

**UJI SITOTOKSIK KOMBINASI FRAKSI N-HEKSAN ETIL ASETAT
EKSTRAK SARANG SEMUT (*Hydnophytum formicarum*) DAN DOXORUBICIN
TERHADAP SEL VERO, MCF-7 DAN PROLIFERASI LIMFOSIT
SECARA *IN VITRO***

TESIS

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat sarjana Strata-2
Program Pascasarjana Ilmu Farmasi
Minat Farmasi Sains*



**Oleh :
SELFYANA AUSTIN TEE
SBF041310051**

**PROGRAM STUDI S2 ILMU FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2015**

PENGESAHAN TESIS

Berjudul :

**UJI SITOTOKSIK KOMBINASI FRAKSI N-HEKSAN ETIL ASETAT
EKSTRAK SARANG SEMUT (*Hydnophytum formicarum*) DAN DOXORUBICIN
TERHADAP SEL VERO, MCF-7 DAN PROLIFERASI LIMFOSIT
SECARA *IN VITRO***

Oleh :

Nama : Selfyana Austin Tee

NIM : SBF 041310051

Dipertahankan Di Hadapan Dewan Penguji Tesis
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 14 Februari 2015



Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,

(Prof. Dr.R.A., Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt)

Pembimbing Utama

(Prof.Dr. Ediati Sasmito, SE., Apt)

Pembimbing Pendamping

(Dr. Gunawan Pamudji, M.Si., Apt)

Dewan Penguji :

1. Dr. Ika Puspita Sari, S.Si., M.Si., Apt 1.....
2. Dr. Arief Nurrochmad, M.Si., M.Sc., Apt 2.....
3. Dr. Gunawan Pamudji W, M.Si., Apt 3.....
4. Prof. Dr. Ediati Sasmito, SE., Apt 4.....

HALAMAN PERSEMBAHAN

“ Akal Budi adalah sumber kehidupan bagi yang mempunyai”

(Amsal 16:22a)

**Dengan segala kerendahan hati karya ini kupersembahkan untuk TUHAN
YESUS**

Yang senantiasa menuntun tiap langkah hidupku

**Dan selalu memberikan arah dan jalan keluar untuk setiap pergumulan yang
saya hadapi**

**Papa,mama, om pastor,keluarga besar dan kegagalan masa lalu yang adalah
motivasi dan penyemangatku untuk berhasil.**

**Saudariku Saferian Angelina Tee dan Pin Trifonia Tee, terimakasih untuk
pengertian dan supportnya, semoga sukses dan keberhasilan selalu
menyertai kita.**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan dapat disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila tesis ini merupakan hasil jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi/tesis/disertasi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Februari 2015



Selfyana Austin Tee

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kehadiran Tuhan Yesus Kristus, yang telah memberikan segala berkat dan kasih karunia sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis yang berjudul **“UJI SITOTOKSIK KOMBINASI FRAKSI N-HEKSAN ETIL ASETAT EKSTRAK SARANG SEMUT (*Hydnophytum formicarum*) DAN DOXORUBICIN TERHADAP SEL VERO, MCF-7 DAN PROLIFERASI LIMFOSIT SECARA *IN VITRO*”**.

Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat dalam mencapai gelar strata-2 pada Program Studi S2 Farmasi Sains Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tanpa bantuan dari berbagai pihak maka tesis ini tidak dapat terselesaikan dengan baik, untuk itu dengan penuh kerendahan hati penulis mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang tinggi kepada:

1. Winarso Soeryolegowo, SH, M.Pd. selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Gunawan Pamudji W, M.Si., Apt selaku Ketua Program Studi Pasca Sarjana Ilmu Farmasi Universitas Setia Budi sekaligus pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu, perhatian dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu, bimbingan, arahan, kebijaksanaan, kearifan, keteladanan, dan dukungan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini.
4. Prof. Dr. Ediati Sasmito, SE., Apt, selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, perhatian dan keikhlasannya dalam membantu dan memberi

ilmu, arahan, kebijaksanaan, keteladanan, kearifan dan dukungan serta membimbing penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

5. Dr. Arief Nurrochmad, M.Si., M.Sc., Apt selaku penguji pertama yang telah meluangkan waktu sehingga ujian tesis dapat terlaksana.
6. Dr. Ika Puspita Sari, S.Si., M.Si., Apt selaku penguji kedua yang telah meluangkan waktu sehingga ujian tesis dapat terlaksana.
11. Seluruh Staf Pengajar Program Magister Ilmu Farmasi Sains Universitas Setia Budi yang telah memberikan ilmu pengetahuan selama masa perkuliahan, sehingga dapat membantu dalam penyelesaian tesis ini.
12. Kedua orang tua penulis, Bapak Rafael Tee dan Ibu Marsela Ego, saudara serta keluarga besar, penulis, terima kasih untuk dukungan doa, semangat & cinta yang tiada henti tercurah kepada penulis.
13. Teman-teman seperjuangan, mahasiswa Program S2 Ilmu Farmasi Universitas Setia Budi tahun 2013.
14. Teman-teman seperjuangan Evangeline Pentury dan Karol Geovani Batista Leki, terimakasih untuk kebersamaan selama perkuliahan hingga berakhirnya penelitian.
15. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu menyelesaikan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan tesis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu dengan rendah hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun guna perbaikan di masa mendatang.

Akhirnya penulis berharap semoga tesis ini dapat berguna dan bermanfaat bagi pihak yang berkepentingan.

Surakarta, Februari 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
PENGESAHAN TESIS	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I.....	1
PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	7
D. Manfaat Penelitian	7
E. Keaslian Penelitian.....	7
BAB II.....	Error! Bookmark not defined.
TINJAUAN PUSTAKA	Error! Bookmark not defined.
A. Tumbuhan Sarang Semut	Error! Bookmark not defined.
1. Sistematika Tumbuhan	Error! Bookmark not defined.
2. Nama Lain	Error! Bookmark not defined.
3. Kandungan Sarang Semut	Error! Bookmark not defined.
A. Maserasi	Error! Bookmark not defined.
B. Kromatografi Cair Vakum (KCV)	Error! Bookmark not defined.
C. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	Error! Bookmark not defined.
D. Sistem Imun	Error! Bookmark not defined.
E. Sel Limfosit.....	Error! Bookmark not defined.
F. Proliferasi Sel.....	Error! Bookmark not defined.
G. Aktivitas Proliferasi Sel	Error! Bookmark not defined.
H. Siklus Sel.....	Error! Bookmark not defined.

I. Cell Line.....	Error! Bookmark not defined.
1. Sel MCF-7	Error! Bookmark not defined.
2. Sel Vero	Error! Bookmark not defined.
J. Doxorubicin	Error! Bookmark not defined.
K. Penentuan Aktivitas Proliferasi.....	Error! Bookmark not defined.
L. Landasan Teori.....	Error! Bookmark not defined.
M. Hipotesis	Error! Bookmark not defined.
BAB III	Error! Bookmark not defined.
METODE PENELITIAN.....	Error! Bookmark not defined.
A. Populasi dan Sampel	Error! Bookmark not defined.
B. Variabel Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
1. Identifikasi variabel utama	Error! Bookmark not defined.
2. Klasifikasi Variabel Utama.....	Error! Bookmark not defined.
3. Definisi Operasional Variabel Utama.....	Error! Bookmark not defined.
C. Bahan dan Alat.....	Error! Bookmark not defined.
1. Bahan.....	Error! Bookmark not defined.
2. Alat	Error! Bookmark not defined.
D. Jalannya Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
1. Identifikasi umbi sarang semut.....	Error! Bookmark not defined.
2. Pembuatan ekstrak.....	Error! Bookmark not defined.
3. Pembuatan Fraksi	Error! Bookmark not defined.
4. Uji in vitro	Error! Bookmark not defined.
E. Analisis Hasil	Error! Bookmark not defined.
F. Alur Penelitian	Error! Bookmark not defined.
BAB IV	Error! Bookmark not defined.
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	Error! Bookmark not defined.
A. Identifikasi Tanaman.....	Error! Bookmark not defined.
B. Pembuatan Simplisia.....	Error! Bookmark not defined.
C. Fraksinasi Umbi Sarang Semut.....	Error! Bookmark not defined.
D. Identifikasi Kandungan Kimia	Error! Bookmark not defined.
1. Identifikasi Kandungan Kimia dari fraksi sarang semut	Error! Bookmark not defined.
E. Uji Aktivitas Terhadap Sel MCF-7 dan Sel Vero	Error! Bookmark not defined.

1. Uji pendahuluan Fraksi n-heksan tunggal terhadap Sel MCF-7	Error! Bookmark not defined.
2. Uji Sitotoksik terhadap Doxorubicin Tunggal	Error! Bookmark not defined.
3. Uji Sitotoksik Kombinasi Fraksi n-heksan dengan Doxorubicin terhadap Sel MCF-7.....	Error! Bookmark not defined.
4. Uji Sitotoksik terhadap Sel Vero	Error! Bookmark not defined.
F. Uji Proliferasi Sel Limfosit	Error! Bookmark not defined.
BAB V.....	Error! Bookmark not defined.
KESIMPULAN DAN SARAN.....	Error! Bookmark not defined.
A. Kesimpulan	Error! Bookmark not defined.
B. Saran.....	Error! Bookmark not defined.
BAB VI.....	Error! Bookmark not defined.
RINGKASAN	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR PUSTAKA	Error! Bookmark not defined.
Lampiran I. Perhitungan Ekstrak, Rendamen, dan Suspensi Uji	Error! Bookmark not defined.
Lampiran II. Identifikasi KLT	Error! Bookmark not defined.
Lampiran III. Gambar Hasil Pengujian Sel MCF-7. Sel vero dan Sel limfosit	Error! Bookmark not defined.
A. Indeks Sitotoksik Sel MCF-7	Error! Bookmark not defined.
B. Indeks Sitotoksi Sel Vero	Error! Bookmark not defined.
C. Indeks Proliferasi Sel Limfosit.....	Error! Bookmark not defined.
Lampiran IV. Gambar dan Hasil Identifikasi	Error! Bookmark not defined.
Lampiran V. Optical Density	Error! Bookmark not defined.
A. Uji Pendahuluan terhadap Sel MCF-7.....	Error! Bookmark not defined.
B. Uji Pendahuluan terhadap Doxorubicin Tunggal ..	Error! Bookmark not defined.
C. Uji Sitotoksik terhadap Sel MCF-7	Error! Bookmark not defined.
D. Uji Sitotoksik terhadap Sel Vero	Error! Bookmark not defined.
E. Uji Proliferasi Sel Limfosit	Error! Bookmark not defined.
Lampiran VII. Analisis Statistik.....	Error! Bookmark not defined.
A. Indeks Sel MCF-7	Error! Bookmark not defined.
C. Indeks Sel Vero	Error! Bookmark not defined.
D. Indeks Proliferasi Sel Limfosit.....	Error! Bookmark not defined.

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tumbuhan sarang semut (<i>Hydnophytum formicarum</i>).....	Error!
Bookmark not defined.	
Gambar 2. Struktur kimia doxorubisin.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 3. Skema kerja ekstraksi.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 4. Skema kerja fraksinasi	Error! Bookmark not defined.
Gambar 5. Skema cara kerja umum	Error! Bookmark not defined.
Gambar 6. Rajangan Sarang Semut (<i>Hydnophytum Formicarum</i>)	Error!
Bookmark not defined.	
Gambar 7. Identifikasi kualitatif flavonoid.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 8. Identifikasi kualitatif steroid	Error! Bookmark not defined.
Gambar 9. Identifikasi kualitatif tannin	Error! Bookmark not defined.
Gambar 10. Pengaruh pemberian fraksi A atau B terhadap viabilitas sel MCF-7	Error! Bookmark not defined.
Gambar 11. Pengaruh pemberian Doxorubicin terhadap viabilitas sel.....	Error!
Bookmark not defined.	
Gambar 12. Grafik viabilitas sel MCF-7 terhadap penambahan fraksi B.....	Error!
Bookmark not defined.	
Gambar 13. MCF-7 yang telah ditambah dengan reagen MTT ..	Error! Bookmark not defined.
Bookmark not defined.	
Gambar 14. Grafik persen viabilitas sel vero terhadap penambahan B	Error!
Bookmark not defined.	
Gambar 15. Sel vero yang telah ditambah reagen MTT	Error! Bookmark not defined.
Bookmark not defined.	
Gambar 16. Grafik indeks stimulasi proliferasi sel limfosit	Error! Bookmark not defined.
Bookmark not defined.	

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Pelarut dalam fraksinasi **Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran I. Perhitungan Ekstrak, Rendamen, dan Suspensi Uji	Error! Bookmark not defined.
Lampiran II. Identifikasi KLT	Error! Bookmark not defined.
Lampiran III. Gambar Hasil Pengujian Sel MCF-7. Sel vero dan Sel limfosit.....	Error! Bookmark not defined.
Lampiran IV. Gambar dan Hasil Identifikasi.....	Error! Bookmark not defined.
Lampiran V. Optical Density	Error! Bookmark not defined.

INTISARI

SELYANA, A.,T., UJI AKTIVITAS FRAKSI N-HEKSAN ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL SARANG SEMUT (*Hydnophytum formicarum*) KOMBINASI DOXORUBICIN TERHADAP MCF-7, SEL VERO DAN SEL LIMFOSIT SECARA *IN VITRO*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sarang semut (*Hydnophytum formicarum*) yang berasal dari Desa Soya, Ambon – Maluku. Sel MCF-7 merupakan salah satu sel kanker payudara yang sudah mengalami resistensi terhadap doksorubisin. Pemberian doksorubisin secara tunggal dapat berefek buruk pada sel normal dan menurunkan proliferasi limfosit. Tujuan pengujian adalah untuk mengetahui aktivitas kombinasi antara doksorubisin dan fraksi n-heksan sarang semut (*Hydnophytum formicarum*).

Ekstraksi sarang semut dilakukan dengan maserasi. Kemudian dilakukan fraksinasi menggunakan Kromatografi Cair Vakum (KCV). Masing-masing Fraksi diuji efeknya terhadap aktivitas proliferasi limfosit dan terhadap sel Vero dan MCF-7 menggunakan metode MTT pada berbagai variasi dosis (620 µg/ml, 310 µg/ml, 155 µg/ml, 77,5 µg/ml) dengan penambahan Doxorubicin. Vaksin Hepatitis B (Engerix B[®]) digunakan sebagai antigen. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji *kolmogorof sminorf* dan *saphiro wilk* dilanjutkan uji ANOVA.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi n-heksan sarang semut dengan berbagai konsentrasi dapat meningkatkan proliferasi limfosit. Konsentrasi tertinggi pada konsentrasi 155 µg/ml. Penambahan sarang semut tidak bersifat sitotoksik terhadap sel Vero. Penambahan konsentrasi 77.5 µg/ml dan 310 µg/ml mempunyai kemampuan menekan pertumbuhan sel MCF-7 yang sama dengan penggunaan doksorubisin tunggal. Sarang semut secara KLT dengan berbagai penampak bercak mengandung : flavonoid, Steroid, Tanin

Kata Kunci : Sarang semut (*Hydnophytum formicarum*), fraksi n-heksan, MCF-7, Vero, Proliferasi Limfosit.

ABSTRACT

SELYANA, A.,T., TEST THE ACTIVITY OF FACTION N-HEKSAN ETHYL ACETAT EXTRACT ETHANOL (*Hydnophytum formicarum*) A COMBINATION OF DOXORUBICIN AGAINST MCF-7 , VERO CELLS AND LYPHOCYTIC CELLS IIN VITRO.

Material used in this research is a hive of ants (*hydnohytum formicarum*) derived from soya from the village , ambon – Maluku. Cell mcf-7 is one of breast cancer cells already suffering resistance to doksorubisin. Granting doksorubisin singly can affect poorly on normal cells and lowering the proliferation of lymphocytes. The purpose of testing is to know the activity of combination between doksorubisin and faction n-heksan ants nest (*hydnohytum formicarum*)

Extraction ants nest done by maceration. And then it would be fractionate use Liquid Chromatography Vacuum (KCV). Each tested the effect faction on the activities of the proliferation of a lymphocyte and cell on vero mcf-7 and uses the MTT to a wide (620 µg/ml, 310 µg/ml, 155 µg/ml, 77,5 µg/ml) by the addition of doxorubicin . Hepatitis b vaccine (Engerix BÒ) used as an antigen .The data collected analyzed using the kolmogorof sminorf and saphiro wilk continued ANOVA test

The result showed that faction n-heksan ant nests can improve lymphocyte proliferation as increased doses. The addition of ant nests does not have a cell of cytotoxic against vero The addition can apparently faction pressing cell proliferation mcf-7 with increasing doses. Ant nests in KLT with uv ray containing: flavonoid , steroid , tannin

Kata Kunci : *Hydnophytum formicarum*, faction n-heksan, MCF-7,Vero, Proliferasi Limfosit

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker merupakan kumpulan sel abnormal yang terbentuk oleh sel-sel yang tumbuh secara terus-menerus, tidak terbatas, tidak terkoordinasi dengan jaringan sekitarnya dan tidak berfungsi fisiologis. Kanker terjadi karena timbul dan berkembang biaknya jaringan sekitarnya (infiltratif) sambil merusaknya (destruktif), dapat menyebar ke bagian lain tubuh, dan umumnya fatal jika dibiarkan. Ada yang tumbuh secara cepat, ada yang tumbuh tidak terlalu cepat, seperti kanker payudara.

Kanker payudara adalah tumor ganas yang menyerang jaringan payudara, jaringan payudara terdiri dari kelenjar susu (kelenjar pembuat air susu) saluran kelenjar (saluran air susu) dan jaringan penunjang payudara. Kanker payudara merupakan penyakit yang dapat menyebabkan kematian pada wanita, kanker payudara terjadi karena adanya kerusakan pada gen yang mengatur pertumbuhan dan dapat menyebabkan kematian pada wanita.

WHO melaporkan terdapat lebih dari 10 juta kasus kanker pertahun di dunia. Pada tahun 2006, diperkirakan ada 1,3 juta kasus kanker di Amerika Serikat, dan lebih dari 550 ribu orang meninggal karena penyakit ini (WHO, 2006). Untuk wanita dewasa di Amerika Serikat, kanker payudara adalah kanker yang paling umum (32% dari seluruh kasus kanker), diikuti oleh kanker paru-paru

(12%), kanker kolon dan rektum (11%), kanker endometrium (6%, uterus) dan limfoma non-Hodgkin (4%). Berdasarkan kasus kematian, kanker paru-paru paling umum (27% dari kematian kanker), diikuti oleh kanker payudara.

Metode pengobatan kanker payudara menggunakan kemoterapi masih dipilih hingga saat ini. Agen kemoterapi kanker payudara yang kini masih banyak dipakai adalah doksorubisin. Doxorubicin adalah agen kemoterapi yang sering digunakan dalam pengobatan kanker payudara tetapi mengalami resisten terhadap sel MCF-7, doxorubicin mengalami beberapa efek samping diantaranya menyebabkan resistensi dan kardiotosik sehingga akan beresiko tinggi bila digunakan dalam dosis yang lebih tinggi (Lu and Waxman, 2005). Doksorubisin menimbulkan efek samping merugikan berupa penurunan sistem imun tubuh. Doksorubisin menurunkan sistem imun tubuh melalui beberapa mekanisme, yaitu penurunan proliferasi sel limfosit dan TCD4+/TCD8+ (Zhang *et al.*, 2005) serta hepatotoksik (Bagchi *et al.*, 1995). Penelitian yang dilakukan Phonnok *et al* (2010) membuktikan bahwa doksorubisin memiliki efek sitotoksik pada sel Vero (model sel normal). Penurunan sistem imun dapat menyebabkan tubuh rentan terhadap serangan penyakit dan juga akan memperlambat proses penyembuhan kanker. Oleh karena penggunaan kombinasi yang sinergik diharapkan dapat meningkatkan sensitifitas sel terhadap doxorubicin. Salah satunya dengan mengkombinasikan pemakaian doksorubisin dan obat bahan alam.

Bagi masyarakat Papua, tanaman sarang semut digunakan untuk menyembuhkan beragam penyakit ringan dan berat, seperti kanker dan tumor, asam urat, jantung koroner, wasir, TBC, migren, rematik, dan leukimia (Subroto,

2006). Terdapat beberapa spesies sarang semut dari genus *Myrmecodia* antara lain spesies *Myrmecodia pendans*, *Myrmecodia tuberosa* dan *Hydnophytum formicarum* dari famili rubiaceae. Tumbuhan yang termasuk dalam satu familia pada umumnya memiliki anatomi dan morfologi yang mirip sehingga kemungkinan besar mempunyai proses fisiologi yang mirip. Proses fisiologi berhubungan dengan sel tumbuhan, maka diduga hal inilah yang menyebabkan banyak tumbuhan dalam satu familia mempunyai kandungan kimia yang sejenis (Amini *et al.*, 1991).

Penelitian mengenai potensi sarang semut telah banyak dilakukan. Sarang semut berpotensi sebagai imunomodulator (Hertiani *et al.*, 2010). Ekstrak etanol sarang semut secara *in vivo* dapat meningkatkan TCD4+ dan TCD8+ pada tikus galur SD (*Sprague Dawley*) setelah diberikan doksorubisin (Sumardi *et al.*, 2013). Ekstrak etanol dari *Hydnophytum formicarum* tentang ekstrak etanolik sarang semut (*Hydnophytum formicarum*) terhadap proliferasi sel limfosit, vero dan T47D dengan penambahan doksorubisin secara *in vitro* telah menunjukkan adanya peningkatan proliferasi limfosit. Selain itu, penelitian pada ekstrak metanol *Myrmecodia platytyrea* dilaporkan tidak mempengaruhi sel Vero (Mizaton *et al.*, 2010). Penelitian sarang semut *Myrmecodia tuberosa* dan *Myrmecodia pendens* yang dilakukan oleh hertiani *et al.*, (2010) menunjukkan bahwa fraksi n-heksan memiliki aktifitas yang rendah namun signifikan terhadap kontrol negatif dan menurunkan stimulasi proliferasi sel limfosit.

Penelitian pada spesies *Hydnophytum formicarum* dilaporkan adanya aktivitas induksi apoptosis sel kanker payudara (MCF-7) (Hasmah *et al.*, 2008).

Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Darwis (2002) tentang ekstrak etanolik sarang semut (*Hydnophytum formicarum*) terhadap proliferasi sel limfosit, vero dan T47D dengan penambahan doksorubisin secara *in vitro* telah menunjukkan adanya peningkatan proliferasi limfosit.

Ekstrak etanol sarang semut mengandung senyawa fenolik, saponin, terpenoid, antosianidin, flavonoid dan iridoid (Hertiani *et al.*, 2010; Effendi *et al.*, 2013). Prachayasittikul (2008) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa hasil isolasi dari ekstrak *H. formicarum* (n-heksan, diklorometan, dan etil asetat) memiliki aktivitas antioksidan yang merupakan senyawa flavonoid dan fenolik seperti isoliquiritigenin, butin, butein, protocatechualdehyde, tokoferol dan juga stigmasterol. Soeksmanto *et al* (2010) melaporkan fraksi aktif dari spesies *Myrmecodia pendens* mengandung saponin, alkaloid, tanin dan flavonoid.

Alkaloid, stigmasterol dan tokoferol yang terdapat dalam sarang semut merupakan senyawa non polar yang dapat ditarik dengan menggunakan pelarut n-heksan. Mekanisme alkaloid sebagai imunodulator meningkatkan aktifitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Tokoferol sebagai antioksidan mampu menstimulus sistem imun dengan meningkatkan perlekatan serta kemotaksis dari limfosit (De la Fuente dan Victor, 2000).

Menurut Wijayanti (2005), penambahan bahan yang bersifat imunostimulator akan meningkatkan respon pada limfosit dan menyebabkan pembelahan sel sehingga terjadi proliferasi. Penggunaan limfosit T yang telah teraktivasi pada mencit bertumor meningkatkan proliferasi. Menurut Pinchuk (2002) limfosit T yang aktif menghasilkan limfokin, IL-2 yang berfungsi memicu

proliferasi limfosit baik secara autokrin maupun parakrin. IL-2 juga berfungsi meningkatkan efek sitotoksik sel T sitotoksik dan merangsang produksi IFN. IL-2 diproduksi terutama oleh sel T *helper* dan dapat dirangsang produksinya dengan pemberian imunostimulator.

Peningkatan proliferasi limfosit T dalam kondisi immunosupresi yang sering ditemukan pada penderita penyakit sangat penting karena mampu meningkatkan kemampuan melawan penyakit. Pada penderita tumor peningkatan jumlah limfosit T sangat penting mengingat perannya dalam menghambat perkembangan dan pertumbuhan sel-sel tumor sehingga penggunaan imunostimulator dapat dijadikan alternatif sebagai usaha peningkatan jumlah limfosit T. Limfosit T yang aktif mampu menghasilkan TNF- α yang berfungsi menekan pertumbuhan sel tumor, meningkatkan pertumbuhan dan ekspresi IL-2R dan menstimulasi produksi interferon- γ yang juga berperan menghambat pertumbuhan sel tumor. Meningkatnya proliferasi limfosit T menyebabkan peningkatan jumlah TNF- α sehingga pertumbuhan sel tumor semakin mudah ditekan (Alexander *et al.*, 1993; Gu, 2005; Urban, 1982).

Penelitian mengenai kombinasi fraksi n-heksan dengan doksorubisin pada sel MCF-7 belum pernah dilakukan sebelumnya. Salah satu model sel kanker payudara yang telah mengalami resistensi terhadap agen kemoterapi doksorubisin adalah sel MCF-7 (Simstein *et al.*, 2003). Sel MCF-7 merupakan salah satu model sel kanker payudara yang banyak digunakan dalam penelitian. Sel tersebut diambil dari jaringan payudara seorang wanita Kaukasian berumur 69 tahun golongan darah O, dengan Rh positif, berupa sel adherent (melekat) yang dapat

ditumbuhkan dalam media penumbuh DMEM atau RPMI yang mengandung foetal bovine serum (FBS) 10% dan antibiotik Penicilin-Streptomycin 1% (Anonim, 2007). Sel MCF-7 memiliki karakteristik antara lain resisten agen kemoterapi (Mechetner *et al.*, 1998; Aouali *et al.*, 2003), mengekspresikan reseptor estrogen (ER +), overekspresi Bcl-2 (Butt *et al.*, 2000; Amundson *et al.*, 2000) dan tidak mengekspresikan caspase-3 (Onuki *et al.*, 2003; Prunet *et al.*, 2005). Sel MCF-7 tergolong cell line adherent (ATCC, 2008) yang mengekspresikan reseptor estrogen alfa (ER- α), resisten terhadap doxorubicin (Zampieri *et al.*, 2002), dan tidak mengekspresikan caspase-3 (Onuki *et al.*, 2003; Prunet *et al.*, 2005). Penelitian ini akan menguji apakah fraksi n-heksan mempunyai efek sinergis dengan agen kemoterapi doksorubisin sehingga dapat mengatasi permasalahan resistensi dan menurunkan dosis efektif doksorubisin sehingga dapat mengurangi toksisitas agen kemoterapi tersebut dan tidak bersifat toksik terhadap sel vero

B. Perumusan Masalah

1. Apakah fraksi n-heksan etanol sarang semut (*Hydnophytum formicarum*) bersifat sitotoksik terhadap sel vero dan sel MCF-7 dengan penambahan doksorubisin?
2. Apakah fraksi n-heksan ekstrak etanol sarang semut (*Hydnophytum formicarum*) mempunyai aktivitas terhadap proliferasi sel limfosit secara *in vitro*?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Untuk mengetahui aktivitas sitotoksik fraksi n-heksan ekstrak etanol sarang semut terhadap sel MCF-7
2. Untuk mengetahui potensi fraksi n-heksan ekstrak sarang semut terhadap aktivitas proliferasi sel limfosit secara *in vitro*

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan tambahan data ilmiah sebagai sumber acuan pemanfaatan tumbuhan sarang semut (*Hydnophytum formicarum*) baik untuk penelitian lebih lanjut maupun dalam pengobatan tradisional guna mengurangi efek samping dari doksorubisin.

E. Keaslian Penelitian

Penelitian ini sepanjang penelusuran pustaka belum pernah dilakukan sebelumnya. Penelitian serupa dilakukan oleh Darwis (2011) yang menguji tentang ekstrak etanol kental sarang semut (*Hydnophytum formicarum*) terhadap aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D, sel vero serta peningkatan proliferasi sel limfosit secara *in vitro* , Dari penelitian Hertiani *et al.*, (2010) menyatakan bahwa tumbuhan sarang semut dari spesies *M. tuberosa* dan *M. pendens* meningkatkan aktivitas proliferasi sel limfosit. Sumardi *et al.*, 2013 menyatakan ekstrak etanol sarang semut secara *in vivo* dapat meningkatkan TCD4+ dan TCD8+ pada tikus galur SD (*Sprague Dawley*) setelah diberikan doksorubisin. Penelitian sarang semut *mymecordia tuberosa* dan *myrmecodia pendens* yang dilakukan oleh

Hertiani *et al.*, (2010) menunjukkan bahwa fraksi n-heksan memiliki aktifitas yang rendah namun signifikan terhadap kontrol negatif dan menurunkan stimulasi proliferasi sel limfosit. Penelitian pada ekstrak metanol *Myrmecodia platytyrea* dilaporkan tidak mempengaruhi sel Vero (Mizatun *et al.*, 2010).

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian terdahulu yaitu peneliti menguji sampel berupa umbi sarang semut dengan spesies yang berbeda yaitu *Hydnophytum formicarum* menggunakan fraksi n-heksan dengan campuran etil asetat dengan sel yang kanker yang berbeda yaitu sel MCF-7.