

**UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL 70% DAUN MURBEI (*Morus alba* L.)
TERHADAP KANKER SERVIKS (HeLa) SECARA *IN VITRO***

Skripsi
Untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh gelar
Sarjana Farmasi

Disusun oleh:
Widya Suci Rakhmawati
1304015546



PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2019

Skripsi dengan Judul

**UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL 70% DAUN MURBEI (*Morus alba* L.)
TERHADAP KANKER SERVIKS (HeLa) SECARA *IN VITRO***

Telah disusun dan dipertahankan di hadapan penguji oleh:
Widya Suci Rakhmawati, NIM 1304015546

	Tanda Tangan	Tanggal
Ketua <u>Wakil Dekan I</u> Drs. Inding Gusmayadi, M.Si., Apt.		<u>28/7/20</u>
<u>Penguji I</u> Dr. H. Priyanto, M.Biomed., Apt.		<u>8/1-2020</u>
<u>Penguji II</u> Kriana Efendi, M.Farm., Apt.		<u>6/1-2020</u>
<u>Pembimbing I</u> Dr. Kusmardi, M.Biomed.		<u>3/1-2020</u>
<u>Pembimbing II</u> Drs. H. Sediarmo, M.Farm., Apt.		<u>13/1-2020</u>
Mengetahui:		
Ketua Program Studi Kori Yati, M.Farm., Apt.		<u>15/1-2020</u>

Dinyatakan lulus pada tanggal: **07 Desember 2019**

ABSTRAK

UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL 70% DAUN MURBEI (*Morus alba* L.) TERHADAP KANKER SERVIKS (HeLa) SECARA *IN VITRO*

Widya Suci Rakhmawati
1304015546

Kanker serviks merupakan penyakit ganas yang terjadi pada leher rahim. Diketahui daun murbei mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan steroid. Kandungan tersebut diketahui dapat menghambat pertumbuhan kanker. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol 70% daun murbei terhadap kanker serviks (HeLa) secara *in vitro*. Metode yang digunakan yaitu MTT *assay* dengan parameter IC₅₀ yang kemudian dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan. Kelompok I (kontrol uji) diberi ekstrak etanol 70% daun murbei dengan konsentrasi berbeda dan kelompok II (kontrol positif) diberi Cisplatin. Hasil penelitian menunjukkan nilai IC₅₀ ekstrak etanol 70% daun murbei sebesar 85,59 µg/ml dengan potensi relatif 0,086 kali dari cisplatin. Dilihat dari nilai IC₅₀ yang berada pada rentang 20-100 µg/ml dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% daun murbei memiliki aktivitas sitotoksik sedang terhadap sel kanker serviks (HeLa).

Kata Kunci: *Morus alba* L., Sitotoksik, Kanker Serviks, MTT Assay

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmannirahim

Alhamdulillah segenap puji dan syukur hanya milik Allah SWT, atas berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi berjudul **“UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL 70% DAUN MURBEI (*Morus alba* L.) TERHADAP KANKER SERVIKS (HeLa) SECARA *IN VITRO*”**. Sholawat dan salam semoga selalu tercurah kepada Nabi Muhammad SAW.

Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi tugas akhir sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) pada Program Studi Farmasi dan Sains.

Pada kesempatan yang baik ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si. selaku Dekan Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA
2. Bapak apt. Drs. Inding Gusmayadi, M.Si. selaku Wakil Dekan I Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA
3. Ibu Dra. Sri Nevi Gantini, M.Si. selaku Wakil Dekan II Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA
4. Ibu apt. Ari Widayanti, M.Farm. selaku Wakil Dekan III Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA
5. Bapak Anang Rohwiyono, M.Ag., selaku Wakil Dekan IV Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA
6. Ibu apt. Kori Yati, M.Farm. selaku Ketua Program Studi Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA
7. Ibu apt. Faridhatul Hasanah, M.Farm. selaku Pembimbing Akademik selama penulis mengikuti perkuliahan dikampus Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA
8. Bapak Dr. Kusmardi, M.Biomed. selaku pembimbing I yang telah banyak memberikan bimbingan, membantu, serta mengarahkan penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
9. Bapak apt. Drs. H. Sediarmo, M.Farm. selaku pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan, saran, dan nasehat yang sangat berarti selama penelitian dan penyusunan skripsi ini sehingga dapat diselesaikan.
10. Keluarga tercinta atas doa serta dorongan semangatnya kepada penulis, baik moril maupun materi.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan ini masih memiliki banyak kekurangan karena keterbatasan ilmu dan kemampuan penulis. Untuk itu saran dan kritik dari pembaca sangat penulis harapkan. Penulis berharap skripsi ini dapat berguna bagi semua pihak yang memerlukan. Akhir kata, penulis sampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah berperan dalam penulisan skripsi ini dari awal hingga akhir.

Jakarta, Desember 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Hlm
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan Penelitian	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Landasan Teori	4
1. Tanaman Daun Murbei	4
2. Simplisia	5
3. Ekstraksi	5
4. Kanker	6
5. Pengobatan Kanker	7
6. Cisplatin	10
7. Kanker Serviks dan Kultur Sel	11
8. Metode Uji Aktivitas Antikanker	12
B. Kerangka Berpikir	12
C. Hipotesis	13
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	14
A. Tempat dan Waktu Penelitian	14
1. Tempat Penelitian	14
2. Waktu Penelitian	14
B. Alat dan Bahan Penelitian	14
1. Alat Penelitian	14
2. Bahan Penelitian	14
C. Prosedur Penelitian	15
1. Determinasi dan Pengumpulan Tanaman	15
2. Penyiapan Bahan Uji dan Ekstrak	15
3. Penapisan Fitokimia Ekstrak	16
4. Pemeriksaan Mutu Ekstrak	16
5. Pembuatan Reagen	17
6. Sterilisasi Alat	17
7. Kultur Sel (Preparasi Sel)	17
8. Perhitungan Kepadatan Sel	18
9. Pembuatan Larutan Uji	18
10. Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT	19
11. Pengolahan Data	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
A. Hasil Penelitian	20

	B. Pembahasan	24
BAB V	SIMPULAN DAN SARAN	27
	A. Simpulan	27
	B. Saran	27
DAFTAR PUSTAKA		28
LAMPIRAN		30



DAFTAR TABEL

		Hlm
Tabel	1. Hasil Ekstraksi Daun Murbei	20
Tabel	2. Hasil Organoleptik Serbuk Daun Murbei	21
Tabel	3. Hasil Organoleptik Ekstrak Daun Murbei	21
Tabel	4. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Murbei	22
Tabel	5. Hasil Susut Pengeringan dan Rendemen Ekstrak Daun Murbei (<i>Morus alba</i> L.)	22
Tabel	6. Hasil Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Daun Murbei (<i>Morus alba</i> L.) terhadap Sel Kanker Serviks (HeLa)	23
Tabel	7. Hasil Uji Sitotoksik Cisplatin terhadap Sel Kanker Serviks (HeLa)	23



DAFTAR GAMBAR

	Hlm
Gambar 1. Murbei (<i>Morus alba</i> L.)	4
Gambar 2. Rumus Bangun Cisplatin	10
Gambar 3. Grafik Hubungan Log Konsentrasi dengan % Inhibisi dengan Probit pada Ekstrak Daun Murbei terhadap Sel Kanker Serviks (HeLa)	25
Gambar 4. Grafik Hubungan Log Konsentrasi dengan % Inhibisi dengan Probit pada Cisplatin terhadap Sel Kanker Serviks (HeLa)	26



DAFTAR LAMPIRAN

		Hlm
Lampiran	1. Hasil Determinasi Daun Murbei (<i>Morus alba</i> L.)	30
Lampiran	2. Skema Pola Penelitian	31
Lampiran	3. Skema Pembuatan Ekstrak etanol 70% Daun Murbei	32
Lampiran	4. Perhitungan Rendemen dan Susut Pengeringan Ekstrak Etanol 70% Daun Murbei	33
Lampiran	5. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun Murbei(<i>Morus alba</i> L.)	34
Lampiran	6. Skema Prosedur Uji Sitotoksik dengan Metode MTT Assay	36
Lampiran	7. Pemetaan Pengisian Larutan Uji Cisplatin	37
Lampiran	8. Pemetaan Pengisian Larutan Ekstrak Etanol 70% Daun Murbei	38
Lampiran	9. Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji Ekstrak Etanol 70% Daun Murbei dan Cisplatin	39
Lampiran	10. Perhitungan Nilai IC ₅₀ Ekstrak Etanol 70% Daun Murbei	40
Lampiran	11. Perhitungan Nilai IC ₅₀ Cisplatin	41
Lampiran	12. Perhitungan Potensi Relatif	42
Lampiran	13. Gambar Alat dan Bahan Penelitian	43
Lampiran	14. Hasil Skrining Fitokimia Daun Murbei (<i>Morus alba</i> L.)	47
Lampiran	15. Hasil Perlakuan Uji Toksisitas pada Daun Murbei dan Cisplatin	48

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker adalah pertumbuhan sel yang tidak normal atau terus menerus dan tidak dapat terkendali yang kemudian dapat merusak jaringan sekitarnya, serta dapat menjalar ketempat yang jauh dari asalnya yang disebut metastasis. Sel kanker berasal atau tumbuh dari setiap jenis sel pada tubuh manusia yang bersifat ganas serta dapat menyebabkan kematian. Kanker ditandai dengan suatu pergeseran pada mekanisme kontrol yang mengatur proliferasi dan diferensiasi sel (Katzung 2007).

Kanker serviks merupakan penyakit ganas yang terjadi pada leher rahim atau pintu masuk daerah rahim. Penyebab kanker serviks adalah virus *Human Papilloma Virus* (HPV) subtype onkogenik, terutama subtype 16 dan 18 memiliki onkogen E6 dan E7 dimana kedua ekspresi gen ini menjadi prasyarat bagi perkembangan kanker dan pertahanan fenotip malignan. *Human Papilloma Virus* (HPV) mempunyai diameter 55 μm dan virus ini ditularkan secara seksual (CCRC 2010).

Secara umum penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama diseluruh dunia. Pada tahun 2010 kanker menjadi penyebab kematian sekitar 8,2 juta orang. Diketahui bahwa pada tahun 2012 terdapat 14.067.894 kasus baru kanker dan 8.201.575 kematian akibat kanker diseluruh dunia. Di Indonesia kanker serviks menduduki urutan kedua dari 10 kanker terbanyak, dan berdasarkan data dari Patologi Anatomi tahun 2010 dengan jumlah insiden sebesar 12,7%. Adapun faktor risiko terjadinya kanker serviks, yaitu aktivitas seksual pada usia muda, berhubungan seksual dengan multipartner, sosial ekonomi rendah, pemakaian pil KB (dengan HPV negatife atau positif), penyakit menular seksual dan gangguan imunitas (Kemenkes 2015).

Pada pengobatan kanker dapat dilakukan dengan pembedahan, penyinaran (radiasi), serta kemoterapi. Salah satu terapi kanker yang paling sering dilakukan adalah kemoterapi. Tujuan utama kemoterapi kanker adalah merusak secara selektif sel tumor yang berbahaya tanpa mengganggu sel normal. Namun ada beberapa efek yang ditimbulkan dari terapi kemoterapi diantaranya efek toksik

jangka panjang seperti depresi sumsum tulang, gangguan pencernaan, neurotoksisitas, serta kardiotoxikitas (Kemenkes 2015).

Pengobatan yang berasal dari bahan alam bertujuan untuk pencegahan (komoprefentif) dengan tujuan pengobatan kurang lebih sama seperti obat sintetik seperti pengobatan kemoterapi (Ma'at 2003). Berdasarkan hasil klasifikasi, daun murbei merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antioksidan (Zafar dkk. 2013).

Pada hasil penelitian sebelumnya analisis ekstrak daun murbei menunjukkan aktivitas tingkat tinggi antioksidan yang dapat memberi keuntungan besar pada pengobatan antikanker. Dilihat dari hasil uji sitotoksik ekstrak daun murbei yang telah diuji pada MCF-7 (sel kanker payudara), HT-29 (sel kanker kolorektal), dan WRL-68 (sel kanker hati) menunjukkan bahwa aktivitas sitotoksitasnya mempunyai nilai IC_{50} 78.87 $\mu\text{g/mL}$, 77.50 $\mu\text{g/mL}$, dan 78,29 $\mu\text{g/mL}$ (Khyade 2015).

Ekstrak etanol 70% daun murbei menunjukkan senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan adalah alkaloid, flavonoid (rutin, kuersetin, asam galat dan asam klorogenik), dan fenol (Hilwiyah 2015). Senyawa flavonoid dapat menghambat pembelahan sel melalui inhibisi proses oksidatif yang dapat menyebabkan inisiasi kanker. Kelangsungan hidup sel kanker juga dapat ditekan melalui penghambatan angiogenesis oleh flavonoid melalui penghambatan angiogenesis sel kanker karena akan mengalami kematian yang disebabkan tidak didaparkannya suplai nutrisi dan oksigen (Hilwiyah 2015).

Pengujian kadar antioksidan menunjukkan adanya korelasi antara kadar total fenolik dan flavonoid dengan aktivitas antioksidan daun murbei. Bahwa dengan kadar total fenol sebesar 8,601% dan flavonoid sebesar 8,047% ekstrak yang semakin tinggi, maka kemampuan menghambat radikal bebas juga semakin tinggi. Hal ini ditunjukkan dengan semakin kecilnya nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*). Nilai IC_{50} menunjukkan kemampuan senyawa antioksidan menghambat senyawa radikal sebanyak 50%. Oleh karena itu, diperlukan penelitian mengenai obat antikanker yang mempunyai efek samping lebih rendah dibandingkan pengobatan kemoterapi yang sudah ada (Pokorny dkk. 2001).

B. Permasalahan Penelitian

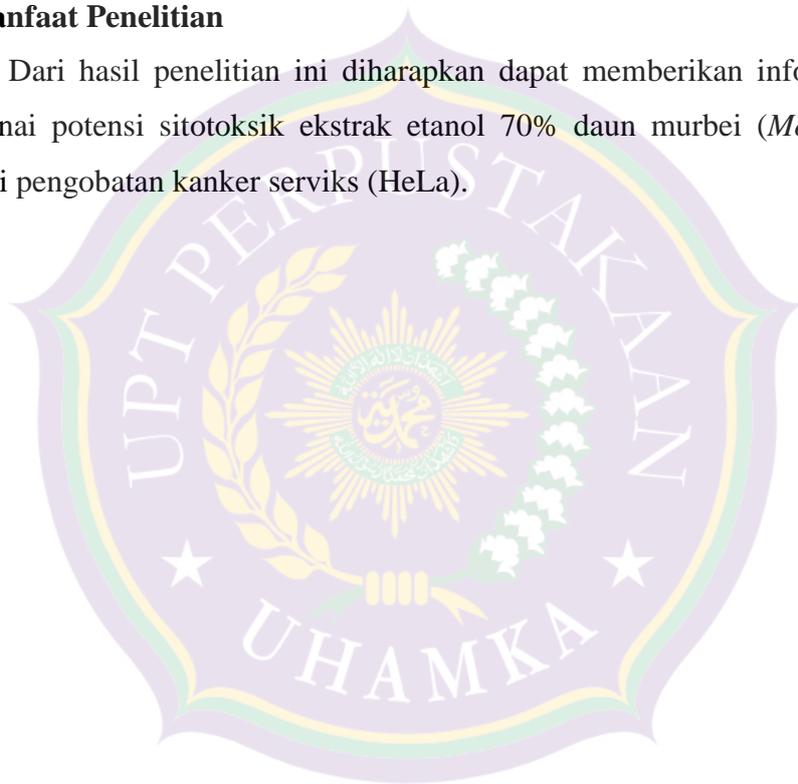
Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka permasalahan yang akan dikaji lebih lanjut dalam penelitian ini adalah apakah ekstrak etanol 70% daun murbei (*Morus alba* L.) memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker servik (HeLa) ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol 70% daun murbei (*Morus alba* L.) terhadap sel kanker serviks (HeLa) dengan metode MTT *assay* secara *in vitro*

D. Manfaat Penelitian

Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai potensi sitotoksik ekstrak etanol 70% daun murbei (*Morus alba* L.) sebagai pengobatan kanker serviks (HeLa).



DAFTAR PUSTAKA

- Amer O, Dkhil MA, dan Al-Quraishy S. 2013. Antischistosomal and Hepatoprotective Activity of Morusalba Leaves Extract. Dalam: *Jurnal of Zoology*. Pakistan.
- Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC). 2013. *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT*. Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta. <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/en/> (Online diakses tanggal 10 November 2017).
- Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC). 2010. *Prosedur Tetap Sub Kultur*. Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta. http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=10 (Online diakses tanggal 10 November 2017).
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Materia Medika Indonesia* Jilid VI. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hlm.331
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Buku Panduan teknologi ekstrak*. Dirjen POM, Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Doyle A, Graffiths JB. 2000. *Cell and Tissue Culture for Medica Research*. John Willey and Sons Ltd. New York.
- Freshney RI. 1987. *Animal Cell Culture Practical Approach*. Edisi 1. IRL Press. Washington DC.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Institute Teknologi Bandung. Bandung.
- Hilwiyah A, Lukiati B, dan Nugrahaningsih. 2015. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktifitas Antioksidan Serta Kadar Total Fenol Flavonoid Ekstrak Etanol Murbei (*Morus alba L.*). Dalam: *Jurnal Biologi*. Malang.
- Katzung BG. 2007. *Basic & Clinical Pharmacology*. San Francisco. University of California.
- Kementrian Kesehatan RI. 2015. *Panduan Penatalaksanaan Kanker Serviks*. Komite Penanggulangan Kanker Nasional RI. Jakarta.
- Khyade VB. 2015. Antioxodant Activity and Phenolic Compounds of Mulberry, *Morus alba (L)* (Variety: Baramatiwali). Dalam: *Jurnal Departemen of Zoology*. Dist Pune. India.

- Lee SH, Choi SY, Kim H, Hwang JS, Lee BG, Gao JJ dan Kim SY. 2002. *Mulberroside F Isolated from the Leaves of Morus alba Inhibits Melanin Biosynthesis*. Biological and Pharmaceutical Bulletin.
- Ma'at S. 2001. *Manfaat Tanaman Obat Asli Indonesia Bagi Kesehatan*. Agrobisnis Biofarmaka Kerjasama Departemen Pertanian dan IPB. Bogor.
- Mallaleng HR, Purwaningtyas U, Hermawati R, Solichah N, dan Syah FZ. 2011. *Tanaman Obat untuk Penyakit Sindrom Metabolisme (Metabolic Syndrome Disease)*. Universitas Negeri Malang (UM Press). Malang
- Novel S, Nuswantara, Safitri R. 2010. *Kanker Serviks dan Infeksi Human Pappilomavirus (HPV)*. Jakarta: Javamedia Network.
- Pokorny J, Yanishlieva N, dan Gordon M. 2001. *Antioxidant In Food, Practical Applications*. Cambridge Woodhead Publishing Limited. Inggris.
- Salmon SE, Sartorelli AC. 2004. *Kemoterapi Kanker Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi VIII*. Salemba Medika. Jakarta
- Saifudin, Azis, Viesa, Rahayu. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu .
- Siswandono, Soekardjo B. 2000. *Kimia Medisinal II*. Surabaya: Universitas Airlangga Press.
- Yen Gou Chin. 1996. Extraction and Identification of Antioxidant Components from the Leaves of Mulberry (*Morus alba L.*). *National Chung Hsing University*.
- Zafar MS, Muhammad F, Javed I, Akhtar M. Khaliq T, Aslam B, Waheed A, Yasmin R dan Zafar H. 2013. White Mulberry (*Morus alba*): A Brief Phytochemical and Pharmacological Evaluations Account. Dalam; *Journal International of Agriculture and Biology*.
- Wahyuni FS, Sutma S, Aldi Y. 2011. Uji Efek Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Buah Asam Kandis (*Gracia cowa roxb*) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D Dengan Metoda MTT (Microtetrazolium) Assay. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*. 16(2): 209-215
- World Health Organization. 2014. *Comprehensive Cervical Cancer Control: A Guide To Essential Practice*. Second Edition. WHO; Hlm 180-185.