

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




**Oleh:**

**Santi Nur Ermawati  
18144364 A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2016**

**UJI SITOTOKSIK FRAKSI AIR UMBI BIDARA UPAS  
(*Merremia mammosa* (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:**

**Santi Nur Ermawati**

**18144364A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2016**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

berjudul

**UJI SITOTOKSIK FRAKSI AIR UMBI BIDARA UPAS  
(*Merremia mammosa* (Lour.) Hallf.) TERHADAP  
SEL KANKER PAYUDARA T47D**

Oleh

Santi Nur Ermawati

18144364A

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. Drs. Mardiyono, M.Si.

4. Dra. Kartinah W., SU.

1.....

3.....

2.....

4.....

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar apapun di suatu perguruan tinggi, serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Apabila di kemudian hari dapat ditemukan adanya unsur penjiplakan maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 18 Oktober 2016



**Santi Nur Ermawati**  
18144364A

## **PERSEMBAHAN**

Tugas Akhir ini Kupersembahkan untuk :  
Bapak dan Ibu tercinta serta adik tersayang yang  
telah membimbing dan mendukungku  
Sahabat seperjuangan, *Morning Glory* dan Pinang  
Teman-teman transfer S1 Farmasi 2014  
Almamater USB

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan Skripsi dengan judul “UJI SITOTOKSIK FRAKSI AIR UMBI BIDARA UPAS (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall.f.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D” dengan baik.

Penyusunan laporan Skripsi merupakan salah satu syarat untuk dapat memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada jurusan S1 Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. 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. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt, selaku pembimbing utama atas segala ketulusan, kesabaran dan keikhlasannya dalam memberikan arahan, pengertian, dan saran.
4. Fransiska Levianan, M.Sc., Apt. selaku pembimbing pendamping atas segala ketulusan, kesabaran dan keikhlasannya dalam memberikan arahan, pengertian, dan saran.

5. Tim Penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan dalam penyempurnaan skripsi ini.
6. Segenap dosen pengajar dan staff jurusan S1 Farmasi yang telah banyak memberikan ilmu dan pelajaran berharga.
7. Keluargaku yang senantiasa memberikan pendidikan dan dukungan yang terbaik.
8. Sahabat tercinta yang telah memberikan warna selama masa-masa kuliah.
9. Teman-teman seperjuangan S1 Farmasi, atas kerjasamanya selama masa-masa kuliah.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah membantu dalam Tugas Akhir ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam skripsi. 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.

Surakarta, 18 Oktober 2016

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iii
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
<b>BAB I     PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Kegunaan Penelitian.....	4
<b>BAB II     TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
A. Tanaman Bidara Upas .....	5
1. Klasifikasi tanaman .....	5
2. Nama daerah.....	5
3. Morfologi tanaman.....	6
4. Kandungan kimia .....	7
5. Penggunaan tanaman .....	7
B. Simplisia.....	8
1. Pengertian .....	8
2. Pengolahan .....	8
3. Penyarian .....	9



4. Pelarut .....	10
5. Maserasi .....	11
6. Fraksinasi .....	12
C. Kanker .....	13
1. Pengertian .....	13
2. Siklus sel .....	13
3. Apoptosis .....	15
4. Pengobatan kanker .....	16
D. Kanker Payudara .....	17
E. Sel T47D .....	18
F. Sel Vero.....	19
G. Uji Sitotoksik .....	20
H. Uji MTT .....	21
I. Landasan Teori .....	23
J. Hipotesis .....	24
BAB III METODE PENELITIAN .....	25
A. Populasi dan Sampel .....	25
B. Variabel Penelitian .....	25
1. Identifikasi variabel utama .....	25
2. Klasifikasi operasional variabel utama .....	25
3. Definisi operasional variabel utama .....	26
C. Alat dan Bahan .....	27
1. Alat .....	27
2. Bahan.....	28
D. Jalannya Penelitian .....	28
1. Determinasi dan identifikasi tanaman bidara upas.....	28
2. Pengumpulan, pengeringan bahan dan pembuatan serbuk.....	29
3. Penetapan susut pengeringan serbuk umbi bidara upas .....	29
4. Pembuatan ekstrak dan fraksinasi .....	31
5. Identifikasi kandungan senyawa dalam serbuk dan ekstrak etanol umbi bidara upas.....	31
6. Identifikasi kandungan senyawa fraksi air secara KLT .....	32
7. Uji sitotoksik .....	32
E. Analisa Data .....	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	41
1. Determinasi dan identifikasi tanaman .....	41
2. Pengumpulan, pengeringan bahan dan pembuatan serbuk .....	41
3. Penetapan susut pengeringan serbuk umbi bidara upas .....	42
4. Hasil pembuatan ekstrak etanol dan fraksi air umbi bidara upas .....	43
5. Identifikasi kandungan senyawa dalam ekstrak etanol umbi bidara upas .....	44
6. Identifikasi kandungan senyawa fraksi air secara KLT .....	45
7. Uji sitotoksi ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas .....	47

BAB V	PENUTUP.....	55
	A. Kesimpulan .....	55
	B. Saran .....	55
DAFTAR PUSTAKA .....		56
LAMPIRAN .....		61

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
1. Umbi bidara upas .....	6
2. Fase siklus sel .....	15
3. Reaksi uji <i>Methylthiazol Tetrazolium</i> (MTT) .....	22
4. Pembuatan ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas .....	30
5. Bilik haemositometer .....	35
6. Uji sitotoksik ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas .....	39
7. Profil KLT umbi bidara upas .....	46
8. Morfologi sel T47D .....	48
9. Grafik hubungan konsentrasi fraksi air umbi bidara upas dengan persen hidup sel kanker T47D .....	50
10. Kristal formazan setelah perlakuan MTT .....	50
11. Grafik hubungan log konsentrasi ekstrak etanol umbi bidara upas terhadap % viabilitas sel T47D .....	52
12. Grafik hubungan log konsentrasi fraksi air umbi bidara upas terhadap % viabilitas sel T47D .....	52

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
1. Hasil rendemen berat kering terhadap berat basah umbi bidara upas .....	42
2. Hasil organoleptis serbuk umbi bidara upas .....	42
3. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk umbi bidara upas .....	43
4. Hasil pembuatan ekstrak etanol umbi bidara upas .....	43
5. Hasil organoleptis fraksi air umbi bidara upas .....	44
6. Hasil pembuatan fraksi air umbi bidara upas .....	44
7. Hasil identifikasi kandungan senyawa serbuk dan ekstrak bidara upas .....	45
8. Hasil pengujian KLT ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas .....	46
9. Hasil perhitungan persentase viabilitas ekstrak etanol dan fraksi air umbi bidara upas .....	49

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
1. Surat ijin penelitian .....	61
2. Surat keterangan kelayakan etik penelitian.....	62
3. Surat keterangan hasil determinasi .....	63
4. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian .....	66
5. Perhitungan persen rendemen .....	69
6. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk umbi bidara upas.....	70
7. Hasil identifikasi kandungan senyawa pada ekstrak.....	71
8. Hasil KLT ekstrak dan fraksi umbi bidara upas .....	73
9. Pola microplate uji MTT .....	75
10. Perhitungan volume pemanenan sel yang diperlukan .....	76
11. Perhitungan pembuatan larutan stok dn seri larutan sampel .....	77
12. Pengujian MTT .....	79
13. Gambar kristal formazan .....	80
14. Hasil perhitungan $IC_{50}$ ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas .....	83
15. Perhitungan indeks selektivitas ekstrak umbi bidara upas .....	86

## DAFTAR SINGKATAN

DMSO	: <i>Dimetil sulfoksida</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
IC <sub>50</sub>	: <i>Inhibitory Concentration 50%</i>
MTT	: <i>Microculture Tretazolium Technique</i>
PBS	: <i>Phospate Buffered Saline</i>
RPMI	: <i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SDS	: <i>Sodium Dedocyl Sulphate</i>
UV	: <i>Ultra Violet</i>

## INTISARI

**Ermawati, S.N., 2016, UJI SITOTOKSIK FRAKSI AIR UMBI BIDARA UPAS (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall.f.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Kanker payudara merupakan kanker yang banyak diderita wanita diseluruh dunia, termasuk di Indonesia. Selama ini belum ada terapi yang dianggap tepat untuk mengatasinya. Pemanfaatan agen sitotoksik dari bahan alam merupakan alternatif terapi kanker yang sedang dikembangkan. Bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall.f.) sudah banyak digunakan dalam ramuan pengobatan antikanker secara *ethnomedicine*. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan efek sitotoksik ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas pada sel kanker payudara T47D dan indeks selektivitasnya terhadap sel normal (sel vero).

Simplisia diekstraksi dengan metode maserasi dan dilanjutkan fraksinasi dengan metode cair-cair. Fraksi air dilakukan uji kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis untuk melihat profil senyawa yang terkandung dalam fraksi tersebut. Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT (*Microculture Tretazolium Technique*). Aktivitas antikanker ditentukan dengan melihat persentase sel hidup setelah perlakuan, kemudian dihitung nilai  $IC_{50}$ nya

Hasil uji sitotoksik menunjukkan ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas tidak memiliki aktivitas sitotoksik yang poten terhadap sel T47D. Nilai  $IC_{50}$  ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas masing-masing sebesar 165,69  $\mu\text{g/mL}$  dan 13.485,7  $\mu\text{g/mL}$ , serta didapatkan nilai indeks selektivitas sebesar 4,46. Profil KLT menunjukkan adanya senyawa fenolik, terpenoid dan alkaloid pada fraksi air.

---

**Kata kunci :** uji sitotoksik, sel T47D, fraksi air, *Merremia mammosa*.

## ABSTRACT

**Ermawati, S.N., 2016, CYTOTOXIC TEST OF AQUEOUS FRACTION OF *BIDARA UPAS* TUBER (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f.) AGAINST BREAST CANCER T47D CELL LINES, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Breast cancer is the most common woman cancer in the world, and also in Indonesia. There has been no right therapies to resolve them. Cytotoxic agents from natural products is an alternative cancer therapies that are being developed. According to ethnomedicine, *Bidara upas* tuber (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f.) has been used to treat cancer. The aim of this research was to determine the cytotoxic activity of extracts and aqueous fractions of *bidara upas* tuber on breast cancer T47D cell lines and also determined selectivity index.

Material was extracted by maceration and continued with liquid-liquid fractionation. Phytochemical screening of aqueous fraction was tested by thin layer chromatography for observed chemical compounds. The cytotoxic effect was carried out by using MTT assay. Cytotoxic activity was determined by IC<sub>50</sub> value.

The results showed that extracts and aqueous fraction of *bidara upas* tuber had not potential cytotoxic activity against T47D cell lines. The IC<sub>50</sub> values of extract was 165,69 µg/mL and IC<sub>50</sub> values of aqueous fraction was 13485,7 µg/mL. The selectivity index value was 4,46. Phytochemical screening showed that aqueous fraction contain phenol, alkaloid and terpenoid.

---

**Keyword:** cytotoxic activity, T47D cell lines, aqueous fraction, *Merremia mammosa*.



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Kanker merupakan penyakit akibat pertumbuhan tidak normal dari sel-sel jaringan tubuh yang berubah menjadi sel kanker (Lubis 2009). Kanker payudara adalah kanker ganas yang terjadi pada sel-sel di payudara. Kanker ini sering menyerang wanita, tetapi dapat juga terjadi pada pria (Sudewo 2012). Kanker payudara adalah penyebab utama kedua kematian akibat kanker bagi wanita di Amerika Serikat, setelah kanker paru-paru. Menurut data GLOBOCAN (IARC) tahun 2012 diketahui bahwa kanker payudara merupakan penyakit kanker dengan persentase kasus baru tertinggi, yaitu sebesar 43,3%, dan persentase kematian akibat kanker payudara sebesar 12,9% (Kemenkes RI 2015<sup>b</sup>). Dari tahun ke tahun angka kejadian kanker payudara terus meningkat di dunia (ACS 2015). Di Indonesia, angka kejadian tertinggi kanker pada wanita saat ini adalah kanker payudara. Estimasi angka kejadian jenis kanker payudara di Indonesia sebesar 40 per 100.000 perempuan yang berarti ada 40 wanita menderita kanker payudara di setiap 100.000 wanita Indonesia (Kemenkes RI 2015<sup>a</sup>).

Peningkatan angka kejadian kanker yang pesat dan belum adanya terapi yang dianggap tepat untuk mengatasinya, pengobatan kanker dilakukan dengan empat cara utama yaitu melalui pembedahan, radiasi, kemoterapi dan terapi biologi (Dipiro *et al.* 2015). Penggunaan obat-obat kemoterapi lebih banyak menimbulkan efek samping bagi penderita kanker. Obat antikanker ideal adalah

yang memiliki toksisitas selektif, artinya menghancurkan sel kanker tanpa merusak sel jaringan normal (Wahyuni 2011). Oleh karena itu, metode pengobatan kanker yang lebih aman perlu untuk dikembangkan.

Minat masyarakat terhadap pemanfaatan obat tradisional cenderung meningkat. Di Indonesia telah banyak pengobatan tradisional dengan bahan alam yang digunakan untuk mengobati kanker. Hal ini dikarenakan pengobatan tradisional dinilai lebih aman dan efek samping minimum, sehingga dapat meningkatkan kualitas hidup penderita. Penggunaan obat bahan alam merupakan salah satu alternatif untuk penyakit kanker dan masih terus dikembangkan hingga sekarang.

Bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour.) Hall. f.) merupakan salah satu tanaman obat yang dikembangkan dalam rumah riset jamu di Tawangmangu untuk mengobati tumor (Zulkarnain 2015). Bidara upas termasuk dalam famili convolvulaceae yang terbukti mengandung beberapa senyawa penting yaitu: alkaloid, flavonoid, terpenoid, fenolik, dan polifenol (Farizal 2012; Yan *et al.* 2010). Kitagawa *et al.* (1996) telah mengisolasi 5 senyawa glikosida resin baru, yakni *merremoside* a, b, c, d, dan e dari umbi bidara upas.

Secara tradisional, bidara upas sudah banyak digunakan dalam ramuan pengobatan antikanker. Penelitian menemukan bahwa 24 spesies dari famili convolvulaceae telah dicatat sebagai obat antitumor secara *ethnomedicine* bagi banyak orang (Eich 2008), namun penelitian umbi bidara upas sebagai agen antikanker bahan alam masih belum banyak di Indonesia.

Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan untuk memisahkan golongan senyawa sesuai dengan tingkat kepolarannya (Harborne 1987). Fraksi yang akan diteliti yakni fraksi air dari ekstrak etanol umbi bidara upas. Pemilihan fraksi ini berdasarkan kandungan senyawa umbi bidara upas yang sebagian besar bersifat polar. Fraksi air yang bersifat polar dapat menarik senyawa seperti flavonoid, fenolik, alkaloid, dan glikosida resin. Senyawa-senyawa tersebut diduga memiliki aktivitas sitotoksik (Djamaan *et al.* 2016). Hal ini didukung penelitian Purushoth *et al.* (2012) yang mengemukakan bahwa fraksi polar dari tanaman yang memiliki famili yang sama yaitu *Merremia emarginata* (Burm.F.) terbukti memberikan efek sitotoksik IC<sub>50</sub> terhadap sel Hela dan sel MCF-7 masing-masing sebesar 71,5 µg/ml dan 46,3µg/ml. Kandungan glikosida resin pada famili convolvulaceae (*Ipomoea tricolor*) mempunyai aktivitas sitotoksik (Pereda-Miranda *et al.* 2009).

Pemanfaatan umbi bidara upas sebagai agen antikanker perlu diteliti dan dikembangkan secara ilmiah. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian efek antikanker ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas terhadap sel kanker payudara T47D dengan *Microculture Tetrazolium Technique* (MTT) yang dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub>, serta dilakukan uji selektivitas ekstrak bidara upas terhadap sel kanker payudara T47D.

## **B. Perumusan Masalah**

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

1. Apakah ekstrak umbi bidara upas memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D ?
2. Apakah fraksi air umbi bidara upas memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D ?
3. Berapakah indeks selektivitas ekstrak umbi bidara upas dari sel kanker payudara T47D terhadap sel vero?

## **C. Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui efek sitotoksik ekstrak umbi bidara upas terhadap sel kanker payudara T47D.
2. Mengetahui efek sitotoksik fraksi air umbi bidara upas terhadap sel kanker payudara T47D.
3. Mengetahui nilai indeks selektivitas ekstrak umbi bidara upas dari sel kanker payudara T47D terhadap sel vero.

## **D. Kegunaan Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efek sitotoksik dari umbi bidara upas pengetahuan serta gambaran kepada masyarakat luas terutama dalam eksplorasi dan penemuan senyawa aktif dari bahan alam sebagai pengobatan herbal.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Tanaman Bidara Upas

##### 1. Klasifikasi tanaman

Menurut Dalimartha (2009), klasifikasi tanaman bidara upas sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Solanales
Famili	: Convolvulaceae
Genus	: <i>Merremia</i>
Spesies	: <i>Merremia mammosa</i> (Lour) Hall.f.
Sinonim	: <i>Battata mammosa</i> Rumph. <i>Convolvulus mammosa</i> Hall. <i>Ipomoea mammosa</i> Chois.

##### 2. Nama daerah

Nama daerahnya adalah sebagai berikut: blantar, widoro upas (Jawa); hailale (Maluku/Ambon); bidara upas (Sumatera) (Depkes RI 1979).

### 3. Morfologi tanaman

Tumbuhan melilit, panjang batang 3 m sampai 6 m, umbi berkumpul di dalam tanah. Helai daun tidak berbentuk perisai, pangkal daun berbentuk jantung atau bundar, ujung daun lancip. Panjang daun 5 cm sampai 12 cm, lebar 4 cm sampai 15 cm. Bunga payung menggarpu, 1 sampai 4 bunga, mahkota bunga berwarna putih, panjang 7-8 cm, kelopak bunga 4 helai, dan berbentuk bundar telur atau lonjong (Depkes RI 1979).

Umbi panjang, kemudian bulat, dipucuknya berbentuk mata susu, 6-7 umbi mengumpul jadi satu, biasanya sebesar kentang. Beratnya kadang-kadang 5 kg atau lebih. Warna kuning oker, kulitnya tebal. Rasa agak manis, rapuh. Jika dibelah keluarlah getah putih banyak, tidak ada rasanya, lekas menjadi hijau abu-abu. Jika telah kering berwarna sawo matang. Kulitnya tebal, kadang-kadang 1/3 dari penampang atau lebih (Sastroamidjojo 2001).



**Gambar 1. Umbi bidara upas**

#### **4. Kandungan kimia**

Tanaman bidara upas memiliki kandungan kimia antara lain, damar, resin, pati, zat pahit, dan getah segarnya mengandung zat oksidase (Dalimartha 2009). Zat pahit pada tumbuhan biasanya secara umum disebabkan karena adanya alkaloid, tetapi juga bisa disebabkan karena adanya terpenoid (Robinson 1995). Menurut Farizal (2012), bidara upas terbukti mengandung 4 senyawa penting, yaitu alkaloid, tanin, flavonoid dan polifenol. Flavonoid merupakan senyawa polar yang umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dan lain-lain. Flavonoid dalam tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid, gula yang terikat pada flavanoid mudah larut dalam air (Harborne 1995). Kebanyakan dari keluarga *convolvulaceae* mengandung senyawa glikosida resin (Eich 2008). Menurut Kitagawa *et al.* (1996) telah mengisolasi 13 senyawa glikosida resin dari umbi bidara upas (*convolvulaceae*) yakni *merremoside* a, b, c, d, e, f, g, h<sub>1</sub> dan h<sub>2</sub>, serta *mammosides* A, B, H<sub>1</sub> dan H<sub>2</sub>.

#### **5. Penggunaan tanaman**

Bidara upas dapat digunakan sebagai antiradang, analgetik, pencahar, menetralkan racun, dan menyejukkan. Tanaman ini secara tradisional dapat mengobati demam, batuk, serak, difteri, radang tenggorokan, radang paru, usus buntu, tifus, sembelit, muntah darah, keracunan, gigitan ular, kusta, sifilis, dan kanker (Lasmadiwati & Setyowati 2003).

## **B. Simplisia**

### **1. Pengertian**

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman, dan eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi yang spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dikeluarkan dari selnya dengan cara tertentu atau zat yang dipisahkan dari tanamannya dengan cara tertentu yang masih belum berupa zat kimia murni (Depkes RI 1995). Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh atau zat yang dihasilkan oleh hewan yang belum diolah berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang belum diolah atau diolah dengan cara yang sederhana belum berupa zat kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

### **2. Pengolahan Simplisia**

Cara pembuatan simplisia ada beberapa tahapan yaitu sortasi basah, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan dan penyimpanan.

**2.1. Sortasi basah.** Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Misalnya pada simplisia yang dibuat dari akar suatu tanaman obat, bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak serta pengotor-pengotor lainnya harus dibuang.

**2.2. Pencucian bahan.** Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang melekat pada bahan simplisia. Simplisia yang



mengandung zat yang mudah larut dalam air yang mengalir, pencucian agar dilakukan sesingkat mungkin.

**2.3. Perajangan.** Beberapa jenis bahan simplisia perlu mengalami proses perajangan. Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan.

**2.4. Pengeringan.** Pengeringan dilakukan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak selama masa penyimpanan. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik dapat mencegah penurunan mutu simplisia. Proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel bila kadar airnya dapat mencapai kurang dari 10%. Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengering. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan (Prasetyo & Inorih 2002).

### **3. Penyarian**

Penyarian adalah penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Simplisia yang disari mengandung zat aktif yang dapat larut dan tidak dapat larut. Faktor yang mempengaruhi kecepatan penyarian adalah kecepatan difusi zat yang larut melalui lapisan-lapisan batas antara cairan penyari dengan bahan yang mengandung zat tersebut. Proses penyarian dibagi menjadi pembuatan serbuk, penyarian dan pemekatan (Depkes RI 1986). Struktur kimia zat aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, logam berat,

udara, cahaya dan derajat keasaman. Dengan diketahuinya zat aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan cairan penyari dan cara penyarian yang tepat (Depkes RI 1986).

#### **4. Pelarut**

Pelarut adalah cairan yang digunakan untuk ekstraksi. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dari bahan obat tertentu berdasarkan daya larut zat aktif, zat yang tidak aktif serta zat yang tidak diinginkan tergantung preparat yang digunakan. Sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel 1989).

Pelarut organik berdasarkan konstanta dielektrikum dapat dibedakan menjadi dua, yaitu pelarut polar dan pelarut non-polar. Semakin tinggi konstanta dielektrikunya maka pelarut semakin bersifat polar (Sinko 2011).

Larutan penyari yang baik harus memenuhi kriteria yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar dan selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat, contoh cairan penyari adalah air, etanol, etanol-air dan eter (Depkes RI 1986).

Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% karena etanol merupakan larutan penyari yang mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, selektif, tidak beracun, bereaksi netral, absorpsinya baik, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan (Depkes RI 1986). Etanol dipertimbangkan sebagian cairan penyari karena bersifat netral kapang dan kuman sulit tumbuh

dalam etanol dengan kadar >20%. Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel, dapat memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, dapat dihasilkan suatu bahan aktif yang optimal dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil turut dalam cairan pengekstraksi (Voigt 1995).

Pada proses fraksinasi digunakan sistem pelarut *n*-heksan (non polar), etil asetat (semi polar) dan air (polar). Air merupakan senyawa dengan rumus kimia H<sub>2</sub>O, memiliki titik didih 100<sup>0</sup>C. Air dipertimbangkan sebagai pelarut karena stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan alamiah. Air dapat mempercepat proses hidrolisis. Senyawa yang larut ke dalam pelarut air adalah tanin, alkaloid, flavonoid dan saponin (Depkes RI 1986).

## **5. Maserasi**

Maserasi (*macerare* = mengairi, melunakkan) adalah cara ekstraksi yang sederhana (Voigt 1995). Maserasi merupakan proses penyarian dimana serbuk yang sudah halus direndam dalam pelarut sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan terlarut (Ansel 1989). Maserasi biasanya dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia dimasukkan ke dalam bejana kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil dilakukan pengadukan berulang-ulang untuk meratakan larutan di luar serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan akan tetap terjaga derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan dalam sel dengan larutan di luar sel. Keuntungan dari maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan lebih sederhana (Depkes RI 1986).

## **6. Fraksinasi**

Fraksinasi merupakan proses pemisahan antara zat cair dengan zat cair. Fraksinasi disebut juga ekstraksi cair-cair, dimana solute dipisahkan dengan cairan pembawa (diluen) menggunakan solven cair (Depkes RI 2000). Fraksinasi dilakukan secara bertingkat berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu dari non polar, semi polar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, yang semi polar akan larut dalam pelarut semi polar, dan yang bersifat polar akan larut ke dalam pelarut polar (Harborne 1987). Fraksinasi ini umumnya dilakukan dengan menggunakan metode corong pisah atau kromatografi kolom. Corong pisah merupakan peralatan laboratorium yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran antara dua fase pelarut yang memiliki massa jenis berbeda yang tidak tercampur, dimana sebagian komponen larut pada fase pertama, dan sebagian larut pada fase kedua. Kedua fase yang mengandung pelarut terdispersi dikocok, kemudian didiamkan sampai terjadi pemisahan sempurna dan terbentuk dua lapisan fase cair. Komponen-komponen kimia akan terpisah dalam kedua fase tersebut sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap. Sebagai syarat ekstraksi cair-cair, yakni bahan ekstraksi dan pelarut tidak saling bercampur (Depkes RI 2000).

## C. Kanker

### 1. Pengertian

Kanker adalah pertumbuhan sel abnormal yang cenderung menyerang jaringan di sekitarnya dan menyebar ke organ tubuh lain yang letaknya tidak jauh (Corwin 2009). Proses penyakit ini bermula ketika sel abnormal diubah oleh mutasi genetik dari DNA seluler. Sel abnormal ini membentuk klon dan mulai berproliferasi secara abnormal, mengakibatkan sinyal mengatur pertumbuhan dalam lingkungan sekitar sel tersebut (Brunner & Suddarth 2002).

Suatu kelompok sel akan membelah secara cepat dan membentuk benjolan atau massa jaringan ekstra. Masa ini disebut tumor. Tumor dapat bersifat ganas (*malignant, cancerous*) atau jinak (*benigna, non-cancerous*). Tumor yang bersifat ganas akan menyusup dan menghancurkan jaringan tubuh yang sehat. Satu kelompok sel dalam sebuah tumor juga dapat pecah dan menyebar ke bagian tubuh lainnya. Sel yang menyebar dari satu bagian tubuh ke bagian yang lain disebut metastase (Shadine 2012). Ciri-ciri khusus untuk membedakan antara sel kanker dengan sel normal, antara lain: sel kanker mampu mencukupi kebutuhan sinyal pertumbuhannya sendiri, sel kanker tidak sensitif terhadap sinyal antiproliferatif, sel kanker mampu menghindari mekanisme apoptosis (Kumar *et al.* 2007).

### 2. Siklus sel

Siklus sel terdiri dari beberapa fase yaitu fase Gap 1 (G1), S (Sintesa), Gap 2 (G2), dan M (Mitosis) (Foster *et al.* 2001).

**2.1. Fase G1.** Tahap persiapan sel untuk replikasi DNA dengan mensintesis protein baru dan mengaktifkan komponen sitoskeletal. Selama tahap

ini, sel memantau lingkungannya untuk menentukan waktu yang tepat untuk replikasi DNA. Tahap ini merupakan cekpoin bagi sel karena bila kondisinya tidak tepat, sel tidak akan menjalani siklusnya

**2.2. Fase S.** Pada fase-S ini dibentuk untai DNA baru melalui proses replikasi. Replikasi DNA terjadi dengan bantuan enzim DNA-polimerase. Dengan dibentuknya DNA baru maka rantai tunggal DNA menjadi rantai ganda (Sukardja, 2000). Pada fase S dengan pembentukan asam deoksiribonukleat baru, jumlah kromosom akan berlipat dua dan dengan ini pembelahan sel akan dipersiapkan (Mutschler, 1999). Suryo (2007) menyebutkan bahwa pada akhir fase ini terbentuk 2 kromatid.

**2.3. Fase G2.** Pada fase ini dibentuk RNA, protein, enzim, dan sebagainya untuk persiapan fase berikutnya yaitu fase M (Sukardja, 2000). Fase ini disebut juga fase pramitosis dengan ciri sel berbentuk tetraploid, mengandung DNA dua kali lebih banyak daripada sel fase lain dan masih berlangsungnya sintesis DNA dan protein. Selain itu, pada fase G2 kromosom sudah ada dalam bentuk kromatida (Mutschler 1999). Apabila terjadi kerusakan DNA dan DNA tidak bereplikasi dengan sempurna, maka proliferasi sel menuju fase M diblok dan dihentikan pada fase G2. Penghentian pada fase G2 dilakukan untuk perbaikan DNA, tetapi jika perbaikan DNA tidak dapat dilakukan maka terjadi apoptosis (Corwin 2009).

**2.4. Fase M.** Fase ini merupakan tahap pembelahan sel. Pada fase ini sintesis protein dan RNA berkurang secara tiba-tiba dan terjadi pembelahan menjadi dua sel. Pembelahan menjadi dua sel ini terdiri dari empat tahap, yaitu

profase, metafase, anafase, dan telofase. Pada awal fase mitosis ditandai dengan terbentuknya benang spindel dan pada akhirnya terjadi pemisahan kromosom (Corwin 2009).



Gambar 2. Fase siklus sel (Kresno 2012)

### 3. Apoptosis

Kematian sel merupakan kehilangan *irreversibel* dari suatu membran plasma. Apoptosis adalah program kematian sel sebagai respon fisiologis sel untuk mengeliminasi sel-sel yang tidak dibutuhkan tubuh. Apoptosis berperan secara esensial dalam embryogenesis dengan mengeliminasi sel-sel yang jumlahnya berlebihan dan terus berlanjut sepanjang waktu hidup organisme (Corwin 2009). Apoptosis juga berperan dalam memantau perubahan pada sel-sel kanker. Apoptosis menjadi garis pertahanan pertama untuk melawan mutasi dengan membersihkan sel-sel DNA abnormal yang dapat menjadi ganas. Dengan demikian apoptosis merupakan bagian dari sistem imun dan juga untuk mengontrol populasi sel normal dalam tubuh (Rang *et al.* 2003). Apoptosis adalah perubahan karakteristik dalam morfologi, termasuk kondensasi kromatin (*pyknosis*) dan fragmentasi (*karyorrhexis*), perubahan minor dalam organel

sitoplasma dan penyusutan sel secara keseluruhan. Pecahnya membran plasma dan pembentukan badan-badan apoptosis yang mengandung inti sel atau sitoplasma. Semua perubahan ini terjadi sebelum membran plasma lisis. Proses apoptosis sel terjadi melalui dua jalur, yaitu jalur intrinsik (mitokondrial) dan jalur ekstrinsik (penghantaran sinyal secara langsung melalui adapter) (Golstein 2006).

#### **4. Pengobatan kanker**

Menurut Corwin (2009) terdapat beberapa metode pengobatan dalam mengatasi penyakit kanker antara lain:

**4.1. Pembedahan.** Tumor yang telah bermetastasis dapat diterapi dengan pembedahan untuk menghilangkan rasa nyeri pasien akibat tumor yang menekan saraf di sekitarnya. Pembedahan juga digunakan untuk mengekstraksi bagian mayor dari tumor, yang mengurangi beban tumor dan meningkatkan respon terhadap kemoterapi atau radioterapi.

**4.2. Terapi radiasi.** Terapi ini menggunakan radiasi ionisasi untuk membunuh sel tumor. Radiasi bekerja berdasarkan prinsip bahwa sel yang paling rentan terhadap efek perusak dari radiasi adalah sel-sel yang berada pada stadium S atau M siklus sel. Sel tumor paling cenderung ditemukan dalam setiap stadium tersebut. Tetapi setiap banyak sel normal juga berada pada stadium tersebut dan dapat terbunuh akibat terapi radiasi. Radiasi membunuh sel dengan mengubah DNA yang cukup menekan siklus sel, terutama dengan mengaktifkan protein p53 dan protein ras yang menyebabkan sel bunuh diri, namun sel kanker telah menginaktivkan gen penekan normal sehingga sel tersebut tidak mengalami apoptosis ketika terjadi kerusakan DNA. Keterbatasan lain dari terapi radiasi yaitu



terbentuknya jaringan parut yang mengarah ke fibrosis dan penurunan fungsi organ. Radiasi sering digunakan untuk tindakan tambahan pada pembedahan, atau untuk memperkecil ukuran tumor, sehingga mengurangi beban tumor.

**4.3. Kemoterapi.** Terapi ini menggunakan obat-obatan dari berbagai kelas berbeda untuk menghancurkan sel-sel yang berada di stadium S, M, atau G awal siklus sel. Kemoterapi biasanya menyebabkan penekanan sumsum tulang, yang akhirnya menyebabkan kelelahan, anemia, kecenderungan pendarahan, dan peningkatan resiko infeksi. Contoh obat-obat sitostatika antara lain, doksorubisin, vinblastin, podofilin, daunorubisin, siklosporin.

**4.4. Imunoterapi.** Terapi ini dilakukan dengan mengaktifkan system imun pejamu untuk mengenali dan menghancurkan sel tumor secara spesifik memblok enzim dan faktor pertumbuhan yang diperlukan untuk metastasis, memungkinkan evaluasi.

**4.5. Senyawa bahan alam yang beraktivitas antikanker.** Senyawa yang terkandung dalam tanaman dapat digunakan sebagai pengobatan kanker. Senyawa tersebut diklasifikasikan ke dalam 14 kelompok kimia, sebagai berikut: aldehid, alkaloid, *Annonaceous acetogenins*, flavonoid, glikosida, lignin, lipid, lipid tidak tersaponifikasi, asam nukleat, fenol dan derivatnya, polisakarida, protein, terpenoid, dan senyawa yang belum teridentifikasi (Kintzios & Barberaki 2004).

## **D. Kanker Payudara**

Penyebab dari kanker payudara tidak diketahui dengan pasti, namun terdapat serangkaian faktor genetik, hormonal dan lingkungan. Penyebab tersebut

yang dapat menunjang terjadinya kanker payudara. Banyak faktor yang diprediksi mempunyai hubungan kanker payudara. Kanker payudara dimulai di jaringan payudara yang terdiri dari kelenjar untuk produksi susu, yang disebut lobulus, dan saluran yang menghubungkan lobulus ke puting. Sisa dari payudara terdiri dari lemak, ikat, dan jaringan limfatik (ACS 2013).

Pada umumnya tumor pada payudara bermula dari sel epitelial, sehingga kebanyakan kanker payudara dikelompokkan sebagai karsinoma (keganasan tumor epitelial). Sedangkan sarkoma, yaitu keganasan yang berangkat dari jaringan penghubung, jarang dijumpai pada payudara. Berdasarkan asal dan karakter histologinya kanker payudara dikelompokkan menjadi dua kelompok besar yaitu *in situ karsinoma* dan *invasive karsinoma*. Karsinoma *in situ* dikarakterisasi oleh lokalisasi sel tumor baik di duktus maupun di lobular, tanpa adanya invasi melalui membran basal menuju stroma di sekelilingnya. Sebaliknya pada *invasive karsinoma*, membran basal akan rusak sebagian atau secara keseluruhan dan sel kanker akan mampu menginvasi jaringan di sekitarnya menjadi sel metastatik. Semua tipe jaringan pada payudara dapat berkembang menjadi kanker, namun pada umumnya kanker timbul dari saluran (*ducts*) maupun kelenjar (*glands*) (Dolinsky & Kayser 2016).

#### **E. Sel T47D**

Sel T47D merupakan *continous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. Sel kanker payudara T47D merupakan sel yang sensitif terhadap agen kemoterapi dan memiliki kemampuan

replikasi yang cepat sehingga sangat cocok digunakan untuk uji sitotoksik. Keuntungan penggunaan lini sel pada pengujian yaitu mereka mudah ditangani dan dapat mereplikasi diri tanpa batas, selain itu mereka menunjukkan tingkat homogenitas yang relatif tinggi dan mudah diganti dengan sel yang beku (*frozen stock*) jika sel yang digunakan tidak layak dipakai lagi, misalnya karena kontaminasi (Wahyuni *et al.* 2011). Sel T47D memiliki mekanisme antiapoptosis dan karsinogenesis lebih kuat daripada sel MCF-7. Sel T47D memiliki morfologi seperti sel epitel. Sel T47D memiliki karakteristik ER (*Estrogen Reseptor*)/PR (*Progesteron Reseptor*)-positif. Secara molekular sel mengalami mutasi pada p53, sehingga sel kehilangan kontrol pada regulasi siklus selnya. Sel T47D dapat ditumbuhkan pada medium RPMI-1640 yang ditambah dengan 10% *Fetal Bovine Serum* (FBS), 100 units/ml penicillin dan 100 µg/ml streptomycin (Gertz 2010).

#### **F. Sel Vero**

Sel Vero ATCC CCL-81 merupakan sel epitel non kanker. Sel ini berasal dari organ ginjal monyet hijau asal Afrika. Sel Vero merupakan sel monolayer berbentuk poligonal dan pipih, sel ini *immortal, non tumorigenic fibroblastic cell*. Sel ini melekat erat pada substrat yang berbahan polistirena dengan membentuk ikatan kovalen. Pengujian sel Vero dilakukan untuk mempelajari pertumbuhan sel, diferensiasi sel, sitotoksitas dan transformasi sel yang di induksi oleh berbagai senyawa kimia. Sel ini juga direkomendasikan untuk dijadikan sebagai sel model dalam mempelajari karsinogenesis secara *in vitro*. Adanya sel Vero memudahkan

dalam mempelajari perubahan sel yang meliputi pertumbuhan dan morfologinya akibat induksi berbagai senyawa kimia (Goncalves *et al.* 2006).

### **G. Uji Sitotoksik**

Uji sitotoksik merupakan salah satu pengembangan metode untuk memprediksi keberadaan senyawa yang bersifat toksik pada sel yang merupakan syarat mutlak untuk obat-obat antikanker (Kurniajasanti *et al.* 2008). Uji sitotoksik dilakukan secara *in vitro* menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa. Keuntungan pengujian secara *in-vitro* yaitu senyawa yang digunakan untuk pengujian relatif sedikit, waktu yang diperlukan relatif cepat dan dapat memberi informasi tentang efek secara langsung pada sel manusia (Fatma *et al.* 2011). Penggunaan uji sitotoksitas pada kultur sel merupakan salah satu cara penetapan *in vitro* untuk mendapatkan obat-obat sitotoksik. Sistem ini merupakan uji kuantitatif dengan cara menetapkan kematian sel (Freshney 1987). Dua metode umum yang digunakan untuk uji sitotoksitas adalah metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan biru tripan (*trypan blue*) dan metode MTT (*Microculture Tetrazolium Technique assay*). Uji MTT merupakan salah satu metode yang digunakan dalam uji sitotoksik (Doyle & Griffith 2000).

Senyawa sitotoksik adalah suatu senyawa atau zat yang dapat merusak sel dan digunakan untuk menghambat pertumbuhan dari sel tumor malignan (Siregar & Amalia 2004). Suatu ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki  $IC_{50} < 100 \mu\text{g/ml}$  (Mustarichie *et al.* 2011). Rentang nilai  $IC_{50}$  bila  $< 10$

$\mu\text{g/ml}$  sangat aktif, 10-20  $\mu\text{g/ml}$  termasuk kategori aktif dan  $> 20 \mu\text{g/ml}$  dinyatakan kurang aktif, namun nilai  $\text{IC}_{50}$  50-100  $\mu\text{g/ml}$  tetap memiliki aktivitas terhadap sel kanker (Freshney 2010).

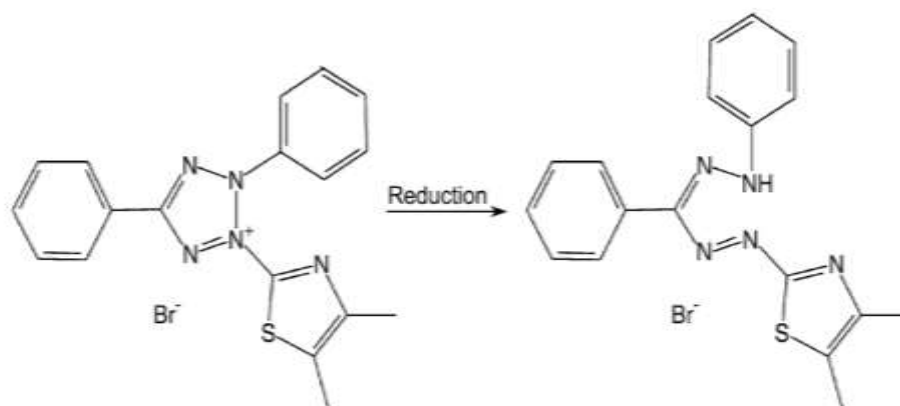
## H. Uji MTT

Untuk pengujian sitotoksik, pada umumnya digunakan metode *methylthiazol tetrazolium* (MTT) atau dengan nama lain *3-(4,5-dimetitiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromide*. Metode MTT merupakan salah satu metode uji sitotoksisitas yang bersifat kuantitatif. Uji sitotoksisitas dilakukan secara *in vitro* yaitu untuk menentukan potensi sitotoksik suatu senyawa, seperti agen antikanker (Kupcsik & Stoddart 2011).

Prinsip uji MTT adalah mengukur aktivitas selular berdasarkan kemampuan enzim mitokondria reduktase pada mitokondria dalam mereduksi garam *methylthiazol tetrazolium* (MTT). Ketika bermetabolisme, sel-sel hidup akan menghasilkan enzim mitokondria reduktase. Enzim ini bereaksi dengan MTT dan membentuk kristal formazan berwarna ungu. Suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup dari warna kuning membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan reagen *stopper* (bersifat detergenik) akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan *ELISA reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak. Dalam penelitian ini digunakan uji MTT yang memiliki

kelebihan yaitu relatif cepat, sensitif, akurat, digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya dapat memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan (Doyle & Graffiths 2000).

Reaksi MTT dapat dilihat sebagai berikut:



**Gambar 3. Reaksi uji Methylthiazol Tetrazolium (MTT) (Stoddart 2011)**

Uji sitotoksik ini digunakan untuk menentukan nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai agen sitotoksik (Padmi 2008).

Untuk memperoleh nilai indeks selektivitas digunakan sel yang berasal dari ginjal monyet hijau afrika (Vero) menggunakan 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT). Indeks selektivitas (IS) diperoleh dari rasio  $IC_{50}$  sel Vero dibandingkan dengan sel kanker yang diuji. Nilai IS lebih tinggi dari 3 menunjukkan bahwa obat atau ekstrak memiliki selektivitas (keamanan) yang tinggi. Semakin tinggi angka selektivitasnya maka senyawa tersebut semakin baik (Lukman *et al.* 2014).

## I. Landasan Teori

Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang mempunyai prevalensi tinggi. Pengobatan modern pada umumnya sering menimbulkan efek samping yang tidak menyenangkan bagi penderita. Bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour) Hall.f.) secara tradisional telah digunakan sebagai ramuan obat kanker. Bidara upas merupakan jenis tanaman obat yang terbukti mengandung senyawa penting yaitu: alkaloid, tanin, flavonoid, polifenol, terpenoid, glikosida resin, *merremoside* dan *mammoside* (Farizal 2012; Kitagawa *et al.* 1996). Sementara itu getah segarnya mengandung zat oxydase.

Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa yang lebih spesifik. Fraksi air yang bersifat polar dapat menarik senyawa seperti saponin, tanin, flavonoid, fenolik, dan resin glikosida yang diduga memiliki aktivitas terhadap sel kanker. Aktivitas antikanker genus convovulaceae dibuktikan oleh Purushoth *et al.* (2012) mengemukakan bahwa fraksi polar dari tanaman yang memiliki genus yang sama yaitu *Merremia emarginata* (Burm.F) memberikan efek sitotoksik IC<sub>50</sub> terhadap sel Hela dan sel MCF-7 masing-masing sebesar 71,5 µg/ml dan 46,3 µg/ml. Hal tersebut menunjukkan bahwa tanaman bidara upas juga berpotensi memiliki aktivitas sitotoksik yang besar terhadap kanker payudara T47D.

Pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% dalam proses penyarian simplisia umbi bidara upas. Etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena bersifat netral, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol dengan kadar >20%, tidak beracun, absorbsinya baik, dapat bercampur dengan air, selektif dalam menghasilkan jumlah senyawa aktif yang optimal, serta panas

yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Voigt 1995). Etanol sangat cocok digunakan untuk mengekstraksi umbi bidara upas karena etanol mempunyai sifat universal sehingga dapat mengekstrak komponen dalam bidara upas lebih banyak jika dibandingkan jenis pelarut organik lain.

Uji sitotoksik merupakan salah satu pengembangan metode untuk memprediksi keberadaan senyawa yang bersifat toksik pada sel yang merupakan syarat mutlak untuk obat-obat antikanker (Kurniajasanti *et al.* 2008). Untuk pengujian sitotoksik, pada umumnya digunakan metode *methylthiazol tetrazolium* (MTT). Suatu ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel apabila memiliki  $IC_{50}$  kurang dari 100  $\mu\text{g/ml}$  (Mustarichie *et al.* 2011). Rentang nilai  $IC_{50}$  bila kurang dari 10  $\mu\text{g/ml}$  sangat aktif, 10-20  $\mu\text{g/ml}$  termasuk kategori aktif dan lebih dari 20  $\mu\text{g/ml}$  dinyatakan kurang aktif, namun nilai  $IC_{50}$  50-100  $\mu\text{g/ml}$  tetap memiliki aktivitas terhadap sel kanker (Freshney 2010).

## **J. Hipotesis**

Berdasarkan landasan teori dan penelitian sebelumnya, maka dapat disusun hipotesis sebagai berikut:

1. Ekstrak umbi bidara upas memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai  $IC_{50}$  kurang dari 100  $\mu\text{g/ml}$ .
2. Fraksi air umbi bidara upas memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai  $IC_{50}$  kurang dari 100  $\mu\text{g/ml}$ .
3. Ekstrak umbi bidara upas memiliki indeks selektivitas dari sel kanker payudara T47D terhadap sel vero lebih besar dari 3,00.



## **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, Kabupaten Kebumen, Provinsi Jawa Tengah.

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 segar, bersih, dan tidak busuk.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama dalam penelitian ini adalah aktivitas sitotoksik fraksi air umbi bidara upas terhadap sel kanker payudara T47D dan indeks selektivitas ekstrak umbi bidara upas.

##### **2. Klasifikasi operasional variabel utama**

Variabel yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkontrol.

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah yang direncanakan untuk diteliti yang berpengaruh terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas yang diujikan pada sel kanker payudara T47D, serta konsentrasi ekstrak bidara upas yang diujikan pada sel vero.

Variabel tergantung dari penelitian ini yaitu aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D dengan menghitung jumlah sel yang mati pada masing-masing seri konsentrasi, dan indeks selektivitasnya.

Variabel terkendali yaitu variabel yang dianggap berpengaruh, 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, kondisi laboratorium dan peneliti.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, umbi bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour) Hall.f.) adalah bagian umbi dari tanaman bidara upas yang berumur 9-12 bulan yang ditanam di daerah Grenggeng, Karanganyar, Kabupaten Kebumen, Provinsi Jawa Tengah.

Kedua, fraksi air umbi bidara upas adalah fraksi sisa yang diperoleh dari hasil partisi ekstrak etanol umbi bidara upas dengan pelarut yang berbeda kepolarannya, yaitu *n*-heksan, etil asetat, dan air.

Ketiga, aktivitas sitotoksik adalah kemampuan senyawa dalam membunuh sel kanker setengah dari jumlah populasi yang dinyatakan dengan IC<sub>50</sub>.

Ketiga, sel kanker payudara T47D adalah *continuous cell line* koleksi Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, yang mana kultur sel ditumbuhkan dalam media penumbuh RPMI yang mengandung FBS 10%, penisillin-streptomisin 2%, *fungizone* 0,5%.

Keempat, metode MTT adalah metode uji toksisitas untuk menentukan jumlah sel T47D yang mati pada masing-masing konsentrasi dan kontrol.

Kelima, indeks selektivitas adalah kemampuan suatu senyawa membunuh sel kanker payudara T47D secara selektif dibandingkan dengan sel Vero yang dihitung dengan rumus: *indeks selektivitas* :  $\frac{IC50 \text{ Sel Vero}}{IC50 \text{ Sel kanker}}$ , dimana IS lebih dari tiga dinyatakan selektif.

### C. Alat dan Bahan

#### 1. Alat

Alat pembuatan sampel terdiri atas bejana maserasi, kain flanel, ayakan 40 mesh, batang pengaduk, blender, *moisture balance* O'haus MB23, kertas saring, eksikator, timbangan elektrik, corong buchner, oven, evaporator, dan alat gelas.

Alat uji sitotoksik meliputi *laminar air flow class II/ biological safety cabinet*, inkubator 37°C, tangki nitrogen cair, *mikroplate* 96 sumuran (Nunclone), *sentrifuge* Sigma 3K12 (B. Braun Biotech Internasional), autoklaf, aliran CO<sub>2</sub> 5% model 6200 (Napco), spektrokolorimeter pada alat ELISA *reader* (SLT 240 ATC), *Nebauer haemocytometer* (Olympus CKX41), tabung endprof, tabung konikal steril (Nunclone), lampu ultraviolet, neraca elektrik (Sartorius),

mikropipet 20-200  $\mu\text{L}$  dan 200-1000  $\mu\text{L}$  (Pipetman), mesin vortex, mikroskop inverted (Axiovert-25), *magnetic stirrer* dan kamera digital.

## **2. Bahan**

Bahan sampel yang digunakan adalah serbuk kering umbi bidara upas. Ekstraksi menggunakan etanol 96% (Bratachem) dan fraksinasi menggunakan *n*-heksan, etil asetat, dan air.

Bahan untuk uji sitotoksik adalah sel kanker payudara: T47D *cell line*; media stok: RPMI (Gibco), media komplet: media RPMI (Gibco), media M199 (Gibco), *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10% v/v (Gibco), Penisillin-Streptomisin 2% v/v (Gibco), Fungizon (Amphoterasin B) 0,5% v/v (Gibco); Dimetil sulfoksida (DMSO), Tripsin 0,5%, MTT 5mg/ml dalam PBS; media pencuci sel: larutan PBS pH 7,2; penghenti (*stopper*): Sodium Dodesil Sulfat (SDS) 10% dalam HCl 0,1 N.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi dan identifikasi tanaman Bidara upas**

Tahap pertama penelitian adalah menetapkan kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopisnya. Hal ini dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri morfologis tanaman pada pustaka yang dibuktikan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta.

## **2. Pengumpulan, pengeringan bahan dan pembuatan serbuk**

Umbi bidara upas diperoleh dari daerah Grenggeng, Karanganyar, Kabupaten Kebumen, Provinsi Jawa Tengah. Umbi bidara upas dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir. Umbi bidara upas yang sudah dibersihkan, kemudian dilakukan perajangan dan pengeringan dengan menggunakan oven suhu 40<sup>0</sup>C selama  $\pm$  2 hari. Umbi bidara upas yang sudah kering, digiling, kemudian diayak menggunakan ayakan 40 mesh. Serbuk yang diperoleh disimpan dalam wadah kering tertutup rapat dan dilakukan pemeriksaan secara organoleptis.

## **3. Penetapan susut pengeringan serbuk umbi bidara upas**

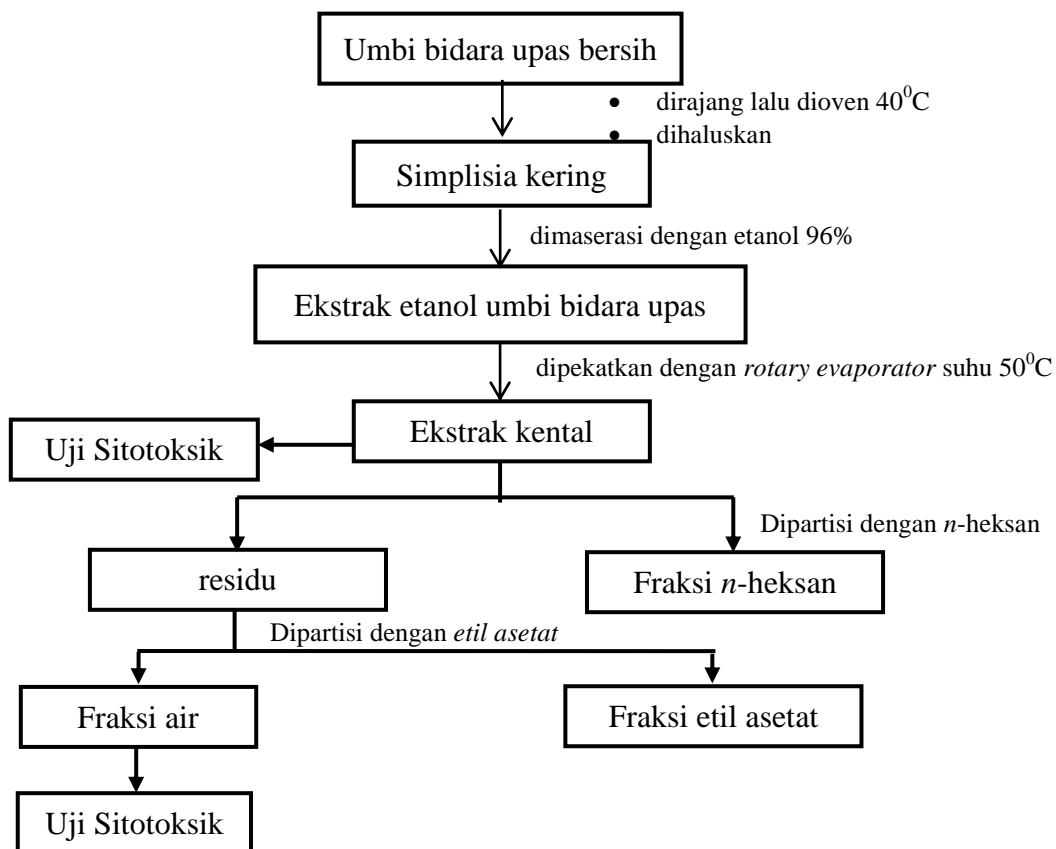
Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan alat *moisture balance* O'haus MB23. Sebanyak 2 gram serbuk umbi bidara upas dimasukkan ke dalam alat lalu diukur susut pengeringan serbuk dengan alat pada suhu 105<sup>0</sup>C. Kemudian dilakukan pembacaan sampai muncul angka dalam persen pada alat. Susut pengeringan memenuhi syarat bila kadar air serbuk simplisia kurang dari 10%.

## **4. Pembuatan ekstrak dan fraksinasi**

Sebanyak 400 gram serbuk bidara upas dimaserasi menggunakan 3 liter etanol 96% pada suhu kamar selama 5 hari dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari sambil sering diaduk, kemudian diserkai, diperas, ampas dicuci dengan cairan penyari satu liter sehingga diperoleh 100 bagian. Lalu pindahkan dalam bejana tertutup, dibiarkan pada tempat yang sejuk terlindung dari cahaya selama dua hari, kemudian disaring. Hasil maserat ditampung dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50<sup>0</sup>C sampai dihasilkan ekstrak kental

(BPOM RI 2010). Ekstrak tersebut ditentukan rendemen terhadap berat awal simplisia, dilakukan uji fitokimia dan uji sitotoksik.

Ekstrak yang diperoleh dipartisi dengan pelarut yang sifat kepolarannya semakin meningkat, yaitu *n*-heksan, etil asetat dan air. Sebanyak 10 gram ekstrak kental ditambahkan dengan 100 mL air (1:10), lalu dimasukkan dalam corong pisah dan dipartisi dengan tiga kali 100 mL *n*-heksan. Selanjutnya fraksi air dimasukkan kembali pada corong pisah dan dipartisi dengan tiga kali 100 mL etil asetat. Proses tersebut dilakukan untuk 40 gram ekstrak. Fraksi air (sisa) ditampung dan dipekatkan menggunakan *water bath*. Fraksi air selanjutnya ditimbang untuk perhitungan rendemen fraksi dan dilakukan pengujian sitotoksik.



**Gambar 4. Pembuatan ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas**

## **5. Identifikasi kandungan senyawa dalam serbuk dan ekstrak etanol umbi bidara upas.**

Kandungan senyawa yang terdapat di dalam serbuk dan ekstrak etanol umbi bidara upas diidentifikasi dengan uji warna menggunakan pereaksi warna yang spesifik untuk golongan senyawa masing-masing.

**5.1. Identifikasi flavonoid.** Ekstrak dilarutkan dengan pelarut secukupnya. Kemudian diambil 5 mL, ditambahkan serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat. Setelah itu didinginkan, ditambahkan 2 mL amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Hasil positif adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau jingga (Depkes RI 1979).

**5.2. Identifikasi alkaloid.** Ekstrak dilarutkan dengan HCl encer, lalu disaring. Pada tes dengan reagen Mayer, hasil positif alkaloid ditandai dengan adanya endapan kuning, sedangkan pada tes dengan reagen Dragendorff, hasil positif alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan warna merah (Tiwari *et al.* 2011).

**5.3. Identifikasi tanin.** Ekstrak ditambahkan larutan gelatin 1% dalam NaCl. Hasil positif jika terbentuk endapan (Evans 2009).

**5.4. Identifikasi fenolik.** Ekstrak dilarutkan dengan *aquadest* secukupnya, kemudian ditambahkan dengan beberapa tetes pereaksi FeCl<sub>3</sub> 1%. Hasil positif fenolik ditunjukkan oleh terbentuknya warna hijau, biru, atau merah ungu sampai hitam (Harborne 1987).

**5.5. Identifikasi terpenoid.** Larutan uji sebanyak 2 mL diuapkan dalam cawan porselen. Residu dilarutkan dengan 0,5 ml kloroform, kemudian

ditambahkan 0,5 mL asam asetat anhidrat.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat sebanyak 2 mL kemudian ditambahkan melalui dinding tabung. Terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan menunjukkan adanya terpenoid (Tiwari *et al.* 2011).

## **6. Identifikasi kandungan senyawa ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas secara KLT.**

Sampel dilarutkan dengan menggunakan pelarutnya, kemudian ditotolkan pada plat silika gel GF<sub>254</sub>. Sebelumnya dilakukan optimasi fase gerak untuk menentukan fase gerak yang cocok. Plat dimasukkan dalam *chamber* yang berisi fase gerak kloroform: etil asetat: asam formiat (0,5: 9: 0,5). Kemudian dilakukan elusi sampai tanda batas. Deteksi bercak dilakukan dengan UV 254nm, UV 366nm, serta pereaksi semprot. Deteksi senyawa golongan fenolik menggunakan pereaksi semprot  $\text{FeCl}_3$  dengan hasil positif berupa bercak warna hijau kehitaman. Pereaksi semprot Sitroborat menunjukkan hasil positif berupa bercak kuning-kehijauan untuk deteksi senyawa flavonoid. Pereaksi semprot Lieberman-Burchard menunjukkan hasil positif berupa bercak hijau-biru untuk deteksi senyawa terpenoid, dan pereaksi Dragendorff menunjukkan hasil positif berupa bercak coklat jingga berlatar belakang kuning untuk deteksi senyawa alkaloid. (Marliana 2007; Harbone 1987)

## **7. Uji sitotoksik**

**7.1. Sterilisasi alat.** Alat-alat gelas yang akan digunakan harus berada dalam keadaan steril. Alat-alat tersebut dibungkus dengan kertas, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15-30 menit pada suhu 121<sup>0</sup>C.



**7.2. Sterilisasi LAF.** Sebelum tahap pengerjaan, dilakukan sterilisasi LAF dengan menyalakan lampu UV selama 15 menit sebelum digunakan kemudian pintu LAF ditutup. Selanjutnya, lampu UV dimatikan, pintu LAF dibuka, dihidupkan LAF dan permukaan LAF disterilkan dengan menyemprot etanol 70%.

**7.3. Pembuatan media komplet untuk sel T47D.** Serbuk media RPMI dilarutkan dengan akuabides steril kurang lebih 950 ml dalam *beaker glass* 1 L, tambahkan 2,2 gram natrium bikarbonat. Larutan tersebut diaduk dengan *stirrer* sampai larut. Lalu ditambahkan akuabides hingga volume larutan menjadi 1 L. Larutan dapar (1 M NaOH atau 1 M HCl) ditambahkan kedalamnya untuk menjaga pH larutan antara 7,2-7,4. Larutan disterilkan dengan penyaringan menggunakan filter polietilen sulfon 0,22  $\mu\text{m}$  ke dalam botol steril (lakukan di dalam LAF), disimpan dalam lemari es suhu 4<sup>0</sup>C dan diberi label. Hasil ini disebut media RPMI *stock*. Pembuatan media RPMI penumbuh dibuat dengan memasukkan 10 mL FBS, 2 mL antibiotika penisillin-streptomisin dan 0,5 ml *Fungizone* ke dalam botol duran volume 100 mL, kemudian ditambahkan media RPMI *stock* sampai 100 mL (sekitar leher botol).

**7.4. Pembuatan media komplet untuk sel vero.** Serbuk media M199 dilarutkan dengan akuabides steril kurang lebih 950 ml dalam *beaker glass* 1 L, tambahkan 2,2 gram natrium bikarbonat. Larutan tersebut diaduk dengan *stirrer* sampai larut. Lalu ditambahkan akuabides hingga volume larutan menjadi 1 L. Larutan dapar (1 M NaOH atau 1 M HCl) ditambahkan kedalamnya untuk menjaga pH larutan antara 7,2-7,4. Larutan disterilkan dengan penyaringan

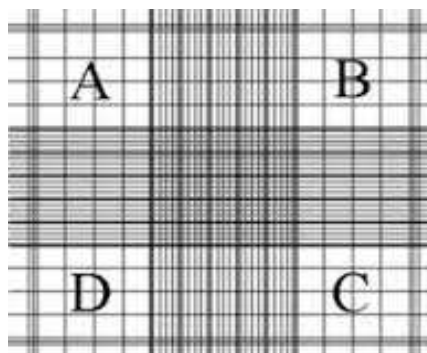
menggunakan filter polietilen sulfon 0,22  $\mu\text{m}$  ke dalam botol steril (lakukan di dalam LAF), disimpan dalam lemari es suhu 4<sup>0</sup>C dan diberi label. Hasil ini disebut media M199 *stock*. Pembuatan media M199 penumbuh dibuat dengan memasukkan 10 mL FBS, 2 mL antibiotika penisillin-streptomisin dan 0,5 ml *Fungizone* ke dalam botol duran volume 100 mL, kemudian ditambahkan media M199 *stock* sampai 100 mL (sekitar leher botol).

**7.5. Preparasi sampel** Sebanyak 10 mg sampel uji dilarutkan dengan 100  $\mu\text{L}$  DMSO dalam eppendrof, kemudian disimpan sebagai larutan stok untuk digunakan dalam pengujian. Pada tahap ini harus dilakukan secara aseptis di dalam LAF. Tiap jenis larutan stok kemudian dipipet 10  $\mu\text{L}$  kemudian ditambah 90  $\mu\text{L}$  media kultur sehingga konsentrasi akhir 100.000  $\mu\text{g/mL}$ , selanjutnya dibuat dalam variasi konsentrasi untuk sampel fraksi uji.

**7.6. Pengaktifan sel T47D.** Sel yang inaktif diambil dari tangki nitrogen cair dan segera dicairkan dalam *water bath* (suhu 37<sup>0</sup>C) kemudian vial disemprot dengan etanol 70%. Di dalam LAF, sel T47D dimasukkan dalam tabung *sentrifuge* lalu disentrifugasi dengan kecepatan 1200 rpm selama 10 menit. Supernatan dibuang, endapan yang terbentuk ditambah media penumbuh RPMI dengan FBS 10%. Selanjutnya sel ditumbuhkan dalam *culture flask* kecil dan diamati di bawah mikroskop untuk memperkirakan jumlah sel. Sel hidup kelihatan bulat, jernih, dan bersinar. *Flask* dimasukkan dalam inkubator beraliran CO<sub>2</sub> 5% pada suhu 37<sup>0</sup>C. Setelah 24 jam, medium diganti dan sel ditumbuhkan lagi hingga konfluen serta jumlahnya cukup untuk penelitian.

**7.7. Pengaktifan sel vero.** Sel yang inaktif diambil dari tangki nitrogen cair dan segera dicairkan dalam *water bath* (suhu  $37^{\circ}\text{C}$ ) kemudian suspensi sel dalam ampul, dimasukkan tetes demi tetes ke dalam PBS. Sentrifugasi pada 1200 rpm selama 10 menit, Supernatan dibuang, endapan yang terbentuk ditambah media penumbuh M199 dan resuspensi hingga homogen. Dipindahkan ke dalam wadah *flask* dan ditambahkan media penumbuh M199 sebanyak 5 ml.

**7.8. Pemanenan dan Perhitungan sel T47D.** Media dalam *culture flask* dibuang lalu dicuci dengan PBS (*phosphat buffer saline*) sebanyak 2 kali, kemudian ditambah 1 mL tripsin secara merata dan diinkubasi selama 3 menit. Setelah itu ditambahkan media  $\pm$  2-3 mL untuk menghentikan kerja tripsin, kemudian diresuspensikan sampai sel terlepas satu-satu (tidak menggerombol) dengan diamati pelepasan sel dari dasar *flask* dengan mikroskop. Resuspensi kembali jika masih ada sel yang menggerombol. Sel dipipet masuk ke *conical* steril, ditambah media penumbuh sebanyak 2-3 mL lalu diresuspensi sel dengan pipet. Panenan sel diambil sebanyak 10  $\mu\text{L}$  dan dipipetkan ke hemositometer, kemudian sel dihitung di bawah mikroskop *inverted*.



**Gambar 5. Bilik Haemositometer**

Hemositometer terdiri dari 4 kamar hitung (A, B, C, dan D). Setiap kamar hitung terdiri dari 16 kotak. Dihitung sel pada 4 kamar hemositometer, sel yang mati (gelap) dan sel yang berada di batas luar di sebelah atas dan di sebelah kanan tidak ikut dihitung. Sel di batas kiri dan bawah ikut dihitung. Perhitungan jumlah sel per mL dengan rumus :

$$\Sigma \text{sel/ml} = \frac{\Sigma \text{sel A} + \Sigma \text{sel B} + \Sigma \text{sel C} + \Sigma \text{sel D}}{4} \times 10^4$$

Dihitung volume panen sel yang diperlukan (dalam mL) dengan rumus : *volume pemanenan sel* =  $\frac{\text{jumlah total sel yang diperlukan}}{\text{jumlah sel terhitung/ml}} \times 10^4$

Diambil volume panen sel, ditransfer ke *conical* baru dan ditambahkan medium penumbuh sampai total volume yang diperlukan. Setelah itu jumlah suspensi sel yang harus diambil dan jumlah media yang harus ditambahkan dihitung untuk memperoleh konsentrasi sel sebesar  $10^4$  tiap sumuran. Setiap sumuran akan diisi 100  $\mu\text{L}$  media penumbuh berisi sel. Sel dibagi ke dalam *microplate* 96 sumuran, kemudian diinkubasi dalam inkubator  $\text{CO}_2$  5% ( $37^\circ\text{C}$ ) selama 24 jam untuk beradaptasi dan menempel di sumuran sampai sel siap untuk diberi perlakuan sampel fraksi air umbi bidara upas.

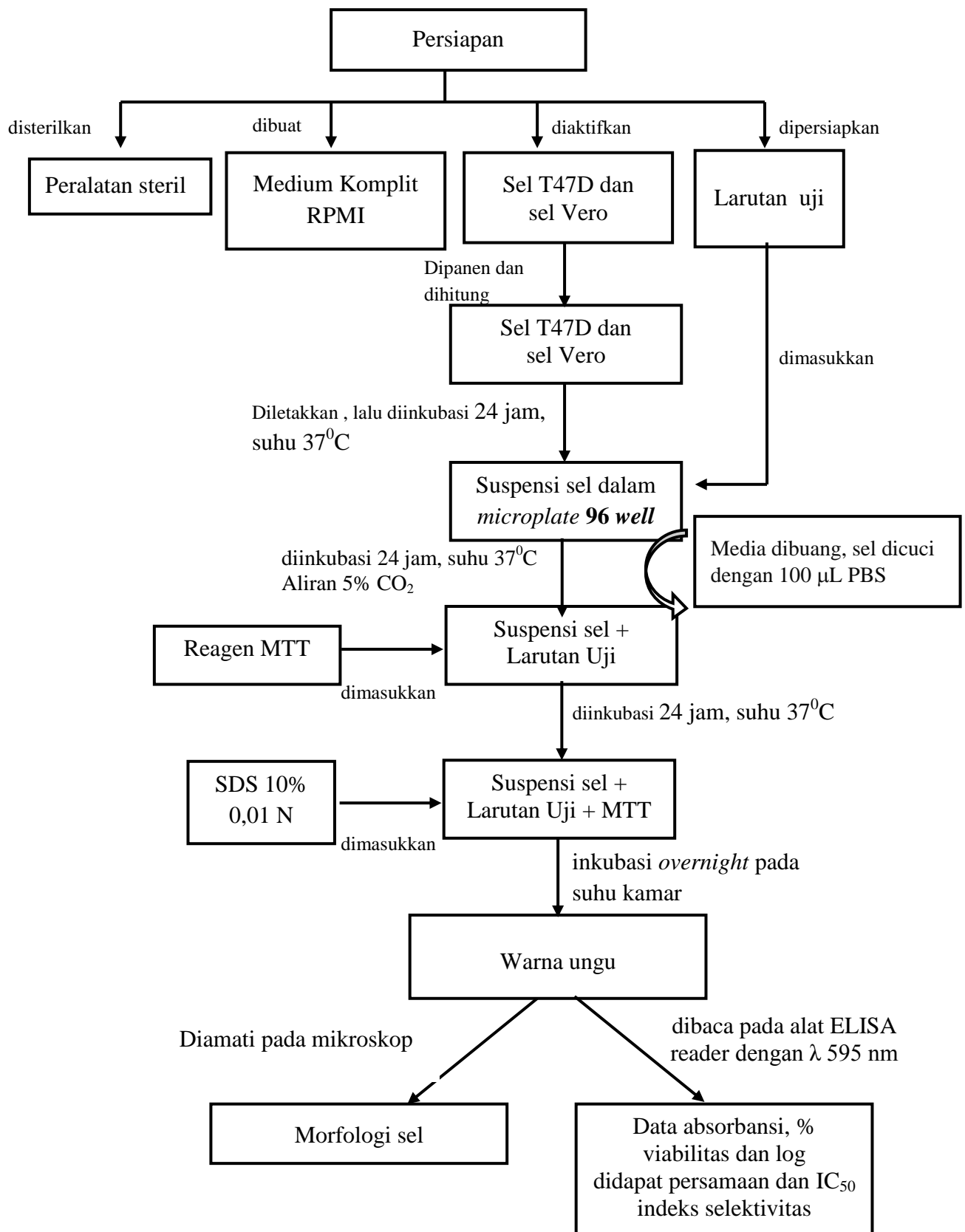
**7.9. Uji sitotoksik fraksi air umbi bidara upas.** Uji sitotoksik menggunakan *microplate* kultur jaringan 96 sumuran sebagai tempat uji. Sebanyak 100  $\mu\text{L}$  suspensi sel dalam media kultur RPMI dimasukkan ke dalam setiap sumuran, tiga kolom sumuran terakhir dibiarkan kosong untuk diisi kontrol media. Kemudian sel tersebut diinkubasi pada inkubator  $\text{CO}_2$  5% pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Setelah 24 jam, *microplate* dikeluarkan dari inkubator, lalu media

dibuang dengan cara plat yang berisi sel dibalik  $180^0$  untuk membuang sisa media. *Microplate* ditekan di atas tisu untuk meniriskan sisa cairan media. Sebanyak 100  $\mu\text{L}$  PBS dimasukkan kedalam semua sumuran berisi sel. PBS selanjutnya dibuang dengan cara membalikkan *microplate* kemudian ditekan diatas tisu untuk meniriskan sisa cairan PBS.

Sebanyak 100  $\mu\text{L}$  media mengandung sampel uji dengan seri konsentrasi yang telah dibuat dimasukkan ke dalam sumuran *microplate* sebanyak 3 kali ulangan. Sampel ekstrak dibuat seri konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625  $\mu\text{g/mL}$ ; sedangkan fraksi air dibuat seri konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625  $\mu\text{g/mL}$  dalam DMSO. *Microplate* kemudian diinkubasi didalam inkubator  $\text{CO}_2$  5% pada suhu  $37^0\text{C}$  selama 24 jam. Selanjutnya menyiapkan MTT (1 mg/mL) dengan cara mengambil sebanyak 1 mL stok MTT dalam PBS (10 mg/mL) kemudian diencerkan dengan menambahkan media kultur RPMI sebanyak 10 mL untuk satu buah 96 *well plate*.

*Microplate* dikeluarkan dari inkubator  $\text{CO}_2$  dan media kultur dibuang kembali, dicuci dengan PBS sebanyak 1 kali, kemudian ditambahkan 100  $\mu\text{L}$  MTT kedalam setiap sumuran termasuk kontrol media. Sel kemudian diinkubasi di inkubator  $\text{CO}_2$  5% pada suhu  $37^0\text{C}$  selama 4 jam. Periksa kondisi sel dengan mikroskop inverted, jika sudah terbentuk formazan warna ungu ditambahkan reagen *stopper* 100  $\mu\text{L}$  SDS 10% dalam 0,01 N HCl. *Microplate* kemudian dibungkus dengan kertas aluminium foil, diinkubasikan semalaman pada suhu kamar. Serapan dibaca dengan menggunakan alat ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm.

**7.10. Uji selektivitas terhadap sel vero.** Sel vero ditanam pada *microplate* dengan konsentrasi  $50 \times 10^4$  sel/100  $\mu$ l dan diinkubasi selama 24 jam untuk mendapatkan pertumbuhan yang baik. kemudian medium diganti dengan yang baru kemudian ditambahkan sampel ekstrak dalam DMSO pada konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,2; 15,6; 7,8  $\mu$ g/ml tiap sumuran dan diinkubasi pada  $37^{\circ}\text{C}$  dalam inkubator selama 24 jam. Setelah inkubasi, media dan ekstrak dibuang kemudian sel dicuci dengan PBS. Pada masing-masing sumuran, ditambahkan 100  $\mu$ l media kultur M199 dan 10  $\mu$ l MTT 1 mg/mL. Sel diinkubasi kembali selama 4-6 jam dalam inkubator  $\text{CO}_2$  5% pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Reaksi MTT dihentikan dengan reagen SDS 10% dalam HCl 0,01 N, *plate* dibungkus dan dibiarkan selama satu malam. Serapan dibaca dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm.



Gambar 6. Uji sitotoksik ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas.

## E. Analisa Data

### 1. Uji Sitotoksik

Hasil uji sitotoksik didapatkan data absorbansi kemudian dikonversikan ke dalam persen kehidupan sel dengan persamaan sebagai berikut:

$$\begin{aligned} & \% \text{ sel hidup} \\ &= \frac{(\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media})}{(\text{absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media})} \times 100\% \end{aligned}$$

Data persentase sel hidup diubah menjadi persentase kematian sel yang ditentukan dengan tabel probit. Analisa data dilanjutkan dengan menentukan regresi linear antara log konsentrasi sampel fraksi air umbi bidara upas dan persen kematian sel menggunakan *Microsoft Excel 2010*. Dibuat dalam persamaan:

$Y = bx + a$  dengan X sebagai log konsentrasi sampel uji ; y sebagai persen kematian sel. Hasil anti log x dengan  $y = 50\%$  dari persamaan di atas merupakan nilai  $IC_{50}$ .

### 2. Indeks Selektivitas

Nilai indeks selektivitas dapat dihitung dengan rumus berikut ini:

*indeks selektivitas* :  $\frac{IC_{50} \text{ Sel Vero}}{IC_{50} \text{ Sel kanker}}$ , dimana IS lebih dari 3 dinyatakan selektif

terhadap sel kanker T47D.



## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **1. Determinasi dan identifikasi tanaman**

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman yang meliputi ciri-ciri makroskopis dan mikroskopisnya yang digunakan untuk penelitian. Determinasi tanaman umbi bidara upas dilakukan di Laboratorium biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Hasil determinasi menyatakan tanaman yang digunakan dalam penelitian benar-benar *Meremia mammosa* (Lour.) Hall, F. dari famili Convolvulaceae.

#### **2. Pengumpulan, pengeringan bahan dan pembuatan serbuk**

Umbi bidara upas diperoleh dari daerah Grenggeng, Karanganyar, Kabupaten Kebumen pada bulan Mei 2016. Umbi yang digunakan adalah umbi yang berumur 9-12 bulan dengan kondisi baik. Umbi dibersihkan dari sisa tanah yang menempel dengan air mengalir. Berat basah umbi bidara upas yang diperoleh yakni 5,1 kg.

Perajangan umbi dilakukan untuk memperkecil ukuran umbi agar mempermudah dalam proses pengeringan. Umbi bidara upas dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C sampai kering. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam umbi sampai dibawah 10% supaya meminimalisir tumbuhnya mikroba dan kapang serta mencegah terjadinya proses enzimatik yang dapat merubah kandungan senyawa dan penurunan mutu selama proses penyimpanan

simplisia. Berat simplisia umbi bidara upas yang didapat yakni 1,2 kg, sehingga diketahui rendemen simplisia terhadap berat basah sebanyak 23,53%. Perhitungan rendemen berat kering terhadap berat basah dapat dilihat pada Lampiran 5.

**Tabel I Hasil rendemen berat kering terhadap berat basah umbi bidara upas**

Bobot basah (kg)	Bobot kering (kg)	Rendemen (%)
5,1	1,2	23,53

Simplisia umbi bidara upas selanjutnya diblender dan diayak menggunakan ayakan 40 *mesh*. Pengecilan ukuran simplisia mempunyai tujuan agar saat proses penyarian dapat menarik senyawa lebih maksimal karena luas permukaan simplisia yang kontak dengan pelarut semakin besar. Hasil organoleptis serbuk umbi bidara upas dapat dilihat pada Tabel II.

**Tabel II Hasil organoleptis serbuk umbi bidara upas**

Organoleptis	Hasil pengamatan
Bentuk	Serbuk kasar
Warna	Kuning kecoklatan
Bau	Khas umbi
Rasa	Hambar

### 3. Penetapan susut pengeringan serbuk umbi bidara upas

Penetapan susut pengeringan serbuk umbi bidara upas dengan menggunakan alat *moisture balance*. Penetapan susut pengeringan bertujuan untuk mengetahui seberapa besar kadar air yang terkandung dalam serbuk. Kontrol kualitas simplisia dapat dilihat dari susut pengeringan yang kurang dari 10%, hal ini mampu mencegah terjadinya reaksi enzimatik serta tumbuhnya kapang dan bakteri yang dapat menurunkan mutu simplisia. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk umbi bidara upas dapat dilihat pada Tabel III.

**Tabel III Hasil penetapan susut pengeringan serbuk umbi bidara upas.**

No.	Berat serbuk (gram)	Susut pengeringan (%)
1.	2,00	3%
2.	2,01	4%
3.	2,02	2%
Rata-rata $\pm$ SD		3% $\pm$ 1

Berdasarkan hasil di atas, serbuk umbi bidara upas memiliki rata-rata susut pengeringan sebesar 3%, hal tersebut menunjukkan bahwa serbuk umbi bidara upas memenuhi syarat pengeringan simplisia dan dapat dikatakan mutu terjamin selama penyimpanan.

#### **4. Hasil pembuatan ekstrak etanol dan fraksi air umbi bidara upas**

Metode ekstraksi umbi bidara upas yakni dengan menggunakan metode maserasi. Metode ini dilakukan agar mencegah rusaknya senyawa aktif yang termolabil terhadap pemanasan. Serbuk dimaserasi dalam wadah kaca yang gelap. Hal ini dikarenakan untuk menghindarkan dari sinar matahari langsung yang dapat merusak komponen senyawa. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan untuk mengurangi kejenuhan penyari sehingga proses penyarian berjalan maksimal. Maserat yang telah disaring, diuapkan dengan *rotary evaporator*, hingga diperoleh ekstrak kental. Penguapan dilakukan dibawah titik didih agar menjaga komponen senyawa aktif tidak rusak selama proses penguapan yang lama. Ekstrak kental yang diperoleh, sebanyak 57,456 gram dari 400 gram serbuk dan hasil rendemen sebesar 14,364%. Perhitungan rendemen ekstrak umbi bidara upas dapat dilihat pada Lampiran 5.

**Tabel IV Hasil pembuatan ekstrak etanol umbi bidara upas**

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
400	57,456	14,364

Fraksi air umbi bidara upas didapatkan dengan cara fraksinasi ekstrak etanol dengan menggunakan tiga macam pelarut yang berbeda kepolarannya, yaitu *n*-heksana, etil asetat, dan air. Fraksinasi dilakukan dengan metode partisi cair-cair pada corong pisah. Fraksinasi dimulai dari tingkat kepolaran rendah dengan tujuan agar proses pemisahan senyawa terjadi bertahap dan seluruh senyawa tidak ditarik oleh pelarut polar yang bersifat menarik semua senyawa. Hasil fraksi air umbi bidara upas yang didapat sebanyak 17,671 gram.

**Tabel V Hasil organoleptis fraksi air umbi bidara upas**

Organoleptis	Hasil pengamatan
Bentuk	Kental
Warna	Coklat tua
Bau	Khas
Rasa	Sedikit manis

**Tabel VI Hasil pembuatan fraksi air umbi bidara upas**

Bobot fraksi air (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
17,671	40	44,178

## 5. Identifikasi kandungan senyawa dalam ekstrak etanol umbi bidara upas

Identifikasi kandungan senyawa dalam umbi bidara upas dilakukan terhadap serbuk dan ekstrak umbi bidara upas menggunakan metode reaksi warna yang spesifik pada tabung reaksi. Identifikasi kandungan senyawa kimia bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang ada di dalam umbi bidara upas.

Identifikasi dilakukan dengan menambahkan serbuk dan ekstrak dengan pereaksi yang sesuai untuk menimbulkan perubahan yang spesifik yang menunjukkan adanya golongan senyawa tertentu. Hasil identifikasi kandungan senyawa umbi bidara upas dapat dilihat sebagai berikut.

**Tabel VII Hasil identifikasi kandungan senyawa serbuk dan ekstrak bidara upas**

No.	Kandungan senyawa	Hasil		Pustaka	Kesimpulan	
		Serbuk	Ekstrak		Serbuk	Ekstrak
1.	Fenolik	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	Terbentuk warna hijau, biru, merah, ungu, hitam	+	+
2.	Flavonoid	Kuning	Kuning	Terbentuk warna merah/jingga	-	-
3.	Tanin	Ada endapan	Ada endapan	Terbentuk endapan	+	+
4.	Alkaloid					
	Mayer	Tidak ada endapan	Tidak ada endapan	Endapan kuning	-	-
	Dragendorff	Endapan merah	Endapan merah	Endapan merah	+	+
5.	Terpenoid	Cincin coklat	Cincin coklat	Cincin ungu merah	+	+

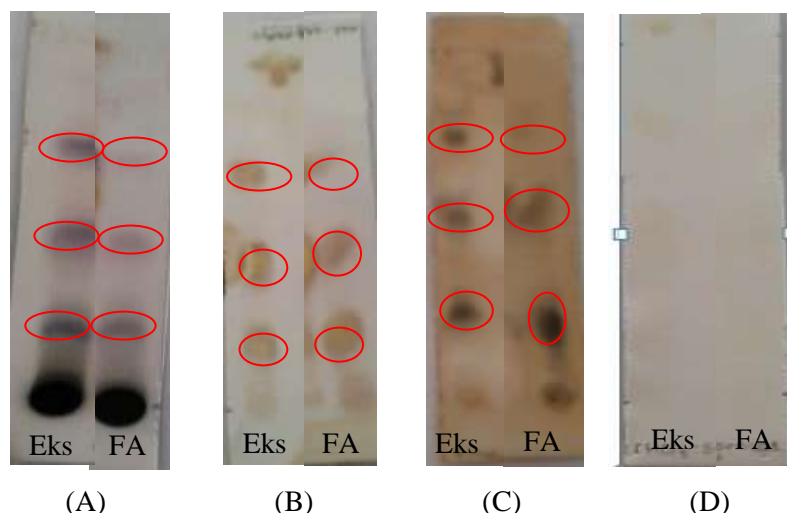
**Keterangan :**

(+) : mengandung senyawa

(-) : tidak mengandung senyawa

**6. Identifikasi kandungan senyawa fraksi air secara KLT.**

Identifikasi KLT bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terdapat pada fraksi air umbi bidara upas. Senyawa kimia yang diduga memberikan efek sitotoksik dari umbi bidara upas yakni senyawa golongan fenolik dan terpenoid (Jian *et al.* 2010; Pereda *et al.* 2009). Fase gerak yang digunakan untuk identifikasi semua senyawa dibuat sama yakni kloroform : etil asetat : asam format (0,5 : 9 : 0,5). Deteksi bercak dilakukan pada UV 254 nm, 366 nm, dan reagen semprot. Reagen semprot digunakan untuk memunculkan bercak yang spesifik pada masing-masing golongan senyawa antara lain, Liebermen-Burchad untuk senyawa terpenoid, Dragendorff untuk senyawa alkaloid, FeCl<sub>3</sub> untuk senyawa fenolik, dan sitroborat untuk senyawa flavonoid (Harbone 1987). Hasil identifikasi senyawa dengan KLT dapat dilihat pada Gambar 7 dan Tabel VIII.



**Gambar 7.** Profil KLT umbi bidara upas; (Eks) ekstrak , FA (Fraksi air); (A) Terpenoid → penyemprot Lieberman-Burchad, (B) Alkaloid → penyemprot Dragendorff, (C) Fenolik → penyemprot  $\text{FeCl}_3$ , (D) Flavonoid → penyemprot Sitroborat.

**Tabel 8.** Hasil pengujian KLT ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas

Kandungan Senyawa	Rf		Setelah disemprot	
	Ekstrak	Fraksi air	Ekstrak	Fraksi air
Terpenoid	0,17	0,17		
	0,42	0,42	Biru	Biru
	0,67	0,67		
Alkaloid	0,17	0,22		
	0,45	0,45	Coklat jingga berlatar belakang kuning	Coklat jingga berlatar belakang kuning
	0,67	0,68		
Fenolik	0,13	0,15		
	0,47	0,47	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman
	0,73	0,73		
Flavonoid	-	-	-	-

Dilihat dari nilai Rf dan banyaknya spot yang terbentuk menunjukkan bahwa kandungan senyawa pada fraksi air tidak jauh berbeda dengan ekstrak etanol umbi bidara upas. Identifikasi ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas menggunakan pereaksi semprot Lieberman-Burchad, keduanya terbentuk warna biru. Menurut Harborne (1987) reaksi positif berupa warna hijau-biru merupakan golongan senyawa terpenoid. Sedangkan hasil penapisan fitokimia ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas terhadap pereaksi  $\text{FeCl}_3$  memberikan warna hijau kehitaman yang mengindikasikan bahwa senyawa kimia berupa golongan

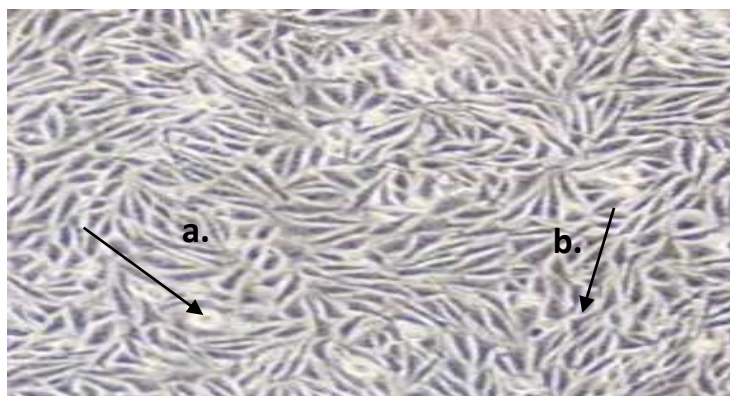
fenolik. Pada pereaksi dragendorff, bercak yang terbentuk berwarna coklat jingga berlatar belakang kuning, hal ini menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloid (Harborne 1987). Namun dengan pereaksi sitroborat menunjukkan hasil negatif untuk senyawa flavonoid, karena tidak terbentuk bercak berupa warna kuning-kehijauan di sinar tampak maupun sinar UV 366 nm (Wagner dan Bladt 1996). Hasil penapisan fitokimia membuktikan ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas mengandung senyawa golongan fenolik, alkaloid dan terpenoid.

## **7. Uji sitotoksik ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas**

Uji sitotoksik merupakan salah satu pengembangan metode untuk memprediksi keberadaan senyawa yang bersifat toksik pada sel yang merupakan syarat mutlak untuk obat-obat antikanker (Kurniajasanti *et al.* 2008). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak etanol dan fraksi air umbi bidara upas (*Meremia mammosa* (Lour) Hall. F.) secara in-vitro, serta mengetahui indeks selektivitas ekstraknya. Uji in-vitro dilakukan terhadap sel kanker payudara T47D dan sel vero.

Sel kanker payudara T47D merupakan sel yang sensitif terhadap agen kemoterapi dan memiliki kemampuan replikasi yang cepat sehingga sangat cocok digunakan untuk uji sitotoksik. Media penumbuh yang baik untuk sel T47D yaitu media RPMI 1640, sedangkan untuk sel vero yaitu M199. Media penumbuh mengandung *growth factor* yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel biakan. Selain itu media juga mengandung antibiotik streptomisin untuk menghindari terjadinya kontaminasi. Sel T47D ditumbuhkan pada media RPMI, kemudian dilakukan pemanenan dan pemberian tripsin. Pemberian tripsin bertujuan agar sel

terlepas dari dasar *flask*, sehingga sel dapat dilihat dengan jelas pada mikroskop saat perhitungan sel. Tripsin berperan sebagai enzim protease yang melepaskan interaksi antara molekul glikoprotein dan proteoglikan dengan permukaan flask, sehingga sel akan kehilangan kemampuannya untuk melekat pada permukaan flask (Doyle dan Griffiths 2000). Sel hidup berbentuk bulat dan bening dengan inti berbentuk bulat utuh ditengahnya, sedangkan sel yang mati memiliki bentuk yang tidak beraturan dan berwarna lebih gelap serta tidak memiliki inti. Berikut ini merupakan morfologi sel T47D sebelum mengalami perlakuan.



**Gambar 8. Morfologi sel T47D, (a) sel mati, (b) sel hidup**

Efek sitotoksik ekstrak etanol dan fraksi air umbi bidara upas terhadap sel kanker payudara T47D ditentukan melalui pengujian MTT (*Microtetrazolium*) didasari pada perubahan larutan reagen MTT yang berwarna kuning menjadi kristal formazan yang berwarna ungu (Mosmann 1983). Perubahan warna ini terjadi karena terbentuknya kristal formazan dalam mitokondria sel yang hidup melalui jalur respirasi. Potensi ketoksikan terhadap sel kanker T47D dihitung berdasarkan persentase viabilitas yang selanjutnya dicari  $IC_{50}$ nya.

Sampel yang digunakan yaitu ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas. Larutan stok sampel dibuat konsentrasi 100.000  $\mu\text{g/mL}$  dalam larutan DMSO.



DMSO digunakan sebagai pelarut karena dapat melarutkan senyawa polar dan non polar serta bersifat tidak toksik (Violante *et al.* 2002). Larutan stok sampel dibuat ke dalam berbagai seri konsentrasi, hal ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara peningkatan konsentrasi dengan efek proliferasi sel kanker. Kontrol negatif yaitu kontrol sel dan kontrol media.

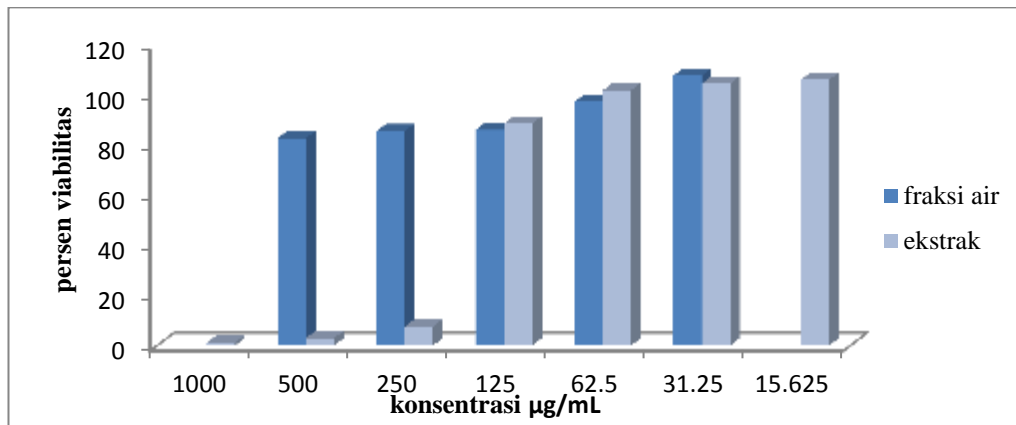
Pengamatan hasil uji sitotoksik dilihat di bawah mikroskop. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT menghasilkan kristal formazan yang berwarna biru keunguan. Penambahan SDS 10% sebagai *stopper* dapat mendenaturasi protein pada rantai polipeptida dan membentuk kompleks SDS-polipeptida, serta melarutkan dan mengekstraksi kristal formazan dari sel (Doyle dan Griffith 2000). Warna ungu kristal formazan dapat dibaca absorbansinya pada ELISA *reader* dengan panjang gelombang 595 nm, untuk melihat banyaknya sel hidup. Persentase (%) kematian sel nantinya yang digunakan untuk menghitung IC<sub>50</sub> dari ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas. Hasil persentase kematian ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas dapat dilihat pada Tabel IX.

**Tabel IX Hasil perhitungan persentase viabilitas ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas**

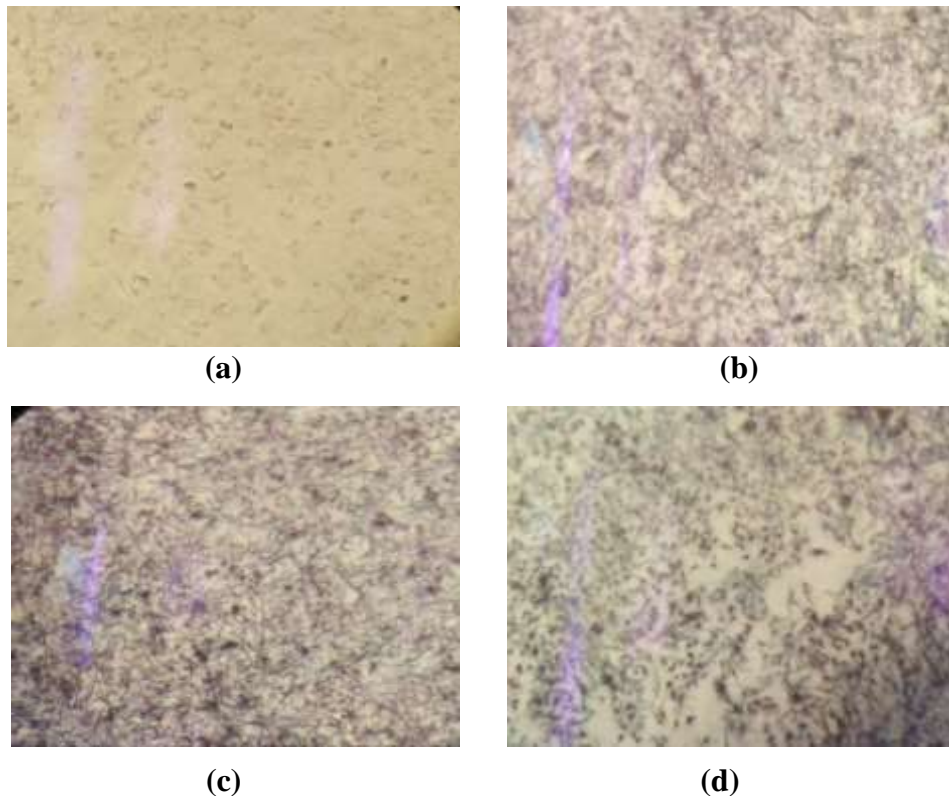
Konsentrasi (µg/mL)	% viabilitas	
	Ekstrak	Fraksi air
1000	1,109 ± 0,00	-
500	2,912 ± 0,00	82,593 ± 0,01
250	7,556 ± 0,01	85,447 ± 0,08
125	88,423 ± 0,03	85,976 ± 0,06
62,5	101,768 ± 0,04	97,181 ± 0,02
31,25	104,471 ± 0,01	107,646 ± 0,12
15,625	105,962 ± 0,08	-

Pada grafik hubungan konsentrasi fraksi air umbi bidara upas dengan persen hidup sel kanker T47D terlihat adanya penurunan jumlah sel hidup seiring dengan adanya peningkatan konsentrasi fraksi air umbi bidara upas. Hal ini

menunjukkan bahwa fraksi air umbi bidaraupas dapat menghambat proliferasi sel. Semakin tinggi konsentrasi sampel maka persen viabilitas sel kanker akan semakin kecil (CCRC 2009).



**Gambar 9.** Grafik hubungan konsentrasi fraksi air umbi bidaraupas dengan persen hidup sel kanker T47D



**Keterangan :** a. Ekstrak konsentrasi 1000 µg/mL  
 b. Ekstrak konsentrasi 15,625 µg/mL  
 c. Fraksi air konsentrasi 31,25 µg/mL  
 d. Fraksi air konsentasi 500 µg/mL

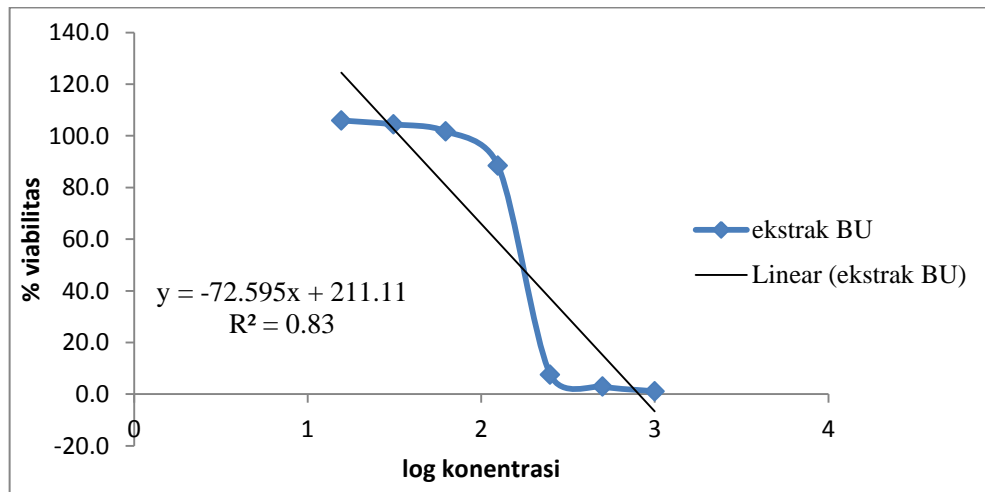
**Gambar 10.** Kristal formazan setelah perlakuan MTT

Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi fraksi air, kristal formazan yang terbentuk semakin sedikit, karena hanya sel yang hidup yang menghasilkan kristal formazan. Semakin kuat warna ungu yang terbentuk, maka semakin banyak MTT yang diabsorpsi dan dipecah oleh enzim reduktase dalam mitokondria sel, sehingga formazan semakin banyak dan absorbansi semakin tinggi (Sieuwerts 1995). Sel yang mati akan tetap berwarna kuning, hal ini dikarenakan pemecahan MTT dilakukan pada saat respirasi dalam mitokondria sel yang masih aktif.

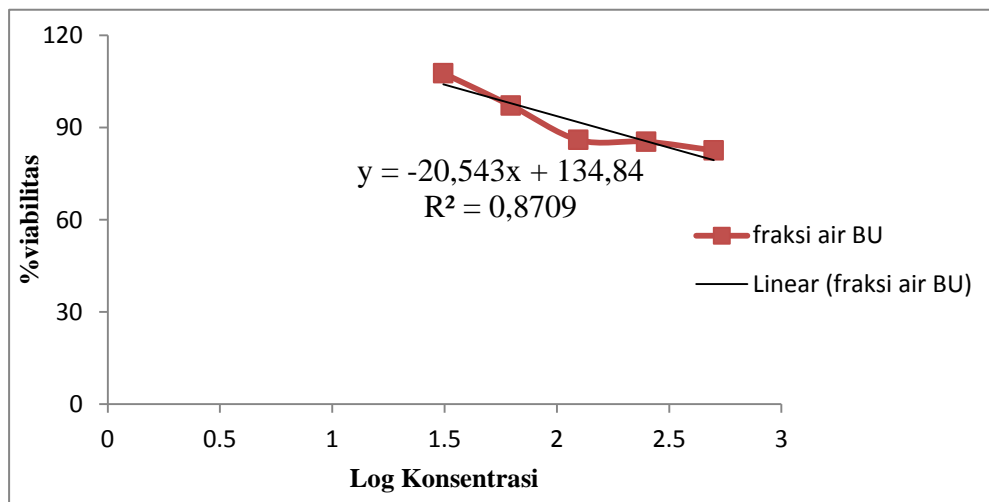
Pada penelitian ini, ekstrak etanol umbi bidara upas pada rentang konsentrasi 125 dan 250  $\mu\text{g/mL}$  terlihat perbedaan warna kuning dan ungu, hal tersebut membuktikan bahwa di atas konsentrasi 125  $\mu\text{g/mL}$  dapat menghambat proliferasi sel T47D, sedangkan pada fraksi air tidak menunjukkan adanya perbedaan warna di semua konsentrasi. Dengan demikian sel dinyatakan banyak yang hidup di semua konsentrasi fraksi air yang ditentukan dalam penelitian ini. Hasil ini dapat dilihat pada Lampiran 12.

Nilai  $IC_{50}$  ditentukan dengan perhitungan regresi linier antara log konsentrasi sampel dengan persen (%) viabilitas sel pada masing-masing seri konsentrasi. Nilai  $IC_{50}$  didapatkan dengan persamaan  $y = bx + a$ , untuk menentukan konsentrasi fraksi air umbi bidara upas yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker hingga 50%. Hasil pengujian ekstrak etanol umbi bidara upas didapatkan nilai  $r = 0,830$ ; sedangkan untuk fraksi air umbi bidara upas didapatkan nilai  $r = 0,8709$ . Nilai  $r$  merupakan nilai koefisien korelasi antara log konsentrasi dan

persen (%) viabilitas. Nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh merupakan hasil antilog nilai  $x$  dari persamaan tersebut.



**Gambar 11. Grafik hubungan log konsentrasi ekstrak etanol umbi bidara upas terhadap % viabilitas sel T47D**



**Gambar 12. Grafik hubungan log konsentrasi fraksi air umbi bidara upas terhadap % viabilitas sel T47D**

Berdasarkan data di atas nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol umbi bidara upas terhadap sel kanker payudara T47D adalah  $165,69 \mu\text{g/mL}$ , sedangkan  $IC_{50}$  fraksi air umbi bidara upas terhadap sel kanker payudara T47D adalah  $13.485,7 \mu\text{g/mL}$ . Menurut Mustarichie *et al.* (2011), suatu ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas

sitotoksik yang poten terhadap sel apabila memiliki  $IC_{50} < 100 \mu\text{g/ml}$ , dengan demikian pada penelitian ini ekstrak etanol dan fraksi air umbi bidara upas tidak memiliki aktivitas sitotoksik yang poten terhadap sel kanker payudara T47D.

Ekstrak etanol umbi bidara upas tidak memiliki efek sitotoksik yang poten terhadap sel kanker payudara T47D. Hal ini dikarenakan pada ekstrak, kandungan senyawa masih kompleks. Senyawa aktif yang bersifat sitotoksik memiliki kadar yang kecil, sehingga membutuhkan konsentrasi yang lebih tinggi lagi agar bisa menghambat pertumbuhan sel kanker. Nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol bidara upas masih bisa dipertimbangkan sebagai agen sitotoksik, bila dilakukan isolasi senyawa kimia yang lebih spesifik, terutama senyawa yang berperan terhadap aktivitas sitotoksik.

Pada fraksi air umbi bidara upas juga tidak memiliki efek sitotoksik yang poten terhadap sel kanker payudara T47D. Kemungkinan hal ini disebabkan karena senyawa aktif yang memiliki efek sitotoksik tidak banyak tertarik pada fraksi air. Pereda-Miranda *et al.* (2009) menyatakan bahwa senyawa pada famili convovulaceae yang diduga memiliki aktivitas sitotoksik yaitu glikosida resin. Aktivitas sitotoksik glikosida resin dikaitkan pada mekanisme membunuh sel target dengan cara permeabilizing membran sel untuk memprovokasi ketidakseimbangan dalam homeostasis seluler. Selain itu, senyawa yang diduga sebagai agen sitotoksik adalah senyawa golongan terpenoid. Secara kimia terpenoid bersifat non polar sehingga lebih banyak tertarik pada fraksi nonpolar (Harborne 1987). Terpenoid menginduksi apoptosis sel kanker melalui jalur apoptosis intrinsik. Selain itu, dilaporkan bahwa jalur intrinsik membutuhkan

gangguan membran mitokondria dan pelepasan protein mitokondria, seperti sitokrom-c. Sitokrom-c yang berada di dalam sitosol, bersama-sama dengan Apaf-1 mengaktifkan caspase-9, kemudian mengaktifkan caspase-3, yang nantinya akan berperan menginduksi apoptosis (Hasanuddin *et al.* 2015). Penelitian Jian *et al.* (2010) berhasil mengisolasi 8 senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas kemopreventif dan senyawa baru turunan asam salisilat SA 2-*O*- $\beta$ -D-(3',6'-dikafeoil)-glukopiranosid dalam *Merremia umbellata* yang memiliki genus yang sama dengan bidara upas (*Merremia mammosa* (Lour) Hall. F.)

Pada ekstrak etanol umbi bidara upas dilakukan pengujian sitotoksik terhadap sel vero untuk melihat indeks selektivitasnya. Indeks selektivitas merupakan parameter keamanan agen sitotoksik terhadap sel normal. Selektivitas agen kemopreventif artinya hanya sel yang diidentifikasi sebagai sel kanker saja yang diserang, sementara sel normal tidak diserang. Indeks selektivitas didapatkan dengan membandingkan nilai  $IC_{50}$  pada sel vero terhadap sel kanker. Nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol umbi bidara upas terhadap sel vero yakni 738,791  $\mu$ g/mL, sedangkan nilai  $IC_{50}$  ekstrak terhadap sel T47D yakni 165,69  $\mu$ g/mL. Indeks selektivitas yang didapat sebesar 4,46. Ekstrak dinyatakan memiliki selektivitas yang tinggi jika nilai indeks selektivitasnya lebih dari 3 (Lukman *et al.* 2014). Ekstrak etanol umbi bidara upas terbukti selektif bekerja pada sel T47D.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Kesimpulan**

1. Ekstrak umbi bidara upas tidak memiliki efek sitotoksik yang poten terhadap sel kanker payudara T47D dengan  $IC_{50}$  sebesar 165,69  $\mu\text{g/mL}$ .
2. Fraksi air umbi bidara upas tidak memiliki efek sitotoksik yang poten terhadap sel kanker payudara T47D dengan  $IC_{50}$  sebesar 13.485,7  $\mu\text{g/mL}$ .
3. Nilai indeks selektivitas ekstrak umbi bidara upas dari sel kanker payudara T47D terhadap sel vero sebesar 4,46.

#### **B. Saran**

1. Perlu dilakukan identifikasi senyawa aktif spesifik dalam umbi bidara upas yang berperan langsung untuk membunuh sel kanker, serta mekanismenya.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas sitotoksik umbi bidara upas terhadap jenis sel kanker yang lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- [ACS] American Cancer Society. 2015. *Cancer Facts & Figures 2015*. Atlanta: American Cancer Society.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Ed ke-4. Farida Ibrahim, penerjemah. Jakarta: UI Press.
- [BPOM RI] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2010. *Acuan Sediaan Herbal*. Edisi Pertama. Jakarta: Direktorat Obat Asli Indonesia.
- Brunner dan Suddarth. 1996. *Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah*. Edisi 8. Jakarta: EGC.
- Corwin E.J. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Edisi III. Subekti N B, penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. Terjemahan dari : Lippincott Williams & Wilkins.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Materia Medika Jilid III*. Jakarta: Depkes RI.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1987. *Analisis obat Tradisional. Jilid I*. Jakarta: Depkes RI.
- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Depkes RI.
- Dipiro TJ, Wells GB, Schwinghammer LT, dan Dipiro VC. 2015. *Pharmacotherapy Handbook*. Ed ke-9. United States of America: The McGraw-Hill Companies.
- Djamaan A *et al.* 2016. Extraction, fractionation and cytotoxicity test of *Merremia peltata* (L.) Merr., (Fam. Convolvulaceae) Leaves. *Der Pharmacia Lettre*, 8: 48-52.
- Dolinsky C dan Kayser CH. 2016. All About Breast Cancer. Korzeniowski KA, penyunting. Abrasom Cancer Center of the University of Pennsylvania. <http://www.oncolink.org/types/article.cfm?c=3&id=8320#diagnosed.html> [18 Maret 2016].
- Doyle A dan Griffiths JB. 2000. *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. New York: John Willey and Sons Ltd.



- Eich E. 2008. *Solanaceae and Convolvulaceae: Secondary Metabolites*. Berlin: Springer.
- Evans WC. 2009. *Trease and Evans Pharmacognosy*. Ed ke-16. 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 [Tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Fatma SW, Suci S, Yulfri A. 2011. Uji efek sitotoksik ekstrak etanol kulit buah asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap sel kanker payudara T47D dengan metoda MTT assay. *J Sains Tek Far* 16: 209-215.
- Foster JS, Henley DC, Ahamed S, dan Wimalasena J. 2001. Estrogens and daur sel regulation in breast cancer. *Trends in Endocrinology & Metabolism* 12: 320-327.
- Freshney RI. 2010. *Culture of Animal Cells : A Manual of Basic Technique*. New York : John Willey & sonc. Inc Publication.
- Gertz J. 2010. *Cell growth protocol for T-47D cell line*. HudsonAlpha/Caltech ENCODE group.
- Golstein P, dan Kroemer G. 2006. Cell death by necrosis: Towards a molecular defenition. *Trends in Biochemical Sciences* 32: 37-43.
- Goncalves JLS *et al.* 2005. In vitro anti-rotavirus activity of some medicinal plants used in Brazil against diarrhea. *J Ethnopharmacol*: 99, 403-407
- Gritter RJ, Bobbitt JM, dan Schwarting AE. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Gunawan D dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid 1*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokomia : Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Padmawinata K dan Soediro I, penerjemah. Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari *Phytochemical methods*.
- Hassanuddin *et al.* 2015. Potential of terpenoid bioactive compound isolated from papua ant nest an alternative ovarian cancer treatmen. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology*, 5 : 406-411.
- Hayani E dan Sukmasari M. 2005. Teknik pemisahan komponen ekstrak purwoceng secara kromatografi lapis tipis. *Buletin Teknik Pertanian* 10: 1-3.
- Hidayat FK, Elfiah U, dan Sofiana KD. 2015. Perbandingan jumlah makrofag pada luka insisi *full thickness* antara pemberian ekstrak umbi bidara upas

- dengan NaCl pada tikus wistar jantan. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences* 1: 9-13.
- [KEMENKES RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2015a. *Situasi penyakit kanker*. Jakarta: Depkes RI.
- [KEMENKES RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2015b. *Pusat data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI*. Jakarta: Kemenkes RI.
- Kintzios SE dan Barberaki MG. 2005. *Plant That Fight Cancer*. United States of America : CRC Press LLC.
- Kitagawa I *et al.* 1996. Indonesian medicinal plant XV chemical structure of five new resin-glycosides, Merremosides a,b,c,d, and e, from the tuber of *Merremia mammosa* (Convolvulaceae). *Chem pharm bull* 44: 1680-1692.
- Kresno SB. 2012. *Ilmu Dasar Onkologi*. Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Edisi ke-7. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kupcsik L dan Stoddart MJ. 2011. *Mammalian Cell Viability: Methods and Protocols*. New York: Humana Press. Hal. 13-18
- Kurniajasanti R, Hamid, IS, Rahmawati K. 2008. Efek sitotoksik *in-vitro* dari ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap kultur sel kanker mieloma. *J Peneliti Med Eksakta* 7: 48-54.
- Lukman M, Wahyudin E, Subehan, Manggau MA. 2014. Cytotoxic effect of four Makassarese medical plants on human cervical cell lines and its selectivity. *J Chem Pharm Res* 6: 851-855.
- Lubis NL. 2009. *Dukungan Sosial pada Pasien Kanker, perlukah?*. Medan: USU Press.
- Marliana E. 2007. Analisis senyawa metabolit sekunder dari batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll&Moritzi) Benth yang berfungsi sebagai antioksidan. *J Penelitian MIPA* 1: 23-29.
- Mosmann. 1983. *Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assay*, Inc. USA: DNA X Research Intitute of Molekular and Cellular Biology.
- Mustarichie E, Udin Z, Levita J, Musfiroh I, dan Zulfricar I. 2011. Activity Of leaf extracts of *Coix Lachryma* Linn. and *Asparagus Cochinchinensis* Linn. as breast anticancer drugs. *MHSJ* 9: 47-57.
- Mutschler E. 1999. *Dinamika Obat*. Ed. V. Bandung: ITB Press.

- Pereda-Miranda R, Villatoro-Vera R, Bah M, dan Lorence A. 2009. Pore-forming activity of morning glory resinglycosides in model membranes. *Rev Latinoamer Quim* 37: 144-154.
- Prasetyo dan Inorah E. 2013. *Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan*. Bengkulu : Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB.
- Purushoth PT, Panneerselvam P, Selvakumari S, Udhumansha U, Shantha A. 2012. Anticancer activity of *Merremia Emarginata* (Burm.F) against humancervical and breast carcinoma. *Ijrdpl* 1: 189-192.
- Rang H, Dole M, Ritter, dan Moore. 2003. *Pharmacology*. Edisi 5. New York: Churchill Livingstone.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Padmawinata K, penerjemah. Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *The Organic Constituen of Hinger Plans*.
- Sastroamidjojo AS. 2001. *Obat Asli Indonesia*. Jakarta: Dian Rakyat
- Setyowati R dan Lasmadiwati E. 2003. *Bidara Upas*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Shadine. 2012. *Penyakit Wanita*. Yogyakarta: Citra Pustaka.
- Sinko PJ. 2011. *Physical Chemical and Biopharmaceutical Principles in the Pharmaceutical Science*. 6th Ed. China: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business.
- Sukardja IDG. 2000. *Onkologi Klinik edisi 2*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Sudewo B. 2012. *Basmi Kanker dengan Herbal*. Jakarta: Visi Media
- Suryo. 2007. *Genetika Manusia*. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta.
- Sieuwerths AM *et al*. 1995. The MTT Tertazolium Salt Assay Scrutinized: How to Use this Assay Reliably to Measure Metabolic Activity of Cell Cultures in vitro for the Assessment of Growth Characteristics, IC50-Values and Cell Survival. *Eur J Clin ChemBiochem* 33: 813-823.
- Tiwari P, Kumar B, Kawur H, Kawur G. 2011. Phytovcemical Screening and extraxtion. Review. *Internationae Pharmaceutical Sciensia* 1: 98-106.
- Utami P. 2013. *Umbi Ajaib Tumpas Penyakit*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Wagner H dan Bladt S. 1996. *Plant Drug Analysis: A thin Chromatography Atlas 2<sup>nd</sup> Edition*. New York : Springer.
- Violante G *et al*. 2002. Evaluation of the cytotoxicity effect od dimethyl sulfoxide (DMSO) on Caco2/TC7 colon tumor cell cultures. *Biol Pharm Bull* 25: 1600-3.

- Voigt R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V. Soewandhi SN, Widiyanto MB, penerjemah. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada. Terjemahan dari : *Lehrbuchder Pharmazeutischen Technologie*.
- Wahyuni FS, Sutma S, dan Aldi Y. 2011. Uji efek sitotoksik ekstrak etanol kulit buah asam kandis (*Garcinia Cowa Roxb.*) terhadap sel kanker payudara T47D dengan metoda *MTT (Microtetrazolium) Assay*. *J Sains Tek Far* 16: 209-215.
- Yan J, Bi HH, Liu YZ, Zhang M, Zhou ZY, dan Tan JW. 2010. Phenolic compounds from *Merremia umbellata* subsp. *Orientalis* and their allelopathic effects on arabisidopsis seedgermination. *Molecules* 14: 8241-8250.
- Zulkarnain Z. 2015. Dasar terapi tumor dan kanker di rumah riset jamu “Hortus Medicus” Tawangmangu. *CDK-234* 42: 858-861.

## Lampiran 1 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/274/M/05/07

13 Juli 2016

Hal : Ijin Penelitian.

Kepada Yth. : SANTI NUR ERMAWATI  
 Fakultas Farmasi  
 Universitas Setia Budi Surakarta

Dengan hormat,

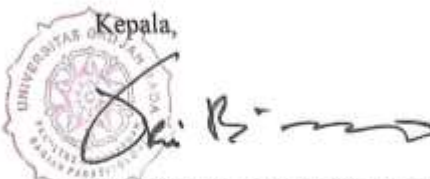
Menanggapi surat saudara tertanggal 13 Mei 2016 tentang ijin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Parasitologi yang berjudul:

“UJI SITOTOKSIK FRAKSI AIR 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 2 Surat keterangan kelayakan etik penelitian



**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 : 397/ 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 AIR UMBI BIDARA UPAS (MERREMIA MAMMOSA (LOUR)  
HALL.F.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D

Principal investigator : Santi Nur Ermawati  
Peneliti Utama 18144364A

Location Of Research : FK UGM  
Lokasi Tempat Penelitian

**Is ethically approved**  
Dinyatakan laik etik

Issued on : 04 Mei 2016

Chairman  
Ketua



Dr. Hari Wujoso, dr., Sp.F, MM†  
NIP. 19621022 199503 1 001



## Lampiran 3 Surat keterangan hasil determinasi



**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* Chois.

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 : Convolvaceae  
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 : Convolvaceae  
Genus : Merremia  
Species : *Merremia mammosa* (Lour.) Haller f.

**Sinonim** : *Batatta mammosa* Rumph.  
*Convolvulus 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 4. Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian



Pengeringan umbi bidara upas



Daun dan umbi Bidara upas



Penetapan susut pengeringan



Chamber Maserasi



Serbuk umbi bidara upas



Ekstrak etanol umbi bidara upas



Fraksinasi



Fraksi air umbi bidara upas



Oven



Chamber KLT



Inkubator



Mikroskop Inverted



Mikropipet



Larutan Stok Media RPMI



Penghitung sel



Haemocytometer



Tripsin, antibiotik, fungizone



LAF

## Lampiran 5. Perhitungan persen rendemen

## a. Rendemen bobot kering terhadap bobot basah

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (%)
5,1	1,2	23,53

$$\% \text{ b/b} = \frac{\text{bobot kering}}{\text{bobot basah}} \times 100\%$$

$$\% \text{ b/b} = \frac{1,2 \text{ kg}}{5,1 \text{ kg}} \times 100\%$$

$$\% \text{ b/b} = 23,53\%$$

## b. Rendemen ekstrak umbi bidara upas

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
400	57,456	14,364

$$\% = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{berat serbuk}} \times 100\%$$

$$\% = \frac{57,456}{400} \times 100\%$$

$$\% = 14,364 \%$$

## c. Rendemen fraksi air umbi bidara upas terhadap ekstrak kental

Bobot fraksi air (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
17,671	57,456	44,178

$$\% = \frac{\text{Berat fraksi air}}{\text{berat ekstrak kental}} \times 100\%$$

$$\% = \frac{17,671 \text{ gram}}{40 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$\% = 44,178\%$$

Lampiran 6. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk umbi bidara upas

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk umbi bidara upas adalah:







No.	Berat serbuk (gram)	Susut pengeringan (%)
1.	2,00	3%
2.	2,01	4%
3.	2,02	2%
Rata-rata		3%





$$\text{Rata - rata susut pengeringan} = \frac{3+4+2}{3}$$

$$= 3 \%$$

Hasil rata-rata penetapan susut pengeringan serbuk umbi bidara upas (*Meremia mammosa* (Lour) Hall.f.) adalah 3 % sehingga memenuhi syarat yaitu kurang dari 10%.

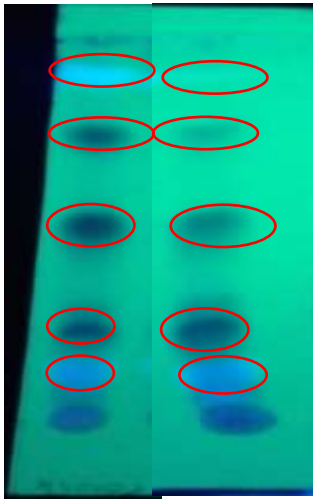
## Lampiran 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa pada ekstrak

No	Senyawa	Serbuk	Ekstrak
1.	Alkaloid (Dragendrof)  (Mayer)		
2.	Fenolik		
3.	Flavonoid		

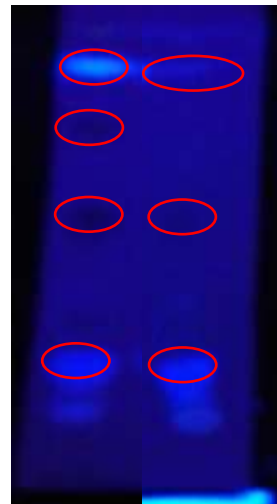
4.	Terpenoid		
5.	Tanin		



Lampiran 8. Hasil KLT ekstrak dan fraksi umbi bidara upas.



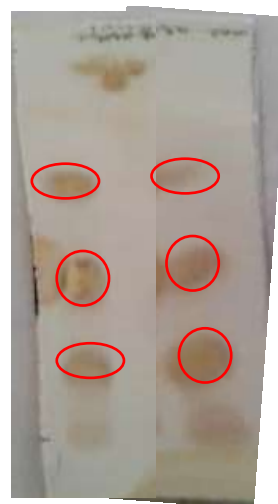
Penampakan pada UV 254



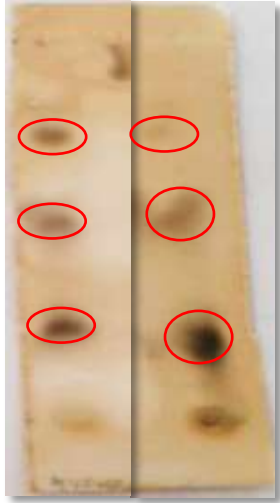
Penampakan pada UV 366



Disemprot Lieberman-Burchad  
untuk identifikasi terpenoid



disemprot Dragendroff untuk  
identifikasi alkaloid



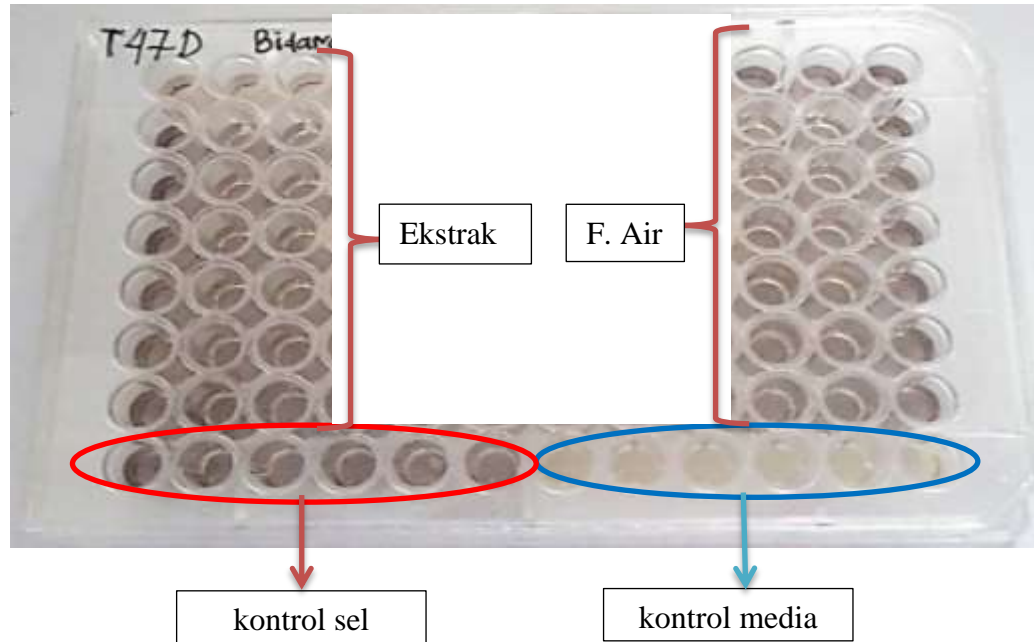
disemprot  $\text{FeCl}_3$  untuk  
identifikasi senyawa fenolik



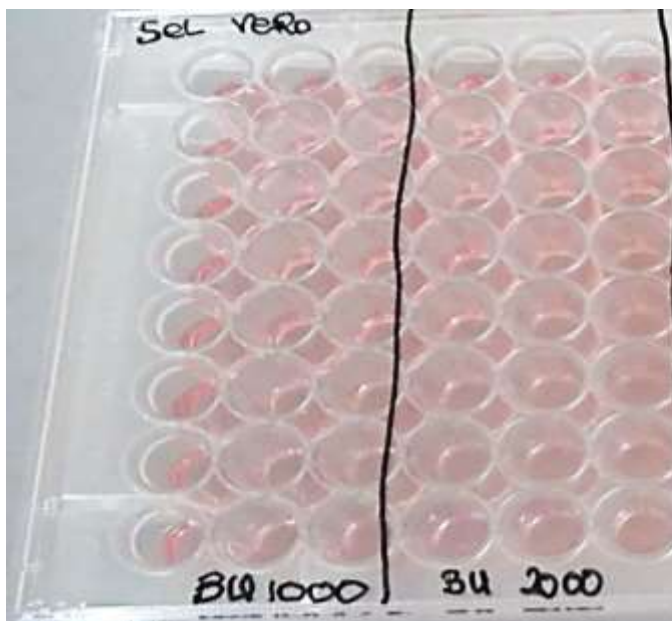
disemprot Sitroborat untuk  
identifikasi senyawa flavonoid

## Lampiran 9. Pola microplate uji MTT

## A. Sel T47D



## B. Sel Vero



Lampiran 10. Perhitungan volume pemanenan sel yang diperlukan

A. Jumlah sel T47D terhitung/mL

$$\sum sel/mL = \frac{\sum sel A + \sum sel B + \sum sel C + \sum sel D}{4} \times 10^4$$

$$\frac{\sum sel}{mL} = \frac{407}{4} \times 10^4 = 101,75 \times 10^4/mL$$

Volume jumlah panen sel yang ditransfer (ada 100 sumuran)

$$\text{Volume pemanenan sel} = \frac{\sum total sel yang diperlukan}{\sum sel terhitung/mL}$$

$$\text{Volume pemanenan sel} = \frac{100 \times 10^4}{101,75 \times 10^4} = 0,98 \text{ mL}$$

B. Jumlah sel vero terhitung/mL

$$\sum sel/mL = \frac{\sum sel A + \sum sel B + \sum sel C + \sum sel D}{4} \times 10^4$$

$$\sum sel/mL = \frac{252}{4} \times 10^4 = 63 \times 10^4/mL$$

Volume jumlah panen sel yang ditransfer (ada 100 sumuran)

$$\text{Volume pemanenan sel} = \frac{\sum total sel yang diperlukan}{\sum sel terhitung/mL}$$

$$\text{Volume pemanenan sel} = \frac{100 \times 10^4}{63 \times 10^4} = 1,59 \text{ mL}$$

Lampiran 11. Perhitungan pembuatan larutan stok dan seri larutan sampel

A. Pembuatan larutan stok

Sampel ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas masing-masing ditimbang 10mg dilarutkan dalam 100 $\mu$ L DMSO, sehingga didapatkan konsentrasi larutan stok 10mg/100 $\mu$ L

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

B. Pembuatan seri konsentrasi larutan sampel

Dari larutan stok diambil untuk konsentrasi 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$

1. Konsentrasi 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 1 \text{ ml} \times 500 \mu\text{g}/\text{mL} &= V_2 \times 100.000 \mu\text{g}/\text{mL} \\ V_2 &= 5 \mu\text{l larutan stok} + 995 \mu\text{l MK} \end{aligned}$$

2. Konsentrasi 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 1 \text{ ml} \times 250 \mu\text{g}/\text{mL} &= V_2 \times 500 \mu\text{g}/\text{mL} \\ V_2 &= 500 \mu\text{l lar. konsentrasi } 500 \mu\text{L} + 500 \mu\text{L MK} \end{aligned}$$

3. Konsentrasi 125  $\mu\text{g}/\text{mL}$

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 1 \text{ ml} \times 125 \mu\text{g}/\text{mL} &= V_2 \times 250 \mu\text{g}/\text{mL} \\ V_2 &= 500 \mu\text{l lar. konsentrasi } 250 \mu\text{L} + 500 \mu\text{L MK} \end{aligned}$$

4. Konsentrasi 62,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ 1 \text{ ml} \times 125 \mu\text{g}/\text{mL} &= V_2 \times 250 \mu\text{g}/\text{mL} \\ V_2 &= 500 \mu\text{l lar. konsentrasi } 125 \mu\text{L} + 500 \mu\text{L MK} \end{aligned}$$

5. Konsentrasi 31,25  $\mu\text{g/mL}$ 

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$1 \text{ ml} \times 31,25 \mu\text{g/mL} = V_2 \times 62,5 \mu\text{g/mL}$$

$$V_2 = 500 \mu\text{l lar. konsentrasi } 62,5 \mu\text{L} + 500 \mu\text{L MK}$$

6. Konsentrasi 15,625  $\mu\text{g/mL}$ 

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$1 \text{ ml} \times 15,6 \mu\text{g/mL} = V_2 \times 31,25 \mu\text{g/mL}$$

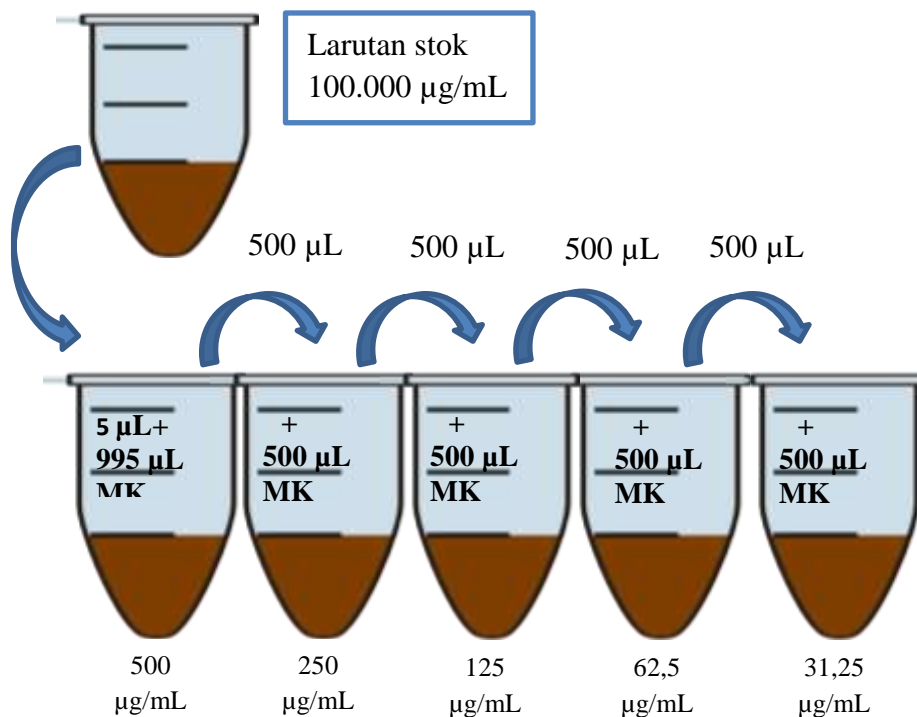
$$V_2 = 500\mu\text{L lar. konsentrasi } 31,2 \mu\text{L} + 500 \mu\text{L MK}$$

7. Konsentrasi 7,8125  $\mu\text{g/mL}$ 

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$2 \text{ ml} \times 7,8 \mu\text{g/mL} = V_2 \times 15,625\mu\text{g/mL}$$

$$V_2 = 500\mu\text{L lar. konsentrasi } 15,6 \mu\text{L} + 500 \mu\text{L MK}$$

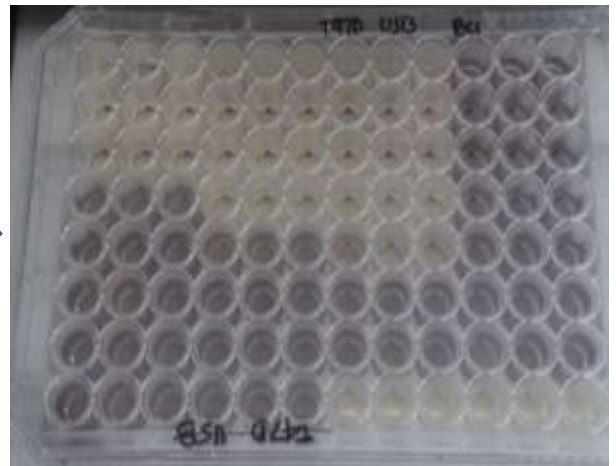


## Lampiran 12. Pengujian MTT

## a. Sel T47D

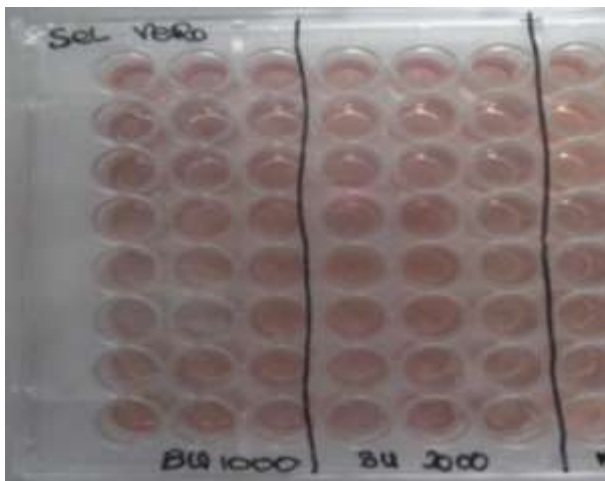


Setelah pemberian ekstrak

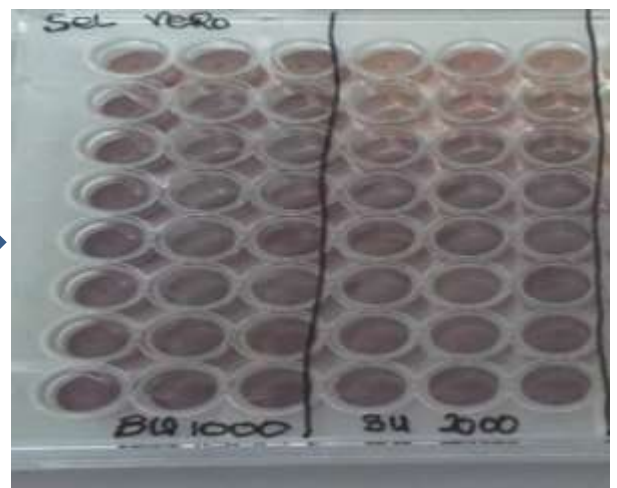


Setelah pemberian MTT

## c. Sel Vero



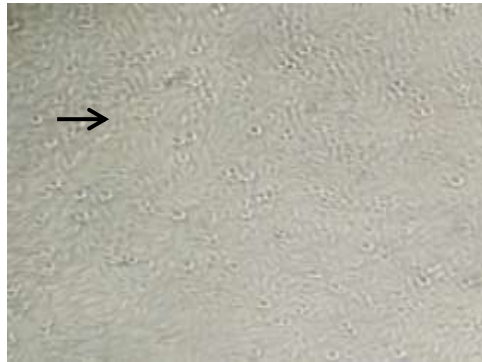
Setelah pemberian ekstrak



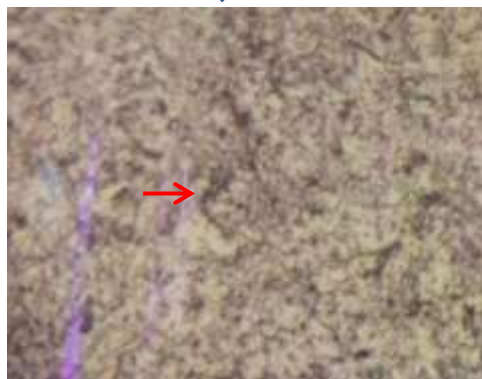
Setelah pemberian MTT

## Lampiran 13. Gambar Kristal formazan

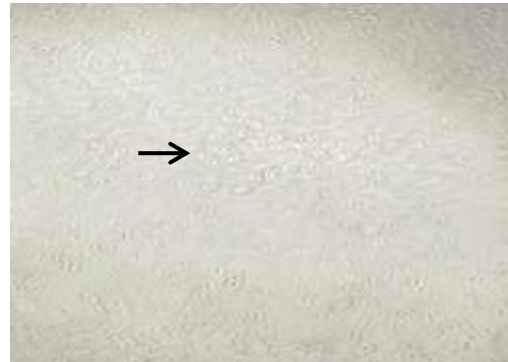
## a. Ekstrak etanol umbi bidara upas



Sebelum MTT  
15,625  $\mu\text{g/mL}$   
→ Sel hidup lebih banyak



Sesudah MTT  
15,625  $\mu\text{g/mL}$   
→ kristal formazan



Sebelum MTT  
1000  $\mu\text{g/mL}$   
→ Sel hidup lebih sedikit



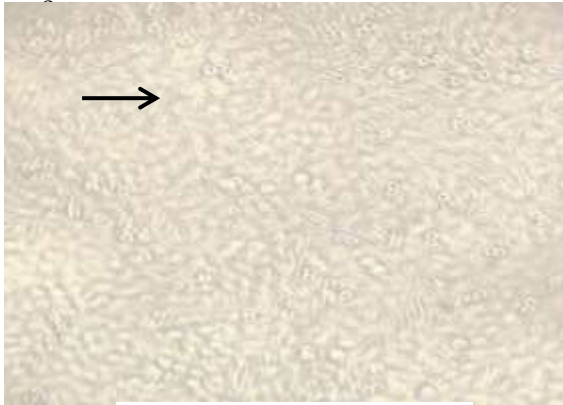
Sesudah MTT  
1000  $\mu\text{g/mL}$   
Tidak terbentuk kristal formazan



Kontrol sel sebelum MTT



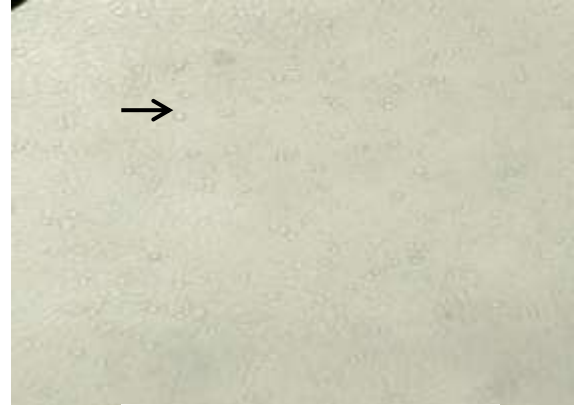
## b. Fraksi air umbi bidara upas



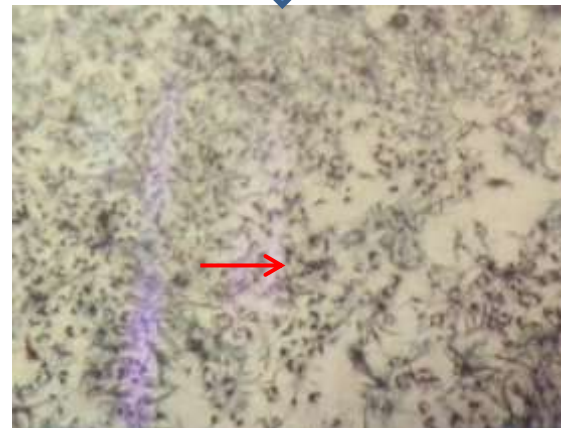
Sebelum MTT  
31,25 µg/mL  
Sel hidup lebih banyak



Sesudah MTT  
31,25 µg/mL  
→ Kristal formazan lebih banyak



Sebelum MTT  
500 µg/mL  
Sel hidup lebih sedikit

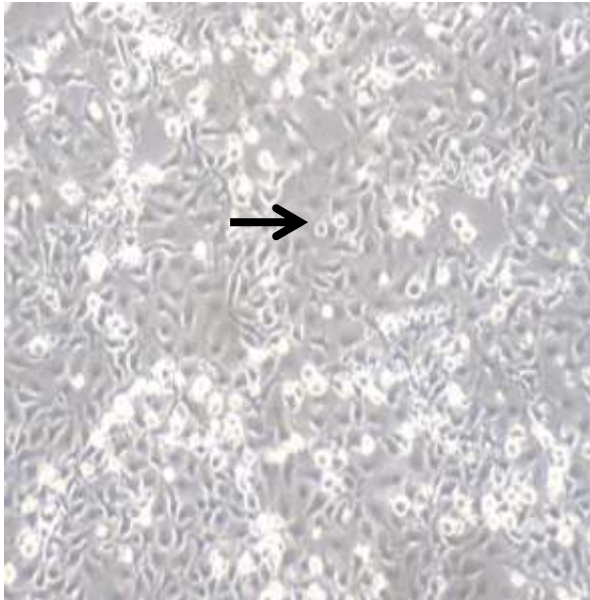


Sesudah MTT  
500 µg/mL  
→ Kristal formazan lebih sedikit

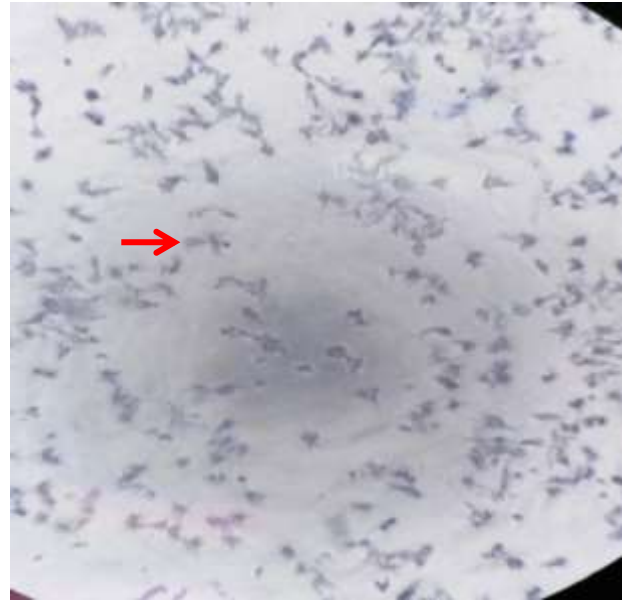


Kontrol sel sebelum MTT

C. Ekstrak umbi bidara upas pada sel vero



Sebelum MTT  
Sel hidup  
→



Sesudah MTT  
Kristal formazan  
→

Lampiran 14. Hasil perhitungan IC<sub>50</sub> ekstrak dan fraksi air umbi bidara upas

## A. Ekstrak umbi bidara upas terhadap sel T47D

C (µg/mL)	Log C	A	KS	KM	$\bar{x}KS - \bar{x}KM$ (x)	$\frac{A}{\bar{x}KM}$ (y)	%viabilitas $(\frac{y}{x} \times 100\%)$
1000	3	0,102	1,042	0,089		0,03	1,109
500	2,699	0,119	1,089	0,090		0,028	2,912
250	2,398	0,164	1,027	0,094		0,073	7,556
125	2,097	0,941			0,959	0,085	88,423
62,5	1,796	1,070	Rerata	Rerata		0,979	101,768
31,25	1,496	1,096	1,05	0,091		1,005	104,471
15,625	1,194	1,110				1,019	105,962

Keterangan : C = Konsentrasi fraksi air umbi bidara upas  
 Log C = Log konsentrasi  
 A = Absorbansi  
 $\bar{X}KS$  = Rata-rata kontrol sel  
 $\bar{X}KM$  = Rata-rata kontrol media

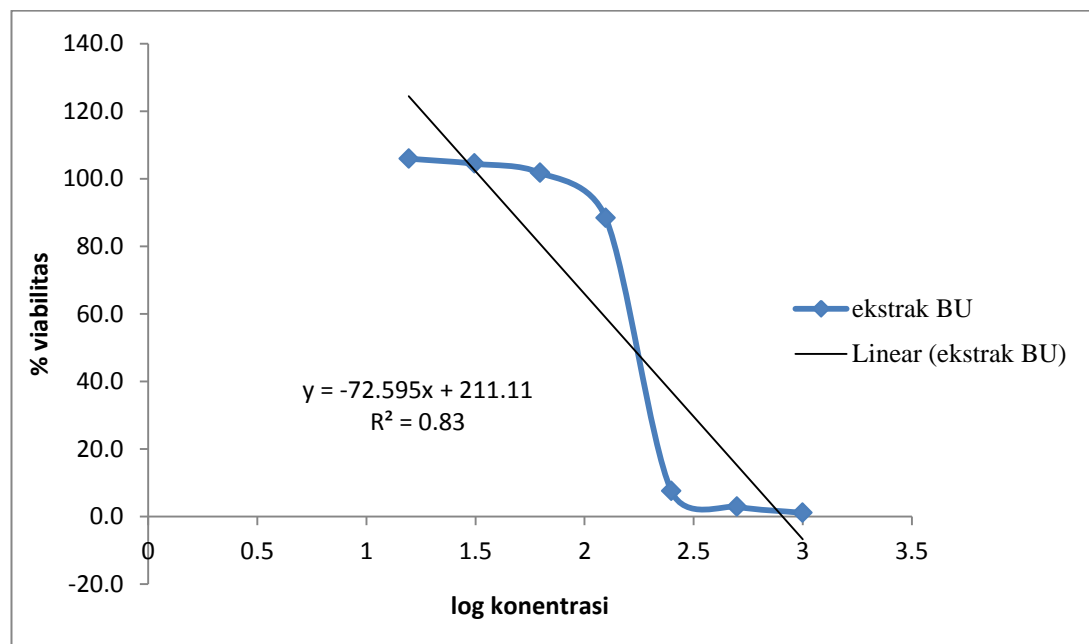
$$\text{Persamaan } y = -72,595x + 211,11$$

$$IC_{50} \rightarrow 50 = -72,595x + 211,11$$

$$-161,11 = -73,12x$$

$$X = 2,219$$

$$IC_{50} \rightarrow \text{antilog } 2,219 = 165,69 \mu\text{g/mL}$$



## B. Fraksi air umbi bidara upas terhadap sel T47D

C ( $\mu\text{g/mL}$ )	Log C	A	KS	KM	$\bar{x}\text{KS} - \bar{x}\text{KM}$ (x)	A- $\bar{x}\text{KM}$ (y)	%viabilitas ( $\frac{y}{x} \times 100\%$ )
500	2,69897	0,888	1,089	0,104		0,781	82,59338
250	2,39794	0,915	1,027	0,114		0,808	85,4475
125	2,09691	0,92	1,042	0,102	0,943	0,813	85,97604
62,5	1,79588	1,026	Rerata	Rerata		0,919	97,18111
31,25	1,49485	1,125	1,05	0,107		1,018	107,6462

Keterangan : C = Konsentrasi fraksi air umbi bidara upas  
 Log C = Log konsentrasi  
 A = Absorbansi  
 $\bar{x}\text{KS}$  = Rata-rata kontrol sel  
 $\bar{x}\text{KM}$  = Rata-rata kontrol media

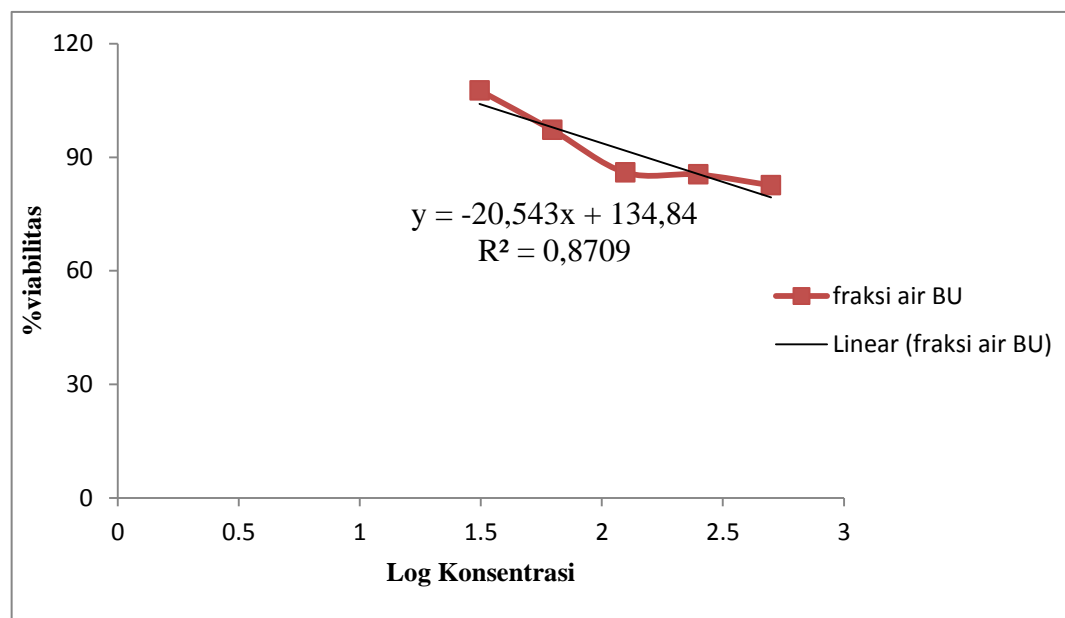
$$\text{Persamaan } y = -20,543x + 134,84$$

$$\text{IC}_{50} \rightarrow 50 = -20,543x + 134,84$$

$$-84,84 = -20,543x$$

$$X = 4,13$$

$$\text{IC}_{50} \rightarrow \text{antilog } 4,13 = 13.485,7 \mu\text{g/mL}$$



## C. Ekstrak umbi bidara upas terhadap Sel Vero

C ( $\mu\text{g/mL}$ )	Log C	A	KS	KM	$\bar{x}\text{KS} - \bar{x}\text{KM}$ (x)	A- $\bar{x}\text{KM}$ (y)	%viabilitas ( $\frac{y}{x} \times 100\%$ )
2000	3,301	0,142	0,571	0,078		0,062	12,670
1000	3,000	0,242	0,579	0,079		0,162	33,038
500	2,699	0,467	0,558	0,083	0,489	0,387	79,087
250	2,398	0,527	Rerata	Rerata		0,447	91,417
125	2,097	0,549	0,569	0,080		0,469	95,913
62.5	1,796	0,560				0,480	98,093
31.25	1,495	0,581				0,501	102,316

Keterangan :  
**C** = Konsentrasi fraksi air umbi bidara upas  
**Log C** = Log konsentrasi  
**A** = Absorbansi  
 $\bar{x}\text{KS}$  = Rata-rata kontrol sel  
 $\bar{x}\text{KM}$  = Rata-rata kontrol media

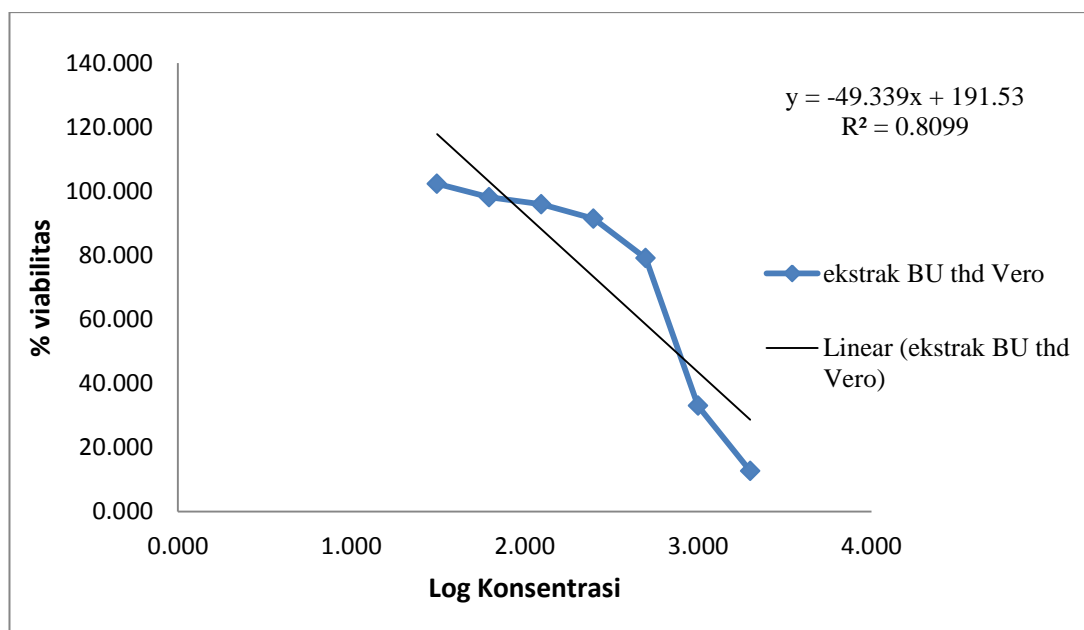
$$\text{Persamaan } y = -49,339x + 191,53$$

$$\text{IC}_{50} \rightarrow 50 = -49,339x + 191,53$$

$$-141,53 = -49,339x$$

$$X = 2,868$$

$$\text{IC}_{50} \rightarrow \text{antilog } 2,868 = 738,791 \mu\text{g/mL}$$



Lampiran 15. Perhitungan indeks selektivitas ekstrak umbi bidara upas

Nilai indeks selektivitas ekstrak umbi bidara upas terhadap sel T47D, yakni

$$\text{Nilai IS} \quad : \quad \frac{IC50 \text{ Sel Vero}}{IC50 \text{ Sel Kanker}}$$

$$: \quad \frac{738,791 \mu\text{g/mL}}{165,69 \mu\text{g/mL}}$$

$$: 4,46 > 3$$

Ekstrak etanol umbi bidara upas dinyatakan selektif terhadap sel T47D