

BAB I

PENDAHULUAN

A . Latar Belakang Masalah

Kanker merupakan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol diikuti invasi ke jaringan sekitar dan penyebarannya metastatis ke bagian tubuh yang lain. Sebagian sifat utama sel kanker ditandai dengan hilangnya kontrol pertumbuhan dan perkembangan sel kanker tersebut (King, 2000).

Kanker merupakan salah satu penyakit yang menyebabkan kematian terbesar pada abad ini. Berdasarkan daftar Badan Kesehatan Dunia (WHO) melaporkan bahwa, penyakit kanker masuk dalam urutan teratas dari kelompok penyakit. Hal ini dapat dimengerti karena penyakit ini merupakan penyakit yang paling mematikan. Di dunia penyakit ini menempati urutan kedua sebagai penyebab kematian, sedangkan di Indonesia menempati urutan keenam (Mulyadi, 1997).

Penyebab pasti penyakit kanker belum diketahui, namun hasil penelitian menyatakan dengan jelas bahwa sebagian besar dari timbulnya kanker disebabkan oleh gaya hidup yang tidak sehat, antara lain: kebiasaan makanan yang tidak seimbang, kebiasaan merokok, kontak dengan sinar matahari yang berlebihan, berganti-ganti pasangan seks, dan lingkungan hidup yang tidak sehat. Penyakit kanker dapat menyerang berbagai macam sel, seperti sel hati, sel kulit, sel jantung, sel darah, sel otak, dan sel-sel pada saluran pencernaan. Penyakit yang disebabkan oleh sel-sel kanker yaitu sel yang telah kehilangan daya aturnya. Sel kanker akan membelah diri meskipun tidak diperlukan sehingga terjadi sel-sel

baru yang berlebihan dan mempunyai sifat seperti induknya yang sakit yaitu sel yang tidak mempunyai daya atur regulator (Mulyadi, 1997).

Penyakit kanker dapat diobati dengan beberapa cara, antara lain: pembedahan (operasi), penyinaran (radioterapi) dan dengan obat pembunuh sel kanker (sitotastika atau kemoterapi), peningkatan daya tahan tubuh (imunoterapi), dan pengobatan dengan hormon (Mangan, 2003). Pada umumnya pengobatan penyakit kanker dilakukan dengan campuran cara-cara tersebut (Mulyadi, 1997).

Sampai saat ini para ahli kedokteran belum menemukan obat anti kanker yang memuaskan. Banyak terapi yang telah dilakukan oleh para pasien tapi belum mendapatkan hasil yang memuaskan. Banyak efek yang ditimbulkan oleh kemoterapi tersebut.

Salah satu usaha yang dilakukan adalah dengan penelitian – penelitian terhadap tumbuhan. Tumbuhan merupakan gudang bahan kimia yang paling lengkap, begitu banyak komponen kimia yang terdapat di dalam tumbuhan yang digunakan sebagai jamu atau obat tradisional. Pemilihan obat tradisional dianggap lebih efektif dan relatif aman sehingga jauh dari efek samping yang merugikan pasien. Saat ini dunia dalam iklim *back to nature* atau dikenal dengan gerakan kembali ke alam, sehingga semua hal yang natural semakin digemari dan dicari orang.

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mencari obat anti kanker yang berasal dari tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang diteliti untuk mendapatkan senyawa baru yang mempunyai efek sitotoksik adalah tumbuhan famili Dipterocarpaceae. Spesies *Dipterocarpus* yang telah diteliti antara lain

Dipterocarpus hasselti Blume., *Dipterocarpus grandiflorus* Blume., dan *Dipterocarpus retusus* Blume (Muhtadi, 2005; 2006).

Dipterocarpaceae merupakan salah satu famili tumbuhan yang besar dan tersebar di daerah tropika Asia, terutama sekali di wilayah Malesiya termasuk Indonesia. Tiga genus utama adalah Shorea yang terdiri dari 150 spesies, Hopea terdiri dari sekitar 100 spesies, dan Dipterocarpus terdiri dari 75 spesies. Ketiga genus ini di Indonesia di kenal masing-masing dengan nama Meranti (Shorea), Merawan atau Tengkawang atau Damar Mata Kucing (Hopea), dan Keruing (Dipterocarpus) (Newmann,1999; Soerianegara,1994; Hakim, 2002).

Berdasarkan penelitian sebelumnya dapat diketahui bahwa dari sekitar 15 spesies *Dipterocarpus* yang telah diteliti antara lain *D. grandiflorus* yang dilaporkan kandungan senyawa-senyawa oligostilbenoidnya sedang yang lainnya dilaporkan kandungan senyawa terpenoidnya. Senyawa-senyawa fenolik yang telah diisolasi dari *D. grandiflorus* adalah bergenin (-) ampelopsin A , (+) α viniferin (-) hopeafenol, vatikanol B, vatikanol C hemsleyanol D, miyabenol C, (-)- ϵ -viniferin, (-) ampelopsin F dan shorealakton (Ito dkk, 2004). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian terhadap spesies *Dipterocarpus* yang lain, yaitu *Dipterocarpus validus* Blume yang diujikan terhadap sel HeLa, yang merupakan jenis sel kanker leher rahim. Sel HeLa diturunkan dari sel epitel kanker leher rahim cervik manusia. Sel HeLa cukup aman digunakan untuk penelitian dan untuk kultur sel

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka rumusan masalah penelitian ini adalah:

1. Apakah fraksi semipolar ekstrak metanol kulit batang Kambong (*D. validus*) memiliki efek sitotoksik terhadap sel HeLa?
2. Berapa nilai IC_{50} terhadap sel HeLa dari fraksi semipolar ekstrak metanol kulit batang Kambong (*D. validus*)?
3. Apa saja senyawa kimia fraksi semipolar dari ekstrak metanol kulit batang Kambong (*D. validus*) berdasarkan analisis KLT?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui:

1. Efek sitotoksik terhadap sel HeLa dari fraksi semipolar ekstrak metanol kulit batang Kambong (*D. validus*.)
2. Nilai IC_{50} terhadap sel kanker dari fraksi semipolar ekstrak metanol kulit batang Kambong (*D. validus*.)
3. Senyawa kimia yang mempunyai efek sitotoksik terhadap sel kanker dari fraksi semipolar ekstrak metanol kulit batang Kambong (*D. validus*.)

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Kambong (*Dipterocarpus validus* Blume)

a. Sistematika Tanaman

Secara taksonomi tumbuhan kambong (*D. validus*) diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisia	: Magnoliophyta
Sub divisio	: Angiospermae
Kelas	: Magnoliopsidae
Subkelas	: Dilleniadae
Ordo	: Theales
Famili	: Dipterocarpaceae
Genus	: <i>Dipterocarpus</i>
Spesies	: <i>Dipterocarpus validus</i> Blume

(Cronquist, 1981)

b. Morfologi Tanaman

Kambong merupakan pohon yang sering kali berbanir dengan kulit batang yang pucat. Ranting, kuncup daun, bagian luar daun penumpu, tangkai daun, dan pangkal perbungaan berbulu panjang dan tebal dan menjadi berumbai setelah ranting dan daun penumpu membesar. Daun berukuran besar (pada pohon muda sampai 0,5 m panjangnya) berbentuk bulat telur, tebal, pinggirnya bergelombang, pangkalnya bervariasi dari tumpul sampai berangsur-angsur lancip, ujungnya lancip sampai melancip

dengan ekor yang agak panjang. Urat daun sekunder banyak, urat daun tersier seperti tangga. Tangkai daun panjang.

Perbungaan tandan, agak panjang, berbunga besar dan sedikit. Buahnya berbentuk gasing dan tidak berbulu. Dua buah kelopak utama berbentuk sodet dan berukuran panjang sekali. Tiga sayap kecil pendek sekali dan melengkung. Tangkai buah panjang (Kartawinata, 1983).

c. Kandungan Kimia

Kandungan senyawa metabolik sekunder tumbuhan famili *Dipterocarpaceae* beraneka ragam meliputi golongan fenol seperti oligostilbenoid, flavonoid, fenilpropanoid dan turunan asam fenolat, serta golongan non fenol yaitu triterpenoid (Hegnauer, 1996; Sotheeswaran, 1993; Hakim, 2002)

d. Manfaat Tanaman

Kayu meranti dan keruing adalah jenis kayu bangunan yang berkualitas tinggi karena tahan rayap atau serangga lainnya. Di samping itu, tumbuhan *Dipterocarpaceae* merupakan penghasil resin damar yang tinggi yang digunakan untuk vernis atau cat, sementara itu biji tengkawang yang dihasilkan dari tumbuhan Shorea dan Isoptera dapat digunakan untuk berbagai keperluan, seperti: bahan industri, makanan, sabun, dan obat-obatan seperti: obat sariawan dan kosmetika. Oleh karena itu tumbuhan ini merupakan cadangan devisa negara untuk komoditi ekspor (Heyne, 1987). Beberapa spesies tumbuhan ini juga digunakan sebagai bahan obat

tradisional untuk pengobatan berbagai penyakit seperti penyakit kulit dan astringent (Hota, 1993).

2. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari siimplisia nabati (Anonim, 1995).

Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor, seperti sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari obat. Sifat dari bahan mentah obat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memilih metode ekstraksi. Metode dasar dari ekstraksi obat adalah maserasi dan perkolasi. Obat dimaserasi untuk melunakkan jaringan tanaman dengan melarutkan lebih banyak zat aktifnya (Ansel, 1989).

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Istilah *maceration* berasal dari bahasa bahasa latin *macerace*, yang artinya “merendam”. Metode maserasi merupakan proses paling tepat untuk menyari atau merendam bahan obat dalam bentuk simplisia yang halus. Simplisia direndam dalam mestruum sampai meresap dan melunakkan susunan sel.

Proses maserasi obat yang akan diekstraksi biasanya ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut besar, bejana ditutup rapat dan dikocok berulang-ulang (Ansel, 1989).

3. Kanker

a. Definisi Kanker

Kanker adalah segolongan penyakit yang ditandai dengan pembelahan sel yang tidak terkendali dan kemampuan sel-sel tersebut untuk menyerang jaringan biologis lainnya, baik dengan pertumbuhan langsung di jaringan yang bersebelahan mutasi atau dengan migrasi sel ke tempat yang jauh (metastatis).

Pertumbuhan yang tidak terkendali tersebut disebabkan kerusakan DNA, dan menyebabkan mutasi di gen vital yang mengontrol pembelahan sel (Anomim, 2006)

b. Penyebab Kanker

Penyebab penyakit kanker karsinogen hingga kini dapat digolongkan menjadi 3 faktor yaitu: faktor fisika, faktor virus dan faktor senyawa kimia.

1) Faktor Fisika

Faktor yang utama adalah radiasi, mekanisme terjadinya kanker dalam tubuh melalui faktor ini dianggap sebagai gejala molekuler. Diduga bahwa gen-gen yang terdapat dalam molekul Asam deoksiribonukleat (DNA) dalam sel akan berubah, sehingga sel akan kehilangan daya aturnya.

Pengaruh radiasi pada molekul DNA dapat menimbulkan:

- (a) Perubahan yang dapat kembali (reversible)
- (b) Molekul DNA berubah (rusak) dan sel akan mati

(c) Terjadi perubahan pada molekul DNA yang tidak dapat kembali (irreversible) dan mulai terjadinya kanker

2) Virus

3) Senyawa Karsinogen

Pada awal tahun 1930 pertama kali didapatkan hidrokarbon polisiklik murni dan diketahui merupakan penyebab kanker. Senyawa-senyawa dari sumber alam yang dibuat sintesis, sisa-sisa dari: industri batubara, industri minyak, zat warna, bahan tambahan pada makanan dan minuman kondensat rokok.

(Mulyadi, 1997)

c. Siklus Sel Kanker

Sel di dalam tubuh akan mengalami generasi dan regenerasi, yaitu tumbuh, berkembang biak dan terdeferensiasi membentuk sistem organ dan jaringan sampai terbentuk sel organ dewasa, lalu sel mengalami degenerasi yang akan berakhir pada kematian sel tersebut.

Adapun siklus pembelahan sel tubuh secara biokimia dapat dibagi menjadi 4 tahap yaitu:

- 1) Tahap I atau tahap G1
- 2) Tahap II atau tahap S
- 3) Tahap III atau tahap G2
- 4) Tahap IV atau tahap M

1) Tahap I atau Tahap G1

Pada tahap ini dipersiapkan suatu interval dalam proses pembelahan sel dan mulai sintesis asam deoksiribonukleat (DNA). Waktu yang diperlukan untuk pembelahan sel ada yang sangat cepat dan ada pula yang lambat (Mulyadi, 1997). Dalam tahap ini ada sel yang akan berhenti tumbuh dan tumbuh terus. Sel yang berhenti tumbuh akan masuk ke fase G₀ yang terbagi menjadi dua golongan, golongan pertama stem sel yaitu sel yang dapat tumbuh lagi bila ada rangsangan tertentu misal untuk mengganti sel yang rusak atau mati dan kembali masuk ke fase- S. Sedangkan golongan ke dua yaitu sel yang tetap tidak akan tumbuh sampai sel itu mati. Hanya sel syaraf yang praktis tidak akan tumbuh lagi. Sedangkan sel yang tumbuh terus yaitu sel yang akan tumbuh lagi masuk ke fase-S (Sukardja, 2000).

2) Tahap II atau tahap S

Tahap ini berlangsung selama 6-8 jam. Pada fase ini dibentuk rantai DNA baru, protein, enzim, dan sebagainya untuk persiapan fase-M berikutnya. Ditahap ini disebut tahap S karena pada tahap ini disintesis DNA. Dengan dibentuknya DNA baru maka rantai tunggal DNA menjadi rantai ganda (Mulyadi, 1997; Sukardja, 2000).

3) Tahap III atau tahap G2

Tahap ini disebut interval premitosis atau fase pasca sintesis. Pada tahap ini disintesis asam ribonukleat (RNA) dan protein. Tahap III lebih pendek daripada tahap S (Mulyadi,1997).

4) Tahap IV atau Tahap M

Pada saat inaktivitas sintesis sangat rendah. Pada tahap M sel mengadakan mitosis kromosom membelah menjadi dua (Mulyadi, 1997).

Pada kanker, sel akan terus tumbuh tanpa batas sehingga sel itu tidak mati (immortal), sehingga terbentuk tumor yang makin lama makin menjadi besar dan bahkan sel-sel kanker dapat menyebar ke tempat atau organ lainnya, karena ada rangsangan tumbuh yang terus untuk tumbuh sampai penderita mati. Sel-sel kanker dapat lepas dari gerombolan tumor induknya atau anak sebar atau metastase.

Untuk dapat terus tumbuh sel-sel kanker memerlukan pasokan darah yang cukup, jika pasokan darah tidak mencukupi untuk pertumbuhan sel-sel kanker yang cepat, sehingga ada sel-sel yang mengalami hipoksia dan bahkan anoksia sehingga menyebabkan sel mati (nekrose). Kematian sel juga terjadi karena ada apoptosis yaitu kematian sel yang telah terprogram dalam gen sejak sel itu ada. Sel-sel kanker dapat memproduksi faktor pertumbuhan (*growth factor*), hormon, dan enzim sendiri (Sukardja, 2000).

d. Sifat sel kanker

Kanker adalah suatu penyakit dengan ciri gangguan atau kegagalan mekanisme pengatur multiplikasi dan fungsi homeostatis lainnya pada organisme multiseluler. Sifat umum dari kanker ialah sebagai berikut : (1) pertumbuhan berlebihan umumnya berbentuk tumor; (2) gangguan diferensiasi dari sel dan jaringan sehingga mirip jaringan mudigah; (3) bersifat invasiv, mampu tumbuh di jaringan sekitarnya (perbedaan pokok dengan jaringan normal); (4) bersifat metastatis, menyebar ketempat lain dan menyebabkan pertumbuhan baru; (5) memiliki hereditas bawaan (*acquired heredity*) yaitu turunan sel juga dapat menimbulkan kanker (Nafrialdi dan Sulistia Gan, 2003).

4. Sel Hela

HeLa *cell line* merupakan *continious cell line* yang tumbuh sebagai sel yang semi melekat. Sel HeLa diturunkan dari sel epitel kanker leher rahim cervik manusia. Sel ini diisolasi tahun 1951 dari rahim wanita penderita kanker leher rahim bernama Henrietta Lacks yang berusia 31 tahun sel HeLa cukup aman digunakan untuk penelitian dan untuk kultur sel (Lab Work, 2000, *cit.* Julia, 2001)

Media yang digunakan pada kultur sel hela adalah RPMI-1640-serum. Media RPMI mengandung nutrisi yang dibutuhkan sel seperti asam amino, vitamin, garam anorganik dan glukosa. Sedangkan serum mengandung hormon yang dapat memacu pertumbuhan sel. Albumin merupakan protein

transport, lipid yang diperlukan untuk pertumbuhan sel dan mineral yang merupakan kofaktor enzim. Seluruh komponen dalam media RPMI serum tersebut digunakan untuk memberikan nutrisi yang cukup pada sel, untuk tetap bertahan hidup dan memperbanyak diri (Freshney, 1987)

5. Sitotoksik

Uji sitotoksik terhadap sel HeLa dilakukan untuk mengetahui aktifitas ketoksikan fraksi semi polar dari ekstrak metanol kulit batang kambong (*D.validus*). Parameter yang digunakan adalah IC_{50} yang merupakan implementasi potensi ketoksikan

MTT assay merupakan metode yang penggunaannya sudah banyak diaplikasikan dalam berbagai bidang, metode ini berdasarkan pada perubahan garam tetrazolium (3,4,5- dimetiltiazol-2-11)-2,5 difeniltetrazolium bromida) (MTT) menjadi formazan dalam mitokondria sel hidup. Konsentrasi dari formazan yang berwarna ungu dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup (Price dkk, 1999, *cit.* Setyaningsih, 2005) garam tetrazolium (MTT) dilarutkan dalam Phosphat Buffer Saline (PBS) 5 ml/mg. MTT ditambahkan secara langsung pada plate yang berisi medium kultur 10 -100 μ l dan kemudian diinkubasi selama kurang lebih 4 jam pada 37⁰C, kristal formazan berwarna ungu yang terbentuk terlarut dengan adanya penambahan iso-propanol asam (100 μ l 0,04 N HCl dalam iso-propanol) (Mostman, 1993, *cit.* Setyaningsih, 2005) atau SDS 10% dalam HCl 0,01 N (Tada dkk, 1986, *cit.* Setyaningsih, 2005). Selanjutnya dibaca

absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm (Mostman, 1993; *cit* Setyaningsih, 2005). Intensitas warna ungu yang terbentuk berbanding langsung dengan sel yang aktif melakukan metabolisme (Sigma, 1999, *cit* Setyaningsih, 2005).

6. Kromatografi Lapis Tipis

Cara pemisahan dengan adsorpsi pada lapisan tipis adsorben sekarang lebih dikenal dengan kromatografi lapis tipis kromatografi lapis tipis, ialah metode pemisahan fitokimia. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir-butir fase diam, di tempatkan pada penyangga berupa pelat gelas logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan ditotalkan berupa bercak atau pita awal setelah pelat atau lapisan ditaruh di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok fase gerak pemisahan terjadi selama pembawa kapiler pengembangan lalu senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan di deteksi (Stahl, 1985)

Kelebihan penggunaan kromatografi lapis tipis dibandingkan dengan kromatografi kertas ialah karena dapat dihasilkan pemisahan yang lebih sempurna, kepekaan yang lebih tinggi dan dapat dilaksanakan dengan lebih cepat (Adnan, 1997)

Pada kromatografi lapis tipis ada 2 kondisi baku yaitu:

a. Fase diam lapisan penyerap

Lapisan dibuat dari salah satu penyerap yang khusus digunakan untuk KLT panjang lapisan 200 mm dengan lebar 200 atau 100 mm untuk

analisis, tebalnya 0,1-0,3 mm, biasanya 0,2 mm. Sebelum digunakan, lapisan disimpan dalam lingkungan yang tidak lembab dan bebas dari uap laboratorium

Penyerap yang umum ialah silika gel, alumunium oksida, kieselgurh, selulosa dan turunannya, poliamida dan lain-lain (Stahl, 1985).

Tabel 1. Sifat-sifat dasar beberapa adsorben untuk KLT

Adsorben	Keasaman	Aktivitas	Efek pemisahan	Senyawa yang dapat dipisahkan
Silika gel	Asam	Aktif	Adsorbsi, partisi	Hampir semua zat
Alumina	Basis	Aktif	Adsorbsi, partisi	Steroid, Senyawa
Magnesium trisilikat		Lemah	Adsorbsi	bersifat basis
Kalsium sulfat		Lemah	Adsorbsi	Karotenoid,
Kreselguhr	netral	inaktif	Partisi	Tokofenol As lemak, Gliserida Gula, Farmasetika

(Adnan, 1997)

b. Fase gerak pelarut pengembang

Fase gerak ialah medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Ia bergerak di dalam fase diam, yaitu suatu lapisan berpori karena ada gaya kapiler. Yang digunakan hanyalah pelarut bertingkat mutu analitik (Stahl, 1985)

Sebaiknya menggunakan campuran pelarut organik yang mempunyai polaritas serendah mungkin, salah satu alasan penggunaan itu ialah mengurangi serapan dari setiap komponen dari campuran pelarut (Sastrohamidjodjo, 2005)

Keberhasilan dari pemisahan kromatografi tergantung juga pada proses pewarnaan karena dengan warna yang terjadi akan mudah

terdeteksi, untuk mempermudah deteksi kromatogram yang terjadi di deteksi di bawah sinar UV

Deteksi paling sederhana adalah jika senyawa menunjukkan penyerapan di daerah UV gelombang pendek (254 nm) atau jika senyawa itu dapat dieksitasi kefluoresensi radiasi UV gelombang pendek dan atau gelombang panjang (366 nm) (Sthal, 1985).

Parameter setiap alat analisis sangat penting, beberapa parameter kromatografi adalah waktu retensi (t_r diganti dengan d_r), yang dimaksud adalah jarak atau distance solut yang ditempuh oleh fase gerak maupun solut. Retensi faktor (R_f) merupakan perbandingan jarak tempuh solut dibanding jarak tempuh fase gerak atau d_r/d_m , yang dirumuskan:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut (cm) } (d_r)}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak (cm) } (d_m)}$$

(Sumarno, 2000)

Faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam kromatografi lapisan tipis yang juga mempengaruhi R_f :

- 1) Struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan
- 2) Sifat dari penyerap dan derajat aktifitasnya.

Perbedaan penyerap akan memberikan perbedaan yang besar terhadap harga-harga R_f meskipun menggunakan fase gerak dan solut yang sama.

- 3) Tebal dan kerataan dari lapisan penyerap
- 4) Pelarut (dan derajat kemurniannya) fase bergerak

5) Derajat kejenuhan dari uap dalam bejana pengembangan yang digunakan

6) Teknik percobaan

7) Jumlah cuplikan yang digunakan.

Penetasan cuplikan dalam jumlah yang berlebihan memberikan tendensi penyebaran noda-noda dengan kemungkinan terbentuknya ekor dan efek tak kesetimbangan yang mengakibatkan kesalahan-kesalahan pada harga-harga Rf.

8) Suhu

Sebaiknya dikerjakan pada suhu tepat untuk mencegah perubahan-perubahan dalam komposisi pelarut yang disebabkan oleh penguapan atau perubahan-perubahan fase.

9) Kesetimbangan.

(Sastrohamidjojo, 2005)

E. Keterangan Empiris

Fraksi semipolar ekstrak metanol kulit batang Kambong (*Dipterocarpus validus* Blume) memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa.