkan untuk kebutuhan medis dimasa mendatang dan dapat menjadi inovasi kemajuan pengobatan kanker di Indonesia.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hasil Penelitian Terdahulu

Adapun tinjauan dari beberapa penelitian yang terdahulu mengenai *photodynamic therapy* dengan menggunakan senyawa dari kunyit untuk terapi terhadap kanker sel.

Tabel 2. 1 Penelitian terdahulu

No	Judul	Isi	Referensi
1	Effects of curcumin based <i>photodynamic therapy</i> on the viability and the organization of actin in melanotic (A375) and amelanotic melanoma (C32) - <i>in vitro</i> studies.	<p>Penelitian ini berdasarkan pada evaluasi efektivitas kurkumin sebagai agen terapi antikanker dalam pengobatan <i>in vitro</i> lini sel melanoma melanotik (A735) dan amelanotic (C32). Keratinosit (HaCat) dan fibroblas (HGF) digunakan untuk menilai dampak terapi pada jaringan kulit.</p> <p>Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mengetahui kematian sel setelah paparan iradiasi cahaya setelah preinkubasi dengan kurkumin. Selain itu penulis menganalisis interaksi antara kurkumin dan sitoskeleton aktin.</p> <p>Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini ialah Efek sitotoksik yang dipicu oleh kurkumin dan meningkat akibat iradiasi mengkonfirmasi kegunaan flavonoid dalam pendekatan <i>photodynamic therapy</i>. Tergantung pada konsentrasi kurkumin dan waktu inkubasi, tingkat kelangsungan hidup sel melanoma berkisar dari: 93,68% (garis sel C32, 10 μM, 24 jam) dan 83,47% (garis sel A375, 10 μM, 24 jam) hingga 8,98% (garis sel C32, 50 μM, 48 jam) dan 12,42% (garis sel A375, 50 μM, 48 jam). Selain itu, terapi fotodinamik dengan kurkumin meningkatkan jumlah sel apoptosis dan nekrotik dibandingkan dengan inkubasi dengan kurkumin tanpa iradiasi. Studi ini menunjukkan bahwa <i>photodynamic therapy</i> menginduksi ekspresi berlebih caspase-3 dan pembelahan DNA pada garis sel yang diteliti. Sel-sel menunjukkan penurunan proliferasi setelah terapi karena penataan ulang sitoskeleton aktin. Meski efektif, terapinya tetap tidak selektif terhadap sel melanoma.</p>	(wojciech szlaza, 2020)
2	Effects of Curcumin-	penelitian ini menguji tentang kurkumin sebagai fotosensitizer baru untuk PDT dan	(lan shao, 2022)

	mediated photodynamic therapy on autophagy and epithelial-mesenchymal transition of lung cancer cell	mengeksplorasi pengaruh kurkumin terhadap sel kanker paru-paru. Sel paru-paru yang digunakan ialah sel kanker paru-paru manusia A549 dan SPCA1 yang disediakan oleh Chinese Academy of Sciences Shanghai Cell Bank (Shanghai, China). Sel tersebut diberikan perlakuan dengan sel dikultur dalam media DMEM yang dilengkapi dengan 10% FBS dan 1% penisilin-streptomisin. Sel-sel diinkubasi pada suhu 37 °C dalam atmosfer lembab yang mengandung 5% CO ₂ . Hasil yang didapat menunjukkan bahwa autophagy terlibat dalam proses penghambatan EMT oleh Curcumin <i>photodynamic therapy</i> pada sel kanker paru-paru. Selain itu, peran autophagy yang diinduksi <i>photodynamic therapy</i> sebagai efek penggerak dalam mengendalikan EMT yang telah ditentukan. Oleh karena itu, kombinasi <i>photodynamic therapy</i> yang diimediiasi kurkumin dan CQ merupakan strategi potensial untuk melawan invasi dan migrasi dari sel kanker paru-paru. Regulasi autophagy yang ditargetkan dapat dianggap sebagai inovasi baru dalam bidang antitumor <i>photodynamic therapy</i> .	
3	The effect of curcumin in antitumor photodynamic therapy: <i>In vitro</i> experiments with Caco-2 and PC-3 cancer lines	Penelitian ini menguji apakah kurkumin yang merupakan senyawa alami tidak beracun yang memiliki sifat antitumor dapat meningkatkan khasiat <i>photodynamic therapy</i> dengan mengatasi resistansi sel kanker. Metode yang digunakan yakni dengan metode <i>photodynamic therapy</i> yang dimediasi dengan 5-ALA yang diuji pada dua lini sel, PC-3 dan Caco-2. Toksisitas kurkumin dievaluasi pada konsentrasi yang berbeda. Dosis <i>photodynamic therapy</i> yang ditentukan diterapkan pada garis sel bersama dengan dua konsentrasi Kurkumin yang berbeda. Viabilitas sel dievaluasi dengan uji MTT, 24 jam setelah perawatan. Hasil dievaluasi menggunakan One-Way ANOVA diikuti dengan tes post-hoc. Penggunaan Kurkumin dosis tidak beracun menghasilkan penurunan resistensi PDT yang signifikan pada sel Caco-2 dan dengan demikian meningkatkan kemanjuran PDT yang dimediasi 5-ALA, tetapi tidak pada PC-3. Menambahkan Kurkumin ke PDT yang dimediasi 5-ALA memberikan hasil yang lebih efektif pada Caco-2 dengan penurunan viabilitas sel sebesar 62,4%. Di sisi lain, menambahkan Kurkumin ke PDT yang dimediasi 5-ALA pada sel PC-3 tidak menghasilkan peningkatan kemanjuran yang signifikan secara statistik dengan penurunan viabilitas sel sebesar	(firas sueki, 2019)

		36%. Sehingga diketahui bahwa PDT yang dimediasi 5-ALA dikombinasikan dengan Curcumin secara sinergis meningkatkan kemanjuran PDT antitumor pada Caco-2, yang dianggap sebagai lini sel kanker yang sangat resistif.	
--	--	--	--

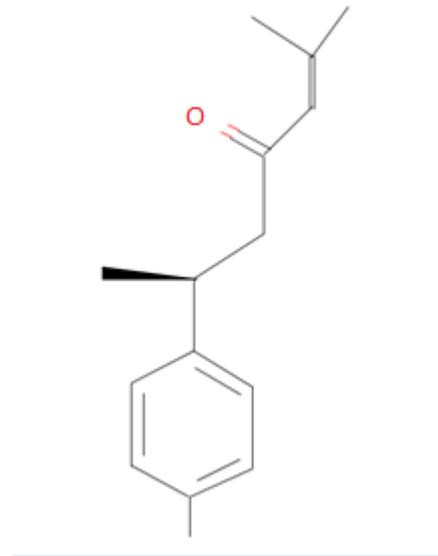
2.2 Kanker Darah

Leukemia merupakan suatu penyakit keganasan sel darah yang bersumber dari sumsum tulang, yang ditandai proliferasi sel-sel yang abnormal dalam darah tepi. (Adelia Eka Suryani, 2016). Umumnya *leukemia* terbagi menjadi dua jenis utama yakni, berdasarkan sel asal yang dominan *myeloid* dan *limfoid* dan berdasarkan laju perkembangannya dibagi lagi menjadi akut atau kronis. (Rafiq, Raza, & Younas, 2018). Klasifikasi umum *leukemia* menjadi kompleks yakni, terdapat empat jenis utama *leukemia* yakni, *leukemia myeloid* akut (AML) dimana termasuk kanker garis keturunan *leukosit myeloid* yang menyerang orang berusia antara 15 dan 70 tahun. Penyebab terjadinya hal tersebut ialah adanya kelainan kromosom, terutama perubahan timbal balik yang terdeteksi pada *leukemia myeloid* pada berbagai gen seperti RAS, FLT3, protein tirosin, dan P53. (Gerstung, 2017). Selain itu, *leukemia myeloid* kronis akut (CML) bukan termasuk penyakit genetik. Sebaiknya, hal tersebut disebabkan oleh adanya kelainan genetik akibat pertukaran DNA antara lengan panjang dua kromosom berbeda 9 dan 22, yang mewakili ekspresi dominan gen BCR-ABL, yang akhirnya menyebabkan CML. (Hélène Haguët, 2017). *leukemia* limfositik akut (ALL) merupakan jenis *leukemia* yang menyerang sumsum tulang. Kondisi medis yang berhubungan dengan jenis ini meliputi anemia, limfadenopati, hepatomegali, dan splenomegali. (Guest, 2017). *Leukemia* limfositik kronis (CLL) merupakan kelainan yang disebabkan karena rusaknya sistem kekebalan tubuh, oleh karena itu, dapat meningkatkan keganasan. *Hipommaglobulinemia* yang umumnya terjadi pada pasien dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah. (Glavey, 2017). *Leukemia* yang digunakan pada penelitian kali ini dengan jenis CCRF-CEM yang termasuk kanker limfoblastik *leukemia* akut.

2.3 Kunyit

Kunyit merupakan salah satu rempah yang banyak diminati dalam bidang medis. Kunyit, juga dikenal sebagai *curcuma* bole dalam bahasa Arab, dan jahe Jianghuanghuang atau kunyit dalam bahasa Cina, merupakan tanaman *rhizomatous* dari keluarga *Zingiberaceae*, ditanam setiap tahun di daerah tropis dan subtropis. (Racovita, 2023). Akhir-akhir ini, makanan dan bahan alami telah banyak digunakan untuk mengobati *leukemia*. Dimana, kunyit memiliki senyawa yang bersifat antitumor dan senyawa anti inflamasi yang mengandung *demethoxycurcumin* dan *bis-demethoxycurcumin*, yang dapat menekan pertumbuhan sel tumor yang abnormal. Kandungan utama kunyit berdasarkan riset ialah mengandung minyak atsiri, 10% kurkuminoid, 30% protein, 10% *desmethoxycurcumin*, 1-5% *bisdemethoxycurcumin*, dan *oleoresin*. Minyak atsiri tersusun atas 60% turmeron, 25% *zingierene*, dan 5% *orneol*, 5% *phellandrene*, dan 5% cina. (Kusbiantoro, 2018). Dimana senyawa turmeron tersebut tersusun atas *ar-turmerone*, *α-turmerone*, *tumerol*, *β-turmerone*, *β-caryophyllene*, dan 1,8-*cineole*. Senyawa Ar Turmeron mempunyai kemampuan regenerasi sel yang tinggi, senyawa tersebut mampu mengaktifkan protein mitokondria untuk menimbulkan apoptosis (kematian sel terprogram). Identifikasi senyawa *ar-turmeron* dapat dilakukan dengan mengukur panjang

gelombang maksimum 237 nm. (Liu, 2016). Gambar struktur kimia *Ar Tumeron* dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2. 1 Struktur kimia *Ar Tumeron*

Studi farmakologi membuktikan bahwa *Ar Tumeron* telah terbukti memiliki aktivitas *imunostimulator* pada sel *mononuklear* darah tepi manusia, Apoptosis, anti-platelet, anti-inflamasi, anti-invasi, anti-tumor, dan anti-efekdermatofita. (Grace Gar-Lee Yue, 2015). *Studi in vitro* menunjukkan kehadiran tumeron dapat meningkatkan akumulasi kurkumin dalam epitel sel usus. Hasil tersebut sesuai dengan studi klinis baru baru ini dimana Relawan mengonsumsi kurkumin bersama dengan komponen non-kurkuminoid kunyit (Biocurcumax™, Arjuna Natural Extracts, Always, India). Yang mana, *Bioavailabilitas Biocurcumax* 6 kali lebih tinggi dibandingkan kurkumin biasa. Penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa adanya peran masing-masing *Ar Tumeron* dalam transportasi kurkumin. Didapatkan hasil penelitian tersebut bahwa *Ar Tumeron* yang diisolasi dari ekstrak kunyit mampu memodulasi penyerapan kurkumin dalam sel CaCo₂ (Grace G.L. yue, 2012).

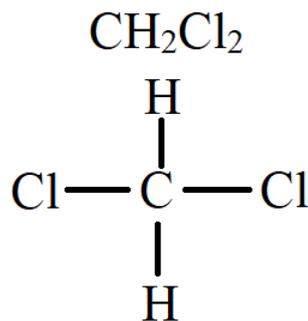
2.4 Pembuatan Ekstrak dan Pemisahan Senyawa Turmeron

2.4.1 Maserasi

Maserasi merupakan proses pengekstrakan bahan baik berbentuk bubuk kasar, daun, kulit batang, atau kulit akar yang menggunakan suatu media toples besar, dimana kertas saring ditempatkan diatas toples yang terbuka, kemudian pelarut dituangkan hingga seluruh bahan tercampur, kemudian ketika proses telah selesai wadah ditutup dan disimpan selama 24 jam atau setidaknya paling lama selama tiga hari. Untuk memastikan agar ekstraksi berjalan dengan sempurna dilakukan pengocokan wadah tersebut dari waktu ke waktu. (Haque, 2020). Maserasi juga merupakan suatu metode ekstraksi yang biasa dilakukan dengan cara mencampur suatu sampel bubuk tanaman dengan pelarut yang sesuai dalam suatu media inert yang ditutup rapat pada suhu kamar. Metode tersebut dapat menghindari resiko rusaknya senyawa-senyawa dalam tanaman yang termolabil. (Deny Romadhon Badaring, 2020).

Faktor yang perlu diperhatikan dalam proses maserasi ialah suhu yang dimana ketika meningkatnya suatu suhu maka kelarutan zat aktif sampel juga akan meningkat seiring dengan

pertambahan suhunya. Dan faktor lain yang dapat mempengaruhi proses maserasi yakni lamanya waktu maserasi yang dilakukan dimana jumlah sel yang pecah dan bahan aktif yang terlarut akan semakin banyak apabila semakin lama waktu berkontak dengan pelarut akan berlanjut sampai kondisi kesetimbangan terpenuhi. (Sarah Chairunnisa, 2019). Pelarut yang digunakan untuk penelitian ini ialah pelarut jenis *diklorometana* dengan titik didih 39,6°C. *diklorometana* sendiri merupakan senyawa organik yang mempunyai rumus kimia CH₂Cl₂, Dengan ciri khas yang tidak berwarna, tidak dapat larut sempurna terhadap air, namun dapat larut dengan pelarut organik lainnya dan beraroma manis. Struktur *diklorometana* ditampilkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2. 2 Struktur kimia *diklorometana* (Nafis, 2016)

2.4.2 Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Kromatografi cair vakum merupakan metode yang pertama kali dilakukan untuk pemisahan di terpen di Australia. Kromatografi cair vakum dianggap sebagai *preparative thin layer chromatography (PTLC)* karena pemisahan dilakukan pada silika gel atau alumina TLC dan kolom dikeringkan setelah melakukan fraksinasi seperti pada pelat TLC dan dijalankan kembali untuk melakukan pemisahan senyawa dengan sempurna. (Anupam Maurya, 2018). Kromatografi cair vakum merupakan metode fraksinasi dengan cara melakukan pemisahan larutan menggunakan perbandingan pelarut dan kerapatan dengan bahan kolom. Prinsip dari metode ini ialah pemisahan dengan adsorpsi dan distribusi yang dipercepat dengan pompa vakum, dengan menggunakan tekanan rendah untuk meningkatkan laju aliran fase gerak. Dimana kolom diserap secara bertahap ke dalam wadah penampung fraksi sampai kering dengan memvakumkannya. (I. Ahmad, 2017). Dalam prosesnya kolom diaspirasi secara perlahan pada tekanan rendah yang dapat berkontribusi terhadap peningkatan laju aliran fase gerak. Metode pemisahan senyawa ini sering digunakan dalam proses fraksinasi kasar dari bahan yang diperoleh dari hasil ekstraksi. (Anupam Maurya, 2018).

2.5 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer merupakan suatu komponen yang bekerja untuk menganalisa transmittan atau absorban suatu fungsi panjang gelombang dari suatu sampel. (Bambang Yudono, 2017). istilah absorbansi ialah penyerapan oleh larutan baik larutan baku maupun blanko terhadap daya radiasi sinar, sedangkan Transmittan merupakan penerusan daya radiasi sinar yang keluar dari kuvet dan daya radiasi sinar yang masuk ke dalam kuvet. kuvet adalah media untuk meletakkan larutan (larutan blanko maupun larutan baku), sedangkan *Drive cell* merupakan wadah untuk menempatkan kuvet. (Bambang Yudono, 2017). Spektrofotometri UV-Vis adalah salah satu metode yang menggunakan panjang gelombang UV dan cahaya tampak sebagai rentang

serapan untuk mendeteksi senyawa. Senyawa yang dapat diidentifikasi oleh spektrofotometri UV-Vis secara umum ialah senyawa yang terdapat gugus kromofor dan auksokrom. (Muhamad Handoyo Sahumena, 2020).

Panjang gelombang sinar ultraviolet yang digunakan sekitar (200 – 400) nm dan panjang gelombang sinar tampak yang digunakan sebesar (400 – 800) nm, dengan masing – masing *energy* sekitar 40 – 1,8 eV yang dapat membuat elektron berpindah dari kulit terluar menuju kulit yang mempunyai tingkat energi yang lebih tinggi. (afandi, 2018).

Tugas utama spektrofotometer ialah sebagai pengukur absorbansi atau transmitansi suatu sampel dalam bentuk panjang gelombang. Yang dimana mekanismenya cahaya dari sumber UV-Vis dilewatkan melewati monokromator untuk mengisolasi kelompok panjang gelombang tertentu, kemudian dilewatkan melalui analit dimana panjang gelombang tertentu diserap, dan akhirnya cahaya dapat mencapai detektor seperti pada Gambar 2.2. komponen utama dari spektrofotometer yakni sumber cahaya, monokromator, *sample holding cell*, detektor radiasi. (Munjanja & Sanganyado, 2015).

2.5.1 Komponen Instrumen

2.5.1.1 Sumber Cahaya

Sumber cahaya yang biasa digunakan ialah lampu deuterium dan lampu tungsten-halogen. Lampu deuterium memberikan cahaya pada wilayah UV dengan spektrum elektromagnetik dari 160 hingga 375 nm, dan lampu tungsten memberikan cahaya pada wilayah Vis dengan spektrum elektromagnetik dari 350 nm hingga 2500 nm. Keduanya juga digunakan dalam spektroskopi inframerah dekat. Sumber cahaya tersebut paling cocok diaplikasikan pada kuvet kuarsa karena kuvet kaca menyerap panjang gelombang. (Munjanja & Sanganyado, 2015).

2.5.1.2 Detektor

Detektor pada dasarnya mengubah sumber energi cahaya menjadi energi listrik. Dalam praktiknya, detektor yang baik harus memberikan linearitas yang tinggi dan sensitivitas yang tinggi juga pada rentang yang lebih luas. Tabung pengganda foto atau tabung fotodiode merupakan contoh aplikasi dari detektor. (Munjanja & Sanganyado, 2015).

2.5.1.3 Monokromator

Monokromator bertindak sebagai cahaya yang tersebar. Perlu diingat bahwa cahaya tersebar tergantung pada panjang gelombangnya. Monokromator sendiri mencakup celah masuk, dispersan, dan celah keluar. Panjang gelombang yang keluar dari monokromator ialah panjang gelombang, sehingga dikenal sebagai "monaural". Hal tersebut mengurangi penyimpangan optik. (Munjanja & Sanganyado, 2015).

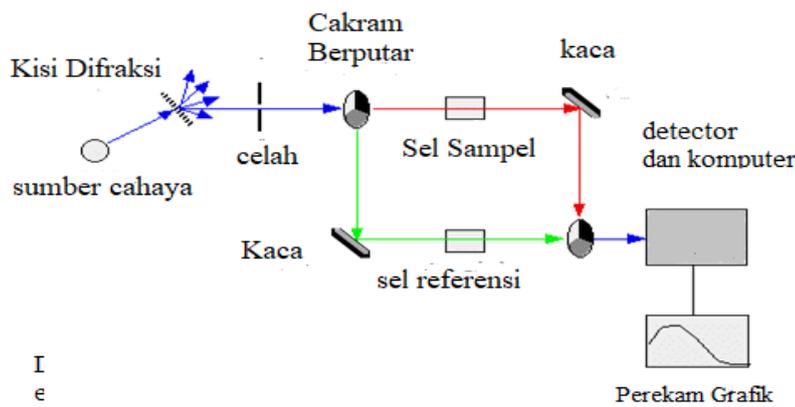
2.5.2 Mekanisme Spektrofotometri UV-Vis

Seperti pada Gambar 2.2 dimana sumber sinar berasal dari kombinasi antara lampu deuterium untuk mendapatkan spektrum UV-Vis dan lampu tungsten untuk mendapatkan cahaya tampak. kemudian, difokuskan pada kisi difraksi. kemudian celah tersebut hanya menerima rentang panjang gelombang cahaya yang sangat sempit dan mentransmisikannya ke spektrofotometer, sehingga berkas cahaya dari kisi dan celah difraksi mengenai plat yang berputar. (Humaira, 2011). sehingga satu dari tiga peristiwa berikut dapat terjadi:

1. Mekanisme ketika cahaya melewati bagian transparan, sinar akan menuju langsung dan melewati sel yang berisi sampel. setelah itu, dipantulkan dari cermin ke plat berputar kedua, pelat tersebut akan berputar jika seberkas cahaya dari pelat pertama

menyinari pelat tersebut. kemudian seberkas cahaya akan mengenai cermin pada pelat kedua dan dipantulkan ke detektor, dan mengikuti jalur merah pada gambar di atas. (Humaira, 2011)

2. mekanisme apabila berkas cahaya asli dari celah mengenai cermin pelat berputar pertama, berkas tersebut dipantulkan sepanjang jalur hijau. setelah, cermin sinar melewati sel referensi. hingga cahaya mencapai pelat berputar kedua, mengenai bagian transparan dan melewati detektor. (Humaira, 2011)
3. Ketika cahaya mengenai bagian hitam pelat pertama, cahaya tersebut terhalang untuk sementara dan tidak ada cahaya yang melewati spektrometer. Karena tidak ada cahaya yang masuk, komputer memproses listrik yang dihasilkan oleh detektor. (Humaira, 2011).



Gambar 2. 3 Mekanisme Spektrofotometri UV-Vis

2.5.3 Transmittansi dan Absorbansi

Transmittansi ialah rasio intensitas cahaya yang ditransmisikan oleh sampel dengan intensitas referensi. (Jumardin, 2021). Transmittansi juga dapat diartikan sebagai rasio radiasi listrik dan elektromagnetik yang meninggalkan sampel, P_T , dengan radiasi listrik dan elektromagnetik yang masuk ke sampel dari sumbernya, P_0 ,

$$T = \frac{P_T}{P_0} \quad 2.1$$

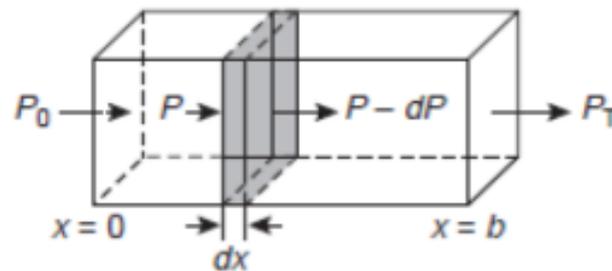
Mengalikan transmittansi dengan 100 menghasilkan persen transmittansi (%T), yang bervariasi antara 100% (tanpa penyerapan) dan 0% (penyerapan lengkap). Redaman radiasi saat melewati sampel menuju ke suatu transmittansi kurang dari 1. Sebagaimana dijelaskan oleh persamaan 2.1.

Absorbansi merupakan satuan yang lebih umum untuk menunjukkan peluruhan radiasi karena merupakan fungsi linier dari konsentrasi analit, seperti yang ditunjukkan pada bagian selanjutnya. Juga merupakan cara lain untuk mengekspresikan redaman elektromagnetik radiasi ialah absorbansi, A , yang didefinisikan sebagai :

$$A = -\log T = -\log T \frac{P_0}{P_T} = \log \frac{P_0}{P_T} \quad 2.2$$

Dimana P_0 adalah daya sinar yang berasal dari sumber, P_T adalah daya sinar yang ditransmisikan oleh sampel. Persamaan diatas mempunyai konsekuensi penting terhadap serapan atom. Karena sempitnya ukuran celah serapan atom, sumber radiasi kontinu tidak dapat digunakan. meskipun dengan monokromator yang berkualitas sekalipun, bandwidth efektif

sumber kontinyu adalah 100 hingga 1000 kali lebih besar daripada bandwidth efektif serapan atom. Sehingga, radiasi diserap dengan cara tidak sempurna oleh sumber kontinyu ($P_0 \gg P_T$) dan serapan terukur hampir nol. Karena serapan tersebut, atom memerlukan sumber garis. (Bambang Yudono, 2017) Persamaan (2.2) berasal dari hukum Lambert – beer yang merupakan representasi umum dalam analisis spektroskopi.



Gambar 2. 4 komponen yang digunakan untuk penurunan hukum Lambert Beer. (Bambang Yudono, 2017).

Berdasarkan Gambar 2.3 apabila radiasi elektromagnetik monokromatik melalui sebuah material sampel yang sangat tipis, dengan ketebalan dx , maka akan mengalami penurunan daya dP . Yang dimana penurunannya akan sebanding dengan ketebalan sampel dan konsentrasi analit, C maka

$$\frac{-dP}{P} = \alpha C dx \quad 2.3$$

Di mana P merupakan daya yang menumbuk pada lapisan tipis sampel, dan termasuk konstanta perbandingan. Pengintegrasian ruas kiri dari $P = P_0$ ke $P = P_T$ dan ruas kanan dari $x=0$ ke $x=b$, dimana b merupakan ketebalan total sampel

$$\int_{P=P_0}^{P=P_T} \frac{dP}{P} = \alpha C \int_{x=0}^{x=b} dx \quad 2.4$$

$$\ln\left(\frac{P_0}{P_T}\right) = \alpha b C \quad 2.5$$

$$\log\left(\frac{P_0}{P_T}\right) = \alpha b C \quad 2.6$$

Kemudian substitusi dengan A , menjadi

$$A = \alpha b C \quad 2.7$$

Yang mana α ialah absorbtivitas analit dengan satuan $\text{cm}^{-1} \text{conc}^{-1}$. Ketika konsentrasi dinyatakan dalam molaritas, absorbtivitas digantikan dengan absorbtivitas molar.

$$A = \epsilon b C \quad 2.8$$

Nilai α dan ϵ tergantung pada Panjang gelombang radiasi elektromagnetik, karena absorbtivitas dan absorbtivitas molar merupakan tetapan penyerapan yang spesifik dari analit terhadap energi foton yang diberikan. (Bambang Yudono, 2017).

2.6 Photodynamic Therapy (PDT)

Photodynamic therapy ialah metode terapi menggunakan cahaya untuk berbagai penyakit di bidang dermatologi yang dikenal sejak peradaban kuno. Photodynamic therapy juga merupakan bentuk terapi modern yang non-invasif yang diterapkan terhadap penyakit non-

onkologi serta berbagai jenis kanker. Konsep ini diawali oleh Oscar Raab dari kelompok *Tappeiner* dimana menggunakan *eosin* bersama cahaya untuk mengobati kanker kulit. (Il Yoon, 2013). *Photodynamic therapy* didasari oleh prinsip interaksi dinamis antara photosensitizer, cahaya dengan panjang gelombang, dan molekul oksigen yang mendukung penghancuran selektif suatu jaringan target. Dimana dengan pemberian *photosensitizer* secara selektif terakumulasi pada jaringan tumor yang dibarengi dengan suatu pancaran cahaya dengan panjang gelombang yang disesuaikan umumnya spektral merah yakni sekitar $\lambda \geq 600\text{nm}$. (Fitzgerald, F., 2017).

Photodynamic therapy juga merupakan suatu inovasi dalam terapi kanker dengan memanfaatkan interaksi antara Cahaya dan photosensitizer untuk menghasilkan suatu spesies oksigen reaktif yang dapat merusak sel kanker secara selektif. Yang dimana, photosensitizer akan diserap oleh sel kanker, kemudian setelah terpapar Cahaya dengan panjang gelombang tertentu akan terjadi suatu reaksi fotokimia yang menghasilkan oksigen singlet, yang mengakibatkan kerusakan atau penghambatan suatu sel kanker. (Dougherty et al, 1998). *Photodynamic therapy* juga mel *Photodynamic therapy* sendiri telah terbukti begitu efektif dalam mengobati berbagai jenis kanker dan terus berkembang hingga terjadi peningkatan efisiensi dan selektivitasnya. pembentukan Reactive Oxygen Species (ROS) merupakan langkah kunci yang terjadi setelah photosensitizer teraktivasi oleh cahaya. Ketika photosensitizer menyerap foton cahaya dengan panjang gelombang tertentu, ia berpindah dari keadaan dasar ke keadaan tereksitasi. Dalam keadaan tereksitasi ini, photosensitizer dapat mengalami dua jalur reaksi utama: proses reaksi tipe I dan tipe II. Pada reaksi tipe I, photosensitizer berinteraksi dengan molekul di sekitarnya, menghasilkan radikal bebas seperti superoksida dan hidrogen peroksida melalui transfer elektron atau hidrogen. Sementara itu, pada reaksi tipe II, photosensitizer yang berada dalam keadaan triplet dapat berinteraksi dengan oksigen molekuler, menghasilkan oksigen singlet ($^1\text{O}_2$), yang merupakan spesies oksigen reaktif yang sangat reaktif dan berpotensi merusak sel kanker. Proses pembentukan ROS ini berkontribusi pada kerusakan seluler yang menyebabkan kematian sel kanker secara selektif. (Agostinis et al., 2011; Kessel & Luo, 2003).

2.6.1 Mekanisme Reaksi *Photodynamic* Tipe I

Dalam reaksi tipe I, PS berinteraksi dengan biomolekul (atau oksigen), mengakibatkan transfer atom hidrogen (atau elektron) dan pembentukan radikal bebas. (Il Yoon, 2013). Dimana mekanismenya dalam keadaan triplet tereksitasi T1, fotosensitizer dapat mentransfer energi dari lingkungannya ke biomolekul. Hidrogen dan elektron ditransfer antara fotosensitizer dan jaringan kanker (substrat) masing-masing dalam keadaan T1, menghasilkan pembentukan radikal bebas dan radikal anion dari fotosensitizer dan substrat. Elektron berinteraksi dengan molekul oksigen, yang tetap berada dalam keadaan dasar energiknya. Proses ini mengarah pada pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS), awalnya dalam bentuk radikal anion superoksida ($\text{O}_2 \bullet^-$), yang kemudian mengarah pada pembentukan ROS lebih lanjut di dalam sel. Rangkaian reaksi yang diinduksi menyebabkan stres oksidatif, yang menyebabkan kehancuran sel kanker. (Kwiatkowskia, 2018).

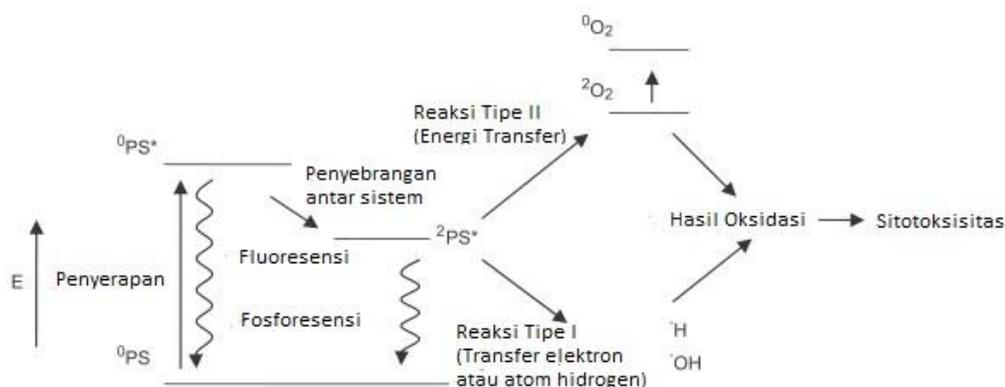
mekanismenya setelah molekul *Ar Tumeron* memasuki keadaan singlet tereksitasi setelah menyerap energi cahaya. Molekul ini dapat bertransisi ke keadaan tereksitasi triplet melalui proses persilangan antarsistem. Keadaan triplet ini lebih stabil dan memiliki masa pakai lebih lama dibandingkan keadaan singlet, sehingga memungkinkan interaksi lebih lanjut dengan molekul oksigen di sekitarnya. Dalam keadaan tereksitasi triplet, molekul *Ar Tumeron* dapat

mentransfer energinya ke molekul oksigen di sekitarnya, yang biasanya berada dalam keadaan triplet (dasar). Transfer energi ini mengubah oksigen dari keadaan triplet ke keadaan singlet, menghasilkan oksigen singlet, yang membentuk oksigen aktif.

2.6.2 Mekanisme Reaksi *Photodynamic Tipe II*

Dengan mentransisikan fotosensitizer ke keadaan tereksitasi triplet, energi ditransfer langsung ke molekul oksigen dalam keadaan dasar energik (keadaan triplet dasar). Perpindahan energi langsung antar molekul ($PS \rightarrow O_2$) dimungkinkan karena putarannya sama. Dengan cara ini, partikel oksigen tereksitasi (disebut oksigen singlet) diproduksi di dalam sel atau jaringan yang terpapar cahaya dan mengandung fotosensitizer, yang dicirikan oleh sifat pengoksidasi yang sangat kuat. Sebagian besar senyawa organik berada dalam keadaan dasar singlet. Namun, molekul oksigen dicirikan oleh keadaan triplet (sebagai basa) dan eksitasi menjadi singlet. Oleh karena itu, partikel fotosensitizer yang tereksitasi tidak merusak struktur sel organik dan hanya bereaksi dengan molekul oksigen yang terlarut dalam sitoplasma. Mekanisme tipe II dianggap sebagai proses utama yang mempengaruhi efisiensi *photodynamic therapy*. Namun, kontribusi kedua mekanisme tersebut bergantung pada banyak faktor, termasuk konsentrasi oksigen, konstanta dielektrik jaringan, pH, dan struktur fotosensitizer. Ketika oksigen habis, mekanisme pertama akan bekerja. Kontribusi timbal balik dari berbagai jenis kematian sel bergantung pada lokasi fotosensitizer intraseluler. Kerusakan mitokondria dapat menyebabkan apoptosis, kerusakan membran sel dan hilangnya integritas dapat menyebabkan nekrosis, dan kerusakan retikulum lisosom atau endoplasma dapat menyebabkan *autophagy*. (Kwiatkowska, 2018).

2.6.3 Diagram Jablonski



Gambar 2. 5 Diagram Jablonski mengenai proses yang terjadi pada Photodynamic Therapy (Donnelly, 2008)

Berdasarkan diagram Jablonski pada Gambar 2.3 diketahui proses *photodynamic therapy* berasal dari interaksi antara foton cahaya tampak, dengan panjang gelombang yang sesuai, dan dengan konsentrasi molekul fotosensitizer. Dimana fotosensitizer mempunyai konfigurasi elektron yang sangat stabil atau dalam keadaan singlet pada tingkat energi terendah (0PS). Yang berarti tidak terdapat spin elektron yang tidak berpasangan. kemudian, terjadi penyerapan foton cahaya dengan panjang gelombang tertentu yang mengakibatkan suatu molekul dipromosikan ke keadaan tereksitasi ($^0PS^*$), yang juga merupakan keadaan singlet dan berumur pendek dengan waktu paruh antara 10^{-6} dan 10^{-9} s. Kemudian, fotosensitizer kembali ke keadaan semula atau dasar sambil memancarkan foton sebagai energi cahaya atau melalui proses Fluoresensi (dimana adanya konversi internal dengan energi yang hilang sebagai panas). lalu, molekul

berubah menjadi keadaan triplet ($^2PS^*$). Konversi tersebut terjadi melalui persilangan antarsistem yang melibatkan perubahan putaran elektron. Fotosensitizer keadaan triplet memiliki tingkat energi yang rendah dibandingkan dengan keadaan singlet tetapi memiliki waktu masa pakai lebih lama. Kemudian terdapat proses reaksi tipe 1 dimana sensitizer keadaan singlet dapat berinteraksi dengan molekul disekitarnya. Dan juga terdapat proses reaksi tipe 2 dimana sensitizer keadaan triple berinteraksi dengan lingkungannya. jenis reaksi sebelumnya mengarah pada produksi radikal bebas atau ion radikal, dengan transfer hidrogen atau elektron. didapatkan spesies oksigen yang sangat reaktif seperti anion superoksida dan peroksida yang didapat setelah berinteraksi dengan oksigen, yang kemudian menyerang target seluler. Reaksi tipe 1 tidak sering membutuhkan oksigen dan mengakibatkan kerusakan sel secara langsung, melalui peristiwa aksi radikal bebas yang mungkin termasuk radikal sensitizer. Sedangkan reaksi tipe 2 membutuhkan mekanisme transfer energi dari sensitizer keadaan triple menuju oksigen molekuler yang berada pada keadaan dasar triplet (2O_2). Walaupun memiliki masa hidup yang singkat sekitar 10^{-6} detik, konsentrasi oksigen singlet yang sangat sitotoksik (1O_2), diproduksi dalam jumlah yang cukup untuk menginduksi kerusakan sel yang ireversibel. (Donnelly, 2008).

2.7 *Microtetrazolium* (MTT)

Microtetrazolium mempunyai prinsip pengukuran kolorimetri dimana didasari oleh pembentukan garam formazan yang berwarna ungu yang tidak larut melalui reaksi reduksi tetrazolium yang larut dalam air, sehingga menghasilkan larutan berwarna kuning. Reagen MTT hanya akan bereaksi dengan sel hidup dan terdegradasi menjadi formazan melalui reaksi reduksi sistem *tetrazolium suksinat reduktase* (Laela Hayu Nurani, 2015). Metode ini juga banyak digunakan untuk mengetahui potensi aktivitas bahan alam dimana dengan membaca serapan formazan yang dihasilkan dengan *ELISA reader* dan hasil yang didapat digunakan untuk menentukan nilai IC50. (Hermansyah Amir, 2017).

Uji sitotoksitas dilakukan untuk mengetahui nilai *inhibition concentration 50* (IC50) dan uji proliferasi untuk mengetahui nilai waktu penggandaan dilakukan dengan menggunakan metode *microtetrazolium* yang juga merupakan metode kolorimetri yang sensitif, kuantitatif, dan andal untuk mengukur viabilitas, proliferasi, dan aktivitas sel. Dasar dari uji MTT ialah mengukur kemampuan sel hidup menggunakan aktivitas mitokondria sel yang dikultur. (Eka mustika wati, 2016).

BAB 3 METODOLOGI

3.1 Metode yang digunakan

Pengujian data dilakukan di Laboratorium Fisika Medis dan Laboratorium Kimia Basah Institut Teknologi Sepuluh Nopember, dan Laboratory of STEM Cells, Institute of Tropical Disease UNAIR, Surabaya, Jawa Timur. Pengambilan data dilakukan dengan 6 tahapan yakni :

- Tahap 1 : Persiapan pengekstrakan bahan kunyit dimulai dengan mengupas bagian kulit. Kemudian bagian daging kunyit di potong tipis tipis dan dijemur di bawah sinar matahari. Setelah itu dilakukan penumbukan pada bagian daging kunyit yang telah kering hingga menjadi bubuk halus. Kemudian, dilakukan juga pada bagian kulit kunyit yang sudah kering hingga menjadi bubuk halus.
- Tahap 2 : Pembuatan ekstrak kunyit dengan proses maserasi pada 25 gram daging kunyit yang telah kering dan 25 gram kulit kunyit. Dilakukan maserasi selama 24 jam dengan pelarut *diklorometana* 250mL atau dengan perbandingan (1:5). Setelah itu, di maserasi ulang 1x dan dilakukan proses evaporasi dengan suhu ruang.
- Tahap 4 : Proses pemurnian senyawa turmeron dengan metode kromatografi cair vakum. Proses ini membutuhkan bubuk kunyit sebanyak 25 gram, bubuk silica 60H sebagai tempat pemisahan atau fase diam, dan Metanol, Nh, dan etil asetat sebagai eluen atau fase gerak. Apabila komponen telah tersusun, proses KCV dilakukan menggunakan pelarut *diklorometana* sebanyak 75ml dituangkan dan dilakukan proses yang sama hingga larutan yang menetes jernih dan tidak berwarna.
- Tahap 5 : Mengidentifikasi senyawa turmeron dalam kunyit dilakukan menggunakan Spektrofotometer UV-Visible tipe 1280. Proses ini dilakukan dengan residu kental 2.5 gram yang dilarutkan dengan *diklorometana* 25 ml. setelah itu, larutan di masukkan ke dalam cuvet sebanyak 0.1 mL. pengujian ini menggunakan rentang panjang gelombang 300nm – 700nm dengan referensi panjang gelombang 410nm. Hasil yang didapatkan berupa panjang gelombang dan nilai absorbansi yang kemudian dibuat grafik yang menunjukkan letak adanya senyawa *ar-turmerone*.
- Tahap 6 : Proses ini dilakukan pengujian *Microtetrazolium (MTT)* pada senyawa turmerone dengan jenis kanker darah (CCRF-CEM). Pengujian dilakukan di *Laboratory of STEM Cells, Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga. Senyawa turmeron yang telah sebelumnya diuji dengan pelarut *diklorometana* akan dicampur dengan etanol dan ditempatkan dalam plate-96 untuk subjek pengujian menggunakan larutan MTT, serta akan disinari dengan panjang gelombang 250-350nm.

Tabel 3. 1 Variabel penelitian

Variabel Independen	1. Kunyit 2. Kanker Darah
Variabel Dependen	1. <i>Diklorometana</i> 2. Etil Asetat 3. Nh
Variabel Kontrol	1. Panjang gelombang 2. Suhu evaporasi

3.2 Bahan dan peralatan yang digunakan

Adapun alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

3.2.1. Alat

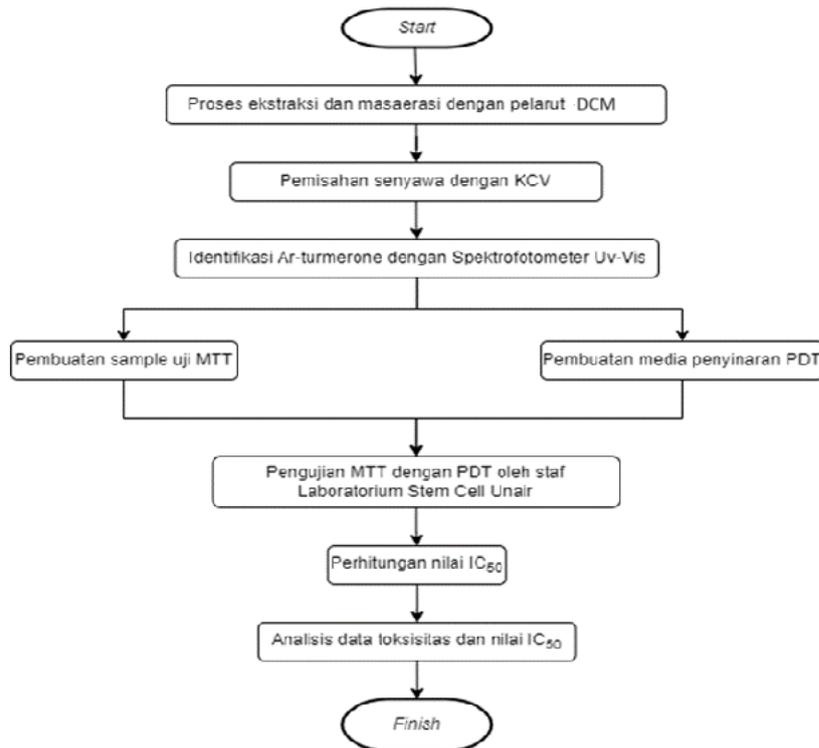
Alat – alat yang dibutuhkan selama penelitian ini ialah pisau untuk mengupas kulit kunyit dan mengiris setipis mungkin bagian daging kunyit. Neraca digital analitik untuk mengukur massa bubuk kunyit. Alu dan mortar untuk menghaluskan kulit kunyit dan daging kunyit yang telah kering. Wadah toples 1000 mL sebagai media maserasi kunyit dengan pelarut *diklorometana*. Gelas ukur untuk mengukur jumlah pelarut yang digunakan. Kertas saring digunakan untuk menyaring larutan. 2 botol vial 5 mL untuk menyimpan hasil evaporasi. Satu set alat kromatografi cair vakum (KCV) untuk pemisahan dan pemurnian senyawa ar-turmeron. Pipet ukur untuk memindahkan larutan dengan jumlah ukuran yang tepat. Spektrofotometer UV-Vis untuk identifikasi senyawa turmeron pada curcumin. Rangkaian LED digunakan untuk penyinaran sample uji kanker.

3.2.2. Bahan

Bahan yang dibutuhkan selama penelitian ini diantaranya kunyit. *Diklorometana* sebagai larutan ekstraksi kunyit dalam proses maserasi dan karakterisasi. Metanol, Nh, dan etil asetat sebagai eluen atau fase bergerak dalam Kromatografi Cair Vakum. Bubuk silika 60 H sebagai fase diam dalam proses kromatografi. Bahan yang digunakan dalam metode MTT adalah sel kanker darah sebagai pengujian aktivitas. Pelarut etanol digunakan sebagai pengencer untuk sampel uji terhadap sel kanker dan larutan uji MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2y1)2,5 diphenylnetrazolium bromide) 5 mg MI^{-1} dalam FBS dan tripsin.

3.3 Urutan pelaksanaan penelitian

Adapun tahapan pelaksanaan penelitian ditunjukkan oleh Gambar 3.1



Gambar 3. 1 Diagram alir penelitian

Langkah kerja penelitian ini diuraikan sebagai berikut:

3.3.1 Persiapan Ekstrak Kunyit

Penelitian ini dimulai dengan menyiapkan ± 2 kg kunyit yang kemudian dilakukan pengupasan terhadap kulit kunyit dan dipisahkan hingga kunyit dipotong sebisa mungkin tipis agar ketika proses penjemuran kunyit tidak membutuhkan waktu yang lama untuk mengurangi kadar air dari kunyit tersebut sehingga mempercepat ekstraksi atau menjadi kering. Kemudian dilakukan proses penumbukan apabila kunyit sudah benar – benar kering hingga halus dan ditimbang.



Gambar 3. 2 Bahan kunyit yang sudah siap dijadikan Ekstrak

3.3.2 Pembuatan Ekstrak Kunyit dengan Pelarut *Diklorometana*

50 gram bahan kunyit yang telah halus dilakukan proses maserasi seperti Gambar 3.3 dengan pelarut DCM (*diklorometana*) sebanyak 250 ml kemudian dibiarkan selama 1 kali 24 jam dengan suhu ruang dan dilakukan proses maserasi yang kedua. Setelah itu, ampas yang didapat dilakukan remaserasi sebanyak 1 kali dengan perbandingan yang sama. Ekstrak dilakukan penyaringan ulang dengan kertas saring. Sehingga hasil ekstrak yang didapat dilakukan ke proses selanjutnya. Kemudian dilakukan evaporasi dengan suhu ruang.



Gambar 3. 3 Proses maserasi (pembuatan ekstraksi) dengan pelarut *diklorometana*

3.3.3 Proses Pemisahan Senyawa Turmeron dengan Kromatografi Cair Vakum (KCV) dan Uji Plat KLT

Kromatografi cair vakum (KCV) merupakan metode kromatografi kolom yang digunakan khususnya untuk fraksinasi kasar yang cepat terhadap suatu ekstrak. Metode ini umumnya digunakan untuk memisahkan komponen-komponen awal dari suatu ekstrak non polar atau ekstrak semipolar. Proses kromatografi cair pada sampel dilakukan menggunakan peralatan KCV yang disusun secara berurutan. Kolom kromatografi diisi dengan sekitar 50 gram bubuk silica 60H, diikuti dengan penyaringan menggunakan pelarut NH sebanyak 50 ml. Sampel residu hasil evaporasi ditambahkan ke dalam kolom kromatografi sebanyak 2,5 gram, yang telah diletakkan di atas kertas saring berbentuk bulat. Selanjutnya, dilakukan penyaringan menggunakan larutan etil asetat sebanyak 75 ml. Labu erlenmeyer steril disiapkan untuk proses KCV dengan pelarut *diklorometana* sebanyak 75 ml, yang akan diulang hingga hasil penyaringan tidak lagi berwarna. Setiap hasil penyaringan disimpan dalam botol reagen. Proses kromatografi cair vakum ini diulang sebanyak 12 kali dengan waktu sekitar 6 jam untuk setiap siklusnya. Hasil larutan yang telah dimurnikan kemudian dapat dianalisis lebih lanjut.



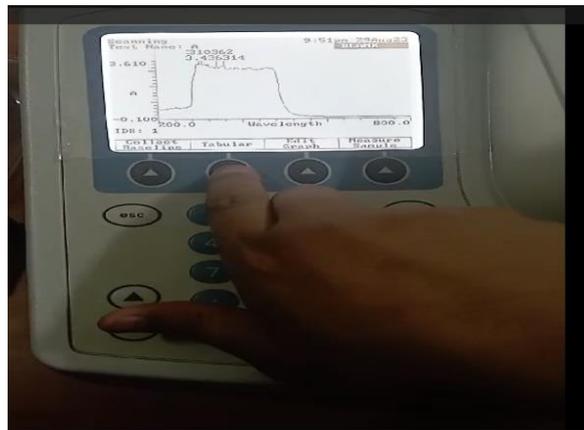
Gambar 3. 4 Proses pemisahan senyawa ar-turmerone dengan metode KCV

3.3.4 Proses Karakterisasi Turmerone dengan Metode Spektrofotometer UV-Visible

Karakterisasi senyawa turmeron menggunakan Spektrofotometer UV-Vis bertujuan untuk menemukan panjang gelombang maksimum dan puncak spektrum absorpsi UV-Vis dari pigmen ar-turmeron, serta untuk mengidentifikasi komponen-komponen utama penyusun pigmen turmeron. Pengujian UV-Visible pada residu hasil evaporasi dilakukan dengan menyiapkan 2,5 gram sampel ekstrak dan 25 ml pelarut *diklorometana*. Keduanya dicampurkan, diencerkan, dan diambil 0,1 ml dari larutan yang dihasilkan untuk dimasukkan ke dalam cuvet. Jumlah larutan yang digunakan dihitung berdasarkan perhitungan pembagian yang telah ditentukan sebelumnya.

$$\frac{2,5 \text{ gram ekstrak}}{25 \text{ ml pelarut}} = 0,1 \text{ ml}$$

Proses pengujian sampel dengan Spektrofotometer dilakukan dengan menempatkan cuvet pada posisi sample nomor 1. Selain itu, cuvet blanko yang berisi larutan *diklorometana* disiapkan sebagai pengoreksi untuk mengukur absorbansi senyawa kimia yang akan diuji. Pastikan bahwa permukaan halus cuvet steril sebelum penggunaan. Pengujian *Ar Turmeron* dengan spektrofotometer UV-Visible dilakukan dengan rentang panjang gelombang antara 200 nm hingga 700 nm. Referensi panjang gelombang mengacu pada panjang gelombang maksimum dari arturmeron utama yang bernilai sebesar 237 nm. (Liu, 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Sofyan et al. (2018) menunjukkan bahwa kurkumin menunjukkan serapan intens pada panjang gelombang tampak yang berkisar antara 420 hingga 580 nm. Semua panjang gelombang dan nilai absorbansi dicatat untuk analisis lebih lanjut.



Gambar 3. 5 Pembacaan output panjang gelombang dari alat Spektrofotometer UV-Vis

3.3.5 Uji Aktivitas Anti Kanker Metode Microtetrazolium (MTT)

Larutan uji disiapkan dengan menggunakan ekstrak kasar turmeric yang telah melalui proses KCV dan kemudian dilarutkan kembali. Larutan ekstrak yang mengering karena penguapan ditambahkan kembali dengan pelarut etanol dalam konsentrasi 0.1 ml dengan konsentrasi 100ppm. Larutan uji yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam vial snap dan sampel dikirimkan ke laboratorium UNAIR. Selanjutnya, pembuatan media penyinaran dengan bahan akrilik dan lampu LED berwarna ungu dengan panjang gelombang 410-420 nm seperti pada Gambar 3.6.



Gambar 3. 6 Rangkaian Penyinaran photodynamic therapy

Selanjutnya, pengujian MTT dilakukan oleh laboran *laboratory of STEM Cell Institute of Tropical Disease UNAIR*. Sampel penelitian berupa senyawa *Ar Tumeron*. Sel kanker darah CCRF-CEM dimasukkan kedalam *well plate* untuk diproses inkubasi dengan inkubator selama 24 jam dengan suhu temperatur 36,6°C. Kemudian photosensitizer *Ar Tumeron* ditambahkan kedalam medium kultur. Kemudian, diberikan perlakuan UV dengan disinari dengan Rangkaian LED dengan panjang gelombang 410-420 nm selama 15 menit pada sebuah media akrilik yang telah dibuat dengan suhu 46,8°C. Dimana dengan spesifikasinya baterai 9 volt, LED 3 watt, dan intensitas 400-420 lux. Setelah itu, dilakukan inkubasi kembali selama 24 jam dengan suhu 36,6°C. Setelah itu, dilakukan pengujian dengan menambahkan larutan MTT sebanyak 50 mL disetiap sumuran pada *well plate* yang telah disiapkan oleh laboratorium Universitas Airlangga.

Setelah masa inkubasi selama 4 jam, larutan dalam setiap sumur di pelat mikro dikeluarkan menggunakan pipet. Selanjutnya, sebanyak 50 µL *dimetil sulfoksida* (DMSO) ditambahkan ke dalam setiap sumur dengan diameter kurang dari 2 cm untuk melarutkan kristal formazan yang terbentuk. Kristal formazan ini adalah hasil metabolisme MTT oleh enzim dehidrogenase pada sel hidup, sehingga jumlah kristal formazan yang terbentuk sebanding dengan jumlah sel hidup. Absorbansi larutan kemudian diukur menggunakan spektrofotometer lempeng mikro (*microplate reader*) (Promega™) pada panjang gelombang 450 nm dan 560 nm. Nilai absorbansi yang diukur mencerminkan jumlah formazan yang terbentuk, serta jumlah sel hidup. Hasil absorbansi dari setiap sumur dianalisis untuk menentukan viabilitas sel dan efektivitas perlakuan yang diberikan pada sel. hasil yang didapatkan kemudian dapat diamati dan dihitung menggunakan alat *Promega Glomax Extractor System*. Data persentase kelangsungan hidup sel kemudian dianalisis untuk menentukan nilai IC50.

BAB 4 Hasil dan Pembahasan

4.1 Preparasi Pemisahan Ekstraksi dengan Metode Kromatografi Cair Kolom

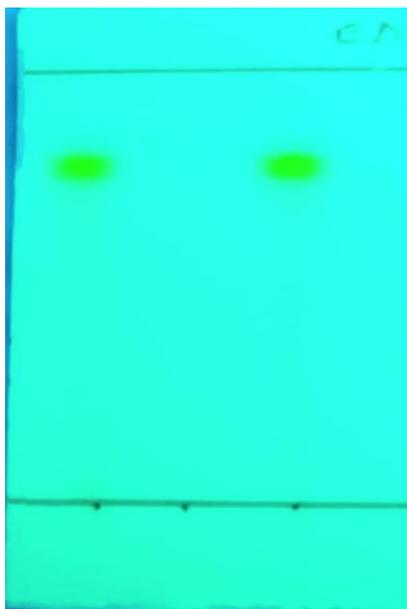
Pada proses ekstraksi digunakan pelarut DCM (*diklorometana*) karena pelarut tersebut memiliki sifat yang cocok untuk ekstraksi senyawa seskuiterpen seperti *Ar Tumeron*. DCM (*diklorometana*) memiliki titik didih yang relatif rendah dan mempunyai sifat yang dapat melarutkan senyawa limfophilik seperti *Ar Tumeron*. Selain itu, DCM (*diklorometana*) juga memiliki sifat yang dapat mengurangi penyerapan cahaya oleh pelarut sehingga meningkatkan akurasi analisis spektrofotometri. Dan juga belum banyak penelitian yang menggunakan pelarut DCM (*diklorometana*) ini, sering dijumpai penggunaan pelarut etanol atau juga metanol. selain itu, ekstrak yang dihasilkan juga lebih pekat yang memudahkan proses identifikasi.

Maserasi dilakukan dengan cara 50 gram bubuk halus dilarutkan dengan pelarut DCM (*diklorometana*) dan dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring dan didiamkan selama 1x24 jam dengan suhu kamar. dan dilakukan proses maserasi yang kedua, ampas yang didapat diproses remaserasi sebanyak 1 kali dengan perbandingan yang sama dengan menggunakan kertas saring dan didiamkan selama 1x24jam dengan temperatur kamar, terlindung dari sinar matahari, sehingga pelarut akan masuk melalui dinding sel hingga menuju ke dalam sel. adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel akan menyebabkan isi sel terlarut. terdapat proses difusi dimana larutan dengan konsentrasi tinggi akan berpindah keluar, kemudian larutan dengan konsentrasi rendah akan menggantikannya. proses tersebut akan terus berjalan hingga terdapat keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam sel dan diluar sel. dan dilakukan proses evaporasi dengan suhu kamar, endapan yang diperoleh dipisahkan. metode ini digunakan karena alat-alat yang diperlukan sederhana dan menggunakan suhu kamar yang efisien yang aman dari suhu panas untuk meminimalisir dari terdegradasinya senyawa-senyawa yang ada didalamnya oleh suhu panas.

Kemudian 2,5 gram residu dari proses ekstraksi dilakukan pemisahan dengan Kromatografi Cair Vakum (KCV), dimana fase diamnya terdiri dari komposisi sebanyak 50 Gram bubuk silika gel 60H dengan eluasi gradien dari pelarut yang kepolarannya rendah (n-heksana) sampai lebih tinggi (etil asetat) didapatkan 12 fraksi. KCV ini digunakan karena waktu yang dibutuhkan realtif singkat dari proses pemisahan yang lainnya dan biaya yang diperlukan relatif murah. kemudian fraksi yang diperoleh diuji menggunakan plat KLT untuk melihat profil dari ekstrak kunyit hasil pemisahan tersebut. dimana terlihat dua noda kekuningan yang menandakan adanya senyawa ar turmeron, sehingga pada identifikasi senyawa ar turmeron dengan Plat KLT yang terlampir pada Gambar 4.1. bahwa dalam ekstrak kulit dan daging kunyit dengan pelarut DCM (*diklorometana*) terkandung senyawa ar turmeron. Berdasarkan Tabel 4.1. maka terbukti ekstrak kunyit dengan pelarut DCM (*diklorometana*) mengandung *Ar Tumeron*.

Tabel 4. 1 Hasil Pengujian GCMS Sampel Ekstrak Kunyit

Komponen	<i>Ar Tumeron</i> (%)	Tumeron (%)
Daging Kunyit	16,78	17,76
Kulit Kunyit	17,01	15,12

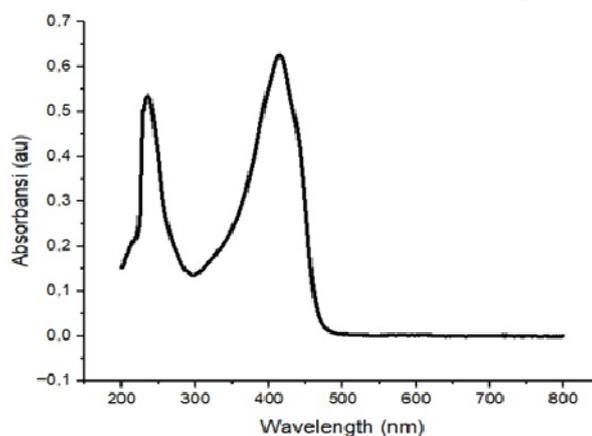


Gambar 4. 1 Profil KLT ekstrak kunyit yang telah dilakukan pemisahan KCV

4.2 Analisis Spektrofotometer UV-VIS

4.2.1 Analisis Spektrum UV-VIS

Dalam pengujian dengan spektrofotometer UV-Visibel sampel yang digunakan ialah sampel ekstrak dengan maserasi pertama yang kemudian dilakukan analisis *Ar Tumeron* menggunakan spektrofotometer UV-Visibel untuk mengukur sifat spektral dan konsentrasi senyawa dalam larutan. Yang membedakan pelarut DCM (*diklorometana*) dengan pelarut lain yaitu pada pelarut DCM (*diklorometana*) terdapat dua puncak pada hasil UV-Visibel. Metode UV-Visibel dipilih karena keandalannya dalam mendeteksi senyawa dengan sistem ikatan rangkap terkonjugasi atau struktur aromatik yang kompleks, seperti *Ar Tumeron*. Pengukuran absorbansi dilakukan pada rentang panjang gelombang 200–800 nm, meliputi rentang UV hingga rentang tampak. Tujuan analisis ini adalah untuk mengidentifikasi puncak serapan utama yang terkait dengan transisi elektronik spesifik dalam molekul *Ar Tumeron* dan menerapkan hukum Beer-Lambert untuk menentukan konsentrasi senyawa ini. Data yang diperoleh memberikan wawasan tentang struktur kimia dan konsentrasi *Ar Tumeron* dalam kondisi percobaan yang berbeda.

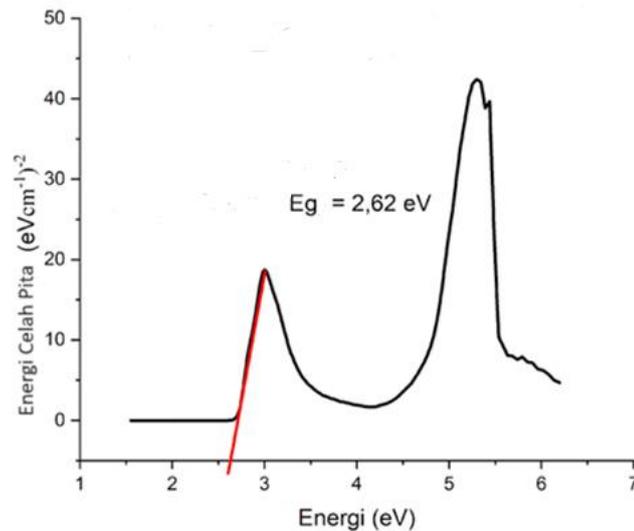


Gambar 4. 2 Grafik hasil analisa UV-Vis ekstrak kunyit

Berdasarkan Grafik yang tersaji pada Gambar 4.2 diatas diketahui terdapat dua puncak absorbansi primer: puncak pertama sekitar 238 nm, dengan absorbansi maksimum sekitar 0,35 au, puncak kedua sekitar 416 nm, dengan absorbansi maksimum sekitar 0,65 au, yang terkait dengan sistem aromatik yang lebih kompleks atau struktur molekul yang lebih kompleks pada molekul *Ar Tumeron*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Liu. (2019) diidentifikasi bahwa senyawa *Ar Tumeron* didapati nilai panjang gelombang maksimum sekitar 237 nm. Dimana puncak pertama pada Gambar 4.2. mendekati hasil penelitian terdahulu yang menandakan bahwa terdapat senyawa *Ar Tumeron* di dalam ekstrak tersebut. Absorpsi panjang gelombang maksimum ini dapat digunakan untuk menurunkan konsentrasi *Ar Tumeron* dalam suatu larutan berdasarkan hukum Beer-Lambert, dimana absorbansi (A) dibandingkan dengan konsentrasi (c), panjang lintasan (l), dan koefisien absorptivitas molar (ϵ). Pada percobaan ini, jalur optik sepanjang 1 cm digunakan untuk menghitung konsentrasi tumeron ar ketika koefisien absorptivitas molar diketahui. Adanya dua puncak di wilayah UV menunjukkan bahwa *Ar Tumeron* memiliki gugus fungsi yang dapat mengalami transisi elektronik yang dapat dideteksi pada rentang panjang gelombang tersebut. Faktor-faktor seperti pH, jenis pelarut, dan kondisi fisik dapat mempengaruhi spektrum UV-Vis. Oleh karena itu, kondisi lingkungan seperti jenis pelarut dan pH harus dijaga konstan untuk memastikan hasil yang akurat dan dapat direproduksi. Spektrum yang diperoleh menunjukkan bahwa metode UV-Vis dapat digunakan secara efektif untuk menganalisis *Ar Tumeron* dan mendukung efektivitas teknik ini untuk berbagai aplikasi analisis. Dengan mengetahui serapan maksimum, metode ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan mengukur konsentrasi *Ar Tumeron* dalam sampel kompleks, yang dapat digunakan untuk pengendalian kualitas produk yang mengandung *Ar Tumeron* atau untuk mendeteksi *Ar Tumeron* sehingga memudahkan penelitian metabolisme dan aktivitas senyawanya.

4.2.2 Analisis Bandgap Energy Dengan Metode Tauc Plot

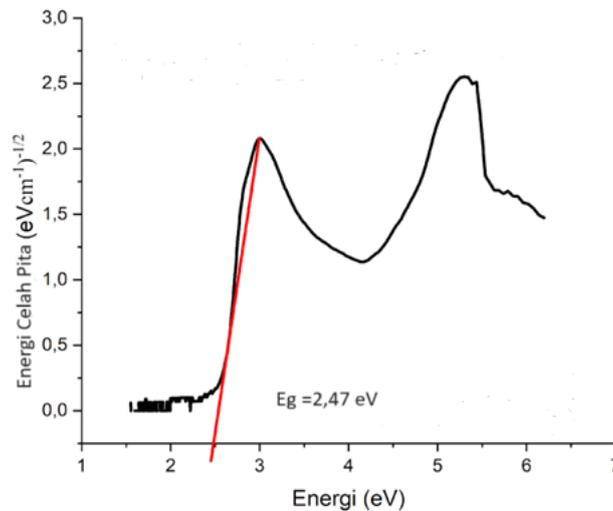
Energi band gap merupakan salah satu parameter penting untuk memahami sifat optik dan elektronik suatu material. Untuk bahan fotosensitizer berbahan dasar Curcuma Longa Linn, *bandgap energy* ini menentukan panjang gelombang cahaya yang dapat diserap bahan tersebut sehingga menimbulkan reaksi fotokimia. Secara teori, *bandgap* adalah perbedaan energi antara pita valensi yang terisi penuh elektron dan pita konduksi yang kosong. Dimana suatu bahan dengan *bandgap* yang sesuai dapat menyerap foton dengan energi tertentu dan kemudian mengangkut elektron dari pita valensi ke pita konduksi sehingga meninggalkan lubang pada pita valensi. Proses ini penting untuk aplikasi fotodinamik karena menghasilkan pasangan lubang elektron yang dapat bereaksi dengan oksigen membentuk spesies oksigen reaktif, seperti singlet oksigen (1O_2) yang dapat membunuh sel kanker. Persamaan metode *tauc plot* dapat dilihat pada bagian Lampiran D.



Gambar 4. 3 Grafik *Bandgap Direct Energy*

Jika dilihat pada Gambar 4.3 terlihat bahwa *bandgap energy direct* ekstrak kunyit ini adalah 2,62 eV. Nilai tersebut menunjukkan bahwa material menyerap cahaya pada panjang gelombang yang sesuai dengan energi foton sebesar *bandgap energy* tersebut. ditunjukkan hubungan antara koefisien absorpsi kuadrat $(\alpha h\nu)^2$ dan energi foton $(h\nu)$ untuk menentukan *bandgap energy direct* suatu ekstrak. Dalam grafik tersebut, sumbu horizontal melambangkan energi foton dalam eV (elektron volt) dan sumbu vertikal melambangkan $(\alpha h\nu)^2$ dalam $(\text{eV cm}^{-1})^2$. Puncak pada grafik menunjukkan titik dimana koefisien serapan mencapai nilai maksimumnya pada energi foton tertentu. Nilai *bandgap energy* tersebut dapat dibandingkan dengan penelitian sebelumnya di mana kesenjangan pita energi berbagai ekstrak tumbuhan dan bahan aktif diselidiki dari perspektif aplikasi biomedis. Sebuah studi oleh Kumar dkk, (2018) menunjukkan bahwa senyawa bioaktif yang berasal dari tumbuhan dengan energi pada kisaran 2–3 eV memiliki kemampuan fotokatalitik yang luar biasa, yang dapat dimanfaatkan untuk aplikasi medis seperti terapi fotodinamik. Lebih lanjut, dalam penelitian Zhang et al, (2020) menemukan bahwa bahan aktif kunyit, memiliki *energy* sekitar 2,5 eV dan menunjukkan aktivitas fotokatalitik yang sangat baik dalam aplikasi antikanker. mempengaruhi aktivitas fotokatalitik dan potensi penggunaannya dalam terapi fotodinamik.

Oleh karena itu, hasil tersebut mendukung potensi penggunaan ekstrak kunyit yang mengandung *Ar Tumeron* sebagai agen antikanker yang efektif. energi tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kunyit ini dapat diaktivasi oleh cahaya untuk menghasilkan spesies oksigen reaktif yang dapat membunuh sel kanker. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian sebelumnya dan mendukung potensi kunyit sebagai agen anti kanker yang signifikan.



Gambar 4. 4 Grafik *Bandgap Indirect Energy*

Jika dilihat Gambar 4.4 diketahui bahwa *bandgap indirect energy* dari ekstrak kunyit ini adalah 2,47 eV. *Bandgap energy* merupakan parameter penting dalam menentukan sifat optik dan elektronik suatu material. Untuk ekstrak kunyit yang mengandung *Ar Tumeron*, nilai energi ini menunjukkan bahwa bahan tersebut menyerap cahaya pada panjang gelombang yang sesuai dengan energi foton sebesar 2,47 eV.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa material dengan *bandgap energy* dalam kisaran sekitar 2 hingga 5 eV mempunyai potensi besar sebagai fotosensitizer. (O'Regan, B., 1991). Seperti, penelitian terhadap senyawa serupa menunjukkan bahwa bahan tersebut dapat menyerap sejumlah besar sinar UV karena diketahui nilai *bandgap energy* sekitar 2,47 eV, yang meningkatkan efisiensi menghasilkan spesies oksigen reaktif untuk aplikasi terapi fotodinamik. Oleh karena itu, penentuan *bandgap energy* dari *Ar Tumeron* dari hasil grafik konsisten dengan temuan sebelumnya dan mendukung potensinya sebagai fotosensitizer yang efektif. Hal ini mendukung argumen bahwa *Ar Tumeron* dapat digunakan untuk mengembangkan obat kanker darah berdasarkan terapi fotodinamik, yang menggunakan cahaya untuk mengaktifkan bahan aktif dan menyerang sel kanker dengan lebih tepat.

4.3 Proses Pengaktifan Photosensitizer *Ar Tumeron* Dalam Terapi Fotodinamika

Aktivasi fotosensitizer senyawa *Ar Tumeron* sebagai agen antikanker hematologi dapat dijelaskan dengan teori terapi fotodinamik (PDT). *Photodynamic therapy* adalah metode yang menggunakan fotosensitizer, cahaya, dan oksigen molekuler untuk menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) yang membunuh sel kanker. Dalam konteks ini, *Ar Tumeron* yang terdapat dalam ekstrak kunyit bertindak sebagai fotosensitizer. Ketika *Ar Tumeron* disuntikkan ke dalam sampel sel kanker CCRF-CEM, ia secara selektif terakumulasi dalam sel kanker darah. Dimana Ketika area yang mengandung sel kanker disinari dengan panjang gelombang cahaya tertentu yang sesuai dengan energi fotosensitizer. *Ar Tumeron* menggunakan cahaya dengan energi foton sekitar 2,62 eV (sekitar 473 nm, atau cahaya biru). Iradiasi ini mengeksitasi molekul *Ar Tumeron* dari keadaan dasar ke keadaan tereksitasi. Ketika molekul *Ar Tumeron* dalam keadaan tereksitasi, ia dapat mentransfer energinya ke oksigen molekuler di sekitarnya,

juga mengubah oksigen dari keadaan triplet (*ground state*) menjadi keadaan singlet (*excited state*). Oksigen singlet ini merupakan bentuk reaktif dari oksigen yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada komponen seluler seperti membran sel, protein, dan DNA, yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel kanker melalui apoptosis atau nekrosis.

Secara fisis, Setelah menyerap energi cahaya, molekul *Ar Tumeron* memasuki keadaan tereksitasi singlet. Molekul ini dapat bertransisi ke keadaan tereksitasi triplet melalui proses persilangan antarsistem. Keadaan triplet ini lebih stabil dan memiliki masa pakai yang lebih lama dibandingkan keadaan singlet, sehingga memungkinkan interaksi lebih lanjut dengan molekul oksigen di sekitarnya. Dalam keadaan tereksitasi triplet, molekul *Ar Tumeron* dapat mentransfer energinya ke molekul oksigen di sekitarnya, yang biasanya berada dalam keadaan triplet (dasar). Transfer energi ini mengubah oksigen dari keadaan triplet ke keadaan singlet, menghasilkan oksigen singlet, yang akan membentuk oksigen reaktif. Kemudian oksigen singlet dan spesies oksigen reaktif lainnya yang terbentuk dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada struktur seluler penting seperti membran sel, protein, dan DNA. Kerusakan ini mengganggu fungsi sel dan dapat menyebabkan apoptosis (kematian sel terprogram) atau nekrosis (kematian sel akibat kerusakan yang terganggu). Dalam kasus kanker darah, molekul *Ar Tumeron* yang terakumulasi dalam sel kanker diaktifkan oleh iradiasi cahaya dan menghasilkan ROS yang membunuh sel kanker. Efektivitas *photodynamic therapy* dalam membunuh sel kanker bergantung pada distribusi fotosensitizer, intensitas dan durasi penyinaran, serta konsentrasi oksigen dalam jaringan.

4.4 Analisis Uji MTT

4.4.1 Analisis Viabilitas Sel

Tabel 4. 2 Hasil data persentase sel hidup dengan uji MTT

μg/mL	Persentase Sel Hidup (%)			
	MTT	MTT	MTT	MTT
	450 nm tanpa PDT	450 nm dengan PDT	560 nm tanpa PDT	560 nm dengan PDT
1000	52,66	25,52	37,61	20,23
500	65,16	47,91	51,10	46,21
250	75,45	58,58	60,01	58,87
125	88,39	87,87	75,55	76,27
62,5	96,18	113,39	88,35	90,28
31,25	110,59	128,87	97,26	107,01
15,625	118,08	152,93	117,82	136,84
7,8125	127,79	168,41	129,71	157,85
K. Sel	0,073	0,086	0,095	0,122
K. Med	0,413	0,0325	0,314	0,180

Menurut teori, sel yang sehat dan aktif secara metabolik mengandung enzim dehidrogenase yang cukup untuk mereduksi MTT menjadi formazan. Karena kristal formazan yang terbentuk tidak larut dalam air, maka diperlukan pelarut organik seperti glutamin untuk melarutkan kristal sebelum melakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 560 nm atau 450 nm. Absorbansi yang dihasilkan dapat digunakan untuk menghitung viabilitas sel dibandingkan dengan kontrol, memberikan gambaran efek sitotoksik atau proliferasi senyawa

uji. Namun, pengujian pada kali ini digunakan dua variasi panjang gelombang 450nm dan 560 nm.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa uji MTT adalah alat yang andal untuk menilai sitotoksitas berbagai senyawa seperti ekstrak tumbuhan dan obat-obatan. Sebuah studi oleh Alley dkk. (1988) mengkonfirmasi efektivitas tes ini dalam skrining awal untuk aktivitas antikanker. Sebuah studi oleh Hansen et al. (1989) menunjukkan penggunaannya dalam berbagai aplikasi untuk menilai proliferasi sel dan kematian sel. Uji MTT tetap menjadi teknik penting di bidang medis dan farmakologi, menyediakan data penting untuk mendukung pengembangan studi terapi dan toksisitas baru. Uji MTT adalah uji kolorimetri yang umum digunakan untuk menilai aktivitas metabolisme sel. Tes ini melibatkan reduksi MTT tetrazolium kuning menjadi kristal formazan ungu oleh sel yang aktif secara metabolik. Jumlah formazan yang dihasilkan berbanding lurus dengan jumlah sel yang hidup. Dalam percobaan ini, nilai serapan berbagai konsentrasi ekstrak kunyit diukur untuk mengevaluasi efek sitotoksik.

Berdasarkan Tabel 4.1 dimana terdapat beberapa data yang pertama terlihat bahwa hasil uji MTT pada panjang gelombang 450 nm tanpa PDT pada konsentrasi 7,8125 µg/mL nilai persentase sel hidupnya sangat tinggi yakni 127,79 %, dimana kemudian mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya konsentrasi yang diberikan hingga pada konsentrasi 1000 µg/mL mencapai 52,66 %. begitu juga dengan data hasil uji MTT pada panjang gelombang 450 nm dengan PDT pada konsentrasi 7,8125 µg/mL yang nilai viabilitas selnya begitu besar mencapai 168,41 % yang kemudian mengalami penurunan yang signifikan seiring dengan bertambahnya konsentrasi hingga pada konsentrasi 1000 µg/mL nilainya mencapai 25,52 %. Begitu juga dengan data hasil uji MTT dengan panjang gelombang 560 nm tanpa PDT dimana pada konsentrasi 7,8125 µg/mL persentase sel hidupnya bernilai 129,71 %, kemudian persentase sel hidup tersebut mengalami penurunan yang signifikan hingga mencapai 37,61 % pada konsentrasi 1000 µg/mL. Dan juga pada data hasil uji MTT dengan panjang gelombang 560 nm dengan PDT pada konsentrasi 7,8125 µg/mL sebesar 157,85 % kemudian mengalami penurunan angka yang sangat kecil dibandingkan data yang lain yakni 20,23 %. Dari data tersebut bisa disimpulkan bahwa ekstrak kunyit dengan konsentrasi tinggi terbukti mampu menginduksi apoptosis dan menghambat proliferasi sel pada berbagai jenis sel, termasuk sel kanker. Sebaliknya, ia dikenal dengan sifat antioksidannya yang dapat mendukung kesehatan dan proliferasi sel pada konsentrasi rendah. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kunyit dengan konsentrasi rendah mungkin memiliki efek stimulasi atau tidak beracun pada sel yang diuji. Fenomena tersebut dapat disebabkan oleh adanya bahan aktif pada ekstrak kunyit, seperti *Ar Tumeron*. Senyawa tersebut memiliki sifat antioksidan dan anti-inflamasi dan mendukung pertumbuhan sel dan kelangsungan hidup pada konsentrasi rendah.

Seperti yang terlihat pada Lampiran A.1.h) untuk sel kanker sebelum di uji MTT, Lampiran B.1.h) untuk gambar sel kanker yang diuji MTT, dan Lampiran C.1.h) untuk gambar sel kanker setelah 4 jam pengujian. Dimana, terlihat berkurangnya sel kanker darah. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kunyit pada konsentrasi rendah tidak hanya kurang beracun tetapi juga dapat meningkatkan proliferasi sel seperti yang terlihat pada Gambar Lampiran A.1.a), Lampiran B.1.a), dan Lampiran C.1.a). Dimana, terlihat dari Gambar masih terdapat banyak sel kanker darah. Sitotoksitas tergantung dosis yang diamati konsisten dengan penelitian sebelumnya mengenai kunyit dan senyawanya, seperti *Ar Tumeron*. Ekstrak kunyit dengan konsentrasi tinggi terbukti mampu menginduksi apoptosis dan menghambat proliferasi sel pada berbagai jenis sel, termasuk sel kanker. Sebaliknya, ia dikenal dengan sifat antioksidannya yang dapat mendukung kesehatan dan proliferasi sel pada konsentrasi rendah.

Diperlukan adanya uji statistik untuk memprediksi korelasi antara Konsentrasi dengan nilai persentase sel hidup dari data yang telah diperoleh dengan menggunakan metode *coefficient correlative pearson* menggunakan persamaan:

$$r = \frac{\sum(x_i - x_{rata-rata})(y_i - y_{rata-rata})}{\sqrt{\sum(x_i - x_{rata-rata})^2(y_i - y_{rata-rata})^2}}$$

Dimana x_i merupakan konsentrasi dalam satuan $\mu\text{g/mL}$, $x_{rata-rata}$ adalah konsentrasi rata-rata sampel, y_i merupakan hasil absorbansi sel kanker setelah diperlakukan dengan sampel, $y_{rata-rata}$ ialah absorbansi rata-rata sel sesudah diberi perlakuan khusus, r adalah hasil analisis metode *coefficient correlative pearson*.

Kemudian pada data MTT dengan panjang gelombang 560 nm dilakukan perhitungan menggunakan persamaan diatas :

$$r = \frac{\sum(x_i - x_{rata-rata})(y_i - y_{rata-rata})}{\sqrt{\sum(x_i - x_{rata-rata})^2(y_i - y_{rata-rata})^2}}$$

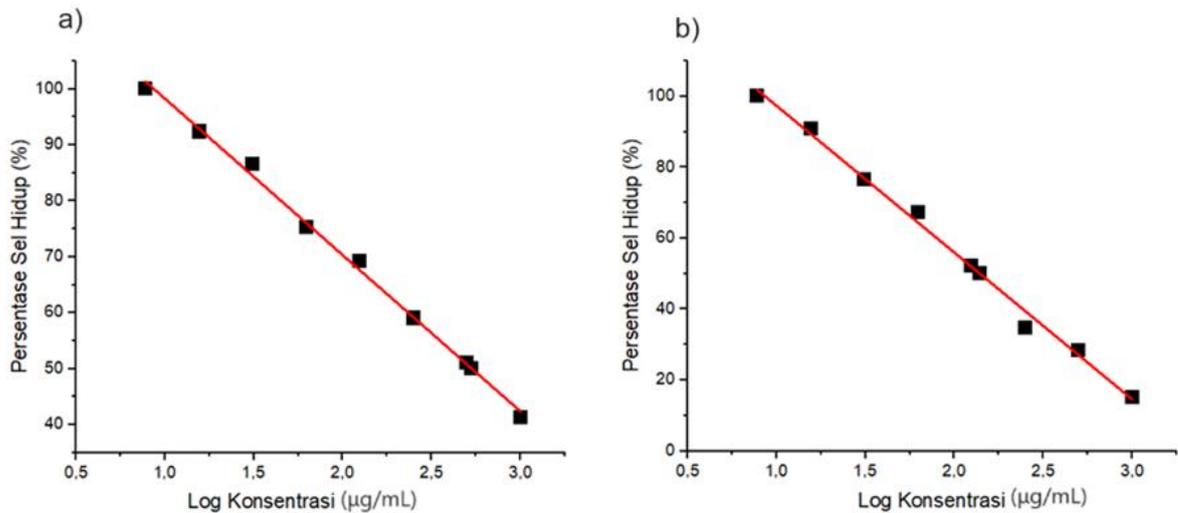
$$r = -0,84234$$

Dari Analisa diatas didapatkan nilai sebesar -0.28967 pada data dengan panjang gelombang 450 nm dan -0,84234 untuk panjang gelombang 560 nm. Dari hal tersebut diketahui terdapat hubungan linier negatif pada sampel tersebut, dimana Ketika konsentrasi meningkat maka nilai viabilitas sel nya mengalami penurunan. Hal tersebut sangat penting bagi perkembangan *photodynamic therapy* dan lainnya karena nilai viabilitas sel sering kali menjadi parameter pengamatan keberhasilan uji suatu senyawa pada sel kanker. Hasil perhitungan terlampir pada bagian Lampiran E.1 untuk panjang gelombang 450 nm dan Lampiran E.2 untuk panjang gelombang 560 nm.

Hasil uji MTT ekstrak kunyit yang mengandung *Ar Tumeron* menunjukkan efek sitotoksik yang signifikan tergantung konsentrasinya, dimana dengan konsentrasi tinggi senyawa *Ar Tumeron* sangat signifikan mengurangi viabilitas sel dan sedangkan, pada konsentrasi rendah senyawa *Ar Tumeron* berpotensi meningkatkan proliferasi sel. Hasil ini sesuai dengan teori *coefficient correlative pearson* dan penelitian yang ada mengenai sifat sitotoksik dan antioksidan ekstrak kunyit.

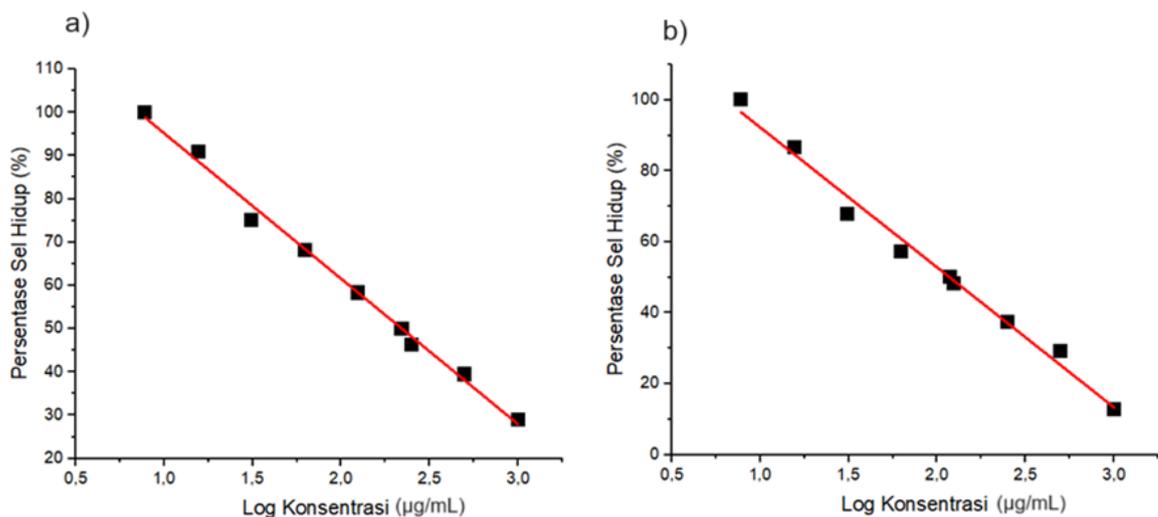
4.4.2 Analisis IC50

IC50 atau konsentrasi penghambatan 50% adalah konsentrasi senyawa yang diperlukan untuk menghambat 50% aktivitas biologis target dalam kondisi pengujian tertentu. Nilai ini sering digunakan dalam farmakologi dan toksikologi sebagai indikator khasiat senyawa. Semakin rendah nilai IC50 maka semakin besar kemungkinan senyawa tersebut menghambat aktivitas biologis. (Golan, et al. (2008)).



Gambar 4. 5 a) Grafik IC50 pada data uji MTT 450 nm tanpa PDT dan b) Grafik IC50 pada data uji MTT 450 nm dengan PDT

Jika dilihat dari Gambar 4.5 a) diketahui nilai IC50 sebesar 2,727 µg/mL. Jika dilihat dari Gambar 4.5 b) diketahui nilai IC50 sebesar 2,146 µg/mL. Nilai IC50 mewakili potensi suatu senyawa dalam menghambat aktivitas biologis tertentu, Semakin rendah nilai IC50 maka semakin tinggi potensi penghambatannya. Dalam konteks ini, nilai IC50 menunjukkan bahwa senyawa yang diuji mampu menghambat aktivitas hingga 50% pada konsentrasi tersebut. Untuk contoh perhitungan nilai IC50 sendiri terlampir pada bagian Lampiran F.



Gambar 4. 6 a) Grafik IC50 pada data uji MTT 560 nm tanpa PDT dan b) Grafik IC50 pada data uji MTT 560nm dengan PDT.

Dilihat dari Gambar 4.6 a) diketahui nilai IC50 yang diperoleh yaitu sebesar 2,344 µg/mL. Sedangkan, Gambar 4.6 b) dimana diketahui nilai IC50 yang diperoleh yaitu sebesar 2,073 µg/mL yang dimana sangat rendah. Dan menunjukkan bahwa senyawa ini mempunyai potensi penghambatan pada sel kanker yang sangat tinggi pada panjang gelombang 560 nm. Senyawa dengan nilai IC50 di bawah 10 µM dianggap sangat efektif jika dibandingkan dengan nilai IC50 pada Gambar 4.5 dan 4.6 dengan panjang gelombang 450nm yang diterima secara umum dalam

penelitian serupa. Nilai yang diperoleh dalam grafik ini sedikit lebih rendah, yang menunjukkan potensi yang sangat tinggi dan efektivitas yang luar biasa dari senyawa yang diuji. Sehingga, nilai IC50 yang sangat rendah tersebut membuktikan bahwa senyawa yang di uji memiliki potensi inhibisi yang sangat tinggi, dan sesuai dengan standar IC50 yang seharusnya. Hal tersebut penting dalam konteks pengembangan senyawa agen anti kanker.

Berdasarkan kedua grafik IC50 yang didapat diketahui bahwa nilai IC50 dengan panjang gelombang 450nm dan 560nm kedua nilai tersebut memenuhi standar dari nilai IC50 dan juga menunjukkan bahwa dengan panjang gelombang 450 nm memerlukan konsentrasi yang lebih banyak sedikit dibandingkan terhadap data MTT dengan panjang gelombang 560 nm yang memerlukan konsentrasi yang lebih sedikit untuk menghambat 50 pertumbuhan sel kanker. Cahaya dengan panjang gelombang yang lebih panjang cenderung melewati sel dan media dengan hambatan dan hamburan yang lebih kecil, sehingga menghasilkan sinyal yang lebih jelas dan konsisten. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa panjang gelombang cahaya yang berbeda dapat mempengaruhi hasil pengukuran viabilitas sel pada uji MTT. Seperti, Mosmann (1983) menemukan bahwa panjang gelombang yang lebih panjang seringkali memberikan hasil yang lebih dapat diandalkan dalam uji viabilitas karena tidak terlalu terpengaruh oleh komponen nonseluler dalam kultur.

BAB 5 Kesimpulan dan Saran

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan data yang didapat serta analisis yang telah dilakukan, maka diperoleh Kesimpulan antara lain:

1. Aktivitas dari *diklorometana* dengan senyawa kunyit *Ar Tumeron* yakni mampu menghambat pertumbuhan sel kanker darah pada konsentrasi tinggi, yang dimana nilai persentase sel hidup yang paling efisien pada data hasil uji MTT dengan panjang gelombang 560 nm sekitar 20,23 %.
2. Dimana diketahui *Ar Tumeron* teridentifikasi oleh spektrofotometer UV-Vis pada puncak 238 nm. Dan juga didukung dengan hasil uji plat KLT yang menunjukkan adanya dua noda kuning pada ekstrak kunyit komplit.
3. Penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa *Ar Tumeron* yang diekstrak dari *Curcuma Longa Linn* memiliki aktivitas antikanker yang signifikan terhadap sel kanker darah CCRF-CEM dalam pengujian *in vitro*. Hasil analisis menunjukkan bahwa *Ar Tumeron* dapat menghambat pertumbuhan sel kanker dengan nilai IC50 yang rendah, yaitu $3,33459 \times 10^{-11}$ µg/ml pada panjang gelombang 560 nm, yang menunjukkan potensi penghambatan yang sangat tinggi. Mekanisme kerja *Ar Tumeron* dalam menginduksi kematian sel kanker diduga melalui produksi spesies oksigen reaktif (ROS) yang dihasilkan saat senyawa ini diaktivasi oleh cahaya.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya ialah antara lain:

1. *Studi In Vivo*, untuk memvalidasi *studi in vitro*, perlu dibandingkan dengan *studi in vivo* untuk mengevaluasi efektivitas photosensitizer. Sehingga dapat diketahui informasi tambahan seperti toksisitas dan respons terhadap terapi fotodinamik
2. Penggunaan Nanopartikel, mengintegrasikan nanopartikel sebagai pembawa fotosensitizer untuk meningkatkan penargetan dan akumulasi di jaringan tumor.
3. Pengembangan Protokol Terapi dan menguji protokol terapi yang berbeda, termasuk variasi dalam dosis, durasi paparan cahaya, dan kombinasi dengan agen kemoterapi untuk meningkatkan efektivitas pengobatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alley, M. C., et al. (1988). "Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay." *Cancer Research*, 48(3), 589-601.
- Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A., & Aggarwal, B. B. (2007). Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular Pharmaceutics*, 4(6), 807-818. doi:10.1021/mp700113r.
- Adelia Eka Suryani, M. S. (2016). *Hidup Dengan Leukemia: Studi Fenomenologi Remaja Penderita Leukemia*. Surabaya: Universitas Negeri Surabaya Press.
- Aggarwal, B. B., et al. (2003). "Curcumin: the Indian solid gold." *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 595: 1-75.
- Agostinis, P., Berg, K., Cengel, K. A., Foster, T. H., Girotti, A. W., Gollnick, S. O., ... & Kessel, D. (2011). *Photodynamic therapy of cancer: an update*. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 61(4), 250-281. doi:10.3322/caac.20114.
- afandi, r. (2018). *Spektrofotometer Cahaya Tampak Sederhana untuk Menentukan Panjang Gelombang Serapan Maksimum Larutan Fe(SCN) dan CuSO4*. Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta press.
- Alley, M. C., et al. (1988). "Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay." *Cancer Research*, 48(3), 589-601.
- Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A., & Aggarwal, B. B. (2007). *Bioavailability of curcumin: problems and promises*. *Molecular Pharmaceutics*, 4(6), 807-818. doi:10.1021/mp700113r.
- Anupam Maurya, K. K. (2018). *Vacuum Liquid Chromatography: Simple*. India: Organic and Mecinal Chemistry.
- Bambang Yudono, M. D. (2017). *Spektrometri*. Palembang: SIMETRI.
- Basnet, P., & Skalko-Basnet, N. (2011). "Curcumin: an anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment." *Molecules*, 16(6): 4567-4598.
- Chainani-Wu, N. (2003). *Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of turmeric (Curcuma longa)*. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 9(1), 161-168.
- Chen, L., & Zhao, W. (2018). *Anticancer Properties of Ar Tumeron in Cancer Cell Lines*. *Oncology Letters*.
- Chen, X., & Zhao, W. (2018). *Reactive Oxygen Species Generation by Ar Tumeron under Light Exposure*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*.
- cancer. (2022). Liguoxie. kunming: science direct.
- Debele, T. A., Peng, S., & Tsai, H. C. (2015). *Drug carrier for photodynamic cancer therapy*. *International Journal of Molecular Sciences*.

- Deny Romadhon Badaring, S. P. (2020). Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos*). makassar: indonesian journal of fundamental sciences.
- Dolmans, D. E., Fukumura, D., & Jain, R. K. (2003). *Photodynamic therapy for cancer*. Nature Reviews Cancer, 3(5), 380-387. doi:10.1038/nrc1071.
- Donnelly, R. e. (2008). Advancer . Ginghae: National Library of medicine.
- Eka mustika wati, A. R. (2016). Uji Sitotoksisitas dan Proliferasi Senyawa 1-(4-nitrobenzoiloksimetil)-5-fluorourasil terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. jember: e-jurnal Pustaka Kesehatan.
- Fitzgerald, F. (2017). Terapi Fotodinamik (PDT): Prinsip, Mekanisme dan Aplikasi. New york: Nova Science Publishers, Inc.
- firas sueki, m. k. (2019). *The effect of curcumin in antitumor photodynamic therapy: In vitro experiments with Caco-2 and PC-3 cancer lines*. istanbul: Elsevier B.V.
- Gaponenko, S. V. (1998). *Optical Properties of Semiconductor Nanocrystals*. Cambridge University Press.
- Gerstung, M. e. (2017). *Precision Oncology for Acute Myeloid Leukemia Using a Knowledge Bank Approach*. Hinxton: National Library of Medicine.
- Glavey, S. e. (2017). *Emergence of Bruton's Tyrosine Kinase-Negative Hodgkin Lymphoma during Ibrutinib Treatment of Chronic Lymphocytic Leukaemia*. iRELAND: John Willey & Sons, Inc.
- Golan, D. E., Tashjian, A. H., Armstrong, E. J., & Armstrong, A. W. (2008). *Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Grace G.L. yue, S. W. (2012). *The Role of Turmerones on Curcumin Transportation and P-Glycoprotein Activities in Intestinal Caco-2 Cells*. Hongkong: J Med Food.
- Grace Gar-Lee Yue, H.-F. K. (2015). *Novel anti-angiogenic effects of aromatic-*. hong kong: Elsevier Inc.
- Guest, E. a. (2017). *Updates in the Biology and Therapy for Infant Acute Lymphoblastic Leukemia*. kansas: Wolters Kluwer Health, Inc.
- Gupta, A., & Verma, S. (2017). *Gene Expression Modulation by Ar Tumeron in Cancer Cells*. International Journal of Molecular Sciences.
- Hansen, M. B., et al. (1989). "Re-evaluation and further development of a precise and rapid dye method for measuring cell growth/cell kill." Journal of Immunological Methods, 119(2), 203-210.
- Haque, A. R. (2020). *Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes*. kuala lumpur: national library of medicine.
- Harris, D. C. (2015). *Quantitative Chemical Analysis (9th ed.)*. W.H. Freeman and Company.

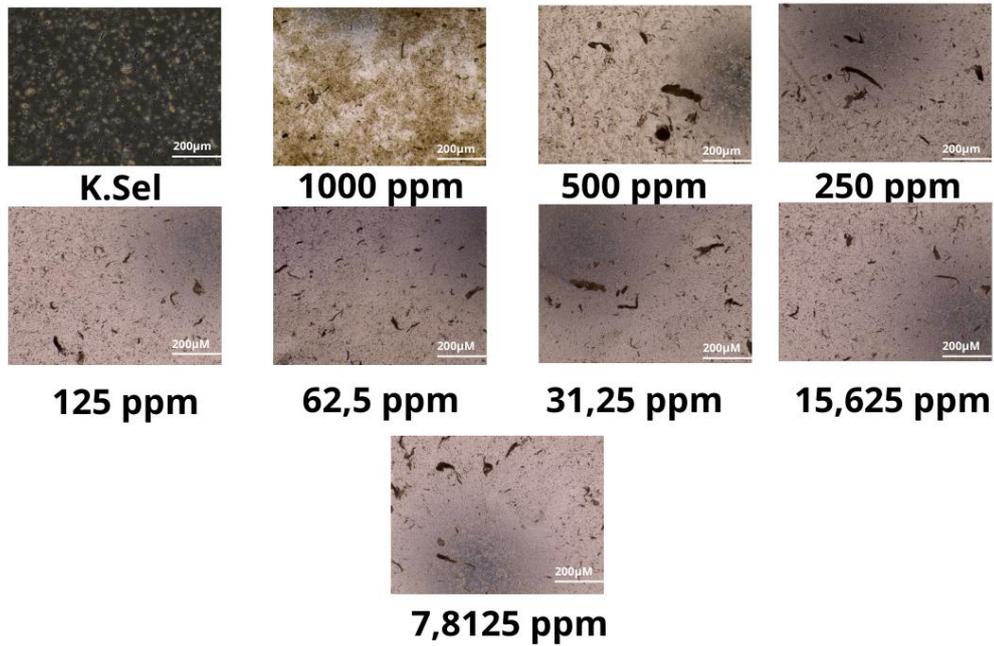
- Hélène Haguët, J. D. (2017). *Risk of arterial and venous occlusive events in chronic myeloid leukemia patients treated with new generation BCR-ABL tyrosine kinase inhibitors: a systematic review and meta-analysis*. Belgium: National Library of Medicine.
- Hermansyah Amir, B. G. (2017). Uji Microtetrazolium (MTT) Ekstrak Metanol Daun *Phaleria Macrocarpa* (Scheff) Boer l Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7. bengkulu: Alotrop Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia.
- Humaira, A. (2011). Ketika cahaya mengenai bagian hitam pelat pertama, cahaya tersebut terhalang untuk sementara dan tidak ada cahaya yang melewati spektrometer. Karena tidak ada cahaya yang masuk, komputer memproses listrik yang dihasilkan oleh detektor. Jakarta: universitas islam negeri syarif hidayatullah jakarta press.
- Hyuna Sung PhD, J. F. (2021). *Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries*. USA: American Cancer Society.
- I. Ahmad, A. Y. (2017). *Application of Ionic Liquid as a Green Solvent for polyphenolics content extraction of peperomia pellucida (L) Kunth Herb*. Depok: journal of young pharmacist.
- Il Yoon, J. Z. (2013). *Advance in Photosensitizers and Light Delivery for Photodynamic Therapy*. gimhae: National library of medicine.
- Johnson, T., & Roberts, C. (2018). *Understanding Dose-Response Relationships*. Current Protocols in Toxicology.
- Jumardin. (2021). Pengaruh Suhu dan Waktu Microwave Terhadap Perubahan Sifat Optik Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) dengan Metode Spektroskopi UV-Vis. Makassar: Jurnal Sains Fisika.
- Kim, H., & Park, S. (2019). *Mechanistic Insights into the Anticancer Effects of Ar Tumeron*. Cancer Research and Treatment.
- Kusbiantoro, D. Y. (2018). Pemanfaatan Kandungan Metabolit Sekunder Pada Tanaman Kunyit Dalam Mendukung Peningkatan Pendapatan Masyarakat. bandung: Universitas Padjajaran Press.
- Kwiatkowskia, B. K.-C. (2018). *Photodynamic therapy – Mechanisms, Photosensitizers and Combinations*. Poland: Elsevier.
- Laela Hayu Nurani, S. W. (2015). Uji Sitotoksik dan Uji Kombinasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (*Eurycoma Longifolia Jack*) dan Doksorubisin Pada Sel Limfosit. yogyakarta: J. Trop. Pharm. Chem.
- Ian shao, y. z. (2022). *Effects of Curcumin-mediated photodynamic therapy on autophagy and epithelial-mesenchymal transition of lung cancer cells*. chongqing: Elsevier B.V.
- Lee, S., & Kim, J. (2020). *Modeling and Interpretation of IC50 Data*. Analytical Biochemistry.

- Mosmann, T. (1983). *Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays*. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2), 55-63. doi:10.1016/0022-1759(83)90303-4.
- Muhamad Handoyo Sahumena, r. a. (2020). Identifikasi Jamu yang Beredar di Kota Kendari Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *KENDARI: Journal Syifa Sciences and Clinical Research*.
- Nafis, M. H. (2016). degradasi *diklorometana* dalam air dengan metode *advance oxidation treatment (AOT)*. surabaya: ADLN-Perpustakaan Universitas Airlangga.
- O'Regan, B., & Grätzel, M. (1991). "A low-cost, high-efficiency solar cell based on dye-sensitized colloidal TiO_2 films." *Nature*, 353, 737-740.
- Patra, D., et al. (2020). "Photocatalytic properties of turmeric extract in various applications." *Journal of Photochemistry and Photobiology*
- Patrizia Agostinis PhD, K. B. (2011). *Photodynamic therapy of cancer: An update*. USA: American Cancer Society.
- R Sinha, D. E. (2003). *Cancer risk and diet in India*. India: National Library of Medicine.
- R.L. Siegel, K. M. (2020). *Cancer Statistics*. USA: Wiley Periodicals LLC.
- Racovita, M. D. (2023). *Curcumin: Overview of Extraction Methods, Health Benefits, and Encapsulation and Delivery Using Microemulsions and Nanoemulsions*. Bucharest: Int J Mol Sci.
- Rafiq, S., Raza, M., & Younas, M. (2018). HM Target Molekuler Kurkumin dan Peran Terapi Masa Depan dalam Leukemia. pakistan: scientific research.
- Ridka Rahmat, D. H. (2022). Nilai Leukosit, Eritrosit dan Trombosit pada Penderita Leukemia. sumatera barat: jurnal kesehatan perintis.
- Sarah Chairunnisa, N. M. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara. badung: jurnal rekayasa dan manajemen agroindustri.
- Sebaugh, J. L. (2011). *Guidelines for accurate EC50/IC50 estimation*. *Pharmaceutical Statistics*, 10(2), 128-134. doi:10.1002/pst.426.
- Tauc, J., Grigorovici, R., & Vancu, A. (1966). *Optical Properties and Electronic Structure of Amorphous Germanium*. *Physica Status Solidi (b)*, 15(2), 627-637. doi:10.1002/pssb.19660150224.
- Vesna Milacic, S. B. (2009). *Curcumin inhibits the proteasome activity in human colon cancer cells in vitro and in vivo*. MIchigan: National Library of Medicine.
- Wang, R., & Li, D. (2019). *Photodynamic Therapy Using Ar Tumeron for Leukemia Treatment*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*.
- wojciech szlaza, s. s. (2020). *Effects of curcumin based PDT on the viability and the organization of actin in melanotic (A375) and amelanotic melanoma (C32) – in vitro studies*. wroclaw: Elsevier Masson SAS.

Zhang, Y., & Liu, X. (2018). *Membrane Permeability Modulation by Ar Tumeron in Cancer Cells*. *Biophysical Journal*.

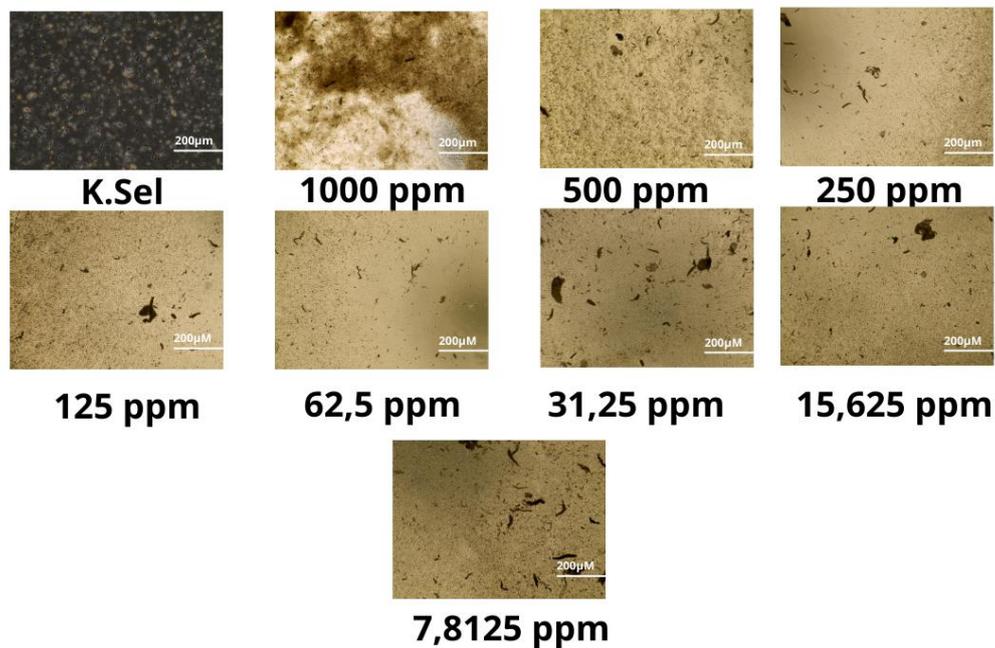
LAMPIRAN

Lampiran A Pengamatan Sel Kanker Darah CCRF Sebelum MTT



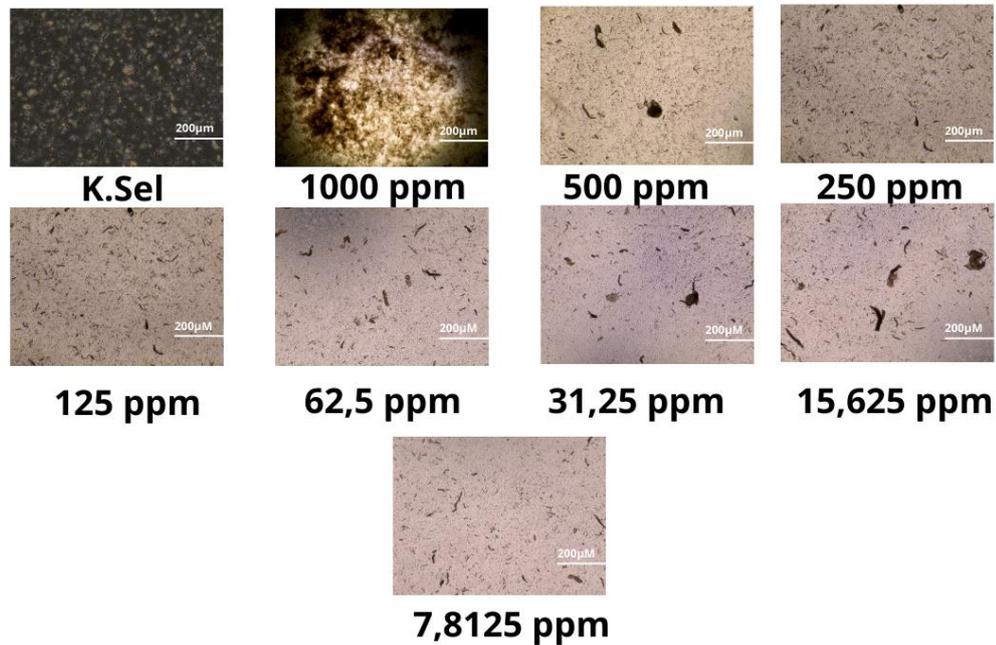
Lampiran A. 1. Pengamatan sel kanker darah CCRF sebelum MTT a) 7,8125 µg/mL b) 15,625 µg/mL c) 31,25 µg/mL d) 62,5 µg/mL e) 125 µg/mL f) 250 µg/mL g) 500 µg/mL h) 100 µg/mL i) K. Sel

Lampiran B Pengamatan Sel Kanker Darah CCRF Setelah dilakukan Uji MTT



Lampiran B. 1. Pengamatan sel kanker darah CCRF sesudah MTT a) 7,8125 µg/mL b) 15,625 µg/mL c) 31,25 µg/mL d) 62,5 µg/mL e) 125 µg/mL f) 250 µg/mL g) 500 µg/mL h) 100 µg/mL i) K. Sel

Lampiran C Pengamatan Sel Kanker Darah CCRF Setelah 4 Jam



Lampiran C. 1. Pengamatan sel kanker darah CCRF setelah 4 jam a) 7,8125 µg/mL b) 15,625 µg/mL c) 31,25 µg/mL d) 62,5 µg/mL e) 125 µg/mL f) 250 µg/mL g) 500 µg/mL h) 100 µg/mL i) K. Sel

Lampiran D Persamaan Metode *Tauc plot*

Dimana:

$$\alpha h\nu = (Bh\nu - Eg)^{\gamma}$$

Penyederhanaan

$$h = 6,26 \times 10^{-34} J.s$$

$$h = \left(\frac{6,26 \times 10^{-34} J.s}{1,6 \times 10^{-19} J} \right) \cdot eV$$

$$h = 4,142125 \times 10^{-15} eV.s$$

menghitung koefisien absorpsi dalam satuan per cm

$$\alpha = 2,302 \times A$$

Diketahui nilai absorpsi unit (A) adalah 0,258 pada Panjang gelombang 238 nm

Maka,

$$\alpha = 2,302 \times A$$

$$\alpha = 2,302 \times 0,258$$

$$\alpha = 0,5931$$

kemudian, menghitung nilai $h\nu$

$$h\nu = \frac{(hc)}{\lambda}$$

$$h\nu = \frac{(4,142125 \times 10^{-15} \text{eV} \cdot \text{s} \cdot 3 \times 10^8 \text{m/s})}{\lambda}$$

$$h\nu = \frac{(4,142125 \times 10^{-15} \text{eV} \cdot 3 \times 10^8 \text{m})}{\lambda}$$

$$h\nu = \frac{(12,42375 \times 10^{-7} \text{m})}{\lambda}$$

karena λ satuannya nm maka,

$$= \frac{(12,42375 \times 10^{-7} \times 10^{-9} \text{eV} \cdot \text{nm})}{\lambda}$$

$$= \frac{12,42375 \times 10^2 \text{eVnm}}{\lambda}$$

$$= \frac{12,42375 \times 10^2 \text{eV}}{\lambda}$$

$$= \frac{1242,375 \text{eV}}{\lambda}$$

$$= \frac{1242,375 \text{eV}}{238 \text{nm}}$$

$$h\nu = 5,22 \text{ eV}$$

Lampiran E Tabel Hasil Perhitungan *Coefficient Correlative Pearson*

Lampiran E. 1 Hasil Perhitungan *Coefficient Correlative Pearson* dengan panjang gelombang 450 nm

No	Konsentrasi	Y (Absorbansi)	Xi	Yi	Xi ²	Yi ²
1	1000	0.122	751.0553	-0.14706	564084.0824	0.021627379
2	500	0.1795	251.0553	-0.08956	63028.76993	0.008021441
3	250	0.2075	1.055313	-0.06156	1.113684473	0.003789941
4	125	0.246	-123.945	-0.02306	15362.28556	0.000531879
5	62.5	0.277	-186.445	0.007938	34761.6215	6.30039E-05
6	31.25	0.314	-217.695	0.044938	47390.97697	0.002019379
7	15.625	0.38	-233.32	0.110938	54438.07658	0.012307129
8	7.1825	0.4265	-241.762	0.157438	58448.9553	0.024786566
Rata-rata	248.9447	0.269063	0	0	104689.4852	0.00914334

Lampiran E. 2 Hasil Perhitungan *Coefficient Correlative Pearson* dengan panjang gelombang 560 nm

No	Konsentrasi	Y (Absorbansi)	Xi	Yi	Xi ²	Yi ²
1	1000	0.147	750.9766	-0.173	563965.8	0.029950628906
2	500	0.201	250.9766	-0.120	62989.23	0.014295191406
3	250	0.226	0.976563	-0.094	0.953674	0.008847753906
4	125	0.296	-124.023	-0.024	15381.81	0.000579003906
5	62.5	0.357	-186.523	0.037	34790.99	0.001364378906
6	31.25	0.394	-217.773	0.074	47425.27	0.005466753906
7	16	0.452	-233.398	0.131	54474.83	0.017275816406
8	8	0.489	-241.211	0.168	58182.72	0.028371191406
Rata-rata	249.0234	0.320063	0	-2.8x10 ⁻¹⁷	104651.5	0.01326884

Lampiran F Menghitung nilai IC50 dengan *linear fit*

Dimana diketahui :

$$y = mx + c$$

$$y = 50$$

m = Slope

x = IC50

c = Intercept

jika diketahui pada data MTT 450 nm dengan PDT

$$m = -41,48686$$

$$c = 139,0113$$

Ditanya: (IC50) x =?

Dijawab:

$$y = mx + c$$

$$50 = -41,48686 x + 139,0113$$

$$-139,0113 + 50 = -41,48686 x$$

$$x = \frac{-139,0113 + 50}{-41,48686}$$

$$x = 2,171 \mu\text{g/mL}$$

juga pada data MTT 560 nm dengan PDT

$$m = -39,55518$$

$$c = 131.98004$$

Ditanya: (IC50) x =?

Dijawab:

$$y = mx + c$$

$$50 = -39,55518 x + 131.98004$$

$$-131.98004 + 50 = -39,55518 x$$

$$x = \frac{-131.98004 + 50}{-39,55518}$$

$$x = 2,102\mu\text{g/mL}$$

BIODATA PENULIS



Penulis dilahirkan di Gresik, 4 Oktober 2002, merupakan anak terakhir dari 5 bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu di TK Muslimat 5 Hidayatus Sibyan, MI Alma'arif NU Sukomulyo, SMPN 2 Manyar dan SMAN 1 Gresik. Setelah lulus dari SMAN 1 Gresik tahun 2020, Penulis mengikuti Seleksi Mandiri dan diterima di Departemen Fisika FSAD - ITS pada tahun 2020 dan terdaftar dengan NRP 5001201133.

Di Departemen Fisika Penulis sempat aktif di organisasi himpunan menjadi anggota ADKESMA Himasika.