

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KULTUR
SEL KANKER PAYUDARA T47D**



Oleh :

**Maya Purnamasari
21154655A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KULTUR
SEL KANKER PAYUDARA T47D**

HALAMAN JUDUL

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Maya Purnamasari
21154655A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

PENGESAHAN SKRIPSI
berjudul

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KULTUR
SEL KANKER PAYUDARA T47D**

Oleh :

Maya Purnamasari
21154655A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal: 16 Juli 2019

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing Utama,

Fransiska Leviana, S.Farm., M.Sc., Apt

Pembimbing Pendamping

Dra. Nony Puspawati, M.Si

Penguji:

1. Dr. Wiwin Herdwiani, S.F., M.Sc., Apt

2. Dr. Iswandi, S.Si., M.Farm., Apt

3. Yane Dila Keswara, M.Sc., Apt

4. Fransiska Leviana, S.Farm., M.Sc., Apt

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi 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 disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Surakarta, 16 Juli 2019



Maya Purnamasari

HALAMAN PERSEMBAHAN

Tulisan ini saya persembahkan untuk kedua orang tua tercinta

Bapak Suharto dan Ibu Ririh.

Terimakasih atas kasih sayang, do'a yang selalu dipanjatkan, serta dorongan semangat yang selalu diberikan kepada anaknya tercinta.

Alhamdulillah berkah limpahan do'anya serta atas izin

Allah SWT, saya dapat menyelesaikan studi ini

sesuai dengan yang diharapkan.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KULTUR SEL KANKER PAYUDARA T47D”**. Penyusunan skripsi bertujuan untuk memenuhi syarat memperoleh gelar kesarjanaan pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, maka dengan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Fransiska Leviana, S.Farm., M.Sc., Apt., selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, perhatian dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu dan bimbingan sehingga terselesaikannya skripsi ini.
4. Dra. Nony Puspawati, M.Si., selaku pembimbing pendamping yang telah banyak membantu penulis dalam memberikan masukan dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Tim penguji skripsi, penulis mengucapkan terimakasih atas masukan, kritik dan saran dalam penyusunan skripsi ini.
6. Segenap dosen, karyawan dan staf laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu demi kelancaran skripsi ini.
7. Seluruh jajaran civitas Departemen Parasitologi UGM dan lembaga Cancer Chemoprevention Research Center UGM khususnya kepada Bapak Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., Ph.D., Sp.Park selaku supervisor penelitian saya dan kepada Ibu Rumbi, MBA selaku teknisi dalam penelitian, saya ucapkan terima kasih atas ketersediaanya dalam menerima, menasehati, dan membantu dalam praktikum.

8. Kepada Bu Ririh dan Pak Suharto tercinta, serta seluruh keluargaku yang selalu memberikan dukungan, do'a dan restu dalam setiap usahaku.
9. Kepada abangku tersayang Danny Swandani dan kakakku Fajri Intan yang selalu memberikan semangat serta menemani disetiap prosesnya.
10. Kepada dedek Lufiku tersayang yang telah bersedia memberikan fasilitas laptop untuk menyelesaikan skripsi ini.
11. Kepada temanku tersayang, terima kasih atas kerjasama, do'a, dan dorongan semangatnya, terutama untuk tim solo – jogja (Qori, Yusuf, dan Iyan) yang terus berjuang bersama dalam menyelesaikan skripsi ini.
12. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam menyusun skripsi ini dan jauh dari kata sempurna, untuk itu kritik dan saran yang bersifat membangun dari para pembaca sangat diharapkan penulis.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan dan kemajuan khususnya bidang farmasi dan siapa saja yang mempelajarinya, serta untuk nusa dan bangsa Indonesia.

Surakarta, 16 Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR RUMUS	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
INTISARI	xvi
ABSTRACT	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Kegunaan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tanaman Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis)	4
1. Sistematika tanaman	4
2. Nama daerah	4
3. Morfologi	5
4. Kandungan kimia	5
5. Khasiat	6
6. Perkembangan penelitian daun binahong terkait kanker	7
B. Simplisia	7
1. Pengertian simplisia	7
2. Pengambilan simplisia	8

3. Pengeringan simplisia	8
4. Pembuatan serbuk simplisia	8
C. Ekstraksi.....	9
1. Pengertian ekstraksi.....	9
2. Pengertian ekstrak.....	9
3. Metode ekstraksi.....	9
4. Pelarut	10
D. Kanker Payudara.....	10
1. Kanker	10
2. Kanker payudara.....	11
3. Faktor resiko kanker payudara	11
4. Pengobatan kanker payudara.....	12
E. Siklus Sel.....	13
1. Fase M (fase mitosis).....	13
2. Fase G1 (<i>growth phase 1</i> / pasca mitosis).....	14
3. Fase S (<i>synthetic phase</i> / sintesis).....	14
4. Fase G2 (<i>growth phase 2</i> / pra mitosis)	14
F. Sel Kanker Payudara.....	14
G. Sel Vero.....	15
H. Uji Sitotoksik.....	15
I. Metode MTT	16
J. ELISA <i>Reader</i>	17
K. Indeks Selektivitas	18
L. Landasan Teori	18
M. Hipotesis.....	20
N. Kerangka Pikir.....	21
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	22
A. Populasi dan Sampel	22
B. Variabel Penelitian.....	22
1. Identifikasi variabel utama	22
2. Klasifikasi variabel utama.....	22

3. Definisi operasional variabel utama	23
C. Bahan dan Alat	24
1. Bahan	24
2. Alat.....	24
D. Jalannya Penelitian	24
1. Determinasi tanaman binahong	24
2. Pengumpulan, pengeringan dan pembuatan sampel daun binahong	25
3. Penetapan susut pengeringan.....	25
4. Pembuatan ekstrak daun binahong	25
5. Penetapan kadar air pada ekstrak.....	26
6. Identifikasi kandungan kimia sampel daun binahong dengan metode tabung	26
7. Sterilisasi	27
8. Pembuatan media biakan dan penumbuh sel.....	27
9. Pembuatan larutan uji	28
10. Preparasi sel	28
11. Uji sitotoksik terhadap sel kanker payudara dan sel vero	29
12. Uji indeks selektivitas	30
E. Analisis Data	30
F. Skema Jalannya Penelitian	31
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	33
A. Penyiapan Bahan Tanaman	33
1. Determinasi tanaman	33
2. Pengumpulan simplisia, pengeringan simplisia, dan pembuatan ekstrak.....	33
3. Organoleptis serbuk daun binahong	33
4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun binahong.....	34
5. Pembuatan ekstrak etanol daun binahong	34
6. Uji kadar air ekstrak etanol daun binahong.....	35
7. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun binahong ...	35
B. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Binahong Terhadap Kultur Sel Kanker Payudara T47D	36

1. Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun binahong	36
2. Uji indeks selektivitas ekstrak etanol daun binahong.....	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	41
A. Kesimpulan.....	41
B. Saran	41
DARTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Daun binahong.....	4
2. Siklus sel.....	13
3. Skema kerangka pikir.....	21
4. Skema bilik hitung	29
5. Skema pembuatan ekstrak	31
6. Skema uji sitotoksik	32
7. Morfologi sel T47D pada perbesaran 400x.	38
8. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak etanol daun binahong vs % viabilitas pada sel T47D	39
9. Grafik hubungan konsentrasi doxorubisin vs % viabilitas sel T47D.....	39

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah	33
2. Hasil uji organoleptis serbuk daun binahong	34
3. Hasil penetapan susut pengeringan daun binahong	34
4. Hasil rendemen ekstrak etanol daun binahong	35
5. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak etanol daun binahong	35
6. Hasil kadar air ekstrak daun binahong	35
7. Hasil identifikasi kandungan senyawa ekstrak etanol daun binahong	36
8. Nilai Indeks Selektivitas.....	40

DAFTAR RUMUS

	Halaman
1. Jumlah sel terhitung/mL.....	29
2. Volume pemanenansel	29
3. % viabilitas	30
4. Indeks selektivitas	31

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat keterangan hasil determinasi	47
2. Surat <i>ethical clearance</i>	48
3. Daun binahong segar, daun kering, dan hasil serbuk.....	49
4. Perhitungan rendemen daun kering dan ekstrak etanol daun binahong	50
5. Hasil identifikasi kandungan senyawa	51
6. Perhitungan volume panen sel	53
7. Perhitungan pembuatan larutan stok dan seri konsentrasi ekstrak binahong .	54
8. Degradasi warna setelah pemberian ekstrak, setelah pemberian MTT dan setelah pemberian SDS.....	56
9. Gambar kristal formazan pada sel T47D.....	58
10. Gambar kristal formazan pada sel vero.....	60
11. Perhitungan IC ₅₀ ekstrak etanol daun binahong	62
12. Perhitungan nilai indeks selektivitas.....	66

DAFTAR SINGKATAN

B2P2TOOT	: <i>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional</i>
BRCA	: <i>Breast Cancer Susceptibility Gene</i>
DMEM	: <i>Dulbeccos Modified Eagle Medium</i>
DMSO	: <i>Dimetil sulfoksida</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
HEPES	: <i>(4-(2-hydroxyethyl)-1piperazinethanesulfonic acid)</i>
IC ₅₀	: <i>Inhibitory Concentration 50%</i>
MTT	: <i>Microculture Tetrazolium Technique</i>
NADH	: <i>Nikotinamida Adenosin Dinukleotida Hidrogen</i>
NADPH	: <i>Nikotinamida Adenosin Dinukleotida Phospat Hidrogen</i>
PBS	: <i>Phospate Buffered Saline</i>
RPMI	: <i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SDS	: <i>Sodium Dodecyl Sulphate</i>

INTISARI

PURNAMASARI, M., 2019, UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KULTUR SEL KANKER PAYUDARA T47D, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA

Kanker payudara adalah penyebab terbesar kematian pada wanita akibat kanker diantara berbagai kanker. Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) digunakan oleh masyarakat sebagai alternatif pengobatan. Daun binahong diketahui mengandung flavonoid yang memiliki potensi sebagai agen antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik dan indeks selektivitas ekstrak etanol daun binahong terhadap kultur sel kanker payudara T47D.

Ekstraksi etanol daun binahong dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Uji sitotoksik yang dilakukan menggunakan metode MTT *assay* dengan seri konsentrasi (1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,2; 15,6) $\mu\text{g/mL}$ untuk selanjutnya dihitung nilai IC_{50} menggunakan regresi linier. Nilai indeks selektivitas ekstrak dapat dihitung dengan cara membandingkan IC_{50} sel Vero terhadap IC_{50} sel kanker.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun binahong memiliki aktivitas sitotoksik kurang aktif terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai IC_{50} 431,386 $\mu\text{g/mL}$, dan memiliki selektivitas sitotoksik yang baik dengan nilai indeks selektivitas 3,544.

Kata kunci : Daun binahong, sitotoksik, sel kanker payudara T47D.

ABSTRACT

PURNAMASARI, M., 2019, CYTOTOXIC ACTIVITY OF BINAHONG LEAVES ETHANOL EXTRACT (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) ON T47D BREAST CANCER CELL LINE, SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA

Breast cancer is the biggest cause of death in women due to cancer among various cancers. Binahong leaves (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) are used by the community as an alternative treatment. Binahong leaves are known to contain flavonoids which have potential as anticancer agents. This study aims to determine the cytotoxic activity and selectivity index of binahong leaves ethanol extract on T47D breast cancer cell line.

Ethanol extract of binahong leaves was done by maceration method using 70% ethanol. The extract obtained was then evaporated until the extract becomes thick. Cytotoxic tests were carried out by MTT *assay* method with used series concentrations (1000; 500; 250; 125; 62.5; 31.2; 15.6) $\mu\text{g} / \text{mL}$ for the IC_{50} score calculated through linear regression. Selectivity index of extract obtained by comparing IC_{50} score of Vero cell to IC_{50} score of cancer cells.

The results showed that the ethanolic extract of binahong leaves had less potential cytotoxic activity on T47D breast cancer cells with IC_{50} score 431,386 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and has good cytotoxic selectivity with a selectivity index score 3,544.

Keywords: Binahong leaves, cytotoxic, T47D breast cancer cell.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama diseluruh dunia (Kemenkes RI 2015). Penyakit kanker timbul akibat pertumbuhan tidak normal sel jaringan tubuh yang berubah menjadi sel kanker. Berdasarkan data *GLOBOCAN, International Agency for Research on Cancer (IARC)* prevalensi kanker meningkat dengan bertambahnya usia, jenis kelamin, dan tempat tinggal. Prevalensi kanker agak tinggi pada bayi (0,3 %), meningkat pada umur ≥ 15 tahun, dan tertinggi pada umur ≥ 75 tahun (5 %). Perempuan cenderung berpotensi lebih tinggi (2,9 %) terserang kanker dari pada laki – laki (0,7 %), serta penduduk kota cenderung berpotensi lebih tinggi (2,06 %) daripada penduduk di desa (1,47 %) (Kemenkes RI 2018). Kanker payudara adalah penyebab terbesar kematian akibat kanker diantara berbagai kanker seperti: kanker paru, kanker hati, dan kanker kolorektal (Kemenkes RI 2015).

Kanker payudara dikelompokkan sebagai karsinoma (keganasan tumor epitel). Kanker payudara pada umumnya berupa ductal breast cancer yang invasif (Tambunan 2003). Salah satu model kanker payudara yang banyak digunakan dalam penelitian adalah sel MCF7 dan sel T47D. Pada penelitian ini kultur sel yang digunakan adalah T47D, karena memiliki replikasi yang tidak terbatas, memiliki homogenitas yang tinggi, serta memiliki mekanisme antiapoptosis dan karsinogenesis yang kuat daripada sel MCF7 (Aka *et al.* 2012).

Dalam perkembangannya, penanganan penyakit kanker dilakukan dengan kemoterapi, radioterapi, dan operasi. Beberapa obat kemoterapi yang paling sering digunakan adalah antimetabolik, senyawa interaktif DNA, senyawa antitubulin, hormon, dan senyawa penarget monoklonal. Penggunaan obat kemoterapi tersebut menyebabkan efek yang tidak diinginkan seperti: rambut rontok, supresi sumsum tulang, resistensi obat, lesi gastrointestinal, disfungsi neurologi, dan toksisitas jantung (Nussbaumer *et al.* 2011). Oleh karena itu penanganan terapi antikanker

diperlukan terapi lain yang memiliki efektifitas yang lebih baik dan efek samping yang lebih rendah dari obat kemoterapi (Sharma *et al.* 2011).

Daun binahong adalah bagian dari tanaman obat potensial yang dapat mengatasi berbagai jenis penyakit termasuk sebagai obat antikanker (Jazilah 2014). Metabolit sekunder yang terdapat pada daun binahong antara lain flavonoid, steroid/triterpenoid, saponin, dan tanin (Surbakti 2018). Senyawa golongan flavonoid dari tanaman binahong memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan sel kanker (Elsyana *et al.* 2016). Flavonoid flavon, apigenin dan stein memiliki sifat sitotoksik terhadap sel HeLa, namun flavonoid kaempferol dan quercetin tidak memberikan efek (Szlizska 2008).

Secara tradisional dengan meminum rebunasan daun binahong dipercaya dapat menyembuhkan penyakit kanker (Mangan 2009). Seiring berkembangnya zaman di pasaran terdapat beberapa produk jamu berupa kapsul binahong yang menyatakan bahwa berkhasiat menyembuhkan berbagai penyakit salah satunya yaitu penyakit kanker. Adanya pernyataan tersebut memicu peneliti untuk melakukan penelitian terhadap beberapa sel kanker. Pengujian terhadap sel HeLa dilakukan oleh Rahardhian dan Utami (2018) dengan menggunakan ekstrak eter daun binahong dan Yuliani *et al.* (2015) menggunakan ekstrak etanol daun binahong masing – masing menghasilkan IC_{50} berturut – turut 85,52 $\mu\text{g/mL}$; 75 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan NCI (*National Cancer Institute*) suatu ekstrak dikatakan aktif apabila memiliki aktivitas sitotoksitas ($IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$); moderat aktif apabila ($30 \mu\text{g/mL} \leq IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$); kurang aktif apabila ($IC_{50} \geq 100 \mu\text{g/mL}$). Namun, penelitian aktivitas daun binahong terhadap kanker payudara belum ada. Sehingga hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tambahan bagi dunia farmasi dalam pengembangan obat sehingga tanaman binahong dapat dimanfaatkan sebagai salah satu sumber daya alam untuk alternatif pengobatan kanker payudara.

Pengujian sitotoksik pada penelitian ini dengan metode MTT, prinsipnya terjadi reduksi garam kuning tetrazolium MTT (*3-(4,5dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid*) oleh sistem reduktase. Suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk

kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan reagen *stopper* (bersifat detergenik) akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan *ELISA reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak (CCRC 2009).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

Pertama, apakah ekstrak etanol daun binahong memiliki aktivitas sitotoksik terhadap kultur sel kanker payudara T47D berdasarkan nilai IC_{50} ?

Kedua, berapakah indeks selektivitas ekstrak etanol daun binahong pada sel kanker payudara T47D terhadap sel Vero?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

Pertama, untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun binahong terhadap kultur sel kanker payudara T47D berdasarkan nilai IC_{50} .

Kedua, untuk mengetahui indeks selektivitas ekstrak etanol daun binahong terhadap sel Vero.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang kemampuan ekstrak etanol daun binahong dalam aktivitas sitotoksik sebagai pengobatan kanker. Diharapkan dapat dikembangkan untuk penelitian pengobatan kanker payudara.