

**Skripsi**

**UJI SITOTOKSISITAS FRAKSI BUTANOL DARI EKSTRAK  
ETANOL 80% SARANG SEMUT (*Myrmecodia Erinaceae*)  
TERHADAP SEL HELA DAN SEL VERRO  
SECARA INVITRO**

**Untuk Memenuhi Tugas Akhir  
Pada Fakultas Farmasi  
Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta**



**Disusun oleh :**

**Arwinda Ada Aris  
1143050066/113117430550066**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS 17 AGUSTUS 1945 JAKARTA**

LEMBAR PENGESAHAN  
SKRIPSI

UJI SITOTOKSIK FRAKSI BUTANOL80% SARANG SEMUT  
(*Myrmecodia Erinaceae*) TERHADAP SEL HELA DAN SEL VERRO  
SECARA INVITRO

*Disusunoleh:*

Arwinda Ada Aris

1143050066/11311743055066

Telah di pertahankan di hadapan Tim Penguji  
Pada tanggal 25 Agustus 2016

Pembimbing

Penguji



Purwati., M.Farm., Apt



Dr.Hasan Rachmat M.DEA., Apt  
Ketua



Drs. Wahyudi Uun Hidayat, M.Sc., Apt  
Sekretaris



Nina Jusnita, S.Tp., M.Si  
Anggota

**UJI SITOTOKSISITAS FRAKSI BUTANOL DARI EKSTRAK ETANOL  
80% SARANG SEMUT (*Mermecodia Erinaceae*) TERHADAP  
SEL HELA DAN SEL VERRO SECARA INVITRO**

- 1) Arwinda ada aris (1143050066)
- 2) Pembimbing Purwati., M.Farm.,Apt
- 3) Program S1 Farmasi, Fakultas Farmasi UTA 45' Jakarta

**ABSTRAK**

Kanker merupakan penyakit ganas, selkanker beda dengan sel tumor yang menunjukkan sifat invasi dan metastatis dan sangat anaplastik, kanker yang dikenal dalam dunia kedokteran secara garis besar ada dua yaitu karsinoma dan sarkoma. Sarang semut merupakan tumbuhan epifit yang menempel di pohon - pohon besar. Penggunaan sarang semut untuk pengobatan masyarakat di papua sejak lama dilakukan. Sarang semut berpotensi dalam pengobatan tradisional sehingga banyak menarik minat masyarakat. pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik fraksi butanol sarang semut (*Mermecodia Erinaceae*) terhadap sel hela dan sel verro, dengan menggunakan media DMEM. Konsentrasi yang digunakan yaitu 750 ppm,500 ppm,250 ppm,125 ppm,16,5 ppm, dan 13,25 ppm. Metode uji sitotoksik yang digunakan adalah metode MTT, dengan mengamati intensitas warna ungu dari kristal formazan yang dibaca dengan ELISA Reader pada panjang gelombang 595 nm, merupakan metode yang cepat, sensitif serta paling umum di gunakan dalam pengujian secara in vitro. Uji sitotoksitas fraksi butanol dari ekstrak etanol 80% sarang semut (*Mermecodia Erinaceae Becc.*) terhadap sel Hela nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh sebesar 775,96 ppm dan terhadap sel verro sebesar 692,16 ppm. Nilai  $IC_{50}$  diantara 30 ppm-1000 ppm menunjukkan bahwa senyawa senyawa yang terkandung dalam sarang semut (*Mermecodia Erinaceae*) memiliki aktifitas sitotoksik.

Kata kunci : SITOTOKSISITAS FRAKSI BUTANOL, SARANG SEMUT (*Mermecodia Erinaceae*), SEL HELA DAN SEL VERRO, INVITRO

**CYTOTOXIC TEST OF BUTANOL FRACTION FROM 80% ETHANOLIC  
EXTRACT OF SARANG SEMUT (*Myrmecodia erinaceae* Becc.)  
ON HELA CELL AND VERRO CELL**

**ABSTRACT**

Cancer is malignant disease, cancer cells are different with tumor cells. It shows the nature of invasion, metastasis and quite anaplastic, there are two kind of cancer known as carcinoma and sarcoma. Sarang semut are epiphytic plant which sticking on the oak tree. People in Papua are using sarang semut as treatment for long overdue. It potentially and interesting people as traditional medicine. This study aims at cytotoxic effect butanol extract of sarang semut (*Mermecodia Erinaceae Bee.*) on HeLa cells and Vero cells, by using DMEM media. The various concentration used were 750 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm, and 31,25 ppm. The methods used is MTT method by observing the color intensity of the purple formazan crystals were read by ELISA reader at a wavelength of 595 nm, is the rapid, sensitive and most common in use in testing in vitro. Cytotoxic effect butanol fraction of 80% ethanol extract sarang semut (*Mermecodia Erinaceae Becc.*) with HeLa cells  $IC_{50}$  values obtained at 775,96 ppm and the cell Vero of 692,16 ppm.  $IC_{50}$  values between 30-1000ppm indicate that compounds contained in Sarang semut (*Mermecodia Erinaceae Bee.*) has cytotoxic activity.

Keywords: CYTOTOXIC, BUTANOL FRACTION, SARANG SEMUT(*Myrmecodia erinaceae* Becc.) HELA CELL AND VERRO CELL

## SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa:

1. Karya tulis saya, berupa skripsi ini adalah asli dan belum pernah dianjurkan untuk mendapatkan gelar akademik S1, baik di universitas ini maupun di universitas lain.
2. *Karya tulis ilmiah ini murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri tanpa bantuan pihak lain kecuali tim pembimbing.*
3. Dalam karya tulisan ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah di tulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas di cantumkan dalam darta pustaka.
4. *Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya, apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah di peroleh karena karya tulis ini, dan atau sanksi lainnya sesuai peraturan serta perundang-undangan dan norma akademik yang berlaku di Universitas 17 Agustus 1945 jakarta.*

Jakarta, Agustus 2016



*Arwinda Ada Aris*  
Arwinda Ada Aris

## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur, hormat dan kemuliaan bagi Dia Raja di atas segala raja Tuhan Yesus Kristus, sungguh karena kasih, hikmat dan berkat serta pertolongannya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini yang berjudul **“UJI SITOTOKSISITAS FRAKSI BUTANOL DARI EKSTRAK ETANOL 80% SARANG SEMUT (*Myrmecodia Erinaceae*) TERHADAP SEL HELA DAN SEL VERRO SECARA INVITRO TERHADAP SEL HeLa**”. Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat :

1. Bapak Dr. Hasan Rahmat, M.DEA, Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta untuk semua kesempatan yang telah diberikan dalam menuntut ilmu beserta ketua program studi.
2. Bapak Drs. Wahyudi Uun Hidayat, M.Sc, Apt selaku Ketua Perogram Studi Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta.
3. Ibu Purwati., M.Farm., Apt selaku Dosen pembimbing skripsi yang telah berkenan meluangkan waktunya dan mencurahkan segala perhatian, kesabaran dan waktunya kepada penulis selama penyusunan dan penulisan proposal skripsi ini.
4. Bapak Drs. Wahyudi Uun Hidayat, M.Sc, Apt selaku Ketua Perogram Studi Fakultas, Ibu Nina Jusnita, S.Tp., M.Si sebagai penguji yang telah memberikan ilmu dan bimbingan selama menyusun skripsi.
5. Seluruh Staf kesekretariatan Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta yang telah membantu penulis selama menempuh pendidikan.

6. Dengan penuh rasa kasih dan cinta, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya untuk seluruh keluargaku terutama bapak, Mamaku tercinta, kakakku, adek – adekku dan olivo amor tersayang yang tidak pernah berhenti memberikan doa dan dukungan baik secara moril maupun materil sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini.

Semoga Tuhan membalas segala kebaikan dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis. Sebagai manusia yang penuh dengan kekhilafan, Penulis sangat menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis dengan senang hati menerima kritik dan saran dari pembaca. Semoga hasil penelitian ini bermanfaat bagi penulis pada khususnya dan dunia kefarmasian pada umumnya, Amin.

**Jakarta, Agustus 2016**

**Penulis**

## DAFTAR ISI

<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>ii</b>
<b>SURAT PERNYATAAN</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Perumusan Masalah</b> .....	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	<b>3</b>
<b>1.5 Hipotesis</b> .....	<b>4</b>
<b>1.6 Keaslian Penelitian</b> .....	<b>4</b>
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
<b>2.1 Sarang semut</b> .....	<b>5</b>
2.1.1 Taksonomi Tanaman SaranSemut.....	5
2.1.2 MorfologiTanaman.....	6
2.1.3 Kandungan Kimia.....	6
2.1.4 Kegunaan.....	6
2.1.5 Ekologi dan Budidaya.....	6
<b>2.2 Ekstraksi</b> .....	<b>7</b>
<b>2.3 Pelarut</b> .....	<b>9</b>
<b>2.4 Kultur sel</b> .....	<b>9</b>
<b>2.5 Sel hela</b> .....	<b>10</b>
<b>2.6 Doxorubicin</b> .....	<b>12</b>

### **BAB III METODOLOGI PENELITIAN**

<b>3.1</b>	<b>Alat.....</b>	<b>14</b>
<b>3.2</b>	<b>Bahan.....</b>	<b>14</b>
3.2.1	Sarang semut (Myrmecodiaerinae).....	14
3.2.2	Sel Hela.....	15
3.2.3	Pelarut, reagen dan bahan kimia.....	15
<b>3.3</b>	<b>Tempat Penelitian.....</b>	<b>15</b>
<b>3.4</b>	<b>Prosedur Penelitian.....</b>	<b>15</b>
3.4.1	Determinasi dan pengumpulan srang semu.....	15
3.4.2	Pembuatan serbuk / simplisia srang semut.....	16
3.4.3	Pembuatan ekstrak etanol 80% sarang semut.....	16
3.4.4	Pembuatan Fraksi Butanol Umbi Sarang Semut	17
3.4.5	Pemeriksaan karakteristik ekstrak.....	17
a.	Uji organoleptis .....	17
b.	Perhitungan rendemen .....	18
3.4.6	Uji susut pengeringan.....	18
3.4.7	Penapisan fitokimia.....	19
a.	Gula pereduksi.....	19
b.	Alkaloid.....	19
c.	Saponin.....	20
d.	Tanin.....	20
e.	Flavonoid.....	20
f.	Steroid.....	21
g.	Terpenoid.....	21
<b>3.5</b>	<b>Persiapan Larutan Sampel Uji dan Kontrol Positif.....</b>	<b>21</b>
3.5.1	Persiapan sampel uji.....	21
3.5.2	Persiapan kontrol positif.....	21
3.5.3	Kontrol negatif.....	22
<b>3.6</b>	<b>Kultur Sel .....</b>	<b>22</b>
3.6.1	Thawing dan sub kultifasi kultur sel.....	22
3.6.2	Poliferasi sel vero dan sel HeLa dengan metode MTT	22
<b>3.7</b>	<b>Analisa Data.....</b>	<b>23</b>

### **BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

<b>4.1</b>	<b>Derteminasi Sarang Semut.....</b>	<b>24</b>
<b>4.2</b>	<b>Hasil Pemeriksaan Karakteristik.....</b>	<b>24</b>
4.2.1	Organoleptis.....	24
4.2.2	Rendamen .....	24
4.2.3	Susut Pengrangan .....	25
4.2.4	Penapisan Fitokimia.....	25
4.2.5	Hasil uji sitotoksik dengan metode MTT.....	25
<b>4.3</b>	<b>PEMBAHASAN.....</b>	<b>30</b>

**BAB V KESIMPULAN DAN SARAN**

**6.1 Kesimpulan..... 37**

**6.2 Saran..... 37**

**DAFTAR PUSTAKA..... 38**

**LAMPIRAN**

## DAFTAR TABEL

	Halaman
IV.1 Data Absorbansi, Persentase Inhibisi dan Persentase ..... Viabilitas Fraksi Butanol <i>Myrmecodia erinaceae</i> Becc. dan Kontrol Terhadap sel HeLa	26
IV.2 Data Absorbansi, Persentase Inhibisi dan Viabilitas ..... dari Fraksi Butanol <i>Myrmecodia erinaceae</i> Becc. dan Kontrol Terhadap sel Vero	28

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar II.1 Sarang Semut ( <i>Myrmecodia erinaceae</i> ).....	5
Gambar IV.1 Grafik Hubungan Antara Konsentrasi <i>Myrmecodiaerrinaceae</i> Becc. dengan Persentase Inhibisi sel HeLa.....	27
Gambar IV.2 Grafik Hubungan Antara Konsentrasi <i>Myrmecodiaerrinaceae</i> Becc. dengan Persentase Inhibisi sel Verro.....	29

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Gambar sarang semut dan perlakuan.....	41
Lampiran 2. Gambar Hasil morfologi Sel Hela dan Sel verro.....	43
Lampiran 3. Gamabar Sel Hela da Sel Verro tanpa perlakuan.....	49
Lampiran 4. Bagan prosedur pengerjaan uji sitotoksik sel hela dan sel verro.....	50
Lampiran 5. Skema kerja Fraksinasi Butanol umbi Sarang Semut ( <i>Myrmecodia erinaceae Becc</i> ).....	51
Lampiran 6. Skema pembuatan Ekstrak Etanol Sarang Semut	52
Lampiran 7. Penapisan fitokimia fraksi butanol.....	53
Lampiran 8. Hasil determinasi umbi sarang semut ( <i>Myrmecodia erinaceae Becc</i> ).....	54
Lampiran 9. Perhitungan Rendemen fraksi butanol dari ekstrak kental etanol 80% umbi sarang semut ( <i>Myrmecodia erinaceae becc</i> ).....	55
Lampiran 10. Perhitungan Rendemen ekstrak kental etanol 80% umbi sarang semut ( <i>Myrmecodia erinaceae becc</i> )	56
Lampiran 11. Perhitungan Hasil susut pengeringan.....	57
Lampiran 12. Pembuatan dosis fraksi butanol.....	58
Lampiran 13. Pembuatan Kontrol Positif (Doxorubisin).....	62
Lampiran 14. pembuatan Kontrol Negatif DMSO.....	63
Lampiran 15. Perhitungan persentase Inhibisi pada sel Verro.....	64

Lampiran 16. Perhitungan persentase Inhibisi pada sel Hela.....	67
Lampiran 17. Perhitungan IC <sub>50</sub> .....	70

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar belakang**

Kanker merupakan penyakit ganas, sel kanker beda dengan sel tumor yang menunjukkan sifat invasi dan metastatis dan sangat anaplastic, kanker yang dikenal dalam dunia kedokteran secara garis besar ada dua yaitu carcinoma dan sarcoma. Carcinoma adalah kanker yang dimulai di kulit atau pada jaringan yang melapisi atau menutupi organ internal. Sarcoma adalah kanker yang dimulai di tulang, tulang rawan, lemak, otot, pembuluh darah, atau jaringan ikat atau pendukung lainnya (Kamus kedokteran Dorland 2002 : 350).

Tetapi secara umum yang sering dikenal oleh kalangan masyarakat, kanker lebih dikenal berdasarkan kategori jenis penyakit Breast Cancer, leukemia, Lung Cancer, Prostate Cancer, Colon dan Rectum Cancer, Skin Cancer, Cervix Cancer, Ovarian Cancer, dan Onkology Medic. Penyakit Kanker ternyata kini dinyatakan sebagai salah satu penyebab utama kematian global. Berdasarkan data World Health Organization pada 2010, angka kematian akibat kanker mencapai 13 persen(7,4 juta) dari semua kematian setiap tahunnya (Amirullah : 2011).

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di dunia, jumlah penderita kanker di dunia setiap tahun bertambah 6,25 juta orang, dua per tiga dari penderita kanker di dunia berada pada negara berkembang termasuk Indonesia.

Survey jumlah penderita kanker yang dilakukan WHO terhadap negara berkembang pada tahun 2012 menunjukkan bahwa penyebab kematian kanker yang paling besar dialami oleh perempuan adalah penyakit kanker serviks sedangkan jumlah kematian pada pria disebabkan kanker paru-paru. (Dias Control Prioritas Project 2007).

Indonesia adalah megabiodiversity country untuk flora dan fauna. Banyak diantaranya yang memiliki senyawa aktif dan telah digunakan sebagai obat. Obat tradisional dan tanaman obat banyak digunakan masyarakat terutama dalam upaya preventif, promotif, dan rehabilitatif (Bustanussalam, 2010). Salah satu obat tradisional, yang untuk pertama kalinya diperkenalkan secara luas pada tahun 2006, yang berasal dari pedalaman Papua adalah sarang semut. Sarang semut diprediksi lebih baik dari buah merah dan mahkota dewa (Alam dan Waluyo, 2006).

Sarang semut merupakan tumbuhan epifit yang menempel di pohon-pohon besar. Penggunaan sarang semut untuk pengobatan masyarakat di Papua sejak lama dilakukan. Sarang semut sangat berpotensi dalam pengobatan tradisional sehingga banyak menarik minat masyarakat tersebut (Alam dan Waluyo, 2006). Secara empiris, rebusan sarang semut dapat menyembuhkan beragam penyakit ringan dan berat, seperti kanker dan tumor, asam urat, jantung koroner, wasir, tuberkulosis, migren, rematik, dan leukemia (Soeksanto *et al.*, 2009). Analisis kimia dari sarang semut menunjukkan bahwa tumbuhan sarang semut terutama mengandung senyawa-senyawa kimia dari golongan flavonoid, tannin, tokoferol, multimineral dan polisakarida. Berbagai penelitian tentang sarang semut menyebutkan bahwa, sudah

sarang semut memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, sehingga memiliki aktivitas antikanker yang efektif dan mampu menyembuhkan beberapa penyakit maut lainnya (Subroto, 2007). Maka dilakukan penelitian uji sitotoksik fraksi butanol dari ekstrak etanol 80% sarang semut (*Myrmecodia Erinaceae* Becc) Terhadap sel hela dan sel verro.

## **1.2 Perumusan masalah**

Apakah Fraksi ekstrak butanol pada Sarang Semut (*Myrmecodia Erinaceae*) mempunyai aktivitas sitotoksik pada sel hela dan menghitung  $IC_{50}$  fraksi butanol sarang semut terhadap sel hela.

## **1.3 Tujuan penelitian**

- a. Pada penelitian bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik fraksi butanol Sarang Semut (*Myrmecodia Erinaceae*) terhadap sel hela dan sel verro.
- b. Mengetahui  $IC_{50}$  fraksi butanol sarang semut terhadap sel hela dan sel verro.

## **1.4 Manfaat penelitian**

- a. Pada penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat luas mengenai sifat toksisitas dari Sarang Semut (*Myrmecodia Erinaceae*) pada sel hela sehingga dapat diteliti lebih lanjut untuk dikembangkan sebagai obat kanker.

- b. Dari penelitian ini dapat berguna untuk civitas akademik Universitas 17 Agustus 1945 jakarata sebagai pengembangan bahan obat alam.
- c. Melalui penelitan ini penulis mendapatkan ilmu mengenai aktivitas sitotoksik fraksi butanol dari ekstrak etanol 80% sarang semut (*Mymerccodia Erinaceae*) terhadap sel hela dan sel verro.

### **1.5 Hipotesis**

Fraksi butanol Sarang Semut (*Myrmeccodia Erinaceae*) memiliki efek sitotoksik terhadap sel hela tapi tidak terhadap sel verro.

### **1.6 Keaslian penelitian**

Sampai saat ini penelitian untuk mengetahui aktivitas sitotoksik fraksi butanol Sarang Semu (*Myrmeccodia Erinaceae*) terhadap sel hela dan sel verro belum ada dan belum pernah di lakukan peneliannya.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Sarang semut

##### 2.1.1 Taksonomi Tanaman Sarang Semut

Tanaman sarang semut merupakan salah satu tumbuhan yang telah dimanfaatkan untuk pengobatan berbagai penyakit. Sarang semut memiliki taksonomi sebagai berikut :

Kindom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Lamiidae
Ordo	: Rubiales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: <i>Myrmecordia</i>
Spesies	: <i>Myrmecordia erinaceae</i> Becc



Gambar II.1 Sarang Semut (*Myrmecordia erinaceae*)

### **2.1.2 Morfologi Tanaman**

Sarang Semut merupakan tumbuhan epifit yang dimanfaatkan semut sebagai sarangnya, yang mana bukan dibuat oleh semut. Adaptasi hidupnya dengan menempel pada pohon kayu putih (*Melaluca*), cemara gunung (*Casuarina*) berupa bongkolan kosong bersekat-sekat, sehingga serangga lainnya selain semutpun seperti kalajengking, ular & lainnya dapat dijadikan sebagai tempat hidupnya atau sarangnya.

### **2.1.3 Kandungan Kimia**

Sarang semut ini berasal dari Papua - Timika. Berdasarkan hasil dari penelitian ini mengandung senyawa aktif tokoferol, flavonoid, fenol, dan kaya mineral yang sangat berguna untuk penyembuhan pada kanker/tumor.

### **2.1.4 Kegunaan**

sarang semut merupakan salah satu tumbuhan yang telah dimanfaatkan untuk pengobatan berbagai penyakit. sifat dari tumbuhan itu sendiri adalah epifit. pada Zaman sekarang masyarakat menggunakan sarang semut untuk melakukan berbagai jenis pengobatan terhadap penyakit.

### **2.1.5 Ekologi dan Budidaya**

Tanaman sarang semut merupakan anggota keluarga dari family *Rubiaceae*. Tumbuhan ini sebenarnya mempunyai 5 genus, namun hanya 2

genus yang berasosiasi dengan semut yaitu *Myrmecodia* dan *Hydnophytum*. Sarang semut merupakan tumbuhan epifit yang tersebar di Semenanjung Malaysia, Filipina, Kamboja, Sumatera, Kalimantan, Jawa, Papua Nugini, Cape York, hingga kepulauan Salomon. Tanaman berumbi yang berongga pada bagian batang ini biasa hidup di area hutan bakau dan di area pinggir pantai hingga ketinggian 2.400 meter di atas permukaan laut (dpl); namun tanaman ini banyak ditemukan di dalam hutan dan daerah pertanian terbuka dengan ketinggian 600 meter dpl. Tanaman ini tumbuh menempel pada beberapa jenis kayu putih (*Melaleuca*), cemara gunung (*Casuarina*), kaha (*Castanopsis*), dan pohon beech (*Nothofagus*)

## **2.2 Ekstraksi**

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang disari, mengandung zat aktif yang dapat larut dan zat yang tidak larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Hasil ekstraksi adalah ekstrak yang merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dan simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan (Departemen Kesehatan Republik, 1995).

Metode ekstraksi dipilih berdasarkan faktor seperti sifat bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam

memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari obat. Sifat bahan mentah obat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memilih metode ekstraksi (Departemen Kesehatan Republik, 2005).

Metode ekstraksi dapat dibedakan menjadi 4 metode yaitu infundasi, maserasi, perkolasi dan sokletasi. Dari keempat metode tersebut yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi (Departemen Kesehatan Republik, 1986). Maserasi berasal dari bahasa Latin *macerare*, yang artinya merendam. Maserasi merupakan proses penyarian dengan cara serbuk direndam sampai meresap atau melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut (Departemen Kesehatan Republik, 2005).

Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan (Departemen Kesehatan Republik, 1986).

Sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air dan alkohol (etanol) serta campurannya. Jenis pelarut lain adalah metanol, heksan, toluen, kloroform, aseton umumnya digunakan sebagai pelarut untuk tahap separasi dan tahap pemurnian (fraksinasi) (Departemen Kesehatan Republik, 2000).

Fraksinasi atau pemurnian adalah suatu proses untuk menghilangkan (memisahkan) senyawa yang dikehendaki semaksimal mungkin tanpa berpengaruh pada senyawa kandungan yang dikehendaki, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni (Departemen Kesehatan Republik, 2000). 2015)

### **2.3 Pelarut**

Pada umumnya pelarut digunakan adalah air dan pelarut organik. Pelarut organik dibagi berdasarkan kepolarannya, antara lain n-heksan, petroleum eter (non polar), kloroform, etil asetat (semi polar), methanol, etanol, butanol (polar). Masing-masing kelompok senyawa kimia memiliki kelarutan yang berbeda, pelarut polar melarutkan senyawa yang polar dan pelarut non polar melarutkan senyawa yang nonpolar (Departemen Kesehatan Republik, 2000).

### **2.4 Kultur sel**

Kultur sel merupakan teknik yang biasa digunakan untuk perkembangbiakan sel yang berasal dari *cell line* di luar tubuh (*in vitro*). Sedangkan kultur jaringan merupakan kultur tiga dimensi dari jaringan utuh atau sama seperti halnya *in vivo* (Mahardika, 2004).

Kultur sel membutuhkan pergantian medium secara berkala dan diikuti sub kultur jika sel-sel berproliferasi. Sub kultur bertujuan untuk memperbanyak kultur sel dan mempertahankan kelangsungan hidup sel, karena bila labu kultur telah penuh

dengan sel maka akan menghambat sel itu sendiri. Kultur sel memerlukan kondisi lingkungan yang sama dengan keadaan lingkungan dalam tubuh (Freshney, 2000).

Kultur sel ditempatkan dalam wadah khusus yang steril (*T-flask*), kebutuhan akan O<sub>2</sub> 95% harus dijaga dan menginkubasikannya pada inkubator sel yang mengandung kadar CO<sub>2</sub> 5%. Umumnya *cell line* tumbuh pada pH 7,4 sehingga kestabilannya harus dijaga dengan menambahkan buffer ke dalam medium kultur. Sel turunan disimpan pada temperatur -120°C sampai -180°C agar sel tersebut tidak berproliferasi (Mahardika, 2004).

Medium kultur yang sering dipakai dalam kultur sel HeLa ialah RPMI 1640. Media ini mengandung garam-garam, asam amino dan vitamin yang diperlukan sel untuk tumbuh. Serum juga diperlukan dalam pertumbuhan sel dan biasanya digunakan ialah *Fetal Calf Serum* (FCS) dan *Fetal Bovine Serum* (FBS) (Mahardika, 2004).

## **2.5 Sel hela**

Kultur sel HeLa atau HeLa *cell line* merupakan *continuous cell line* yang diturunkan dari sel epitel kanker leher rahim (*cervix*) seorang wanita penderita kanker leher rahim bernama Henrietta Lacks yang meninggal akibat kanker pada tahun 1951. Kultur sel ini memiliki sifat semi melekat dan digunakan sebagai model sel kanker dan untuk mempelajari sinyal transduksi seluler. Sel HeLa ini cukup aman dan merupakan sel manusia yang umum digunakan untuk kepentingan kultur sel.

Sel ini oleh *George Gey* diperlakukan sebagai sel kanker yang dipercaya berasal dari sel kanker leher rahim Ms.Lacks, namun klasifikasi dari sel ini masih diperdebatkan. HeLa bersifat imortal yang tidak dapat mati karena tua dan dapat membelah secara tidak terbatas selama memenuhi kondisi dasar bagi sel untuk tetap hidup masih ada. Strain-strain baru dari sel HeLa telah dikembangkan dalam berbagai macam kultur sel, tapi semua sel HeLa berasal dari keturunan yang sama. Sel HeLa telah mengalami transformasi akibat infeksi *Human Papillomavirus* 18 (HPV 18) dan berbeda dengan sel leher rahim yang normal.

Sel HeLa dapat tumbuh dengan agresif dalam media kultur. Media yang digunakan adalah media RPMI 1640-serum. Di dalamnya terkandung nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan, yaitu asam amino, vitamin, garam-garam anorganik, dan glukosa. Serum yang ditambahkan mengandung hormon-hormon yang mampu memacu pertumbuhan sel. Albumin berfungsi sebagai protein transport, lipid diperlukan untuk pertumbuhan sel, dan mineral berfungsi sebagai kofaktor enzim.

Sel HeLa adalah sel kanker leher rahim akibat infeksi *Human Papillomavirus* (HPV 18) sehingga mempunyai sifat yang berbeda dengan sel leher rahim normal. Sel kanker leher rahim yang diinfeksi HPV diketahui mengekspresikan 2 onkogen, yaitu E6 dan E7. Protein E6 dan E7 terbukti dapat menyebabkan sifat imortal pada kultur primer keratinosit manusia, namun sel yang imortal ini tidak bersifat tumorigenik hingga suatu proses genetik terjadi. Jadi, viral onkogen tersebut tidak secara langsung

menginduksi pembentukan tumor, tetapi menginduksi serangkaian proses yang pada akhirnya dapat menyebabkan sifat kanker.

Protein E6 dan E7 dari HPV memodulasi protein seluler yang mengatur daur sel. Protein E6 berikatan dengan tumor suppressor protein p53 dan mempercepat degradasi p53 yang diperantarai ubiquitin. Protein E6 juga menstimulasi aktivitas enzim telomerase. Sedangkan protein E7 dapat mengikat bentuk aktif terhipofosforilasi dari p105Rb dan anggota lain dari famili Rb. Ikatan ini menyebabkan destabilisasi Rb dan pecahnya kompleks Rb/E2F yang berperan menekan transkripsi gen yang diperlukan untuk *cell cycle progression*.

Sebagian besar sel kanker leher rahim, termasuk sel HeLa, mempunyai gen p53 dan p105Rb dalam bentuk *wild type*. Jadi, gen pengatur pertumbuhan yang aktif dalam sel normal ini juga terdapat dalam sel kanker leher rahim. Namun, aktivitasnya dihambat oleh ekspresi protein E6 dan E7 dari HPV (Rosita, *et. al.*, 2009).

## **2.6 Doxorubicin**

Pengembangan terapi efektif dalam pengobatan kanker payudara sangat diperlukan untuk menekan jumlah kematian penderita. Salah satu agen kemoterapi yang paling banyak digunakan dalam pengobatan kanker payudara adalah doxorubicin (Smith et al., 2006).

Penggunaan doxorubicin menimbulkan efek samping seperti hepatotoksitas (El-Sayyad et al., 2009) dan kardiotoksitas (Minotti et al., 2004) dan

resiko resistensi. Pada sel kanker T47D, resistensi perlakuan doxorubicin meningkatkan aktivitas fosforilasi Akt. Akt terfosforilasi mengaktifkan Bcl-X (protein anti-apoptosis) dan menginaktivkan caspase-9 (inisiator apoptosis) melalui jalur caspase (Liet al., 2005).

Umumnya doxorubicin digunakan dalam bentuk kombinasi dengan agen anti kanker lainnya seperti siklofosfamid, cisplatin dan 5-FU. Peningkatan respon klinis dan pengurangan efek samping cenderung lebih baik pada penggunaan kombinasi dengan agen lain di bandingkan penggunaan doxorubicin tunggal (Bruton et al., 2005)

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah botol coklat kaca tertutup, timbangan, erlenmeyer, grinder, ayakan #40, oven, box lampu UV, plat KLT silika gel GF 254, seperangkat alat destilasi, *vacum rotary evaporator*, inkubator CO<sub>2</sub> 5%, sentrifuge, autoklaf, *Laminar Air Flow* (LAF) BSL 2, mikropipet, *haemocytometer*, Tips 100µl dan 1000µl, Tissue culture flask 25cm, tabung falcon 15ml dan 50ml, mikroskop inverted, ELISA reader, mikroplate 96-well, shaker, tube sentrifuse, penyaring steril berdiameter pori 0,2 µm steril, tangki nitrogen cair, eppendorf steril 1,5 ml, timbangan elektrik, vortex, *software Molecular Operating Environment* (MOE) *for windows system*, dan alat pendukung lainnya.

#### **3.2 Bahan**

##### 3.2.1 Sarang Semut (*Myrmecodia erinacea*)

Sarang semut yang digunakan adalah sarang semut yang sudah tua dan di potong kemudian dikeringkan. Sarang semut yang digunakan berasal dari provinsi Papua – Timika di hutan kuala kencana dan telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian dan Pengembangan Botani,

Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jl.Raya Jakarta Bogor Km 46, Cibinong, Jawa Barat.

### 3.2.2 Sel HeLa

Sel HeLa dan sel Verro koleksi LAPTIAB, serpong yang dirawat dan ditumbuhkan pada medium RPMI (Gibco) dengan FBS 10% (Gibco).

### 3.2.3 Pelarut, reagen dan bahan kimia

Butanol 70%, heksan, etil asetat, aquadest, MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida] 5mg/ml. Bahan lain yang digunakan yakni: media penumbuh RPMI (*Rossewell Park Memorial Institute*), PBS (*Phosphate buffer Saline*) pH 7,4, pelarut dimetil sulfoksida (DMSO). *Sodium Dodesil Sulfat* (SDS) 10%, *Fetal bovine serum* (FBS) 10%, Natrium subkarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ) 2 g/l, HCl 0,1 N, *trypan blue*, dan *trypsin EDTA* 0,5%.

## 3.3 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di labolatorium kultur jaringan LITBANG R.S kanker Dharmais, jl letjen S. Parman Kav 84-86 Slipi Jakarta Barat dan Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus Jakarta.

## 3.4 Prosedur Penelitian

### 3.4.1 Determinasi dan pengumpulan srang semut (*Myrmecodia erinacea*)

Sarang semut (*Myrmecodia erinacea*) di dapatkan dari provinsi Papua – Timika dan dilakukan determinasi srang semut (*Myrmecodia erinacea*) di

Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong untuk memastikan bahwa pakah jenis sarang semut yang akan di teliti benar-benar jenis sarang semut (*Myrmecodia erinacea*).

#### 3.4.2 Pembuatan serbuk / simplisia srang semut (*Myrmecodia erinacea*)

Sarang semut (*Myrmecodia erinacea*) yang masih segar, disortir, kemudian dicuci dengan air mengalir sampai bersih dari kotoran yang melekat, tiriskan agar bebas dari sisa air cucian, keringkan dengan cara alamiah di bawah sinar matahari namun tidak secara langsung melainkan di dalam yang beratap seng, setelah dipastikan kering dihaluskan dengan alat penggiling (grinder) sampai menjadi serbuk, lalu di saring dengan ayakan mesh 40 kemudian ditimbang (Anonim, 2000).

#### 3.4.3 Pembuatan ekstrak etanol 80% sarang semut (*Myrmecodia erinacea* Becc)

Sebanyak kurang lebih 5000 gram simplisia yang telah halus direndam dalam etanol 80% sampai simplisia direndam semua, kemudian di maserasi selama 24 jam dengan sesekali di aduk. Maserasi di kumpulkan ketoples berwarna coklat, kemudian residu di maserasi kembali, dilakukan hingga cairan berwarna jernih. Kemudian hasil maserasi yang di kumpulkan di pekatkan dengan menggunakan *rotari evaporator* dengan selanjutnya dengan pemanasan di dalam oven dengan suhu 40<sup>0</sup> - 50<sup>0</sup> C hingga di peroleh ekstrak kental.

#### 3.4.4 Pembuatan Fraksi Butanol Umbi Sarang Semut (*Myrmecordia erinaceae*)

Ekstrak kental yang didapat difraksinasi dengan heksan dengan perbandingan jumlah volume 1:1 hingga larutan jernih dan terbentuk dua lapisan. Diambil lapisan heksan (lapisan atas), kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator dengan suhu 60<sup>0</sup>C sehingga didapatkan fraksi heksan kental dan fraksi air.

Fraksi air (lapisan bawah) kemudian difraksinasi dengan etil asetat dengan perbandingan volume 1:1 hingga larutan jernih dan terbentuk dua lapisan. Diambil fraksi etil asetat (lapisan atas), kemudian diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu 40<sup>0</sup>C dan diperoleh fraksi etil asetat kental dan fraksi air.

Fraksi air (lapisan bawah) difraksinasi kembali dengan butanol dengan perbandingan 1:1 hingga larutan jernih dan terbentuk dua lapisan. Diambil fraksi butanol (lapisan atas), kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 60<sup>0</sup>C dan diperoleh fraksi butanol kental.

#### 3.4.5 Pemeriksaan karakteristik ekstrak

##### a. Uji organoleptis

Penggunaan pancaindera mengamati bau, rasa, warna, dan bentuk dari ekstrak yang diperoleh (Anonim, 2000).

b. Perhitungan rendemen

Nilai rendamen didapat dengan cara membagi bobot ekstrak kental dengan bobot awal simplisia. Dari perhitungan rendamen ini dapat diketahui nilai kesetaraan tiap gram ekstrak kental simplisia. Nilai rendamen dihitung dengan cara :

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental}}{\text{Bobot awal simplisia}} \times 100\%$$

(Anonim, 2000).

3.4.6 Uji susut pengeringan

Uji susut pengeringan adalah uji yang dilakukan untuk mengetahui batas maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Cara kerja uji susut pengeringan adalah keringkan botol timbang dalam oven pada suhu 100-105°C selama ± 30 menit, kemudian letakkan botol timbang dalam deksikator dan biarkan selama ± 10 menit setelah dingin lalu ditara, masukkan hasil ekstraksi ke dalam botol, kemudian timbang. Setelah ditimbang botol yang berisi ekstrak dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Dinginkan dalam deksikator, setelah dingin kemudian timbang. Lakukan penimbangan secara berulang-ulang hingga diperoleh bobot tetap (konstan).

$$(\text{berat akhir} - \text{berat awal} = \text{berat hasil uji susut pengeringan})$$

$$\% \text{ susut pengeringan} = \frac{\text{Berat hasil uji susut pengeringan}}{\text{Berat serbuk ekstrak awal}} \times 100\%$$

(Anonim, 2000)

### 3.4.7 Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia bertujuan untuk menguji ada atau tidaknya kandungan alkaloid, saponin, tanin, flavonoid, triterpenoid dan steroid. Metode yang dilakukan untuk melakukan penapisan fitokimia harus memenuhi beberapa syarat antara lain: sederhana, cepat, dapat dilakukan dengan peralatan minimal, selektif terhadap golongan senyawa yang dipelajari, semikualitatif dan dapat memberikan keterangan tambahan ada atau tidaknya senyawa tertentu dari golongan senyawa yang dipelajari.

#### a. Gula pereduksi

Ekstrak ditambah 2 tetes larutan fehling A dan 2 tetes larutan fehling B, kemudian panaskan di atas *waterbath* akan terjadi endapan merah bata (Tiwari, *et al.*, 2011).

#### b. Alkaloid

Ekstrak kering dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1ml HCl 2 N dan 9 ml air panas, panaskan diatas penangas air dengan suhu 100°C selama 2 menit, dinginkan, saring. Pindahkan hasil saringan dan bagi ke dalam 4 tabung reaksi.

Pada tabung pertama, tambahkan 1 tetes pereaksi Bauchardat, jika terbentuk endapan coklat hitam menunjukkan adanya alkaloid. Pada tabung kedua, tambahkan 1 tetes pereaksi Dragendrof, jika terbentuk endapan putih menunjukkan adanya alkaloid. Pada tabung ketiga, tambahkan 1 tetes pereaksi

Hager (asam- pikrat), jika terbentuk endapan kuning menunjukkan adanya alkaloid. Pada tabung keempat, tambahkan 1 tetes pereaksi mayer, 1 tetes pereaksi Bauchardat jika terbentuk endapan coklat hitam menunjukkan adanya alkaloid (Tiwari, *et.al.*,2011).

c. Saponin

Ekstrak kering dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 2 ml air panas, setelah itu didinginkan dan dikocok kuat-kuat sampai terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang 10 menit, setinggi 1 – 10 cm maka kemungkinan terdapat saponin (Tiwari, *et.al.*,2011).

d. Tanin

Ekstrak ditambah feri klorida jika berubah menjadi warna biru kehijauan (tanin galat) atau hijau tua (tanin katekuat) maka dinyatakan mengandung tanin (Tiwari, *et.al.*,2011).

e. Flavonoid

Ekstrak dilarutkan dalam etanol absolut dan dibagi 2 tabung, tabung 1 sebagai blanko dan tabung 2 untuk tabung uji. Tabung 2 ditambahkan 2 tetes Hcl (p), diamati warna yang terjadi dan dibandingkan dengan blanko. Kemudian tabung 2 dihangatkan diatas penangas air selama 15 menit. Bila terbentuk warna merah kuat atau violet menunjukkan adanya senyawa flavanoid (Mustarichie, *et al.*, 2011).

f. Steroid

Ekstrak diuapkan sampai kering ditambahkan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  anhidrat ditambahkan  $\text{CHCl}_3$  ditambah  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (p) melalui dinding tabung, steroid positif jika terbentuk cincin warna hijau / biru (Tiwari, *et.al.*, 2011).

g. Terpenoid

Ekstrak diuapkan sampai kering ditambahkan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  anhidrat ditambahkan  $\text{CHCl}_3$  ditambah  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (p) melalui dinding tabung, terpenoid positif jika terbentuk cincin warna ungu-merah (Tiwari, *et.al.*, 2011).

### **3.5 Persiapan Larutan Sampel Uji dan Kontrol Negatif**

#### 3.5.1 Persiapan sampel uji

Sebanyak 5 mg ekstrak ditimbang dan dilarutkan dengan 50  $\mu\text{l}$  DMSO sehingga diperoleh konsentrasi 5000 ppm. Dari larutan induk tersebut dibuat pengenceran dengan konsentrasi dan 31,25 750 ppm (stok I).

Kemudian dilakukan pengenceran kembali dengan konsentrasi 500 ppm (stok II). Dari stok II ini akan dibuat sampel uji dengan konsentrasi 250 ppm, 125 ppm , 62,5 ppm ppm

#### 3.5.2 Persiapan kontrol positif

Doxorubisin dipakai sebagai kontrol positif, dibuat larutan induk yang berkonsentrasi 5 ppm

### 3.5.3 Kontrol Negatif

DMSO digunakan sebagai kontrol negative digunakan dengan cara, dipipet 1,5 µl DMSO dan ditambahkan 1498,5 µl media DMEM.

## 3.6 Kultur Sel

### 3.6.1 *Thawing* dan sub kultifasi kultur sel

Sel Hela yang disimpan dalam *cyro vial* dari nitrogen cair dihangatkan dengan *water bath* dengan suhu 37°C beberapa saat lalu di sentrifuse. Setelah itu pindahkan sel ke T-flash yang sudah berisi 5-10 ml medium kultur DMEM,. Kemudian diinkubasi pada inkubator CO<sub>2</sub> 5 % dengan suhu 37°C, sampai sel tumbuh dan menempel (±24 jam).

### 3.6.2 Poliferasi Sel Verro dan Sel HeLa dengan metode MTT

Sel HeLa dan sel Verro yang telah diinkubasi selama 24 jam dikeluarkan, kemudian diamati di bawah mikroskop (jika kepadatan sel baik maka dapat digunakan sedangkan jika tidak maka diinkubasi lagi hingga optimal).

Setelah itu, media dalam plate dibuang dan diberikan perlakuan sesuai kelompok sel dan dosisnya dengan volume akhir 100 µl di dalam media sesuai selnya. Perlakuan sel :

Kelompok Perlakuan 1 (KE1) : dosis 750 ppm

Kelompok Perlakuan 2 (KE2) : dosis 500 ppm

Kelompok Perlakuan 3 (KE3) : dosis 250 ppm

Kelompok Perlakuan 4 (KE4): dosis 125 ppm

Kelompok Perlakuan 5 (KE5) : dosis 62,5 ppm

Kelompok Perlakuan 6 (KE6) : dosis 31,25 ppm

Dilakukan pengulangan masing-masing triplo untuk berbagai konsentrasi, termasuk kontrol negatif (termasuk kontrol pelarut) dan kontrol positif, dengan volume akhir 100  $\mu$ L/well. Mikroplate diinkubasi kembali selama 48 jam pada 37 ° C dalam inkubator dengan kelembabkan 5% CO<sub>2</sub>. Setelah 48 jam (pada hari ke-3), masing-masing well ditambahkan 10  $\mu$ L reagen MTT (5 mg /mL). Diinkubasi pada suhu 37 ° C selama 4 jam. Terjadi perubahan warna kuning menjadi ungu terbantu kristal formazon. Kristal formazon dilarutkan dengan etanol 96% dan kemudian diukur dengan ELISA reader pada panjang gelombang 595 nm. Setelah itu lakukan perhitungan hasil dan menghitung penghambatan sampel ( % inhibisi) dengan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{rata-rata kontrol} - \text{rata-rata sampel}}{\text{rata-rata kontrol}} \times 100 \%$$

### **3.7 Analisa Data**

Hasil yang di peroleh dari pengukuran serapan sampel dianalisis menggunakan persamaan regresi linier. Regresi linier menghubungkan antara konsentrasi dengan %inhibisi. Kemudian dari hasil regresi linier yang diperoleh dihitung IC<sub>50</sub>. Untuk mengetahui harga IC<sub>50</sub> ( konsentrasi daya hambat 50%) ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi linier (Puji *et. al*, 2011)

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Derteminasi Sarang Semut**

Pada hasil dari determinasi umbi sarang semut yang di lakukan di pusat penelitian biologi lembaga ilmu pengetahuan indonesia (LIPI) pusat konservasi Tumbuhan kebun raya bogor. Di dapatkan hasil bahwa Tumbuhan umbi sarang semut yang digunakan dalam penelitian merupakan *Myrmecodia erinaceae* Becc., suku *Rubiaceae*. (Lampiran 4)

#### **4.2 Hasil Pemeriksaan Karakteristik Fraksi Butanol dari Ekstrak Etanol 80% Umbi sarang semut (*Myrmecodia erinaceae* Becc)**

##### **4.2.1 Organoleptis**

Pada hasil pemeriksaan karakteristik fraksi butanol secara organoleptis, didapatkan fraksi butanol umbi sarang semut (*Myrmecodia erinaceae* Becc) memiliki warna coklat tua, berbentuk semi padat, memiliki rasa pahit dan berbau khas.

##### **4.2.2 Rendamen**

Fraksinasi ekstrak etanol 80% umbi sarang semut dengan mengunkan pelarut butanol didapatkan nilai rendamen fraksi sebesar 9,529% atau 20,4 gram ekstrak kental etanol 80% umbi sarang semut yang didapatkan dari fraksi butanol sebanyak 1,944gram.

#### 4.2.3 Susut Pengeringan

Nilai susut pengeringan yang di dapatkan sebesar 0,328 % yang di peroleh dari fraksi butanol umbi sarang semut.

#### 4.2.4 Penapisan Fitokimia

Pada Hasil penapisan fitokimia dari fraksi butanol sarang semut (*Myrmecodia erinaceae* Becc.) setelah di lakukan percobaan terdapat kandungan flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, tanin, gula pereduksi, saponin dan fenol. (dapat dilihat pada lampiran 7)

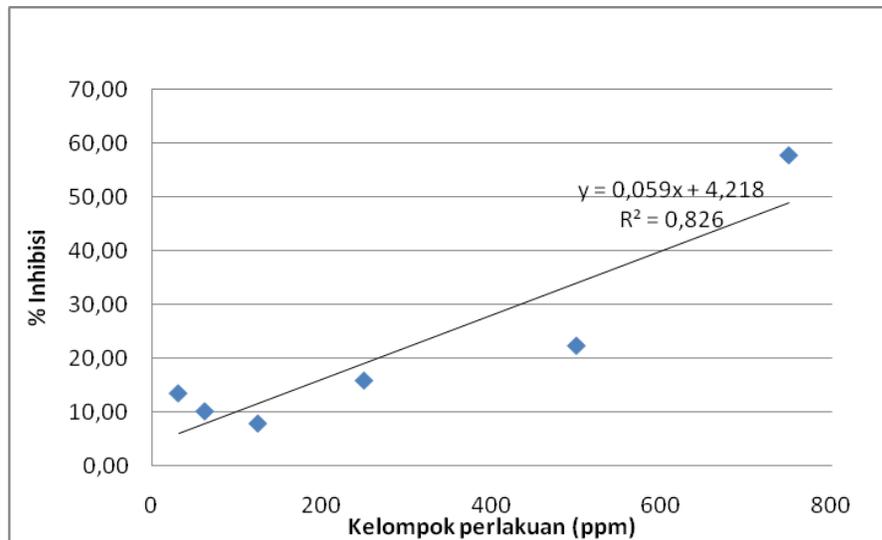
#### 4.2.5 Hasil uji sitotoksik dengan metode MTT terhadap sel HeLa dan sel Verro

Berdasarkan hasil pengujian sitotoksik dengan metode MTT terhadap sel HeLa dan sel Verro dengan butanol 80% *Myrmecodia erinaceae* Becc, kontrol positif (doxorubisin 5 ppm), kontrol negatif (DMSO 0,1%), dengan menggunakan ELISA *Reader* diperoleh hasil data absorbansi beserta persentase inhibisi dan viabiliti sebagai berikut.

**Tabel IV.1 Data Absorbansi, Persentase Inhibisi dan Persentase Viabilitas Fraksi Butanol *Myrmecodia erinaceae* Becc. dan Kontrol Terhadap sel HeLa**

Butanol Ppm	Ulangan			Rata2	%inhibisi	%viability
	ODI	ODII	ODIII			
750	0,125	0,126	0,139	0,130	57,84	42,16
500	0,228	0,232	0,258	0,239	22,38	77,62
250	0,260	0,258	0,260	0,259	15,89	84,11
125	0,272	0,281	0,299	0,284	7,89	92,11
62,5	0,271	0,333	0,227	0,277	10,16	89,84
31,25	0,224	0,269	0,307	0,267	13,51	86,49
KN	0,367	0,367	0,371	0,368	-19,46	-80,36
KP	0,061	0,064	0,058	0,061	80,22	19,78
KKN	0,313	0,304	0,308	0,308	0,00	0,00

Ket : ppm = part per milion, KP =kontrol positif (doxorubisin 5 ppm),  
 KN = kontrol negatif (DMSO 0,1%), KKN = kontrol normal  
 (sel tanpa perlakuan)



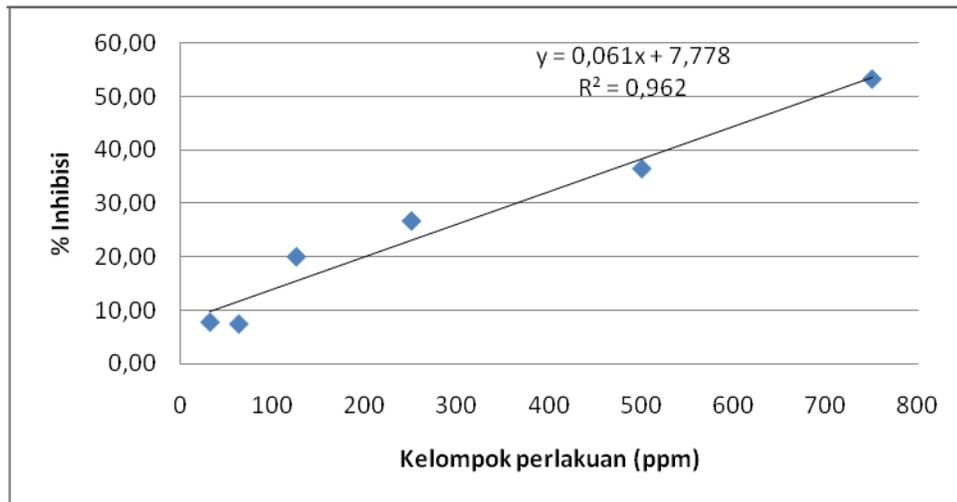
Gambar IV.1 Grafik Hubungan Antara Konsentrasi *Myrmecodiaerrinaceae* Becc. dengan Persentase Inhibisi sel HeLa

Berdasarkan dari data di atas, dapat dibuat grafik hubungan antara konsentrasivs persentase inhibisi sel HeLa. Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah  $y = 0,059x + 4,218$ . Dari persamaan regresi linier tersebut diperoleh harga  $IC_{50}$  sebesar 775,96 ppm. Dan diperoleh juga nilai koefisien korelasi sebesar 0,826.

**Tabel Data IV.2 Absorbansi, Persentase Inhibisi dan Viabilitas dari Fraksi Butanol *Myrmecodia erinaceae* Becc. dan Kontrol Terhadap sel Vero**

Butanol Ppm	Ulangan			Rata2	%inhibisi	%viability
	ODI	ODII	ODIII			
750	0,245	0,290	0,296	0,277	53,26	46,74
500	0,362	0,368	0,399	0,376	36,50	63,5
250	0,434	0,423	0,446	0,434	26,72	73,28
125	0,455	0,498	0,469	0,474	20,02	79,98
62,5	0,541	0,573	0,532	0,549	7,42	92,58
31,25	0,520	0,589	0,531	0,547	7,76	92,24
KP	0,555	0,639	0,567	0,587	0,96	99,04
KN	0,213	0,217	0,207	0,212	64,17	35,83
KKN	0,598	0,592	0,588	0,593	0,00	0,00

Ket : ppm = part per milion, KP =kontrol positif (doxorubisin 5 ppm),  
 KN = kontrol negatif (DMSO 0,1%), KKN = kontrol normal  
 (sel tanpa perlakuan)



Gambar IV.2 Grafik Hubungan Antara Konsentrasi *Myrmecodiaerrinaceae* Becc. dengan Persentase Inhibisi sel Verro

Berdasarkan dari data di atas dapat dibuat grafik hubungan antara konsentrasivs persentase inhibisi sel Verro. Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah  $y = 0,061x + 7,778$  Dari persamaan regresi linier tersebut diperoleh harga  $IC_{50}$  sebesar 692,16 ppm. Dan diperoleh juga nilai koefisien korelasi sebesar 0,962.

### 4.3 PEMBAHASAN

Untuk menghindari terjadinya kesalahan sampel, langkah awal yang harus dilakukan adalah determinasi sarang sarang semut. Determinasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di LIPI (lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia) di bogor, adalah bahwa tanaman yang digunakan benar-benar sarang semut *Myrmecodia erinaceae* Becc dari suku *Rubiaceae*.

Proses penyiapan ekstrak pada proses ini bahan uji yang di gunakan dalam penelitian ini adalah bagian umbi yang sudah di keringkan dari tanaman sarang semut *Myrmecodia erinaceae* Becc dari suku *Rubiaceae*. Pengeringan bahan uji sebelum ekstraksi bertujuan untuk meminimalkan kadar air sehingga proses enzimatik di dalamnya dapat di hentikan. Penghilangan air pada proses pengeringan juga dapat mencegah timbulnya mikroba yang dapat merusak bahan uji. Untuk mempermudah proses penyaringan ekstrak, simplisia dibuat menjadi serbuk kasar.

Pada umumnya umbi sarang semut oleh masyarakat untuk mengatasi berbagai jenis penyakit. Ekstrak dengan pelarut organik di lakukan karena penguapan pelarut organik lebih mudah di bandingkan dengan pelarut air. Etanol dipilih sebagai pelarut ekstraksi di karenakan terkait dengan konsentrasi etanol karena dinilai cukup polar untuk menarik Flavonoid sebagai senyawa aktif .

Dan untuk mencegah rusaknya senyawa-senyawa kimia yang tidak tahan terhadap pemanasan, khususnya flavonoid Dalam penelitian ekstraksi yang di gunakan adalah metode maserasi. (Harbone 1996). Metode maserasi merupakan

metode yang sederhana dan mudah dilakukan, merupakan metode ekstraksi pada suhu kamar sehingga aman untuk senyawa-senyawa yang tidak tahan terhadap panas. Untuk menarik senyawa yang bersifat polar sesuai dengan penggunaan pelarutnya yaitu butanol maka dalam penelitian ini dilakukan fraksinasi butanol.

Pada hasil Fraksinasi butanol yang di dapatkan sebanyak 1,944 gram dan ekstrak kental butanol 80% *Myrmecodia erinaceae* Becc 20,4 gram didapatkan hasil rendamen 9,52%, pada organoleptis menunjukkan fraksi kental berwarna coklat pekat dan memiliki bau aromatis yang khas. Selanjutnya dilakukan skrining atau penapisan fitokimia. Tujuan utama dari penapisan fitokimia adalah untuk mengetahui kandungan bioaktif yang berguna untuk pengobatan. Penapisan fitokimia meliputi analisa kualitatif kandungan dalam tumbuhan atau bagian tumbuhan terutama kandungan metabolit sekunder yang merupakan senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, terpenoid, steroid, tannin, dan minyak atsiri. (Mustarichie, *et.al.*, 2011). Hasil dari penapisan fitokimia fraksi butanol umbi sarang semut (*Myrmecodia erinaceae* Becc.) adalah positif mengandung flavonoid, tanin, terpenoid, steroid, alkaloid, gula pereduksi, Saponin, dan Fenol.

Pada penelitian ini dilakukan uji sitotoksik terhadap sel HeLa yang merupakan sel kanker leher rahim (serviks) dan sel Vero yang merupakan sel normal dengan menggunakan media DMEM. Konsentrasi yang digunakan yaitu 750 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 61,5 ppm, dan 31,25 ppm. Untuk membandingkan pengaruh sampel terhadap sel kanker dan sel normal. Sebagai kontrol positif digunakan

doxorubisin dengan konsentrasi 5 ppm dan kontrol negatif dengan DMSO serta kontrol media dan Digunakan konsentrasi yang sama pada kedua sel. penggunaan doxorubisin sebagai kontrol positif karena doxorubisin telah banyak digunakan dalam terapi pengobatan berbagai macam kanker, sehingga telah terbukti keefektifannya. Penghambatan pada pertumbuhan sel HeLa mulai dari konsentrasi 62,5 ppm - 750 ppm mengalami kenaikan karena semakin rendah absorbansi semakin banyak sel yang mati. Pada konsentrasi yang berbeda maka jumlah kandungan senyawa aktifnya pun berbeda.

Metode awal yang dilakukan adalah thawing, dimana flash berisi sel yang disimpan dan dibekukan diambil sebagian untuk dikembangkan. Setelah itu dilakukan sub-kultivasi yaitu pemindahan sel dari flash ke dalam mikropate untuk kemudian dikembangkan. Karena sel bersifat monolayer sehingga sel menempel pada flash. Digunakan enzim trypsin untuk pelepasan sel dari dinding flash. Setelah dibiarkan dalam mikropate, kemudian di buat pengenceran sampel langsung dengan medianya. Setelah itu sampel di masukkan ke dalam mikropate berisi sel dan diinkubasikan agar sel dapat tumbuh dengan baik. Setelah itu diberi reagen MTT diinkubasi lagi selama 4 jam dan diberikan etanol 96% kemudian cek absorbansinya dengan ELISA reader.

Metode uji sitotoksik yang digunakan adalah metode MTT, mengamati intensitas warna ungu dari kristal formazan yang dibaca menggunakan ELISA *Reader* pada panjang gelombang 595 nm, merupakan metode yang cepat, sensitif

serta paling umum digunakan dalam pengujian secara in vitro (Freshney, 1992). Pemilihan DMSO sebagai pelarut sampel uji karena merupakan pelarut yang dapat berpenetrasi secara baik kedalam sel (Freshney, 2010). Konsentrasi DMSO yang digunakan yaitu 0,1 % karena beberapa penelitian terbaru menyatakan bahwa batas keamanan penggunaan DMSO yang diperbolehkan maksimal 0,1% baik untuk kontrol ataupun untuk melarutkan sampel (Arulvasu, 2010). Inkubasi digunakan agar sel mencapai fase logaritmik yaitu fase dimana sel berada pada pertumbuhan yang optimum, fase logaritmik ditandai dengan keadaan sel yang confluent 80% menutupi permukaan wadah medium (CCRC, 2008).

Hasil absorbansi rata-rata yang didapat pada sel HeLa yaitu pada konsentrasi 750 ppm (0,130), 500 ppm (0,239), 250 ppm (0,259), 125 ppm (0,284), 62,5 ppm (0,277), dan 31,25 ppm (0,267). Dari hasil absorbansi dapat dihitung persentase inhibisi, yaitu nilai penghambatan sampel terhadap sel. Hasil persentase inhibisi yang di dapat adalah 57,84%, 22,38%, 15,89%, 7,89%, 10,16%, dan 13,51%. Karena konsentrasi yang berbeda pada tiap percobaan maka jumlah kandungan senyawa aktifnya pun akan berbeda, yang mana menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasinya maka semakin banyak kandungan senyawa aktif nya. Dari hasil d data persentase inhibisi fraksi butanol, di dapatkan hasil konsentrasi terendah adalah 31,25 ppm dengan presentase 13,51%, Dan penghambatan sel yang tertinggi terjadi pada konsentrasi 750 ppm yaitu 57,84%. Hal ini di sebabkan karena pada konsentrasi 750 ppm memiliki nilai absorbansi yang sangat rendah yaitu 0,130. Secara

keseluruhan nilai absorbansi yang didapatkan menunjukkan bahwa jika semakin besar konsentrasi yang diberikan maka akan semakin kecil absorbansinya. warna ungu yang terbentuk dari reagen MTT hanya sedikit hal ini menunjukkan bahwa Absorbansi yang di dapatkan kecil. Reagen MTT bereaksi membentuk kristal formazan berwarna ungu hanya pada sel yang hidup. Jadi, hal ini menunjukkan bahwa banyak sel yang mengalami kematian dan hanya sedikit sel yang masih hidup, sebab dari warna ungu yang terbentuk hanya sedikit sehingga nilai absorbansinya rendah. Oleh karena itu, dihitung persentase inhibisi untuk mengetahui penghambatan sel terhadap sampel, yaitu jumlah sel yang mengalami kematian akibat sampel.

Penggunaan doxorubisin sebagai kontrol positif karena obat ini telah banyak digunakan dalam terapi pengobatan berbagai jenis kanker, sehingga telah terbukti keefektifannya. Hasil persentase inhibisi yang diperoleh dari kontrol positif doxorubisin adalah 80,22% pada konsentrasi 5 ppm, sedangkan pada sampel butanol 80% memiliki presentase lebih rendah yaitu 57,84 pada konsentrasi 750 ppm. Sedangkan penggunaan DMSO sebagai kontrol negatif bertujuan untuk melihat pengaruh DMSO terhadap hasil yang diperoleh (Stevani, 2013). Hasil absorbansi DMSO 0,368 dapat dibandingkan dengan hasil absorbansi kontrol sel yaitu 0,308. Nilai absorbansi DMSO hampir sama dengan nilai absorbansi kontrol sel sehingga menunjukkan bahwa penggunaan DMSO 0,1% tidak berpengaruh terhadap penghambatan sel tersebut. Dapat dilihat juga dari hasil persentase inhibisi DMSO

0,1% yaitu -19,46, nilai minus dapat dikatakan sebagai nol yang menyatakan bahwa DMSO tidak memiliki pengaruh yang berarti terhadap penghambatan sel.

Selanjutnya, digunakan persamaan regresi linier antara konsentrasi sampel dengan persentase inhibisi sel HeLa yaitu  $y = 0,059x + 4,218$  dengan nilai koefisien korelasi 0,826. Dari persamaan regresi linier itu didapatkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 775,96 ppm. Uji sitotoksik digunakan untuk menentukan parameter nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50 % dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel (Meiyanto, 2002).

Sedangkan hasil uji sitotoksik terhadap sel Vero dengan tujuan untuk mengetahui apakah umbi sarang semut menghambat pertumbuhan sel normal atau tidak. Jika menghambat pertumbuhan, pada konsentrasi berapa umbi sarang semut menghambat sel normal dengan konsentrasi 750 ppm (0,277), 500 ppm (0,376), 250 ppm (0,434), 125 ppm (0,474), 62,5 ppm (0,549), dan 31,25 ppm (0,547). Pada hasil uji sitotoksik terhadap sel Vero yang digunakan sebagai pembandingan dengan konsentrasi sampel uji yang sama. Mulai dari konsentrasi terendah yaitu 31,25 ppm sampai konsentrasi 750 ppm semakin besar nilai persentase inhibisinya. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi umbi sarang semut semakin menghambat pertumbuhan sel normal, yang seharusnya hanya menghambat pertumbuhan sel yang tidak normal. Begitu juga dengan kontrol positif yaitu doxorubisin memiliki % hambatan sebesar 0,96% walaupun tidak begitu besar

dengan nilai hambat pada sel HeLa. Sedangkan pada kontrol negatif digunakan pelarut DMSO 0,1% dengan nilai absorbansi 0,368 hasil ini dapat dibandingkan dengan nilai absorbansi pada kontrol sel sebesar 0 hal ini menunjukkan bahwa DMSO 0,1% tidak menyebabkan penghambatan sel. Sampel uji yang sama menghasilkan persamaan regresi linier adalah  $y = 0,061x + 7,778$ . Dari persamaan regresi linier tersebut diperoleh harga  $IC_{50}$  sebesar 692,16 ppm dan nilai koefisien relasi sebesar 0,962. Menurut *Mayer et al* dianggap sangat toksik bila  $IC_{50}$  dibawah 30 ppm dan dianggap toksik bila diantara 30-1000 ppm , dalam hal ini konsentrasi  $IC_{50}$  umbi sarang semut dalam kategori toksik yang artinya mampu membunuh 50% sel.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

- a. Berdasarkan dari hasil penelitian uji sitotoksisitas fraksi butanol dari ekstrak etanol 80% sarang semut secara invitro (*Myrmecodia erinaceae* Becc.) nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh sebesar 775,96 ppm pada Sel Hela dan 692,16 ppm pada Sel Vero.
- b. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam Fraksi butanol sarang semut (*Myrmecodia erinaceae* Becc.) memiliki aktifitas sitotoksik karena  $IC_{50}$  dari fraksi butanol sarang semut berada diantara 30-1000 ppm.

#### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut dan mendalam untuk mengetahui aktifitas sitotoksik fraksi butanol umbi sarang semut (*Myrmecodia erinaceae* Becc.) secara invivo terhadap hewan uji dan jenis sel lainnya dan perlu dilakukan uji evaluasi. Sehingga dapat dijadikan sebagai salah satu agen antikanker.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahkam Subroto M dan Hendro Saputro. 2006. *Gempur Penyakit Dengan Sarang Semut*. Penebar Swadaya : Bogor. 11-52, 56.
- Alam, S. dan S. Waluyo. 2006. *Sarang Semut Primadona Baru dari Papua*.Majalah *Nirmala*. PT Gramedia. Pustaka Utama. Jakarta
- Ansel, H. C.,2005, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, edisi IV, Universitas Indonesia, Depok, 607 – 613.
- Amirullah. *Kanker Ternyata Penyebab Utama Kematian Global* (2011)  
[Diakses14,Januari2013]<http://www.tempo.co/read/news/2011/12/18/060372348/Kanker-Ternyata-Penyebab-Utama-Kematian-Global>.
- Aruvalu, C. Et al.. (2010). *Induction of Apoptosis by The Aqueous and Ethanolic Leaf Extract of Vitex negundo L. In MCF-7 Human Breast Cancer Cells. International Journal of Drug Discovery*, ISSN: 0975-4423. Volume 2, Issue 1, 2010, pp.01-07.
- Bustanussalam. 2010. *Penentuan Struktur Molekul dari Fraksi Air Tumbuhan Sarang Semut (Myrmecodia pendansMerr. dan Perry) yang Mempunyai Aktivitas Sitotoksik dan Sebagai Antioksidan*. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Cancer Chemoprevention Research Center, 2008. *Protokol in vitro CCRC*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM, Hal. 1-12.
- Departemen Kesehatan Republik, 1986, *Sediaan Galenik*, Indonesia, Jakarta, 1-11.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995, *Farmakope Indonesia*, edisi IV, 7.  
Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1986, *Sediaan Galenik*, Jakarta, 1-11.
- Departemen Kesehatan RI, 2000, *Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Direktorat Jandral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta, 10-31.
- Dias Control Prioritas Project. *Controlling Cancer in Developing Countries* (2007)  
[Diakses25januari2013] <http://www.dcp2.org/file/79/DCPP-Cancer.pdf>

- Harmita. (2006). *Analisis Kuantitatif Bahan Baku dan Sediaan Farmasi*. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Freshney, R.I., 2000, *Culture of Animal Cells: A manual of Basic Technique*, Wiley-Liss Inc, New York.
- Harborne, 1996, *Metode Fitokimia*, edisi II, ITB, Bandung.
- Kamus Kedokteran Dorland edisi 29*. Jakarta: EGC, 2002
- Li, X., Lu, Y., Liang, K., Liu, B. & Fan, Z. 2005. Differential Responses to Doxorubicin-Induced Phosphorylation and Activation of Akt in Human Breast Cancer Cells. *Breast Cancer Research*, 7: 589-597.
- Khopkar, S. M.. (1990). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta. Penerbit Universitas Indonesia. Hal. 216-217.
- Mahardika, A.W., 2004, *Kursus Singkat Kultur Sel*, Laboratorium Ilmu Hayati UGM, Yogyakarta.
- Meiyanto, E., 2002, *Biologi Molekuler*, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Mustarichie, R., Mustiforah, I., dan Levita J., 2011, *Metode Penelitian Tanaman Obat*, Widya Padjajaran, Bandung, 19.
- Puji, A.D.N., Sukardiman, dan Tenia,H., 2011, *Uji Sitotoksitas dan Efek Ekstrak Spons Laut Aaptos suberitoides erhadap Sel Kanker Serviks (HeLa) Secara In Vitro*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, ITS, Jawa Timur.
- Riliana, Azis, F., 2010, *Teknik-Teknik Dasar Kultur Sel dan Limfosit Mamalia*, Laboratorium Pengembangan Teknologi Industri Agro dan Biomedika. Tangerang.
- Rosita A. T., Wijayanti T. R., Widayanti E. Hermawan A., 2009, *Sel HeLa*, <http://www.crc.farmasi.ugm.ac.id>, diakses 18 April 2012, 1.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, B., Kaur, H., 2011, *Phytochemical screening and Extraction*, <http://www.ipharmsciencia.com/Dacuments/1/11.pdf>, diakses 6 Juli 2012, 103 - 104.

- Watson, D.G. (2010). Analisis Farmasi: Buku Ajar untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi. Edisi II. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal. 334
- Soeksmanto, A., P, Simanjuntak, dan M.A. Subroto. 2010. *Uji toksisitas ekstrak air sarang semut (Myrmecodia pendans) terhadap histologi organ hati mencit*. J. Nature Indonesia 12(2):152-155.
- Subroto, M.A. 2007. *Sarang Semut Penakluk Penyakit Maut*. <http://ilusa.ne/newslettet/berita.com>.
- Subroto, M. A., dan Suparto, H.(2008). Gempur Sarang Semut. Jakarta:Penebar Swadaya.
- Smith, L., Watson, M.B., O’Kane, S.L., Drew, P.J., & Lind, M.J. 2006. The Analysis of Doxorubicin Resistance in Vivo. Journal Pharmacological Science, 101: 151- 158.

**Lampiran 1. Gambar sarang semut dan perlakuan**

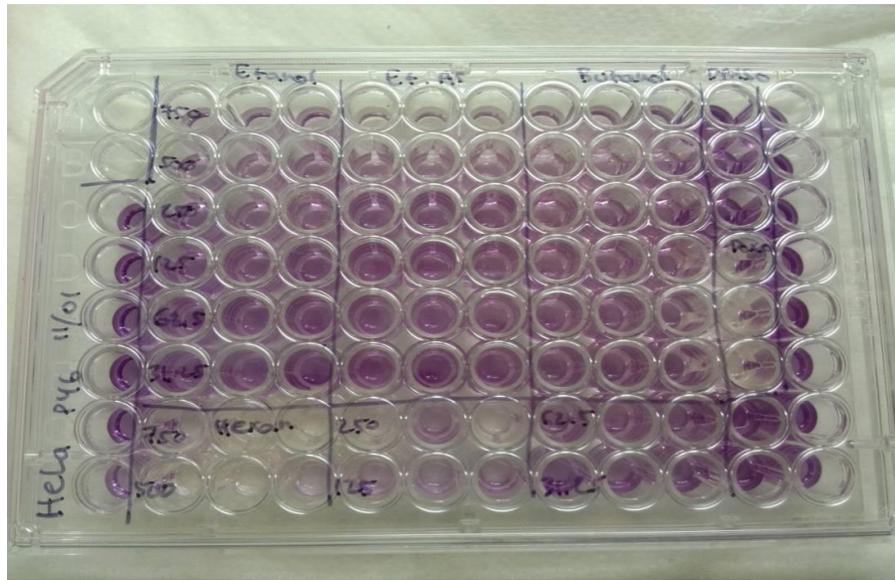
**DAFTAR GAMBAR**



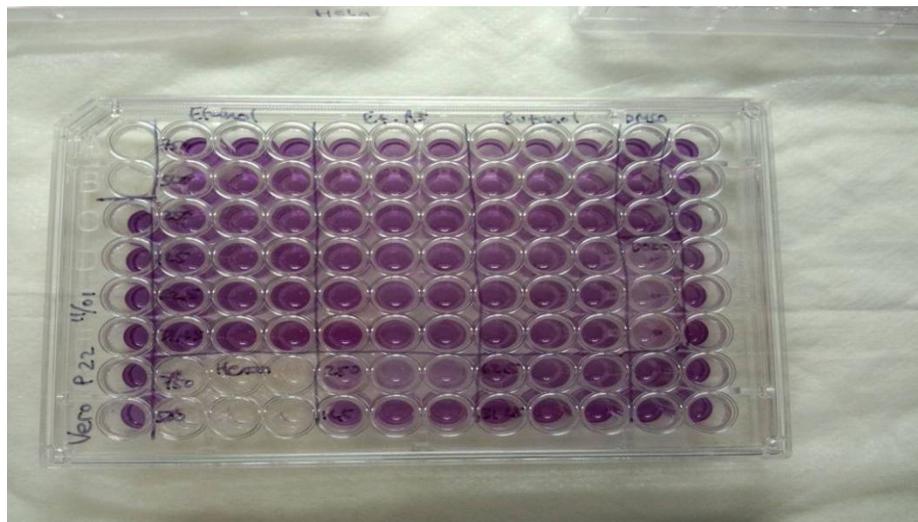
**Gambar 1. Umbi Sarang Semut**



**Gambar 2. Tempat maserasi sarang semut (*Myrmecodia erinaceae* Becc.)**

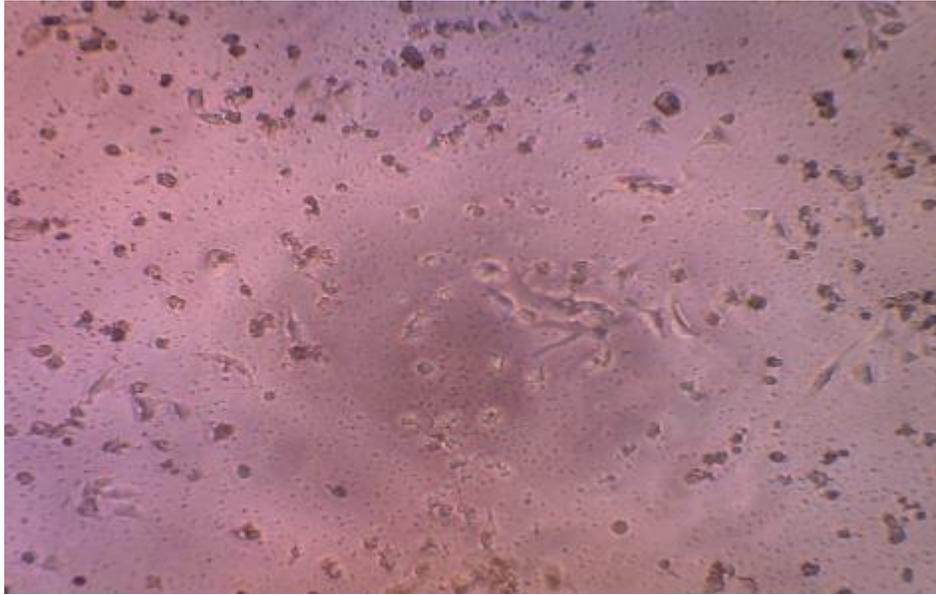


**Gambar 3. Plate yang berisi sel HeLa dengan metode MTT**

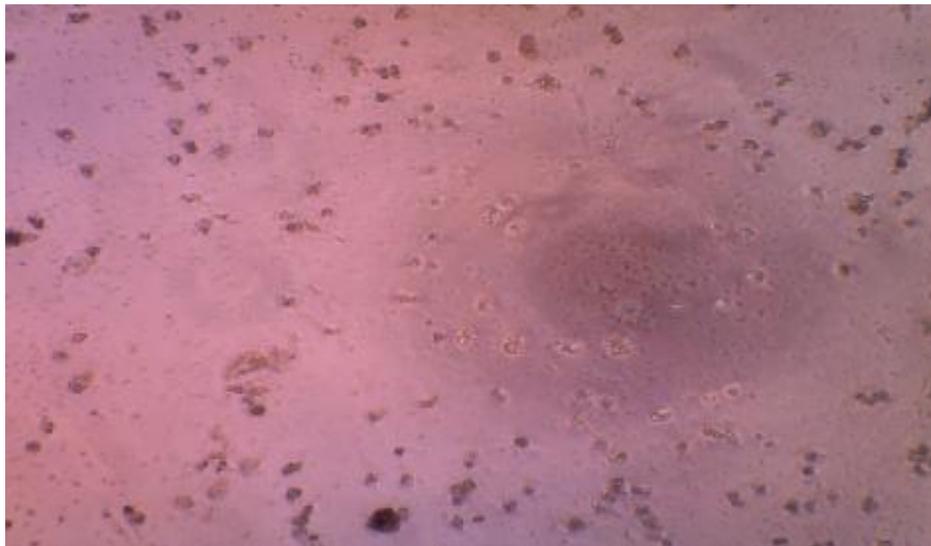


**Gambar 4. Plate yang berisi sel Vero dengan metode MTT**

**Lampiran 2. Gambar Hasil Morfologi Sel Hela dan Sel verro**

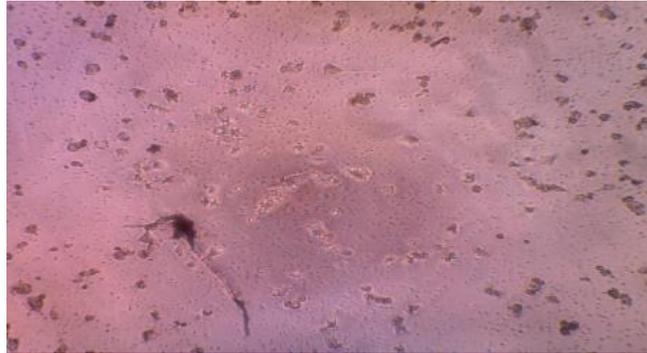


**Gambar 1. Kontrol negatif DMSO 0,1% Sel Hela**

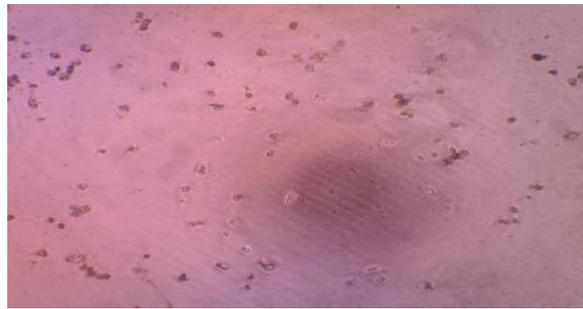


**Gambar 2.kontrol positif doxo 5ppm Sel Hela**

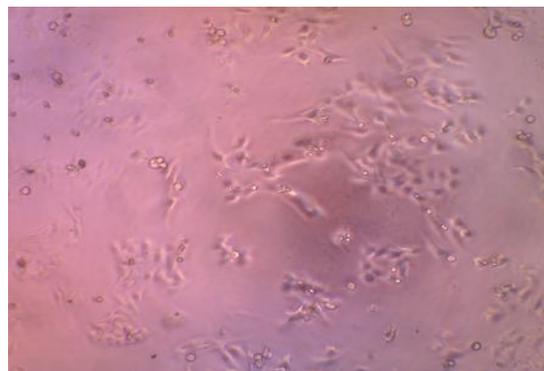
**Gambar 3. Perlakuan inkubasi 48 jam sel HeLa dengan konsentrasi sampel**



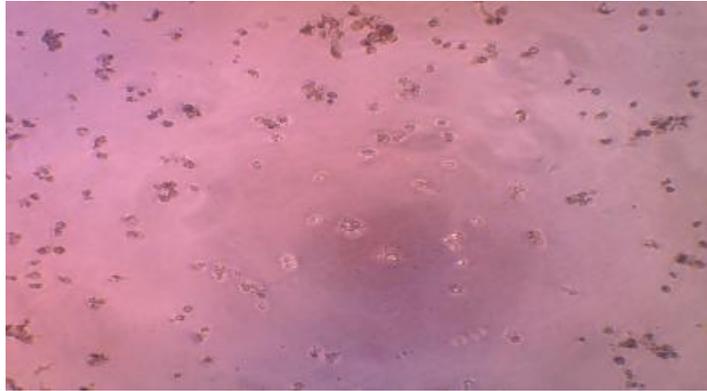
**konsetrasi sampel 31,25**



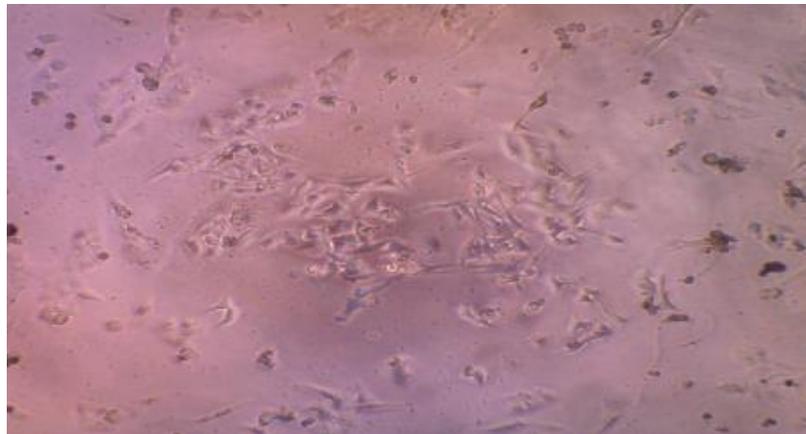
**konsetrasi sampel 62,5**



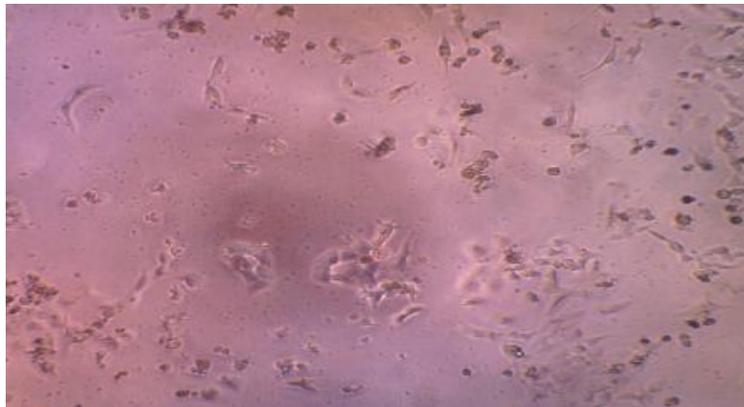
**konsetrasi sampel 125**



**konsetrasi sampel 250**



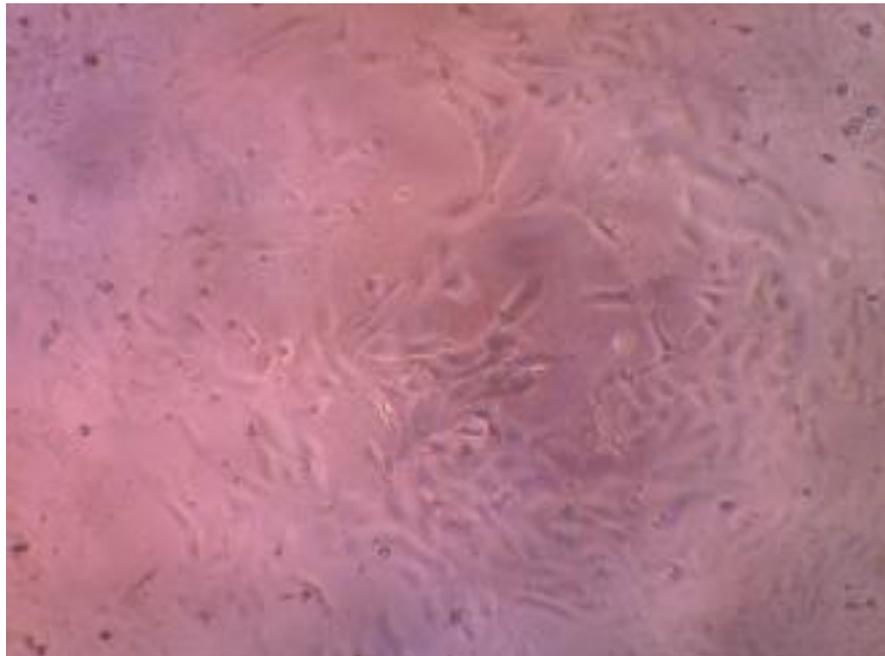
**konsetrasi sampel 500**



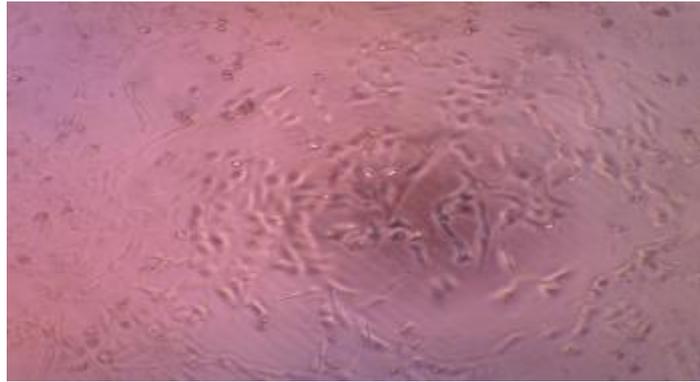
**konsetrasi sampel 750**



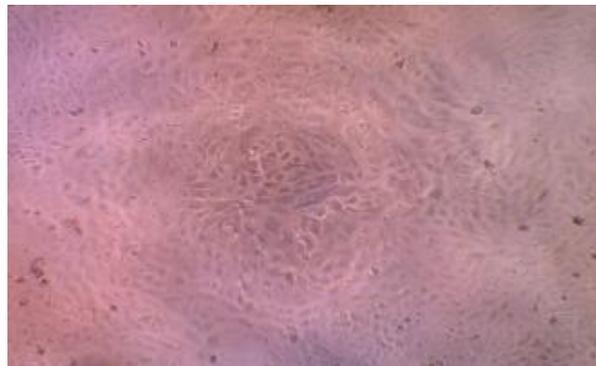
**Gambar 4. Kontrol negatif DMSO 0,1% Sel Verro**



**Gambar 6. Perlakuan inkubasi 48 jam sel Verro dengan konsentrasi sampel**



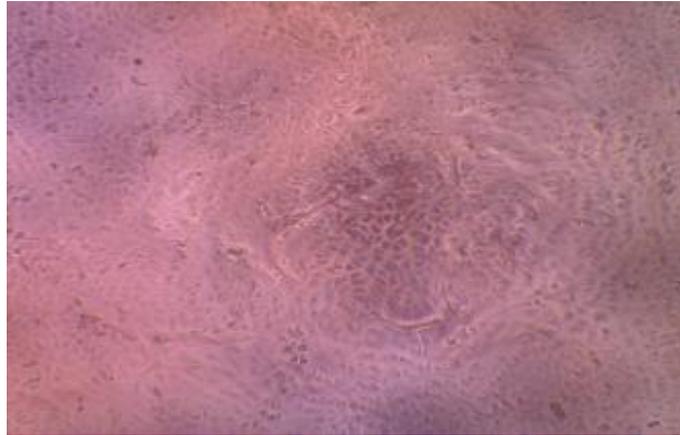
**konsetrasi sampel 31,25**



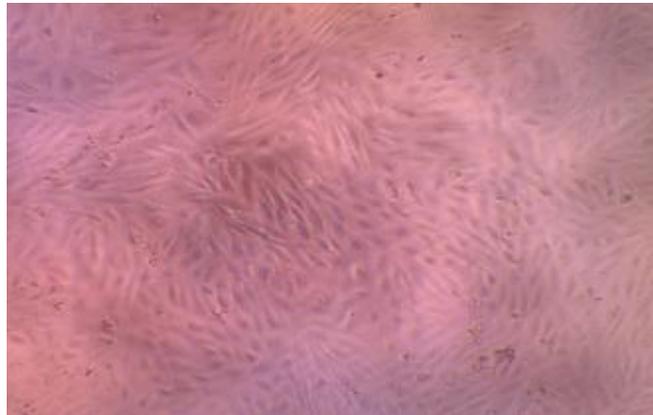
**konsetrasi sampel 62,5**



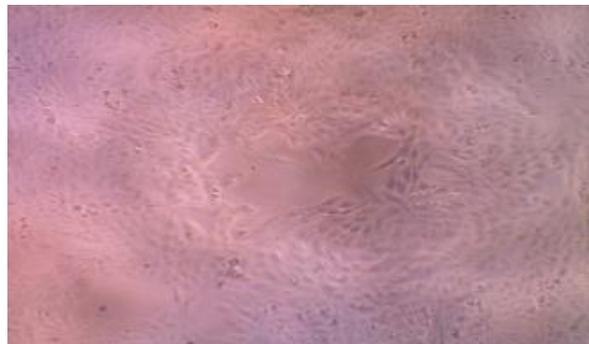
**konsetrasi sampel 125**



**konsetrasi sample 250**

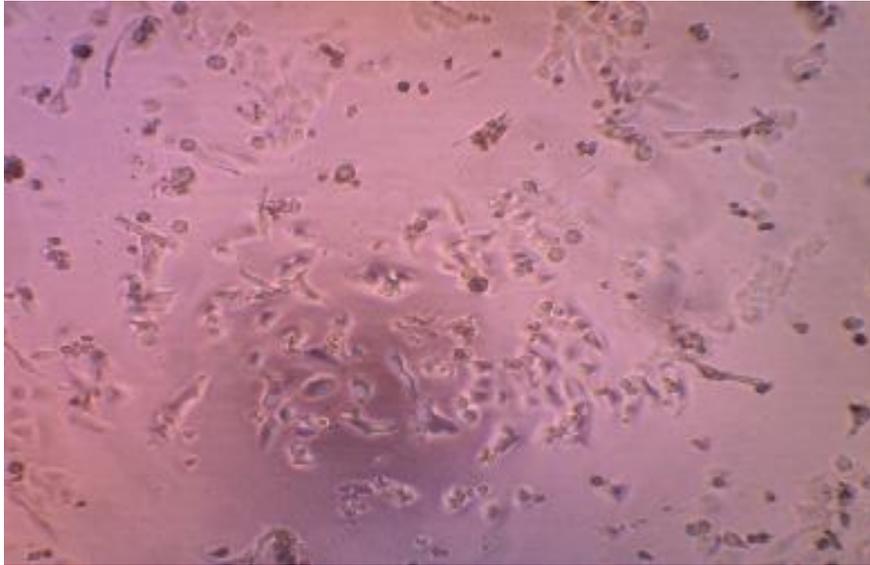


**konsetrasi sample 500**

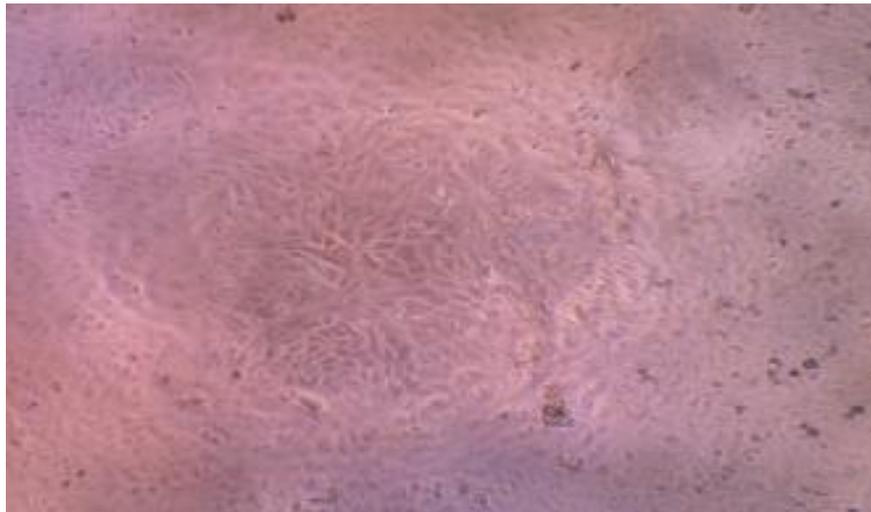


**konsetrasi sample 750**

**Lampiran 3. Gamabar Sel Hela da Sel Verro tanpa perlakuan**

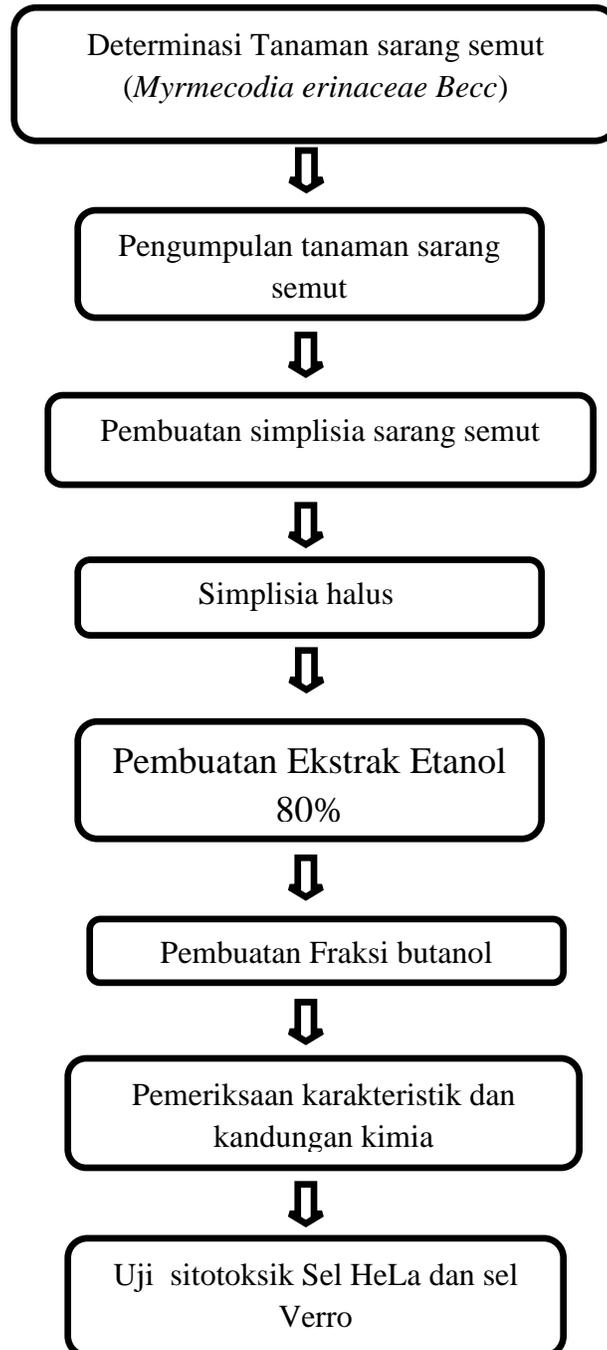


**Gambar 1. Sel Hela tanpa perlakuan**



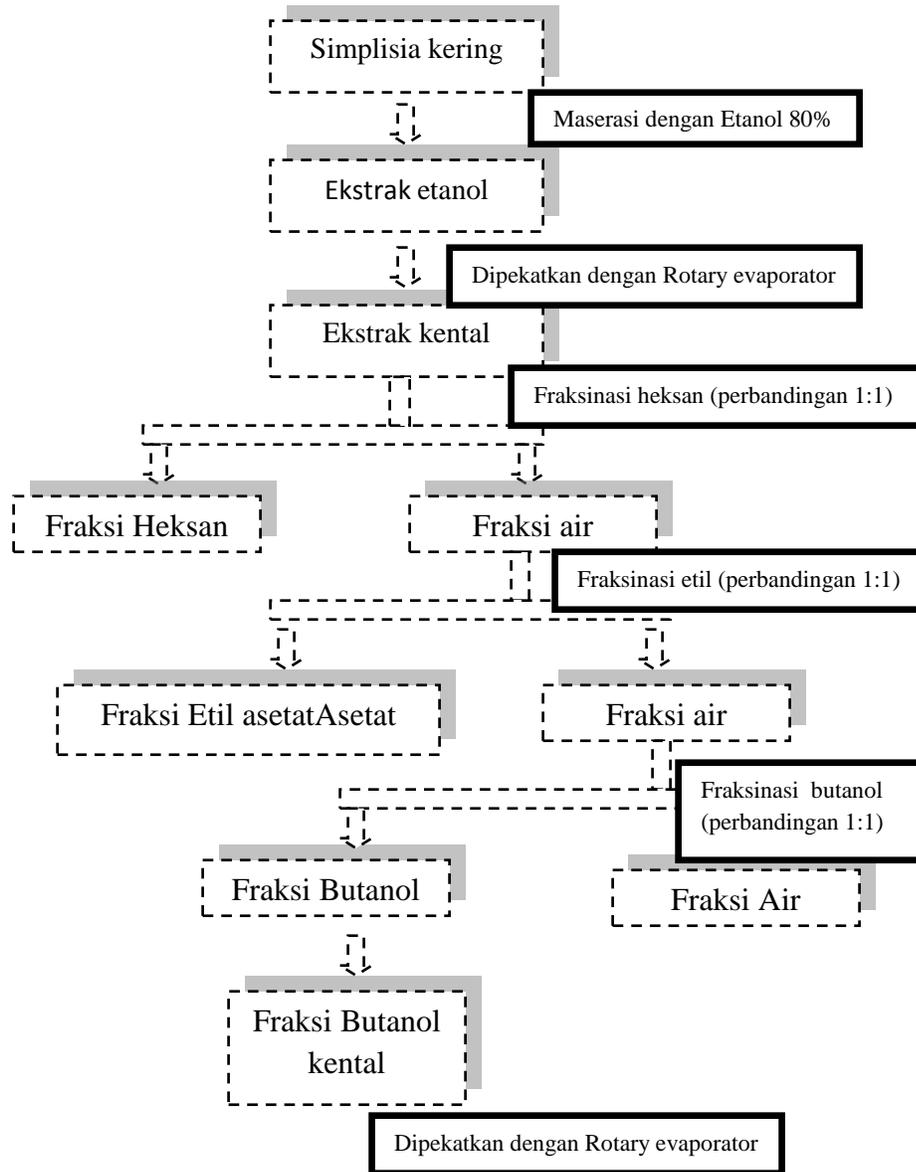
**Gambar 2. Sel verro tanpa perlakuan**

**Lampiran 4. Bagan prosedur pengerjaan uji sitotoksik sel hela dan sel verro**

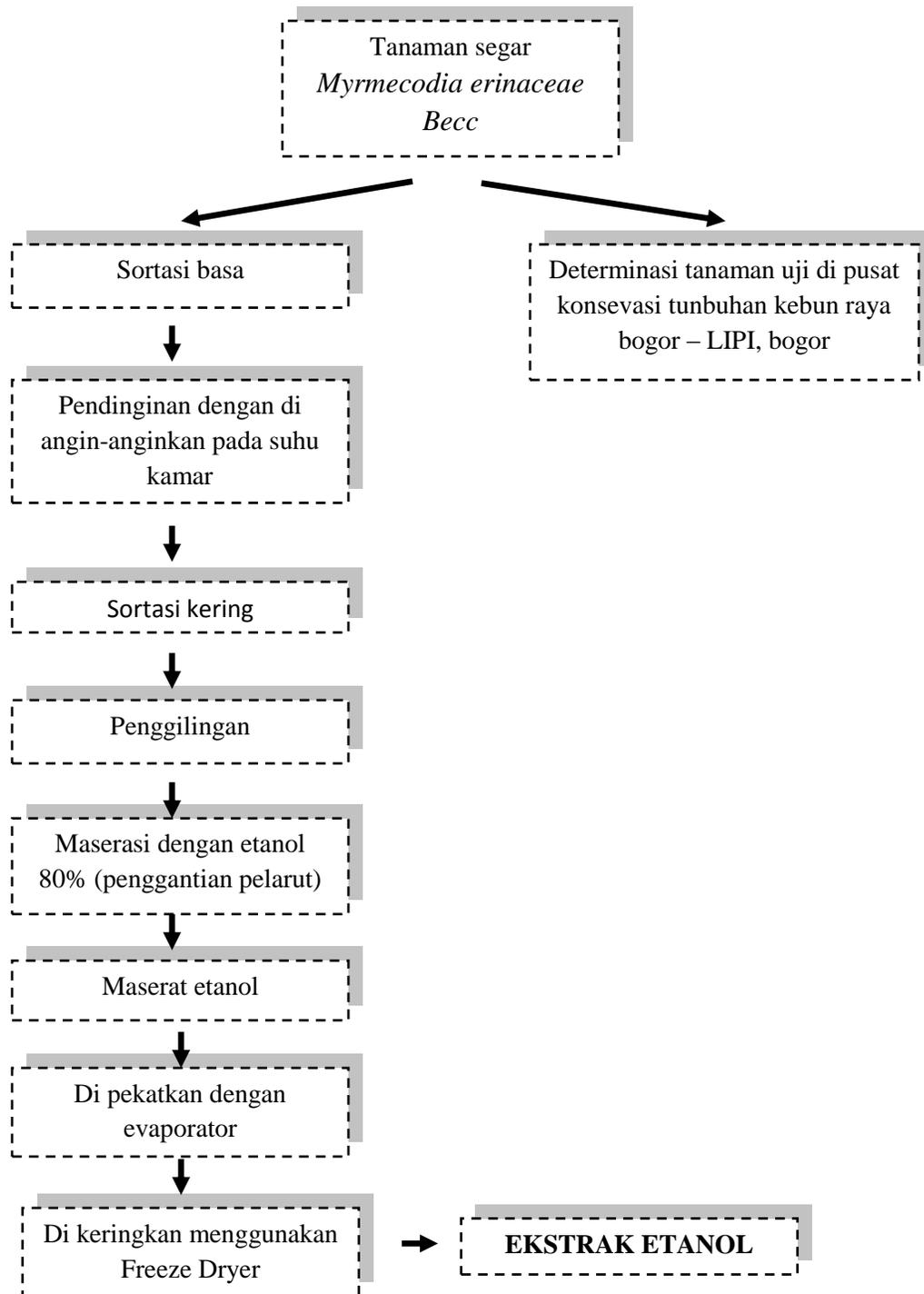


**Lampiran 5. Skema kerja Fraksinasi Butanol umbi Sarang Semut**

*(Myrmecodia erinaceae Becc)*



## Lampiran 6. Skema pembuatan Ekstrak Etanol Sarang Semut



### Lampiran 7. Penapisan fitokimia fraksi butanol

No	Nama Golongan	Teori	Hasil Pengujian	Pengamatan
1.	Alkaloid	Dragendrof : ↓ jingga Mayer : ↓ putih Bouchardad : ↓ coklat	-	Tidak terjadi perubahan, dan tidak terdapat endapan
2.	Flavonoid	Warna merah naik	+	Warna merah naik
3.	Terpenoid	Cincin kecoklatan	+	Cincin kecoklatan
4.	Steroid	Cincin hijau kebiruan	-	Tidak terjadi perubahan
5.	Tanin	Biru hitam	-	Tidak terjadi perubahan
6.	Gula pereduksi	Endapan merah bata	+	Terdapat merah bata
7.	Saponin	Ada buih (1-10 cm)	+	Terdapat buih
8.	Fenol	Warna merah	+	Perubahan Larutan warna merah

**Lampiran 8. Hasil determinasi umbi sarang semut(*Myrmecodia erinaceae* Becc)**

	<b>LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA</b> <b>( Indonesian Institute of Sciences )</b> <b>PUSAT KONSERVASI TUMBUHAN KEBUN RAYA BOGOR</b> <b>( Center for Plant Conservation Bogor Botanic Gardens )</b> Jalan Ir. H. Juanda No. 13, P.O. BOX 309 Bogor 16003, Indonesia Telepon (0251) 8322187 - 8321657 - 8322220, 8352519, Fax. 62 (251) 8322187, 8311362 e-mail : kriblipi@indosat.net.id www.bogorbotanicgardens.org	
Nomor : <i>433</i> /IPH.3/IKS/2015		Bogor, <i>26</i> Januari 2015
Lamp. : -		
Perihal : Identifikasi tanaman		
Kepada Yth. Dr. Silvia Sunni, M. Pharm.Sc. Manager Pendidikan dan Kemahasiswaan Fakultas Farmasi Universitas Indonesia Depok		
Dengan hormat,		
Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi material tanaman berupa batang dan daun yang dibawa ke Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor - LIPI oleh :		
N a m a	:	Sri Teguh Rahayu
N P M	:	1306436306
adalah dari jenis <i>Myrmecodia erinaceae</i> Becc., suku Rubiaceae, sarang semut.		
Demikian surat keterangan ini kami sampaikan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.		
 KEPALA  Dr. Didik Widayamoko, M.Sc. S.		

**Lampiran 9. Perhitungan Rendemen fraksi butanol dari ekstrak kental etanol 80% umbi sarang semut (*Myrmecodia erinaceae becc*)**

ekstrak etanol 80% yang ditimbang = 20,4 gram

rendemen fraksi butanol =  $\frac{\text{Bobot fraksi butanol} \times 100\%}{\text{Bobot Ekstrak Kental}}$

rendemen fraksi butanol =  $\frac{1,944 \text{ gram} \times 100\%}{20,4 \text{ gram}}$   
= 9,525%

**Lampiran 10. Perhitungan Rendemen ekstrak kental etanol 80% umbi sarang semut (*Myrmecodia erinaceae becc*)**

- Serbuk simplisia sarang semut = 6147 gram
- Hasil ekstrak etanol *Myrmecodia erinaceae becc* di peroleh sebesar

1241,45 g sehingga dapat di peroleh rendemen sebesar :

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{1241,45 \text{ g}}{6147 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= \frac{1241,45}{6147} \times 100\%$$

$$= 20,196\%$$

### Lampiran 11. Perhitungan Hasil susut pengeringan

Bobot botol timbang + zat sebelum pengeringan (gr)	Bobot botol timbang + zat setelah pengeringan (gr)	Senyawa yang hilang (%)
33,46	33,35	0,329
	33,35	0,329
	33,35	0,329
	33,35	0,329
Rata – rata	33,35	0,329

$$\text{Rumus} = \frac{\text{Bobot sebelum dikeringkan} - \text{bobot setelah dikeringkan}}{\text{bobot sebelum dikeringkan}} \times 100\%$$

$$= \frac{33,46 - 33,35}{33,46} \times 100\%$$

$$= 0,328 \%$$

## Lampiran 12. Pembuatan dosis fraksi butanol

Pembuatan sampel fraksi umbi sarang semut (*Myrmecodia erinaceae becc*)

fraksi butanol ekstrak sarang semut + DMSO 5000 ppm

Konsentrasi uji : 750 ppm , 500 ppm , 125 ppm , 62,5 ppm , 31,25 ppm

Pengenceran ad 1000 µl

Pengenceran I : 750 ppm (stok I)

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

$$V_1 = \frac{V_2 \times N_2}{N_1}$$

$N_1$

$$V_1 = \frac{750 \text{ ppm} \times 1000 \mu\text{l}}{5000 \text{ ppm}} = 150 \mu\text{l}$$

5000 ppm

Media kultur yang ditambahkan =  $1000 \mu\text{l} - 150 \mu\text{l} = 850 \mu\text{l}$

Pengenceran II : 500 ppm (stok II)

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

$$V_1 = \frac{V_2 \times N_2}{N_1}$$

$N_1$

$$V_1 = \frac{500 \text{ ppm} \times 1000 \mu\text{l}}{5000 \text{ ppm}} = 100 \mu\text{l}$$

5000 ppm

Media kultur yang ditambahkan =  $1000 \mu\text{l} - 100 \mu\text{l} = 900 \mu\text{l}$

Dalam pembuatan sampel uji digunakan konsentrasi 500ppm (stok II)

Pembuatan Sampel 250ppm

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

$$V_1 = \frac{V_2 \times N_2}{N_1}$$

$N_1$

$$V_1 = \frac{250 \text{ ppm} \times 1000 \mu\text{l}}{500 \text{ ppm}} = 500 \mu\text{l}$$

500ppm

Media kultur yang ditambahkan =  $1000 \mu\text{l} - 500 \mu\text{l} = 500 \mu\text{l}$

### Pembuatan Sampel 125ppm

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

$$V_1 = \frac{V_2 \times N_2}{N_1}$$

$$N_1$$

$$V_1 = \frac{125 \text{ ppm} \times 1000 \mu\text{l}}{250 \text{ ppm}} = 500 \mu\text{l}$$

$$250 \text{ ppm}$$

$$\text{Media kultur yang ditambahkan} = 1000 \mu\text{l} - 500 \mu\text{l} = 500 \mu\text{l}$$

### Pembuatan Sampel 62,5 ppm

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

$$V_1 = \frac{V_2 \times N_2}{N_1}$$

$$N_1$$

$$V_1 = \frac{62,5 \text{ ppm} \times 1000 \mu\text{l}}{125 \text{ ppm}} = 500 \mu\text{l}$$

$$125 \text{ ppm}$$

$$\text{Media kultur yang ditambahkan} = 1000 \mu\text{l} - 500 \mu\text{l} = 500 \mu\text{l}$$

Pembuatan Sampel 31,25 ppm

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

$$V_1 = \frac{V_2 \times N_2}{N_1}$$

$$N_1$$

$$V_1 = \frac{31,25 \text{ ppm} \times 1000 \mu\text{l}}{62,5} = 500 \mu\text{l}$$

$$62,5 \text{ ppm}$$

$$\text{Media kultur yang ditambahkan} = 1000 \mu\text{l} - 500 \mu\text{l} = 500 \mu\text{l}$$

### **Lampiran 13. Pembuatan Kontrol Positif (Doxorubisin)**

Pembuatan kontrol positif 0,1 %

$$\frac{0,1}{100} \times 1500 = 1,5 \mu\text{l}$$

Media kultur yang ditambahkan  $1500 \mu\text{l} - 1,5 \mu\text{l} = 1498,5 \mu\text{l}$

#### **Lampiran 14. pembuatan Kontrol Negatif DMSO**

Pembuatan kontrol negatif DMSO 0,1 % :

$$\frac{0,1}{100} \times 1500 = 1,5 \mu\text{l}$$

Media kultur yang ditambahkan  $1500 \mu\text{l} - 1,5 \mu\text{l} = 1498,5 \mu\text{l}$

### Lampiran 15. Perhitungan persentase Inhibisi pada sel Verro

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{rata2 kontrol sel} - \text{rata2 perlakuan})}{\text{rata-rata kontrol sel}} \times 100\%$$

a. Konsentrasi 750 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,593 - 0,277}{0,593} \times 100\% = 53,26 \%$$

$$0,593$$

$$\% \text{ Viability} = 100\% - 53,26\% = 46,74 \%$$

b. Konsentrasi 500 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,593 - 0,376}{0,593} \times 100\% = 36,50 \%$$

$$0,593$$

$$\% \text{ Viability} = 100\% - 36,50\% = 63,5 \%$$

c. Konsentrasi 250 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,593 - 0,343}{0,593} \times 100\% = 26,72 \%$$

$$\% \text{ Viability} = 100\% - 26,72\% = 73,28 \%$$

d. Konsentrasi 125 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,593 - 0,474}{0,593} \times 100\% = 20,02 \%$$

$$\% \text{ Viability} = 100\% - 20,02\% = 79,98 \%$$

e. Konsentrasi 62,5 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,593 - 0,549}{0,593} \times 100\% = 7,42 \%$$

$$\% \text{ Viability} = 100\% - 7,42\% = 92,58\%$$

f. Konsentrasi 31,25 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,593 - 0,547}{0,593} \times 100\% = 7,76 \%$$

$$0,593$$

$$\% \text{ Viability} = 100 - 7,76\% = 92,24 \%$$

### Lampiran 16. Perhitungan persentase Inhibisi pada sel Hela

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{rata2 kontrol sel} - \text{rata2 perlakuan})}{\text{rata} - \text{rata kontrol sel}} \times 100\%$$

a. Konsentrasi 750 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,308 - 0,130}{0,0308} \times 100\% = 57,84\%$$

$$0,0308$$

$$\% \text{ Viability} = 100\% - 57,84\% = 42,16\%$$

b. Konsentrasi 500 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,308 - 0,239}{0,0308} \times 100\% = 22,38\%$$

$$0,0308$$

$$\% \text{ Viability} = 100\% - 22,38\% = 77,62\%$$

c. Konsentrasi 250 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,308 - 0,259}{0,0308} \times 100\% = 15,89 \%$$

$$\% \text{ Viability} = 100\% - 15,89\% = 84,11 \%$$

d. Konsentrasi 125 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,308 - 0,284}{0,0308} \times 100\% = 7,89\%$$

$$\% \text{ Viability} = 100\% - 7,89\% = 92,11 \%$$

e. Konsentrasi 62,5 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,308 - 0,277}{0,0308} \times 100\% = 10,16\%$$

$$\% \text{ Viability} = 100\% - 10,16\% = 89,84\%$$

f. Konsentrasi 31,25 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{0,308 - 0,267}{0,0308} \times 100\% = 13,51 \%$$

$$\% \text{ Viability} = 100 - 13,51\% = 96,46 \%$$

## Lampiran 17. Perhitungan IC<sub>50</sub>

- a. Pada sel HeLa

Dari log konsentrasi diperoleh

$$Y = 4,218 + 0,059x$$

$$R = 0,826$$

Untuk menghitung nilai IC<sub>50</sub>, maka probit = 50 (Y=50)

$$50 = 4,218 + 0,059x$$

$$X = 775,96$$

$$IC_{50} = 775,96 \text{ ppm}$$

Nilai IC<sub>50</sub> yang didapat menunjukkan bahwa fraksi butanol umbi sarang semut (*Myrmecodia erinaceae* Becc.) bersifat toksik atau berpotensi sebagai antikanker.

- b. Pada sel Vero

Dari log konsentrasi diperoleh

$$Y = 7,778 + 0,061x$$

$$R = 0,962$$

Untuk menghitung nilai IC<sub>50</sub>, maka probit = 50 (Y=50)

$$50 = 7,778 + 0,061x$$

$$X = 692,16$$

$$IC_{50} = 692,16 \text{ ppm}$$