

**PENGARUH KAPSUL EKSTRAK KAPANG ENDOFIT DAUN SIRSAK
(*Annona muricata L.*) TERHADAP KADAR KREATININ PADA TIKUS
Sprague Dawley BETINA YANG DI INDUKSI OLEH 7,12
DIMETILBENZ(α)ANTRASEN**

SKRIPSI

Oleh:

SHINTA RATNASARI

066117030



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2022**

**PENGARUH KAPSUL EKSTRAK KAPANG ENDOFIT DAUN SIRSAK
(*Annona muricata L.*) TERHADAP KADAR KREATININ PADA TIKUS
Sprague Dawley BETINA YANG DI INDUKSI OLEH 7,12
DIMETILBENZ(α)ANTRASEN**

SKRIPSI

**Skripsi ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Pada Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu
Pengetahuan Alam Universitas Pakuan**

**Oleh :
SHINTA RATNASARI
066117030**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2022**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Pengaruh Ekstrak Kapang Endofit Daun Sirsak
(*Annona muricata* L.) Terhadap Kadar Kreatinin Pada
Tikus *Sprague Dawley* Betina Yang Diinduksikan Oleh
7,12 Dimetilbenz(α)Antrasen.

Nama : Shinta Ratnasari

NPM : 0661170

Program Studi : Farmasi

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui

Bogor, 28 Desember 2022

Menyetujui,

Pembimbing Pendamping

Pembimbing Utama

apt. Nisa Najwa R, S.Farm., M.Farm

Dr.Ir. Akhmad Endang Zainal Hasan., M.Si

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi

Dekan FMIPA UNPAK

apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M.Farm

Asep Denih, S.Kom., M.Sc., Ph.D.

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya tulis yang dikerjakan sendiri dan tidak pernah dipublikasikan oleh lembaga lain, ataupun digunakan untuk mendapatkan gelar sarjana di perguruan tinggi lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, apabila dikemudian hari terdapat gugatan, penulis bersedia dikenakan sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Bogor, 28 Desember 2022

Shinta Ratnasari

066117030

**SURAT PELIMPAHAN SKRIPSI, SUMBER INFORMASI, SERTA
KEKAYAAN INTELEKTUAL KEPADA UNIVERSITAS PAKUAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah in:

Nama : Shinta Ratnasari

NPM : 066117030

Judul Skripsi : Pengaruh Kapsul Ekstrak Kapang Endofit Daun Sirsak
(*Annona muricata* L.) Terhadap Kadar Kreatinin Pada Tikus
Sprague Dawley Betina Yang Diinduksi Oleh DMBA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi diatas adalah bentuk karya saya dengan arahan dari kedua pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun.

Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka dibagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya limpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Pakuan.

Bogor, 28 Desember 2022

Shinta Ratnasari

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil'alamin

Puji dan syukur ku persembahkan kepada Allah SWT karena atas berkat, rahmat dan karunia nya tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik. Tugas akhir ini dipersembahkan untuk semua orang yang kucintai dan kusayangi.

Skripsi ini saya persembahkan sepenuhnya kepada kedua orang tua saya, Mamah dan papa. Karena berkat doa dan dukungan merekalah saya bisa menyelesaikan kewajiban saya hingga skripsi ini dapat diselesaikan. Terima kasih Mah, Pah atas segala pengorbanan, nasihat dan doa yang tulus kepadaku.

-Terimakasih-

Kepada Bapak Dr.Ir.Akhmad Endang Zainal Hasan., M.Si & Ibu apt. Nisa Najwa Rokhmah,M.Farm yang telah membimbing, menasehati, mendidik dan selalu memberikan motivasi sehingga akhirnya tugas akhir saya dapat terselesaikan dengan baik.

-Terimakasih-

Terima kasih kepada suami saya Bharatu Febriyantama yang telah banyak berperan dalam memberikan semangat, dukungan dan doa agar dapat melanjutkan ketahap selanjutnya. Kepada adik saya Intan Ambarsari yang telah memberikan support system. Kepada dr. Jimmy dan Ibu Ida yang telah memberikan waktu menyusun skripsi sambil bekerja. Kepada dr. Rosha, dr. Silvana, Bd. Tresyah Br.Purba., S.Keb, apt. Isnaeni Puspa Negara, S.Farm , apt. Anisya Putri Mayang Sari, S.Farm , apt. Saulisa Aparada Maewi, S.Farm dan Staff lainnya yang tidak bisa saya sebutkan satu per satu. Kepada sahabat saya Annisa I, Annisa R, Adimas dan Neng Indah terima kasih atas bantuan dan dukungannya selama ini.

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



SHINTA RATNASARI, lahir di Bantul, 20 Februari 1997. Penulis merupakan anak Sulung yang terlahir dari pasangan Bapak Budi Prayitno dan Ibu Suratmiati. Penulis memulai pendidikan formalnya pada tahun 2002 di TK NURUL HIDAYAH dan lulus pada tahun 2003, dilanjutkan melakukan pendidikan di SDN Cimandala 02 dan lulus pada tahun 2009. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan tingkat menengahnya di SMP YAYASAN PUTRA PAKUAN BOGOR pada tahun 2012,

kemudian melanjutkan Pendidikan ke sekolah menengah atas di SMK FARMASI BOGOR dan lulus pada tahun 2015. Pada tahun yang sama penulis langsung bekerja di Klinik Zenna Medika sampai sekarang. Ditahun 2017 penulis memutuskan untuk melanjutkan pendidikannya ke jenjang sarjana S1 di Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan Bogor.

Pada tahun 2022 menyelesaikan skripsi dengan judul “**Pengaruh Ekstrak Kapang Endofit Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Kadar Kreatinin Pada Tikus *Sprague Dawley* Betina Yang Di Induksikan Oleh 7,12 Dimetilbenz(α)Antrasen**” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi di Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan Bogor. Pada tanggal 28 Desember 2022 penulis dinyatakan lulus sebagai Sarjana Farmasi.

KATA PENGANTAR

Segala Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayah-Nya. Sehingga penulis dapat menyelesaikan Hasil Penelitian dengan Judul **“Pemberian Kapsul Ekstrak Kapang Endofit Daun Sirsak (*Annona muricata* L) Terhadap Kadar Kreatinin Pada Tikus *Sprague Dawley* Betina Yang Di Induksikan 7,12 Dimetilbenz(α)Antrasen”**. Hasil Penelitian ini disusun atas bimbingan dan saran dari berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Akhmad Endang Zainal Hasan, M.Si. Selaku Pembimbing I dan Apt. Nisa Najwa Rokhmah, M.Farm. Selaku Pembimbing II .
2. Dekan Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan Bogor dan Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan Bogor.
3. Seluruh staff dosen dan karyawan dilingkungan Program Studi Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan Bogor.
4. Kedua orang tua yang telah memberikan do'a, dukungan dan motivasi selama ini.
5. Sahabat yang memberikan semangat selama ini.

Penulis Menyadari bahwa penulisan usulan penelitian ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu , kritik dan saran yang sangat berarti untuk penulis dan semoga dapat bermanfaat untuk penulis sendiri maupun pembaca.

Bogor, 28 Desember 2022

(Shinta Ratnasari)

RINGKASAN

SHINTA RATNASARI 066117030. 2022. **Pengaruh Ekstrak Kapang Endofit Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Kadar Kreatinin Pada Tikus *Sprague Dawley* Betina Yang Di Induksikan 7,12 Dimetilbenz(α)antrasen.** Dibawah bimbingan: Akhmad Endang Zainal Hasan dan Nisa Najwa Rokhmah.

Kanker payudara merupakan perkembangan dari tumor ganas yang berasal dari jaringan payudara. Kanker payudara memiliki angka tertinggi ke dua di Indonesia dengan estimasi angka kematian 61.682. Penyebab utama pada kanker payudara belum dapat dipastikan dengan jelas, namun adapun salah satu faktor yang dapat mempengaruhi tumbuh kembang sel kanker yaitu radikal bebas. Pada kanker payudara terjadi penurunan kadar kreatinin karena penggunaan zat karsinogen yang dapat merubah jaringan normal menjadi jaringan kanker melalui radikal bebas.

Kapang endofit merupakan mikroba yang hidup didalam jaringan tumbuhan hidup dan tidak merugikan inangnya. Senyawa bioaktif yang telah dihasilkan oleh kapang endofit antara lain senyawa anti kanker, antimikroba dan sebagainya. Pada penelitian ini akan dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kapang endofit daun sirsak terhadap kreatinin dan trombosit darah pada tikus putih yang di induksikan DMBA.

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih *Sprague Dawley* sebanyak 20 ekor kemudian dibagi dalam 5 kelompok, yaitu kelompok 1 sebagai kontrol normal (tidak diinduksikan DMBA), kelompok 2 sebagai kelompok sakit (diinduksikan DMBA), kelompok 3 dengan dosis 20 mg/kgBB, kelompok 4 dengan dosis 40 mg/kgBB dan kelompok 5 dengan dosis 80mg/kgBB yang masing-masing kelompok berjumlah 4 ekor tikus putih galur *Sprague Dawley*. Parameter yang di uji pada penelitian ini adalah kadar kreatinin dan trombosit darah. Penelitian ini merupakan penelitian preventif atau pencegahan. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak kapang endofit daun sirsak memberikan pengaruh terhadap kadar kreatinin dan trombosit darah hewan coba yang diinduksikan DMBA didapati perubahan yang dapat menghambat karsinogenesis.

Kata Kunci : Kanker Payudara, Kreatinin dan Trombosit, Ekstrak Kapang Endofit Daun Sirsak, Preventif

SUMMARY

SHINTA RATNASARI 066117030. 2022. **Effect of Soursop Leaf Endophytic Mold Extract (*Annona muricata* L.) Against Creatinine Levels In Female Sprague Dawley Rats Induced 7.12 Dimethylbenz(α)anthracene.** Under the guidance of: Akhmad Endang Zainal Hasan and Nisa Najwa Rokhmah.

Breast cancer is the development of a malignant tumor originating from breast tissue, breast cancer has the second highest rate in Indonesia with an estimated absolute number of 61,682. The main cause of breast cancer cannot be ascertained clearly, but one of the factors that can affect the growth and development of cancer cells is free radicals (Pouhrahmad *et a l.*2016). In breast cancer, there is a decrease in creatinine levels due to the use of carcinogenic substances that can convert normal tissue into cancerous tissue through free radicals (Nur Intan Pratiwi, 2016).

Endophytic mold is a microbe that lives in living plant tissues and does not harm its host. Bioactive compounds that have been produced by endophytic mold include anti-cancer compounds, antimicrobials and so on (Sriwijayanti *et al.* 2019). In this study, it will be carried out to determine the effect of soursop leaf endophytic mold extract on creatinine and blood platelets in white rats induced by DMBA.

The experimental animals used in this study were 20 *Sprague Dawley* white mice and then divided into 5 groups, namely group 1 as a normal control (not induced DMBA) , group 2 as a sick group (DMBA induced), group 3 at a dose of 20 mg/kgBB, group 4 at a dose of 40 mg/kgBB and group 5 at a dose of 80mg/kgBB each group numbered 4 white rats of the Sprague Dawley strain. The parameters tested in this study were creatinine and blood platelet levels. This research is a preventive or preventive study. The results of this study proved that the endophytic mold extract of soursop leaves had an effect on creatinine and platelet levels of the blood of experimental animals induced by DMBA found changes in .

Keywords : Breast Cancer, Creatinine and Platelets, Soursop Leaf Endophytic Mold Extract, Preventive.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS ILMIAH	ii
SURAT PELIMPAHAN SKRIPSI	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Hipotesis	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Daun Sirsak (<i>Annona muricata L.</i>)	4
2.1.1 Deskripsi Tanaman Daun sirsak	5
2.1.2 Klasifikasi Tanaman Sirsak	6
2.1.3 Kandungan dan Manfaat Tanaman Sirsak	7
2.2 Kapang Endofit	8
2.3 DMBA	9
2.4 Kanker Payudara	9
2.5 Kreatinin	11
2.6 Trombosit.....	12
2.7 Metode Pemeriksaan	12
2.8 Tikus Putih	14
BAB III METODE PENELITIAN	15

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2 Alat dan Bahan	15
3.2.1 Alat	15
3.2.2 Bahan	15
3.3 Kaji Etik	15
3.4 Pemeliharaan dan Persiapan hewan coba	16
3.5 Prosedur Kerja	16
3.5.1 Pelarutan Kapsul Ekstrak Kapang Endofit daun Sirsak.	16
3.5.2 Larutan DMBA.....	16
3.6 Tahap Perlakuan Hewan Coba	16
3.7 Analisis data.....	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.	19
4.1 Hasil Aklimatisasi Hewan Coba.....	19
4.2 Model Hewan Tumor Payudara.....	19
4.3 Profil Kadar Kreatinin	20
4.3 Profil Kadar Trombosit	21
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.	27
5.1 Kesimpulan.....	27
5.2 Saran.. ..	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	36

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daun Sirsak (<i>Annona muricata L.</i>).....	5
2. Tumbuhan Sirsak	6
3. Ekstrak Kapang Endofit Daun Sirsak.....	9
4. Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	14

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kelompok Perlakuan.....	17
2. Hasil Pengujian Kadar Kreatinin.....	21
3. Persentase Kadar Trombosit	23
4. Volume Maksimum Larutan Sediaan.....	41
5. Konversi Dosis	42
6. CV Sebelum dan Sesudah Aklimatisasi.....	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alur Penelitian	37
2. Pembuatan Ekstrak Etil Asetat.....	38
3. Rancangan Perlakuan Hewan Coba	39
4. Kaji Etik	40
5. Tabel Volume Maksimal.....	41
6. Tabel Konversi Dosis	42
7. Perhitungan Jumlah Sampel.....	43
8. Perhitungan Larutan Stok DMBA.....	44
9. Perhitungan Dosis	45
10. Perhitungan Coefficient Of Variation (CV).....	47
11. Hasil Pengamatan.....	49
12. Pengujian Spss Metode Rak.....	50
13. Dokumentasi	54

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker payudara merupakan perkembangan dari tumor ganas yang berasal dari jaringan payudara. Kanker payudara memiliki angka tertinggi ke dua di Indonesia dengan estimasi angka absolut 61.682. Macam-macam terapi kanker payudara yang dikenal saat ini yaitu dengan melakukan pembedahan, radioterapi, kemoterapi, sitostatika, terapi hormonal, terapi biologis, hingga penggunaan obat herbal (Rikesdas, 2013). Penyebab utama pada kanker payudara belum dapat dipastikan dengan jelas, namun adapun salah satu faktor yang dapat mempengaruhi tumbuh kembang sel kanker yaitu radikal bebas (Pouhrahmad *et al.* 2016).

Pada kalangan masyarakat sudah mulai memahami bahwa obat modern yang pada dasarnya berupa zat kimia mempunyai kekurangan yang signifikan sementara pada pemahaman yang lain terdapat keunggulan pada obat herbal (Winarto, 2004). Tanaman obat yang dapat digunakan sebagai obat untuk pengobatan antikanker yaitu salah satunya adalah kapang endofit sirsak (*Annona muricata L.*). Kapang endofit sirsak (*Annona muricata L.*) yaitu tanaman yang hidup pada daerah tropis seperti Indonesia (Suhendar, 2015).

Mikroba endofit merupakan mikroba yang tumbuh dalam jaringan tanaman yang hidup dengan membuat koloni dalam jaringan tanpa membahayakan inangnya (Strobel dan Daisy, 2003). Mikroba endofit terdapat pada jaringan tanaman seperti bunga, buah, batang, daun, akar dan biji serta sebagai pelindung bagi tanaman dan inangnya (Hung dan Annapurna, 2004). Berbagai jenis tanaman obat dapat digunakan sebagai sumber isolate kapang endofit. Radji (2005). Menyatakan bahwa kapang endofit memiliki potensi sebagai penghasil metabolit sekunder yang sama seperti inangnya dalam jumlah yang sama bahkan bisa lebih tinggi dibandingkan dengan metabolit inang aslinya. Kapang endofit yang berasal dari tanaman merupakan sumber metabolit sekunder. Salah satu tanaman yang dapat digunakan kapang

endofitnya adalah kapang endofit daun sirsak. Salah satu kapang endofit yang terdapat pada daun sirsak yaitu *Phomopsis sp.* Ekstrak kapang endofit daun sirsak etil asetat tersebut sudah melalui uji secara *in vitro* terhadap sel MCF7 (Michigan Cancer Foundation-7) dan menghasilkan IC50 sebesar 19.20 µg/mL dan tidak bersifat sitotoksik terhadap sel normal. Menurut penelitian ini telah diketahui bahwa ekstrak etil asetat kapang endofit daun sirsak memiliki aktivitas sebagai antikanker (Minarni, 2016).

7,12 dimethylbenz(α)anthracene (DMBA) merupakan senyawa karsinogen golongan polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH), yang berasal dari polutan lingkungan dan produk pirolisis minyak dan material biologi, DMBA banyak digunakan sebagai penginduksi karsinogen kanker payudara pada tikus. DMBA juga dapat dibilang senyawa prokarsinogen dan bertindak sebagai karsinogen potensial dengan menghasilkan berbagai zat metabolik reaktif yang dapat menyebabkan stres oksidatif dan juga dapat menimbulkan kerusakan jaringan. Beberapa jaringan seperti kelenjar susu juga dapat bertanggung jawab atas pengendapan senyawa hidrofobik seperti DMBA. Pengobatan kanker berkembang terus menerus dan berbagai penelitian yang diteliti saat ini banyak menggunakan ekstrak tumbuhan sebagai terapi suportif kanker. Salah satu bahan alam yang digunakan adalah daun *Annona muricata L* dengan kandungan kimia berupa alkaloid, senyawa fenolik dan beberapa kandungan lainnya termasuk senyawa *acetogenin* (Kaminska *et al.* 2015).

Kreatinin merupakan jenis asam amino yang tersimpan di dalam otot sebagai sumber energi (Irawan, 2017). Kreatinin juga dapat diartikan sebagai produk endogenus akhir dari hasil metabolisme kreatinin fosfat terutama disintesis oleh hati dan terdapat di dalam otot rangka yang terikat reversible dengan fosfat dengan bentuk fosfokreatinin atau kreatinin fosfat, yakni senyawa yang menyimpan energi. Pemeriksaan pada kreatinin dalam darah merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk menilai fungsi ginjal normal, pemeriksaan ini juga dapat digunakan sebagai perlakuan terapi pada gangguan fungsi ginjal (Fuadi,2009).

Kadar kreatinin dalam darah dapat mengalami peningkatan pada obstruksi traktus urinarius, masalah pada ginjal seperti kerusakan atau gagal ginjal, infeksi dan penurunan aliran darah, dehidrasi, masalah pada otot. Sedangkan kadar kreatinin dapat menurun pada kondisi yang melibatkan otot dan saraf yang mengendalikannya dan pada permasalahan otot. Pada penggunaan obat kemoterapi dapat meningkatkan resiko gangguan ginjal yang dapat terlihat dari peningkatan kadar ureum dan kreatinin dalam darah. Peningkatan pengobatan alternatif maupun komplemen menggugurkan obat-obatan herbal pada berbagai penyakit dapat meningkatkan toksik pada ginjal, sebagai organ utama yang mengekskresi obat.

Berdasarkan latar belakang tersebut penelitian ini bertujuan untuk melakukan dan mengetahui pengaruh dari ekstrak kapang endofit daun sirsak terhadap kadar kreatinin pada tikus putih yang sudah diinduksikan DMBA.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kapang endofit daun sirsak (*Annona muricata* L) terhadap kadar kreatinin dan trombosit darah pada tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diinduksi 7,12-Dimethylbenz(α) antrasen .

1.3 Hipotesis

Ekstrak kapang endofit daun sirsak (*Annona muricata* L) dapat memberikan pengaruh terhadap kadar kreatinin dan trombosit pada tikus putih (*Rattus novergicus*) yang diinduksi 7,12-Dimethylbenz(α) antrasen.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Sirsak

Tanaman sirsak merupakan tanaman yang berasal dari Belanda, *Zuurzak* yang berarti kantung yang asam. Menurut bahasa Indonesia sirsak disebut juga nangka sebrang, nangka Landa atau nangka Walanda, nangka buris, srikaya Jawa, deureuyen Belanda, durio ulondro, durian Betawi, jambu Landa, langelo Walanda, srikaya Belanda, Samani, nama Walanda, naka dan Ai ata malai (CoData,2000). Tanaman sirsak banyak digunakan sebagai tanaman obat yang dapat menyembuhkan dan mengobati berbagai macam penyakit seperti malaria, disentri, demam berdarah dan sebagai pengobatan kanker. Tanaman sirsak dengan beberapa family *Annonaceae* menunjukkan bahwa memiliki aktivitas sebagai antikanker (Roesles *et al.*,2007).

Tanaman sirsak juga sudah tersebar dalam berbagai macam belahan negara , tanaman sirsak ini telah dibawa oleh orang Spanyol menuju ke negara Filipina dan sudah terbukti dapat tumbuh di sebagian negara tropis. Di antaranya adalah negara-negara seperti Benin, Cambodia, China, Cotad'ivoire, Eritrea, Ethiopia, Ghana, India, Laos, Liberia, Mauritania, Nigeria, Tanzania, Thailand, Togo, Uganda, Vietnam, Reunion, Senegal, Sierra Leone, dan termasuk Indonesia (Zuhud,2011).

Kapang endofit sirsak ini memiliki aktivitas sebagai antikanker karena telah dilakukannya penelitian dalam skala laboratorium. Menurut Minarni (2016), ekstrak etil asetat kapang endofit daun sirsak memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara. Ekstrak etil asetat kapang endofit daun sirsak juga dapat digunakan sebagai penghambat sel kanker payudara secara *in vitro*. Kegunaan senyawa aktif kapang endofit daun sirsak memiliki beberapa kelebihan yang lebih cepat dan menghasilkan mutu yang baik dapat memproduksi dalam kondisi yang berbeda (Rante *et al*,2013).



Gambar 1. Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*) (Purwatresna,2012).

2.1.1 Deskripsi Tanaman Sirsak

Sirsak merupakan tumbuhan yang mempunyai ketinggian mencapai 3-4 meter . Daun memanjang berbentuk bulat telur ,ujung daunnya meruncing pendek ,dengan panjang 6-18cm,tepi daun berbentuk rata. Bunga sirsak memiliki kedudukan sendiri yang berhadapan dengan daun dan baunya tidak enak. Daun kelopak kecil dan berdaging pada bagian mahkotanya , tiga dari bagian terluar berwarna hijau,dan berwarna kuning pada bagian selanjutnya,memiliki panjang berkisar antara 3,5-5 cm, pada bagian 3 terdalam berbentuk bulat telur dan berwarna kuning muda. Pada bagian terluar daun kelopak dan daun kuncup tersusun menyerupai katup ,dan daun mahkota yang dalam menyerupai genting. Dasar bunga berbentuk cekung dan benang sari banyak penghubung ruas sari dan pada bagian atas ruas sari akan melebar dan menutup ruangnya yang berwarna putih. Bakal buah banyak,pangkal biji 1. Tangkai pada bagian putik berbentuk tegak lurus dan berambut silindris. Buah majemuk tidak beraturan memiliki bentuk telur miring atau bengkok 15-35 kali dengan diameter berkisar antara 10-15 cm. Biji berwarna hitam dan daging buah berwarna putih (Steenis,2003).



a. Daun

b. Bunga

c. Buah

Gambar 2. Tumbuhan Sirsak (*Annona muricata L.*)

Tanaman sirsak merupakan tanaman yang dapat tumbuh dengan mudah diantara jenis-jenis *Annona* yang lainnya, dan tanaman ini dapat tumbuh pada keadaan iklim tropic maupun yang hangat dan lembab. Tanaman sirsak ini dapat bertumbuh mencapai ketinggian 1200 m dari permukaan laut. Tanaman sirsak juga dapat tumbuh dengan baik pada suhu 22-28°C, dan dengan kelembaban serta curah hujan yang berkisar antara 1500-2500 mm per tahun. Pertumbuhan pada tanaman sirsak dapat dipengaruhi oleh cuaca yang terlalu panas dan terlalu dingin. Pada cuaca yang terlalu dingin pertumbuhan dan perkembangan tanaman sirsak akan sangat terhambat. Sedangkan pada musim kemarau tanaman sirsak akan menyesuaikan diri dengan lingkungannya dengan cara merontokkan daun-daunnya untuk mengurangi penguapan (Herlina dkk.,2011).

2.1.2 Klasifikasi Sirsak (*Annona muricata L*)

Kapang endofit dari tanaman obat dapat digunakan sebagai sumber isolat kapang endofit. Kapang endofit dari tanaman obat merupakan sumber metabolit sekunder. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai kapang endofitnya yaitu kapang endofit daun sirsak dimana tanaman sirsak merupakan tanaman obat yang banyak digunakan sebagai penyembuhan suatu penyakit malaria, disentri, demam berdarah dan salah satunya adalah kanker. Berdasarkan kajian secara kemotaksonomi, beberapa tanaman *family Annonaceae* menunjukkan aktivitas antikanker.

2.1.3 Kandungan Dan Manfaat Daun Sirsak (*Annona muricata L*)

Sirsak terdiri atas 67,5% bagian daging buah yang dapat dikonsumsi, 20% kulit buah, 8,5% biji buah dan 4% empulur (bagian terdalam dari batang yang berpembuluh). Sifat racun yang terkandung dalam tanaman sirsak yang terletak pada bagian biji dapat digunakan sebagai bahan insektisida alami, dan pada bagian daun tanaman sirsak dapat digunakan sebagai penghambat pertumbuhan sel kanker, disentri, asma, anthelmitic, dilatasi pembuluh darah, menstimulasi pencernaan dan mengurangi depresi. Pada bagian batang dan daun sirsak memiliki kandungan zat *annonaceous acetogenins* yang menunjukkan sitotoksik aktif melawan sel kanker, selain memiliki kandungan *annonaceous acetogenin*, batang dan daun sirsak juga terdapat kandungan flavonoid, tannin dan saponin pada ekstrak air daun sirsak yang dapat berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan dan perkembangan tumor. Tanaman sirsak selain memiliki sifat sebagai antikanker juga memiliki sifat anti bakteri, anti jamur dan efektif dalam melawan jenis-jenis parasit seperti cacing, bahkan dapat juga mengobati hipertensi, depresi dan stress (Komansilan, dkk., 2012).

a. Acetogenin

Acetogenin merupakan senyawa yang bersifat sitotoksik dan senyawa ini merupakan senyawa polyketides dengan struktur kimia 30-32 rantai karbon tidak bercabang dan terikat pada gugus *5-methyl-2-furanone*. Rantai *furanone* dalam gugus C23 memiliki aktivitas sitotoksik. Senyawa *acetogenin* merupakan senyawa dari kumpulan senyawa aktif yang terdapat pada setiap bagian tumbuhan sirsak (Li et al., 2008).

Aktivitas sitotoksik diklasifikasikan menjadi empat, yaitu aktivitas tinggi ($LC_{50} < 10$ ig/ml), aktif ($10 < LC_{50} < 50$ ig/ml), aktif sedang ($50 < LC_{50} < 100$ ig/ml) dan tidak aktif ($LC_{50} > 100$ ig/ml). Nilai LC_{50} pada daun sirsak yang rendah menunjukkan kekuatan sitotoksik acetogenin yang tinggi. Karena acetogenin mempunyai khasiat sebagai penghambat pertumbuhan pada sel abnormal dari berbagai macam penyakit (Osorio dkk., 2007).

b. Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa golongan polifenol yang terkandung pada tumbuhan yang memiliki rasa sepat. Tanin terdapat luas dalam jaringan tumbuhan yang berpembuluh, dalam angiospermae terdapat khusus dalam jaringan kayu. Tumbuhan yang memiliki kandungan tanin sangat jarang di hinggapi oleh pemakan tumbuhan karena rasanya

yang sepat, salah satu fungsi dari tanin dalam tumbuhan yaitu sebagai penolak hewan herbivora (pemakan tumbuhan) (Harborne,1987).

c. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman yang hijau, kecuali alga. Flavonoid yang lazim ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi adalah flavan dan flavonol dengan C-dan O- glikosida, isoflavon C- dan O-glikosida, flavanon C- dan O-glikosida, khalkon dengan C- dan O-glikosida, dan hidrokhalkon, proantosianidin dan antosianin, auron O-glikosida dan dihidroflavon O-glikosida (Rohyami,2008).

Senyawa flavonoid mempunyai aktivitas antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas suatu sel spesies yang melakukan reaksi oksidasi didalam sel karena memiliki gugus hidroksi fenolik. Karena flavonoid memiliki sifat antioksidan maka dapat menghambat proses inisiasi karsinogenik dengan cara menghambat aktivasi karsinogenik (Sugiyanto, 2003).

2.2 Kapang Endofit

Kapang endofit merupakan mikroba yang hidup didalam jaringan tumbuhan hidup dan tidak merugikan inang-inangnya. Kapang endofit ini mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme senyawa aktif yang berupa metabolit sekunder yang menjaga inangnya. (Taechowishan *et al.* 2005) kapang endofit memiliki potensi sebagai penghasil metabolit sekunder sama seperti yang dikandung oleh tanaman inangnya, dan jika endofit yang diisolasi dari suatu tanaman obat maka akan menghasilkan flavonoid atau metabolit dalam jumlah yang lebih tinggi, (Radji,2005). Senyawa bioaktif yang telah dihasilkan oleh kapang endofit antara lain senyawa anti kanker,

antimikroba, dan sebagainya. Pada daun sirsak (*Annona muricata* L.) diketahui keberadaan mikroba endofit memiliki jumlah yang sangat tinggi (Sriwijayanti *et al.* 2019).



Gambar 3. Ekstrak kapang Endofit Daun sirsak

2.3 DMBA (7,12 Dimethylbenz[a]antracen)

DMBA merupakan salah satu senyawa prototype dari *Polisiklik Aromatic Hidrokarbon* (PAH) yang bersifat mutagenik, teratogenik, sitotoksis, immunosupresif dan karsinogenik (Lukitaningsih dan Neogrohati, 2000). 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) adalah bahan kimia karsinogen yang banyak digunakan untuk menginduksi karsinogenesis mammae pada tikus. DMBA sering digunakan untuk menginduksi terjadinya kanker pada hewan coba. Pemilihan zat ini sebagai agen karsinogenik karena sifat biologis DMBA yang dapat mengubah jaringan normal menjadi kanker melalui mekanisme radikal bebas. Hubungan DMBA dengan kanker payudara terdapat pada senyawa *Polycyclic Aromatik Hydrocarbon* (PAH) seperti DMBA. Sifat senyawa PAH yang lipofil menyebabkan senyawa PAH cenderung terabsorpsi dalam jaringan lemak (Wongso dan Iswahyudi, 2013).

2.4 Kanker Payudara

Kanker merupakan penyakit atau kelainan pada tubuh sebagai akibat dari sel-sel tubuh yang tumbuh abnormal dan adanya serangan radikal bebas pada DNA dan RNA dalam sel sehingga dapat terjadi pertumbuhan dan perkembangan sel yang abnormal diluar batas kewajaran dan sangat liar yang dapat menyebabkan kerusakan

jaringan. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memprediksikan hampir 80-90% penyakit kanker disebabkan oleh lingkungan, 10-20% faktor genetik atau keturunan dan juga virus (Kumalaningsih,2006).

Kanker payudara dapat menyebabkan angka utama kematian diantara semua penyakit kanker yang dialami oleh wanita . Di dunia penyakit kanker merupakan salah satu masalah kesehatan karena dapat meningkatkan angka kematian dapat diperkirakan bahwa setiap tahunnya terdapat penderita baru dari setiap seratus ribu penduduk dan penyakit kanker menempati urutan ke tiga dari penyebab kematian setelah penyakit jantung dan penyakit paru-paru. Kanker payudara dapat disebut sebagai salah satu jenis kanker yang umum pada wanita dan merupakan kanker yang ganas tumbuh pada jaringan sel payudara. (WHO, 2014).

Kanker payudara merupakan penyakit yang dapat disebabkan oleh beberapa faktor yang dapat mengakibatkan tingkat kematian wanita tertinggi diseluruh dunia. Ada banyak faktor yang sudah banyak terbukti yang dapat menimbulkan terjadinya kanker payudara, yaitu konstitusi genetik, ketidakseimbangan hormon seperti hormon estrogen,progesteron, androgen dan prolaktin. Adapun faktor lain seperti virus, makanan, obesitas dan intoleransi glukosa. Kondisi lingkungan yang tidak sehat pun dapat menyebabkan timbulkan kanker seperti menghirup udara dari asap kendaraan, merokok, karsinogen kimiawi dari makanan dan air minuman (Vorherr, 1980).

Kanker payudara terbagi menjadi dua yaitu ada kanker payudara jinak dan ganas, kanker yang sudah menjadi ganas itu disebabkan oleh pertumbuhan sel yang abnormal dengan cara terus menerus membelah hingga tidak terkendali dan dapat menyerang pada jaringan disekitarnya. Sel kanker dapat menyebar dari tempat asalnya menuju pada bagian tubuh yang lain, biasanya disebut dengan kanker metastatis. Metastatis merupakan pemicu utama tingginya jumlah kematian akibat kanker. Pathological Based Registration menyatakan bahwa di negara Indonesia kanker payudara menduduki tingkat yang tertinggi dengan nilai relatif sebesar 18,6% dan jumlah insiden sebesar 12 / 100.000 wanita dan terdapat peningkatan setiap tahunnya (Satuma dan Fatmawati 2009;KEMENKES 2016).

Penatalaksanaan kanker payudara cukup sulit, karena pengobatan kanker payudara yang bersifat primer dan pembedahan yang sudah dilakukan sejak tahun 1894. Terapi penyembuhan ini hanya dapat dilakukan pada stadium I,II,III awal, sedangkan pada tingkat stadium III akhir dan stadium IV pengobatan lebih bersifat paliatif yang bertujuan untuk mengurangi penderitaan. Terapi lainnya dapat berupa kemoterapi yang bersifat sekunder, radioterapi dan terapi hormon (Vorherr,1980).

2.5 Kreatinin

Kreatinin merupakan hasil produk akhir dari metabolisme kreatinin. Kreatinin sebagian besar berada pada otot, disintesa dalam hati dan di dalam otot rangka dan darah yang direaksikan oleh ginjal ke dalam urine. Jumlah kreatinin yang dapat dihasilkan tergantung pada massa otot. Sejumlah kreatinin dirubah secara irreversibel menjadi kreatinin yang akan dikeluarkan oleh ginjal (Sacher dan McPherson, 2004).

Jumlah kadar kreatinin yang dihasilkan oleh seseorang setiap harinya bergantung pada otot total daripada kerja otot atau tingkat metabolisme protein walaupun keduanya menimbulkan efek. Menurut Banerjee (2005), kreatinin merupakan hasil metabolisme akhir dari kreatin dan fosfokreatin. Kreatinin memiliki bobot molekul 113 dalton. Kreatinin difiltrasi di glomerulus dan diserap kembali di tubular. Kreatinin plasma disintesis di otot skelet sehingga kadarnya bergantung pada massa otot dan berat badan.

Pembentukan kreatinin berlangsung secara terus menerus dan tidak ada mekanisme reuptake oleh tubuh, sehingga kreatinin yang dibentuk oleh otot diekskresikan melalui ginjal sehingga ekskresi kreatinin dapat digunakan untuk melihat filtrasi glomerulus walaupun tidak 100% sama dengan ekskresi inulin yang merupakan uji kelanjutan laju filtrasi glomerulus. Sebagiann kreatinin juga dapat dibuang melalui jalur usus dan mengalami degradasi lebih lanjut oleh usus. Kreatininase bakteri akan merubah kreatinin menjadi kreatin dan kemudian akan kembali kepada darah (Siregar CT, 2009). Ureum merupakan hasil akhir katabolisme protein dan asam amino yang diproduksi oleh hati dan disalurkan melalui cairan ekstraseluler kedalam darah dan di filtrasi melalui glomerulus.

Pemeriksaan kadar kreatinin darah dapat diukur dengan menggunakan absorbansi dengan panjang gelombang tertentu dengan menggunakan spektrofotometer dan prinsip pembacanya terbentuk sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan memiliki alat pengurai prisma dan dapat memilih panjang gelombang tertentu dari sinar putih. Pada kanker payudara stadium awal dapat menurunkan sedikit kadar ureum dan juga kadar kreatinin dalam urine. Penggunaan agen kemoterapi dapat meningkatkan resiko gangguan pada ginjal, yang dapat terlihat dari peningkatan kadar ureum dan kreatinin dalam darah. Dan pada saat penggunaan zat karsinogen DMBA dapat mengubah jaringan normal menjadi jaringan kanker melalui radikal bebas, tidak menunjukkan adanya perbedaan nyata pada profil ginjal. (Nur Intan Pertiwi,2016).

2.6 Trombosit

Trombosit adalah fragmen sitoplasma megakariosit yang tidak berinti dan terbentuk disusut tulang belakang dan ditemukan didalam darah tepi yang berperan dalam pembekuan darah. Trombosit yang sudah matang berukuran berkisar antara 2-4 μm , dan berbentuk cakram bikonveks dengan volume berkisar antara 5-8 fl (M.Biomed C dan Lestari E.,2011).

Umur trombosit setelah pecah dari sel asalnya dan masuk kedalam darah berkisar antara 8 sampai 14 hari. Jumlah trombosit normal adalah berkisar antara 150.000 sampai 450.000/ mm^3 dengan rata-rata 250.000/ mm^3 . Trombosit memiliki bentuk bulat dengan garis tengah 0,75-2,25 μm , tidak mempunyai inti. Kepingan sel (platelet) ini masih dapat melakukan sintesis protein, walaupun sangat terbatas, karna didalam sitoplasma masih terdapat sejumlah RNA. Trombosit masih mempunyai mitokondria, butir glikogen yang mungkin berfungsi sebagai cadangan energi dan 2 jenis granula yaitu granula- α dan granula yang lebih padat (Sadikin, 2013).

2.7 Metode Pemeriksaan Kreatinin dan Trombosit

Metode yang dapat digunakan untuk pemeriksaan kreatinin darah adalah metode *hematology* yang berfungsi untuk pengukuran dan pemeriksaan sel darah. Alat

hematology analyzer memiliki beberapa kelebihan yaitu efisiensi waktu, volume sampel, dan ketepatan hasil. Pemeriksaan dengan *hematology analyzer* dapat dilakukan dengan cepat hanya memerlukan waktu sekitar 45 detik. Sampel darah yang digunakan dapat menggunakan darah perifer dengan jumlah darah yang lebih sedikit. Hasil yang dikeluarkan alat ini biasanya sudah melalui *quality control* yang dilakukan oleh intern laboratorium (Medonic,2016).

Parameter yang dapat digunakan pada penelitian ini menurut Hall 1992, kadar kreatinin tikus normal adalah 0,5-0,8 mg/dL. Kadar kreatinin dalam darah sebanding dengan GFR (*Glomerulus Filtration Rate*) dari ginjal (bioMerieux,2004). Kadar kreatinin normal pada manusia adalah 0,6-1,1 mg/dL (David C dan Dugdale,2013).

Parameter yang dapat digunakan pada penelitian ini pada jumlah trombosit normal pada manusia adalah antara 150.000-450.000/mm³ dengan rata-rata 250.000/mm³ (Sadikin MH.,2002). Menurut Giknis dan Clifford (2008) jumlah trombosit normal pada tikus 638.000 sampai 1.177.000/ μ L.

2.8 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih merupakan hewan yang banyak digunakan sebagai hewan coba peneliti, karena memiliki kemampuan adaptasi yang baik dengan lingkungannya . Tikus memiliki karakteristik fisik sepasang gigi seri berbentuk pahat yang terus tumbuh, memiliki mata kecil, telinganya tidak berambut, dan ekor bersisik yang panjangnya melebihi tubuh dan kepalanya. Berat badan tikus jantan bisa mencapai 500 gram , sedangkan berat badan tikus betina dewasa tidak lebih dari 350 gram. Berat badan tikus dipengaruhi oleh spesies, suhu, lingkungan ,jenis kelamin ,energi, metabolis, kadar protein dalam pakan yang dikonsumsi (Farida , 2007).



Gambar 4. *Tikus Putih (Rattus norvegicus)*

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Balai Besar Penelitian Veteriner (BBLIVET) Bogor. Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Februari 2022 hingga Juli 2022. Pengecekan sampel darah di lakukan di Laboratorium Kesehatan Daerah (LABKESDA) Bogor.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah, autoklaf, kandang tikus, kapas alkohol, labu Erlenmeyer (Pyrex[®]), lemari pendingin, sonde lambung, spuit 1 ml, timbangan analitik.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC), DMBA, Ekstrak kapang endofit daun sirsak, etanol 70%, pakan untuk tikus, air minum *ad libitum*, serbuk gergaji, hewan coba tikus putih betina galur *Sprague Dawley* usia 4 bulan berbobot 150-250 gram,

3.3 Kaji Etik

Penelitian ini sudah melalui uji kaji etik terhadap hewan coba yang digunakan sebagai subjek. Kaji etik penelitian pada hewan coba bertujuan untuk mempertimbangkan rasa sakit yang akan dialami oleh hewan coba dan pemanfaatan yang akan diperoleh serta keamanan proses selama penelitian berlangsung. Kaji etik ini dilakukan pada Komite Etik BBALIVET dengan nomor registrasi : Balitbangtan/BB Livet/Rd/09/2021 yang tertera pada lampiran 3.

3.4 Pemeliharaan Dan Persiapan Hewan Coba

Pada penelitian ini digunakan hewan coba yaitu tikus *Sprague Dawley* sebanyak 20 ekor yang berumur 4 minggu dengan bobot awal 150-250 gram. Tikus diaklimatisasi selama 7 hari didalam kandang BBLIVET.

Pemeliharaan tikus sesuai dengan kode etik. Tikus diberikan makan dan minum *ad libitum* setiap pagi hari dengan rutin dalam waktu jam 7-10 pagi (Kubatka *et al.*2014: Agustin *et al.* 2012), alas tikus berasal dari serbuk gergaji kayu dan penggantian alas disesuaikan dengan kondisi alas. Kemudian digunakan pencahayaan alami dan suhu ruang. Kandang juga dilengkapi dengan pendingin kipas untuk menjaga aliran udara dalam ruangan dan membuang panas yang berlebih.

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Pelarutan kapsul Ekstrak Kapang Endofit Daun Sirsak

Dikeluarkan serbuk dari cangkang kapsul yang berupa zat aktif ekstrak kapang endofit daun sirsak (*Annona muricata* L.), kemudian ditimbang dengan pembagian 3 dosis yaitu 20 mg/kgBB, 40 mg/kgBB, dan 80 mg/kgBB (Hasan dkk, 2015). Kemudian dilarutkan serbuk ekstrak kapang endofit daun sirsak dengan menggunakan aquadest sebagai bahan pelarut.

3.5.2 Larutan DMBA (7,12 Dimethylbenz[*a*]antrasen)

Dosis yang diberikan sama dengan pengaruh pemberian DMBA dengan dosis 20 mg/kgBB (Single doses) (Arroyo-Acevedo dkk,2015). Induksi larutan karsinogenik DMBA diberikan dengan cara disuntikkan pada bagian Intraperitoneal (IP), kemudian diperiksa selama 14 hari hingga muncul benjolan tumor. Larutan DMBA dibuat volume 20 mL untuk sekali pemberian dengan konsentrasi 3 mg/150 gram BB tikus. Sebanyak 60 mg bubuk DMBA ditambahkan 20 mL CMC-Na 0,5 % (Asyura dkk, 2017).

3.6 Tahap Perlakuan Pada Hewan Coba

Pada penelitian ini dilakukan beberapa tahapan pada hewan coba tikus putih galur *Sprague Dawley* dengan berat 150-250 gram dan berumur 4 bulan setelah dilahirkan. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan efektivitas pemberian ekstrak

kapang endofit daun sirsak (*Annona muricata* Linn.) yang ditentukan dengan melihat kadar kreatinin yang sudah diinduksikan sel kanker payudara.

Hewan coba tikus putih galur *Sprague Dawley* dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok 1 sebagai kontrol normal (tidak diinduksikan DMBA), kelompok 2 sebagai kontrol negatif (yang sudah diinduksikan DMBA) kelompok 3 Dosis I (20mg/KgBB), Kelompok 4 Dosis II (40 mg/kgBB) dan Kelompok 5 Dosis III (80 mg/kgBB). Dengan masing- masing kelompok berjumlah 4 ekor tikus putih galur *Sprague Dawley*, sehingga pada penelitian ini berjumlah total hewan coba yang digunakan sebanyak 20 ekor. Kelompok hewan coba dibagi menjadi sebagai berikut :

Tabel 1. Kelompok Perlakuan

No.	Kelompok	Perlakuan yang diberikam
1.	Kontrol Normal	Tikus normal, diberikan akuades 2 ml/200g
2.	Kontrol Sakit	Tikus yang dinduksikan DMBA 3mg/kgBB secara Intraperitonal (IP)
3.	Dosis 1 endofit	Tikus yang diberikan kapsul ekstrak kapang daun sirsak dosis 20 mg/kgBB dan diinduksikan DMBA
4.	Dosis 2 endofit	Tikus yang diberikan kapsul ekstrak kapang daun sirsak dosis 40 mg/kgBB dan diinduksikan DMBA
5.	Dosis 3 endofit	Tikus yang diberikan kapsul ekstrak kapang daun sirsak dosis 80 mg/kgBB dan diinduksikan DMBA

Setelah diaklimatisasi 7 hari dan pada hari ke 8 dilakukan pemberian kapsul ekstrak kapang endofit daun sirsak, kemudian dilakukan induksi DMBA secara IP (Intra Peritonal) dan di lihat pada waktu ke 14 hari ada atau tidaknya pertumbuhan nodul, dan pada hari terakhir perlakuan dilakukan Kembali pemeriksaan darah

meliputi nilai kreatinin dan trombosit pada hewan coba untuk melihat apakah terdapat perubahan setelah dilakukan pemberian ekstrak kapang endofit daun sirsak tersebut.

3.7 Analisis Data

Penelitian ini merupakan penelitian *true eksperimen* secara *in vivo*. True eksperimen merupakan metode penelitian kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui pengaruh variabel Independen (perlakuan) terhadap variabel dependen (hasil). Data kuantitatif dari jumlah pemberian ekstrak kapang endofit daun sirsak, Kadar kreatinin yang di peroleh akan diolah dengan cara statistik dengan menggunakan metode *uji Rancangan Acak Kelompok (RAK)* dengan taraf signifikan 0,05 dan nilai signifikan diterima apabila $P < 0,05$ dalam SPSS akan dianalisis berdasarkan *analysis of variance (ANOVA)* untuk menunjukkan ada atau tidak adanya perbedaan kadar kreatinin yang signifikan antara kelompok kontrol yang diberi bahan uji.

Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dan 4 pengulangan dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha \leq 0,05$). Perlakuan yang digunakan yaitu kelompok normal (K1), kelompok sakit (K2), kelompok dosis (20 mg/dL) (K3), kelompok dosis II (40 mg/dL) (K4), kelompok dosis III (80 mg/dL) (K5). Dilanjut dengan uji Duncan, uji ini digunakan untuk mengetahui dosis mana yang paling efektif bagi hewan coba dibandingkan dengan control positif dan negatif.

Model matematika yang digunakan untuk analisis data yaitu :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Dimana :

$$i = 1, 2, \dots, 6 \text{ dan } j = 1, 2, \dots, r$$

$$Y_{ij} = \text{Pengamatan pada perlakuan ke-} i \text{ dan kelompok ke-} j$$

$$\mu = \text{Rataan umum}$$

$$\tau_i = \text{Pengaruh Perlakuan ke-} i$$

$$\beta_j = \text{Pengaruh Perlakuan ke-} j$$

$$\varepsilon_{ij} = \text{Pengaruh acak pada perlakuan ke-} i \text{ dan kelompok ke-} j$$

BAB IV

PEMBAHASAN

4.1 Hasil Aklimatisasi Hewan Coba

Penelitian, dilakukan kaji etik terlebih dahulu terhadap hewan coba guna untuk menjamin kesejahteraan dan keamanan hewan coba selama proses penelitian. Kaji etik ini telah disetujui oleh komite etik BBLIVET (Balai Besar Penelitian Veteriner) dengan nomor registrasi Balitbangtan/BBLivet/P.d/09/2021 yang dapat dilihat pada lampiran 3.

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian yaitu tikus putih betina galur *Sprague Dawley* sebanyak 20 ekor dengan bobot \pm 150 gram dan diaklimatisasi selama 7 hari didalam kandang hewan penelitian BBLIVET Bogor. Tujuan dilakukannya aklimatisasi yaitu agar hewan coba dapat beradaptasi terhadap lingkungan dan suasana baru sehingga dapat meminimalisasi efek stress yang dapat berpengaruh terhadap metabolisme. Sebelum dilakukan aklimatisasi, hewan coba dilakukan penimbangan bobot badan terlebih dahulu agar dapat dihitung koefisien variasinya (*Coefficient of Variation*). Nilai CV yang diperoleh sebelum dilakukan aklimatisasi sebesar 3,47% dan setelah dilakukan aklimatisasi nilai Cv yang diperoleh sebesar 5,55%. Hasil yang diperoleh dari persentase CV sebelum dan sesudah dilakukan aklimatisasi sudah sesuai dengan persyaratan. Syarat hewan coba tikus masih dapat dikatakan homogen apabila CV <15% (Montgomery, 1991). Setelah dinyatakan homogen, hewan coba tikus dapat dilakukan percobaan penelitian.

4.2 Model Hewan Coba Tumor Payudara

Kanker payudara merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh sel yang tumbuh secara abnormal yang dapat berubah menjadi tumor ganas dan dapat merusak sel dan jaringan sehat. Penyakit kanker dapat tumbuh pada semua bagian tubuh (Manurung, 2018). Kanker terjadi bila sel-sel normal dalam tubuh dapat menyerang jaringan didekatnya, atau pindah ke lokasi yang jauh dengan memasuki system peredaran darah atau system limfatik. Sebelum dilakukan induksi DMBA hewan coba

diberikan pencegahan dengan diberikannya larutan ekstrak endofit daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang dibagi menjadi 3 kelompok yaitu kelompok dosis I (K2) dengan dosis 20 mg/kgBB, dosis II (K3) dengan dosis 40 mg/kgBB dan dosis ke III (K4) dengan dosis 80 mg/kgBB. Hal ini dilakukan untuk melihat pengaruh kapsul ekstrak kapang endofit daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap kenaikan kadar kreatinin dan trombosit darah pada hewan coba yang dapat meningkatkan pertumbuhan sel kanker payudara.

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini dilakukan penginduksian DMBA dengan cara intraperitoneal (IP) yang dilakukan pada minggu ke-3 dan minggu ke-4. Kemudian selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar kreatinin dan trombosit darah dan didapati hasil dengan rata-rata sebelum dan sesudah diberikan ekstrak kapang endofit daun sirsak (*Annona muricata* L.) serta diinduksikan DMBA yang dapat dilihat pada tabel 2 dan 3.

4.3 Profil Kadar Kreatinin Darah Tikus *Sprague Dawley*

Pada penelitian ini telah dilakukan pengujian darah tikus yang diambil melalui jantung (Intrakardial). Pengambilan darah melalui intracardial dilakukan untuk memperoleh jumlah darah dalam volume yang banyak. Langkah awal pengambilan darah melalui intracardial yaitu dengan di anastesi tikus kemudian dapat langsung dilakukan pengambilan darah dengan cara menusukkan langsung jarum suntik kearah jantung tikus dan dilakukan penarikan darah. Atau dengan cara tikus dibedah terlebih dahulu setelah di anastesi kemudian jarum langsung di tusukkan kebagian jantung tikus.

Darah yang didapat dikumpulkan dan dimasukkan kedalam tabung Eppendorf yang sudah diberikan larutan ETDA. Darah yang sudah dimasukkan dalam tabung Eppendorf lalu di uji dengan menggunakan alat *Hematology Analyzer* untuk melakukan pengukuran dan pemeriksaan sel darah dalam sampel darah. Alat *Hematology Analyzer* memiliki beberapa kelebihan yaitu efisiensi waktu, volume sampel dan ketepatan hasil. Pemeriksaan dengan menggunakan alat *Hematology Analyzer* dapat dilakukan dengan cepat hanya memerlukan waktu kurang lebih 45

detik. Hasil yang dikeluarkan oleh alat *Hematology Analyzer* sudah melalui *Quality Control* yang telah dilakukan oleh laboratorium.

Hasil pengukuran kadar kreatinin darah tikus putih *Sprague Dawley* dilakukan pada hari ke 29 sesudah diberikan perlakuan dapat dilihat pada tabel 2

Tabel 2. Hasil Pengujian Kadar Kreatinin Darah

Rata-rata Kadar Kreatinin Darah	
Kelompok	Rata-rata
Normal	0,675 ± 0,022 ^c
Sakit	0,43 ± 0,046 ^a
Dosis I	0,47 ± 0,015 ^{ab}
Dosis II	0,537 ± 0,072 ^b
Dosis III	0,48 ± 0,030 ^{ab}

Keterangan :

1. K(1) kontrol normal, K(2) kontrol sakit (DMBA), K(3) dosis I + DMBA, K(4) dosis II + DMBA, dan K(5) dosis III + DMBA
2. Angka yang ditambahkan huruf superskrip (a,b,c) berbeda pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (Sig < α 0,05)

Hasil pengujian kadar kreatinin darah yang ditunjukkan pada tabel diatas menyatakan bahwa secara umum telah terjadi perubahan kadar kreatinin darah setelah diberikan induksi DMBA. Hal ini terlihat dari perbedaan yang signifikan dari semua hewan coba yang diinduksikan DMBA dengan kelompok normal. Pada kelompok sakit yang hanya diinduksikan DMBA memiliki kadar kreatinin paling rendah, hal ini dikarenakan DMBA memberikan pengaruh terhadap kadar kreatinin (Penepri,2016). Kadar kreatinin normal pada tikus adalah 0,5-0,8 mg/dL, sehingga dari tabel dapat terlihat hanya kelompok normal dan dosis II yang memiliki kadar kreatinin normal.

Kadar kreatinin dalam darah sebanding dengan GFR (*Glomerulus Filtration rate*) dari ginjal dan pada manusia kadar kreatinin normal adalah 0,6-1,1 mg/dL. Semakin tinggi kadar kreatinin maka akan memperburuk kinerja ginjal pada penderita kanker payudara. Kadar kreatinin didalam tubuh dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah massa otot. Sebanyak 40-80% pasien kanker payudara cenderung mengalami malnutrisi dan kehilangan 6% berat badannya yang kemungkinan mempengaruhi massa otot.

Dari tabel 2 hasil analisis statistik dapat terlihat bahwa dosis II memiliki efek terbaik dalam mencegah penurunan kadar kreatinin. Dosis I, Dosis II dan Dosis III menghasilkan rata-rata kadar kreatinin yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok sakit. Berdasarkan hasil analisis RAK dan uji lanjut Duncan, menunjukkan bahwa pemberian larutan kapsul ekstrak kapang etil asetat kapang endofit daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang dilakukan selama 14 hari memberikan pengaruh antara dosis dan perlakuan.

Penelitian ini merupakan penelitian preventif atau pencegahan, dimana hewan coba yang digunakan diberikan ekstrak kapang endofit daun sirsak (*Annona muricata* L.) terlebih dahulu dengan 3 dosis yang berbeda yaitu dosis I (20 mg/kgBB), dosis II (40 mg/kgBB) dan dosis III (80 mg/kgBB). Setiap hewan coba yang sudah dilakukan pemberian ekstrak kapang endofit daun sirsak dan sudah mendapatkan hasil dari uji statistik, maka hasil tersebut dibandingkan dengan kelompok normal dan juga dengan kelompok sakit. Karena pada penelitian ini dilakukan sesudah diberikannya perlakuan. Hal ini dilakukan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak kapang endofit daun sirsak dalam mencegah penurunan kadar kreatinin darah pada hewan coba tikus yang diinduksikan DMBA.

Penurunan kadar kreatinin dalam darah merupakan salah satu pengaruh terjadinya pertumbuhan kanker payudara. Penurunan kadar kreatinin dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah massa otot. Pada pasien kanker cenderung mengalami malnutrisi dan kehilangan berat badan yang mempengaruhi massa otot. Pada penggunaan ekstrak kapang endofit daun sirsak dalam jumlah

berlebih dapat menyebabkan kerusakan beberapa kompartemen ginjal seperti pembuluh darah, glomerulus, dan tubulus. Kerusakan pada ginjal dapat menyebabkan penurunan fungsi ekskresi ginjal.

DMBA dapat menginduksi ROS (Radikal Bebas) yang dapat menyebabkan DNA rusak. Penurunan sel antioksidan dari mekanisme pertahanan dan peroxidase lipid keberadaan ROS (Radikal Bebas) yang berlebih menyebabkan terjadinya stress oksidatif karna adanya ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh sehingga terjadi kerusakan sel yang ditandai dengan penurunan kadar antioksidan tubuh (Fiqriyana, 2010). Pemberian DMBA dapat menginduksi kerusakan sel ginjal melalui peningkatan stress oksidatif dengan mengaktifasi sitokrom P-450, sehingga hal ini akan mengubah kemampuan ginjal untuk berfungsi secara normal. Senyawa DMBA akan menyebabkan kerusakan ginjal berupa degenerasi hidropik, nekrosis, hilangnya brush border, dan dilatasi tubulus. Kerusakan ini terjadi akibat DMBA yang menyebabkan DNA dan peningkatan ROS dalam sel mampu merusak jaringan yang memicu terjadinya inflamasi.

4.4 Profil Kadar Trombosit Darah Tikus *Sprague Dawley*

Tabel 3. Hasil Pengujian kadar Trombosit Darah

Rata-rata Kadar Trombosit Darah (L/mm³)	
Kelompok	Rata-rata
Normal	885500 ± 67677,54 ^d
Sakit	200000 ± 60905,66 ^a
Dosis I	567250 ± 28463,79 ^b
Dosis II	570250 ± 124018,9 ^b
Dosis III	718500 ± 40850,34 ^c

Keterangan :

1. K(1) kontrol normal, K(2) kontrol sakit (DMBA), K(3) dosis I + DMBA, K(4) dosis II + DMBA, dan K(5) dosis III + DMBA
2. Angka yang ditambahkan huruf superskrip (a,b,c) berbeda pada kolom yang sama menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata ($\text{Sig} < \alpha 0,05$)

Hasil pengujian kadar trombosit darah yang di tunjukkan pada tabel di atas menyatakan bahwa secara umum telah terjadi perubahan kadar trombosit darah setelah diberikan induksi DMBA. Pada kelompok sakit yang hanya diinduksikan DMBA terjadi penurunan kadar trombosit darah, hal ini dikarenakan DMBA memberikan pengaruh pada kadar trombosit darah, tetapi penurunan kadar trombosit darah yang didapat nilainya masih dalam rentang normal hal ini sesuai dengan penelitian (Sadikin MH.,2002).

Kadar trombosit normal pada darah manusia adalah $150.000-450.000/\text{mm}^3$ dengan rata-rata $250.000/\text{mm}^3$ sedangkan menurut Giknis dan Clifford (2008) pada tikus kadar normal trombosit adalah 638.000 sampai $1.177.000/\mu\text{L}$. Semakin tinggi kadar trombosit darah maka akan merusak ginjal dan membahayakan sel darah pada kondisi pasien penderita kanker payudara dan apabila terjadi penurunan kadar trombosit darah pada pasien penderita kanker payudara maka akan mengakibatkan terganggunya proses fragmentasi sitoplasma megakariosit.

Berdasarkan hasil analisis statistik yang didapat dari hasil penelitian pada tabel 3 terlihat bahwa kadar trombosit hanya pada dosis III dan kelompok normal yang memiliki efek terbaik dalam mecegah penurunan kadar trombosit darah. Sedangkan pada kelompok lain berada dibawah rentang normal. Hasil analisis statistic menunjukkan belum ada salah satu perlakuan dosis yang memiliki efek sama dengan kelompok normal, hanya dosis III yang mendekati kelompok normal. Namun semua dosis perlakuan memiliki efek yang berbeda dengan kelompok sakit. Sehingga kapang

endofit daun sirsak memiliki efek dalam menaikkan kadar trombosit namun belum bisa mencapai kadar normal.

Penurunan jumlah kadar trombosit terjadi melalui efek langsung dan tidak langsung pada sumsum tulang belakang. Efek langsung terjadi jika obat kemoterapi langsung memberikan efek pada sel darah sedangkan efek tidak langsung terjadi jika kemoterapi memberikan efek pada faktor pertumbuhan yang diperlukan untuk pematangan atau pemeliharaan sel. Menurunnya jumlah trombosit setelah kemoterapi disebabkan oleh hypoplasia sumsum tulang, destruksi trombosit yang berlebih, pelepasan mediator toksik kedalam sumsum tulang, sekuestrasi trombosit di limpa, penghambatan faktor pertumbuhan trombosit dan apoptosis megakariosit.

Pemberian ekstrak kapang endofit daun sirsak tidak hanya mengenai sel kanker tetapi efeknya juga bisa mengenai sel normal. Mekanisme toksisitas pada sel normal mirip dengan efek toksisitas yang diinginkan pada sel kanker. Efek yang paling umum terjadi pada saluran cerna sumsum tulang, apabila mengenai sumsum tulang maka akan mengakibatkan sumsum tulang berdampak penurunan jumlah trombosit. Penurunan jumlah trombosit merupakan salah satu pengaruh terjadinya pertumbuhan kanker payudara. Penurunan kadar trombosit dapat disebabkan oleh adanya penekanan pada sumsum tulang sehingga mengakibatkan terganggunya proses fragmentasi sitoplasma megakariosit (Mimi S, 2015).

Kanker adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal. Sel-sel kanker akan berkembang dengan cepat, tidak terkendali, dan akan tetap membelah diri, selanjutnya akan menyusup kedalam jaringan yang berada di sekitarnya dan akan terus menyebar melalui jaringan ikat, darah, dan akan menyerang organ-organ penting serta saraf tulang belakang (Rasjidi,2007).

Ekstrak kapang endofit daun sirsak telah melewati uji In Vitro memiliki potensi penghambat pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai IC_{50} 19.20 μ g/mL, dimana nilai ini memiliki arti ekstrak kapang endofit daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Minarni *et al.* 2016). Tannin merupakan salah satu komponen yang memiliki peran sebagai antioksidan yang melindungi sel dari serangan radikal

bebas yang mengkonjugasi senyawa xenobiotik agar lebih larut dalam air sehingga mudah diekskresikan dalam urin atau empedu, selain itu senyawa tannin dalam tanaman daun sirsak merupakan senyawa polifenol yang merupakan salah satu golongan antioksidan, dimana antioksidan merupakan suatu senyawa kimia yang dapat menghambat terjadinya proses oksidasi yang dipicu oleh radikal bebas.

Salah satu kandungan kimia yang terdapat pada daun sirsak sangat berperan penting untuk obat salah satunya adalah senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder dan keberadaannya pada daun tanaman dipengaruhi oleh proses fotosintesis sehingga daun muda belum terlalu banyak mengandung flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa bahan alam dari golongan fenolik (Sjahid 2008).

Menurut penelitian Agus Sundaryono (2011), senyawa flavonoid yang terkandung dalam tanaman daun sirsak mempunyai aktivitas yang lebih besar dalam meningkatkan jumlah kadar trombosit darah. Daun sirsak mengandung kuarsetin (dari golongan flavonoid) yang dapat menaikkan jumlah trombosit karena terkandung asam amino *serin* dan *threonine* yang mampu membentuk trombopoetin yang berfungsi dalam proses maturase megakariosit menjadi trombosit.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

1. Semua dosis kapsul ekstrak kapang endofit daun sirsak memberikan pengaruh terhadap kadar kreatinin darah dan trombosit darah pada hewan coba
2. Pada penelitian ini didapatkan dosis terbaik untuk pemeriksaan kadar kreatinin yaitu dosis II (40 mg/kgBB) dan dosis terbaik untuk kadar trombosit darah yaitu dosis III (80 mg/kgBB).

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efektivitas kapsul ekstrak kapang endofit daun sirsak sebagai kemokuratif terhadap hewan coba yang diinduksikan DMBA.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan waktu penelitian lebih Panjang dengan lebih banyak subjek penelitian untuk mengetahui efek jangka panjang kemokuratif.
3. Perlu dilakukan pengujian kadar kreatinin dan kadar trombosit pada beberapa titik untuk mengetahui profil perubahannya dari tiap waktu.

DAFTAR PUSTAKA

- Akrom, 2012. Mekanisme Kemopreventif Ekstrak Heksan Biji Jinten Hitam (Nigella sativaLor).pada Tikus Sprague Dawley Diinduksi 7,12 Dimethylbenz (α)antrasene Kajian Antioksidan dan Immunomodulator [Disertasi]. Fakultas Kedokteran. Universitas American Cancer Society. (2012). Cancer Facts and Figures 2012. Atlanta: American Cancer Society.
- Am Zuhud, E. (2011). Bukti Kedahsyatan: Sirsak Menumpas Kanker. AgroMedia
- Andriani. Y.Y., Rahmiyani. I., Amin. S., Lestari. T. (2016). Kadar Fenol Total Ekstrak Daun Dan Buah Biji Pepaya (Carica papaya L.)
- Ariyono, R.Q., Djauhari, S., dan Sulistyowati, L. 2014. Keanekaragaman Jamur Endofit Daun Kangkung Darat (Ipomoea Reptans Poir) pada Lahan Pertanian Organik dan Konvensional. Jurnal HPT. 2(1): 19- 28
- Arroyo-Acevedo, J., R. J. Chávez-Asmat, A . Anampa-Guzmán, R. Donaires, J. RáezGonzáles. 2015. Protective Effect of Piper Aduncum Capsule on DMBAInduced Breast Cancer in Rats. Breast Cancer (Auckl), 9: 41–48.
- Banerjee, A., N. Dasgupta and B. De. 2005. In Vitro Study Of Antioxidant Activity of syzigium Cumini Fruit. Journal Food Chemistry 90.727-733.rini. 2010.
- Budi M, Ranita Tri dan Sitarina Widyarini. 2010. Dampak Induksi Karsinogenesis Glandula Mammae dengan 7,12 Dimethylbenz (α)antrasene terhadap Gambaran Hispatologis Lambung Tikus Sprague Dawley. Jurnal Veteriner, 11 (1) : 17-23.
- Cheluvappa R, Scowen P, Eri R. Ethics of animal research in human disease remediation,institutional teaching; and alternatives to animal experimentation, Pharma Res Per.5:e00332. Doi: 10.1002/prp2.332
- CoData, Tim Indonesia. (2000). Tanaman Obat Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia (1995). Farmakope Indonesia. Edisi keempat. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta

- Departemen Kesehatan RI, 2000, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta, hal. 3, 4, 10-39.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2002. Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008, Farmakope Herbal Indonesia, 113115, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Desriani et al. 2013. Potential Endophytic Bacteria for Increasing Paddy Var Rojolele Productivity. IJASEIT 3(1):76-78.
- Devi NN, Prabakaran JJ. 2014. Bioactive metabolites from an endophytic fungus *Penicillium* sp. Isolated from *Centella asiatica*. J Cream. 4(1):34-43.
- Esi Herlina dan Nila Rifai. 2011. Khasiat dan Manfaat Daun Sirsak Menumpas Kanker, Jakarta: Mata Elang Media.
- Farida, N. 2007. Tampilan Anak Tikus (*Rattus norvegicus*) dari Induk Yang Diberi Bovine Somatotropin (bST) pada Awal Kebuntingan [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor
- Fuadi, Akhmad. (2009). Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Terhadap Gambaran Ureum Dan Kreatinin Pada Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Etilen Glikol. (Skripsi), Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Gandjar, I., R.A. Samson, K. van den Tweel-Vermeulen, A. Oetari and I. Santoso. 30 1999. Pengenalan kapang tropik umum. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Gritter, R. J., J.M Bobbit dan A.E Schwarting, (1991), Pengantar Kromatografi, Edisi Kedua, Terjemahan Padmawinata K, Penerbit ITB, Bandung.
- Hamid, I.S., Sugiyanto, Edy Meiyanto dan Sitarina Widyarini. 2009. Ekspresi CYPIAI dan GST μ Hepatosit Terinduksi 7,12 Dimethylbenz (α)antrasene dan Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanolik *Gynura procumbens*, Majalah Farmasi Indonesia, 20(4):19820

- Hapsari,S.W., Rohmayanti.,Fitriana.Y., Missya,P.K.P.(2017).Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Herba Pegagan dan Analisa Rendemen. Magelang : Jurnal Farmasi Universitas Muhammadiyah
- Harborne, J. B. 1987. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Institut Teknologi Bandung. Bandung
- Hasan ., Z, E, A. Kusindarta., L,D. Andrianto., D. Husnawati. Aktivitas kuratif kapang Endofit *Phomopsis* sp. Dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap tumor payudara mencit C3H yang diinduksikan sel kanker payudara. Bogor : Institut Pertanian Bogor
- Hatim, N. 2012. Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol Daun Surian (*Toona sinensis*) Pada Tikus Betina Sprague Dawley Yang Diinduksi 7,12 Dimethylbenz (α)antrasene [Skripsi]. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Hendry. N, 2007, Pencegahan dan terapi kanker, Jakarta, Penerbit: balai
- Hungl, P.Q and Annapurna,K.2004, Isolation and Charerization Of Endophytic Bacteria In Soybean (*Glycine* Sp.). *Omonrice*, 12:92-101.
- Indrayani, L., Soetjipto, H., dan Sihasale, L. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji 31 Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) Terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. Berk. Penel. Hayati. Vol 12, hal: 57 – 61
- Irawan, H., Alimansur, M., Zainal. (2017). Faktor demografi dan depresi pada klien gagal ginjal kronik stadium 5 di ruang hemodialisis RSUD Gambiran Kota Kediri. *Adi Husada Nursing Journal*, 3(2), 40-44. doi:136
<https://adihusada.ac.id/jurnal/index.php/AHNJ/article/view/95>
- Kamińska M, Ciszewski T, ŁopackaSzatan K, Miotła P, Starosławska E. Breast cancer risk factors. *Prz Menopauzalny*. 2015;14(3):196–202
- Katzung, B.G., Susan B, Anthony J. Trevor, 2009. Basic and Clinical Pharmacology 11th Edition, Philadelphia: Mc Graw Hill
- Kemenkes RI. Infodatin: Bulan Peduli Kanker Payudara Jakarta Kemenkes RI; 2016

- Klein, D.J., 2013. Tamoxifen Pathway, Pharmacokinetics.
- Komansilan A, Abadi AL, Yanuwadi B, & Kaligis DA. 2012. Isolation and identification of biolarvacide from sousop (*Annona muricata* Linn) seed to mosquito (*Aedes aegypti*) larvae. *International Journal of Engineering & Technology IJET IJENS* Vol. 12 no.03:28-32.
- Kubatka, P., Ahlersova E., Ahlers I., Bojkova B., Kalicka K., Adamekova E., Markova M.,Chamilova, M., and Cermakova, M., 2002, Variability of Mammary Carcinogenesis Induction in Female Sprague-Dawley and Wistar : Han Rats : the Effect of Season and Age, *Physiol. Res.* , 51, 633 – 64
- Kumala, S. 2014. Mikroba Endofit: Pemanfaatan Mikroba Endofit dalam Bidang Farmasi.Jakarta:ISFI
- Kumalaningsih, S . 2006. Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas, Sumber manfaat ,Cara penyediaan, dan Pengolahan. Surabaya : Trubus. Agrisarana
- Manteca X, Mainau E, Temple D. 2012. What is animal welfare, 1:1-2
- Marcellano JP, Collanto AS, Fuentes RG. 2017. Antibacterial activity of endophytic fungi isolated from the bark of *Cinnamomum mercadoi*. *Pharmacogn J.* 9(3):405 -409.
- McKetta, J.J and Cuningham, W.A, 1994, “ Encyclopedia Chemical Process and Design”, vol.4, Marchell Ekker Inc,New York , pg.406 – 430
- Mellor DJ. 2016. Moving beyond the “Five Freedoms” by updating the “Five 32 Provisions” and introducing aligned “Animal Welfare Aims”, *Animals*, 6:59.Doi:10.3390/ani6100059.
- Minarni. 2016. Aktivitas Antikanker Ekstrak Etil Asetat Kapang Endofit Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Montgomery, Douglas C. 1991. *Design and Analysis of Experiments*. John Wiley & Sons, Inc.
- Novitasari,A E. dan D.Z. Putri. 2016. Isolasi dan Identifikasi Saponin Pada Ekstrak Pada Daun Mahkota Dewa Dengan Ekstraksi Maserasi. *Jurnal Sains.* 6(12);10-14

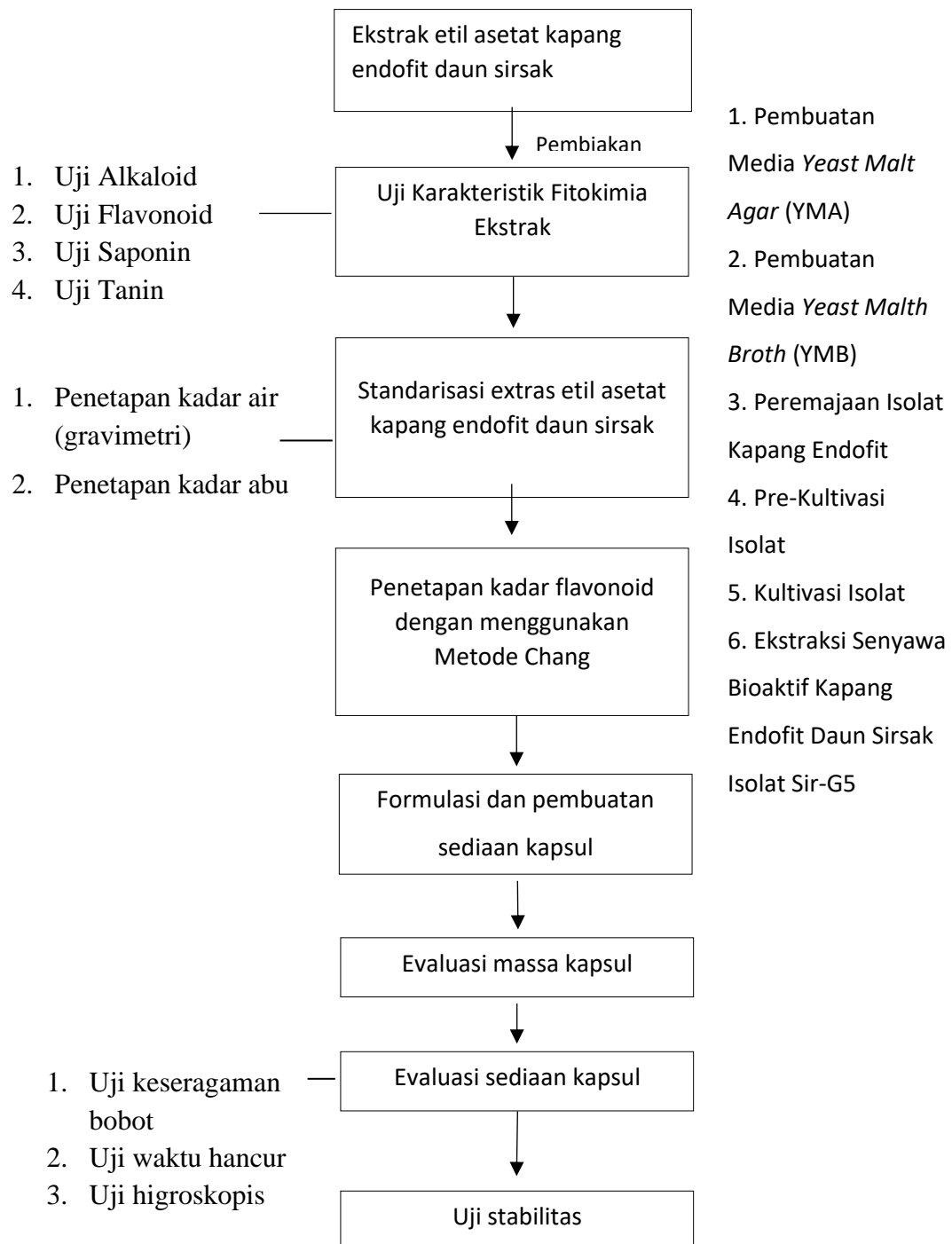
- Nur Intan Pertiwi. 2016. Perbedaan kadar asam urat menggunakan alat spektrofotometer dengan alat point of care testing (POCT). Universitas Muhammadiyah Semarang. 13 Juni 2016. Skripsi. Semarang. Hal 68
- Osorio, E., Arango, G. J., Jimenez, N., Alzate, F., Ruiz, G., Gutierrez, D., Paco, M. A., Gimenez, A., & Robledo, S., 2007, Antiprotozoa and cytotoxic activities in vitro of Colombian Annonaceae, *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 111, 630-635.
- PERNEFRI.2016. Konesensus Nutrisi pada Penyakit Ginjal Kronik. Jakarta: PERNEFRI Indonesia
- Popa VI, Lascar I, Valcu M, Loana TS, Caraban B, Arina CM. 2015. Bioethics in animal experimentation. *ARS Medica Tomitana*. 4:167-177.
- Pratiwi, Endah. (2010). Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi dan Reperkolasi dalam Ekstraksi Senyawa Aktif Andrographolide dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.F.) Nees). *Journal of Agroindustrial Technology*. IPB Resipitory.
- Purwatesna, Eka. 2012. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air dan Etanol Daun Sirsak Secara In Vitro melalui inhibisi Enzim alpha Glukosidase. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Radji, M. (2015). Buku Ajar Mikrobiologi : Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran. (S. A. July Manurung, Penyunt.) Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Rahman F. 2015. Aktivitas ekstrak jamur endofit dari daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap viabilitas khamir *Saccharomyces cerevisiae* dan *Candida tropicalis* [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor
- Rante, H. Taebe, B. & Intan, S. (2013). Isolasi fungi endofit penghasil senyawa antimikroba dari daun cabai katokkon (*Capsicum annum* L var. *Chinensis*) dan Profil KLT Bioautografi. *Majalah Ilmu Farmasi dan Farmakologi*, 17(2),39-46
- Riset Kesehatan Dasar 2013, Jakarta : Riset Kesehatan Dasar , 2013 (Cited Des 10)
Rios-Arrabal S, Artacho – Cordon F , Leon J, Roman- Marinetto,

- Salinas – Asensio M, Calvente I, Nanez MI 2013. Involvement of free radicals in breast cancer, springerplus, :404
- Roeles R, Catharino RR, Malta LG. 2007. Antioxidant activity of *Annona crassiflora*: characterization of major components by electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry*. 104:1048-54
- Rohyami Y. 2008. Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa.. *Jurnal Logika*, Vol. 5. No.1. Hal 1-16
- Russo J, Russo IH, Zwieten MJ, Rofers AE, dan Gusterson BA. 1989. Classification of Neoplastic and Nonneoplastic Lesions of The Rat Mammary Gland. *Neoplasia* :275-304
- Sacher, R. A., and McPherson, R. A., 2004, Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium, 519, EGC, Jakarta.
- Sastrohamidjojo, H.,1996, Sintesis Bahan Alami, 140, Universitas Gadjah Mada Press, Yogyakarta.
- Schmidt MK, Muslimatun S, West CE, Schultink W, Goss R. & Hautvast JG. 2002. Nutritional Status And Linier Growth Of Indonesian Infants In West Java Are Determined More By Prenatal Environment Than By Postnatal Factors. *J Nutr* 132:2202-2207
- Sembiring B. 2007. Teknologi Penyiapan Simplisia Terstandar Tanaman Obat. *Warta*
- Simarmata, R., Lekatompessy, S. dan Sukiman, H. 2007. Isolasi mikroba endofitik dari tanaman obat sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dan analisis potensinya sebagai antimikroba. *Berk. Penel. Hayati* 13: 85-90.
- Sinclair M, Friyer C, Philips CJC. 2019. The benefits of improving animal welfare from The perspective of livestock stakeholders across Asia. *Animals*. 9:123
- Sjahid, L.R. 2008. Isolasi dan Identifikasi Flavonoid Dari Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) (Skripsi). Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.

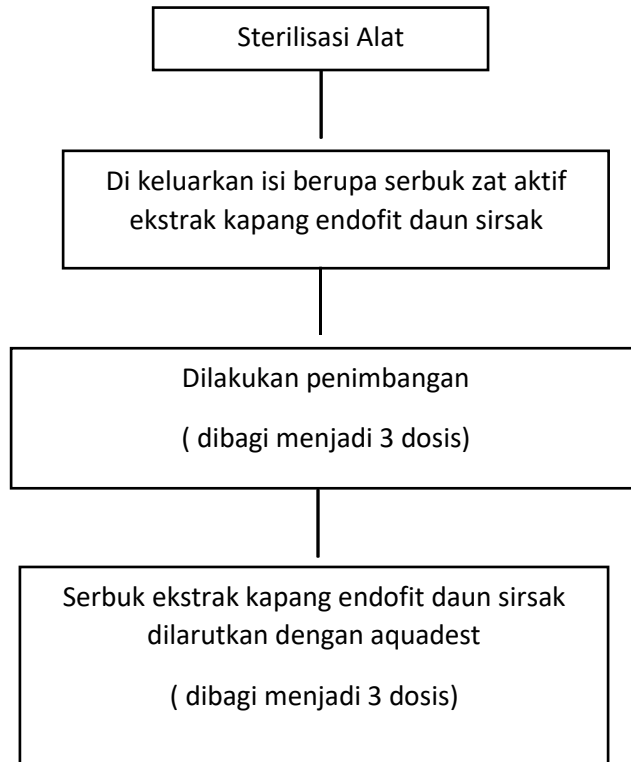
- Strobel, G. dan Disy, B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their Natural product. *Microbiology and Molecullar Biology Riview*, 67,491-502
- Sugiyanto, Sudarto, B., Meiyanto, E., Nugroho, A. E., Jenie, U. A., 2003, Aktivitas Antikarsinogenik Senyawa yang Berasal dari Tumbuhan, *Majalah Farmasi Indonesia*, 14 (4), 216-225
- Suharto, M.A.P., H.J. Edy dan J.M. Dumanauw. 2016. Isolasi dan identifikasi senyawa saponin dan ekstrak metanol batang pisang ambon (*Musa 35 paradisiaca* var. *sapientum* L.).*Jurnal Sains*. 3(1):86-92
- Suhendar U. 2015. Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L) asal Cianjur, Sukabumi, Garut dan Subang terhadap sel kanker payudara MCF7. [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor
- Suherman, Suharti K, 2012. Estrogen dan Progestin, Agonis dan Antagonisnya Dalam (Sulistia Gan Gunawan. Eds) *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI
- Tjitrosoepomo, G. 1994. *Morfologi Tumbuhan*. Gajah Mada. University Press. Yogyakarta.
- World Health Organization. *Cancer Country Profiles*. 2014
- Winarto, W.P 2004. *Memfaatkan bumbu dapur untuk aneka penyakit*. Jakarta:Agromedia Pustaka
- Van Steenis, C.G.G.J.,2003, *Flora*, Hal 233-236, P.T. Pradya Paramita, Jakarta.
- Vorherr Helmuth MD, 1980. *Breast Cancer Epidemiology, Endocronilogy, Biochemistry, and Pathbiology* Urban & Schwarzenberg Inc, Balt.
- Yeo YL, Chia YY, Lee CH, Sow HS, Yap WS. 2014. Effectiveness of maceration periods with different extraction solvents on in-vitro antimicrobial

LAMPIRAN

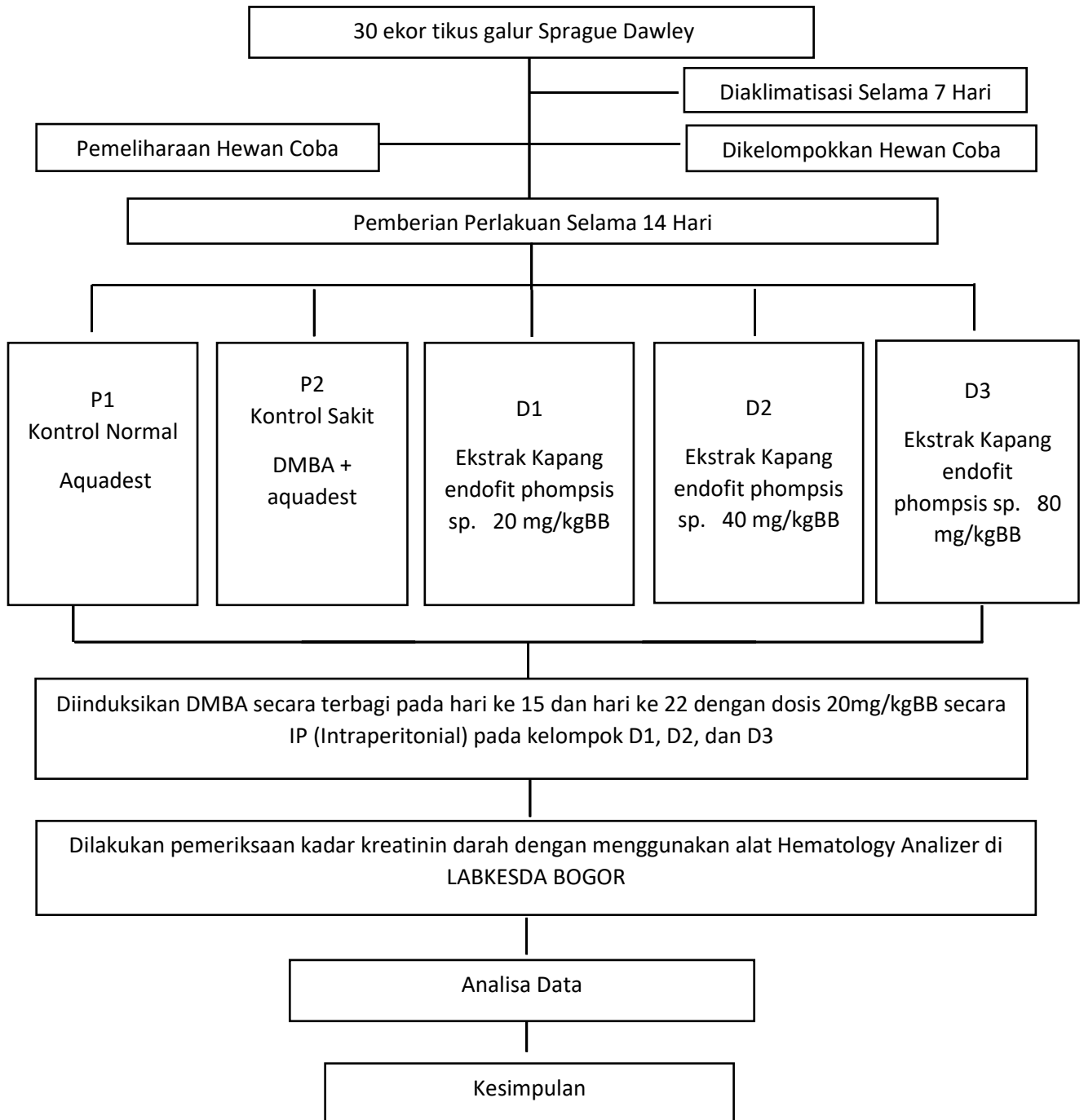
Lampiran 1. Alur Penelitian





Lampiran 2. Pembuatan Ekstrak Etil Asetat Kapang Endofit Daun Sirsak
(*Annona muricata* L)



Lampiran 3. Rancangan Perlakuan Hewan Coba



Lampiran 4. Surat Keputusan Kaji Etik

KOMISI KESEJAHTERAAN HEWANCOBA BALITBANGTAN (KKHB) BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN	
	
Sekretariat KKHb Jl. Raya PajajaranKAV E-59BOGOR., Telp.0251-8322138, 8328383, Fax (0251) 8328382,8380588 email: sekretariat.kkhb@gmail.com	
FORMULIR REGISTRASI ETIK	
Judul Proposal	: Aktivitas kuratif kapang endofit <i>Phomopsis</i> sp. dari daun sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) terhadap tumor payudara tikus Sprague-Dawley yang diinduksi DMBA
Peneliti Utama	: Dr. Akhmad Endang Zainal Hasan
Proposal diterima tanggal	: 26 November 2021
Keputusan	: Diterima <input checked="" type="checkbox"/>
	Diterima dengan perbaikan seperti terlampir <input type="checkbox"/>
	Ditunda <input type="checkbox"/>
Pada tanggal	: 17 Desember 2021
Nomor Registrasi	: Balitbangtan/BB Litvet/ Rd/09/2021
Bogor, 17 Desember 2021 Ketua KKHb,  (Dr. Drh. Sutiastuti W, MSi) NIP. 196204251991032001	

Lampiran 5. Tabel volume maksimal sesuai jalur pemberian

Tabel 4. Volume maksimum larutan sediaan uji yang dapat diberikan pada beberapa hewan uji (Ritschel,1974).

Jenis Hewan Uji Volume Maksimum (mL). Sesuai Jalur Pemberian

PEMBERIAN	IV	IM	IP	SC	P.O.
Mencit (20-30 g)	0,5	0,005	1,0	0,5-1,0	1,0
Tikus (200 g)	1,0	0,1	2-5	2-5	5,0
Hamster (50 g)	-	0,1	1-2	2-5	2,5
Marmut (250 g)	-	0,25	2-5	5,0	10,0
Kelinci (2,5 kg)	5-10	0,5	10-20	5-10	20,0
Kucing (3 kg)	5-10	1,0	10-20	5-10	50,0
Anjing (5 kg)	10-20	5,0	20-50	10,0	100,0

Lampiran 6. Tabel konversi dosis hewan dengan manusia

Tabel 5. Konversi dosis antara jenis hewan dengan manusia (Laurence and Bacharach,1964).

	Mencit (20 g)	Tikus (200 g)	Marmut (400 g)	Kelinci (1,5 kg)	Kucing (2 kg)	Kera (4 kg)	Anjing (12 kg)	Manusia (70 kg)
Mencit (20 g)	1,0	7,0	12,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus (200 g)	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmut (400 g)	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci (1,5 g)	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing (2 kg)	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera (4 kg)	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing (12 kg)	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia (70 kg)	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,07	0,016	0,32	1,0

Lampiran 7. Perhitungan Jumlah Sampel

Tikus dibagi ke dalam enam kelompok perlakuan dengan jumlah ulangan masing-masing kelompok perlakuan ditentukan menggunakan rumus perhitungan Federer (Federer,1991)

$$\text{Rumus Federer : } (t-1)(n-1) \geq 15$$

Keterangan: n = banyaknya ulangan (Jumlah sampel) Per kelompok (5 ekor tikus)

t = kelompok perlakuan (4 kelompok uji)

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

$$(n-1) (5-1) \geq 15$$

$$(n-1) (4) \geq 15$$

$$5n-4 \geq 15$$

$$5n \geq 15 + 4$$

$$5n \geq 19$$

$$n \geq \frac{19}{5}$$

$$n \geq 3,8$$

$$n \geq 4 \text{ Ekor Tikus}$$

Sehingga pada perhitungan rumus Federer di atas, didapati hasil sebanyak 4 ekor tikus betina galur Sprague dawley dan dilebihkan 1 ekor tikus disetiap kelompok. Maka hewan coba yang digunakan dalam 5 kelompok perlakuan secara keseluruhan adalah sebanyak 25 ekor.

Lampiran 8. Perhitungan Dosis dan Larutan Stok DMBA

Dosis DMBA yang diberikan pada penginduksian di perkirakan sama dengan pengaruh pemberian DMBA dengan dosis 20 mg/kgBB (single doses) (Arroyo-Acevedo *et al.* 2015).

- Dosis untuk tikus = 20 mg/kg secara intraperitoneal
 - $20 \text{ mg} \times \frac{150 \text{ g}}{1000 \text{ g}} = 3 \text{ mg}$
 - Jumlah hewan coba = 20 ekor x 3 mg/150 g BB tikus = 60 mg
 - Jumlah penginduksian = 60 mg (terbagi menjadi 2 x penginduksian)
 - Volume pemberian untuk dosis DMBA 3 mg/150 g
 - $\frac{20 \text{ ml}}{0,5 \text{ ml}} \times 1,5 \text{ mg} = 60 \text{ mg}$
 - Dalam 0,5 mL larutan mengandung 1,5 mg DMBA
 - Larutab DMBA dibuat di volume 20 mL untuk sekali pemberian dengan konsentrasi 3 mg/150 g BB tikus. Sebanyak 60 mg DMBA ditambahkan dengan 20 mL CMC Na 0,5 % (Asyura dkk,2017)
- Konsentrasi DMBA dalam %
 - $= 20 \text{ mg} \times \frac{150 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 3 \text{ mg} / 150 \text{ g BB tikus}$
 - $1 \text{ x penginduksian} = \frac{\text{Dosis}}{\text{Volume Pemberian}} = \frac{1,5 \text{ mg}}{20 \text{ mL}} = 0,075 \sim 0,075\%$

Lampiran 9. Perhitungan Dosis

Perhitungan Dosis

- Berat Badan Hewan Coba \pm 150 gram
- Jumlah tikus yang digunakan didalam 1 kelompok = 4 ekor
- Bobot kapsul yang digunakan 165 mg

1. Dosis I (20 mg/kgBB)

- Dosis = 20mg/kgBB
- Bobot tikus = 150 gram \sim 0,15
- Dosis pemberian = 20 mg/kg x 0,15 kg = 3 mg

$$1 \text{ kapsul} = \frac{165 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times \frac{3 \text{ mg}}{x}$$

$$x = \frac{500 \text{ mg} \times 3 \text{ mg}}{165 \text{ mg}} = 9,09 \text{ mg/tikus}$$

- Dosis untuk 4 ekor tikus = 9,09 mg x 4 = 36,36 mg/hari
- Dosis untuk 2 minggu = 36,36 mg x 14 hari = 509 mg
- Jumlah kapsul yang dibutuhkan $\frac{509 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} = 1,01$
- Larutan stock ekstrak kapang endofit daun sirsak 100 ml
- 1 mL larutan = 1,5 mg ekstrak kapng endofit daun sirsak
- Volume pemberian untuk dosis 3 mg/150 BB tikus

$$= \frac{100 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} \times 3 \text{ mg} = 150 \text{ ml}$$

Dibuat larutan 150 ml ekstrak kapng endofit daun sirsak yang dilarutkan dalam 100 ml akuadest, dosis pemberian 2 ml yang mengandung 3 mg ekstrak kapang endofit daun sirsak.

2. Dosis II (40 mg/kgBB)

- Dosis = 40mg/kgBB
- Bobot tikus = 150 gram \sim 0,15
- Dosis pemberian = 40 mg/kg x 0,15 kg = 6 mg

$$1 \text{ kapsul} = \frac{165 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times \frac{6 \text{ mg}}{x}$$

$$x = \frac{500 \text{ mg} \times 6 \text{ mg}}{165 \text{ mg}} = 18,18 \text{ mg/tikus}$$

- Dosis untuk 4 ekor tikus = 18,18 mg x 4 = 72,72 mg/hari
- Dosis untuk 2 minggu = 72,72 mg x 14 hari = 1.018 mg

- Jumlah kapsul yang dibutuhkan $\frac{1.018 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} = 2,03$
- Larutan stock ekstrak kapang endofit daun sirsak 100 ml
- 1 mL larutan = 3 mg ekstrak kapng endofit daun sirsak
- Volume pemberian untuk dosis 3 mg/150 BB tikus
 $= \frac{100 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} \times 6 \text{ mg} = 300 \text{ ml}$

Dibuat larutan 300 ml ekstrak kapng endofit daun sirsak yang dilarutkan dalam 100 ml akuadest, dosis pemberian 2 ml yang mengandung 6 mg ekstrak kapang endofit daun sirsak.

3. Dosis III (80 mg/kgBB)

- Dosis = 80mg/kgBB
- Bobot tikus = 150 gram ~ 0,15
- Dosis pemberian = 80 mg/kg x 0,15 kg = 12 mg
 $1 \text{ kapsul} = \frac{165 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} \times \frac{12 \text{ mg}}{x}$
 $x = \frac{500 \text{ mg} \times 12 \text{ mg}}{165 \text{ mg}} = 36,4 \text{ mg/tikus}$
- Dosis untuk 4 ekor tikus = 36,4 mg x 4 = 145,6 mg/hari
- Dosis untuk 2 minggu = 145,6 mg x 14 hari = 2.038 mg
- Jumlah kapsul yang dibutuhkan $\frac{2.038 \text{ mg}}{500 \text{ mg}} = 4,07$
- Larutan stock ekstrak kapang endofit daun sirsak 100 ml
- 1 mL larutan = 6 mg ekstrak kapng endofit daun sirsak
- Volume pemberian untuk dosis 12 mg/150 BB tikus
 $= \frac{100 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} \times 12 \text{ mg} = 600 \text{ ml}$

Dibuat larutan 600 ml ekstrak kapng endofit daun sirsak yang dilarutkan dalam 100 ml akuadest, dosis pemberian 2 ml yang mengandung 12 mg ekstrak kapang endofit daun sirsak.

Lampiran 10. Perhitungan Coefficient of Variation (CV) Tabel 6. CV Sebelum Aklimatisasi dan CV Setelah Aklimatisasi

a. Sebelum Aklimatisasi

1.	150 g	6.	150 g	11.	140 g	16.	140 g
2.	145 g	7.	150 g	12.	140 g	17.	155 g
3.	150 g	8.	140 g	13.	150 g	18.	150 g
4.	140 g	9.	150 g	14.	150 g	19.	15 g
5.	150 g	10.	145 g	15.	155 g	20.	150 g

b. Sesudah Aklimatisasi

1.	170 g	6.	150 g	11.	150 g	16.	165 g
2.	160 g	7.	165 g	12.	180 g	17.	170 g
3.	170 g	8.	150 g	13.	170 g	18.	170 g
4.	160 g	9.	165 g	14.	170 g	19.	165 g
5.	155 g	10.	170 g	15.	150 g	20.	180 g

Keterangan Sebelum Aklimatisasi :

- Syarat hewan coba tikus masih dapat dikatakan homogen apabila CV antara 10-15% (Montgomery, 1991).
- Perhitungan :
- SD = 5,12
- Rata-rata (X) = 147,5
- CV = $\frac{SD \text{ rata-rata bobot badan tikus}}{\text{rata-rata bobot badan tikus (X)}} \times 100 \%$
 $= \frac{5,12}{147,5} \times 100 \%$
 $= 3,47 \%$

Keterangan Sesudah Aklimatisasi :

- Syarat hewan coba tikus masih dapat dikatakan homogen apabila CV antara 10-15% (Montgomery, 1991).
- Perhitungan :
- SD = 9,12
- Rata-rata (\bar{X}) = 164,25
- CV = $\frac{SD \text{ rata-rata bobot badan tikus}}{\text{rata-rata bobot badan tikus } (\bar{X})} \times 100 \%$
= $\frac{9,12}{164,25} \times 100 \%$
= 5,55 %

Lampiran 11. Hasil Pengamatan

Kelompok	Ulangan	Kreatinin mg/dL	Trombosit mg/dL
Normal	1	885	0,67
	2	836	0,70
	3	825	0,69
	4	996	0,64
			67,67 \bar{X} 885,5
Sakit	1	295	0,50
	2	178	0,42
	3	127	0,37
	4	200	0,43
			60,90 \bar{X} 200
Dosis I	1	552	0,48
	2	537	0,45
	3	613	0,49
	4	567	0,46
			28,46 \bar{X} 567,25
Dosis II	1	371	0,56
	2	570	0,62
	3	701	0,55
	4	639	0,42
			124,01 \bar{X} 570,25
Dosis III	1	718	0,5
	2	750	0,48
	3	652	0,51
	4	754	0,43
		\bar{X}	40,85 \bar{X} 718,5

Lampiran 12. Pengujian SPSS Metode Rak (Rancangan Acak Kelompok)

UJI SPSS RAK KREATININ

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Kreatinin

F	df1	df2	Sig.
1,455	4	15	,265

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Kelompok

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Kreatinin

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	,145 ^a	4	,036	14,850	,000
Intercept	5,387	1	5,387	2204,865	,000
Kelompok	,145	4	,036	14,850	,000
Error	,037	15	,002		
Total	5,569	20			
Corrected Total	,182	19			

a. R Squared = ,798 (Adjusted R Squared = ,745)

Kreatinin

Duncan^{a,b}

Perlakuan	N	Subset		
		1	2	3
Sakit	4	,4300		
Dosis I	4	,4725	,4725	
Dosis III	4	,4800	,4800	
Dosis II	4		,5375	
Normal	4			,6750
Sig.		,194	,097	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,002.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

b. Alpha = ,05.

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Trombosit

F	df1	df2	Sig.
1,420	4	15	,275

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Kelompok

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Trombosit

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1027302,700 ^a	4	256825,675	36,831	,000
Intercept	6921937,800	1	6921937,800	992,653	,000
Kelompok	1027302,700	4	256825,675	36,831	,000
Error	104597,500	15	6973,167		
Total	8053838,000	20			
Corrected Total	1131900,200	19			

a. R Squared = ,908 (Adjusted R Squared = ,883)

Trombosit

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Trombosit

F	df1	df2	Sig.
1,420	4	15	,275

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Kelompok

Anova

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Trombosit

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F
Corrected Model	1027302700000,00 ^a	4	256825675000,00	36,831
Intercept	6921937800000,00	1	6921937800000,00	992,653
Kelompok	1027302700000,00	4	256825675000,00	36,831
Error	104597500000,00	15	6973166667,000	
Total	8053838000000,00	20		
Corrected Total	1131900200000,00	19		

a. R Squared = ,908 (Adjusted R Squared = ,883)

Duncan

Trombosit

Duncan HSD^{a,b}

Perlakuan	N	Subset
-----------	---	--------

		1	2	3
Sakit	4	200000,00		
Dosis I	4		567250,00	
Dosis II	4		570250,00	
Dosis III	4		718500,00	718500,00
Normal	4			885500,00
Sig.		1,000	,129	,080

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 6973166667,000.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.
- b. Alpha = ,05.

Lampiran 13. Dokumentasi

Larutan DMBA



Penginduksian DMBA



Kapsul Ekstrak Kapang Endofit Daun



Kandang Hewan

