

**UJI SITOTOKSIK FRAKSI ETIL ASETAT UMBI BIDARA UPAS
(*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f.) TERHADAP
SEL KANKER PAYUDARA T47D**



Oleh:

**Qurrotul A'yun
18144363A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

**UJI SITOTOKSIK FRAKSI ETIL ASETAT UMBI BIDARA UPAS
(*Merremia mamosa* (Lour.) Hall. f.) TERHADAP
SEL KANKER PAYUDARA T47D**

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

Oleh:

**Qurrotul A'yun
18144363A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

PENGESAHAN SKRIPSI
berjudul

**UJI SITOTOKSIK FRAKSI ETIL ASETAT UMBI BIDARA UPAS
(*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f.) TERHADAP
SEL KANKER PAYUDARA T47D**

Oleh :

Qurrotul A'yun
18144363A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 18 Oktober 2016

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan



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

Pembimbing Utama,

Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Fransiska Leviana, M.Sc., Apt.

Penguji:

1. Muhammad Dzakwan, M.Si., Apt.
2. Sunarti, M.Sc., Apt.
3. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt.
4. Dra. Kartinah W., SU.

1.....

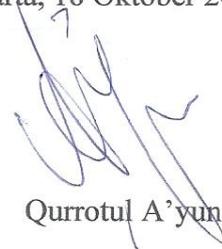
3.....

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 sepengetahuan 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, 18 Oktober 2016



Qurrotul A'yun

HALAMAN PERSEMBAHAN

Kesedihan tidak akan menyelesaikan masalah, tetapi berpikir mencari solusi itulah yang akan menyelesaikan tiap masalah yang ada

(penulis)

Perjalanan seribu batu bermula dari satu langkah.

(Lao Tze)

Kegagalan hanya terjadi bila kita menyerah

(Lessing)

Skripsi ini kusembahkan untuk:

Malaikat tanpa sayap ibundaku tercinta,

adikku Ibrahim

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirobbil 'alamin penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan berkah-Nya, sehingga penulisan Skripsi dengan judul “UJI SITOTOKSIK FRAKSI ETIL ASETAT UMBI BIDARA UPAS (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. F.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D” telah selesai dengan baik.

Penyusunan Skripsi merupakan salah satu syarat untuk dapat memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada jurusan S1 Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Dalam penulisan Skripsi ini penulis telah berusaha semaksimal mungkin untuk memberikan hasil yang terbaik. Dan tak mungkin terwujud tanpa adanya dorongan, bimbingan, semangat, motivasi serta bantuan baik moril maupun materiil, dan do'a dari berbagai pihak. Karena itu penulis pada kesempatan ini mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Ibu Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Ibu Dwi Ningsih, M.Farm., Apt., selaku Ketua Prodi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
4. Ibu Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt. selaku pembimbing akademik.
5. Ibu Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt., selaku pembimbing utama skripsi, atas segala ketulusan, kesabaran dan keikhlasannya dalam memberikan arahan, pengertian, saran, dan ilmunya yang tiada tara nilainya.
6. Ibu Fransiska Leviana, M.Sc.,Apt. selaku pembimbing pendamping skripsi, atas segala ketulusan, kesabaran dan keikhlasannya dalam memberikan arahan, pengertian, saran, dan ilmunya yang tiada tara nilainya.
7. Tim penguji proposal dan skripsi yang telah memberikan masukan untuk menyempurnakan skripsi ini.
8. Segenap dosen pengajar jurusan S1 Farmasi yang telah banyak memberikan ilmu dan pelajaran berharga.

9. Segenap staff Universitas Setia Budi khususnya laboratorium 13 dan 9 serta Mbak Rumbiwati selaku teknisi Laboratorium Parasitologi UGM, terima kasih atas kesediaannya menerima dan membantu dalam praktikum guna penyelesaian skripsi
10. Ibundaku yang selalu memberikan dukungan, do'a, dan restunya.
11. Sahabat-sahabatku "KUOMPOR", teman-teman seperjuangan morning glory dan areca crew, serta teman-teman Pejuang S. Farm. (transfer angkatan '14) yang setia memberikan semangat serta motivasi dan semoga persahabatan dan kebersamaan kita abadi
12. Berbagai pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, atas segala dukungan dan bantuan yang telah diberikan.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan laporan Skripsi ini. Untuk itu penulis mengharapkan adanya kritik dan saran yang membangun dari semua pihak untuk perbaikan sehingga akan menjadi bahan pertimbangan dan masukan untuk penyusunan tugas-tugas selanjutnya. Penulis berharap semoga Skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca pada umumnya dan dapat menjadi bekal bagi penulis dalam pengabdian Sarjana Farmasi di masyarakat pada khususnya.

Akhirnya kepada Allah SWT penulis mengharapkan ridho dan ampunan. Semoga Skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca. Aamiin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Surakarta, 18 Oktober 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Bidara Upas	5
1. Klasifikasi tanaman	5
2. Deskripsi tanaman	5
3. Kandungan kimia.....	6
4. Kegunaan dan khasiat	7
B. Simplisia	7
C. Ekstraksi	8
1. Ekstrak.....	8

2. Maserasi.....	8
3. Fraksinasi.....	9
4. Cairan penyari	10
D. Kanker	10
1. Definisi	10
2. Siklus sel.....	11
2.1 Fase G ₁	11
2.2 Fase S atau sintesis	12
2.3 Fase G ₂	12
2.4 Fase M	12
2.5 Fase G ₀	13
3. Apoptosis	13
4. Terapi kanker	14
4.1 Operasi.....	14
4.2 Radiasi	14
4.3 Kemoterapi	14
4.4 Imunoterapi atau bioterapi.....	15
5. Kanker payudara	15
E. Sel vero	17
F. Uji Sitotoksik.....	17
G. Uji Indeks Selektivitas.....	19
H. Landasan Teori	19
I. Hipotesa	22
BAB III METODE PENELITIAN	23
A. Populasi dan Sampel.....	23
B. Variabel Penelitian	23
1. Identifikasi variabel utama	23
2. Klasifikasi variabel utama	23
3. Definisi operasional utama	24
C. Bahan dan Alat	25
1. Bahan	25
2. Alat	26
D. Jalannya Penelitian	26
1. Determinasi tanaman bidara upas	26
2. Pengumpulan, pengeringan bahan, dan pembuatan serbuk	26
3. Penetapan susut pengeringan	27
4. Pembuatan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat	27
5. Identifikasi kandungan kimia serbuk simplisia dan ekstrak umbi bidara upas.....	28
5.1 Fenolik	28

5.2 Flavonoid	28
5.3 Tanin	28
5.4 Alkaloid	29
5.5 Terpenoid	29
6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi etil asetat dengan KLT	29
7. Uji sitotoksik.....	30
7.1 Sterilisasi alat.....	30
7.2 Pembuatan media stok RPMI dan media komplit RPMI	30
7.3 Pembuatan media stok M199 dan media komplit M199	31
7.4 Pembuatan larutan uji	31
7.5 Pengaktifan sel kanker payudara T47D dan sel vero.....	32
7.6 Panen dan perhitungan sel	32
7.7 <i>Treatment</i> sel (pemberian fraksi etil asetat dan MTT) ..	34
7.8 Uji indeks selektivitas.....	34
E. Analisa Hasil	35
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	39
1. Determinasi tanaman bidara upas.....	39
2. Pengumpulan, pengeringan bahan, dan pembuatan serbuk.....	39
3. Penetapan susut pengeringan.....	40
4. Pembuatan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat.....	40
5. Identifikasi kandungan kimia simplisia dan ekstrak umbi bidara upas.....	42
6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi etil asetat dengan KLT	43
7. Uji sitotoksik.....	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	49
A. Kesimpulan.....	49
B. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN.....	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Siklus sel (Pollock 2004)	13
2. Sel kanker T47D (ATCC 2015)	17
3. Prinsip MTT <i>assay</i> (Talupula 2011)	19
4. Hemositometer	33
5. Skema pembuatan ekstrak dan fraksi etil asetat umbi bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hall. f.)	36
6. Skema uji sitotoksik fraksi etil asetat umbi bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hall. f.)	37
7. Skema uji sitotoksik dan selektivitas ekstrak umbi bidara upas (<i>Merremia mammosa</i> (Lour.) Hall. f.)	38
8. Morfologi sel kanker payudara T47D pada perbesaran 400x	44
9. Morfologi sel kanker payudara T47D sebelum dan setelah perlakuan	45
10. Grafik hubungan log konsentrasi ekstrak umbi bidara upas vs %hidup ...	46
11. Grafik hubungan log konsentrasi fraksi etil asetat umbi bidara upas vs % hidup	46

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Rendemen simplisia umbi bidara upas	39
2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk simplisia umbi bidara upas ...	40
3. Rendemen ekstrak umbi bidara upas	40
4. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak umbi bidara upas	41
5. Rendemen fraksi etil asetat umbi bidara upas.....	41
6. Hasil pemeriksaan organoleptis fraksi etil asetat umbi bidara upas	41
7. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk simplisia dan ekstrak umbi bidara upas	42

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Hasil determinasi umbi bidara upas	55
2. Surat kelaikan etik.....	58
3. Surat ijin penelitian	59
4. Surat keterangan selesai penelitian	60
5. Foto umbi, rajangan, serbuk, ekstrak, dan fraksi etil asetat umbi bidara upas	61
6. Alat dan bahan uji sitotoksik.....	62
7. Perhitungan rendemen	64
8. Hasil identifikasi kualitatif kandungan kimia simplisia.....	65
9. Hasil pengujian KLT.....	67
10. Pola uji MTT pada <i>microplate</i>	69
11. Perhitungan volume panen sel kanker payudara T47D dan sel Vero	71
12. Pembuatan larutan stok dan seri konsentrasi sampel	72
13. Perubahan warna sebelum pemberian sampel, sesudah pemberian sampel, dan sesudah pemberian MTT	74
14. Perhitungan IC ₅₀	76
15. Perhitungan indeks selektivitas.....	79

DAFTAR SINGKATAN

ABS	: <i>Absorbansi</i>
DMSO	: <i>Dimetil sulfokside</i>
DNA	: <i>Deoxiribo Nucleic Acid</i>
ELISA	: <i>Enzym-Linked Immunosorbent Assay</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
IC ₅₀	: <i>Inhibitory Concentration 50%</i>
KLT	: <i>Kromatografi Lapis Tipis</i>
MTT	: <i>Microculture Tetrazolium Technique</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
RNA	: <i>Ribo Nucleic Acid</i>
RPMI	: <i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SDS	: <i>Sodium Dodecyl Sulphate</i>
UV	: <i>Ultra Violet</i>
VS	: <i>Versus</i>

INTISARI

A'YUN, Q., 2016, UJI SITOTOKSIK FRAKSI ETIL ASETAT UMBI BIDARA UPAS (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI.

Kanker adalah pertumbuhan sel abnormal yang menyerang jaringan di sekitarnya dan menyebar ke organ lain. Bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f.) merupakan salah satu tanaman yang telah digunakan secara empiris oleh masyarakat untuk berbagai macam penyakit salah satunya kanker payudara. Tanaman ini telah menjadi dasar terapi tumor dan kanker oleh Rumah Riset Jamu *Hortus Medicus* di Tawangmangu. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan uji sitotoksik fraksi etil asetat umbi bidara upas terhadap sel kanker payudara T47D dan ekstrak umbi bidara upas terhadap sel vero untuk melihat indeks selektivitasnya.

Ekstraksi umbi bidara upas dilakukan dengan maserasi dengan pelarut etanol 96% kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi cair-cair. Uji sitotoksik menggunakan metode MTT *assay* dengan variasi konsentrasi (500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63; 7,81) $\mu\text{g/mL}$. Data yang diperoleh digunakan untuk menghitung nilai *Inhibitory Concentration* 50 (IC_{50}) menggunakan regresi linier. Indeks selektivitas didapatkan dengan membandingkan nilai IC_{50} sel vero terhadap sel kanker.

Hasil penelitian menunjukkan fraksi etil asetat umbi bidara upas memiliki aktivitas sitotoksik moderat aktif terhadap sel kanker payudara T47D dengan IC_{50} sebesar 32,3 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan ekstrak etanol umbi bidara upas tidak memiliki aktivitas yang poten dengan nilai IC_{50} sebesar 165,6 $\mu\text{g/mL}$ dengan indeks selektivitas sebesar 4,46.

Kata kunci : umbi bidara upas, sitotoksik, sel kanker payudara T47D, indeks selektivitas

ABSTRACT

A'YUN, Q., 2016, CYTOTOXIC TEST OF ETHYL ACETATE FRACTION OF *BIDARA UPAS* TUBER (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f.) AGAINST BREAST CANCER T47D CELL LINES, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY.

Cancer is abnormal cells that invade surrounding tissue and spread to other organs. *Bidara upas* (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f.) has been used empirically by the community for various diseases, one of them is breast cancer. This plant is one of basic tumor therapy and cancer by House of Research Jamu Hortus Medicus in Tawangmangu. This study aimed to determine cytotoxic test of ethyl acetate fraction of bidara upas tuber against breast cancer T47D cell lines and extract of bidara upas tuber against vero cells to see index selectivity.

Extraction of bidara upas tuber was done by maceration with ethanol 96% and continued with liquid-liquid fractionation. Cytotoxic test was using MTT assay method with various concentrations (500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63; 7,81) $\mu\text{g/mL}$. The data obtained were used to calculate Inhibitory Concentration 50 (IC_{50}) value by linear regression. Selectivity index was obtained by comparing the IC_{50} value vero cells against cancer cells.

The results showed that ethyl acetate fraction of bidara upas tuber had moderate cytotoxic activity against breast cancer T47D cell lines with IC_{50} of 32,3 $\mu\text{g/mL}$, while the ethanol extract of bidara upas tuber had not potential activity with IC_{50} of 165,6 $\mu\text{g/mL}$. Selectivity index gained by 4,46.

Keywords : bidara upas tuber, cytotoxic, breast cancer T47D cell lines, selectivity index

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker adalah pertumbuhan sel abnormal yang cenderung menyerang jaringan di sekitarnya dan menyebar ke organ tubuh lain yang letaknya jauh. Kanker terjadi karena proliferasi sel tak terkontrol yang terjadi tanpa batas dan tanpa tujuan (Corwin 2009). Sel yang dalam kondisi normal akan memperbanyak diri jika ada sel yang mati atau rusak. Sel kanker akan terus mengalami pembelahan meskipun tidak diperlukan tubuh (Mardiana 2007). Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Pada tahun 2012, sekitar 8,2 juta kematian disebabkan oleh kanker (Kemenkes RI 2015).

Salah satu kanker dengan angka kejadian yang tinggi pada wanita di Indonesia adalah kanker payudara. Kanker payudara adalah tumor ganas yang menyerang jaringan payudara (kelenjar susu, saluran kelenjar air susu, dan jaringan penunjang payudara). Kanker payudara umumnya menyerang wanita yang telah berumur lebih dari 40 tahun, akan tetapi wanita muda dan pria juga bisa terserang kanker ini (Mardiana 2007). Menurut WHO (*World Health Organization*), kanker payudara adalah kanker yang paling sering terjadi pada wanita di dunia, dengan 1,7 juta kasus baru yang terdiagnosa pada tahun 2012. Pada tahun yang sama menurut *International Agency for Research on Cancer* (IARC), kanker payudara menempati urutan pertama kasus baru dan kematian akibat kanker pada penduduk wanita di dunia, sebesar 43,3% dan 12,9%.

Berdasarkan data statistik di Rumah Sakit Dharmais, pada tahun 2010 terdapat 711 kasus baru dan terus meningkat hingga tahun 2013 menjadi 819 kasus baru. Menurut data Riskesdas tahun 2013, terdapat 61.682 atau sebesar 0,5% kasus kanker payudara di Indonesia (Kemenkes RI 2015). Angka kejadian kanker payudara terus meningkat di setiap negara terutama negara berkembang (Laksmi *et al.* 2012).

Meningkatnya angka kejadian penyakit kanker mengakibatkan berkembangnya metode pengobatan yang digunakan. Metode pengobatan kanker ada dua yaitu pengobatan secara konvensional (operasi, kemoterapi, pembedahan, radiasi) dan metode pengobatan dengan menggunakan tumbuhan yang disebut obat herbal. Pengobatan menggunakan tumbuhan telah berlangsung sejak ribuan tahun yang lalu dan diwariskan secara turun temurun melalui tulisan ataupun lisan. Obat herbal merupakan terapi yang tetap bertahan di tengah-tengah kemajuan pengobatan konvensional. Minat pasien terhadap obat herbal dipicu oleh risiko efek samping yang rendah dan lebih aman dibandingkan obat konvensional (Radji *et al.* 2010).

Salah satu jenis pemanfaatan tanaman obat sebagai antikanker adalah tanaman bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f.). Bidara upas memiliki sinonim dengan *Batatta mammosa* Rumph., *Convolvulus mammosa* Hall., *Ipomoea mammosa* Choi. yang termasuk dalam famili Convolvulaceae (Agoes 2010). Bagian tanaman bidara upas yang dapat dimanfaatkan adalah bagian umbi, baik dalam bentuk umbi segar maupun umbi kering. Umbi bidara upas di pasaran sering diramu dalam bentuk jamu yang dicampur dengan tanaman pendamping

dan terbukti manjur untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit kronis seperti kencing manis, bronkitis, batuk berdarah, asma, tifus, demam berdarah, usus buntu, dan kanker payudara. Tanaman bidara upas telah menjadi salah satu jenis tanaman yang digunakan sebagai dasar terapi tumor dan kanker oleh Rumah Riset Jamu *Hortus Medicus* di Tawangmangu (Zulkarnain 2015). Kandungan kimia yang terdapat dalam bidara upas antara lain damar, resin, pati, zat pahit, dan getah (Lasmadiwati & Setyowati 2003; Zulkarnain 2015). Berdasarkan penelitian Kitagawa *et al.* (1996) umbi bidara upas mengandung senyawa glikosida resin, yaitu *merremoside* dan *mammoside*, serta menurut Farizal (2014), dalam bidara upas juga terkandung senyawa alkaloid, tanin, flavonoid, dan polifenol.

Aktivitas antikanker fraksi etilasetat tanaman *Merremia emarginata* Burm.F. yang memiliki genus yang sama dengan bidara upas juga telah dibuktikan oleh Purushoth *et al.* (2012) terhadap sel Hela dan sel kanker payudara MCF-7 dengan IC_{50} sebesar 51,57 $\mu\text{g/mL}$ dan 39,6 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti tertarik untuk melakukan uji sitotoksik fraksi etil asetat umbi bidara terhadap sel kanker payudara T47D dan ekstrak umbi bidara upas terhadap sel vero untuk melihat indeks selektivitasnya.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu:

1. Apakah ekstrak umbi bidara upas memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dan berapakah nilai IC_{50} nya?

2. Berapakah indeks selektivitas ekstrak umbi bidara upas dari sel vero terhadap sel kanker payudara T47D?
3. Apakah fraksi etil asetat umbi bidara upas memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dan berapakah nilai IC_{50} nya?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini antara lain:

1. Untuk mengetahui efek sitotoksik dan nilai IC_{50} ekstrak umbi bidara upas terhadap sel kanker payudara T47D.
2. Untuk mengetahui indeks selektivitas ekstrak umbi bidara upas dari sel vero terhadap sel kanker payudara T47D.
3. Untuk mengetahui efek sitotoksik dan nilai IC_{50} fraksi etil asetat umbi bidara upas terhadap sel kanker payudara T47D.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat memberi informasi ilmiah tentang kemampuan fraksi etil asetat umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f.) dalam aktivitas sitotoksik sebagai obat alternatif dalam pengobatan kanker payudara. Memberi kontribusi ilmiah terhadap penelitian-penelitian kanker payudara selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Bidara Upas

1. Klasifikasi tanaman

Klasifikasi tanaman bidara upas *Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f. :

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Ordo : Solanales

Famili : Convulvulaceae

Genus : Merremiae

Spesies : *Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f.

Sinonim : *Battata mammosa* Rumph.; *Convulvulus mammosa* Hall.;
Ipomoea mammosa Chois.

Nama umum : Bidara upas

Nama daerah : Blanar, widoro upas (Jawa); hailale (Maluku/Ambon); bidara upas
(Sumatra) (Lasmadiwati & Setyowati 2003).

2. Deskripsi tanaman

Tumbuhan liar di hutan kadang ditanam di halaman dekat pagar sebagai tanaman obat atau karena umbinya dapat dimakan. Tumbuh dengan baik di daerah tropis dari dataran rendah sampai ketinggian 250 mdpl. Bidara upas merupakan tanaman merayap atau membelit yang panjangnya 3-6 meter, batangnya kecil, bila

dipegang agak licin, dan warnanya agak gelap. Daun tunggal, bertangkai panjang, berbentuk jantung, tepi rata, ujung meruncing, panjang 5-12 cm, lebar 4-15 cm, warna hijau tua. Perbungaan berbentuk payung menggarpu berkumpul 1-4 bunga, bentuknya seperti lonceng berwarna putih, panjang 7-8 cm, dengan 4 helai kelopak. Umbi berkumpul di dalam tanah, mirip umbi jalar. Bila tanahnya kering dan tidak tergenang air serta gembur, beratnya dapat mencapai 5 kg atau lebih. Warna kulit umbinya kuning kecoklatan, kulitnya tebal bergetah warna putih, bila kering warnanya menjadi coklat. Perbanyakan dilakukan dengan stek batang atau menanam umbinya (Agoes 2010).

3. Kandungan kimia

Kandungan kimia yang terdapat di dalam bidara upas antara lain damar, resin, pati, zat pahit, dan getah (Lasmadiwati & Setyowati 2003). Zat pahit dalam tumbuhan biasanya diyakini senyawa alkaloid, tetapi dalam beberapa kasus penyebab rasa pahit adalah senyawa terpenoid (Robinson 1995). Menurut Farizal (2014), terdapat empat senyawa penting dalam bidara upas, yaitu alkaloid, tanin, flavonoid, dan polifenol.

Keluarga *Convulvulaceae* memiliki kandungan kimia spesifik yang terdapat pada tiap genus yaitu resin yang banyak terdapat dalam jaringan daun, akar, dan rimpang. Spesies ini dapat mensintesis senyawa *amphipatic glycolipids* yang biasa disebut dengan glikosida resin (Pereda-Miranda 2009). Glikosida resin memiliki bioaktifitas potensial sebagai penghambat pertumbuhan, sitotoksik, antifungi, antibakteri, dan menghambat pompa *efflux* bakteri (Yu *et al.* 2011). Menurut Kitagawa *et al.* (1996) terdapat 13 jenis glikosida resin pada tanaman

bidara upas, yaitu *merremoside* a, b, c, d, e, f, g, h₁, dan h₂ serta *mammosides* A, B, H₁ dan H₂. Penelitian oleh Pereda-Miranda (2009), menunjukkan bahwa kandungan glikosida resin pada tanaman *Ipomoea tricolor* yang masih satu famili dengan bidara upas menunjukkan adanya aktivitas antibakteri *broad-spectrum* dan aktivitas sitotoksik.

4. Kegunaan dan khasiat

Tanaman ini mempunyai bunga yang indah dan menarik sehingga dapat dimanfaatkan sebagai tanaman hias. Umbi bidara upas juga dapat dimanfaatkan sebagai obat atau diolah (diramu) menjadi jamu. Khasiat umbinya sangat manjur untuk menyembuhkan luka dan berbagai penyakit kronis seperti kencing manis. Efek farmakologis yang ditimbulkan dari berbagai kandungan senyawa tersebut bersifat antiradang, analgetik, pencahar, penghilang bengkak, penetral racun (*antidote*), penyejuk, penghenti pendarahan, penurun kadar gula darah, penurun panas, dan penghambat sel kanker (Lasmadiwati & Setyowati 2003).

B. Simplisia

Simplisia adalah bahan ilmiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman (Depkes RI 1995^b). Simplisia yang terlalu halus akan memberikan kesulitan pada proses penyarian karena butir-butir halus tadi membentuk suspensi yang sulit dipisahkan dengan hasil penyarian, sehingga hasil penyarian tidak murni lagi tetapi tercampur dengan

partikel-partikel halus. Penyerbukan yang terlalu halus menyebabkan banyaknya dinding sel yang pecah, sehingga zat yang tidak diinginkan ikut dalam proses penyaringan (Depkes RI 1986).

C. Ekstraksi

1. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian, sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI 1995^a). Ekstrak menurut sifatnya dapat dikelompokkan menjadi: ekstrak encer (*extractum tenue*), sediaan ini memiliki konsistensi seperti madu dan dapat dituang; ekstrak kental (*extractum spissum*), sediaan ini liat dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang; ekstrak kering (*extractum siccum*), memiliki konsistensi kering dan mudah digosokkan; ekstrak cair (*extractum fluidum*), diartikan sebagai suatu ekstrak cair, yang dibuat sedemikian sehingga 1 bagian simplisia sesuai dengan 2 bagian (kadang-kadang juga 1 bagian) ekstrak cair (Voigt 1994).

2. Maserasi

Maserasi berasal dari kata *macerare* artinya melunakkan. Maserasi adalah cara penarikan zat dari simplisia dengan merendam simplisia dalam cairan penyari pada suhu biasa ataupun memakai pemanasan (Syamsuni 2006). Maserasi biasanya dilakukan pada temperatur 15°-20°C selama 3 hari sampai bahan-bahan

melarut (Ansel 2008).

Prinsip dari maserasi adalah cairan penyari menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel, maka larutan yang pekat akan terdesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Maserasi digunakan untuk penyarian simpisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari dan tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol, atau pelarut lain. Bila cairan penyari yang digunakan air, maka untuk mencegah timbulnya kapang dapat ditambahkan bahan pengawet yang diberikan pada awal penyarian. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah didapatkan, serta cocok untuk bahan tanamann dengan kandungan kimia yang tidak tahan pemanasan. Kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Depkes RI 1986).

3. Fraksinasi

Tujuan dari tahap ini adalah menghilangkan (memisahkan) senyawa yang tidak dikendaki semaksimal mungkin tanpa berpengaruh pada senyawa kandungan yang dikehendaki, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni. Proses-proses pada tahap ini adalah pengendapan, pemisahan dua cairan tak tercampur, pengendapan, sentrifugasi, dekantasi, filtrasi serta adsorbsi dan penukaran ion (Depkes RI 2000).

4. Cairan penyari

Cairan penyari harus dapat mencapai seluruh serbuk dan secara terus-menerus mendesak larutan yang memiliki konsentrasi yang lebih tinggi keluar. Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria seperti: murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, tidak ikut bereaksi, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, selektif, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, dan diperbolehkan oleh aturan (Depkes RI 1986).

Cairan pelarut harus memenuhi syarat kefarmasian atau dalam perdagangan dikenal dengan kelompok spesifikasi *pharmaceutical grade*. Sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air dan alkohol (etanol) serta campurannya. Jenis pelarut lain seperti metanol (alkohol turunannya), heksana (hidrokarbon aliphatik), toluena (hidrokarbon aromatik), kloroform (dan segolongannya), dan aseton, umumnya digunakan sebagai pelarut tahap separasi dan tahap pemurnian. Khusus metanol dihindari penggunaannya karena sifatnya yang toksik akut dan kronik (Depkes RI 2000).

D. Kanker

1. Definisi kanker

Kanker merupakan suatu neoplasma yang terdiri dari tumor jinak (*benign*) dan tumor ganas (*malignant*). Tumor ganas bermetastasis dan tumor jinak tidak bermetastasis (Winarno 2011). Sel kanker tumbuh terus menerus secara tidak terkendali, tidak terbatas, dan tidak normal (abnormal). Sel yang dalam kondisi

normal akan memperbanyak diri jika ada sel yang mati atau rusak. Sel kanker akan terus mengalami pembelahan meskipun tidak diperlukan tubuh. Pembelahan sel kanker yang terus menerus akan merusak jaringan sel lain yang normal dan menyebar ke organ tubuh lain melalui jaringan ikat, darah, saraf, dan jaringan penunjang organ tubuh (Mardiana 2007).

Perubahan genetika pada sel kanker akan mendorong pertumbuhan sel, menginaktivasi gen yang normalnya tumbuh lambat, membiarkan sel tetap membelah sehingga sel bersifat *immortal* (tidak mati), dan membiarkan sel tetap berada dalam kondisi *abnormal* yang dalam kondisi lain menyebabkan kematian sel (apoptosis). Sel kanker akan merekrut sel normal untuk menyuplai nutrisi agar sel tersebut tetap hidup dan mengembangkan strategi agar sistem imun tidak menghancurkan sel kanker (Corwin 2009). Sel kanker dapat menyerang setiap jaringan tubuh manusia kecuali rambut dan kuku. Organ tubuh manusia yang berpotensi terkena kanker, antara lain paru-paru, payudara, sistem reproduksi, usus besar, lambung, kulit, nasofaring, kelenjar getah bening, hati, otak, darah, dan rongga mulut (Wijayakusuma 2008).

2. Siklus sel

Obat-obat anti kanker, juga dikenal sebagai agen-agen kemoterapeutik atau obat antineoplastik. Obat-obat antikanker bekerja pada tahap-tahap tertentu dari siklus sel. Ada lima tahap dalam replikasi sel yaitu:

2.1 Fase G₁. Fungsi-fungsi vegetatif (nonreproduktif) yang penting dari sel terjadi pada saat fase G₁. Fungsi vegetatif tersebut adalah pertumbuhan, peningkatan jumlah organel, dan produksi zat-zat, baik untuk diekspor maupun

digunakan secara intraselular (Fried & Hademeneson 2005). Sel juga akan memproduksi enzim yang diperlukan untuk DNA (asam deoksiribonukleat) (Kee & Hayes 1996). Selama tahap ini, sel memantau lingkungannya untuk replikasi DNA. Tahap ini merupakan cekpoin bagi sel karena bila sel merasa kondisinya tidak tepat, sel tidak akan menjali siklusnya (Corwin 2009).

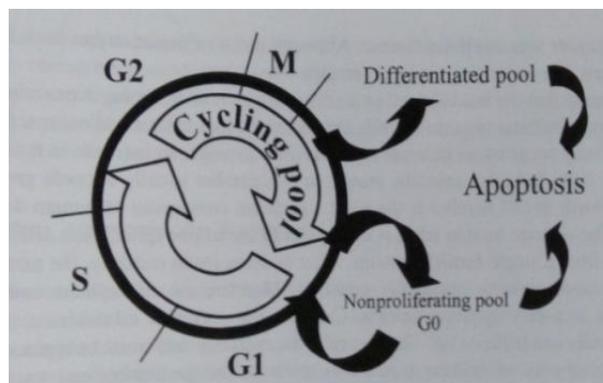
2.2 Fase S atau sintesis. Replikasi DNA akan terjadi pada fase sintesis, seiring dengan majunya garpu replikasi, nukleosom akan terurai. Sepanjang fase ini, sintesis histon dan protein yang berikatan dengan DNA akan meningkat. Kromosom akan mengalami duplikasi akan tetapi, tingkat aktifitas metabolik sel terjadi penurunan (Fried & Hademeneson 2005; Marks *et al.* 2000).

2.3 Fase G₂. Pengorganisasian materi untuk struktur-struktur terspesialisasi yang diperlukan bagi kromosom dan replikasi sel akan terbentuk pada fase G₂ (Fried & Hademeneson 2005). Tahap ini juga merupakan cekpoin karena jika DNA belum diduplikasi secara tepat, sel memiliki kesempatan kedua untuk menghentikan tahap siklus sel selanjutnya sebelum terjadi mitosis. Perbaikan akan dilakukan, bila terjadi kesalahan replikasi DNA kemudian sel akan masuk lagi ke dalam siklus sel atau sel akan dirangsang untuk mengalami apoptosis, yaitu kematian sel terprogram (Corwin, 2009).

2.4 Fase M. Sel memulai proses aktif pembelahan pada fase M dan dilanjutkan oleh mitosis yang sebenarnya. Kromosom menjadi tampak dan mengalami pergerakan yang berurutan, kemudian satu set replikat kromosom (kromatid) bermigrasi ke masing-masing kutub sel (Fried & Hademeneson 2005). Mitosis merupakan proses yang jauh lebih singkat daripada interfase dan

berlangsung sekitar 1 jam. Mitosis terdiri atas stadium profase, metafase, anafase, dan telofase (Corwin 2009).

2.5 Fase G₀. Setelah melewati fase G₀, sel akan memasuki fase G₁. Beberapa sel yang tidak mengalami poliferasi akan memasuki fase G₀. Sel yang berada pada fase ini tidak mengalami poliferasi, tidak mati, dan dapat memasuki siklus sel kembali. Sel pada fase G₀ yang pada jangka waktu tertentu tidak mengalami poliferasi akan mengalami apoptosis (Pollock 2004).



Gambar 1. Siklus sel (Pollock 2004)

3. Apoptosis

Apoptosis merupakan suatu proses kematian sel karena adanya luka pada sel yang ditandai oleh penyusutan sel, kondensasi sel, dan fragmentasi nuklear. Apoptosis mempunyai peran yang sangat penting dalam perkembangan sel, homeostasis dan pada penyakit seperti *Acquired Immunodeficiency Syndrome* (AIDS) dan penyakit neurodegeneratif. Apoptosis merupakan mekanisme protektif utama melawan kanker. Kanker ditandai dengan poliferasi yang tidak terkontrol dari sel yang berbahaya, sedangkan apoptosis merupakan penyeimbang dari poliferasi. Adanya gangguan apoptosis merupakan kunci terjadinya perkembangan sel kanker (Pollock 2004).

4. Terapi kanker

4.1. Operasi. Pengobatan utama pada penyakit kanker adalah dengan operasi dan sering bersifat radikal. Pengobatan dengan operasi sering digabungkan dengan radiasi dan/atau kemoterapi. Operasi merupakan tujuan pengobatan pada penyakit kanker stadium awal (Badri 2006).

4.2. Radiasi. Pengobatan ini, menggunakan energi gelombang atau partikel yang tinggi seperti *X-ray*, sinar gamma, elektron, dan proton untuk menghancurkan sel-sel kanker. Penggunaan radiasi akan mengganggu pembelahan sel, menstimulasi apoptosis, dan menghentikan siklus sel. Lebih dari 50% penderita kanker diobati dengan metode ini. Radiasi digunakan untuk mengobati berbagai tumor seperti payudara, paru-paru, dan leher rahim (Badri 2006; Corwin 2009).

4.3. Kemoterapi. Pengobatan dengan menggunakan zat-zat kimia dalam bentuk oral, parenteral, atau lokal. Pengobatan ini, dapat diberikan sendiri atau dikombinasi dengan radiasi atau operasi (Badri 2006). Tujuan terapi antikanker adalah membunuh sel-sel kanker tanpa membahayakan sel inang, tetapi hal ini sulit dilakukan karena sel kanker pada dasarnya adalah sel manusia yang kehilangan kontrol pembelahan sel dan di dalam tubuh manusia juga terdapat bagian yang terus mengalami pembelahan. Efek obat pada sel-sel yang membelah ini yang menyebabkan efek merugikan (Stringer 2009). Pemberian obat-obat sitotoksik menimbulkan efek samping seperti anemia, anoreksia, ansietas, perdarahan, demam, infeksi, insomnia, nyeri, alopsia (rambut rontok). Timbulnya efek samping yang merugikan menyebabkan digunakannya kombinasi obat

dengan maksud untuk mengurangi efek samping yang ditimbulkan (Indrawati 2009). Beberapa golongan obat kemoterapi, yaitu zat alkalis (klormetin, siklofosfamid), antimetabolit (metroteksat, merkaptopurin), antimitotika (vinblastin, vinkristin), antibiotik (doksorubisin, daunorubisin), imunomodulansia (siklosporin, interferon-alfa), hormon dan antihormon (takmoksifen, siproteron), obat-obat lainnya (cisplatin, prokarbazin) (Tjay & Rahardja 2010).

4.4. Imunoterapi atau bioterapi. Terapi antikanker dengan menggunakan imunoterapi merupakan bentuk terapi yang baru diciptakan yang memanfaatkan dua sifat atau ciri utama dari sistem imun yaitu spesifitas dan daya ingat. Pengobatan dengan mengaktifkan sistem imun untuk mengenali dan menghancurkan sel tumor serta secara spesifik memblok enzim dan faktor pertumbuhan yang diperlukan untuk metastasis (Corwin 2009).

5. Kanker payudara

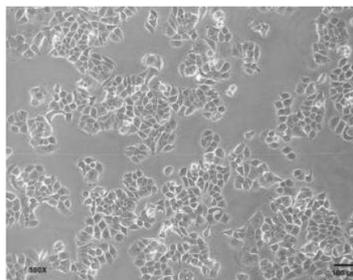
Kanker payudara adalah neoplasma ganas yaitu suatu pertumbuhan jaringan payudara *abnormal* dengan pertumbuhan berlebihan dan tidak ada koordinasi dengan pertumbuhan jaringan normal, tumbuh infiltratif, dan destruktif serta dapat bermetastase ke jaringan tubuh lain. Kanker payudara terjadi karena adanya kerusakan pada gen yang mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel, sehingga sel tumbuh dan berkembang biak tanpa dapat dikendalikan. Kerusakan gen dapat disebabkan oleh karsinogen, virus, sinar ionisasi, hormon, dan sebagainya (Indrati 2005; Purba 2004).

Kanker payudara menyerang jaringan payudara (kelenjar susu, saluran kelenjar air susu, dan jaringan penunjang payudara). Kanker payudara umumnya

menyerang wanita yang telah berumur lebih dari 40 tahun. Namun, wanita muda dan pria juga bisa terserang kanker ini (Mardiana 2007). Kanker payudara lebih sering menyerang payudara kiri daripada payudara kanan dan lebih sering menyerang pada bagian kuadran kiri-atas. Tingkat pertumbuhan kanker payudara bervariasi. Secara teori, kanker payudara yang berkembang lambat bisa membutuhkan waktu 8 tahun untuk bisa diraba saat berukuran 1 cm. Kanker ini menyebar melalui sistem limfatik dan aliran darah, melalui sisi kanan dari jantung ke paru-paru dan akhirnya ke payudara yang lain, dinding dada, hati, tulang, dan otak. Kanker payudara bisa diklasifikasikan menurut tampilan histopatologi dan lokasi lesinya: *adenokarsinoma* (muncul dari epitelium), *intraduktal* (berkembang di dalam duktus), *infiltrasi* (muncul di jaringan parenkim matosa payudara), *inflamatorik* (tumor yang tumbuh cepat, kulit yang menutupinya menjadi dematos, terinflamasi, dan mengalami pengerasan), *karsinoma lobular in situ* (melibatkan lobus jaringan glandular), *modular* (tumor besar yang tumbuh cepat) (Paramita 2011).

Sel kanker payudara memiliki jenis yang berbeda-beda dilihat dari tipe histologi, tingkat keganasan, status kelenjar getah bening, dan adanya tanda khusus. Beberapa contoh sel kanker payudara, yaitu sel MCF-7, T47D, SUM185, BT474, ZR-75, MDA-MB-468, SUM190, BT549, MDM-MB-231, Hs578T, SUM1315, SKBR3, MDA-MB-453 (Holliday & Speirs 2011). Sel kanker T47D merupakan *cell line* yang diisolasi oleh I. Keydar dari efusi pleural pada payudara pasien wanita 54 tahun dengan infiltrasi *ductal carcinoma*. Media dasar yang digunakan adalah RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) 1640. Untuk membuat

medium komplet pertumbuhan digunakan media dasar dengan ditambahkan *fetal bovine serum* dengan konsentrasi 10% (ATCC 2016).



Gambar 2. sel kanker T47D (ATCC 2016)

E. Sel Vero

Sel vero berasal dari ginjal monyet hijau Afrika (*Cercopithecus aethiops*) pada tahun 1960-an dan merupakan salah satu *continuous cell lines* dari mamalia yang paling sering digunakan dalam penelitian. *Cell line* ini, telah banyak digunakan secara luas dalam studi virulogi dan dalam penelitian bakteri secara intraselular, parasit, penilaian efek bahan kimia, racun, dan zat-zat lain pada sel mamalia di tingkat molekular. Terdapat beberapa jenis *cell line* dari sel vero seperti, Vero, Vero 76, Vero E6 yang semuanya berasal dari sumber yang sama (Ammerman 2008).

F. Uji Sitotoksik

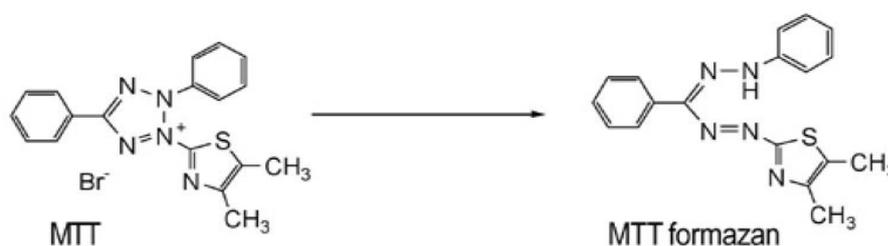
Uji sitotoksik merupakan uji *in vitro* dengan menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi tingkat ketoksikan suatu senyawa. Sistem tersebut merupakan uji kualitatif dengan menetapkan kematian sel. Dasar dari percobaan tersebut yaitu sistem penetapan aktivitas biologis seharusnya memberikan kurva dosis respon yang menunjukkan hubungan lurus dengan sel (Winarno 2011).

Metode *in vitro* memberikan beberapa keuntungan, antara lain dapat digunakan sebagai langkah awal dalam pengembangan suatu obat, merupakan metode yang cepat, hanya memerlukan sedikit senyawa yang digunakan dalam pengujian, dapat mengurangi penggunaan hewan laboratorium (Doyle dan Griffiths, 2000).

Uji sitotoksik digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa. Semakin besar nilai IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik dan sebaliknya (Winarno 2011). Menurut *National Cancer Institute* (NCI), suatu ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$, moderat aktif apabila memiliki $IC_{50} 30\text{-}100 \mu\text{g/mL}$ dan dikatakan tidak aktif apabila memiliki $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ (Rahmawati *et al.* 2013). Dua metode umum yang digunakan untuk uji sitotoksik adalah metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan triptan biru (*trypan blue*) dan metode MTT *assay*. Uji MTT *assay* merupakan salah satu metode yang sering digunakan dalam uji sitotoksik (Doyle & Griffith 2000).

Metode *Microculture Tetrazolium Salt* (MTT) yang merupakan salah satu uji *in vitro* dengan menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi tingkat ketoksikan suatu senyawa (Rahmawati *et al.* 2013). Uji MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] merupakan uji sensitif, kuantitatif dan terpercaya (Doyle & Griffith 2000). Prinsip dari metode ini adalah adanya reaksi reduksi selular yang didasarkan pada pemecahan garam tetrazolium MTT berwarna kuning menjadi kristal formasan berwarna biru keunguan. Metode

perubahan warna tersebut digunakan untuk mendeteksi adanya poliferasi sel. Sel yang mengalami poliferasi akan menyerap MTT sehingga sel-sel tersebut akan berwarna ungu akibat terbentuknya kristal tetrazolium (formazan). Penambahan *reagen stopper* (bersifat detergenik) akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan *ELISA reader* (Rahmawati *et al.* 2013).



Gambar 3. Prinsip MTT assay (Talupula 2011)

G. Uji Indeks Selektivitas

Selektivitas suatu obat dapat digunakan sebagai tolak ukur baik dan buruknya suatu obat serta keamanannya yang dapat diukur dengan cara menghitung indeks selektivitas (IS) (Dewi *et al.* 2015). Uji indeks selektivitas dilakukan terhadap sel normal (sel vero) dengan membandingkan IC_{50} sel normal dengan IC_{50} sel kanker. Semakin tinggi angka selektivitasnya maka senyawa tersebut semakin baik (Wahyuningsih *et al.* 2013). Suatu ekstrak memiliki selektivitas yang tinggi bila indeks selektivitasnya lebih besar dari 3 (Rashad 2015).

H. Landasan Teori

Kanker adalah pertumbuhan sel abnormal yang cenderung menyerang jaringan di sekitarnya dan menyebar ke organ tubuh lain yang letaknya jauh.

Kanker terjadi karena proliferasi sel tak terkontrol yang terjadi tanpa batas dan tanpa tujuan (Corwin 2009). Kanker bisa diderita oleh siapa saja tanpa memandang usia, jenis kelamin, dan status sosial dimana sebagian besar kasus kanker umumnya muncul karena kebiasaan dan pola hidup yang tidak sehat (Otto, 2003).

Salah satu jenis kanker yang menyerang wanita adalah kanker payudara. Kanker payudara adalah tumor ganas yang menyerang jaringan payudara (kelenjar susu, saluran kelenjar air susu, dan jaringan penunjang payudara). Kanker payudara umumnya menyerang wanita yang telah berumur lebih dari 40 tahun. Namun, wanita muda dan pria juga bisa terserang kanker ini (Mardiana 2007). Kanker payudara lebih sering menyerang payudara kiri daripada payudara kanan dan lebih sering menyerang kuadran kiri-atas (Paramita 2011).

Meningkatnya angka kejadian penyakit kanker mengakibatkan berkembangnya metode pengobatan yang digunakan. Metode pengobatan kanker ada dua yaitu pengobatan secara konvensional (operasi, kemoterapi, pembedahan, radiasi) dan metode pengobatan dengan menggunakan tumbuhan yang disebut obat herbal. Minat pasien terhadap obat herbal dipicu oleh risiko efek samping yang rendah dan lebih aman dibandingkan obat konvensional (Radji *et al.* 2010).

Salah satu jenis pemanfaatan tanaman obat sebagai antikanker adalah tanaman bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f.). Umbi bidara upas di pasaran sering diramu dalam bentuk jamu yang dicampur dengan tanaman pendamping dan terbukti manjur untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit kronis seperti kencing manis, bronkitis, batuk berdarah, asma, tifus, demam

berdarah, usus buntu, dan kanker payudara. Tanaman bidara upas telah menjadi salah satu jenis tanaman yang digunakan sebagai dasar terapi tumor dan kanker oleh Rumah Riset Jamu *Hortus Medicus* di Tawangmangu (Zulkarnain 2015).

Kandungan kimia yang terdapat dalam bidara upas antara lain damar, resin, pati, zat pahit, dan getah (Lasmadiwati & Setyowati 2003). Berdasarkan penelitian Kitagawa *et al.* (1996) umbi bidara upas mengandung senyawa glikosida resin, yaitu *merremoside* dan *mammoside*, serta menurut Farizal (2014), dalam bidara upas juga terkandung senyawa alkaloid, tanin, flavonoid, dan polifenol. Aktivitas antikanker fraksi etilasetat *Merremia emarginata* Burm.F. yang memiliki genus yang sama dengan bidara upas juga telah dibuktikan oleh Purushoth *et al.* (2012) terhadap sel HeLa dan sel kanker payudara MCF-7 dengan IC_{50} sebesar 51,57 $\mu\text{g/mL}$ dan 39,6 $\mu\text{g/mL}$.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi efek sitotoksik ekstrak umbi bidara upas, indeks selektivitas terhadap sel vero yang dimiliki, dan efek sitotoksik fraksi etil asetat umbi bidara upas terhadap sel kanker payudara T47D. Pemilihan fraksi etil asetat yang bersifat semi polar, dikarenakan pada umbi bidara upas terkandung senyawa semi polar seperti alkaloid dan glikosida resin yang diduga memiliki aktifitas sitotoksik. Uji MTT dipilih sebagai metode uji sitotoksik dengan parameter yang diukur adalah (%) kehidupan sel dan pembentukan kristal formazan yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan ELISA *reader*. Uji sitotoksik digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa

(Winarno, 2011). Menurut NCI suatu ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$, moderat aktif bila IC_{50} 30-100 $\mu\text{g/mL}$, dan tidak aktif bila $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ (Rahmawati *et al.* 2013). Uji indeks selektivitas dilakukan terhadap sel normal (sel vero) dengan membandingkan IC_{50} sel normal dengan IC_{50} sel kanker (Wahyuningsih *et al.* 2013). Suatu ekstrak memiliki selektivitas yang tinggi bila indeks selektivitasnya lebih besar dari 3 (Rashad 2015).

I. Hipotesa

Terdapat tiga hipotesa dalam penelitian ini, yaitu

1. Ekstrak umbi bidara upas memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dan memiliki nilai $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$.
2. Indeks selektivitas ekstrak umbi bidara upas terhadap sel vero lebih besar dari tiga.
3. Fraksi etil asetat umbi bidara upas memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dan memiliki nilai $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua individu yang menjadi sumber pengambilan sampel. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi bidara upas yang ditanam di daerah Grenggeng, Karanganyar, kab. Kebumen berumur 9-12 bulan, segar, bersih, dan tidak busuk

Sampel adalah representasi populasi yang dijadikan sumber informasi bagi semua data yang diperlukan untuk menjawab permasalahan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi bidara upas yang berumur 9-12 bulan, segar, bersih, dan tidak busuk.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak umbi bidara upas yang akan diuji aktivitas sitotoksik dan selektivitas terhadap kultur sel kanker payudara T47D dan sel vero serta fraksi etil asetat umbi bidara upas yang akan diuji aktivitas sitotoksik terhadap kultur sel kanker payudara T47D.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel, yaitu variabel bebas, variabel kendali, dan variabel tergantung.

Variabel bebas adalah variabel yang dengan sengaja diubah-ubah untuk dilihat pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak dan fraksi etil asetat umbi bidara upas.

Variabel tergantung adalah titik pusat permasalahan yang merupakan pilihan dalam penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D oleh ekstrak dan fraksi etil asetat umbi bidara upas yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} serta indeks selektivitas ekstrak umbi bidara upas.

Variabel terkendali adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel tergantung, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah suhu, tekanan inkubator, lama inkubasi, kebersihan ruangan dan instrument di laboratorium, konsentrasi sampel, keadaan sel T47D, keadaan sel vero, kerapatan sel T47D, kerapatan sel vero, dan peneliti sendiri.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, ekstrak umbi bidara upas adalah hasil maserasi umbi bidara upas dengan pelarut etanol 96% yang dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental, sedangkan fraksi etil asetat umbi bidara upas adalah fraksi air sisa dari fraksinasi dengan *n*-heksana yang ditambahkan dengan pelarut etil asetat, kemudian dipisahkan fraksi air dan fraksi etil asetat, lalu fraksi etil asetat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai diperoleh fraksi etil asetat kental.

Kedua, aktivitas sitotoksik adalah kemampuan senyawa dalam membunuh sel kanker setengah dari jumlah populasi yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} , dimana suatu senyawa dinyatakan memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$, moderat aktif apabila memiliki $IC_{50} 30-100 \mu\text{g/mL}$ dan dikatakan tidak aktif apabila memiliki $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$, sedangkan indeks selektivitas adalah uji yang dilakukan dengan membandingkan IC_{50} sel normal dengan IC_{50} sel kanker, memiliki selektivitas yang tinggi bila indeks selektivitasnya lebih besar dari 3.

Ketiga, sel kanker payudara T47D adalah *cell line* dari efusi pleural pada payudara pasien wanita 54 tahun dengan infiltrasi *ductal carcinoma* dan merupakan *continuous cell line* koleksi Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang ditumbuhkan dalam media penumbuh RPMI ditambah dengan FBS 10%, penisillin-streptomisin 2% dan *fungizone* 0,5%.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah umbi bidara upas *Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f., etanol 96%, *aquadest*, *n*-heksana, etil asetat, *continous cell line* T47D, *continous cell line* vero, media RPMI (Gibco), media M199 (Gibco), *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10% v/v (Gibco), Penisillin-Streptomisin (Penstrep) 2% v/v (Lonza), *Fungizone* (Amphoterasin B) 0,5% v/v (Caisson), *Phospat Buffer Saline* (PBS) pH 7,2, Sodium Dodesil Sulfat (SDS) 10% dalam HCl 0,1 N, Dimetil

sulfoksida (DMSO), Tripsin 0,5% (Sigma), MTT 5mg/mL dalam PBS, Natrium bikarbonat.

2. Alat

Alat yang digunakan adalah oven, timbangan digital, ayakan no. 40 mesh, bejana maserasi, kain flanel, gelas beker 250 mL (Pyrex), gelas beker 500 mL (pyrex), kertas saring, *rotary evaporator*, batang pengaduk, corong pisah, tabung reaksi (pyrex), silika gel GF₂₅₄, pipet tetes, gelas ukur 10 mL, gelas ukur 50 mL, kaca arloji, cawan petri, tangki nitrogen cair, *microplate* 96 sumuran, *sentrifuge*, autoklaf, incubator 37°C aliran CO₂ 5% model 6200 (Napco), *Lamniar air flow class II* (Labconco), *ELISA reader* (SLT 240 ATC), *Nebauer haemocytometer* (Olympus CKX41), tabung konikal steril (Nunclone), *tissue culture flask* (Nunclone), mikroplate 96 sumuran (Nunclone), lampu ultraviolet, neraca elektrik (Sartorius), mikropipet 20-200 µL dan 200-1000 µL (Pipetman), eppendorf, mesin vortex, mikroskop inverted (Axiovert-25), *magnetic stirrer* dan kamera digital.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman bidara upas

Tahap pertama penelitian adalah menetapkan kebenaran sampel tanaman bidara upas dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada dan dibuktikan di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

2. Pengumpulan, pengeringan bahan, dan pembuatan serbuk

Umbi bidara upas diperoleh dari daerah Grenggeng, Karanganyar, kab. Kebumen. Umbi bidara upas yang digunakan berumur 9-12 bulan, segar, bersih,

dan tidak busuk. Umbi bidara upas dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih terbebas dari tanah dan pengotor kemudian setelah bersih umbi bidara upas dirajang dan dikeringkan dengan menggunakan oven suhu 40°C selama dua hari. Setelah itu, umbi bidara upas yang sudah kering diayak menggunakan ayakan nomor 40 mesh. Serbuk yang didapat kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat dan dilakukan pemeriksaan secara organoleptis.

3. Penetapan susut pengeringan

Sebanyak 2 gram serbuk simplisia umbi bidara upas kemudian diukur susut pengeringan serbuk dengan alat *moisture balance* O'haus MB23 pada suhu 105°C. Angka yang muncul pada alat dibaca dan dicatat. Susut pengeringan memenuhi syarat jika kadar air <10%. Tahap ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi.

4. Pembuatan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat

Pembuatan ekstrak dengan perbandingan 10 bagian simplisia dalam 100 bagian pelarut. Sebanyak 400 gram serbuk umbi bidara upas yang sudah jadi dimasukkan dalam wadah gelap ditambah dengan tiga liter etanol 96%. Wadah ditutup kemudian disimpan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari selama 5 hari dan sering diaduk. Setelah 5 hari, maserat dipisahkan antara sari dan ampasnya. Ampas yang diperoleh ditambahkan cairan penyari sebanyak satu liter, diaduk, disaring, sehingga diperoleh filtrat 100 bagian. Setelah itu, wadah disimpan selama 2 hari dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari. Filtrat ditampung dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai pelarut etanol habis, selanjutnya disebut ekstrak etanol umbi bidara upas.

Ekstrak etanol umbi bidara upas difraksinasi untuk memperoleh fraksi etil asetat. Sebanyak 40 gram ekstrak dibagi dalam 4 bagian sama banyak kemudian ditambahkan *aquadest* masing – masing 100 mL. Campuran ekstrak dan *aquadest* dimasukkan ke dalam 4 corong pisah lalu masing – masing corong pisah dipartisi dengan pelarut *n*-heksana sebanyak tiga kali 100 mL. Fraksi air yang terbentuk dipisahkan kemudian dimasukkan kembali ke dalam corong pisah dan dipartisi dengan etil asetat sebanyak tiga kali 100 mL. Fraksi etil asetat yang diperoleh ditampung kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai diperoleh fraksi etil asetat kental selanjutnya disebut fraksi etil asetat umbi bidara upas.

5. Identifikasi kandungan kimia serbuk simplisia dan ekstrak umbi bidara upas

5.1. Fenolik. Sampel serbuk dan ekstrak kental umbi bidara upas dilarutkan dengan pelarut secukupnya lalu ditambahkan beberapa tetes pereaksi FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, biru, merah ungu, atau warna hitam pekat yang menunjukkan adanya kandungan fenolik (Harborne 1987).

5.2. Flavonoid. Sampel serbuk dan ekstrak kental umbi bidara upas dilarutkan dengan pelarut secukupnya kemudian ditambahkan logam Mg dan HCl pekat 5 tetes, didinginkan dan ditambah amil alkohol lalu dikocok. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau jingga yang menunjukkan adanya kandungan aglikon flavonoid (Depkes RI 1987).

5.3. Tanin. Sampel serbuk dan ekstrak kental umbi bidara upas dilarutkan

dengan larutan gelatin 1% dalam NaCl. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan yang menunjukkan adanya kandungan senyawa tanin (Evans 2009).

5.4. Alkaloid. Sampel serbuk dan ekstrak kental umbi bidara upas dilarutkan dalam larutan HCl encer kemudian disaring. Uji tes Mayer dengan menambahkan reagen Mayer ke dalam filtrat, hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan kuning yang mengindikasikan senyawa alkaloid. Uji tes Dragendorff dengan menambahkan reagen Dragendorff ke dalam filtrat, hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan merah yang menunjukkan senyawa alkaloid (Tiwari *et al.* 2011).

5.5. Terpenoid. Sampel serbuk dan ekstrak kental umbi bidara upas dilarutkan dengan pelarut secukupnya lalu diuapkan sampai kering, residu yang terbentuk ditambah CH_3COOH anhidrat, CHCl_3 dan H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin warna ungu atau merah kecoklatan menunjukkan senyawa terpenoid (Tiwari *et al.* 2011).

6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi etil asetat dengan KLT

Identifikasi kandungan kimia senyawa flavonoid, alkaloid, fenolik, dan terpenoid dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Penentuan sistem eluen untuk KLT dilakukan dengan metode *trial and error* dengan mencoba berbagai macam fase gerak. Sistem eluen dipilih berdasarkan kemampuan memberikan pemisahan senyawa yang paling baik. Fase gerak yang terpilih adalah kloroform : etil asetat : asam formiat (0,5:9:0,5). Sampel dilarutkan dengan pelarutnya, lalu ditotolkan pada fase diam silika gel

GF₂₅₄ kemudian dielusi dengan fase gerak yang terpilih. Fase diam dikeringanginkan, dilihat pada UV 254 dan 366, kemudian disemprotkan dengan pereaksi FeCl₃ 10% untuk deteksi senyawa fenolik dengan hasil positif bila terbentuk bercak warna hitam (Marliana 2007), pereaksi sitroborat untuk deteksi senyawa flavonoid dengan hasil positif bila terbentuk bercak warna kuning yang cepat pudar (Depkes RI 1987), pereaksi Dragendorff untuk deteksi senyawa alkaloid (Harborne 1987) dengan hasil positif bila muncul bercak merah bata (Meiyanto *et al* 2008), dan pereaksi Lieberman-Burchard untuk deteksi senyawa steroid-terpenoid (Depkes RI 1987) dengan hasil positif bila terbentuk warna hijau-biru atau ungu kemerahan (Harborne 1987).

7. Uji sitotoksik

7.1. Sterilisasi alat. Alat-alat gelas yang akan digunakan harus berada dalam keadaan steril. Alat dicuci dan dikeringkan. Alat-alat kering tersebut dibungkus dengan kertas, kemudian disterilisasi dalam autoklaf selama 15-30 menit pada suhu 121°C.

7.2. Pembuatan media stok RPMI dan media komplit RPMI. Media RPMI dilarutkan dengan *aquabidestilata* kurang lebih 950 mL dalam *beaker glass* 1 L, kemudian ditambahkan 2,2 g natrium bikarbonat untuk setiap liter media yang dibuat. Larutan tersebut diaduk dengan *stirrer* sampai larut lalu ditambahkan *aquabidestilata* sampai 1 L. Larutan 1 N NaOH atau 1 N HCl kemudian ditambahkan untuk mendapatkan pH larutan antara 7,0-7,4. Larutan disaring dengan media filter 0,2 mikron, ditampung dalam botol Duran 1 L, dan disimpan dalam lemari es suhu 4°C dan diberi label. Semua tahapan dilakukan secara

aseptis di dalam LAF. Pembuatan media komplit RPMI dibuat dari media stok RPMI ditambah *Fetal Bovine Serum* (FBS) sebanyak 10%, antibiotik (penisillin-streptomisin) 2% dan *Fungizone* (Amphoteresin) 0,5%.

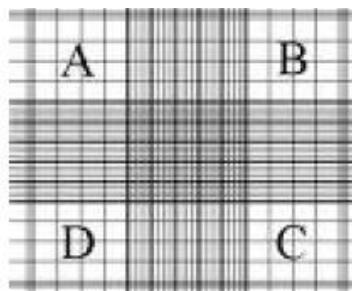
7.3. Pembuatan media stok M199 dan media komplit M199. Media M199 dilarutkan dengan *aquabidestilata* kurang lebih 950 mL dalam *beaker glass* 1 L, kemudian ditambahkan 2,2 g natrium bikarbonat untuk setiap liter media yang dibuat. Larutan tersebut diaduk dengan *stirrer* sampai larut lalu ditambahkan *aquabidestilata* sampai 1 L. Larutan 1 N NaOH atau 1 N HCl kemudian ditambahkan untuk mendapatkan pH larutan antara 7,0-7,4. Larutan disaring dengan media filter 0,2 mikron, ditampung dalam botol Duran 1 L, dan disimpan dalam lemari es suhu 4°C dan diberi label. Semua tahapan dilakukan secara aseptis di dalam LAF. Pembuatan media komplit M199 dibuat dari media stok M199 ditambah *Fetal Bovine Serum* (FBS) sebanyak 10%, antibiotik (penisillin-streptomisin) 2% dan *Fungizone* (Amphoteresin) 0,5%.

7.4. Pembuatan larutan uji. Sebanyak 10 mg fraksi etil aseat umbi bidara upas ditimbang selanjutnya dilarutkan dengan 100 µL DMSO dalam eppendrof, kemudian disimpan sebagai stok larutan uji untuk digunakan dalam pengujian. Selanjutnya dibuat dalam variasi konsentrasi (500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63; 7,81) µg/mL, dipipet sebanyak 100 µL ke dalam tiap sumuran dengan 4 kali pengulangan untuk tiap variasi konsentrasi. Semua tahapan dilakukan secara aseptis di dalam LAF. Langkah di atas juga digunakan untuk membuat larutan uji ekstrak umbi bidara upas dengan variasi konsentrasi (2000; 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63) µg/mL.

7.5. Pengaktifan sel kanker payudara T47D dan sel vero. Sel yang inaktif diambil dari tangki nitrogen cair dan dicairkan pada suhu kamar kemudian suspensi sel dalam *cryo tube* diambil dengan mikropipet 1000 μL , dimasukkan tetes demi tetes ke dalam *conical tube* yang berisi media kultur. Tabung ditutup rapat kemudian disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Di dalam LAF *conical tube* dan tangan disemprot dengan etanol 70%, tutup dibuka dan supernatan media kultur dibuang, endapan yang terbentuk ditambahkan 4 mL media kultur baru dan diresuspensi. Selanjutnya, suspensi sel diambil, dimasukkan ke dalam dua *dish* masing-masing sebanyak 2 mL serta ditambahkan media kultur masing-masing 5 mL. *Dish* dimasukkan ke dalam inkubator beraliran CO_2 5% pada suhu 37°C . Sel hidup akan kelihatan bulat, jernih, dan bersinar. Semua langkah di atas dilakukan terhadap sel kanker payudara T47D dan sel vero.

7.6. Panen dan perhitungan sel. Media kultur di dalam *dish* dibuang dengan menggunakan mikropipet lalu dicuci dengan PBS (*Phosphat Buffer Saline*) $\pm\frac{1}{2}$ volume sebanyak 2 kali kemudian ditambah 1 mL tripsin. Inkubasi selama 3-5 menit, ditambahkan ± 5 mL media kultur untuk menghentikan kerja tripsin lalu diamati pelepasan sel dari dasar *dish* dengan mikroskop jika masih terdapat sel yang bergerombol, sel diresuspensi kembali. Sel yang telah lepas dipipet masuk ke dalam *conical tube* steril dan disisakan sedikit di dalam *dish* kemudian diresuspensi kembali dengan penambahan media kultur 2-3 mL, lalu disimpan dalam inkubator beraliran CO_2 5% pada suhu 37°C . Setelah itu, diambil 10 μL sel dari dalam *conical tube* dan dipipetkan ke hemositometer, kemudian sel

dihitung di bawah mikroskop *inverted*.



Gambar 4. Hemositometer

Hemositometer terdiri atas 4 bilik hitung (A, B, C, dan D), setiap bilik hitung terdiri atas 16 kotak. Sel yang gelap (mati) dan sel yang berada di batas luar garis sebelah atas dan kanan tidak ikut dihitung. Sel yang berada di batas garis kiri dan bawah dihitung. Setelah itu, dihitung jumlah sel tiap mL dengan rumus :

$$\text{Jumlah sel terhitung} / \text{mL} = \frac{\sum \text{bilik A} + \sum \text{bilik B} + \sum \text{bilik C} + \sum \text{bilik D}}{4} \quad (1)$$

Volume pemanenan sel yang diperlukan (dalam mL) untuk mengisi tiap sumuran dengan 100 μ L media kultur yang berisi 10^4 sel, dihitung dengan rumus di bawah ini :

$$\text{Volume pemanenan sel} = \frac{\text{Jumlah total sel yang diperlukan}}{\text{Jumlah sel terhitung tiap mL}} \quad (2)$$

volume pemanenan sel yang dibutuhkan diambil dengan *micropipet*, dimasukkan ke dalam *conical tube* kemudian ditambahkan media kultur sampai total volume yang diperlukan. Sel dipipetkan ke dalam semua sumuran *microplate* 96 kecuali pada bagian kontrol media, kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5% dengan suhu 37°C selama 24 jam untuk beradaptasi dan menempel di sumuran sampai sel siap untuk diberi perlakuan. Semua langkah di atas dilakukan terhadap sel kanker payudara T47D dan sel vero.

7.7. Treatment sel (pemberian fraksi etil asetat dan MTT). Media kultur di dalam *microplate* dibuang. Setiap sumuran yang berisi sel ditambahkan 100 μ L larutan uji fraksi etil asetat umbi bidara upas dengan berbagai seri konsentrasi. Sumuran yang berisi kontrol sel diisi dengan sel yang ditambahkan media kultur RPMI, sedangkan pada bagian kontrol media hanya berisi media kultur RPMI saja. Sel dalam *microplate* tersebut diinkubasi pada inkubator CO₂ 5% pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian media pada *microplate* dibuang, ditambahkan 100 μ L MTT ke dalam semua sumuran. *Microplate* diinkubasikan kembali selama 2-4 jam pada inkubator CO₂ 5% pada suhu 37°C. Sel hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk kristal formazan berwarna ungu, sedangkan sel yang mati akan memberikan warna kuning. Larutan SDS 10% dalam 0,1 N HCl sebanyak 100 μ L ditambahkan untuk menghentikan reaksi antara sel dengan MTT serta melarutkan kristal formazan. *Plate* kemudian dibungkus dengan kertas, diinkubasikan semalam pada suhu kamar, tempat gelap, dan di luar inkubator. Serapan dibaca dengan menggunakan spektrofotometer pada alat ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm.

7.8. Uji indeks selektivitas. Sel vero ditanam di dalam *microplate* 96 dengan konsentrasi tiap sumuran 10⁴/100 μ L diinkubasi selama 24 jam, seperti pada langkah di atas. Medium komplet M199 dibuang lalu ditambahkan larutan uji ekstrak umbi bidara upas dengan berbagai konsentrasi. Sel dalam *microplate* tersebut diinkubasi pada inkubator CO₂ 5% pada suhu 37°C selama 24 jam lalu media pada *microplate* dibuang, ditambahkan 100 μ L MTT ke dalam semua sumuran. *Microplate* diinkubasikan kembali selama 2-4 jam pada inkubator CO₂

5% pada suhu 37°C. Sel hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk kristal formazan berwarna ungu, sedangkan sel yang mati akan memberikan warna kuning. Larutan SDS 10% dalam 0,1 N HCl sebanyak 100 µL ditambahkan untuk menghentikan reaksi antara sel dengan MTT serta melarutkan formazan. *Plate* kemudian dibungkus dengan kertas, diinkubasikan semalam pada suhu kamar, tempat gelap, dan di luar inkubator. Serapan dibaca dengan menggunakan spektrofotometer pada alat ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm.

E. Analisa Hasil

Berdasarkan hasil uji sitotoksik dengan pembacaan ELISA *reader* didapatkan data absorbansi yang digunakan untuk menghitung prosentase hidup sel dengan rumus sebagai berikut:

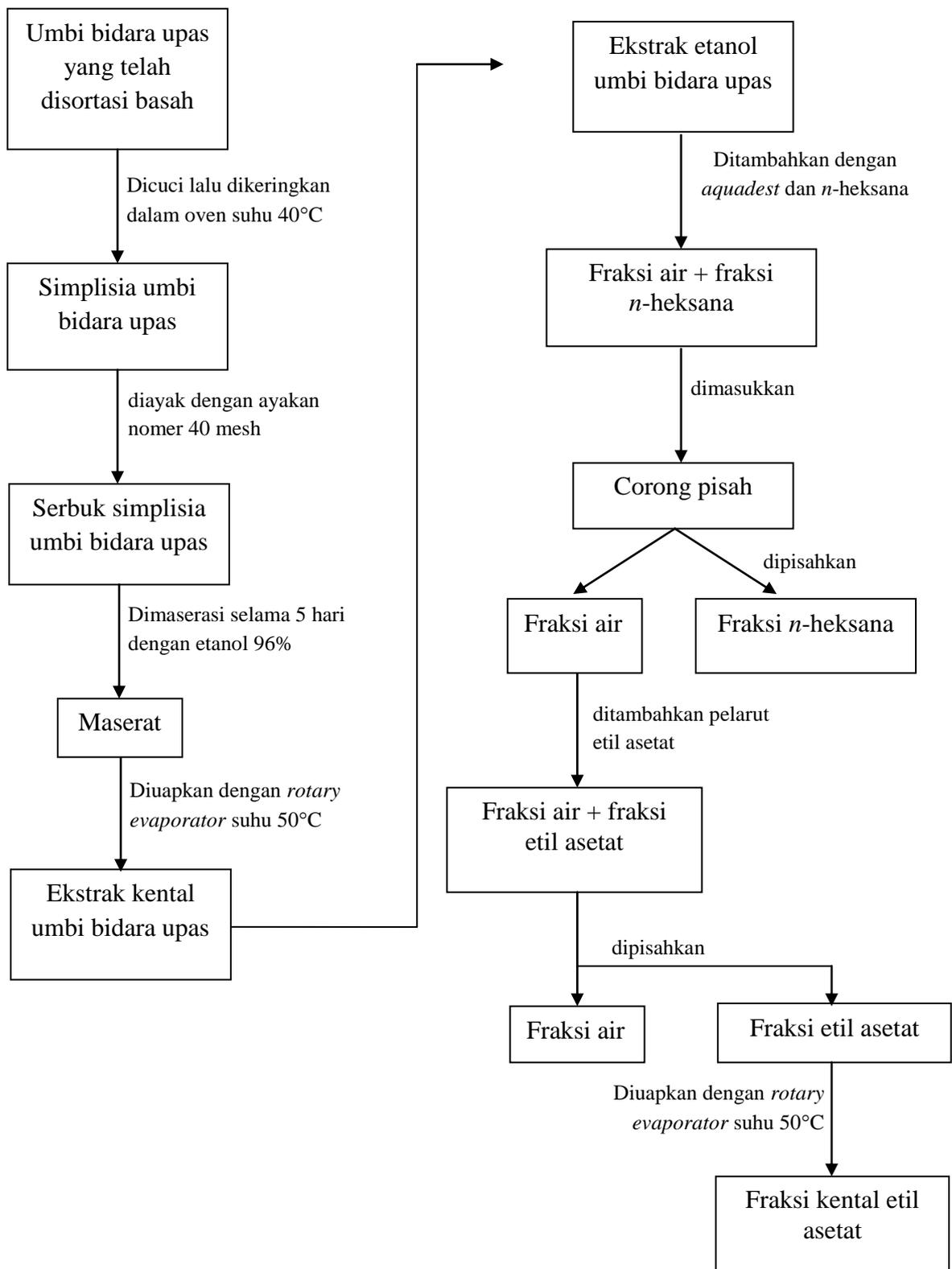
$$\% \text{ hidup sel} = \frac{(\text{abs sel perlakuan} - \text{abs kontrol media})}{(\text{abs kontrol sel} - \text{abs kontrol media})} \times 100\% \quad (3)$$

Data yang diperoleh dianalisa dengan regresi linear antara log konsentrasi sampel uji (fraksi etil asetat umbi bidara upas) *versus* persen hidup sel menggunakan *Microsoft Excel* 2010, hingga akan didapatkan persamaan:

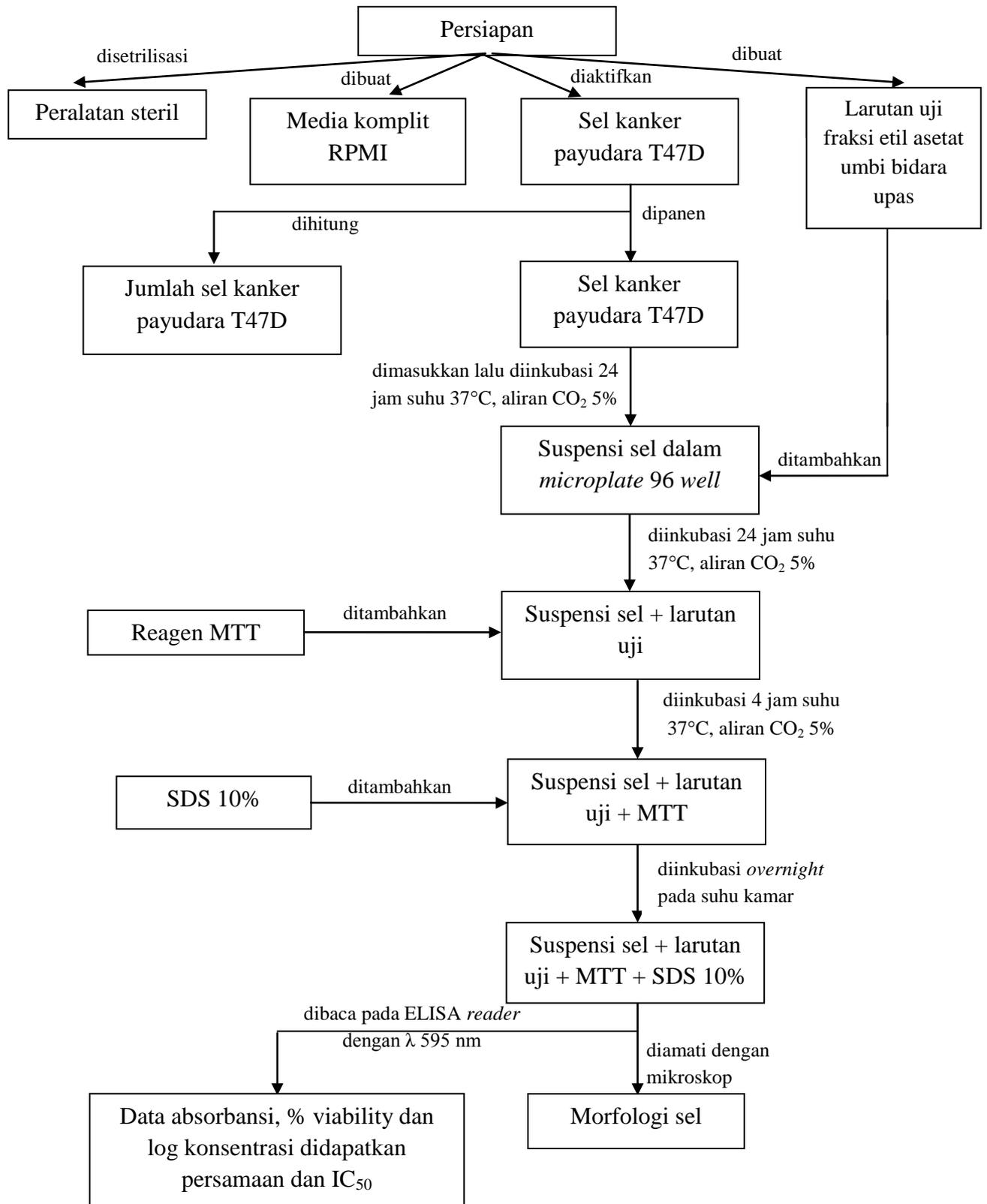
$$y = a + bx$$

Nilai y merupakan persen viabilitas sel dan x merupakan log konsentrasi sampel. Hasil antilog x dari persamaan di atas, merupakan nilai IC₅₀. Berdasarkan nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel selanjutnya dilakukan perhitungan indeks selektivitas ekstrak umbi bidara upas dengan rumus sebagai berikut:

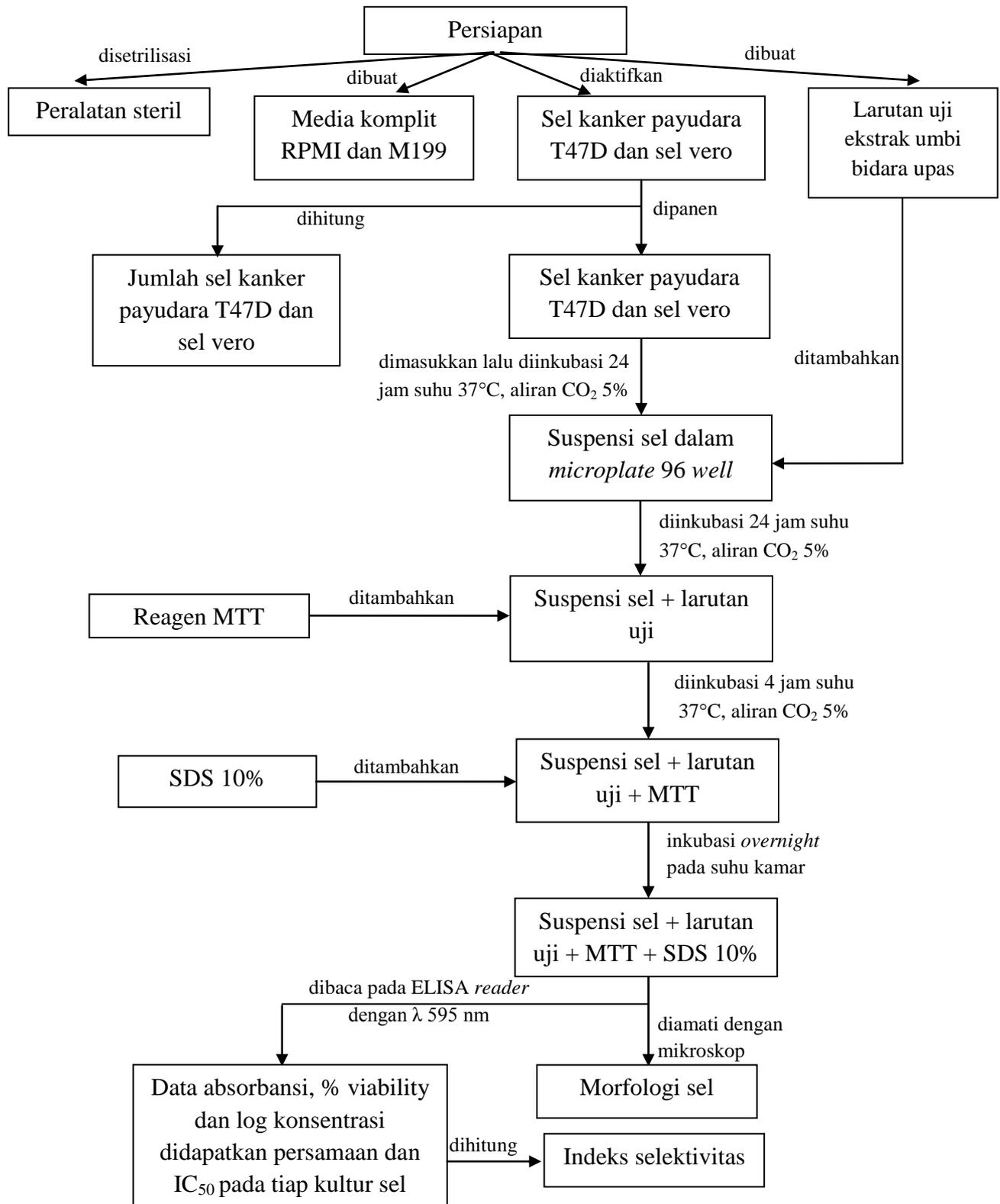
$$\text{Indeks selektivitas} = \frac{IC_{50} \text{ sel vero}}{IC_{50} \text{ sel kanker payudara T47D}} \quad (4)$$



Gambar 5. Skema pembuatan ekstrak dan fraksi etil asetat umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall f.)



Gambar 6. Skema uji sitotoksik fraksi etil asetat umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall f.)



Gambar 7. Skema uji sitotoksik dan selektivitas ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall f.)

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi tanaman bidara upas

Determinasi tanaman merupakan salah satu bagian terpenting dalam suatu penelitian dengan menggunakan bahan alam. Determinasi ini bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman atau bagian tanaman yang akan digunakan dalam penelitian, sehingga kesalahan saat pengumpulan bahan dapat dihindari. Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Surakarta. Berdasarkan hasil determinasi menyatakan umbi yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi yang berasal dari tanaman bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f.). Hasil identifikasi umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f.) dilihat pada Lampiran 1.

2. Pengumpulan, pengeringan bahan, dan pembuatan serbuk

Umbi bidara upas segar yang didapat berasal dari daerah Grenggeng, Karanganyar, Kabupaten Kebumen dengan umur 9-12 bulan, segar, bersih, dan tidak busuk. Sebanyak 5,1 kg umbi bidara upas segar dicuci bersih kemudian dikeringkan dengan oven suhu 40°C selama dua hari. Pengeringan ini dimaksudkan agar simplisia lebih stabil secara mikrobiologi karena kandungan air yang sedikit sehingga tidak mudah ditumbuhi bakteri atau jamur. Hasil rendemen umbi bidara upas dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Rendemen simplisia umbi bidara upas

Nama sampel	Berat basah	Berat kering	Rendemen
Umbi bidara upas	5.100 gram	1.200 gram	23,53 %

3. Penetapan susut pengeringan

Serbuk yang diperoleh diukur susut pengeringannya untuk melihat kadar air di dalam serbuk simplisia umbi bidara upas dengan menggunakan *moisture balance* O'haus MB23. Hasil penetapan susut pengeringan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Hasil penetapan susut pengeringan serbuk simplisia umbi bidara upas

Bobot awal (gram)	Susut pengeringan (%)
2,02	4
2,01	5
2,03	2
Rata-rata ± SD	3,67 ± 1,53

Berdasarkan tabel 2, susut pengeringan serbuk simplisia umbi bidara upas sebesar 3,67%, dimana sudah memenuhi persyaratan yaitu di bawah batas maksimal kadar air simplisia sebesar 10%.

4. Pembuatan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Penggunaan etanol 96% dikarenakan etanol merupakan pelarut universal yang mampu menarik senyawa polar dan non polar (Torry 2015). Ekstrak kental yang didapat sebanyak 57,456 gram dengan rendemen sebesar 14,36%. Perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 8. Hasil rendemen ekstrak umbi bidara upas dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3 Rendemen ekstrak umbi bidara upas

Nama sampel	Bobot serbuk	Bobot ekstrak	Rendemen ekstrak
Umbi bidara upas	400 gram	57,456 gram	14,364%

Ekstrak kental diidentifikasi melalui pemeriksaan organoleptis untuk mengetahui sifat fisik yang diperoleh. Pemeriksaan organoleptis meliputi warna,

bau, rasa, dan kekentalan. Hasil pemeriksaan organoleptis umbi bidara upas dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak umbi bidara upas

Parameter	Hasil
Warna	Coklat tua
Bau	Khas
Rasa	Sedikit manis
Kekentalan	Kental

Ekstrak yang diperoleh dilanjutkan ke tahap selanjutnya yaitu fraksinasi. Fraksinasi dilakukan secara bertingkat dengan metode ekstraksi cair – cair. Tujuan dari fraksinasi bertingkat yaitu untuk memisahkan kandungan senyawa kimia berdasarkan tingkat kepolarannya. Pelarut yang digunakan yaitu *n*-heksana, etil asetat, dan air. Fraksi etil asetat bersifat semi polar, sehingga akan menarik senyawa metabolit sekunder dengan kisaran polaritas semi polar. Fraksi etil asetat umbi bidara upas yang didapat sebanyak 918,7 mg dengan rendemen sebesar 2,3%. Perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 8. Hasil rendemen fraksi etil asetat umbi bidara upas dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5 Rendemen fraksi etil asetat umbi bidara upas

Nama sampel	Bobot ekstrak kental	Bobot fraksi	Rendemen
Umbi bidara upas	40 gram	918,7 mg	2,3 %

Fraksi etil asetat umbi bidara upas diidentifikasi melalui pemeriksaan organoleptis meliputi warna, bau, rasa, dan kekentalan. Hasil pemeriksaan organoleptis fraksi etil asetat umbi bidara upas dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6 Hasil pemeriksaan organoleptis fraksi etil asetat umbi bidara upas

Parameter	Hasil
Warna	Coklat muda
Bau	Khas
Rasa	Sedikit manis
Kekentalan	Kental

5. Identifikasi kandungan kimia serbuk simplisia dan ekstrak umbi bidara upas

Identifikasi kandungan kimia simplisia dan ekstrak umbi bidara upas bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan metabolit sekunder. Identifikasi dilakukan dengan melihat adanya perubahan warna atau terjadinya endapan setelah diberikan pereaksi khusus kemudian dibandingkan dengan pustaka acuan yang ada. Hasil identifikasi dapat dilihat pada Tabel 5.

.Tabel 7 Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk simplisia dan ekstrak umbi bidara upas

Kandungan senyawa	Pustaka	Hasil		Kesimpulan	
		Serbuk	Ekstrak	Serbuk	Ekstrak
Fenolik	Terbentuk warna merah, hijau, ungu, hitam	Terbentuk warna hijau kehitaman	Terbentuk warna hijau kehitaman	+	+
Flavonoid	Terbentuk warna merah/jingga	Terbentuk warna kuning	Terbentuk warna kuning	-	-
Tanin	Terbentuk endapan	Terbentuk endapan	Terbentuk endapan	+	+
Alkaloid					
a. Dragendorff	Endapan merah	Endapan merah	Endapan merah	+	+
b. Mayer	Endapan kuning	Tidak ada endapan	Tidak ada endapan	-	-
Terpenoid	Terbentuk cincin ungu atau merah kecoklatan	Terbentuk cincin	Terbentuk cincin	+	+

**Keterangan : (+) positif
(-) negatif**

Berdasarkan tabel di atas, simplisia dan ekstrak umbi bidara upas positif mengandung senyawa fenolik, tanin, alkaloid, dan terpenoid.

6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi etil asetat dengan KLT

Identifikasi kandungan kimia dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan untuk lebih menegaskan hasil yang didapat dari skrining

fitokimia. Fase gerak yang digunakan adalah kloroform : etil asetat : as formiat (0,5:9: 0,5), sedangkan untuk fase diam menggunakan silika gel GF₂₅₄. Penggunaan fase gerak yang sama untuk deteksi berbagai macam senyawa bertujuan untuk melihat adanya persamaan dan perbedaan bercak yang dihasilkan yang dapat dilihat berdasarkan jumlah spot dan nilai Rf yang dihasilkan. Hasil pengujian KLT ekstrak dan fraksi etil asetat umbi bidara upas dapat dilihat pada Tabel 8 dan untuk hasil kromatogram dapat di lihat pada Lampiran 9.

Tabel 8 Hasil pengujian KLT ekstrak dan fraksi etil asetat umbi bidara upas

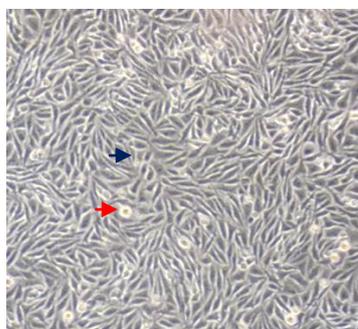
Kandungan senyawa	Rf		Warna bercak		Pereaksi semprot
	Ekstrak	Fraksi etil asetat	Ekstrak	Fraksi etil asetat	
Terpenoid	0,17	0,12	Biru	Coklat	Lieberman - Burchard
	0,42	0,18		Biru	
	0,67	0,42		Biru	
		0,47		Coklat	
		0,58		Coklat	
		0,63		Biru	
Alkaloid	0,17	0,17	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan	Dragendorff
	0,45	0,40			
	0,67	0,65			
Fenolik	0,13	0,17	Biru kehitaman	Biru kehitaman	FeCl ₃
	0,47	0,47			
	0,73	0,72			
Flavonoid	-	-	-	-	Sitroborat

Hasil KLT senyawa terpenoid menunjukkan perbedaan jumlah spot antara ekstrak dengan fraksi etil asetat umbi bidara upas. Hal ini disebabkan dalam ekstrak senyawa yang terkandung masih sangat kompleks dan kadarnya kecil, ketika difraksinasi dengan pelarut etil asetat kadar senyawa menjadi lebih tinggi sehingga bercak yang dihasilkan pada fraksi etil asetat lebih banyak. Pengujian KLT untuk senyawa alkaloid dan fenolik memiliki jumlah bercak sama, sedangkan pengujian senyawa flavonoid tidak muncul bercak. Berdasarkan hasil KLT, ekstrak dan fraksi etil asetat umbi bidara upas positif mengandung senyawa

fenolik, alkaloid, dan terpenoid.

7. Uji sitotoksik

Uji sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Media kultur yang digunakan adalah media RPMI yang ditambah dengan *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10%, Antibiotik (Penisillin – Streptomisin) 2%, dan *Fungizone* (Amphoterasin B) 0,5%. Penambahan antibiotik dan antijamur ke dalam media bertujuan untuk mencegah adanya pertumbuhan bakteri dan jamur di dalam media yang akan mengganggu pertumbuhan dari sel kanker, sedangkan penambahan FBS digunakan sebagai nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan sel. Sel diinkubasi pada kondisi tertentu yang harus dijaga agar sel dapat tumbuh optimal. Pertumbuhan sel optimal pada suhu 37°C dengan aliran CO₂ 5%, dan pH ± 7,4.

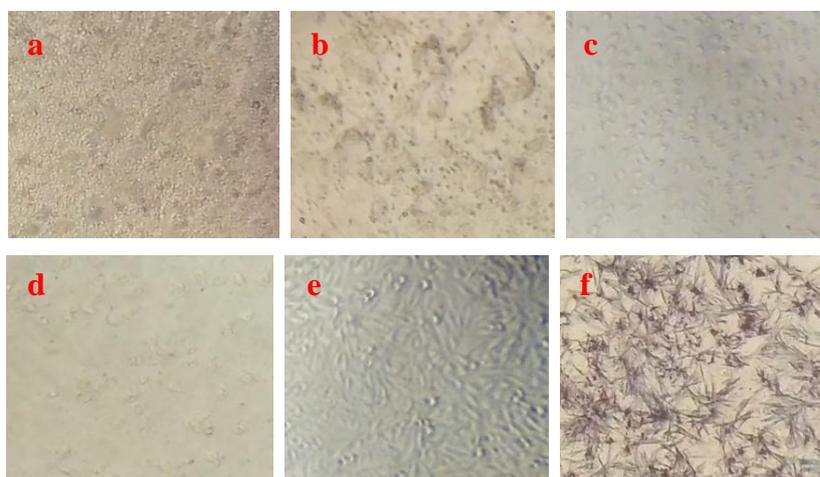


Gambar 8. Morfologi sel kanker payudara T47D pada perbesaran 400x (→ sel hidup yang menempel, → sel yang mati)

Sel kanker payudara T47D ditumbuhkan dalam media kultur RPMI. Sel yang tumbuh akan terlihat menempel pada bagian dasar *dish*. Bentuk sel hidup yang melekat dan sel yang mati dapat dilihat pada Gambar 9. Jumlah sel hidup yang digunakan untuk kultur sel sebanyak 10⁴ sel/sumuran. Jumlah sel diharapkan dapat bertahan selama waktu inkubasi (±24 jam). Lama inkubasi akan berpengaruh dengan ketersediaan nutrisi yang ada dalam media kultur sel.

Semakin lama waktu inkubasi maka nutrisi yang tersedia akan semakin berkurang. Media kultur RPMI akan berfungsi maksimal dalam mengkultur sel selama dua hari (Zarisman 2006).

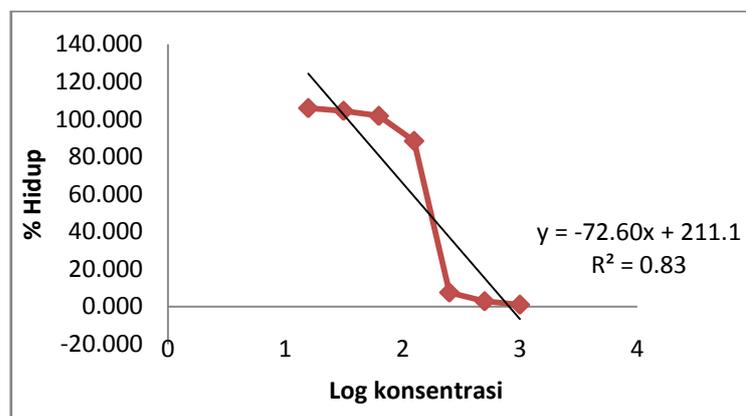
Sampel yang akan digunakan dibuat seri konsentrasi (500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63; 7,81) $\mu\text{g/mL}$ yang bertujuan untuk melihat pengaruh konsentrasi terhadap kematian sel. Pengujian sitotoksik menggunakan metode *MTT assay* yang didasarkan dengan terbentuknya kristal formazan berwarna biru keunguan.



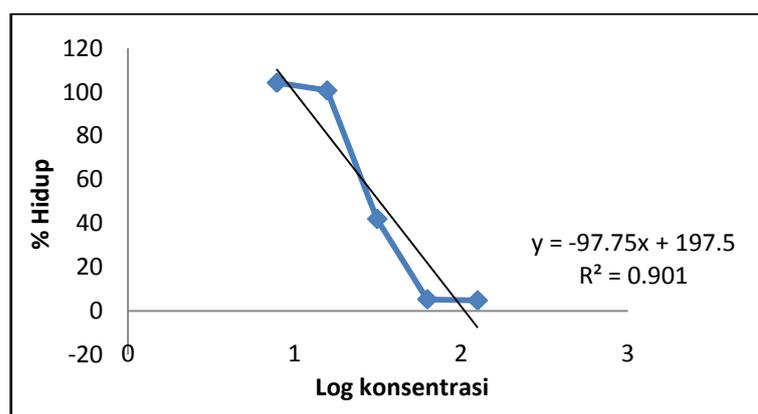
Gambar 9. Morfologi sel kanker payudara T47D sebelum dan setelah perlakuan
Keterangan : (a) konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$ setelah pemberian sampel (b) konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$ setelah pemberian MTT (c) konsentrasi 62,5 $\mu\text{g/mL}$ setelah pemberian sampel (d) konsentrasi 62,5 $\mu\text{g/mL}$ setelah pemberian MTT (e) kontrol sel (f) kontrol sel setelah pemberian MTT

Menurut Nursid *et al.* (2011) jumlah kristal formazan yang terbentuk sebanding dengan jumlah sel yang hidup. Semakin banyak sel yang hidup, semakin banyak kristal formazan yang terbentuk, semakin tinggi pula nilai absorbansinya. Berdasarkan gambar di atas, pada konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$ dan 62,5 $\mu\text{g/mL}$ setelah pemberian sampel banyak sel yang mati dilihat dari adanya perbedaan bentuk morfologi sel dibandingkan dengan kontrol sel. Setelah pemberian MTT, sel yang hidup akan membentuk kristal formazan berwarna ungu, berbentuk seperti jarum

(gambar f), sedangkan sel yang mati tidak dapat membentuk kristal formazan (gambar b dan c). Reaksi MTT dihentikan dengan penambahan SDS (*Sodium Dodesil Sulfat*). Penambahan *reagen stopper* yang bersifat detergenik akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan *ELISA reader*. Hasil absorbansi dapat digunakan untuk menghitung prosentase sel hidup. Grafik hubungan log konsentrasi ekstrak dan fraksi etil asetat umbi bidara upas terhadap prosentase hidup sel kanker payudara T47D dapat dilihat pada Gambar 11 dan 10.



Gambar 10. Grafik hubungan log konsentrasi ekstrak umbi bidara upas vs % hidup



Gambar 11. Grafik hubungan log konsentrasi fraksi etil asetat umbi bidara upas vs % hidup

Berdasarkan prosentase hidup dapat ditentukan nilai IC_{50} ekstrak dan fraksi etil asetat umbi bidara upas dengan melakukan regresi linier antara log

konsentrasi dengan prosentase hidup dan didapatkan persamaan $y = -72,603x + 211,4$ dengan nilai r sebesar 0,83 untuk ekstrak umbi bidara upas dan persamaan $y = -97,75x + 197,5$ dengan nilai r sebesar 0,901 untuk fraksi etil asetat. Setelah dilakukan perhitungan didapatkan nilai IC_{50} ekstrak umbi bidara upas terhadap sel kanker payudara T47D sebesar 165,6 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan nilai IC_{50} fraksi etil asetat terhadap sel kanker payudara T47D sebesar 34,3 $\mu\text{g/mL}$. Perhitungan lengkap nilai IC_{50} dapat dilihat pada Lampiran 14.

Menurut *National Cancer Institute* (NCI), suatu ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$, moderat aktif apabila memiliki IC_{50} 30-100 $\mu\text{g/mL}$ dan dikatakan tidak aktif apabila memiliki $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ (Rahmawati *et al.* 2013), maka nilai IC_{50} fraksi etil asetat terhadap sel kanker payudara T47D dapat digolongkan dalam aktivitas sitotoksik moderat aktif, sedangkan IC_{50} ekstrak bidara upas tidak memiliki aktivitas yang poten. Besarnya nilai IC_{50} yang dihasilkan disebabkan karena masih kompleksnya senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Berdasarkan hasil identifikasi kandungan senyawa ekstrak dan fraksi etil asetat umbi bidara upas positif mengandung senyawa fenolik, alkaloid, dan terpenoid.

Senyawa terpenoid memiliki aktivitas sitotoksik dengan menginduksi apoptosis melalui *intrinsic apoptotic pathway* dengan mengganggu membran dan pelepasan protein mitokondria seperti sitokrom-c. Sitokrom-c yang terlepas dalam sitosol bersama dengan Apaf-1 akan mengaktifasi Caspase-9 kemudian Caspase-3 yang akan menginduksi apoptosis (Hasanuddin *et al.* 2015). Menurut Nagano *et al.* (2009) *family Convolvulaceae* memiliki kandungan alkaloid dan glikosida

resin yang tinggi. Glikosida resin membunuh sel target dengan mengganggu permeabilitas sel sehingga terjadi ketidakseimbangan homeostatis selular (Pereda-Miranda *et al.* 2009). Alkaloid juga dapat menghambat poliferasi pada fase G₁ dan S dari siklus sel (Spiridon 2003). Alkaloid menghambat enzim topoisomerase yang terlibat dalam replikasi DNA, induksi apoptosis dan ekspresi gen p53 (Mohan 2012).

Nilai IC₅₀ ekstrak umbi bidara upas terhadap sel vero ditetapkan untuk menghitung indeks selektivitas sel vero terhadap sel kanker payudara T47D. Berdasarkan hasil perhitungan, didapatkan nilai IC₅₀ ekstrak umbi bidara upas sel vero sebesar 738,6 µg/mL. Perhitungan lengkap nilai IC₅₀ dapat dilihat pada Lampiran 15. Nilai IC₅₀ ekstrak terhadap sel vero dan terhadap sel kanker payudara T47D dapat digunakan untuk mengetahui indeks selektivitas ekstrak umbi bidara upas. Nilai indeks selektivitas digunakan untuk melihat tingkat keamanan dari obat sitotoksik. Obat-obat sitotoksik bekerja dengan menghambat poliferasi sel kanker, ketidakselektivitasan obat akan berdampak dengan terhambatnya poliferasi sel tubuh manusia yang diperlukan dalam regulasi. Pengujian indeks selektivitas dilakukan dengan membandingkan nilai IC₅₀ sel vero (sel normal) dengan IC₅₀ sel kanker payudara T47D. Suatu ekstrak memiliki selektivitas yang tinggi bila indeks selektivitasnya lebih besar dari tiga (Rashad 2015). Indeks selektivitas yang diperoleh sebesar 4,46, dapat dikatakan ekstrak umbi bidara upas memiliki indeks selektivitas yang tinggi. Perhitungan lengkap indeks selektivitas dapat dilihat pada Lampiran 15.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Berdasarkan penelitian, ekstrak umbi bidara upas tidak menunjukkan aktivitas sitotoksik yang poten terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 165,6 $\mu\text{g/mL}$.
2. Indeks selektivitas dari ekstrak etanol umbi bidara upas dari sel vero terhadap sel kanker payudara T47D sebesar 4,46.
3. Fraksi etil asetat umbi bidara upas menunjukkan aktivitas sitotoksik moderat aktif terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 32,3 $\mu\text{g/mL}$.

B. Saran

1. Penulis menyarankan perlu dilakukan pengujian aktivitas sitotoksik umbi bidara upas terhadap sel kanker payudara tipe lain dan pada jenis kanker yang berbeda.
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang kandungan senyawa kimia bidara upas yang memiliki aktivitas sitotoksik.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Salemba Medika.
- Ammerman NC, Beier-Sexton M, Azad AF. 2008. Growth and maintenance of vero cell lines. *Curr protoc Microbiol*: 1-10.
- Ansel HC. 2008. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi ke-4. Ibrahim F, penerjemah. Jakarta: UI Press.
- ATCC. 2016. The essential of life science research: T47D. www.atcc.org/products/all/HTB-133.aspx#characteristics [8 Maret 2016].
- Badri C. 2006. Penanggulangan kanker di Indonesia: peran *nanotechnology* dalam diagnosis dan terapi. *J Sains Materi Indonesia* edisi khusus oktober: 11-14.
- Corwin EJ. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Edisi ke-3. Subekti NB, penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Handbook of Pathophysiology*.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenika*. Jakarta: Depkes RI.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1987. *Analisa Obat Tradisional*. Jakarta: Depkes RI.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995^a. *Farmakope Indonesia*. Ed ke-4. Jakarta: Depkes RI.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995^b. *Materia Medika Indonesia*. Ed ke-5. Jakarta: Depkes RI.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan ke-1. Jakarta: Depkes RI.
- Dewi NRK, Kuncoro H, Rijai L. 2015. Potensi sitotoksik ekstrak air daun sirih hitam (*Piper sp.*). *J Sains dan Kesehatan* 1: 11-15.
- Doyle A dan Griffin JB. 2000. *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. New York: John Wiley and Sons Ltd.

- Evans WC. 2009. *Trease and Evans: pharmacognosy*. Sixteenth edition. London: Elsevier Health Science.
- Farizal J. 2012. Pengaruh pemberian ekstrak etanol umbi bidara upas (*Merremia mammosa*) terhadap proliferasi limfosit dan produksi ROI makrofag: studi eksperimental infeksi *Salmonella typhimurium* pada Mencit Balb/C [Tesis]. Semarang: Program Pascasarjana, Universitas Diponegoro.
- Fried GH, Hademeneson GJ. 2005. Tyas D, penerjemah. Safitri A, editor *Schaum's Outlines Biologi*. Edisi ke-2. Jakarta: Penerbit Erlangga. Terjemahan dari: *Schaum's Outlines of Theory and Problems of Biology*.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: penuntun cara modern menganalisa tumbuhan*. Terbitan ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung: ITB Press. Terjemahan dari: *Phytochemical methods*.
- Hasanuddin *et al.* 2015. Potential of terpenoid bioactive compound isolated from papua ant nest as an alternative ovarian cancer treatment. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology* 5: 406-411.
- Holliday DL dan Speirs V. 2011. Choosing the right cell line for breast cancer research [review]. *BioMed Central* 13:1-7.
- Indrati R. 2005. Faktor-faktor resiko yang berpengaruh terhadap kejadian kanker payudara wanita (studi kasus di Rumah Sakit Kariadi Semarang) [Tesis]. Semarang: Program Pasca Sarjana, Universitas Diponegoro.
- Indrawati. 2009. *Bahaya Kanker bagi Wanita dan Pria*. Cetakan ke-1. Jakarta: Pendidikan untuk Kehidupan.
- Isnawati A, Mudahar H, Kamilatunisah. 2008. Isolasi dan identifikasi senyawa kumarin dari tanaman *Artemisia annua* (L). *Media Litbang Kesehatan* 18:107-118.
- Kee JL, Hayes ER. 1996. *Farmakologi: pendekatan proses keperawatan*. Anugerah P, penerjemah. Asih Y, editor. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- [KEMENKES RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2015. *Buletin Jendela, Data dan Informasi Kesehatan*. Jakarta: Kemenkes RI.

- Kitagawa I *et al.* 1996. Indonesian medical plants XV: chemical structures of five new resin-glycoside, merremosides a, b, c, d, and e, from the tuber of *Merremia mammosa* (Convolvulaceae). *Chem Pharm Bull* 44: 1680-1692.
- Laksmi R, Athira R, Mary JT, Vijayalakshmi S. 2012. Breast cancer risk factors: preventable and non-preventable. *Int Res J Pharm* 3:48-52.
- Lasmadiwati E dan Setyowati R. 2003. *Bidara Upas: penurun kadar gula darah, penghambat sel kanker, pelancar ASI, penurun panas, antiradang*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Mardiana L. 2007. *Kanker pada Wanita*. Jakarta: Penebar swadaya.
- Marks DB, Marks AD, Smith CM. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar: sebuah pendekatan klinis*. Brahm U, penerjemah. Suyono J, Sadikin V, Mahendra LI, editor. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Basic Medical Biochemistry: a clinical approach*.
- Marliana E. 2007. Analisis senyawa metabolit sekunder dari batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll& Moritzi) Benth. yang berfungsi sebagai antioksidan. *J Penelitian MIPA* 1: 23-29.
- Meiyanto E. 2008. Ekstrak etanolik biji buah pinang (*Areca cathecu* Linn) mampu menghambat proliferasi dan memacu apoptosis sel MCF-7. *Majalah Farmasi Indonesia*. 19 (1): 12-19.
- Mohan K, Jeyachandran R, Deepa. 2012. Alkaloid as anticancer agents. *Annas of phytomedicine* 1: 46-53.
- Mursyidi A, editor. 1990. *Analisis Metabolit Sekunder*. Yogyakarta: PAU Bioteknologi Universitas Gadjah Mada.
- Nagano T *et al.* 2009. Total synthesis and biological evaluation of the cytotoxic resin glycosides Ipomeassin A-F and analogues. *Chem Eur J* 00: 1-11.
- Nursid M, Ekowati C, Murwantoko, Subagus W. 2011. Penapisan kapang laut penghasil senyawa sitotoksik dai beberapa perairan di Indonesia. *J Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan* 6:45-56.
- Otto SE. 2003 *Buku Saku Keperawatan Onkologi*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Paramita, penerjemah. 2011. *Nursing: memahami berbagai macam penyakit*. Jakarta: PT. Indeks. Terjemahan dari: *Nursing: understanding disease*.
- Pereda-Miranda R, Villatoro-Vera R, Bah M, Lorence A. 2009. Pore-forming activity of morning glory resin glycosides in model membranes. *Rev Latinoamer Quim* 37:144-154.
- Pollock RE, editor. 2004. *UICC manual of clinical oncology*. Eight edition. Doroshow JH *et al.*, associate editors. United States of America: John Wiley & Sons, Inc.
- Purba NM. 2004. Karakteristik penderita kanker payudara yang di rawat inap di Rumah Sakit St. Elisabeth Medan tahun 2000-2002 [Skripsi]. Medan: Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Sumatra Utara.
- Purushoth PT, Panneerselvam P, Selvakumari S, Ubaidulla U, Shantha A. 2012. Anticancer activity of *Merremia emarginata* (Burm.F) against human cervical dan breast carcinoma. *Int J Res Dev Pharm L Sci* 1:189-192.
- Radji M, Aldrat H, Harahap Y, Irawan C. 2010. Penggunaan obat hebal pada pasien kanker serviks. *J Ilmu Kefarmasian Indonesia* 8:34-39.
- Rahmawati E, Sukardima, Muti AF. 2013. Aktivitas antikanker ekstrak *n*-heksana dan ekstrak metanol herba pacar air (*Impatiens balsamina* Linn) terhadap sel kanker payudara T47D. *Media Farmasi* 10: 47-55.
- Rashad FM, El-Nasser NHA, Dawoud IE, Motawe FH. 2015 Isolation and characterization of antibiotic/antitumor producing *Streptomyces*. *Res J Pharm Biol Chem Sci* 6: 1917-1929.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Padmawinata K, penerjemah. Bandung: ITB Press. Terjemahan dari: *The Organic Constituent of Higher Plants*.
- Spiridon E, Kintzios, Barberaki MG. 2003. *Plants that fight cancer*. United State of America: CRC Press.
- Stringer JL. 2009. *Konsep Dasar Farmakologi: panduan untuk mahasiswa*. Edisi ke-3. Hartanto H, penerjemah. Manurung J, editor. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Basic Concepts in Pharmacology: a student's survival guide*.
- Syamsuni HA. 2006. *Ilmu Resep*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Talupula BK. 2011. Cytotoxic of PBN spin trap on A204 cells [research paper]. *J Adv Pharm Res* 2: 9-17.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur G, Kaur H. 2011. Phytochemical screening and extraction [review]. *Int Pharm Scie* 1: 98-106.
- Torry G. Uji aktivitas kombinasi fraksi etil asetat ekstrak etanol jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) dan doksorubisin terhadap sel T47D, sel vero, dan proliferasi sel limfosit secara *in vitro* [Tesis]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Tjay TH, Rahardja K. 2010. *Obat-Obat Penting*. Edisi ke-4. Cetakan ke-3. Jakarta: Elex Media Komputindo.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Noerono S, Soewandi, Widiyanto, Mathilda B, penerjemah. Edisi ke-5. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Wahyuningsih MSH *et al.* 2013. Selektivitas ekstrak terpurifikasi daun *Tithonia diversifolia* (Hemsley) A.Gray terhadap sel hela. *Trad Med J* 18: 22-28.
- Wijayakusuma H. 2008. *Atasi Kanker dengan Tanaman Obat*. Jakarta: Puspa Swara.
- Winarno E. 2011 Uji sitotoksik ekstrak kapang *Aspergillus* sp. terhadap sel kanker payudara T47D [Skripsi]. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.
- Yu BW *et al.* 2011. Pentasaccharide resin glycosides from *Ipomea pes-capre*. *J Nat Prod* 74:620-628.
- Zachary I. 2003. Determination of cell number in Hughes D and Mehmet H (eds). *Cell proliferation and apoptosis*. BIOS Scientific Publisher Limited *cit* Nursid M, Ekowati C, Murwantoko, Subagus W. 2011. Penapisan kapang laut penghasil senyawa sitotoksik dai beberapa perairan di Indonesia. *J Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan* 6:45-56.
- Zairisman SZ. 2006. *Potensi immunomodulator bubuk kakao bebas lemak sebagai produk substandard secara in vitro pada sel limfosit manusia*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Zulkarnain Z. 2015. Dasar terapi tumor dan kanker di Rumah Riset Jamu “Hortus Medicus” Tawangmangu [analisis]. *CDK*. 234 42: 858-861.

Lampiran 1. Hasil determinasi umbi bidara upas



LABORATORIUM BIOLOGI
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
 Jl. A. Yani Tromol Pos 1 Pabelan Kartasura Surakarta 57102. Telp. (0271) 717417 ext 171

SURAT KETERANGAN

No: 576/A.E-I/LAB.BIO/VI/2016

Yang bertanda tangan di bawah ini atas nama Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta menerangkan bahwa:

No.	Nama	NIM
1.	Qurrotul A'yun	18144363A
2.	Santi Nur Ermawati	18144364A
3.	Merisa Setyara	18144359A

Program Studi : S1 Farmasi

Fakultas : Farmasi

Perguruan Tinggi : Universitas Setia Budi

Menyatakan bahwa mahasiswa tersebut telah mendeterminasikan Tanaman **Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Haller f.)** dengan Sinonim:

1. *Batatta mammosa* Rumph.
2. *Convolvulus mammosa* Hall.
3. *Ipomoea mammosa* Choisy.

Pendeterminasian dilakukan pada:

Hari : Kamis

Tanggal : 02 Juni 2016

Tempat : Laboratorium Biologi

Demikian surat keterangan ini kami buat, harap dipergunakan dengan semestinya.

Surakarta, 02 Juni 2016

Mengetahui,

Kepala Laboratorium Biologi,

Penanggung jawab determinasi,



Triastuti Rahayu, S.Si, M.Si
 NIK: 920

Siti Kartika Sari, M.Pd

Bidara Upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Haller f.)

Kunci Determinasi :

1b, 2b, 3b, 4b, 12b, 13b, 14b, 17b, 18b, 19b, 20b, 21b, 22b, 23b, 24b, 25b, 26b, 27a, 28b, 29b, 30b, 31b, 403b, 404b, 405b, 414a, 415b, 451b, 466b, 467b, 468b, 469b, 470e, 541b, 542b, 543c, 544b, 545a, 546b, → Famillia : Convolvulaceae
 1b, 2a, 3b, 4b, 5b, 7b, 9b, 12b, 13b, → Genus : Merremia
 1a, 2a, 3b, → Spesies : *Merremia mammosa* (Lour.) Haller f.

Klasifikasi :

Divisio : Spermatophyta
 Sub Divisio : Angiospermae
 Classis : Dicotyledoneae
 Sub Classis : Sympetalae
 Ordo : Tubiflorae / Solanales / Personatae
 Familia : Convolvulaceae
 Genus : Merremia
 Species : *Merremia mammosa* (Lour.) Haller f.

Sinonim : *Batatta mammosa* Rumph.
Convoivuius mammosa Hall.
Ipomoea mammosa Chois.

Tabel Deskripsi tanaman *Merremia mammosa* (Lour.) Haller f.:

Keterangan	Deskripsi
Akar dan ciri umum	Tumbuhan liana dengan akar tunggang dan beberapa akar batang. Sering dijumpai dengan akar yang serabut karena sering dibudidayakan secara vegetatif, akar terdapat penyimpanan cadangan makanan berupa umbi yang tertanam di dalam tanah.
Batang	Batang liana atau merambat percabangan tidak beraturan, ukuran batang hampir sama dengan tangkai daun, batangnya kecil bila dipegang agak licin dan warnanya coklat agak gelap

Daun	Daun tunggal duduk tersebar, tangkai panjang, ukuran tangkai daun bisa sampai 15 cm helaian bangun jantung sampaai membulat, dengan ujung runcing sampai meruncing, pangkal helaian berlekuk, warna hijau, tekstur lunak, pertulangan menyirip, tepi rata.
Bunga	Bunga majemuk berbatas, rangkaian berbentuk payung menggarpu berkumpul 1-4 bunga, corolla seperti lonceng berwarna putih dengan panjang 7-8 cm, dengan 4 helai kelopak
Umbi	Umbi berkumpul didalam tanah, mirip ubi jalar. Beratnya dapat mencapai 5 kg atau lebih. Warna kulit umbinya kuning kecoklatan, kulitnya tebal bergetah warna putih, bila kering warnanya menjadi coklat.
Biji	Berbulu pada bagian samping sisi punggung

Sumber :

Becker, D.Sc , C.A. and Van den Brink Jr, PH.D., R.C. Bakhuizen. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes only) Vol I* Groningen-The Netherlands:Wolters-Noordhoff N.V.

_____. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes only) Vol II* Groningen-The Netherlands:Wolters-Noordhoff N.V.

Tjitrosoepomo, G. 2007. *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*. Yogyakarta : UGM Press.

Van Steenis, C.G.G.J. 2005. *Flora*. Jakarta : PT. Pradnya Paramita.

Lampiran 2. Surat kelaikan etik



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Dr. Moewardi General Hospital
 RSUD Dr. Moewardi

School of Medicine SebelasMaret University
 Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret



ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 396/ V / HREC /2016

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas

Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Maret University Of Surakarta, after reviewing the proposal design, herewith to certify
 Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

UJI SITOTOKSIK FRAKSI ETIL ASETAT UMBI BIDARA UPAS (MERREMIA MAMMOSA,
 (LOUR) HALL. F.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D

Principal investigator : Qurrotul Ayun
 Peneliti Utama 18144363A

Location Of Research : FK UGM
 Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
 Dinyatakan laik etik

Issued on : 04 Mei 2016



Chairman
 Ketua
 Dr. Hari Wijoso, dr., Sp.F.MM
 NIP. 19621022 199503 1 001

Lampiran 3. Surat ijin penelitian



DEPARTEMEN PARASITOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS GADJAH MADA
 Gedung Prof. Drs. R. Radiopoetro Lt. IV Sayap Timur, Sekip, Yogyakarta 55281.
 Telp. (0274) 546215. Fax. 546215. E-mail : parasitfkugm@yahoo.com

Nomor : UGM/KU/Prst/ 277/M/05/07 13 Juli 2016
 Hal : Ijin Penelitian.

Kepada Yth. : QURROTUL A'YUN
 Fakultas Farmasi
 Universitas Setia Budi Surakarta

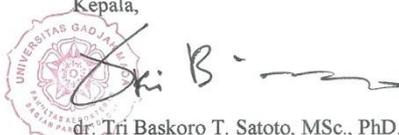
Dengan hormat,
 Menanggapi surat saudara tertanggal 13 Mei 2016 tentang ijin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Parasitologi yang berjudul:

“UJI SITOTOKSIK FRAKSI ETIL ASETAT UMBI BIDARA UPAS (*Merremia mammosa* (Lour) Hall,f.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D”

Kami dapat mengijinkan penelitian tersebut dilakukan di Departemen Parasitologi FK. UGM., dengan catatan :

1. Mentaati peraturan yang berlaku di FK. UGM. dan Departemen Parasitologi FK. UGM.
2. Sebagai supervisor dalam pelaksanaan penelitian ini adalah Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK., dengan Teknisi: Rumbiwati.
3. Menulis semua kegiatan dan hasil penelitian yang dilakukan di laboratorium dalam buku Log Penelitian; buku Log ditinggal di Laboratorium.
4. Menerapkan prinsip **Good Clinical Laboratory Practice** pada saat bekerja di laboratorium.
5. Setelah selesai melaporkan hasilnya kepada Kepala Departemen.

Atas perhatian dalam hal ini kami ucapkan terima kasih.

Kepala,

 dr. Tri Baskoro T. Satoto, MSc., PhD.
 NIP. 19580412 198601 1 001.

Tembusan Yth. : 1. Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.
 2. Rumbiwati
 3. Arsip

Lampiran 4. Surat keterangan selesai penelitian



DEPARTEMEN PARASITOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS GADJAH MADA
 Gedung Prof. Drs. R. Radiopetro Lt. IV Sayap Timur, Sekip, Yogyakarta 55281.
 Telp. (0274) 546215. Fax. 546215. E-mail : parasitfkugm@yahoo.com

SURAT KETERANGAN
 No. UGM/KU/Prst/2011 /TL/04/03

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Kepala Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa :

Nama : QURROTUL A'YUN
 Instansi : Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta
 NIM. : 18144363A

Telah melakukan penelitian di Departemen Parasitologi FK. UGM dengan judul :

“UJI SITOTOKSIK FRAKSI ETIL ASETAT UMBI BIDARA UPAS (*Merremia mammosa* (Lour) Hall,f.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D”

Dibawah supervisi laboratorium: Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.
 Waktu Penelitian: 18 Juli 2016 sampai dengan 28 Juli 2016

Urusan administrasi telah diselesaikan oleh yang bersangkutan dan fasilitas laboratorium yang dipakai telah dikembalikan, dengan demikian dinyatakan **bebas laboratorium**.

Surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 28 Juli 2016

Kepala,



Tri Baskoro T. Satoto
 dr. Tri Baskoro T. Satoto, MSc, PhD.
 NIP. 19580412 198601 1 001.

Lampiran 5. Foto Umbi, rajangan, serbuk, ekstrak, dan fraksi etil asetat bidara upas



Umbi bidara upas



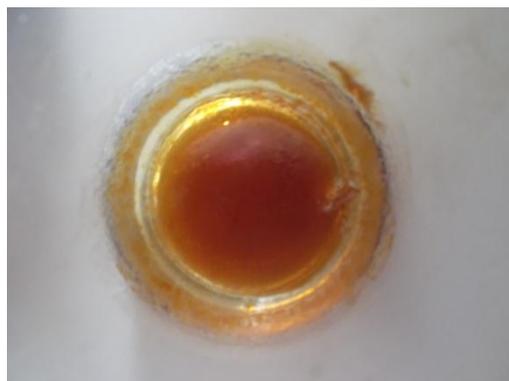
Rajangan umbi bidara upas



Serbuk umbi bidara upas



Ekstrak etanol umbi bidara upas



Fraksi etil asetat umbi bidara upas

Lampiran 6. Alat dan bahan uji sitotoksik

Media kultur RPMI dan M199



Laminar air flow class II



Counter



Mikroskop inverted



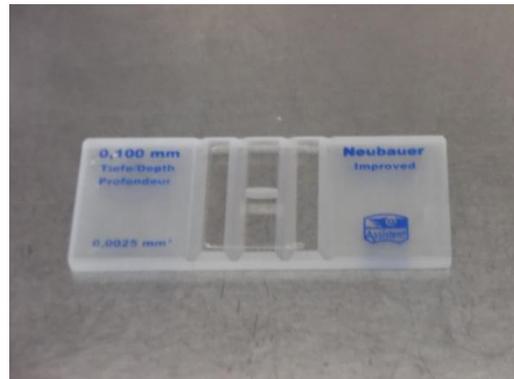
Inkubator 37°C CO₂ 5%



Tabung nitrogen cair



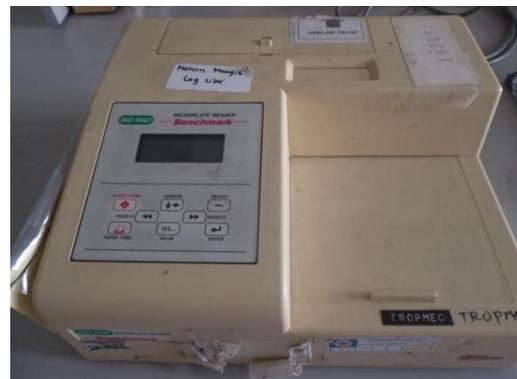
Tripsin, penstrep, amphoterecin B



Hemositometer



Mikropipet



ELISA reader

Lampiran 7. Perhitungan rendemen

A. Rendemen berat umbi kering terhadap umbi basah

$$\begin{aligned} \text{Rendemen}(\% \text{ b/b}) &= \frac{\text{berat kering}}{\text{berat basah}} \times 100\% \\ &= \frac{1200 \text{ gram}}{5100 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 23,53 \% \end{aligned}$$

B. Rendemen ekstrak umbi bidara upas

$$\begin{aligned} \text{Rendemen}(\% \text{ b/b}) &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{57,456 \text{ gram}}{400 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 14,364 \% \end{aligned}$$

C. Rendemen fraksi etil asetat umbi bidara upas

$$\begin{aligned} \text{Rendemen}(\% \text{ b/b}) &= \frac{\text{berat fraksi etOA}}{\text{berat ekstrak}} \times 100\% \\ &= \frac{0,9187 \text{ gram}}{40 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 2,3 \% \end{aligned}$$

Lampiran 8. Hasil identifikasi kualitatif kandungan kimia simplisia**A. Serbuk**

Flavonoid



Alkaloid dragendroff



Alkaloid mayer



Tanin



Fenolik



Terpenoid

B. Ekstrak



Flavonoid



Alkaloid dragendroff



Alkaloid mayer



Fenolik

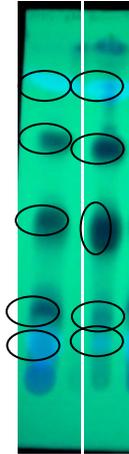


Tanin

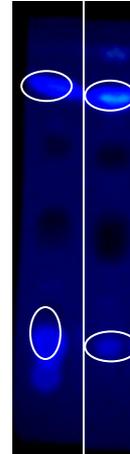


Terpenoid

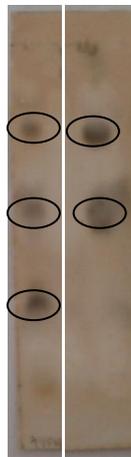
Lampiran 9. Hasil pengujian KLT



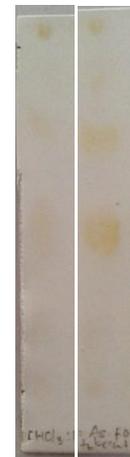
Penampakan ekstrak (kiri), fraksi etil asetat umbi bidara upas (kanan) pada UV 254 nm sebelum disemprot



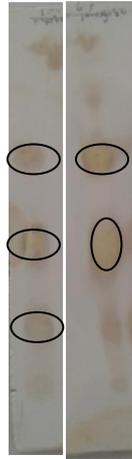
Penampakan ekstrak (kiri), fraksi etil asetat umbi bidara upas (kanan) pada UV 366 nm sesudah disemprot



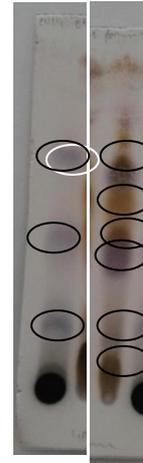
Penampakan ekstrak (kiri), fraksi etil asetat umbi bidara upas (kanan) setelah disemprot dengan pereaksi FeCl_3 (fenolik)



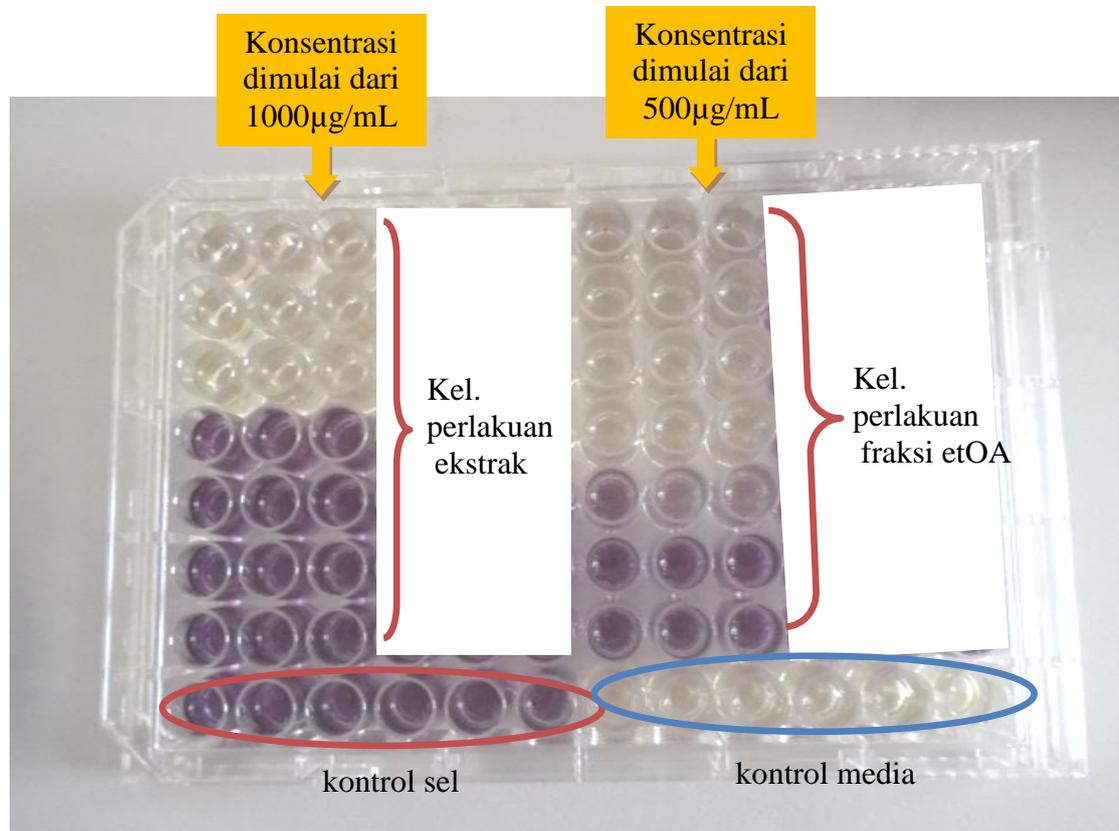
Penampakan ekstrak (kiri), fraksi etil asetat umbi bidara upas (kanan) setelah disemprot dengan pereaksi sitroborat (flavonoid)



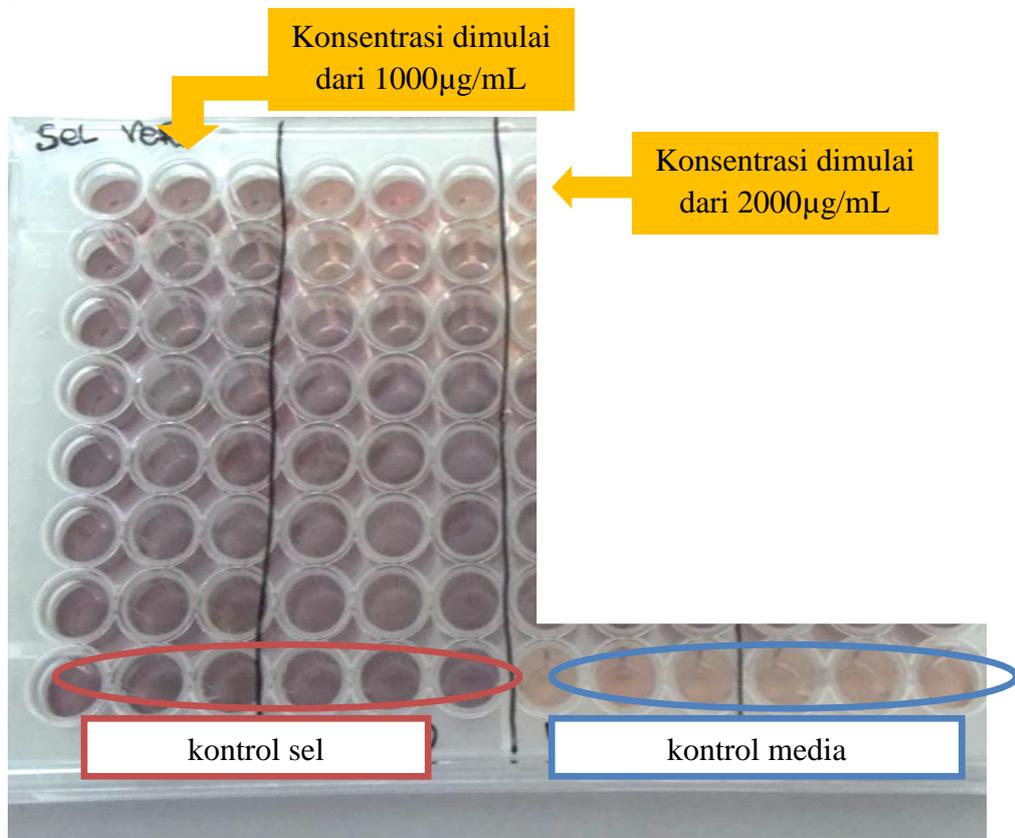
Penampakan ekstrak (kiri), fraksi etil asetat umbi bidara upas (kanan) setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorff (alkaloid)



Penampakan ekstrak (kiri), fraksi etil asetat umbi bidara upas (kanan) setelah disemprot dengan pereaksi Lieberman Burchard (steroid-terpenoid)

Lampiran 10. Pola uji MTT pada *microplate***A. Sel kanker payudara T47D**

B. Sel vero



Lampiran 11. Perhitungan volume panensel kanker payudara T47D dan sel

Vero

A. Sel kanker payudara T47D

Bilik	Jumlah sel
A	98×10^4
B	112×10^4
C	104×10^4
D	93×10^4
Rata-rata	$101,75 \times 10^4$

Jumlah sel kanker yang diambil untuk 100 *well*:

$$\frac{10^4 \times 100}{101,75 \times 10^4} = 0,98 \text{ mL} \sim 1 \text{ mL}$$

Untuk tiap *well* dibutuhkan media kultur RPMI dan sel kanker payudara T47D sebanyak 100 μL , sehingga untuk 100 *well* diperlukan 10 mL, maka diambil 1 mL suspensi sel kanker payudara T47D ditambahkan dengan media kultur RPMI 9 mL.

B. Sel Vero

Bilik	Jumlah sel
A	70×10^4
B	67×10^4
C	50×10^4
D	65×10^4
Rata-rata	63×10^4

Jumlah sel kanker yang diambil untuk 100 *well*:

$$\frac{10^4 \times 100}{63 \times 10^4} = 1,59 \text{ mL} \sim 1,6 \text{ mL}$$

Untuk tiap *well* dibutuhkan media kultur RPMI dan sel vero sebanyak 100 μL , sehingga untuk 100 *well* diperlukan 10 mL, maka diambil 1,6 mL suspensi sel vero ditambahkan dengan media kultur M199 8,4 mL.

Lampiran 12. Pembuatan larutan stok dan seri konsentrasi sampel

A. Pembuatan larutan stok fraksi etil asetat bidara upas

Dibuat larutan stok dengan konsentrasi 10mg/100 μ L

$$10\text{mg}/100\mu\text{L} = 100.000\mu\text{g}/\text{mL}$$

B. Pembuatan seri konsentrasi fraksi etil asetat bidara upas

1. Konsentrasi 500 μ g/mL

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \text{ mL} \times 500 = V_2 \times 100.000$$

$$V_2 = 5\mu\text{L}$$

*dipipet 10 μ L (dari larutan stok)

+ mk RPMI 995 μ L

2. Konsentrasi 250 μ g/mL

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \text{ mL} \times 250 = V_2 \times 500$$

$$V_2 = 500 \mu\text{L}$$

*dipipet 500 μ L (dari larutan kons. 1) + mk RPMI 500 μ L

3. Konsentrasi 125 μ g/mL

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \text{ mL} \times 125 = V_2 \times 250$$

$$V_2 = 500 \mu\text{L}$$

*dipipet 500 μ L (dari larutan kons. 2) + mk RPMI 500 μ L

4. Konsentrasi 62,5 μ g/mL

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \text{ mL} \times 62.5 = V_2 \times 125$$

$$V_2 = 500 \mu\text{L}$$

*dipipet 500 μ L (dari larutan kons. 3) + mk RPMI 500 μ L

5. Konsentrasi 31,3 μ g/mL

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \text{ mL} \times 31.3 = V_2 \times 62.5$$

$$V_2 = 500 \mu\text{L}$$

*dipipet 500 μ L (dari larutan kons. 4) + mk RPMI 500 μ L

6. Konsentrasi 15,6 μ g/mL

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \text{ mL} \times 15.6 = V_2 \times 31.3$$

$$V_2 = 500 \mu\text{L}$$

*dipipet 500 μ L (dari larutan kons. 5) + mk RPMI 500 μ L

7. Konsentrasi 7,8 µg/mL

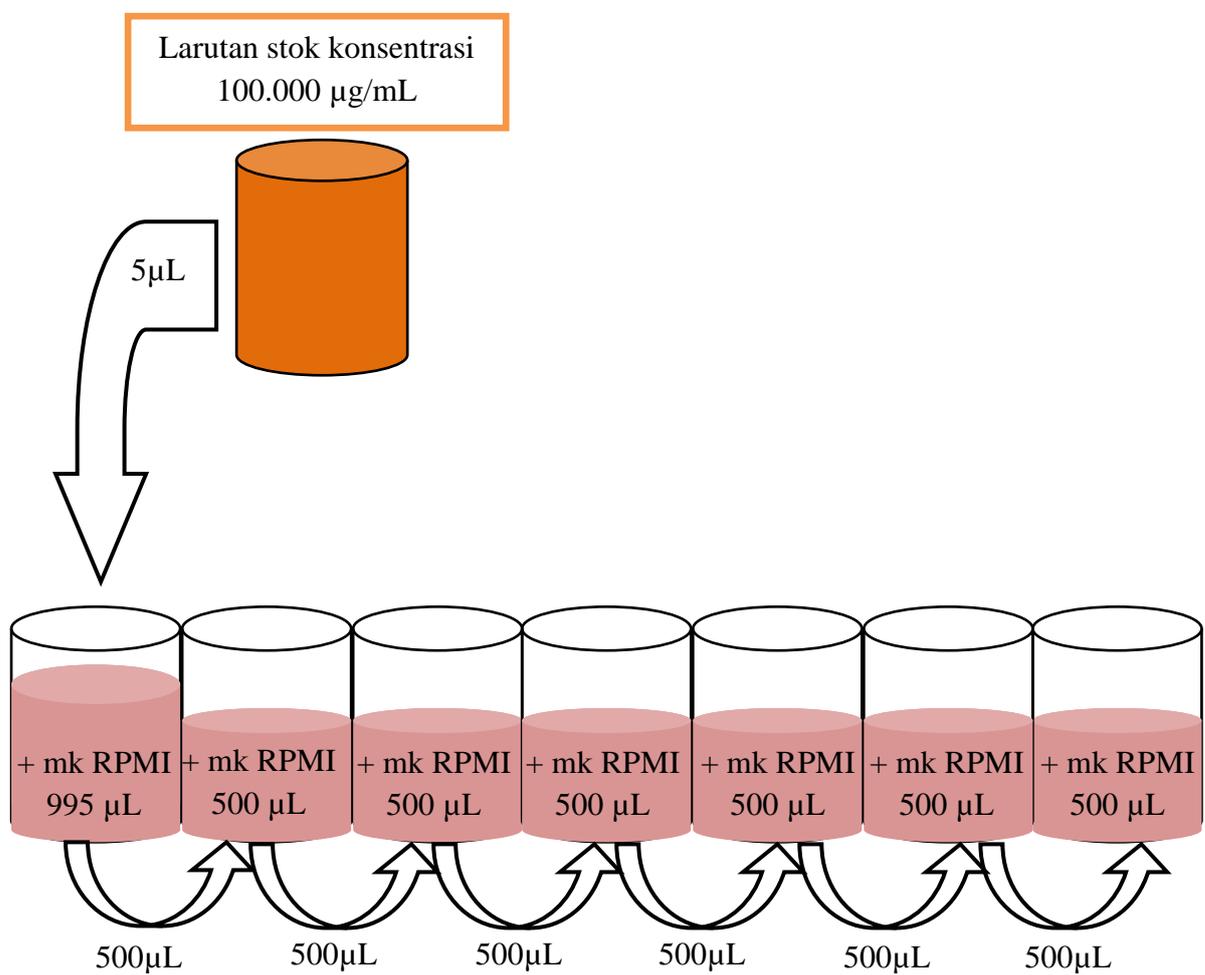
$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$1 \text{ mL} \times 7.8 = V_2 \times 15.6$$

$$V_2 = 500 \text{ µL}$$

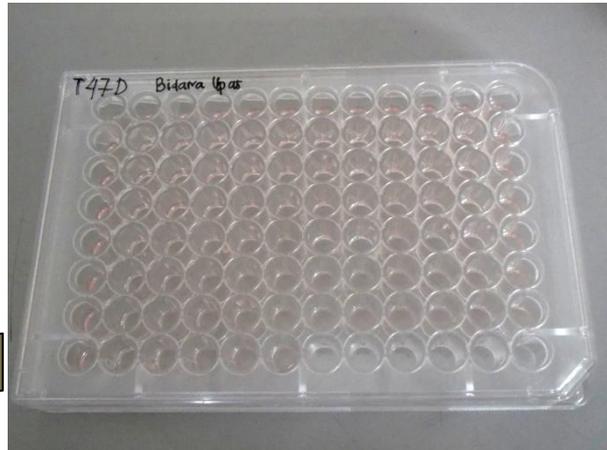
*dipipet 500 µL (dari larutan kons. 6) + mk RPMI 500 µL

Ilustrasi :

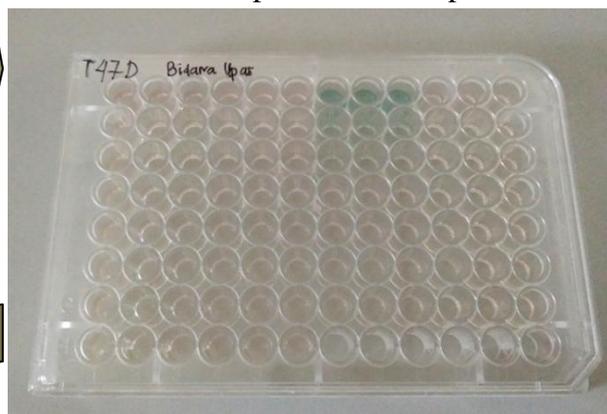


Lampiran 13. Perubahan warna sebelum pemberian sampel, sesudah pemberian sampel, dan sesudah pemberian MTT

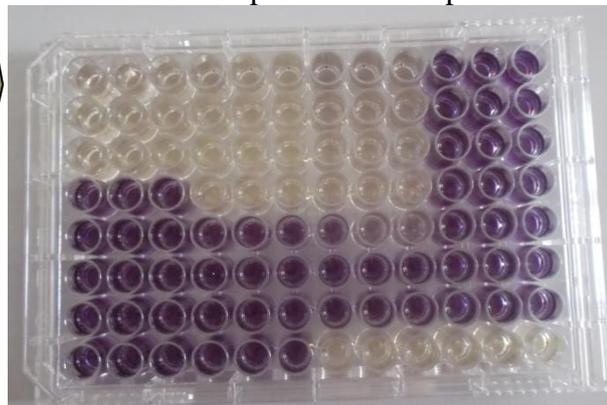
A. Sel kanker payudara T47D



Sebelum pemberian sampel

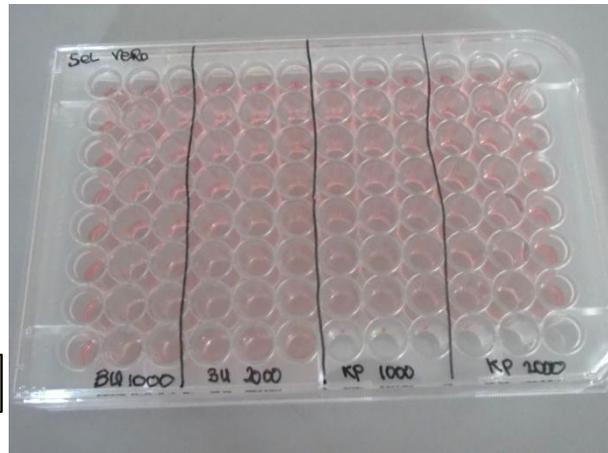


Sesudah pemberian sampel

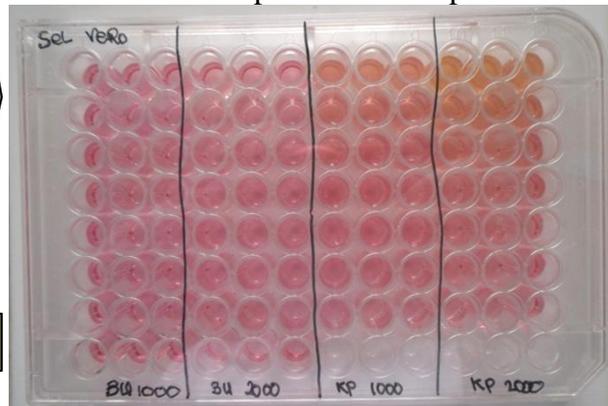


Sesudah pemberian MTT

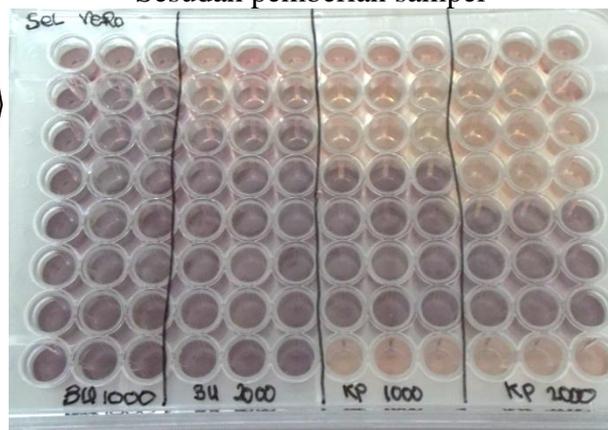
B. Sel Vero



Sebelum pemberian sampel



Sesudah pemberian sampel



Sesudah pemberian MTT

Lampiran 14. Perhitungan IC₅₀

A. IC₅₀ ekstrak etanol umbi bidaraupas terhadap sel kanker payudara T47D

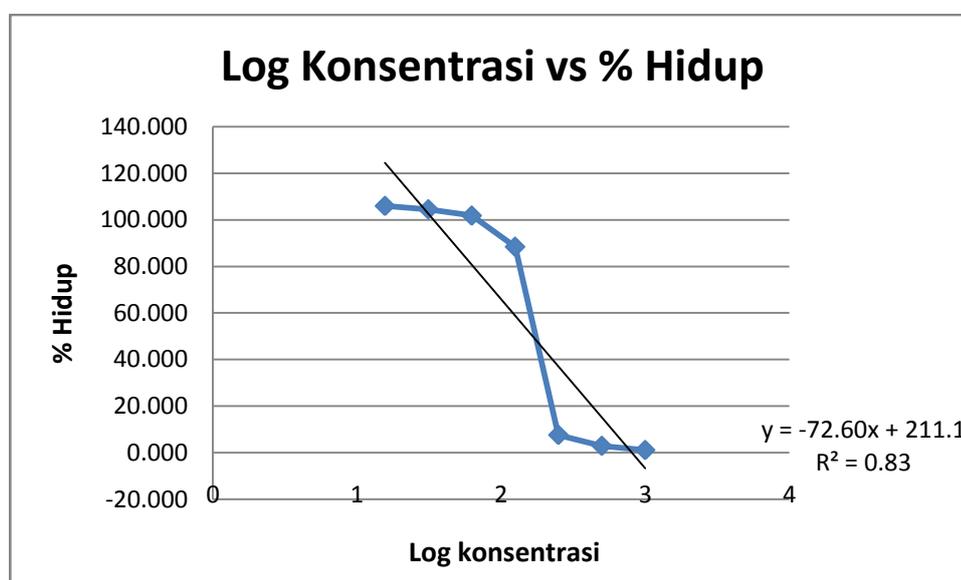
Konst. (µg/mL)	Log Konst.	A ₁	A ₂	A ₃	$\bar{x}A$	K. Media	K. Sel	% Hidup
1000	3	0,104	0,102	0,099	0,102	0,089	1,089	1,109
500	2,699	0,119	0,123	0,115	0,119	0,090	1,042	2,912
250	2,398	0,175	0,164	0,152	0,164	0,094	1,027	7,591
125	2,097	0,976	0,910	0,938	0,941			88,423
62,5	1,796	1,036	1,107	1,066	1,070			101,802
31,3	1,495	1,082	1,097	1,108	1,096			104,506
15,6	1,194	1,021	1,134	1,175	1,110	$\bar{x}= 0,091$	$\bar{x}= 1,053$	105,962

Keterangan: Konst. = konsentrasi

K. Media = kontrol media

A = absorbansi

K. Sel = kontrol sel



$$Y = -72,60x + 211,1$$

$$50 = -72,60x + 211,1$$

$$x = 2,219$$

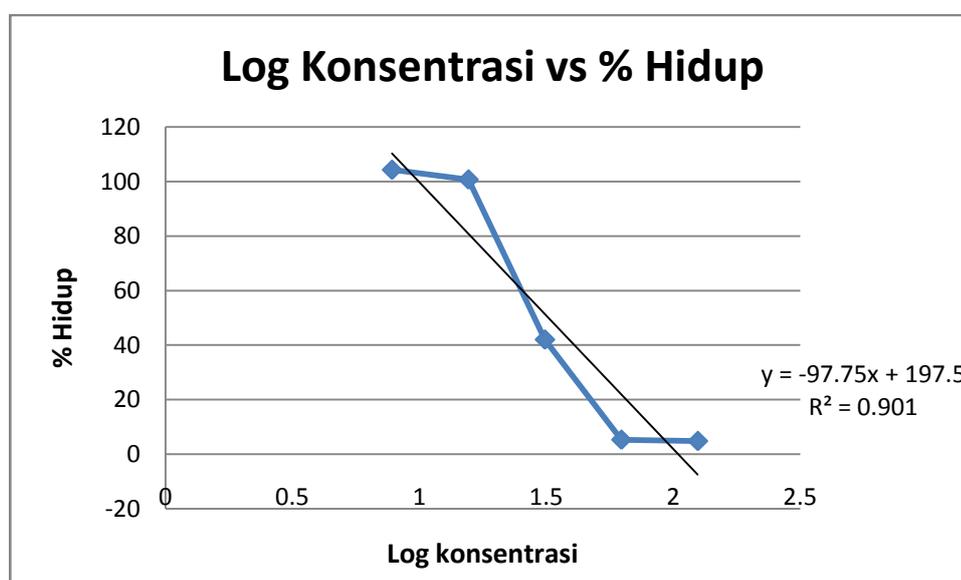
$$\text{antilog } x (\text{IC}_{50}) = 165,6 \mu\text{g/mL}$$

B. IC₅₀ fraksi etil asetat umbi bidara upas terhadap sel kanker payudara T47D

Konst. (µg/mL)	Log Konst.	A ₁	A ₂	A ₃	$\bar{x}A$	K. Media	K. Sel	% Hidup
125	2,097	0,133	0,142	0,137	0,137	0,089	1,089	4,818
62,5	1,796	0,138	0,157	0,131	0,142	0,090	1,042	5,303
31,3	1,495	0,694	0,402	0,389	0,495	0,094	1,027	42,010
15,6	1,194	1,078	1,055	1,045	1,059			100,69
7,8	0,893	1,080	1,054	1,147	1,094	$\bar{x} = 0,091$	$\bar{x} = 1,053$	104,26

Keterangan: Konst. = konsentrasi
A = absorbansi

K. Media = kontrol media
K. Sel = kontrol sel



$$Y = -97,75x + 197,5$$

$$50 = -97,75x + 197,5$$

$$x = 1,509$$

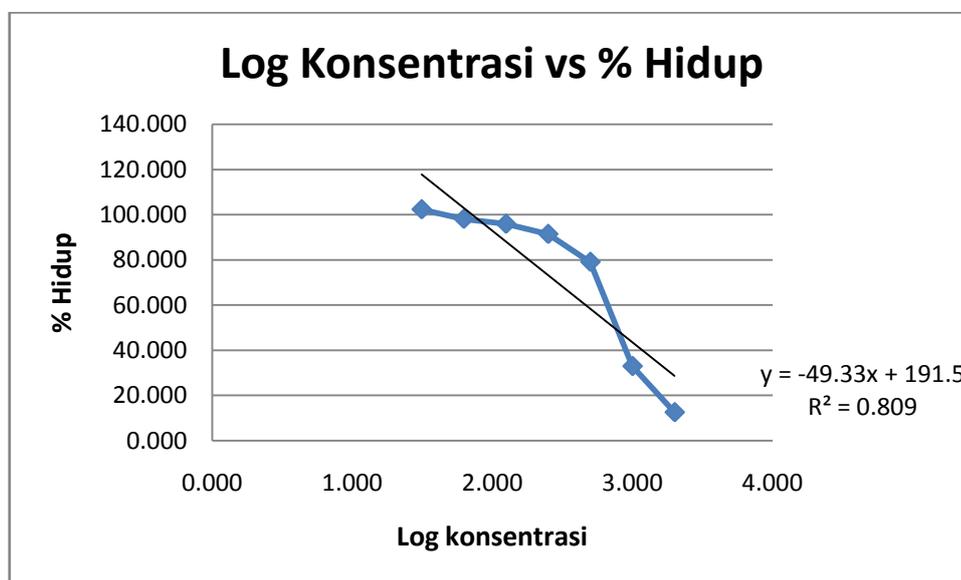
$$\text{antilog } x (\text{IC}_{50}) = 32,3 \mu\text{g/mL}$$

C. IC₅₀ ekstrak etanol umbi bidara upas terhadap sel Vero

Konst. ($\mu\text{g/mL}$)	Log Konst.	A ₁	A ₂	A ₃	$\bar{x}A$	K. Media	K. Sel	% Hidup
2000	3,301	0,140	0,149	0,137	0,142	0,078	0,513	12,670
1000	3	0,220	0,237	0,268	0,242	0,083	0,579	33,038
500	2,699	0,455	0,436	0,510	0,467	0,084	0,553	79,087
250	2,398	0,489	0,476	0,617	0,527			91,417
125	2,097	0,475	0,531	0,642	0,549			95,913
62,5	1,796	0,530	0,519	0,631	0,560			98,093
31,3	1,495	0,516	0,577	0,649	0,581	$\bar{x} = 0,087$	$\bar{x} = 0,543$	102,316

Keterangan: Konst. = konsentrasi
A = absorbansi

K. Media = kontrol media
K. Sel = kontrol sel



$$Y = -49,33x + 191,5$$

$$50 = -49,33x + 191,5$$

$$x = 2,868$$

$$\text{antilog } x (\text{IC}_{50}) = 738,6 \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 15. Perhitungan indeks selektivitas

Indeks selektivitas ekstrak bidara upas dari sel vero terhadap sel kanker payudara T47D

$$\begin{aligned} \text{Indeks selektivitas} &= \frac{IC_{50} \text{ sel vero}}{IC_{50} \text{ sel kanker}} \\ &= \frac{738,6 \text{ } \mu\text{g/mL}}{165,6 \text{ } \mu\text{g/mL}} \\ &= 4,46 \end{aligned}$$