

**UJI POTENSI ANTIKANKER PAYUDARA EKSTRAK ETANOL LIDAH  
MERTUA (*Sansevieria trifasciata* Prain) MENGGUNAKAN SEL T-47D  
SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh:

**DESY SARI UTAMI**

**NIM 13620063**



**JURUSAN BIOLOGI**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI**

**MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

**2018**

**UJI POTENSI ANTIKANKER PAYUDARA EKSTRAK ETANOL LIDAH**

**MERTUA (*Sansevieria trifasciata* Prain) MENGGUNAKAN SEL T47D**

**SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

**Diajukan kepada:**

**Universitas Islam Negeri Mulana Malik Ibrahim Malang**

**Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam**

**Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh:**

**DESY SARI UTAMI**

**NIM. 13620063**

**JURUSAN BIOLOGI**

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

**UNIVERSITAS ISLAM NEGERI**

**MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

**2018**

**UJI POTENSI ANTIKANKER PAYUDARA EKSTRAK ETANOL LIDAH  
MERTUA (*Sansevieria trifasciata Prain*) MENGGUNAKAN SEL T-47D  
SECARA *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh:  
**DESY SARI UTAMI**  
NIM. 13620063

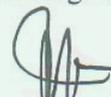
Telah Diperiksa dan Disetujui:  
Tanggal: 16 Januari 2018

Pembimbing Biologi,



Kholifah Holil, M. Si  
NIP. 19751106 200912 2 002

Pembimbing Agama,



Umayyatus Syarifah, M.A  
NIP. 19820925 200901 2 005

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Biologi



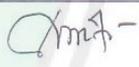
Romaidi, M.Si, D.Sc  
NIP. 19810201 200901 1 019

UJI POTENSI ANTIKANKER PAYUDARA EKSTRAK ETANOL LIDAH  
MERTUA (*Sansevieria trifasciata* Prain) MENGGUNAKAN SEL T-47D  
SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Oleh:  
**DESY SARI UTAMI**  
NIM. 13620063

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
Dan Dinyatakan Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 16 Januari 2018

Penguji Utama	<u>Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si.</u> NIP. 19710919 200003 2 001	
Ketua Penguji	<u>Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si</u> NIP. 19671113 199402 2 001	
Sekretaris Penguji	<u>Kholifah Holil, M.Si.</u> NIP. 19751106 200912 2 002	
Anggota Penguji	<u>Umayyatus Syarifah, M.A.</u> NIP. 19820925 200901 2 005	

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si., D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

**SURAT PERNYATAAN  
ORISINALITAS PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Desy Sari Utami

NIM : 13620063

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Skripsi : Uji Potensi Antikanker Payudara Ekstrak Etanol Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain) menggunakan Sel T47D secara *in Vitro*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tugas akhir/ skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tugas akhir/ skripsi ini hasil jiplakan, maka saya siap menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 16 Januari 2017

Yang membuat pernyataan,



Desy Sari Utami

NIM. 13620063

## MOTTO

*"Hidup Adalah Perjuangan, Akhirat Adalah Tujuan. Ketika Kau Perduh, Maka Relisaskan Dengan Berbagi. Ingat, Keterbatasan Hanya Sebesar Jarak antara kata Diam atau Memulai."  
(Desy Sari Utami)*



## HALAMAN PERSEMBAHAN

*Alhamdulillah, alhamdulillah alhamdulillahirabbil 'alamin. Satu buah kata yang terus terucap dari hati. Alhamdulillah atas segala rasa syukur dan nikmat yang telah Allah SWT berikan. Alhamdulillah atas segala rahmat dan ridho yang telah dicurahkan. Segala kesyukuran atas kebesaran Allah SWT yang telah mengizinkanku untuk terlahir dari Rahim wanita hebat, Ibuku, Aminah, S.E. Segala kesyukuran atas kesempatan memiliki ayah yang hebat Alm. Ir. Suhaeri. Maafku tak sempat membahagiakanmu. Terangkai do'a yang selalu kupanjatkan, semoga Allah mengampuni dosamu, menerima amal ibadahmu, menerangi kuburmu dan mengumpulkan kita kembali disurga-Nya kelak. Harapku semoga Allah selalu menguatkan, melancarkan, meridhoi, merahmati dan memberikan hidayahnya kepada kami "Desy Sari Utami, S.Si & Dimas Putra Anugrah Pratama, S.P" agar menjadi ladung amal yang tak putus bagimu, ayah dan ibu. Akhir kata, kupersembahkan Tugas Akhir ini bagi ayah (bapak), ibu (mamak) adik, keluarga besar, guru, dan teman-teman. Semoga Allah SWT selalu Merahmati Kita.*

*Special Thanks to:*

*Alm. Ir. Suhaeri  
Aminah S.E  
Dimas Putra Anugrah Pratama, S.P*

## KATA PENGANTAR

*Bismillahirrahmanirahim,*

*Alhamdulillahirobbil 'alamiin,* puji syukur kepada Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan kasih sayang-Nya sehingga skripsi dengan judul “Uji Potensi Antikanker Payudara Ekstrak Etanol Lidah Mertua (*Sansevieria Trifasciata* Prain) menggunakan Sel T-47D secara *in Vitro*” ini dapat terselesaikan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains (S.Si).

Penyusunan skripsi ini tentu tidak lepas dari bimbingan, bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag. selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si, D.Sc selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Kholifah Holil, M.Si selaku pembimbing yang dengan penuh keikhlasan dan kesabaran telah memberikan bimbingan, pengarahan dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
5. Umayyatus Syarifah, M.A selaku pembimbing agama yang dengan senyum kesabaran telah membimbing dan mengarahkan skripsi ini pada kajian al-qur'an dan as-sunnah.

6. Seluruh dosen, staf dan administrasi dan laboran Jurusan Biologi yang telah banyak membantu penyusunan skripsi ini.
7. Ayahanda tercinta Alm. Ir. Suhaeri dan Ibunda Aminah, SE yang dengan penuh kasih sayang, keikhlasan dan kesabaran yang telah memberikan segala bentuk dukungan serta doa kepada penulis dalam menjalani studi hingga penulisan tugas akhir ini selesai.
8. Adikku tersayang Dimas Putra Anugrah Pratama, S. P yang selalu memberi doa, semangat serta dukungan kepada penulis.
9. Muhammad Azmi Burhan, S.Kom yang selalu mendampingi, memberikan dukungan serta doanya untuk penulis.
10. Keluarga besar Sukino dan Sama'un yang selalu mendukung penulis dalam menyelesaikan proses belajar dan skripsi.
11. Fauchil Wardati, S. Si, selaku rekan yang selalu mendukung dan memotivasi penulis dalam menyelesaikan skripsi. Putri Mardiyana, S.Si, Ilham Siti Rukhana, S.Si, Cholivia Mayangsari, S.Si, Aulia Nur Kumala Dewi, S.Si, Meike Tya Kusuma, S.Si, Magstin Najla Safura, S. Si, Beri Adimas Aryanto Ginting, S.Si, Alfiatun Hasanah, S.Si, Subriyah, S.Si, Zaidatul Khasanah, S.Si, Imam Subandi, S.Si dan teman-teman Biologi khususnya angkatan 2013 yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga skripsi ini dapat membawa manfaat untuk membawa khasanah ilmu pengetahuan, khususnya di bidang pengembangan biologi molekuler.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb*

Malang, 16 Januari 2018

Penulis



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN PENGAJUAN</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSETUJUAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>MOTTO</b> .....	v
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>ABSTRAK</b> .....	xvii
<b>ABSTRACT</b> .....	xviii
مستخلص البحث .....	xix
 <b>BAB I</b> .....	 1
<b>PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	8
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	8
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	9

<b>1.5 Batasan Masalah</b> .....	9
<b>BAB II</b> .....	11
<b>TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	11
<b>2.1 Kanker</b> .....	11
<b>2.1.1 Tinjauan Umum Kanker</b> .....	11
<b>2.1.2 Kanker Payudara</b> .....	13
<b>2.1.3 Faktor Penyebab Kanker Payudara</b> .....	16
<b>2.1.4 Mekanisme Terbentuknya Kanker Payudara (Karsinogenesis)</b> .....	19
<b>2.1.5 Cell Line T-47D</b> .....	20
<b>2.1.6 Apoptosis</b> .....	23
<b>2.1.7 Pengobatan Kanker Payudara</b> .....	28
<b>2.2 Lidah Mertua (<i>Sansevieria trifasciata</i> Prain)</b> .....	30
<b>2.2.1 Tinjauan Umum Lidah Mertua (<i>Sansevieria trifasciata</i> Prain)</b> .....	30
<b>2.2.2 Morfologi dan Klasifikasi Lidah Mertua (<i>Sansevieria trifasciata</i> Prain)</b> ..	32
<b>2.2.3 Kandungan Senyawa Aktif Lidah Mertua (<i>Sansevieria trifasciata</i>)</b> .....	35
<b>2.3 Mekanisme Antikanker Lidah Mertua (<i>Sansevieria trifasciata</i> Prain) terhadap Cell Line T-47D</b> .....	40
<b>2.4 Ekstraksi</b> .....	43
<b>2.5 MTT (3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5 diphenyl tetrazolium bromide)</b> .....	45
<b>2.6 Metode Flow Cytometry</b> .....	47
<b>BAB III</b> .....	49
<b>METODE PENELITIAN</b> .....	49
<b>3.1 Waktu dan Tempat Penelitian</b> .....	49
<b>3.2 Jenis dan Rancangan Penelitian</b> .....	49
<b>3.3 Variabel Penelitian</b> .....	49
<b>3.4 Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	50
<b>3.4.1 Alat-alat penelitian</b> .....	50
<b>3.4.2 Bahan-bahan Penelitian</b> .....	51
<b>3.5 Prosedur Penelitian</b> .....	52
<b>3.5.1 Pembuatan Ekstrak Lidah Mertua (<i>S. trifasciata</i> Prain)</b> .....	52
<b>3.5.2 Pembuatan Media Kultur Stok RPMI 1640 0%</b> .....	53

<b>3.5.3 Pembuatan Media Kultur RPMI 1640 10%</b> .....	54
<b>3.5.4 Persiapan Sel T-47D</b> .....	55
<b>3.5.5. Uji Sitotoksik (MTT)</b> .....	57
<b>3.5.6. Uji <i>Flow cytometry</i></b> .....	63
<b>BAB IV</b> .....	66
<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	66
<b>4.1 Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Lidah Mertua (<i>Sansevieria trifasciata</i> Prain) terhadap Sel T-47D menggunakan Metode MTT</b> .....	66
<b>4.2 Analisis Efek Biologis Akibat perlakuan Ekstrak Etanol Daun Lidah Mertua <i>Sansevieria trifasciata</i> Prain terhadap Sel T-47D</b> .....	82
<b>BAB V</b> .....	88
<b>PENUTUP</b> .....	88
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	88
<b>5.2 Saran</b> .....	88
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	89
<b>LAMPIRAN</b> .....	105

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Morfologi dan Anatomi Kelenjar Payudara Manusia .....	14
Gambar 2.2 Skema Pembagian Payudara Untuk Menentukan Lokasi Kanker.....	16
Gambar 2.3 Morfologi <i>Cell line T-47D</i> dalam Kultur 2-Dimensi .....	22
Gambar 2.4 Morfologi <i>Cell line T-47D</i> dalam Kultur 3-Dimensi. ....	22
Gambar 2.5 Tahapan Apoptosis Jalur Ekstrinsik.....	25
Gambar 2. 6 Pertemuan Antar Caspase.....	27
Gambar 2. 7 Pertemuan Antar Kedua Jalur Apoptosis .....	28
Gambar 2.8 Morfologi <i>Sansevieria trifasciata</i> Prain (Lidah Mertua) .....	34
Gambar 2. 9 Beberapa Struktur Senyawa Golongan Flavonoid secara umum .....	36
Gambar 2. 10 Struktur Saponin.....	39
Gambar 2. 11 Struktur Alkaloid.....	40
Gambar 2. 12 Jalur Kematian Sel Kanker Melalui Apoptosis.....	41
Gambar 2. 13 Perubahan struktur MTT menjadi Formazan .....	46
Gambar 3.1 Kamar Hitung Hemositimeter. ....	57
Gambar 3.2 Langkah pembuatan 5 konsentrasi ekstrak.....	60
Gambar 3.3 Peta Perlakuan .....	61
Gambar 3.4 Contoh keberadaan Kristal formazan .....	62
Gambar 3.5 Peta Perlakuan Uji <i>Flow Cytometr</i> .....	64

Gambar 4.1 Kepadatan dan morfologi Sel T-47D setelah perlakuan ekstrak dengan lama inkubasi 24 jam (perbesaran 100x).....	67
Gambar 4.2 Kristal formazan yang terbentuk dari hasil uji sitotoksik menggunakan metode MTT (perbesaran 100x).....	69
Gambar 4.3 Perubahan warna satuan percobaan setelah perlakuan SDS pada uji sitotoksik menggunakan metode MTT.....	71
Gambar 4.4 Grafik hubungan antara persentase sel hidup dengan konsentrasi. Kontrol positif dengan menggunakan doxorubicin.....	76
Gambar 4.5 Mekanisme Apoptosis sel T-47D.....	78
Gambar 4.6 Hasil analisis efek biologis menggunakan <i>Flow cytometry</i> . ....	83

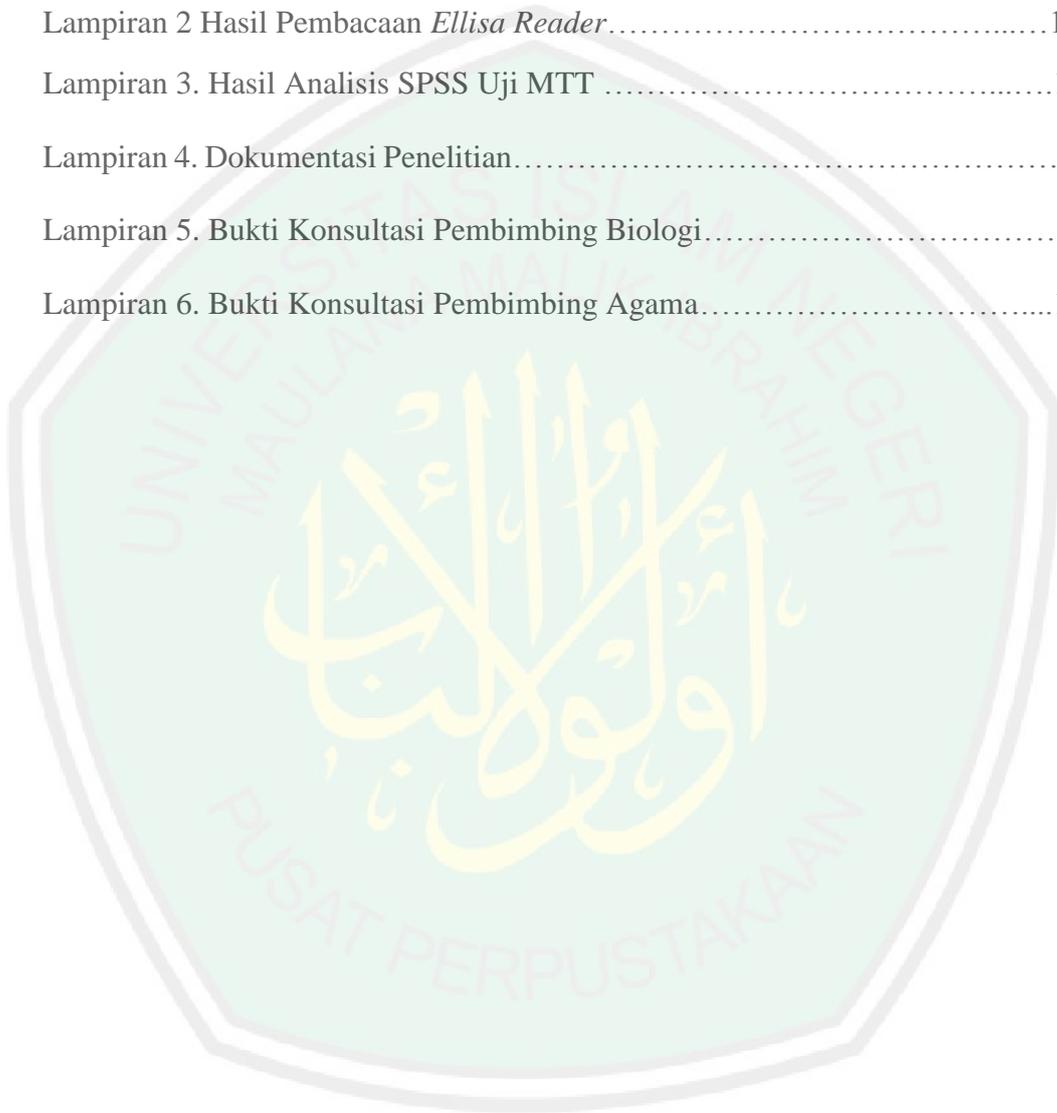
## DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil Uji sitotoksik menggunakan metode MTT.....	73
--	----



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian.....	105
Lampiran 2 Hasil Pembacaan <i>Ellisa Reader</i> .....	106
Lampiran 3. Hasil Analisis SPSS Uji MTT .....	107
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian.....	111
Lampiran 5. Bukti Konsultasi Pembimbing Biologi.....	114
Lampiran 6. Bukti Konsultasi Pembimbing Agama.....	115



## ABSTRAK

Utami, Desy Sari. 2018. **Uji Potensi Antikanker Payudara Ekstrak Etanol Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain) menggunakan Sel T-47D secara *in Vitro***. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Biologi: Kholifah Holil, M.Si, Pembimbing Agama: Umaiyyatus Syarifah, M. A.

---

**Kata Kunci:** Antikanker, Ekstrak Etanol, Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain), Kanker Payudara, Sel T-47D, *in Vitro*.

Kanker payudara termasuk dalam jajaran penyakit degeneratif yang banyak diderita masyarakat dunia khususnya wanita. Upaya pengobatan kanker melalui radioterapi, kemoterapi dan obat-obatan sintesis belum dapat mengobati secara tuntas. Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain) merupakan bahan alam yang diduga memiliki potensi antikanker payudara. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi antikanker payudara ekstrak etanol daun lidah mertua (*S. trifasciata* Prain) terhadap sel T-47D secara *in Vitro*.

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Daun lidah mertua (*S. trifasciata* Prain) diekstraksi melalui metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Potensi antikanker dari ekstrak etanol *S. trifasciata* Prain diidentifikasi melalui uji sitotoksik menggunakan metode MTT dan uji efek biologis menggunakan *flow cytometry* pada sel T-47D. Variasi konsentrasi yang digunakan pada uji sitotoksik adalah: 500, 250, 125, 62,5 dan 31,25 µg/mL (triplo). Perlakuan diinkubasi selama 24 jam dan data yang diperoleh dianalisis dengan SPSS Probit. Uji efek biologis menggunakan konsentrasi IC<sub>50</sub> yang diinkubasi selama 24jam. Kontrol positif yang digunakan adalah Doxorubicin.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Ekstrak etanol daun *S. trifasciata* Prain menyebabkan sitotoksitas moderat pada sel T-47D dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 367, 537 µg/mL. Efek biologis yang ditimbulkan ekstrak etanol daun *S. trifasciata* Prain berupa persentase sel hidup (4,1%), persentase apoptosis awal (0,0%), persentase apoptosis akhir (22,7%) dan persentase nekrosis (73,2%). Hasil ini menunjukkan bahwa Ekstrak etanol daun *S. trifasciata* Prain kurang berpotensi sebagai anti antikanker, namun dapat digunakan sebagai agen kemoprevensi dengan menurunkan viabilitas sel T-47D.

## ABSTRACT

Utami, Desy Sari. 2018. **Anti-Breast Cancer Potency of Ethanol Extracts *Sansevieria trifasciata* Prain Using Cell Lines T-47D *in Vitro***. Department of Biology Faculty of Science and Technology Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Biology Advisor: Kholifah Holil, M.Si, Religion Advisor: Umayyatus Syarifah, M. A.

---

**Keywords:** *Anticancer, Ethanol Extract, Sansevieria trifasciata Prain, Breast Cancer, T-47D Cells, in Vitro.*

Breast cancer is one of degenerative disease suffered by many people especially women. Cancer treatment efforts through radiotherapy, chemotherapy and synthetic drugs have not been able to treat completely. *S. trifasciata* Prain is one of natural ingredients suspected of having anti-breast cancer activity. This study was conducted to determine the potency of anti-breast cancer of ethanol leaves of *S. trifasciata* Prain on T-47D cells *in vitro*.

This experimental research were done using complete randomized design method. Leaves of *S. trifasciata* Prain were extracted through maceration method using 70% ethanol solvent. The anticancer potential of *S. trifasciata* Prain ethanol extract was identified through cytotoxic assay using MTT method and biological effect test using flow cytometry on T-47D cells. The concentration variations used in the cytotoxic test are: 500, 250, 125, 62,5 and 31,25  $\mu\text{g} / \text{mL}$  (triplo). The treatment was incubated for 24 hours and the data obtained was analyzed with SPSS. The biological effects test were using IC50 concentrations incubated for 24 hours. The positive control used is Doxorubicin.

The results showed that *S. trifasciata* Prain ethanol extract caused moderate cytotoxicity in T-47D cells with IC50 values of 367, 537  $\mu\text{g} / \text{mL}$ . The biological effects of ethanol extract of *S. trifasciata* Prain leaves were percentage of living cells (4.1%),% initial apoptotic (0.0%),% final apoptotic (22.7%) and % necrotic (73, 2%). These results indicate that *S. trifasciata* Prain ethanol extract is less potent as anti-anticancer, but can be used as a chemoprevention agent by decreasing T-47D cell viability.

## مستخلص البحث

أوتامي، ديسي ساري. 2018. تجربة مضادة السرطان الثديي مقتطف إيتانول اللسان المسنين (*Sansevieria trifasciata* Prain) باستخدام الخلايا *in Vitro* T-47D. البحث الجامعي. قسم علم الحياة، كلية علوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف في قسم علم الحياة: الدكتور خليفة خليل الماجستير. والمشرفة الدينية: أمية الشريفة الماجستير.

الكلمة المفتاحية: مضادة السرطان، مقتطف إيتانول، ورق اللسان المسنين، (*Sansevieria trifasciata* Prain)، سرطان الثدي، الخلايا *in Vitro* T-47D.

سرطان الثدي يدل على الأمراض التنكسية التي معظم يعانها من النساء. والعلاج السرطان من خلال العلاج الإشعاعي، والعلاج الكيميائي والمخدرات الاصطناعية لم يكن قادرا على علاج تماما. واللسان المسنين (*Sansevieria trifasciata* Prain) هو العنصر الطبيعي له قدرة لمضادة السرطان. وأجريت هذا البحث لمعرفة قدرة مضادة السرطان الثديي مقتطف إيتانول اللسان المسنين (*Sansevieria trifasciata* Prain) باستخدام الخلايا *in Vitro* T-47D.

هذا البحث التجريبي باستخدام تصميم عشوائي (RAL). واللسان المسنين *S. trifasciata* Prain مستخرج بأسلوب النقاة واستخدام مذيب الإيثانول 70%. قدرة مضادة السرطان إيتانول *S. trifasciata* Prain محدد من خلال تجربة السامة للخلايا بأسلوب MTT ومحدد الأثر البيولوجية باستخدام *flow cytometry* على الخلايا T-47D. ومختلف التركيز التي مستخدم بتجربة السامة للخلايا وهو: 500، 250، 125، 62,5، و31،25،  $\mu\text{g/mL}$  (triplo) علاج المحنضة لمدة 24 ساعة وحصول البيانات يحلل بـ SPSS بروبيت. تجربة الأثر البيولوجية باستخدام التكينز  $\text{IC}_{50}$  التي محنضة لمدة 24 ساعة. السيطرة الإيجابية المستخدمة هي Doxorubicin.

والنتيجة هذا البحث أنّ مقتطف إيتانول ورق *S. trifasciata* Prain يسبب السمية المعتدلة في الخلايا T-47D بالنتيجة  $\text{IC}_{50}$  : 367,537  $\mu\text{g/mL}$ . الأثر البيولوجية التي انتاجه مقتطف إيتانول ورق *S. trifasciata* Prain وهو الخلايا 4,1%، والخلايا الأبوبوزية الأول 0,0%، والخلايا الأبوبوزية الأخير 22,7%، والخلايا النخر 73,2%. هذه النتيجة دليل أنّ مقتطف إيتانول ورق *S. trifasciata* Prain غير فعال لمضادة السرطان، لكن يمكن استخدامه للعوامل الكيميائية مع أقل الجدوى في الخلايا T-47D.

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan satu di antara banyak negara berkembang di Asia dengan perilaku konsumtif yang tinggi. Perilaku ini merambah ke semua sektor, baik pangan, transportasi, barang, jasa dan lain sebagainya. Pengawet buatan, makanan cepat saji dan emisi bahan bakar kendaraan merupakan tiga *output* dari perilaku konsumtif yang berpengaruh langsung pada kesehatan manusia. Dampak negatif yang ditimbulkan adalah meningkatnya angka penderita penyakit degeneratif, seperti jantung koroner, diabetes melitus, darah tinggi dan kanker.

Kanker termasuk dalam jajaran teratas penyakit degeneratif yang banyak diderita masyarakat dunia termasuk Indonesia. Satu di antara beberapa jenis kanker yang banyak diderita masyarakat Indonesia adalah kanker payudara. Dikutip dari Youlden (2014) dalam jurnalnya yang berjudul *Incidence and mortality of female breast cancer in the Asia-Pacific region* melaporkan bahwa selama tahun 2012 telah terjadi 1,7 juta kasus kanker payudara di dunia, kurang lebih 404.000 kasus terjadi di wilayah Asia Pasifik. Indonesia (17%) menempati urutan kedua sebagai Negara dengan jumlah kasus kematian akibat kanker payudara terbanyak se-Asia Pasifik setelah Cina (41%).

Insiden kematian akibat kanker payudara sulit dihindari karena penyakit ini memiliki kemampuan untuk menyebar (*metastasis*) ke bagian tubuh lainnya. Sel-sel kanker payudara mulanya timbul pada kelenjar yang memproduksi susu (*lobules*) dan saluran (*duktus*) yang menghubungkan antara *lobules* dengan puting

(Alteri, 2013). Seiring dengan berjalannya waktu, sel kanker payudara terus mengalami pembelahan (*proliferasi*) yang tidak terkontrol dan membentuk masa sel primer (awal). Masa sel kanker primer dapat lepas dan terbawa ke bagian tubuh lainnya melalui pembuluh darah dan limfe untuk kemudian berproliferasi secara tidak terkontrol dan merusak organ maupun jaringan yang ditempatinya. Selain itu, sel yang telah menyebar dapat terus hidup dan berkembang karena sel kanker tidak dapat melakukan apoptosis (Baratawidjadja, 2014). Fakta inilah yang menyebabkan kanker payudara berbahaya dan langkah pengobatan yang efektif sangat dibutuhkan.

Upaya pengobatan kanker payudara telah dilakukan baik melalui dunia kedokteran seperti pembedahan, imunoterapi, radioterapi, kemoterapi maupun dengan cara tradisional seperti pemanfaatan tanaman yang memiliki potensi antikanker (Arifianti, 2014). Namun, upaya-upaya tersebut belum dapat mengobati pasien kanker payudara secara tuntas. Selain itu, pengobatan melalui radioterapi, kemoterapi menggunakan obat-obatan sintetis berdampak negatif pada sel normal (El-Sayyad, 2009). Oleh karena itu, upaya untuk memperoleh cara pengobatan kanker payudara yang tepat harus terus dilakukan. Salah satunya adalah dengan menguji tanaman yang mengandung berbagai jenis senyawa aktif dengan kemampuan antikanker payudara. Allah SWT berfirman dalam surat Az-Zumar (39): 21;

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنَابِيعَ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا مُخْتَلِفًا أَلْوَانُهُ ثُمَّ يَهِيجُ فَتَرَاهُ مُصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُ حُطَامًا ۚ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرًا لِأُولِي الْأَلْبَابِ

“Apakah kamu tidak memperhatikan, bahwa sesungguhnya Allah menurunkan air dari langit, maka diaturnya menjadi sumber-sumber air di bumi kemudian ditumbuhkan-Nya dengan air itu tanam-tanaman yang bermacam-macam warnanya, lalu menjadi kering lalu kamu melihatnya kekuning-kuningan, kemudian dijadikan-Nya hancur berderai-derai. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat pelajaran bagi orang-orang yang mempunyai akal” (QS. Az-Zumar (39): 21).

Kata زَرْعًا pada ayat 21 QS. Az-Zumar berarti tanaman-tanaman. Ayat ini menggambarkan betapa hebatnya Allah SWT yang mampu menumbuhkan beraneka ragam tanaman di muka bumi ini (Shihab, 2002). Berikutnya, terdapat kata مُخْتَلِفًا berarti bermacam-macam dan أَلْوَانُهُ berarti warna (Dasuki, 1990). Ketiga kata ini mengandung arti bahwasannya Allah SWT menciptakan beranekaragam tumbuh-tumbuhan dengan kandungan senyawa aktif dan manfaat yang beragam pula, salah satunya untuk pengobatan kanker payudara.

Satu diantara tanaman lokal Indonesia yang diduga memiliki potensi antikanker payudara adalah *Sansiviera trifasciata* atau yang lebih dikenal dengan lidah mertua. Munculnya hipotesis ini didasari oleh hasil penelitian-penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa *S. trifasciata* mengandung senyawa-senyawa aktif yang berpotensi sebagai antikanker. Hasil penelitian Dey (2014) menunjukkan bahwa ekstrak metanol *S. trifasciata* mengandung senyawa terpenoid, flavonoid, tanin, tri-terpen, polifenol, steroid, keton (25.9%), alkohol (22.6%), terpenoid (12.9%), dan fenol (18.8%).

Senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam *S. trifasciata* termasuk ke dalam golongan antioksidan yang memiliki kemampuan antikanker. Restasari

(2009) melaporkan bahwa senyawa antioksidan seperti alkaloid, terpenoid, flavonoid dan polifenol dapat mencegah proliferasi sel kanker payudara melalui mekanisme apoptosis. Dikutip dari Graidist (2015) bahwa flavonoid dapat menghambat kerja DNA topoisomerase I/II, modulasi *signalling pathways*, penurunan ekspresi gen Bcl-2 dan Bcl-XL, peningkatan ekspresi gen Bax dan Bak, serta aktivasi endonuklease. Selain flavonoid, Teponno (2016) menyatakan bahwa saponin steroid dari *S. trifasciata* terbukti memiliki aktivitas antiproliferatif melawan sel HeLa (kanker serviks). Selanjutnya, tanin juga dapat menyebabkan penghambatan siklus sel dengan meningkatkan protein p27 (Wuryanto, 2004).

Banyaknya hasil penelitian yang mengindikasikan adanya potensi antikanker payudara *S. trifasciata* semakin dikuatkan melalui pemanfaatan tumbuhan ini dalam masyarakat. Masyarakat Thailand secara empiris percaya dan memanfaatkan *S. trifasciata* untuk mengobati kanker (Yusnita, 2011 dalam Dey, 2014). Penelitian Dey (2014) menunjukkan bahwa penggunaan *S. trifasciata* tergolong aman. Hal tersebut dibuktikan melalui percobaan pada 10 ekor tikus yang diberi perlakuan ekstrak metanol lidah mertua selama 14 hari. Hasilnya menunjukkan bahwa tidak ada perubahan baik pada kulit, mata, membran mukus, maupun organ pernafasan pada tikus. Namun tetap ada ambang batas dosis aman penggunaan, yakni 10-200 mg/ kg. Meskipun *S. trifasciata* telah dipercaya secara empiris dan digunakan sebagian masyarakat untuk mengobati kanker, pengujian laboratoris tetap dibutuhkan untuk membuktikan keefektifannya secara ilmiah.

Pengujian potensi antikanker payudara *S. trifasciata* didasarkan pada Robert (2000) yang menyatakan bahwa kanker payudara dapat dicegah dan ditekan

pertumbuhannya dengan senyawa aktif dari tumbuhan. Kemampuan antikanker beberapa senyawa aktif tumbuhan dapat berupa antiproliferasi (mencegah sel untuk terus bereproduksi), antiangiogenik (mencegah terbentuknya pembuluh darah baru yang akan mensuplai nutrisi untuk sel kanker), antimetastasis (mencegah sel kanker untuk menyebar ke organ lain) dan apoptosis (kematian sel secara terprogram) (Theoret, 2009). Apoptosis merupakan efek antikanker yang penting karena dapat menyebabkan kematian pada sel kanker itu sendiri tanpa membahayakan sel lain (Lumongga, 2008).

Apoptosis pada sel terjadi melalui 2 jalur kematian, yaitu instrinsik dan ekstrinsik (Strasser dkk, 2000). Perbedaan dari keduanya terletak pada jenis penginisiasinya. Jalur ekstrinsik diinisiasi melalui stimulasi dari reseptor kematian (*Death Receptor*), sedangkan jalur instrinsik diinisiasi melalui pelepasan faktor signal dari mitokondria (CCRC UGM, 2012). Hilangnya kemampuan apoptosis yang terjadi pada sel kanker payudara menyebabkan perkembangan sel menjadi di luar kendali. Kedua jalur tersebut dapat diinduksi kembali dengan pemberian senyawa aktif dari tanaman yang memiliki potensi antikanker (Robert, 2000).

Senyawa aktif dari tanaman merupakan salah satu sumber signal penginduksi apoptosis jalur ekstrinsik. Senyawa aktif dapat menjadi ligan yang akan berikatan dengan *death reseptor* pada transmembran sel kanker. Ikatan antara *death reseptor* dengan senyawa aktif yang sesuai akan mengaktifkan *FADD (Fas Associated Death)*. Kemudian *FADD* yang teraktivasi akan menyebabkan interaksi antar protein *FADD* di dalam sel dan membentuk *DISC (Death Induce Signaling Cascade)*. *DISC* yang terbentuk akan mengaktifkan protein *procaspase-8* menjadi

*caspase-8*. Selanjutnya, protein *caspase-8* yang teraktivasi akan mengaktifkan *procaspase 3* menjadi *caspase-3*. Protein *caspase-3* yang teraktivasi akan bekerja dengan mendegradasi inhibitor dari enzim nuklease dan menyebabkan enzim nuklease bebas atau teraktivasi. Nuklease yang aktif akan merusak intisel beserta materi genetik didalamnya dan terjadilah apoptosis (Robert, 2000).

Aktivasi protein *caspase-8* melalui jalur ekstrinsik juga dapat mengaktifasi protein-protein yang biasanya bekerja melalui jalur intrinsik, seperti protein *BID*. Protein *BID* yang teraktivasi menjadi *tBID* akan mengaktifkan protein *BAX/BAK*. Protein *BAX/BAK* bekerja dengan membuat pori pada membran mitokondria. Pori yang terbentuk akan menyebabkan sitkrom- C (*Cyt-c*) keluar ke sitosol. *Cyt-c* yang berada di sitosol dapat berikatan dengan protein *Apaf-1* dan mengaktifasi *procaspase-9* menjadi *caspase-9*. *Caspase-9* yang teraktivasi lalu akan menyebabkan *procaspase-3* menjadi *caspase-3*. Proses ini akan terus berjalan hingga sel kanker payudara mengalami apoptosis (Robert, 2000).

Apoptosis yang terjadi pada sel kanker dapat diidentifikasi secara spesifik melalui penelitian secara *in vitro* menggunakan suatu model objek penelitian. Dalam penelitian ini, digunakan sel T-47D. Sel T-47D termasuk ke dalam subtipe luminal A. Sebanyak 50- 60% dari total kejadian kanker payudara disebabkan oleh sel kanker dari sub tipe luminal A. Dengan kata lain, sub tipe ini merupakan kanker payudara yang paling sering terjadi (Pilar, 2012). Oleh karena itu, jenis sel kanker ini sering dijadikan model dalam penelitian terkait pengobatan kanker payudara baik secara *in vitro*, maupun *in vivo* (tumor xenograf pada tikus) (Adjo dan Lin, 2012).

Dalam penelitian ini, sel T-47D di induksi dengan senyawa aktif dari *S. trifasciata*. *S. trifasciata* yang digunakan berasal dari varietas Prain yang diekstrak menggunakan pelarut etanol 70% melalui metode maserasi. Penggunaan etanol 70% diharapkan dapat menarik jenis senyawa aktif yang lebih banyak. Menurut (Snyder, 1997) etanol 70% bersifat universal, sehingga mampu melarutkan senyawa dari golongan polar maupun nonpolar (indeks polaritas 5, 2). Hasil ekstraksi berupa ekstrak kasar yang mengandung berbagai macam senyawa aktif baik polar maupun nonpolar. Penggunaan ekstrak kasar didasari karena dalam *S. trifasciata* Prain belum diketahui senyawa spesifik yang memiliki efek antikanker tertinggi.

Konsentrasi ekstrak yang digunakan meliputi 500; 250; 125; 62, 5; 31, 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Perlakuan tersebut bertujuan untuk mengetahui toksisitas ekstrak terhadap sel kanker yang ditunjukkan dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  melalui uji MTT. Sel kanker yang mengalami kematian akan kehilangan kemampuan metabolismenya, sehingga tidak dapat mengkonversi garam tetrazolium MTT menjadi Formazan. Sebaliknya, sel hidup mampu mengkonversi garam tetrazolium *MTT* yang berwarna kuning menjadi formazan yang berwarna biru keunguan melalui metabolisme aktif mitokondria (Depamede, 2009). Oleh karena itu, Jumlah formazan berbanding lurus dengan sel yang hidup.

Hasil uji MTT dideteksi melalui perubahan warna dan absorbansi spektrofotometer pada panjang gelombang 595nm. Mengacu pada Prayong (2008), Ekstrak etanol daun *S. trifasciata* Prain dikatakan memiliki potensi sitotoksik potensial apabila ( $\text{IC}_{50} < 100 \mu\text{g}/\text{mL}$ ), sitotoksik moderat ( $100 \mu\text{g}/\text{mL} <$

IC<sub>50</sub><1000µg/mL) dan tidak toksik (IC<sub>50</sub>>1000 µg/mL). Nilai IC<sub>50</sub> selanjutnya digunakan untuk membuat konsentrasi dalam uji *Flow Cytometry*. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui penyebab kematian 50% sel (apoptosis awal, apoptosis akhir atau nekrosis) akibat pemberian ekstrak. Uji ini dilakukan dengan menggunakan *FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit I*. Apoptosis awal ditandai dengan PI negatif, FITC Annexin V positif, sedangkan apoptosis akhir ditandai dengan PI dan FITC Annexin V positif.

Berdasarkan pemaparan dalam latar belakang di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antikanker payudara ekstrak etanol daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain) terhadap sel T-47D secara *in Vitro*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sumber informasi penting dalam upaya mencari sediaan obat alami yang dapat mengatasi sel kanker payudara yang aman dan efisien.

### **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana potensi antikanker payudara ekstrak etanol daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain) terhadap sel T-47D secara *in Vitro*?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antikanker payudara ekstrak etanol daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain) terhadap sel T-47D secara *in Vitro*.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini meliputi:

##### 1. Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber informasi untuk menambah wawasan mengenai potensi antikanker payudara dari tanaman lidah mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain).

##### 2. Manfaat Praktis

###### a. Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai sumber tanaman baru yang berpotensi sebagai antikanker payudara.

###### b. Bagi Akademik

Memberikan sumbangan ilmu pengetahuan dibidang pengobatan kanker khususnya informasi tentang pengaruh ekstrak etanol daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain) terhadap sek kanker payudara T-47D.

#### 1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Sampel yang digunakan adalah lidah mertua (*Sansivieria trifasciata* Prain) yang diambil dari kelurahan Merjosari, Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang, Provinsi Jawa Timur.
2. Bagian sampel yang digunakan adalah daun dengan kondisi yang segar, permukaan daun halus (tidak cacat) dengan panjang  $\pm$  30cm.

3. Subjek uji adalah sel T-47D koleksi Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang dikultur dengan media RPMI 10% suhu 37<sup>0</sup>C dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5%.
4. Uji potensi antikanker *S. trifasciata* Prain dilakukan dengan menggunakan dua metode, yakni uji sitotoksik (MTT) dan *Flow Cytometri*.
5. Tingkat sitotoksisitas ekstrak etanol daun *S. trifasciata* Prain diuji menggunakan metode MTT yang hasilnya dikonfirmasi dengan nilai IC<sub>50</sub> melalui analisis SPSS Probit.
6. Ekstrak etanol daun *S. trifasciata* Prain dikatakan memiliki potensi sitotoksik potensial apabila (IC<sub>50</sub><100µg/mL), sitotoksik moderat (100µg/ml< IC<sub>50</sub><1000µg/mL) dan tidak toksik (IC<sub>50</sub>>1000 µg/mL), mengacu pada Prayong (2008).
7. Metode *Flow Cytometri* dilakukan untuk mengetahui penyebab kematian 50% sel melalui nilai % apoptosis awal, apoptosis akhir dan nekrosis. Reagen yang digunakan adalah *FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit I* (BD Pharmingen™).

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kanker

##### 2.1.1 Tinjauan Umum Kanker

Kanker merupakan penyakit degeneratif yang banyak diderita masyarakat dunia. Dikutip dari Torre (2015) dalam jurnalnya *Global cancer statistic 2012*, diketahui bahwa pada tahun 2012 telah terjadi 14,1 juta kasus baru kejadian kanker dan 8,2 juta kematian di seluruh dunia. Tingginya angka kejadian kanker berhubungan dengan beberapa faktor, seperti gaya hidup, genetik, dan bertambahnya usia penduduk dunia. Faktor-faktor tersebut memperbesar resiko kerusakan materi genetik (gen) sel normal yang mengarahkan pada pembentukan kanker (Ulya, 2012).

Gen yang termutasi dapat dideteksi oleh sel itu sendiri sebelum perkembangannya terjadi lebih jauh melalui tahapan splicing. Akan tetapi, terkadang mutasi yang terjadi tidak terdeteksi dan diwariskan ke keturunan sel yang berikutnya. Jika mutasi terjadi di banyak lokasi gen yang mengatur siklus sel, seperti pada gen p53, Rb, Myc, EIA dan Bcl-2 akan menyebabkan sel berkembang lebih cepat dari yang seharusnya (Lindley dan Michaud, 2005). Mutasi yang terjadi pada gen yang mengatur perbaikan DNA akan menyebabkan sel kehilangan kemampuan untuk memperbaiki diri maupun memutuskan kematian (apoptosis). Beberapa gen yang berperan mengatur perbaikan DNA meliputi: hMLH1, BRCA1 dan MGMT (Goepel, 1996; Esteller, 2006). Selain mutasi yang terjadi, teraktivasinya onkogen juga dapat memicu timbulnya kanker. Onkogen adalah gen

2006). Selain mutasi yang terjadi, teraktivasinya onkogen juga dapat memicu timbulnya kanker. Onkogen adalah gen yang menyebabkan kanker, seperti Ras, Myc, CyCD1 (Greenwald, 2002). Meskipun demikian, dibutuhkan mutasi secara terus menerus dan dalam jangka waktu lama hingga menghasilkan sel kanker, proses ini disebut dengan karsinogenesis.

Karsinogenesis pada mulanya menyebabkan pembentukan sel yang tidak terkendali pada suatu jaringan, disebut dengan tumor. Tumor dapat dikelompokkan menjadi dua jenis, yaitu benign dan malignan. Perkembangan tumor beningan berlangsung lambat dan tidak dapat menyebar ke jaringan tubuh lainnya, contohnya tumor pada kelenjar pituitari yang dapat menekan saraf optik pada mata dan menyebabkan hilangnya kemampuan melihat. Sedangkan tumor malignan adalah jenis tumor yang dapat menyebar dari organ atau jaringan asal ke bagian tubuh lainnya, tumor jenis ini disebut dengan kanker (Kasdu, 2008; Bratawidjaja, 2014).

Sel kanker membawa gen rusak (termutasi), sehingga menyebabkan protein yang ditranslasikan berbeda dari yang semestinya. Hal ini akan mengganggu keseimbangan dan fungsi fisiologis sel. Selain itu, kerusakan gen menyebabkan sel kanker memiliki kemampuan maupun kelemahan yang berbeda dari sel normal (Ferlay, 2004).

Kemampuan dan kelemahan sel kanker yang bersifat merusak di dalam tubuh dapat menyebabkan kematian. Berbeda dengan sel normal yang berdiferensiasi menjadi sel tertentu atau mati, sel kanker akan terus berkembang dan berproliferasi (mitosis) tanpa terkendali. Proliferasi sel kanker yang terjadi terus menerus disebabkan karena kemampuannya yang dapat menghasilkan sinyal

pertumbuhan sendiri dan kelemahannya yang tidak sensitif dengan sinyal antipertumbuhan (Hanahan dan Weinberg, 2000). Selain itu, sel kanker juga mampu menghindari mekanisme apoptosis. Hilangnya kemampuan apoptosis sel menyebabkan sel kanker terus hidup dan berproliferasi di dalam tubuh (Kresno, 2001).

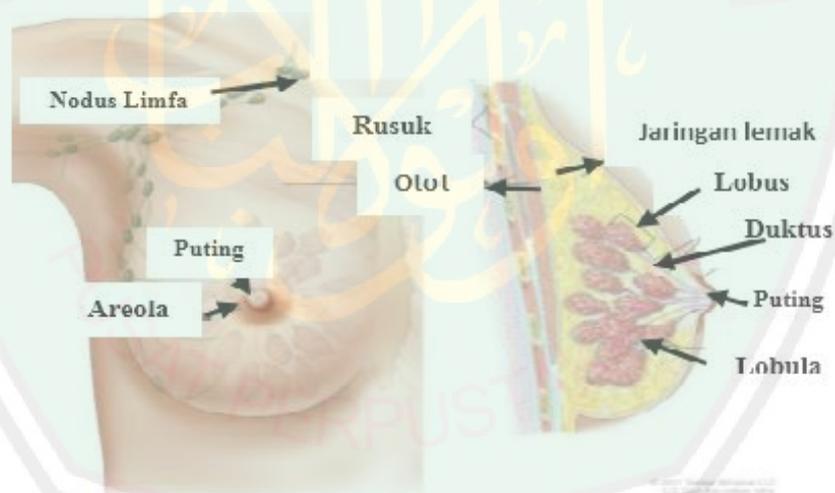
Sel kanker yang terus berproliferasi memiliki kemampuan untuk menyebar ke bagian tubuh lainnya, kemampuan ini disebut dengan metastasis. Kemampuan metastasis pada sel kanker difasilitasi oleh pembuluh darah dan sistem limfe (Bratawidjaja dan Iris, 2014). Sel kanker primer (utama) maupun sekunder (hasil metastasis) dapat terus berkembang tanpa kekurangan nutrisi maupun oksigen. Hal ini dikarenakan sel kanker mampu menginduksi pembentukan kapiler darah baru (angiogenesis) untuk mensuplai kebutuhannya (Hanahan dan Weinberg, 2000). Berkat kemampuan dan kelemahan dari sel kanker inilah yang menyebabkan keberadaannya sulit disembuhkan, sehingga angka kematian pada penderitanya pun terus bertambah.

Salah satu jenis kanker yang banyak diderita masyarakat dunia dan penyebab kematian akibat kanker tertinggi pada wanita adalah kanker payudara. Dikutip dari Torre (2015) yang menganalisis angka kejadian kanker terbanyak di dunia tahun 2012, bahwa kanker payudara menempati urutan pertama dengan jumlah 1,7 juta kasus.

### **2.1.2 Kanker Payudara**

Kanker payudara adalah tumor ganas yang timbul pada kelenjar payudara, mencakup kelenjar air susu dan seluruh jaringan penunjangnya. Kanker ini dapat

diderita baik pria maupun wanita. Namun, angka kejadian pada pria jauh lebih sedikit dibandingkan wanita (Ferlay, 2004). Secara keseluruhan, payudara terdiri dari jaringan lemak, jaringan konektif (penghubung), pembuluh darah, nodus limfa, lobus dan lobulus yang berfungsi memproduksi susu serta *ductus lactiferous* yang berfungsi sebagai saluran tempat susu mengalir menuju puting. Kanker payudara dapat muncul di seluruh bagian payudara tanpa terkecuali. Sebagian besar kanker payudara muncul dari sel-sel yang melapisi duktus, sehingga disebut juga dengan kanker duktal. Sebagian lainnya muncul pada lobus dan lobulus, disebut dengan kanker lobular. Kasus yang paling jarang ditemui yakni kanker yang muncul dari jaringan payudara lainnya (Ellis, I.O., 2003).

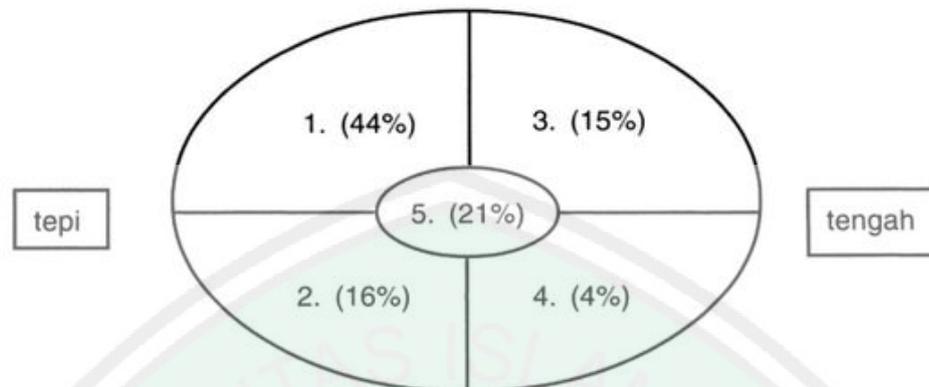


Gambar 2.1. Morfologi dan Anatomi Kelenjar Payudara Manusia  
Sumber: (National Cancer Institute, 2017)

Kemunculan kanker payudara dapat dideteksi melalui beberapa hal, seperti keadaan morfologi dan anatomi payudara serta rasa nyeri yang dirasakan penderita. Payudara yang terserang kanker akan mengalami erosi, retraksi, penyusutan atau pembesaran ukuran, timbul kemerahan, rasa gatal dan pembengkakan pada puting.

Pada kasus yang lebih berat dapat terjadi edema pada kulit dan rasa panas pada jaringan payudara (Lindley dan Michaud, 2005). Kanker payudara juga dapat dideteksi melalui ada atau tidaknya benjolan pada area payudara, meskipun tidak semua benjolan pada payudara adalah kanker. Benjolan ini biasanya akan terasa sakit, bertekstur keras, padat, tidak beraturan dan tidak berpindah. Dalam kurun waktu 8-12 tahun, benjolan yang merupakan tumor ganas (kanker) ini dapat tumbuh sebesar 1-2cm (Tambunan, 2007). Letak benjolan yang diduga tumor ganas (kanker) dapat ditemukan dimana saja pada payudara, sehingga penentuan lokasi yang tepat juga penting untuk dilakukannya tindakan penyembuhan.

Penentuan lokasi kanker payudara dapat dilakukan dengan membagi payudara kedalam 4 kuadran dan satu daerah sentral, meliputi: kuadran lateral (pinggir), kuadran lateral bawah, kuadran medial (tengah), kuadran medial bawah dan daerah sentral yang merupakan daerah di sekitar puting susu. Berdasarkan pembagian tersebut, diketahui bahwa kanker payudara paling banyak terjadi dan ditemukan pada kuadran lateral (pinggir) yaitu sebesar 44%, diikuti dengan daerah sentral (21%), kuadran lateral (16%), kuadran median (15%) dan kuadran medial bawah (4%). Untuk lebih jelasnya, berikut adalah gambar skema pembagian letak kanker pada payudara (Purwoastuti, 2008):



Gambar 2.2 Skema Pembagian Payudara Untuk Menentukan Lokasi Kanker. Sumber: (Purwoastuti, 2008).

Skema tersebut menunjukkan bahwa kanker dapat dtimbul dimana saja pada payudara. Tidak berhenti sampai di situ, sel-sel kanker juga dapat bemetastasis ke bagian tubuh lainnya (Bratawidjaja dan Iris, 2014). Untuk menghindari hal tersebut, terbebas dari kanker payudara adalah pilihan yang terbaik, yakni dengan langkah pencegahan sedini mungkin. Pencegahan kanker payudara dapat dimulai dengan mengetahui faktor yang menyebabkan timbulnya penyakit ini.

### 2.1.3 Faktor Penyebab Kanker Payudara

Penyebab sebagian besar kanker payudara yang terjadi belum dapat dijelaskan secara terperinci. Namun demikian, terdapat beberapa faktor predisposisi dalam kejadian kanker, seperti abnormalitas konsentrasi hormon estrogen, faktor genetik, pola hidup tidak sehat, lingkungan seperti paparan bahan yang bersifat karsinogenik, mutasi pada gen, aktifnya onkogen (gen yang menyebabkan pembelahan sel secara berlebihan), bertambahnya usia, dan lain-lain (Davey, 2006; Gibbs, 2000; Lewis, 2003).

Keberadaan estrogen menyumbangkan efek negatif dan positif pada sel-sel tubuh tergantung pada konsentrasinya. Estrogen dalam konsentrasi yang tepat dibutuhkan untuk perkembangan jaringan stroma payudara, deposit lemak pada payudara dan pertumbuhan sistem dukltus yang luas untuk persiapan laktasi. Tidak hanya itu, hormon estrogen juga dibutuhkan pada pria untuk pertumbuhan, proliferasi dan diferensiasi sel. Sebaliknya konsentrasi hormon yang tidak seimbang di dalam tubuh, khususnya estrogen dapat memicu timbul dan berkembangnya kanker payudara (Guyton dan Hall, 1996). Dikutip dari (Gibbs, 2000) diketahui bahwa 50% angka kejadian kanker payudara disebabkan oleh sel yang memiliki reseptor estrogen.

Duktus dan lobulus kelenjar payudara sensitif terhadap hormon estrogen. Hal ini disebabkan karena sel-sel pada Duktus dan lobules mengekspresikan reseptor estrogen (ER+). Normalnya interaksi antara reseptor dan hormon estrogen menstimulasi pertumbuhan, perkembangan, diferensiasi dan mamogenesis kelenjar payudara (Van De Graaff dan Fox, 1995). Konsentrasi hormon estrogen yang terlalu tinggi dalam tubuh dapat mengganggu keseimbangan proliferasi, diferensiasi dan kematian sel-sel payudara. Gangguan inilah yang dapat menyebabkan timbulnya kanker (Baskar, 2007; Yager dan Davidson, 2006). Konsentrasi hormon estrogen yang tinggi dapat disebabkan oleh obesitas, faktor genetik dan lain sebagainya.

Faktor genetik seseorang didapat dari kombinasi materi genetik kedua orang tuanya. Apabila seseorang memiliki orang tua maupun kerabat dekat yang memiliki riwayat menderita kanker payudara, resiko seseorang tersebut terserang kanker juga

akan jauh lebih besar. Akan tetapi, resiko tersebut dapat diperkecil dengan memperbaiki pola hidup yang tidak sehat (Esteller, 2006).

Pola hidup yang tidak sehat dapat menjadi penyebab seseorang terkena kanker payudara. Pola hidup yang tidak sehat dapat berupa konsumsi makanan yang mengandung MSG, berpengawet, alkohol, merokok, kurangnya konsumsi buah dan sayur dan lain sebagainya. Selain itu, lingkungan sekitar juga bisa menjadi penyebab seseorang terkena kanker payudara, seperti infeksi organisme, radiasi, paparan zat yang bersifat karsinogenik dsb. Hal-hal tersebut secara langsung maupun tidak dapat menyebabkan mutasi gen maupun pengaktifan onkogen (gen penyebab kanker) (Goepel, 1996; Esteller, 2006).

Beberapa onkogen yang telah diketahui berperan dalam karsinogenesis, meliputi: *Ras*, *c-myc*, *epidermal growth factor receptor (EGFR, erb-B1)*, dan *erb-B2 (HER-2/neu)* (Greenwald, 2002). Selain itu, mutasi yang menyebabkan perubahan ekspresi gen supresor tumor seperti *BRCA1*, *BRCA2* dan *p53* juga dapat memicu timbulnya kanker. Sebanyak <10% kanker payudara disebabkan oleh Mutasi atau ketiadaan *BRCA1* dan lebih dari 30% kanker disebabkan oleh mutasi *p53* (Bouker, 2005). Sel yang mengalami mutasi dapat memperbaiki diri maupun memutuskan program kematian (apoptosis) yang merupakan mekanisme pertahanan sel terhadap kanker. Akan tetapi, kemampuan sel tersebut akan menurun seiring bertambahnya usia. Hal inilah yang menyebabkan usia ambil bagian dalam karsinogenesis (Borek, 2004). Berbagai faktor penyebab kanker akan menggiring sel kedalam mekanisme karsinogenesis.

#### **2.1.4 Mekanisme Terbentuknya Kanker Payudara (Karsinogenesis)**

Proses pembentukan sel kanker (karsinogenesis) dibagi atas 4 tahapan utama, yakni inisiasi, promosi dan progresi dan metastasis (Robert, 2000). Tahapan pertama dalam karsinogenesis adalah inisiasi (permulaan). Tahapan inisiasi ditandai dengan perubahan materi genetik (mutasi) yang menyebabkan sel normal menjadi sel premaligna. Perubahan ini dapat disebabkan karena adanya mutasi DNA sel akibat zat-zat karsinogenik ataupun interaksi berbagai hormon seperti estrogen dan faktor pertumbuhan, baik dari dalam sel itu sendiri maupun dari sel di sekitarnya.

Secara alami, payudara mengalami fase perkembangan dan pertumbuhan yang dipengaruhi oleh siklus menstruasi dan proses gestasi (menyusui). Hal ini menyebabkan sel-sel kelenjar payudara mengalami proliferasi dan diferensiasi. Proses perkembangan ini melibatkan interaksi berbagai hormon steroid dan faktor pertumbuhan, baik dari dalam sel itu sendiri maupun dari sel di sekitarnya. (Guyton dan Hall, 1996; Baskar, 2007). Keberadaan hormon steroid dan faktor pertumbuhan dengan konsentrasi yang tinggi (tidak normal) dapat menginisias pembentukan kanker payudara.

Hormon estrogen yang berlebih pada tubuh dapat memicu karsinogenesis pada sel-sel payudara. Sebanyak 50% kanker payudara tergantung pada estrogen (Gibbs, 2000). Reseptor estrogen akan teraktifasi apabila berikatan dengan hormon estrogen. Reseptor estrogen yang teraktifasi akan menyebabkan transkripsi pada gen yang berperan dalam proliferasi. Sel yang terus mengalami proliferasi tanpa diimbangi dengan kematian sel (apoptosis) akan menimbulkan tumpukan masa sel

yang awalnya disebut dengan tumor. Selain itu, konsentrasi estrogen yang tinggi dapat memicu aktivasi onkogen, seperti Ras, Myc (pertumbuhan), dan CycD1 (*Cell Cycle Progression*). Teraktivasinya beberapa jenis onkogen akan memacu teraktivasinya onkogen lain yang menyebabkan pertumbuhan sel semakin cepat, seperti: PI3K, Akt, Raf dan ERK (Foster, 2001; Hanahan dan Weinberg, 2000).

#### 2.1.5 *Cell Line T-47D*

Kanker payudara merupakan jenis penyakit yang kompleks. Kompleksitas penyakit ini salah satunya karena jenis sel kanker payudara yang bervariasi. Variasi sel kanker dapat diidentifikasi melalui studi molekuler pada tingkat ekspresi gen, histologi, keberadaan *predictive markers* seperti reseptor estrogen dan *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2* (HER2) dan lain sebagainya (Holliday, 2011). Identifikasi jenis sel kanker payudara penting untuk dilakukan, mengingat masing-masing jenis sel kanker payudara memiliki respon terhadap obat yang berbeda, contohnya reaksi obat kanker doxorubicin pada *Cell Line MCF-7* dan *T-47D* (Sorlie, 2000). *Cell Line MCF-7* resisten terhadap doxorubicin, berbeda dengan *Cell Line T-47D* yang sensitif terhadap obat kanker ini (Zampieri, 2002).

Hasil dari identifikasi sel kanker dikelompokkan dalam beberapa sub tipe, meliputi luminal A, luminal B, *basal-like*, *HER2-positive* dan subgroup normal (Holliday, 2011). Sel kanker yang telah diidentifikasi, diklasifikasikan dalam taksonomi dan telah melalui beberapa kali subkultur namun tidak terjadi perubahan materi genetik dapat disebut dengan *cell line*.

*Cell line* merupakan bentuk pemodelan sel kanker yang menjadi pilihan utama dalam banyak penelitian terkait kanker, termasuk kanker payudara. Menurut

Holliday (2011), salah satu keuntungan dari penggunaan *cell line* dalam penelitian adalah karena kultur dari *cell line* terdiri dari kumpulan sel yang homogen dan memiliki kemampuan untuk bereplikasi dalam medium standar. Salah satu jenis *Cell Line* yang berasal dari kanker payudara dan biasa digunakan dalam penelitian adalah *cell line T-47D*.

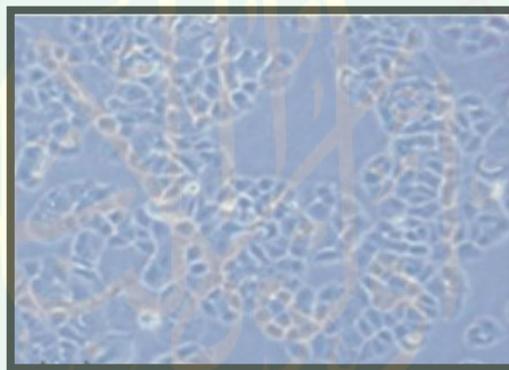
*Cell line T-47D* merupakan jenis sel kanker payudara yang diisolasi dari seorang wanita berusia 54 tahun yang menderita kanker payudara. Sel kanker ini termasuk dalam sub tipe Luminal A. Satu diantara alasan yang menjadikan *Cell line T-47D* termasuk kedalam golongan luminal A adalah karena adanya reseptor estrogen (ER<sup>+</sup>), walaupun jumlahnya tidak sebanyak pada tipe sel kanker dalam kelompok yang sama, yaitu *MCF-7* dan *IBEP-2* (Leclercq, 2004).

Keberadaan reseptor estrogen yang berlebihan pada *Cell line T-47D* mengakibatkan proliferasi dari sel kanker ini menjadi tidak terkontrol. Reseptor estrogen dapat terekspresi melalui stimulus dari faktor transkripsi estrogen. Salah satu jenis reseptor estrogen yang dapat menyebabkan kanker adalah reseptor estrogen alfa (ER $\alpha$ ) (Hayashi, 2003). Meskipun demikian, keberadaan reseptor estrogen pada sel kanker dapat digunakan sebagai target terapi penyembuhan dengan cara menghambat pertumbuhannya menggunakan senyawa yang bersifat anti-estrogen (Holliday, 2011).

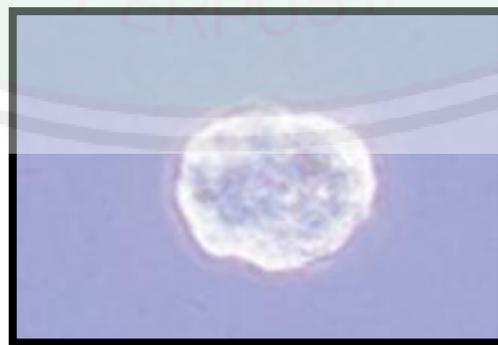
Sebanyak 50- 60% dari total kejadian kanker payudara disebabkan oleh sel kanker dari sub tipe luminal A. Dengan kata lain, sub tipe ini merupakan kanker payudara yang paling sering terjadi (Pilar, 2012). Oleh karena itu, jenis sel kanker ini sering digunakan sebagai model dalam penelitian terkait pengobatan kanker

payudara, baik secara *in vivo* (tumor xenograf pada tikus), maupun *in vitro* (Adjo dan Lin, 2012).

Morfologi *Cell line T-47D* akan berbeda bergantung pada dimensi dari kultur yang digunakan. Terdapat dua jenis dimensi kultur yang biasa digunakan dalam penelitian bergantung dari tujuannya, yakni kultur 2-dimensi dan kultur 3-dimensi. Kultur 3-dimensi digunakan untuk memahami struktur normal dari sel kanker payudara, skrining obat, *disease progression*, dan lain sebagainya (Kenny, 2007 dalam Holliday, 2011).



Gambar 2.3 Morfologi *Cell line T-47D* dalam Kultur 2-Dimensi. Sumber: (Holliday, 2011).



Gambar 2.4 Morfologi *Cell line T-47D* dalam Kultur 3-Dimensi. Sumber: (Holliday, 2011).

*Cell Line T-47D* mengalami *missense mutation* pada residu 194 (dalam *zinc-binding domain L2*) sehingga p53 kehilangan fungsinya. Jika p53 tidak dapat berikatan dengan *response element* pada DNA, maka kemampuannya untuk regulasi *cell cycle* dan apoptosis dapat berkurang atau hilang (Schafer, 2000).

### 2.1.6 Apoptosis

Sel dalam tubuh makhluk hidup khususnya manusia membutuhkan mekanisme homeostasis (keseimbangan) salah satunya untuk mengatur kehidupan dan kematian sel itu sendiri. Mekanisme homeostasis ini disebut dengan apoptosis. Secara bahasa, apoptosis berarti kematian sel yang terprogram, dengan kata lain apoptosis dikendalikan oleh sel itu sendiri (CCRC, 2012). Oleh sebab itu, apoptosis penting dalam pathogenesis beberapa jenis penyakit, diantaranya AIDS, Alzheimer, Parkinson, kanker, dan lain sebagainya (Robert, 2000).

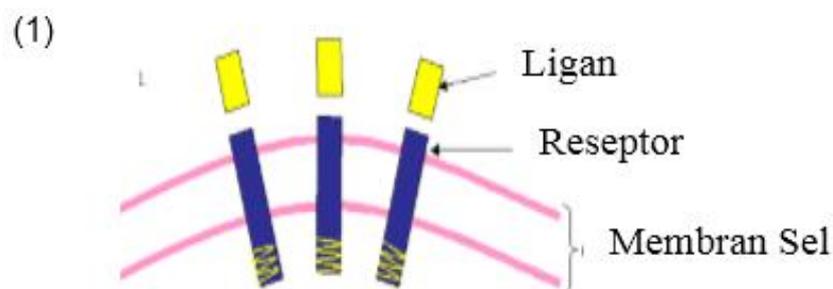
Tahap pelaksanaan apoptosis terjadi melalui dua jalur, yakni ekstrinsik dan intrinsik. Perbedaan dari keduanya terletak pada jenis penginisiasinya. Jalur ekstrinsik diinisiasi melalui stimulasi dari reseptor kematian (*Death Receptor*), sedangkan jalur intrinsik diinisiasi melalui pelepasan faktor signal dari mitokondria. Inisiasi jalur kematian baik oleh *Death Receptor* maupun faktor signal dari mitokondria dapat terjadi jika sebelumnya terdapat interaksi dengan signal penginduksi apoptosis (Robert, 2000; CCRC, 2012).

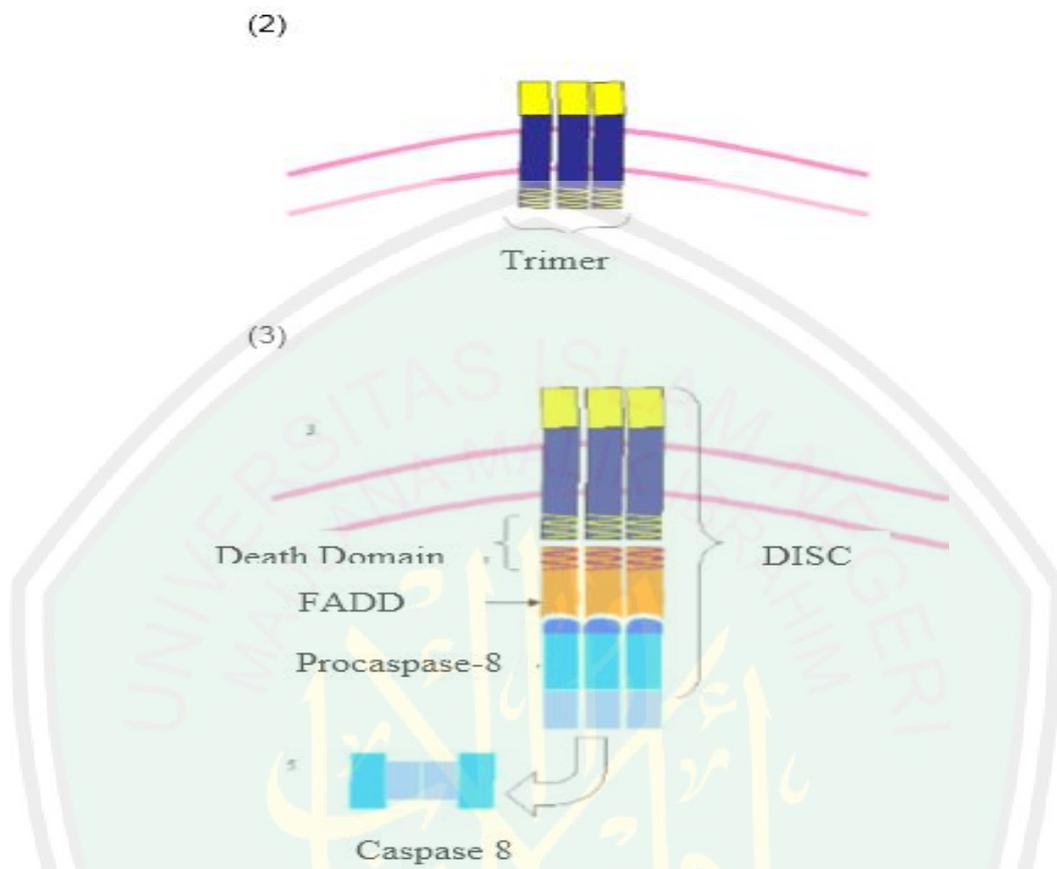
Signal penginduksi apoptosis dapat berasal dari ekstraseluler maupun intraseluler. Signal ekstraseluler dapat berupa hormon seperti tiroksin yang menginduksi apoptosis pada ekor tadpole, signal yang berasal dari sel yang bedekatan, senyawa aktif dari suatu tanaman dan lain sebagainya. Sedangkan signal

intraseluler dapat berupa kerusakan DNA akibat radikal bebas, gangguan pada siklus sel dan radiasi ionisasi (CCRC, 2012).

a. Apoptosis Jalur Ekstrinsik

Jalur ekstrinsik dimulai dengan adanya signal penginduksi apoptosis yang berasal dari luar sel tersebut dan kemudian berinteraksi dengan *Death Receptor*. Signal penginduksi ini diibaratkan sebagai ligan yang dapat berikatan dengan *death reseptor* pada transmembran sel target yang menginduksi apoptosis. *Death receptor* tersebut merupakan famili reseptor TNF (*Tumor Necrosis Factor*), meliputi: *TNF-R1*, *CD 95 (Fas)*, dan *TNF-Related Apoptosis Inducing Ligan (TRAIL)-R1* dan *R2*. Ikatan antara ligan dan reseptor ini menyebabkan Caspase inisiator 8 membentuk trimer dengan adaptor FADD (*Fas Associated Death Domain*) menghasilkan DISC (*Death Inducing Signaling Complex*), yaitu kompleks yang terbentuk antara ligan-reseptor dan FADD. Kompleks ini memstimulasi protein lain untuk ikut berikatan, yakni CD95, TRAIL-R1 dan R2 yang terikat dengan FADD, sedangkan TNF-R1 juga ikut berikatan secara tidak langsung melalui molekul adaptor lain (*TNF-Receptor Associated Death Domain Protein (TRADD)*) (Robert, 2000; CCRC, 2012).





Gambar 2.5 Tahapan Apoptosis Jalur Ekstrinsik. (1) proses pengikatan ligan dengan reseptor transmembran, (2) ikatan antara ligan dan reseptor transmembran (3) terbentuknya kompleks DISC. Sumber: (CCRC, 2012)

b. Apoptosis Jalur Intrinsik

Jalur intrinsik diinisiasi melalui pelepasan faktor signal dari mitokondria berupa sitokrom c. Pelepasan sitokrom c dari intermembran mitokondria menuju sitoplasma sel terjadi akibat adanya gangguan pada mitokondria, seperti kerusakan DNA akibat radikal bebas, gangguan pada siklus sel, radiasi ionisasi, adanya senyawa kimia, hilang maupun berkurangnya faktor pertumbuhan, dan lain sebagainya. Hal-hal ini akan memicu protein caspase 8 untuk memotong anggota family Bcl-2, yaitu Bid. Bid yang terpotong pada bagian ujungnya akan

menginduksi Bax ke dalam membran mitokondria sehingga terlepaslah molekul proapoptosis, seperti: sitokrom c, *Smc/Diablo*, *Apoptosis Inducing Factor (AIF)*, dan *omi/Htr2*. Selanjutnya, adanya dATP akan menyebabkan terbentuknya ikatan antara sitokrom c dan APAF1 yang disebut dengan CARD (*Caspase Recruitment Domain*). CARD yang telah terbentuk selanjutnya mengikat caspase 9. Gabungan beberapa CARD disebut dengan apoptosom. Caspase 9 akan bekerja mengaktifkan downstream procaspase-3 (Robert, 2000; CCRC, 2012).

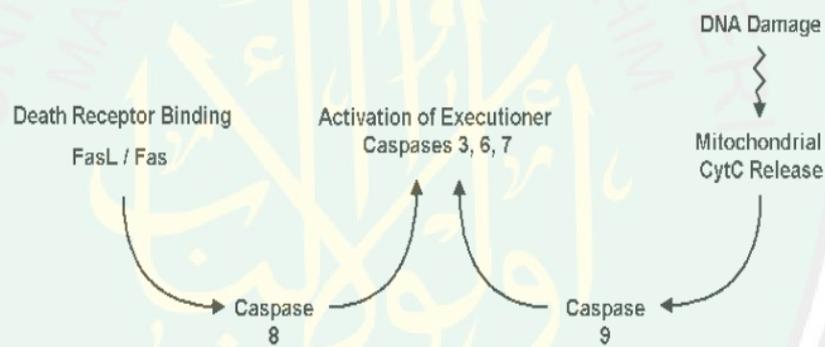
Caspase 3 yang teraktifasi akan bekerja dengan memecah berbagai substrat, diantaranya: enzim *DNA repair* seperti *Poly-ADP Ribose Polymerase (PARP)* dan DNA Protein Kinase yang merupakan protein struktural seluler dan nukleus, termasuk apparatus mitotik inti, aktin, lamina nukleus, endonuclease, seperti *Caspase Activated Deoxyribonuklease Inhibitor (ICAD)* dan komponen seluler lainnya. Selain itu, caspase 3 juga bekerja mengaktifkan caspase lainnya yang akan menambah kerusakan seluler, seperti procaspase 6 menjadi caspase 6, procaspase 7 menjadi caspase 7.

Banyaknya kerusakan yang dialami sel akan meningkatkan *Cellular stress* dan meningkatkan ekspresi *p53*. Peningkatan ekspresi *p53* akan menggiring sel untuk melakukan *G1 arrest (cell cycle arrest)* atau apoptosis. Peningkatan ekspresi *p53* distimulasi oleh protein *p53 (ASPP)*, yaitu *ASPP 1* dan *ASPP 2* secara spesifik mestimulasi fungsi transaktivasi *p53* pada promotor gen proapoptotik seperti Bax dan *p53 Inducible Gene 3 (PIG 3)*. Sedangkan gen yang menyebabkan *Cell Cycle Arrest* adalah *p21* dan *MDM2*. Namun demikian, di dalam sel terdapat regulator apoptosis. Apoptosis melalui *Mitochondrial Pathway* diregulasi oleh protein Bcl-2

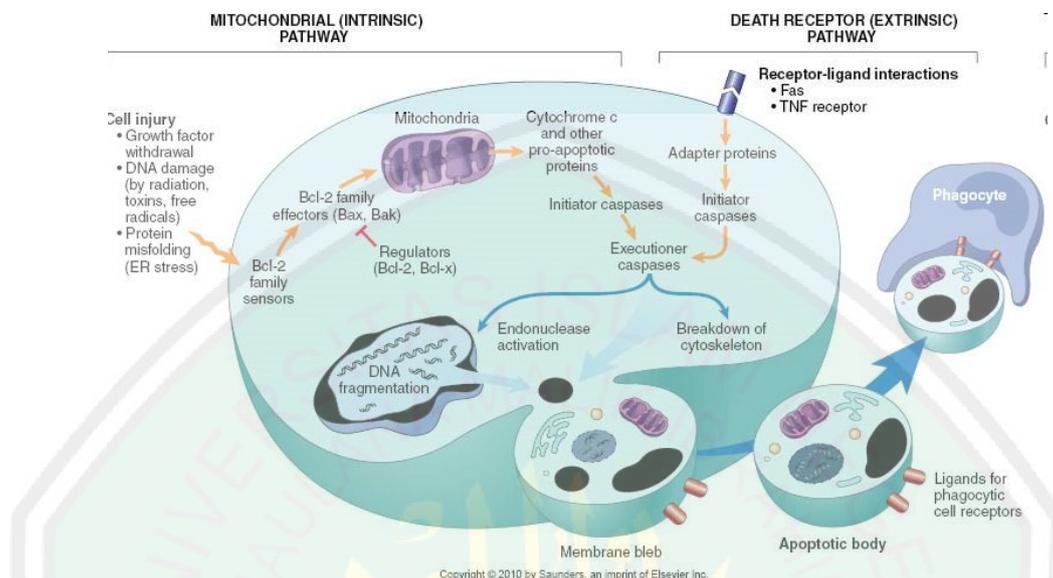
dan BAX. Protein Bcl-2 berperan menghambat terjadinya apoptosis pada sel kanker (anti-apoptotic), sedangkan protein BAX bekerja memacu terjadinya apoptosis (pro-apoptotic) (Hengartner, 2000)

### C. Pertemuan Antara Jalur Ekstrinsik dan Intrinsik

Kedua jalur kematian sel (apoptosis) ini pada titik tertentu akan saling bertemu. Pertemuan ini terjadi ketika caspase inisiator (caspase 8, 9, 10) menghasilkan aktivasi caspase efektor (caspase 3, 6, 7). Pertemuan antar kedua jalur ini menggiring sel menuju apoptosis (Robert, 2000; CCRC, 2012).



Gambar 2. 6 Pertemuan Antar Caspase. Sumber: (CCRC, 2012)



Gambar 2. 7 Pertemuan Antar Kedua Jalur Apoptosis. Sumber: (CCRC, 2012)

### 2.1.7 Pengobatan Kanker Payudara

Usaha penyembuhan kanker payudara dapat dilakukan melalui beberapa macam pengobatan. Tindakan pengobatan tersebut dibagi atas 3 jenis, yakni operasi, radiasi dan terapi pendamping. Terapi pendamping dibagi atas terapi hormonal, imunoterapi dan kemoterapi (Hahn & Payne, 2003). Baik operasi maupun radioterapi diterapkan kepada pasien yang mengidap kanker lokal, sedangkan kemoterapi diterapkan pada kanker yang bermetastasis. Hal ini dikarenakan senyawa yang digunakan saat kemoterapi diedarkan keseluruh tubuh melalui pembuluh darah, saluran yang sama saat sel kanker bermetastasis (Graidist, 2015).

Kemoterapi dilakukan dengan menggunakan obat-obatan maupun bahan alam dengan efek sitotoksik pada sel kanker (Hahn & Payne, 2003). Obat kemoterapi dibedakan dalam beberapa kategori, sebagai berikut: hormon terapi

(contohnya: tamoxifen), pemodifikasi respon biologi (contonya: interferon), derivat camptothecin (contohnya: topotecan), antimetabolite (contohnya: 5-fluorouracil), menghambat mitosis (contohnya: vincristine), platinum (contohnya: cisplatin), antibiotik yang mempengaruhi asam nukleat (contohnya: doxorubicin, bleomycin) dan agen-agen alkylating (contohnya: cyclophosphamide) (Lamson, 2000).

Akan tetapi, Obat-obatan yang digunakan dalam kemoterapi seringkali menimbulkan reaksi yang buruk pada sel normal, terutama pada sel yang proliferasinya cepat seperti rambut dan sumsum tulang belakang (Rao, 2007). Berbeda dengan obat-obatan sintetis, bahan alam dinilai lebih aman karena tidak menimbulkan efek merugikan yang terlalu berarti pada sel normal. Bahan alam yang digunakan dapat berupa tumbuh-tumbuhan yang dipercaya oleh masyarakat dapat menyembuhkan penyakit kanker. Sebagian besar dari tumbuhan tersebut tersedia berlimpah dimuka bumi sehingga mudah diakses ataupun dapat dibeli dengan harga yang terjangkau oleh masyarakat (Septiani, 2012; Zein, 2005). Allah SWT berfirman dalam surah Asy- Syu'araa (26): 7;

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

*“Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”* (Q.S. Asy-Syu'araa (26): 7-8).

Kata كَرِيمٍ pada ayat di atas menggambarkan sesuatu yang baik bagi objek yang disifatinya, yakni berbagai macam tumbuh-tumbuhan (Shihab, 2008). Tumbuh-tumbuhan yang baik dalam hal ini adalah tumbuhan yang dapat

memberikan manfaat pengobatan, termasuk kanker payudara. Salah satu jenis tanaman tersebut adalah *Sansevieria trifasciata* Prain atau yang dikenal dengan lidah mertua.

## 2.2 Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain)

### 2.2.1 Tinjauan Umum Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain)

*Sansevieria trifasciata* merupakan satu dari 37 jenis dalam genus *Sansevieria* yang ditemukan di Indonesia dan dari total kurang lebih 140 jenis yang ada di dunia (Angkasa, 2008; Mardiana, 2015). *S. trifasciata* masuk ke Indonesia sekitar tahun 1980-an, namun penyebarannya mencakup daerah-daerah beriklim tropis hingga subtropis, seperti Indonesia, afrika, india (Purwanto, 2006). Jenis ini adalah yang paling dikomersialkan. Kurang lebih sebanyak 20 jenis kultivar dari *S. trifasciata* telah diperdagangkan di seluruh dunia, seperti: Hahnii, Laurentii, dan lain-lain (Henley, 1982). *S. trifasciata* Prain merupakan kultivar yang paling diminati dikalangan masyarakat Jepang, Korea, Eropa dan Indonesia (Angkasa, 2008).

Menurut Novita (2007) kultivar adalah segolongan tumbuhan yang telah mengalami seleksi berdasarkan ciri khas yang dapat membedakannya dengan golongan yang lain dan dapat tetap mempertahankan ciri khas tersebut ketika diperbanyak, baik secara seksual maupun aseksual. Keanekaragaman kultivar dari spesies *S.trifasciata* menggambarkan betapa besar kekuasaan Allah SWT, seperti firman-Nya dalam surah Al-an'am (6): 99;

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكَُمْ لَآيَاتٍ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tan aman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (Q.S. Al-an’am (6): 99).

Kata *نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ* mengandung makna bahwa Allah SWT menumbuhkan segala jenis tanaman (Imani, 2004). Dalam hal ini, kata jenis pada ayat di atas menggambarkan beragamnya kultivar, salah satunya pada *Sansevieria trifasciata* Prain. Kata berikutnya dalam ayat tersebut adalah “Perhatikanlah” berarti memperhatikan kekuasaan penciptanya yang telah menciptakan dari tidak ada menjadi ada. Melalui proses memperhatikan ini maka dapat ditemui “tanda-tanda (kekuasaan Allah)” yang dapat diartikan sebagai hikmah maupun manfaat yang dapat diperoleh dari ciptaan-Nya salah satunya adalah *S. trifasciata* Prain (Azka, 2016).

Manfaat *S. trifasciata* Prain meliputi bidang industri, seni kesehatan dll. Di bidang seni *S. trifasciata* Prain digunakan sebagai tanaman hias baik di dalam maupun di luar ruangan karena keindahan serta kemampuannya menyerap 107 polutan berbahaya (Gitasari, 2011; Tahir dan Sitanggang, 2008). Sedangkan di bidang industri, serat *S. trifasciata* Prain digunakan sebagai bahan baku tekstil (Suharsih, 2013). Selain banyak dimanfaatkan dalam industri tekstil maupun

tanaman hias, *S. trifasciata* ternyata juga memiliki kemampuan untuk mengobati maupun mencegah penyakit. Dikutip dari (Lombogia, 2016), diketahui bahwa *S. trifasciata* memiliki kemampuan antibakteri pada *Escherichia coli* dan *Streptococcus sp.* Hasil penelitian Laimeheriwa (2014) membuktikan bahwa ekstrak etanol daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata*) memiliki efek terhadap penurunan kadar gula darah tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus* L.) yang diinduksi sukrosa.

Banyaknya manfaat *S. trifasciata* Prain membuat tanaman ini banyak dicari. Kemampuan untuk membedakan *S. trifasciata* Prain dengan jenis maupun kultivar yang lain sangat dibutuhkan, mengingat berbeda jenis akan berbeda pula manfaatnya. Jika demikian, maka perlu diketahui morfologi dari tanaman ini secara mendetail.

### **2.2.2 Morfologi dan Klasifikasi Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain)**

*Sansevieria trifasciata* Prain memiliki morfologi yang tidak jauh berbeda dengan spesies dalam genus *Sansevieria* lainnya. Oleh karena itu, untuk dapat membedakannya diperlukan panduan identifikasi mengenai morfologi akar, batang, daun maupun bunga yang detail. Beberapa unsur pokok yang digunakan untuk membedakan *S. trifasciata* Prain dengan jenis yang lain adalah bentuk dan corak daun serta tipe dan susunan bunga (Tahir, 2008).

Bentuk dan corak daun *S. trifasciata* Prain merupakan ciri khas yang membedakan tanaman ini dari jenis lainnya. *S. trifasciata* Prain memiliki bentuk daun bulat memanjang, ujung runcing dengan corak bagian tengah daun mendominasi warna hijau dengan aksentasi garis-garis seperti loreng dan tepi daun

berwarna kuning (Tahir, 2008; Prayugo, 2008). Tanaman ini juga memiliki daun yang tebal sehingga mampu menyimpan air dan tergolong kedalam jenis tanaman xerofit (sedikit membutuhkan air) (Purwanto, 2006). Bentuk dan corak daun merupakan pembeda dan daya tarik utama dari tanaman ini, akan tetapi keunikan dari bunganya juga diperlukan sebagai dasar identifikasi.

*S. trifasciata* memiliki tipe dan susunan bunga yang dapat dibedakan dari jenis *Sansevieria* lainnya. Dalam genus *sansevieria*, terdapat 3 tipe tandan dan susunan bunga, yakni: *in spike-like raceme* (*S. kirkii*, *S. robusta*, *S. soordida*, dll), *panicle raceme* (*S. trifasciata*, *S. hahnii*, *S. parva*, dll) dan *capitate raceme* (*S. humiflora*). Bunga dari tanaman ini berkelamin dua dan beraroma wangi khas yang mekar pada malam hari. Warna bunga adalah putih kehijauan yang dapat tumbuh memanjang sampai 5 cm (Tahir, 2008; Dewi, 2012). Selain bunga, bagian tubuh *S. trifasciata* Prain lainnya juga memiliki karakteristik tersendiri.

Bagian tubuh lain dari *S. trifasciata* Prain adalah akar dan batang. Tanaman ini memiliki akar serabut yang tumbuh dari rimpang (*rhizome*) sehingga dapat menghasilkan tunas anakan. Akar ini berwarna putih sampai kemerahan. Bagian batang sangat pendek bahkan hampir tidak tampak, sehingga banyak orang yang menganggap tanaman ini tidak berbatang (*stemless*). Akan tetapi, sebenarnya tanaman ini memiliki baik batang sejati maupun batang semu. Batang sejati dikenal dengan sebutan rimpang yang berada di bawah tanah, sedangkan batang semu disebut dengan stolon yang terletak dipermukaan tanah (Tahir, 2008).



Gambar 2.8 Morfologi *Sansevieria trifasciata* Prain (Lidah Mertua) Sumber: (Dokumentasi pribadi, 2017)

Berdasarkan morfologi *S. trifasciata* Prain yang telah dijabarkan di atas, berikut klasifikasinya menurut Carl Peter Thunberg (1794) yang disahkan dalam kongres tanaman hias internasional (*Vienna Congres of Botanical Nomenclature*) di Austria pada tahun 1905 (Tahir, 2008; Angkasa, 2008):

Kingdom	:	Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	:	Tracheobionta (berpembuluh)
Superdivisio	:	Spermatophyte (menghasilkan biji)
Division	:	Magnoliophyta (berbunga)
Kelas	:	Liliopsida (berkeping satu atau monokotil)
Sub-kelas	:	Liliidae
Ordo	:	Liliales
Familia	:	Agavaceae
Genus	:	<i>Sansevieria</i>
Spesies	:	<i>Sansevieria trifasciata</i> Prain

Penjabaran tentang morfologi dan klasifikasi *Sansevieria trifasciata* Prain belum cukup untuk mengenal tanaman ini secara mendalam. Unsur penting lainnya yang perlu untuk diketahui adalah kandungan senyawa aktifnya. Informasi ini dibutuhkan untuk memaksimalkan pemanfaatan *Sansevieria trifasciata* Prain terutama di bidang kesehatan.

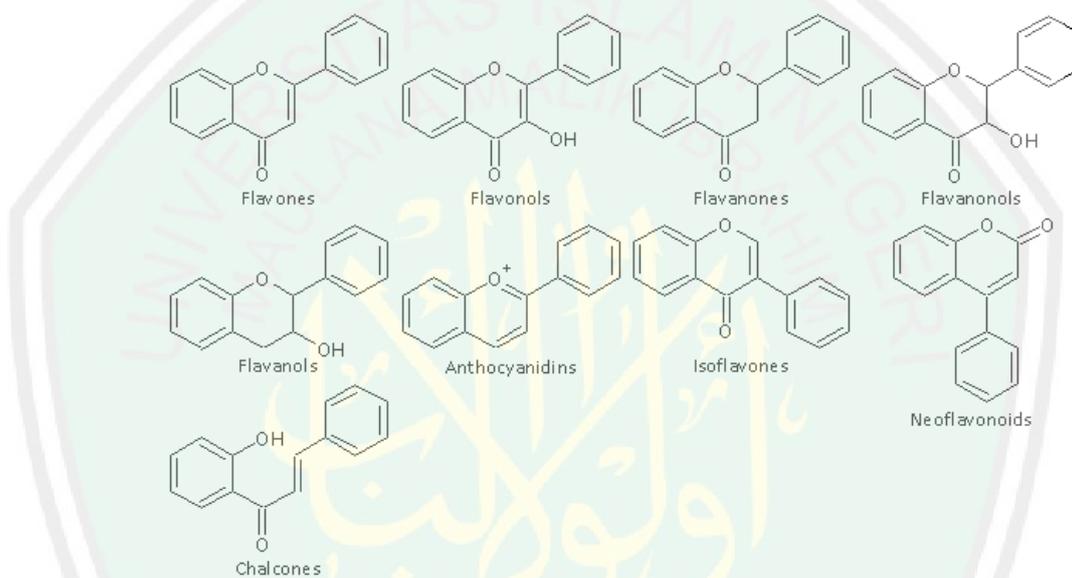
### 2.2.3 Kandungan Senyawa Aktif Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata*)

*S. trifasciata* mengandung berbagai senyawa baik metabolit primer maupun sekunder. Dikutip dari Putra (2013), diketahui bahwa *S. trifasciata* mengandung abamagenin, kardenolin dan polifenol. Tanaman ini juga mengandung vitamin C, tanin, glukogalin, asam galat, asam elegat, korilagin, terchebin chebulagic acid, chebulinic acid, 3,6- digalailglukosa, mucid acid, phylembic acid dan emblikol (Hariana, 2008). Dey (2014) juga melakukan analisis GC-MS dengan hasil menunjukkan bahwa *S. trifasciata* mengandung senyawa fenolik, alkaloid, terpenoid, flavonoid, steroid, glikosida dan saponin. Mendukung hal tersebut, hasil penelitian Mimaki (1996) menyebutkan bahwa ekstrak metanol *S. trifasciata* mengandung 12 jenis saponin sterioidal. Berdasarkan berbagai penelitian, diketahui bahwa beberapa senyawa-senyawa aktif dalam *S. trifasciata* memiliki efek antikanker, berikut senyawa-senyawa aktif tersebut:

#### a. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa golongan fenolik alam yang dapat ditemukan pada seluruh bagian tanaman termasuk pada tepung sari, akar dan buah. Senyawa ini diklasifikasikan kedalam 11 golongan, sebagai berikut: flavon, flavonol, flavanon, flavanonol, isoflavon, kalkon, dihidrokalkon, auron,

antosianidin, katekin dan flavan-3, 4-diol (Sirait, 2007). Senyawa flavonoid memiliki banyak manfaat baik pada tanaman itu sendiri maupun bagi kesehatan sel tubuh manusia. Manfaat flavonoid bagi tumbuhan, yakni bekerja menarik serangga dan binatang untuk penyerbukan serta penyebaran biji, sedangkan bagi manusia senyawa flavonoid memiliki aktifitas antioksidan.



Gambar 2. 9 Beberapa Struktur Senyawa Golongan Flavonoid secara umum.  
Sumber: (Wikipedia, 2014).

Aktifitas antioksidan senyawa flavonoid baik bagi sel tubuh karena dapat menghilangkan stress oksidatif penyebab kanker, antimutagenik, antikarsinogenik, antitumor, menunda penuaan dll (Graidist, 2015; Mahassni, 2013; Sirait, 2007; Zai, 1998; Rana, 2005). Beberapa senyawa golongan flavonoid yang memiliki efek antioksidan seperti Genistein, daidzein, quersetin dan antosianin ((Murkies, 1998; (Geffen, 2007).

Genistein dan quersetin merupakan jenis dari flavonoid yang mampu mengikat *ATP binding site* protein kinase menyebabkan terhambatnya aktifitas

protein kinase (Murkies, 1998). Protein kinase berperan dalam interaksi signal pertumbuhan yakni memacu *cell cycle progression* sel kanker (Hanahan dan Weinberg, 2000). Selain itu, beberapa jenis protein kinase juga berperan penting pada karsinogenesis tahap promosi dan progresi, mekanisme antiapoptosis dan angiogenesis (Nooble, 2004; Cory dan Adams, 2002; Kerbel dan Folkman, 2002). Senyawa berikutnya adalah daidzein yang bekerja mencegah radikal bebas (antioksidan), menghambatan angiogenesis, mengatur level estrogen, yakni sebagai antiestrogen (konsentrasi hormon estrogen berkaitan erat dengan pembentukan kanker payudara) dll (Geffen, 2007). Selain Genistein dan daidzein, hasil penelitian Srivastava (2016) menunjukkan bahwa senyawa golongan flavonoid lain, yakni quersetin menginduksi sitotoksitas pada sel kanker payudara, *cell cycle arrest* dan mengaktifkan jalur kematian intrinsik melalui interaksi dengan DNA sel yang menyebabkan apoptosis baik pada *Cell Line* kanker maupun jaringan tumor.

Dikutip dari hasil penelitian Rahim (2016) diketahui bahwa total flavonoid pada *S. trifasciata* yang diekstraksi dengan menggunakan etanol 96% sebesar 5.454 $\mu$ g/g. Salah satu senyawa golongan flavonoid yang telah terdeteksi terkandung dalam lidah mertua adalah antosianin. Hasil penelitian Gupta (2015) dalam jurnalnya yang berjudul *Osmolyte and antioxidant adjustment in indoor plants in response to varying low temperature stress*, diketahui bahwa kandungan antosianin pada *S. trifasciata* sebesar 1,75  $\mu$ g g<sup>-1</sup> Fr. Wt.

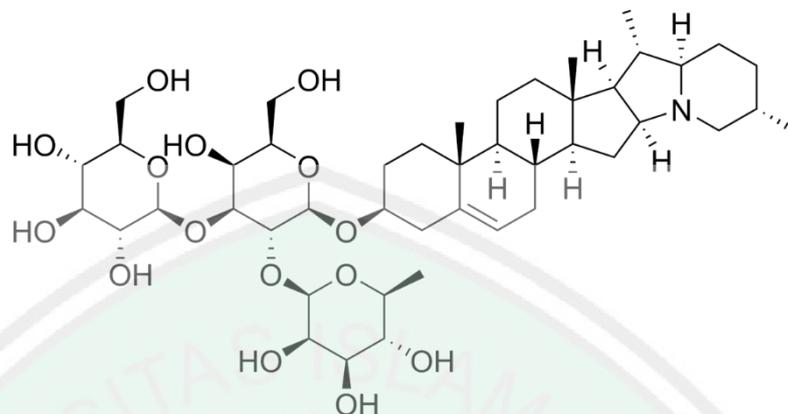
#### **b. Saponin**

Saponin merupakan senyawa yang termasuk kedalam golongan glikosida. Glikosida adalah senyawa-senyawa yang apabila dihidrolisis akan terurai menjadi

gula (glikon) dan senyawa lain (aglikon atau genin). Aglikon dari senyawa saponin juga disebut dengan sapogenin. Keberadaan glikon dan aglikol pada senyawa saponin menyebabkan senyawa ini memiliki 2 sifat, yaitu hidrofob (aglikonnya) dan hidrofil (glikonnya) (Sirait, 2007). Hal ini menyebabkan saponin memiliki karakteristik berupa buih ketika dikocok (Prihatman, 2001).

Mien (2015) melaporkan bahwa *S. trifasciata* Prain mengandung saponin dengan kadar 3, 125%. Teponno (2016) melaporkan bahwa terdapat beberapa senyawa turunan saponin yang terkandung di dalam *S. trifasciata*, meliputi: *Ruscogenin*, *25S-Ruscogenin*, *Neo-Ruscogenin*, *Sansevierigenin* dan *Abamagenin*. Senyawa-senyawa tersebut diketahui termasuk kedalam golongan saponin sterol. Selain kelima jenis tersebut, hasil penelitian Mimaki (1996) menyebutkan bahwa *S. trifasciata* mengandung 12 jenis saponin steroidal.

Hasil dari hidrolisis saponin menyebabkan senyawa ini oleh Steinegger dan Hansel di kelompokkan menjadi 2 golongan, yaitu: saponin steroidal (bila terhidrolisis akan membentuk senyawa sterol) dan saponin triterpen (bila terhidrolisis akan membentuk senyawa triterpen). Sedangkan oleh Tschsche, Wolff, dan Gerlach membaginya kedalam 3 golongan, yakni: saponin spirostanol (saponin netral), saponin triterpena (saponin asam) dan saponin sterol (saponin basa) yang dibagi lagi menjadi tipe demising atau solanin dan tipe tomatin (Sirait, 2007). Saponin memiliki efek antimikroba, antioksidan, antivirus, antikarsinogenik dan antikanker (Angkasa, 2008).



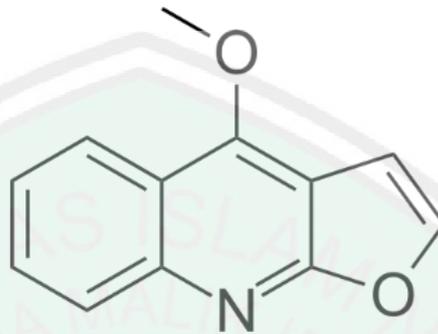
Gambar 2. 10 Struktur Saponin. Sumber: (Wikipedia, 2014)

### c. Alkaloid

Alkaloid diproduksi di daun sebagai tempat terjadinya fotosintesis. Namun demikian, pada beberapa tanaman senyawa ini dapat ditemukan pada bagian kuncup muda, akar, getah, dll. Oleh karena itu, bagian tanaman yang digunakan dalam pembuatan simplisia dengan target senyawa alkaloid adalah akar, daun, buah, biji dan kulit (Sirait, 2007).

Alkaloid memiliki banyak manfaat baik bagi tubuh manusia maupun dalam tanaman itu sendiri. Dalam tubuh tanaman, senyawa ini diperkirakan berperan dalam mekanisme pertahanan diri dari serangan luar seperti serangga (Sirait, 2007). Senyawa alkaloid terdapat di dalam tanaman tidak dalam keadaan bebas, melainkan terikat sebagai garam bersama dengan asam-asam organik, seperti: oralat, suksinat, taurat dan asam maleat. Keberadaan senyawa alkaloid dalam tanaman dapat diuji menggunakan pereaksi Mayer  $K_2(Hgl_4)$ , asam pikrat, Dragendorff  $K Bi I_4$ , asam fosfo wolframat, asam fosfomolibdat, dsb. Prinsip kerja dari pereaksi-pereaksi

tersebut adalah alkaloid yang mengendap bersama logam-logam berat (Sirait, 2007).



Gambar 2. 11 Struktur Alkaloid. Sumber: (Wikipedia, 2014)

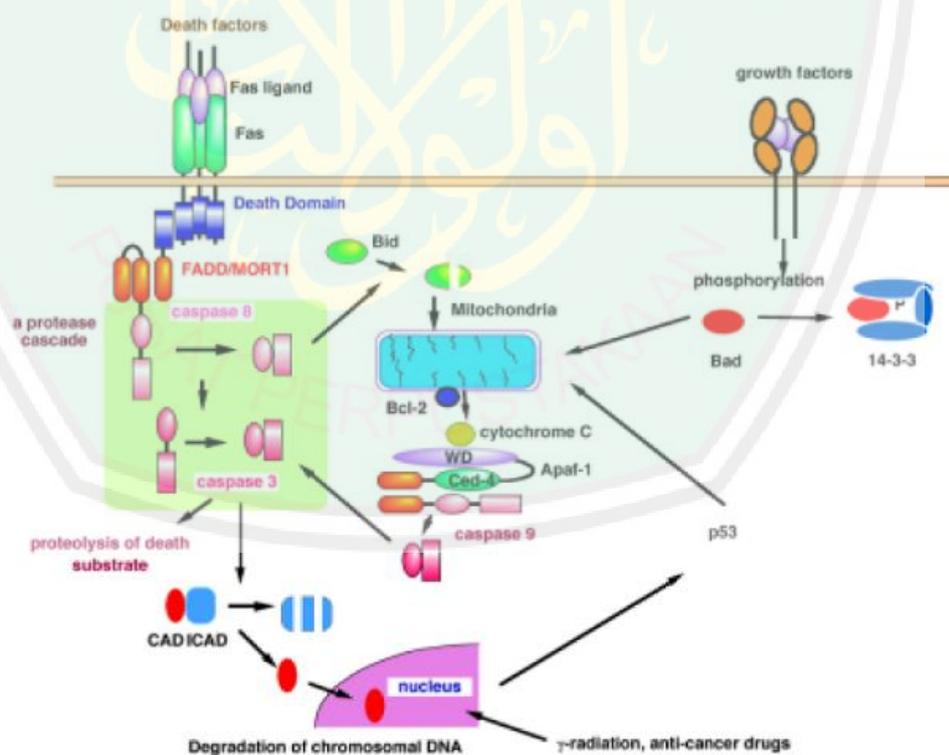
Kandungan dan manfaat senyawa aktif dalam *Sansevieria trifasciata* Prain menjadi dasar timbulnya hipotesis bahwa tanaman ini memiliki potensi antikanker. Hal ini dapat digambarkan melalui suatu mekanisme aksi antikanker menggunakan model percobaan, seperti *Cell Line T-47D*.

### 2.3 Mekanisme Antikanker Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain) terhadap *Cell Line T-47D*

Kanker merupakan satu diantara banyak jenis penyakit yang terjadi karena terganggunya mekanisme apoptosis pada sel normal. Sel normal hanya akan membelah diri ketika dibutuhkan, seperti pada saat ada sel lain yang rusak ataupun mati. Lain halnya dengan sel kanker yang akan terus membelah meskipun tidak sedang dibutuhkan oleh tubuh. Hal ini terjadi karena sel kanker kehilangan kemampuan untuk menjalankan apoptosis, contohnya yang terjadi pada *Cell Line T-47D*.

*Cell line T-47D* merupakan jenis sel kanker payudara yang mengalami *missense mutation* pada residu 194 (dalam *zinc-binding domain L2*. p53 merupakan

protein yang berperan dalam respon seluler pada kerusakan DNA. Mutasi pada gen p53 menyebabkan *Cell Line T-47D* kehilangan kemampuannya untuk merespon kerusakan yang terjadi, akibatnya sel ini tidak dapat meregulasi *cell cycle* dan apoptosis (Schafer, 2000). Akan tetapi, keadaan ini diduga dapat ditangani dengan pemberian senyawa aktif dari ekstrak etanol *S. trifasciata* Prain. Senyawa aktif *S. trifasciata* Prain dapat menyebabkan apoptosis pada *Cell Line T-47D* tanpa melibatkan protein P53. *Cell Line T-47D* yang mengalami mutasi pada gen p53 dapat tetap diinduksi kematiannya melalui mekanisme kerusakan membran mitokondria dan pengaktifan *death receptor* (Meiyanto, 2006).



Gambar 2. 12 Jalur Kematian Sel Kanker Melalui Apoptosis. Sumber: (CCRC, 2012)

Senyawa aktif *S. trifasciata* Prain dapat berinteraksi dengan *death reseptor* pada transmembran *Cell Line T-47D*. Ikatan antara *death reseptor* dengan senyawa aktif yang sesuai akan mengaktifkan *FADD (Fas Associated Death)*. Kemudian *FADD* yang teraktivasi akan menyebabkan interaksi antar protein *FADD* di dalam sel dan membentuk *DISC (Death Induce Signaling Cascade)*. *DISC* yang terbentuk akan mengaktifkan protein *procaspase-8* menjadi *caspase-8*. Selanjutnya, protein *caspase-8* yang teraktivasi akan mengaktifkan *procaspase 3* menjadi *caspase-3*. Protein *caspase-3* yang teraktivasi akan bekerja dengan mendegradasi inhibitor dari enzim nuklease dan menyebabkan enzim nuklease bebas atau teraktivasi. Nuklease yang aktif akan merusak intisel beserta materi genetik di dalamnya dan terjadilah apoptosis (Goodwin dan Di Maio, 2000; Robert, 2000).

Aktivasi protein *caspase-8* melalui jalur ekstrinsik juga dapat mengaktivasi protein- protein yang biasanya bekerja melalui jalur intrinsik, seperti protein *BID*. Protein *BID* yang teraktivasi menjadi *tBID* akan mengaktifkan protein *BAX/BAK*. Protein *BAX/BAK* bekerja dengan membuat pori pada membran mitokondria. Pori yang terbentuk akan menyebabkan sitkrom- C (*Cyt-c*) keluar ke sitosol. *Cyt-c* yang berada di sitosol dapat berikatan dengan protein *Apaf-1* dan mengaktifasi *procaspase-9* menjadi *caspase-9*. *Caspase-9* yang teraktivasi lalu akan menyebabkan *procaspase-3* menjadi *caspase-3*. Proses ini akan terus berjalan hingga sel kanker payudara mengalami apoptosis (Goodwin dan DiMaio, 2000; Robert, 2000).

Selain menginduksi apoptosis, senyawa aktif *S. trifasciata* Prain dapat menimbulkan reaksi yang menguntungkan lainnya. Zein (2005) melaporkan bahwa

senyawa antioksidan seperti alkaloid, terpenoid, flavonoid dan polifenol dapat mencegah proliferasi. Dikutip dari (Graidist, 2015) bahwa flavonoid dapat menghambat kerja DNA topoisomerase I/II, modulasi *signalling pathways*, penurunan ekspresi gen Bcl-2 dan Bcl-XL, peningkatan ekspresi gen Bax dan Bak, serta aktivasi endonuklease. Selain itu, flavonoid juga dapat menghambat proliferasi sel kanker dengan menginhibisi proses oksidatif yang dapat menyebabkan inisiasi kanker. Proses tersebut terjadi karena adanya penurunan enzim xanthin oksidase, siklooksigenase (COX) dan lipooksigenase (LOX) yang dibutuhkan dalam prooksidasi sehingga siklus sel tertunda.

Selain flavonoid, Sahid (2013) menyebutkan bahwa senyawa steroid juga dapat menghambat DNA topoisomerase II untuk menghambat siklus sel kanker. Menguatkan teori di atas, hasil penelitian Teponno (2016) menyatakan bahwa saponin steroid dari *S. trifasciata* terbukti memiliki aktifitas antiproliferatif melawan sel HeLa (kanker serviks). Selanjutnya, tanin juga dapat menyebabkan penghambatan siklus sel dengan meningkatkan protein p27 (Sahid, 2013).

#### 2.4 Ekstraksi

Dalam ekstraksi, terdapat dua macam perlakuan, meliputi perlakuan pelarut dan perlakuan mekanis. Prinsip kerja dari keduanya sangat berbeda. Prinsip kerja dari perlakuan pelarut adalah menarik senyawa aktif berdasarkan perbedaan kelarutan antara senyawa aktif dan pelarut yang digunakan. Sedangkan untuk perlakuan mekanis, prinsip kerjanya adalah memanfaatkan perbedaan tekanan, dan sebagainya (Posangi, 2000).

Hasil ekstraksi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, meliputi: waktu ekstraksi (waktu yang dibutuhkan sampel untuk kontak langsung dengan pelarut), jenis pelarut (kepolaran dari pelarut mempengaruhi senyawa aktif yang ditarik), suhu ekstraksi (suhu tinggi dapat mempercepat ekstraksi, akan tetapi jika suhunya terlalu tinggi dapat menyebabkan hilangnya beberapa senyawa aktif) dan lain sebagainya. Kemampuan pelarut dalam menarik senyawa aktif berhenti ketika telah dicapai titik jenuh larutan, sehingga menentukan berapa lama waktu ekstraksi dan perbandingan banyak pelarut dengan sampel sangat penting. Hal ini juga berhubungan dengan efisiensi dari ekstraksi (Laimheheriwa, 2014).

Senyawa-senyawa aktif yang diduga berpotensi sebagai antikanker payudara dalam *S. trifasciata* memiliki titik didih yang berbeda-beda. Perbedaan ini tentu mempengaruhi jenis perlakuan yang akan diberikan terutama saat mengisolasi senyawa-senyawa aktif tersebut dari *S. trifasciata*. Perlakuan suhu yang tidak tepat dapat menyebabkan hilangnya beberapa senyawa aktif yang penting. Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan metode maserasi dalam tahapan ekstraksi senyawa aktif dari *S. trifasciata*.

Metode ekstraksi maserasi merupakan jenis ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam sampel dengan pelarut jangka waktu tertentu dalam suhu ruang. Ekstraksi menggunakan pelarut dengan kepolaran yang berbeda akan menghasilkan senyawa aktif yang berbeda pula (Graidist, 2015). Etanol 96% merupakan jenis pengekstraktor polar (Posangi, 2000). Dengan kata lain, pelarut ini dapat mengekstraksi senyawa aktif yang bersifat polar, seperti flavonoid dan lain sebagainya. Data hasil penelitian Rahim (2016) menunjukkan bahwa hasil ekstraksi

*S. trifasciata* menggunakan pelarut etanol 96% dapat melarutkan senyawa sebesar 39,2397%, sedangkan menggunakan pelarut air hanya sebesar 11,1547% saja. Menurut Nuri (2013) air merupakan pelarut yang bersifat polar, sehingga hanya mampu melarutkan senyawa yang juga bersifat polar saja. Berbeda dengan pelarut etanol 96% yang bersifat universal, artinya dapat mengekstraksi senyawa yang bersifat polar maupun non polar.

### 2.5 MTT (3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5 diphenyl tetrazolium bromide)

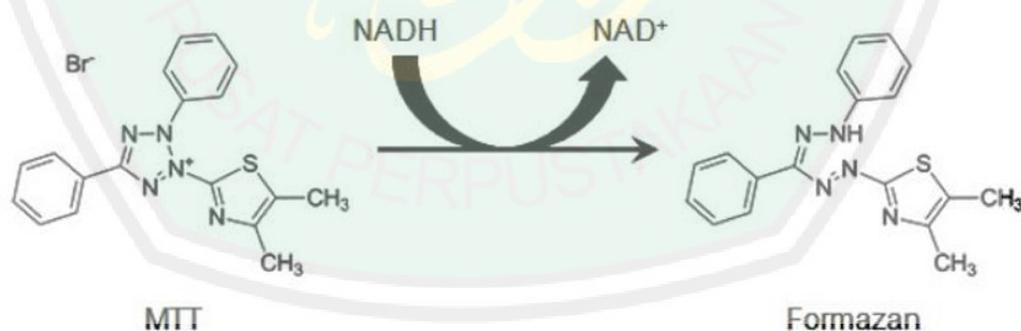
Uji potensi antikanker suatu bahan alam, seperti tanaman dapat dilakukan dengan berbagai metode. Beberapa metode tersebut, seperti: uji dengan menggunakan larva udang laut atau BSLT, *Potato Disc Crown Gall Tumor Inhibition Assay* (uji hambat tumor pada lempeng kentang, uji proliferasi kuncup lemna (*lemna frond proliferation assay*), serta uji sitotoksik secara *in vitro* dan *in vivo* (Hidayat, 2002).

Kemampuan antikanker suatu ekstrak tanaman dapat dilihat dari nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitory Concentration 50*) menyatakan besar konsentrasi suatu ekstrak atau perlakuan yang diperlukan untuk menghambat (sitotoksik) viabilitas sel sebesar 50% dari jumlah keseluruhan sel yang diberi perlakuan. Nilai  $IC_{50}$  berbanding terbalik dengan kemampuan antikanker dari suatu senyawa. Jika nilai Nilai  $IC_{50}$  semakin rendah, maka kemampuan antikanker suatu senyawa semakin tinggi (Prayong, 2008).

Nilai  $IC_{50}$  dapat dihitung ketika data absorbansi dari perlakuan dan kontrol diketahui. Data tersebut dapat diperoleh melalui metode MTT. MTT atau 3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5 diphenyl tetrazolium bromide merupakan suatu metode

dengan prinsip kerja memanfaatkan kemampuan sel mengkonversi *MTT* menjadi formazan yang diukur dengan panjang gelombang tertentu menggunakan *Spektrofotometer* (Prayong, 2008).

Jumlah formazan berbanding lurus dengan jumlah sel yang hidup. Hal ini berhubungan dengan kemampuan sel hidup untuk mengkonversi garam tetrazolium *MTT* yang berwarna kuning menjadi formazan yang berwarna biru keunguan melalui metabolisme aktif mitokondria (Depamede, 2009). Perubahan bentuk *MTT* menjadi formazan yang diindikasikan dengan perubahan warna tersebut kemudian dapat dideteksi melalui spektrofotometer dengan panjang gelombang 595 nm. Keadaan ini bertolak belakang dengan sel yang mengalami kematian. Sel yang mati tidak dapat melakukan metabolisme, sehingga reagen *MTT* tidak dapat dikonversi menjadi formazan (Basmal, 2009).



Gambar 2. 13 Perubahan struktur MTT menjadi Formazan. Sumber: (Basmal, 2009)

Beberapa hal yang mempengaruhi data hasil uji sitotoksik menggunakan metode MTT, meliputi: waktu inkubasi, konsentrasi MTT, jumlah sel yang hidup

(kemampuan metabolise sel) (Basmal, 2009). Mengacu pada Prayong (2008), sitotoksisitas suatu bahan berdasarkan nilai  $IC_{50}$ nya digolongkan menjadi 3, yaitu: sitotoksik potensial ( $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ ), sitotoksik moderat ( $100 \mu\text{g/mL} < IC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ ) dan tidak toksik ( $IC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ ). Selanjutnya, berdasarkan *National Cancer Institute* (NCI) (2017) suatu senyawa dikatakan tergolong anti kanker jika  $IC_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$ .

## 2.6 Metode *Flow Cytometry*

Efek biologis yang ditimbulkan dari perlakuan senyawa aktif pada penderita kanker dapat berupa penghambatan proliferasi sel, induksi *cell cycle arrest*, induksi detoksifikasi senyawa-senyawa karsinogen, pemotongan rantai radikal bebas, antiangiogenesis, antimetastasis, peningkatan sistem imun, nekrosis dan apoptosis (Graidist, 2015).

Apoptosis dan nekrosis merupakan dua penyebab utama kematian pada sel akibat perlakuan menggunakan senyawa aktif (Mahassni, 2013). Hal yang mendasari perbedaan dari keduanya adalah mekanisme kematian yang terjadi. Dikutip dari Lumongga (2008), diketahui bahwa apoptosis merupakan kematian sel yang terprogram dan dibutuhkan oleh setiap sel untuk menjaga keseimbangan, sedangkan nekrosis merupakan kematian sel yang tidak terkontrol.

Berbeda dengan kematian sel akibat nekrosis yang dinilai berbahaya bagi sel di sekitarnya, karena sel akan membesar kemudian lisis akibat respon inflamasi. Bertolak belakang dari nekrosis, apoptosis dinilai lebih aman karena kematiannya dikontrol oleh sel itu sendiri sehingga tidak membahayakan sel di sekitarnya. Secara sederhana apoptosis dapat dianalogikan sebagai mekanisme bunuh diri sel

sedangkan nekrosis mekanisme pembunuhan pada sel (Robert, 2000). Baik apoptosis maupun nekrosis dapat dideteksi menggunakan *Flow Cytometry*.

*Flow Cytometry* merupakan satu diantara banyak metode yang digunakan untuk mendeteksi apoptosis pada sel dan termasuk yang paling efisien. Ketika sel dilewatkan pada sinar laser, secara otomatis sel-sel tersebut akan dibedakan berdasarkan ukuran dan densitasnya. Penambahan propidium iodide (PI) dapat digunakan untuk mendeteksi kandungan DNA pada masing-masing sel. Penggunaan *Flow Cytometry* akan sangat menguntungkan dalam analisis campuran populasi sel karena metode ini dapat digunakan untuk lebih dari satu parameter. Contohnya, penggunaan FITC *annexin v Detection kit* apoptosis awal maupun akhir pada sel (Robert, 2000).

Sel yang mengalami apoptosis memiliki beberapa karakteristik, seperti perubahan morfologi sel, hilangnya membran plasma, kondensasi sitoplasma dan nucleus serta DNA yang terpotong. Pewarnaan menggunakan FITC *annexin v Detection kit* yang mengandung pewarna Annexin V dan PI dapat mendeteksi apoptosis pada tahap awal berdasarkan perubahan intisel seperti fragmentasi DNA. Propidium Iodida (PI) atau 7-amino-Actinomycin (7-AAD) dapat digunakan untuk mengidentifikasi apoptosis awal (PI negatif, FITC Annexin V positif). Sedangkan sel yang telah mati terlalu lama akan permeabel terhadap PI, sehingga baik PI maupun Annexin V hasilnya akan positif.

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam dua tahap. Tahap pertama adalah pembuatan ekstrak etanol daun *S. trifasciata* Prain yang dilaksanakan pada bulan Agustus 2017, bertempat di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi dan Laboratorium Layanan Analisis Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Tahap kedua adalah uji sitotoksik menggunakan metode MTT dan Uji untuk mengetahui efek biologis menggunakan *Flow cytometry* yang dilaksanakan pada bulan September 2017, bertempat di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

#### 3.2 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian eksperimental laboratoris dipilih dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh yang ditimbulkan pada sel T-47D meliputi nilai  $IC_{50}$  dan efek biologis (variabel terikat atau dependen) akibat perlakuan 5 seri konsentrasi ekstrak etanol *S. trifasciata* (variabel bebas atau independen) dibawah kondisi yang terkontrol dalam laboratorium (Sugiyono, 2011; Ary, 1985).

#### 3.3 Variabel Penelitian

Terdapat 3 variabel yang digunakan dalam penelitian ini, meliputi: variabel bebas (independen), variabel terikat (dependen) dan variabel kontrol. Variabel

bebas merupakan perlakuan yang diberikan pada unit percobaan yang dapat dimanipulasi atas dasar pertimbangan ilmiah untuk mendapatkan tujuan dari penelitian (variabel terikat) (Ary, 1985). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun *S. trifasciata* Prain yang dibuat dalam 5 seri konsentrasi pada uji sitotoksik menggunakan metode MTT, meliputi: 500: 250: 125: 62, 5 dan 31, 25 µg/mL dan 1 konsentrasi (IC<sub>50</sub>) pada uji efek biologis menggunakan *Flow cytometer*. Variabel terikat dalam penelitian ini meliputi: nilai IC<sub>50</sub> dan persentase efek biologis (sel hidup, apoptosis awal, apoptosis akhir dan nekrosis). Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah variabel yang ditetapkan oleh peneliti untuk memperkecil pengaruh variabel lain terhadap variabel terikat dalam percobaan (Gay, 1983), meliputi: biakan Sel T-47D yang dikultur menggunakan media *RPMI 1640* 10% dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% dengan suhu 37<sup>0</sup>C diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

### **3.4 Alat dan Bahan Penelitian**

#### **3.4.1 Alat-alat penelitian**

Alat- alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: pisau, timbangan, oven, alu dan mortar, ayakan 60 mesh, gelas piala 500mL, kertas saring no.1 , corong *Hirsch* dan pompa vakum, *rotary evaporator*, spatula besi, botol vial 20mL, autoklaf , *LAF (laminar air flow)* vertikal, mikropipet P20, P200 dan P1000, *vortex*, lemari pendingin, neraca analitik, mikroskop cahaya, mikroskop inverted, cawan petri diameter 9cm, Sentrifugator, inkubator CO<sub>2</sub>, rak tabung, tabung *cryo*, tabung reaksi, *96-well plate*, tabung konikel 10mL, *white, yellow* dan *blue tip*, *elisa reader*, kamera digital, laptop, mikrofilter 0,2µm, spuit 10mL, gelas penutup, gelas objek,

*ependorf*, pulpen *marker*, pinset, hemositometer, masker, *handgloves*, jas lab, aluminium foil, *Magnetic stirrer*, *handcounter*, *hot plate*, *FACS Calibur*, *6- well plate*, kertas label, pensil, tisu makan, pH meter, botol *schott* 500mL.

### 3.4.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan- bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi bahan ekstraksi, bahan kultur sel, bahan uji dan bahan tambahan, sebagai berikut:

#### 1. Bahan ekstraksi

Bahan ekstraksi terdiri dari daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain) diperoleh dari Kelurahan Merjosari, Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang, Provinsi Jawa Timur, air keran dan etanol 70%.

#### 2. Bahan kultur sel

Bahan kultur sel, meliputi: *Breast Cancer* Sel T-47D koleksi Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, FBS (*Fetal Bovine Serum*), NaOH, HCl, *distilled water*, Penisilin-streptomisin dan Media *RPMI 1640* (*Roswell Park Memorial Institute*). Media *RPMI 1640* yang digunakan mengandung  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , glukosa, glutathion, *phenol red*, berbagai asam amino (L-aspargie, L-Cystine, tirosin, valin, dan sebagainya), serta vitamin (biotin, pantotenat, kolin).

#### 3. Bahan uji

Bahan uji dibagi atas dua kelompok, yakni uji sitotoksi menggunakan metode MTT dan uji efek biologis menggunakan *Flow cytometry*. Bahan uji sitotoksik (MTT) meliputi: PBS (*Phosphat Buffer Saline*) 1x, Media kultur *RPMI 1640*, FBS

(*Fetal Bovine Serum*), DMSO, MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) 5mg/mL PBS (50 mg *MTT* and 10 mL PBS), SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*) 10% dalam 0,1 N HCl. Bahan uji efek biologis (*Flow cytometry*), meliputi: media kultur *RPMI 1640*, FBS (*Fetal Bovine Serum*), tripsin-EDTA 0,25%, RNase, *FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit 556547 (BD Biosciences)*, PBS (*Phosphat Buffer Saline*).

#### 4. Bahan Tambahan

Bahan-bahan tambahan dalam penelitian ini meliputi: alkohol 70%, aquades dan spirtus.

#### 3.5 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dilaksanakan dalam 6 tahap, seperti dalam gambar berikut:

##### 3.5.1 Pembuatan Ekstrak Lidah Mertua (*S. trifasciata* Prain)

Sebanyak 3kg daun *S. trifasciata* Prain segar diperoleh dari kelurahan Merjosari, Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang, Provinsi Jawa Timur. Daun kemudian dicuci dengan air mengalir dan dipotong kecil-kecil kurang lebih 1x1cm. Selanjutnya, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 1 jam. Daun yang sudah diangin-anginkan dikeringkan kembali dalam oven dengan suhu 45<sup>0</sup>C sampai kering (*simplisia*) (Qomariyah, 2012). Kemudian, dihaluskan *simplisia* dengan *blender* dan diayak menggunakan ayakan 60 mesh. Serbuk halus *S. trifasciata* Prain yang dihasilkan kemudian ditimbang.

Serbuk halus *S. trifasciata* Prain diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi untuk mempertahankan senyawa- senyawa yang tidak tahan panas.

Sebanyak 100gr simplisia dimasukkan ke dalam erlemeyer, ditambahkan pelarut etanol 70% (1:3 b/v) dan didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, rendaman disaring untuk memisahkan antara pelarut (maserat) dengan ampasnya menggunakan kertas saring no.1, corong *Hirsch* dan pompa vakum. Maserat yang dihasilkan kemudian disimpan, sedangkan residu berupa ampas dimaserasi kembali dengan pelarut etanol 70% (1:3 b/v) dan didiamkan selama 1x24 jam. Remaserasi dilakukan sebanyak 2 kali. Seluruh maserat yang dihasilkan kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu yakni 50°C tekanan 550mmHg, hingga pelarut tidak menetes lagi dan dihasilkan ekstrak kental berwarna kuning kecoklatan (Robinson, 1995). Ekstrak kental yang dihasilkan kemudian dipindahkan ke dalam botol vial dan ditimbang untuk selanjutnya disimpan dalam lemari pendingin.

### 3.5.2 Pembuatan Media Kultur Stok RPMI 1640 0%

Media Kultur Stok RPMI 1640 0% dibuat sesuai dengan kebutuhan penelitian. Total volume stok media tersebut meliputi keperluan untuk persiapan sel, panen dan subkultur, uji *MTT* dan uji *Flow Cytometry*. Pembuatan media disesuaikan dengan petunjuk penggunaan Media RPMI 1640 yang tertera pada kemasan dan dilakukan di dalam LAF. Tahapan ini dimulai dengan menimbang media RPMI 1640 bubuk dan melarutkannya dengan *distilled water*. Media RPMI 1640 mengandung  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , glukosa, glutathion, *phenol red*, berbagai asam amino (L-aspargie, L-Cystine, tirosin, valin, dan sebagainya), serta vitamin (biotin, pantotenat, kolin). Dilakukan homogenasi dengan menggunakan *magnetic stirrer* tanpa pemanasan.

Media kemudian disterilisasi. Media Kultur Stok *RPMI 1640 0%* disimpan dalam lemari pendingin.

### 3.5.3 Pembuatan Media Kultur *RPMI 1640 10%*

Media kultur *RPMI 1640 10%* dibuat tepat sebelum akan digunakan sesuai dengan kebutuhan untuk meminimalisir kontaminasi. Media Kultur *RPMI 1640 10%* dibuat dengan menghitung total media yang dibutuhkan dikalikan 10 %. Hasil dari perkalian tersebut merupakan volume serum yang harus ditambahkan, selanjutnya volume serum tersebut digunakan untuk mengurangi total media 10% yang dibutuhkan. Hasil pengurangan merupakan volume media *RPMI 1640 0%* yang harus ditambahkan. Berikut rumus untuk menghitung kebutuhan media *RPMI 0%* dan serum *FBS*:

$$A = B \times 10\%$$

(A)

$$C = B - A$$

(B)

Keterangan:

A: Volume Serum *FBS*

B: total media *RPMI 1640 10%* yang dibutuhkan

C: Media *RPMI 1640 0%* yang ditambahkan

Hasil perhitungan dijadikan acuan untuk membuat media *RPMI 1640 10%*. Diambil Media *RPMI 1640 0%* sesuai hasil perhitungan dari stok media yang sebelumnya telah dibuat dan dimasukkan dalam botol *schott* 10mL. Ditambahkan serum *FBS* dan dihomogenkan. Media siap untuk digunakan. Berikut adalah contoh perhitungan kebutuhan Media *RPMI 1640 10%* pada tiap tahapan penelitian:

Jika *thawing* sel membutuhkan 12ml Media *RPMI 1640* 10%, maka:

Volume Serum *FBS*= 12 mL x 10%= 1, 2 mL

Media *RPMI 1640* 0% yang ditambahkan= 12 mL - 1, 2 mL = 10, 8 mL

#### 3.5.4 Persiapan Sel T-47D

Persiapan Sel T-47D terdiri dari beberapa tahapan, meliputi:

##### a. *Thawing* Sel T-47D

Disiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan dalam *LAF*. Disiapkan 3mL media Kultur *RPMI 1640* 10% dalam tabung konikal yang baru dan diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% suhu 37°C. Diambil ampul (tabung *cryo*) yang berisi *Cell Line T- 47D* dari tangki nitrogen cair. Dicairkan tabung *cryo* dalam suhu ruang hingga benar-benar cair. Diambil suspensi *Cell Line T- 47D* dari dalam tabung *cryo* menggunakan mikropipet 1000µL. Dimasukkan tetes demi tetes suspensi sel ke dalam media kultur di dalam tabung konikal yang sebelumnya telah disiapkan. Ditutup rapat tabung konikal. Disentrifugasi tabung konikal pada 600 g selama 5 menit. Di dalam *LAF*, disemprotkan alkohol 70% pada tangan dan tabung, pastikan alkohol sudah merata lalu dibuka tutup tabung konikal dan dibuang supernatan. Ditambahkan 4mL media Kultur *RPMI 1640* 10% dan dihomogenasi kembali pellet yang berisi sel dengan media yang baru ditambahkan. Ditransfer suspensi sel masing-masing 2mL ke dalam 2 buah cawan petri berdiameter 9cm. Ditambahkan masing-masing 5mL media Kultur *RPMI 1640* 10% ke dalam cawan petri dan dihomogenkan. Diamati kondisi sel dengan mikroskop inverted. Dilabeli cawan petri, meliputi: jenis sel, tanggal penanaman, tripsin 1 atau 2 kali dan nama peneliti.

Disimpan sel dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% suhu 37<sup>0</sup>C hingga sel konfluen 80-95% dan siap dipanen.

b. Panen dan Subkultur *Cell Line T- 47D*

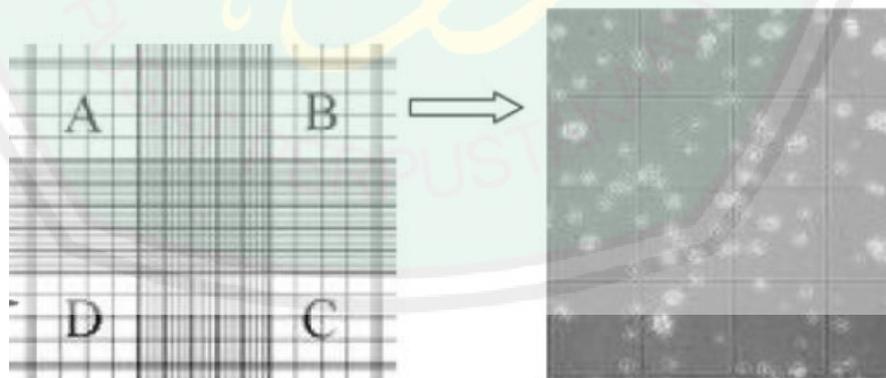
Disiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan di dalam *LAF*. Diambil sel dari inkubator CO<sub>2</sub> dan diamati kondisinya dengan menggunakan mikroskop inverted. Dilakukan pemanenan sel setelah sel 80-95% konfluen. Dibuang media menggunakan mikropipet 1000µL. Dicuci sel dengan *PBS* sebanyak 3, 5 mL (volume *PBS* adalah setengah volume media awal). Dilakukan pencucian sebanyak 2 kali. Ditambahkan tripsin-EDTA (tripsin 0, 25%) secara merata (cawan petri diameter 9cm diberi tripsin-EDTA 1X= 450µL, untuk *flask*= 300 µL) dan diinkubasi sel dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% suhu 37<sup>0</sup>C selama 3 menit. Dikeluarkan sel dari inkubator dan ditambahkan dengan media *RPMI 1640* 10% sebanyak 2mL dan dipindah suspensi ke dalam tabung konikel. Diresuspensi kembali cawan petri dengan media *RPMI 1640* 10% sebanyak 1mL untuk membersihkan sel yang masih tertinggal. Suspensi dipindah ke dalam tabung konikel dan disentrifus dalam 600 g selama 5 menit. Dibuang supernatan dan pellet diresuspensi kembali dengan media *RPMI 1640* 10% sebanyak 4mL. Sebanyak 2mL sel ditanam dalam petri dish berdiameter 9cm yang telah berisi 5mL media *RPMI 1640* 10% dan diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% suhu 37<sup>0</sup>C untuk uji efek biologis (*Flow Cytometry*), sedangkan 2ml suspensi sel yang tersisa di dalam konikel tube digunakan untuk uji sitotoksik (MTT).

### 3. 5. 5. Uji Sitotoksik (MTT)

Uji menggunakan metode MTT dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui sitotoksitas ekstrak etanol *S. trifasciata* Prain terhadap Sel T-47D yang dinyatakan dengan nilai  $IC_{50}$ . Uji sitotoksik (MTT) dilaksanakan melalui beberapa tahapan, sebagai berikut:

#### a. Perhitungan dan Penanaman Sel pada 96-well plate

Disiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan dalam *LAF*. Disiapkan hemositometer dan gelas penutup. Diambil 10  $\mu$ l panen sel dari dalam tabung konikal dan ditransfer ke hemositometer menggunakan mikropipet P20. Dihitung sel di bawah mikroskop inverted atau cahaya dengan *handcounter*. Dihitung sel pada 4 kamar hemositometer. Sel yang berwarna gelap (mati) dan sel yang terletak dibatas luar sebelah atas dan sebelah kanan tidak dihitung, sedangkan sel yang terletak di batas bawah dan batas kiri ikut dihitung.



Gambar 3.1 Kamar Hitung Hemositimeter. Keterangan: kamar 1 kiri atas (A), kamar 2 kanan atas (B), kamar 3 kiri bawah (C), kamar 4 kanan bawah (D) (CCRC, 2010).

Hasil perhitungan sel pada semua kamar hitung kemudian digunakan untuk mengetahui jumlah sel/ mL. Perhitungan ini dilakukan dengan rumus, (CCRC, 2013):

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

Keterangan:

A:  $\Sigma$  sel kamar A

B:  $\Sigma$  sel kamar B

C:  $\Sigma$  sel kamar C

D:  $\Sigma$  sel kamar D

Setelah diketahui jumlah sel/ mL yang terdapat di dalam tabung konikel, selanjutnya adalah melakukan perhitungan volume panen sel yang akan diambil untuk uji *MTT* dengan jumlah sel yang dibutuhkan  $\pm 5 \times 10^4$  sel/ sumuran. Perhitungan ini dilakukan dengan rumus (CCRC, 2013):

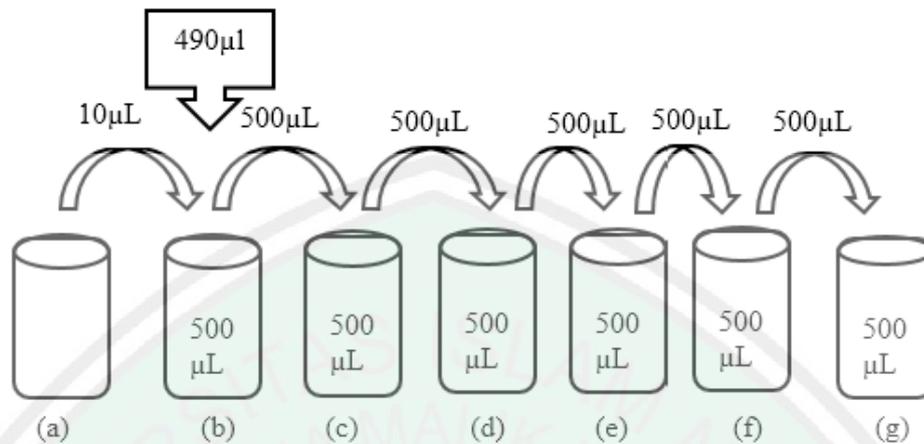
$$\text{Volume panen sel yang di transfer} = \frac{\text{Jumlah total sel yang diperlukan}}{\text{Jumlah sel terhitung/mL}}$$

Selanjutnya, diambil volume panen sel dan ditransfer ke *96-well plate* sesuai dengan peta perlakuan. Ditambahkan media kultur *RPMI 1640* 10% hingga total volume sebanyak 100  $\mu\text{L}$ . Diamati keadaan sel dengan mikroskop inverted untuk mengetahui distribusinya dan didokumentasikan. Diinkubasi sel dalam inkubator  $\text{CO}_2$  5% suhu  $37^\circ\text{C}$  selama minimal 4- 24 jam hingga sel menempel.

b. Pembuatan stok ekstrak dan perlakuan pada sel T-47D

Ekstrak etanol *S. trifasciata* Prain dalam penelitian ini digunakan dalam 5 seri konsentrasi yang berbeda, yakni: 500: 250: 125: 62, 5 dan 31, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Kelima seri konsentrasi ekstrak tersebut dibuat dengan mula-mula membuat stok ekstrak. Ditimbang 10mg ekstrak etanol *S. trifasciata* Prain di dalam tabung *eppendorf* 2mL. Ditambahkan DMSO sebanyak 100 $\mu\text{L}$  untuk melarutkan ekstrak, lalu divortex untuk menghomogenkan keduanya.

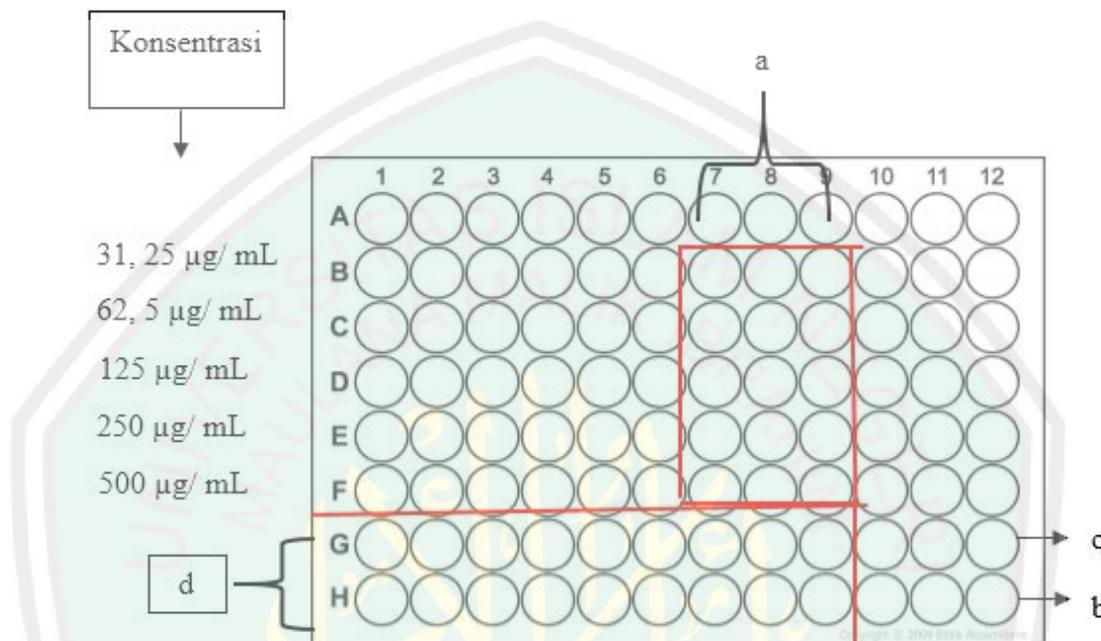
Setelah stok ekstrak selesai dibuat, selanjutnya diambil biakan sel T-47D dalam *96-well plate* yang telah diinkubasi 1x24 jam dari hasil panen sebelumnya. Diamati keadaan sel dibawah mikroskop inverted dengan perbesaran 100x. dikembalikan sel ke dalam inkubator sambil menunggu preparasi ekstrak. Disiapkan stok ekstrak yang sebelumnya telah dibuat. Disiapkan 6 buah tube pengenceran di dalam LAF dan disusun sedemikian rupa. Diisi 500 $\mu\text{L}$  media *RPMI 1640* 10% pada masing-masing tube pengenceran. Pada tube pengenceran pertama (konsentrasi 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), ditambahkan ekstrak stok sebanyak 10 $\mu\text{L}$ . Ditambahkan kembali media kultur hingga mencapai 1000 $\mu\text{L}$  (media 500 $\mu\text{L}$ + ekstrak 10 $\mu\text{L}$ + media 490 $\mu\text{L}$ ). Dibuat seri konsentrasi berikutnya, yakni 500, 250, 125, 62,5 dan 31,25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Diambil 500 $\mu\text{L}$  media stok 1000 $\mu\text{L}$  dan dipindahkan ketabung berikutnya. Dilakukan langkah kerja yang sama (Gambar 3. 2) untuk membuat konsentrasi berikutnya.



Gambar 3.2 Langkah pembuatan 5 konsentrasi ekstrak. Tube berisi stok ekstrak (10µg ekstrak dan 100mL DMSO) (a), konsentrasi 1000µg/mL (b), 500 µg/mL (c), 250 µg/mL (d), 125 µg/mL (e), 62,5 µg/mL (f) dan 31,25 µg/mL (g).

Seri konsentrasi yang telah disiapkan langsung di gunakan untuk perlakuan pada sel T-47D. Diambil *96-well plate* berisi sel dari inkubator dan dibawa ke LAF. Dibuang media sel dengan membalikkan *96-well plate* di atas tempat buangan dengan jarak 10cm. Ditekan *96-well plate* diatas tisu makan dengan posisi terbalik untuk secara perlahan untuk menghilangkan media yang tersisa. Dimasukkan 100 µl *PBS* pada semua sumuran yang berisi sel. Dibuang *PBS* dengan cara yang sama seperti sebelumnya. Dimasukkan ekstrak etanol *S. trifasciata* ke dalam *96-well plate* yang berisi Sel T-47D sesuai dengan peta perlakuan (Gambar 3.3) dimulai dari konsentrasi paling rendah (31, 25; 62, 5; 125; 250 dan 500 µg/ mL). Dilanjutkan dengan perlakuan berikutnya, yakni: kontrol sel (media kultur *RPMI 1640 10%+* sel), kontrol media (media kultur *RPMI 1640 10%*), ekstrak (media kultur *RPMI 1640 10%+* Sel T-47D + ekstrak) dan kontrol positif (*RPMI 1640*

10%+ Doxorubisin+ Sel T-47D). Semua perlakuan diulang sebanyak 3 kali (triplo) dan diinkubasi *96-well plate* dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% suhu 37°C selama 1x24 jam.

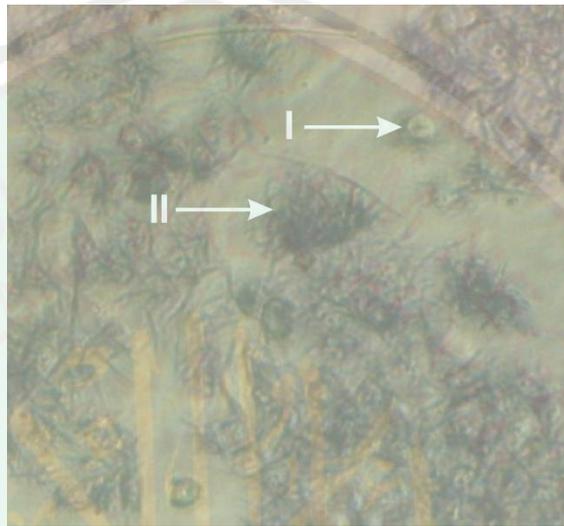


Gambar 3.3 Peta Perlakuan. Keterangan: (a), kontrol media (b), kontrol - (c) dan kontrol positif/ perlakuan doxorubisin (d) (Aksamitiene, 2012).

#### c. Pemberian Reagen *MTT*

Dikeluarkan sel dari inkubator ketika masa inkubasi selesai. Diamati keadaan sel dengan mikroskop inverted dan didokumentasikan menggunakan kamera digital. Disiapkan reagen *MTT* (0,5 mg/mL) dengan cara diambil 1 mL stok *MTT* dalam *PBS* (5mg/mL), diencerkan dengan media kultur 10mL (untuk 1 buah *96 well plate*). Selanjutnya, dibuang media sel dan dicuci *PBS* seperti cara kerja sebelumnya. Ditambahkan reagen *MTT* 100 µl ke setiap sumuran, termasuk kontrol media tanpa sel. Diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% suhu 37°C selama 2-4 jam. Diamati kondisi sel dengan mikroskop inverted untuk mendeteksi apakah formazan telah terbentuk, ditandai dengan terbentuknya Kristal formazan. Ditambahkan

*stopper* berupa 100  $\mu$ l *PBS* dalam 0,01 N *HCl* ketika formazan telah jelas terbentuk. Selanjutnya, dibungkus plate dengan alumunium foil dan diinkubasi dalam ruangan gelap dengan temperatur kamar selama semalam.



Gambar 3.4 Contoh keberadaan Kristal formazan. Keterangan gambar: I (Sel hidup) dan II (Kristal formazan) (CCRC UGM, 2012).

d. Pembacaan hasil uji sitotoksik

Hasil uji sitotoksik dibaca menggunakan *ELISA reader*  $\lambda = 595\text{nm}$ . Dihidupkan *ELISA reader*, ditunggu hingga proses *progressing* selesai. Dibuka pembungkus plate berupa alumunium foil. Ditutup kembali plate dengan penutupnya. Dimasukkan plate ke dalam *ELISA reader*. Ditekan tombol start untuk memulai pembacaan. Setelah selesai, hasil pembacaan diprint untuk selanjutnya dianalisis. Dimatikan *ELISA reader* setelah selesai digunakan.

e. Menghitung % sel hidup

Diperoleh 3 macam absorbansi hasil pembacaan menggunakan *ELISA reader*, meliputi: absorbansi kontrol sel atau kontrol negatif, absorbansi kontrol positif, absorbansi kontrol media dan absorbansi perlakuan (ekstrak atau doxorubisin). Selanjutnya, % sel hidup dihitung dengan menggunakan rumus berikut, (CCRC, 2012):

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(A - B)}{(C - B)} \times 100\%$$

Keterangan:

A: absorbansi perlakuan

B: absorbansi kontrol media

C: absorbansi kontrol sel

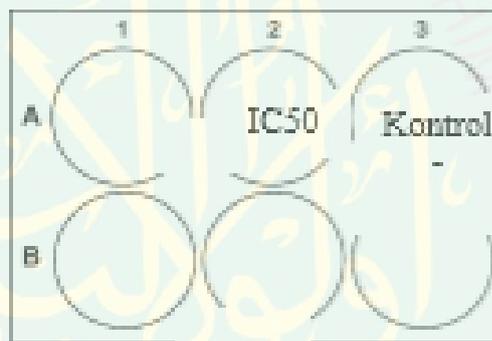
Selanjutnya, dibuat grafik log konsentrasi vs % sel hidup dengan *chart type scatter* dan *chart subtype compare pairs of value*. Dicari persamaan regresi linier dari grafik tersebut dengan menampilkan *add trendline- regresi linier*. Data % sel hidup kemudian dianalisis menggunakan SPSS Probit untuk mencari nilai IC<sub>50</sub>.

### 3.5.6. Uji *Flow cytometry*

1. Persiapan sel

Diambil sel dari inkubator CO<sub>2</sub>, diamati kondisinya. Dipanen sel, dihitung jumlahnya dan dibuat pengenceran dengan media kultur *RPMI 1640* 10% sesuai kebutuhan mengikuti protokol penghitungan sel. Dipindah sel ke dalam sumuran 6 *well plate*, masing-masing 1000 µl (untuk perlakuan dan untuk kontrol sel).

Distribusi sel diamati dengan mikroskop cahaya atau inverted. Didokumentasikan dengan kamera. Diinkubasi sel di dalam inkubator selama 1x 24 jam (untuk memulihkan keadaan sel paska panen). Dibuat ekstrak etanol *S. trifasciata* mengikuti konsentrasi  $IC_{50}$  dan  $\frac{1}{2} IC_{50}$ . Setelah masa inkubasi selesai, diambil plate yang telah berisi sel dari inkubator dan diamati keadaan selnya. Dibuang media sel dengan menggunakan pipet Pasteur secara perlahan-lahan. Dicuci dengan 500  $\mu$ l *PBS* ke dalam semua sumuran yang terisi sel. Dibuang *PBS* dengan pipet Pasteur secara perlahan-lahan.



Gambar 3.5 Peta Perlakuan Uji *Flow Cytometry*. Sumber: (Aksamitiene, 2012)

2. Perlakuan ekstrak etanol *S. trifasciata*

Dimasukkan konsentrasi ekstrak etanol *S. trifasciata*, Doxorubicin, dan kontrol sel ke dalam sumuran. Diinkubasi di dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% suhu 37°C. Didokumentasikan kondisi sel untuk setiap perlakuan dengan kamera menjelang akhir waktu inkubasi. Disiapkan 1 konikel untuk 1 jenis perlakuan. Diambil media dari sumuran dengan mikropipet 1 mL, ditransfer ke konikel. Diisi sumuran dengan 500  $\mu$ l *PBS*. Ditransfer kembali *PBS* di dalam sumuran ke dalam konikel. Tripsin-EDTA 0, 25% ditambahkan sebanyak 200  $\mu$ l ke dalam konikel. Diinkubasi konikel

di inkubator CO<sub>2</sub> 5% suhu 37<sup>0</sup>C selama 3 menit. Ditambahkan 1 mL media kultur *RPMI 1640* 10% ke dalam setiap sumuran, diresuspensi sampai sel lepas satu per satu, diamati di bawah mikroskop. Setelah sel terlepas satu-satu, ditransfer sel ke konikel. Ditambahkan kembali 500 µl *PBS* ke dalam sumuran untuk mengambil sisa sel, kemudian ditransfer ke dalam konikel. Disentrifus konikel dengan kecepatan 600 rpm selama 5 menit. Dibuang supernatan dengan cara dituang, dicuci pellet sel dengan 500 µl *PBS* dingin. Disentrifus dengan kecepatan 600 rpm selama 5 menit. Dibuang supernatan dengan cara dituang. Difiksasi sel dengan 500 µl alkohol 70%, 1 tetes alkohol/ detik ke dalam konikel yang digoyang perlahan. Disimpan konikel pada suhu ruang 37<sup>0</sup>C selama 30 menit. Konikel disentrifus dengan kecepatan 600 rpm selama 5 menit. Dibuang supernatan dan ditambahkan 500 µl *PBS* kemudian disentrifus dengan kecepatan 2000 rpm selama 3 menit untuk membersihkan sisa alkohol. Dilakukan langkah ini sebanyak 2x. Dibungkus konikel dengan aluminium foil. Diberi penandaan pada konikel.

3. Pemberian reagen *Flow cytometry*

Ditambahkan reagen *Flow cytometry* dan didiamkan selama 30 menit. Ditransfer suspensi sel ke dalam *Flowcyto-tabung* yang telah dilubangi tutupnya dan dibaca hasilnya.

4. Analisis hasil uji *Floctometri*

Hasil dari *Floctometri* berupa empat Kuadrant, dan dikelompokkan sebagai berikut: kiri bawah (R1) sel hidup; kanan bawah (R2) apoptosis awal; kanan atas (R3) apoptosis akhir; dan kiri atas (R4), sel nekrosis (Arianingrum, dkk; 2015).

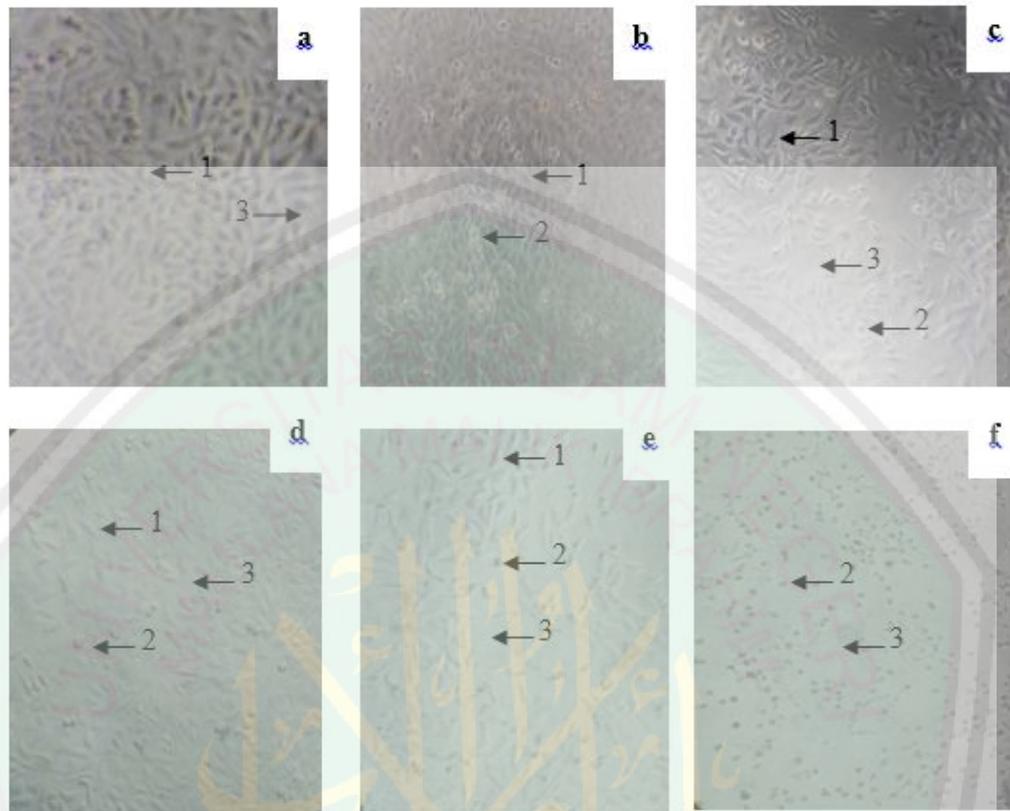
## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain) terhadap Sel T-47D menggunakan Metode MTT

Sel T-47D merupakan jenis sel yang biasa digunakan dalam penelitian untuk mengetahui toksisitas suatu bahan terhadap sel kanker payudara secara *in vitro*. Pengujian secara *in vitro* bertujuan untuk memodelkan fungsi fisiologi pada keadaan *in vivo*, seperti proliferasi (pertumbuhan) dan diferensiasi sel akibat pemberian suatu bahan (Djuwita, 2000). Dalam penelitian ini, bahan yang diuji adalah ekstrak etanol daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain).

Sel T-47D yang telah diberi perlakuan variasi ekstrak menunjukkan penurunan kepadatan sel, dibuktikan melalui pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 100x (Gambar 4.1). Penurunan kepadatan sel mengindikasikan bahwa pemberian ekstrak dapat mempengaruhi konfluenitas sel T-47D. Menurut (Djati, 2006) konfluenitas berarti kemampuan sel untuk tumbuh (proliferasi) memenuhi dasar wadah kultur.



Gambar 4.1 Kepadatan dan morfologi Sel T-47D setelah perlakuan ekstrak dengan lama inkubasi 24 jam (perbesaran 100x). Kontrol sel (a), sel dengan perlakuan ekstrak etanol daun lidah mertua konsentrasi 31,25 $\mu\text{g/mL}$  (b), 62,5  $\mu\text{g/mL}$  (c), 125  $\mu\text{g/mL}$  (d), 250 $\mu\text{g/mL}$  (e) dan 500 $\mu\text{g/mL}$  (f). Keterangan: sel hidup (1), sel mati (2) dan daerah yang tidak ditumbuhi sel (3). Ditemukan banyak sel dalam keadaan mati pada perlakuan ekstrak dengan konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$ .

Hasil pengamatan pada kontrol sel (Gambar 4.1.a) menunjukkan bahwa hampir seluruh dasar wadah kultur telah ditutupi oleh sel T-47D. Namun, masih dapat ditemukan celah-celah kosong pada dasar wadah kultur. Keadaan ini dapat dikatakan bahwa konfluenitas sel T-47D sebesar 98%. Menurut (Baratawidjadja, 2014) sel T-47D memiliki kemampuan berproliferasi yang tidak terbatas karena

adanya mutasi gen p53. Mutasi gen p53 mengakibatkan sel T-47D kehilangan kemampuan untuk berapoptosis, sehingga sel terus tumbuh.

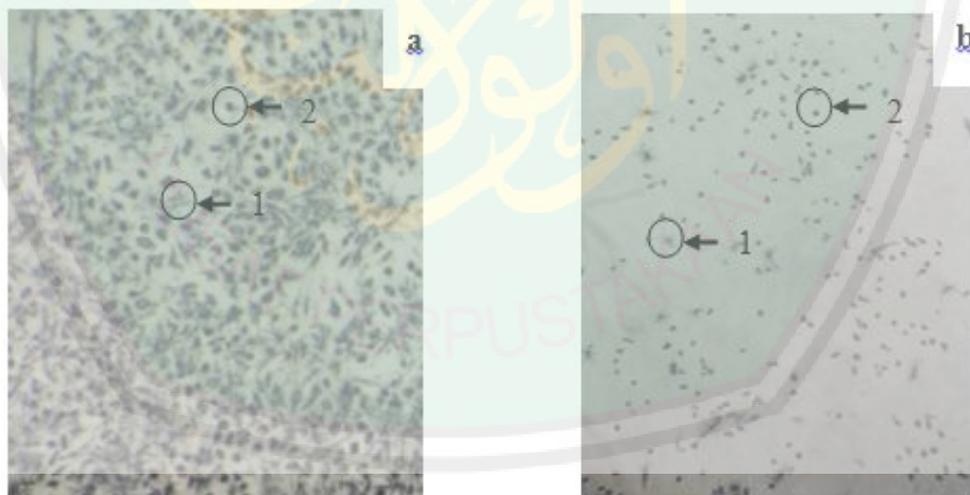
Jika kontrol dibandingkan dengan perlakuan ekstrak konsentrasi 31,25 µg/mL tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antar keduanya. Persentase konfluenitas sel dengan perlakuan 31, 25 µg/mL sebesar 91%. Hal ini juga dipengaruhi oleh kecepatan proliferasi sel T-47D pada perlakuan kontrol yang terlalu tinggi. Keadaan tersebut menyebabkan ketersediaan nutrisi maupun tempat menjadi sangat terbatas. Menurut Freshney (2000), pertumbuhan (proliferasi) sel dapat menurun bahkan terhenti apabila ketersediaan ruang maupun nutrisi terbatas. Disisi lain, keadaan ini menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak dengan konsentrasi 31, 25 µg/mL sedikit demi sedikit memberi pengaruh terhadap sel T-47D dengan menurunkan kecepatan proliferasinya.

Berbeda dengan perlakuan sebelumnya, ekstrak dengan konsentrasi 62,5, 125, 250 sampai dengan 500 µg/mL menunjukkan adanya penurunan konfluenitas yang signifikan. Persentase konfluenitas pada masing-masing konsentrasi tersebut secara berurutan meliputi 82%, 80%, 60% dan 40%. Peningkatan konsentrasi ekstrak berbanding terbalik dengan persentase konfluenitas sel T-47D. Data ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun lidah mertua mampu menurunkan konfluenitas sel T-47D.

Penurunan konfluenitas dapat terjadi akibat terganggunya viabilitas sel T-47D oleh senyawa aktif dalam ekstrak etanol daun lidah mertua. Hal ini dikuatkan dengan ditemukannya sel dalam keadaan mati (Gambar 4.1). Sel dalam keadaan mati (a) ditandai dengan bentuknya yang bulat, berwarna keruh dan mengapung,

sedangkan sel yang hidup (b) akan terlihat terang, transparan serta batas membran sel dengan media akan terlihat jelas (Puspitasari, 2009). Menurut Hermansyah (2017) viabilitas sel merupakan daya hidup sel yang ditunjukkan dengan kemampuan untuk tumbuh dan melakukan metabolisme. Viabilitas sel T-47D yang diberi perlakuan ekstrak dalam penelitian ini dikonfirmasi melalui uji sitotoksik menggunakan metode MTT.

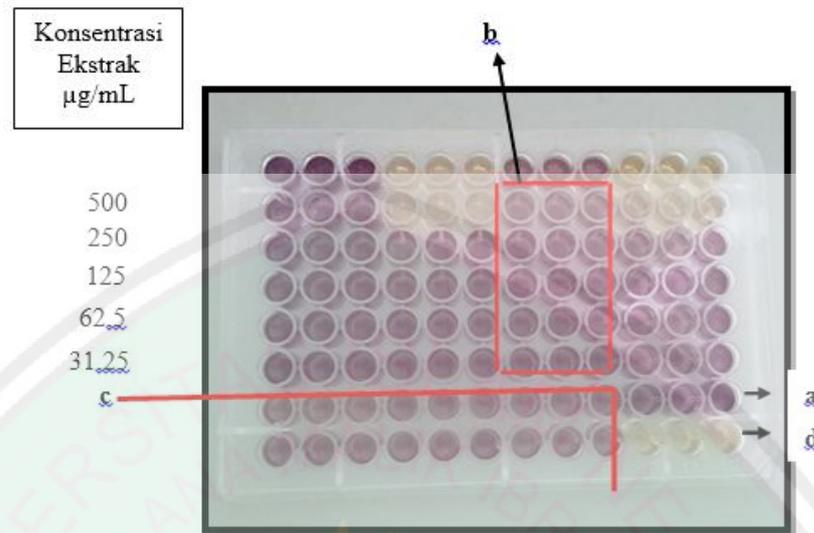
Menurut CCRC (2012), prinsip kerja dalam metode MTT adalah tereduksinya garam kuning tetrazolium MTT (3-(4, 5-dimetiltiazol-2-il)-2, 5-difeniltetrazolium bromid) menjadi kristal formazan berwarna ungu oleh enzim dehydrogenase mitokondria sel hidup melalui sistem reduktase. Kristal formazan yang terbentuk menjadi indikator viabilitas sel (Gambar 4.2).



Gambar 4.2 Kristal formazan yang terbentuk dari hasil uji sitotoksik menggunakan metode MTT (perbesaran 100x). Kontrol sel (a), sel dengan perlakuan 500µg/mL (b). Keterangan: sel hidup berwarna ungu karena mampu membentuk Kristal formazan (1). Kristal formazan berwarna ungu (2).

Pengamatan terhadap hasil uji sitotoksik dengan perbesaran 100x menunjukkan morfologi sel yang viabel serta kristal formazan yang terbentuk (gambar 4.2). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa sel T-47D berwarna ungu. Menurut Depamede (2009), sel yang viabel akan berubah warna menjadi ungu karena kristal formazan yang terbentuk. Selain itu, pada kontrol ditemukan lebih banyak kristal formazan yang terbentuk dibandingkan dengan perlakuan ekstrak etanol daun lidah mertua 500 $\mu$ g/mL. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun lidah mertua memberikan pengaruh terhadap viabilitas sel T-47D. Selain itu, banyaknya Kristal formazan berbanding lurus dengan sel yang viabel.

Data yang diperoleh dari pengamatan mikroskopis dikonfirmasi kembali menggunakan *Elisa reader* dengan panjang gelombang 595nm untuk mengetahui persentase sel hidup. Jumlah sel hidup maupun sel yang mati diidentifikasi melalui intensitas warna pada satuan percobaan (Basmal, 2009) (Gambar 4.3).



Gambar 4.3 Perubahan warna satuan percobaan setelah perlakuan SDS pada uji sitotoksik menggunakan metode MTT. kontrol sel (-) (a), Perlakuan ekstrak (b), kontrol positif/ perlakuan doxorubicin (c) dan kontrol media (d). Warna kuning menunjukkan jumlah sel mati yang lebih banyak, sedangkan warna ungu menunjukkan sel yang hidup lebih banyak. Warna ungu disebabkan karena kristal formazan telah terbentuk.

Data hasil pengamatan terhadap satuan percobaan pada *plate MTT* menunjukkan adanya perbedaan intensitas warna (Gambar 4.3). Intensitas warna ungu yang paling pekat terlihat pada satuan percobaan kontrol sel (-) (a), diikuti dengan satuan percobaan perlakuan ekstrak dengan konsentrasi terendah sampai tertinggi (b), perlakuan kontrol positif doxorubicin (c) dan kontrol media (d).

Warna ungu pekat yang ditunjukkan pada satuan percobaan kontrol sel (-) (a) menunjukkan tingginya jumlah sel hidup. Hal ini disebabkan karena sel T-47D dapat tumbuh secara normal tanpa adanya interaksi dengan perlakuan apapun. Jika dibandingkan dengan perlakuan ekstrak, maka warna ungu semakin pekat mendekati kontrol sel seiring menurunnya konsentrasi ekstrak yang diberikan. Menurut Meiyanto (1999), semakin pekat warna ungu pada satuan percobaan, nilai absorbansi semakin tinggi dan berbanding lurus dengan jumlah sel yang hidup.

Sebaliknya, semakin pudar warna (kuning) pada satuan percobaan, nilai absorbansi semakin rendah dan berbanding lurus dengan jumlah sel yang mati. Hal ini mengindikasikan adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol daun lidah mertua terhadap sel T-47D.

Perlakuan kontrol positif menunjukkan intensitas warna ungu yang rendah (mendekati kuning). Hal ini mengindikasikan jumlah sel yang mati cukup tinggi. Hasil pengamatan sesuai dengan Zampiri (2002) yang menyatakan bahwa sel T-47D sensitif terhadap doxorubicin. Akan tetapi, penggunaan doxorubicin menimbulkan efek negatif seperti hepatoksisitas, kardioksisitas serta resiko resistensi (El-Sayyad, 2009; Minotti, 2004; Li, 2005).

Hasil pembacaan menggunakan *Elisa reader* menunjukkan hubungan yang selaras dengan hasil pengamatan melalui intensitas warna pada plate MTT. Hal ini dapat dilihat dari persentase sel hidup pada perlakuan ekstrak maupun pada perlakuan doxorubicin (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Hasil Uji sitotoksik menggunakan metode MTT

Konsentrasi Perlakuan ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Sel Hidup	
	Kontrol (+)	Ekstrak
31,25	41,47	98,09
62,5	55,47	87,48
125	50,42	85,13
250	54,51	63,02
500	46,36	38,25

Keterangan: Sel T-47D yang diberi perlakuan doxorubicin (kontrol +), sel T-47D yang diberi perlakuan ekstrak etanol daun lidah mertua dengan 5 variasi konsentrasi (500 $\mu\text{g/mL}$ , 250  $\mu\text{g/mL}$ , 125  $\mu\text{g/mL}$ , 62,5  $\mu\text{g/mL}$  dan 31,25  $\mu\text{g/mL}$ ).

Berdasarkan tabel 4.1 diketahui persentase sel hidup dari perlakuan kontrol positif dan ekstrak. Persentase sel hidup pada perlakuan kontrol positif dan ekstrak dengan konsentrasi 31,25  $\mu\text{g/mL}$  sebesar 41,47 dan 98,09%. Data ini menunjukkan bahwa dengan konsentrasi 31,25  $\mu\text{g/mL}$  doxorubicin mampu menyebabkan persentase sel hidup sebesar 41,47%, sedangkan ekstrak hanya mampu menyebabkan persentase sel hidup sebesar 98,09%. Data tersebut menunjukkan bahwa toksisitas doxorubicin lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa sel T-47D sensitif terhadap doxorubicin (Zampiri, 2002). Akan tetapi pada perlakuan doxorubicin dengan konsentrasi 62,5  $\mu\text{g/mL}$  terjadi kenaikan persentase sel hidup sebesar 14%

menjadi 55,47%. Berbeda dengan perlakuan ekstrak yang kembali menurunkan persentase sel hidup sebesar 10,61% menjadi 87,48%.

Selanjutnya pada perlakuan dengan konsentrasi 125  $\mu\text{g/mL}$ , doxorubicin menyebabkan penurunan persentase sel hidup sebesar 5,05% menjadi 50,42%. Hal yang sama terjadi pada perlakuan ekstrak, yakni menurunkan persentase sel hidup sebesar 2,35% menjadi 85,13%. Konsentrasi berikutnya adalah 250  $\mu\text{g/mL}$  yang menyebabkan kenaikan kembali persentase sel hidup pada perlakuan doxorubicin sebesar 4,09% menjadi 54,51%. Berbeda dengan perlakuan ekstrak yang terus menurun sebesar 22,11% menjadi 63,02%. Konsentrasi terakhir yang diujikan adalah 500  $\mu\text{g/mL}$  pada perlakuan doxorubicin menyebabkan penurunan persentase sel hidup sebesar 8,15% menjadi 46,36%. Hal yang sama juga terjadi pada perlakuan ekstrak, yakni menyebabkan penurunan persentase sel hidup sebesar 24,77% menjadi 38,25%.

Ketidakstabilan doxorubicin dalam mempengaruhi persentase sel hidup diduga merupakan salah satu efek samping dari penggunaannya, yakni menyebabkan resistensi. Jika diperhatikan secara rinci pada perlakuan doxorubicin, maka akan terlihat bahwa persentase sel hidup terendah ditempati oleh perlakuan dengan konsentrasi terendah pula, yakni 41,47%. Menurut Li (2005), doxorubicin terbukti meningkatkan fosforilasi P13K/Akt *dose dependent* pada sel kanker payudara T-47D. Peningkatan aktivitas fosforilasi Akt menyebabkan aktivasi NF- $\kappa\text{B}$  yang bekerja meningkatkan transkripsi Bcl-  $\text{X}_\text{L}$  (protein antiapoptosis) serta menginaktifkan caspase 9 yang merupakan inisiator apoptosis (El-Sayyad, 2009; Minotti, 2004; Li, 2005). Selain itu, Akt juga bekerja menghambat fosforilasi Bad,

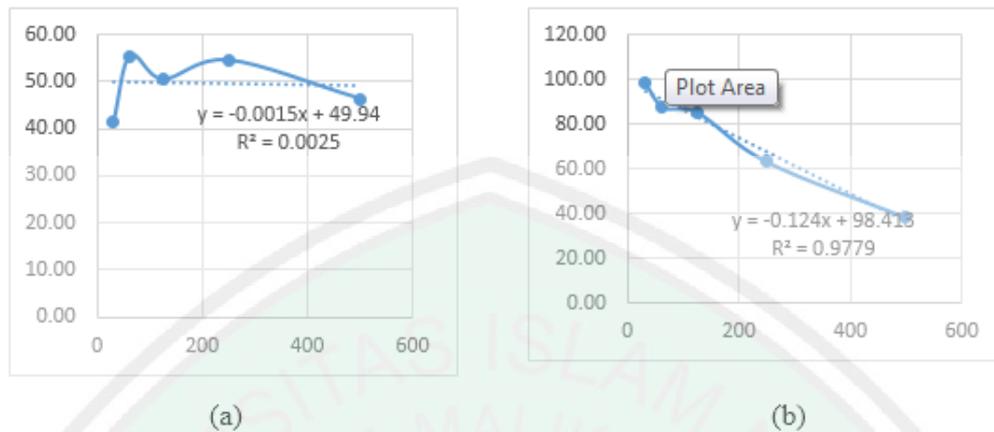
yakni suatu protein proapoptosis, sehingga apoptosis terhambat (Gewies, 2003; Hennesy, 2005). Oleh karena itu, semakin tinggi konsentrasi doxorubicin yang diberikan diduga akan menyebabkan kemungkinan resistensi semakin tinggi dan menimbulkan reaksi resistensi yang berbeda pada masing-masing satuan percobaan (dapat naik maupun turun). Sebagaimana yang telah Allah SWT jelaskan dalam Al-Quran surat Al-Qomar: 49;

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

“*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*” (QS. Al-Qomar: 49).

Kata *قَدَرٍ* pada ayat 49 surat Al-Qomar berarti mengukur, memberi kadar (Shihab, 2002). Dalam konteks ini, yang dimaksud dengan mengukur dan memberi kadar adalah memberi kadar, ukuran, atau batas- batas kemampuan maksimal. Perlakuan konsentrasi doxorubicin pada sel T-47D dengan kadar yang berlebihan dapat menimbulkan resistensi serta efek negatif lainnya.

Selanjutnya, berdasarkan hasil pada tabel 4.1, dapat diketahui bahwa persentase sel hidup mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak. Hubungan (korelasi) antara persentase sel hidup dengan konsentrasi perlakuan yang diberikan disajikan pada gambar 4.4.

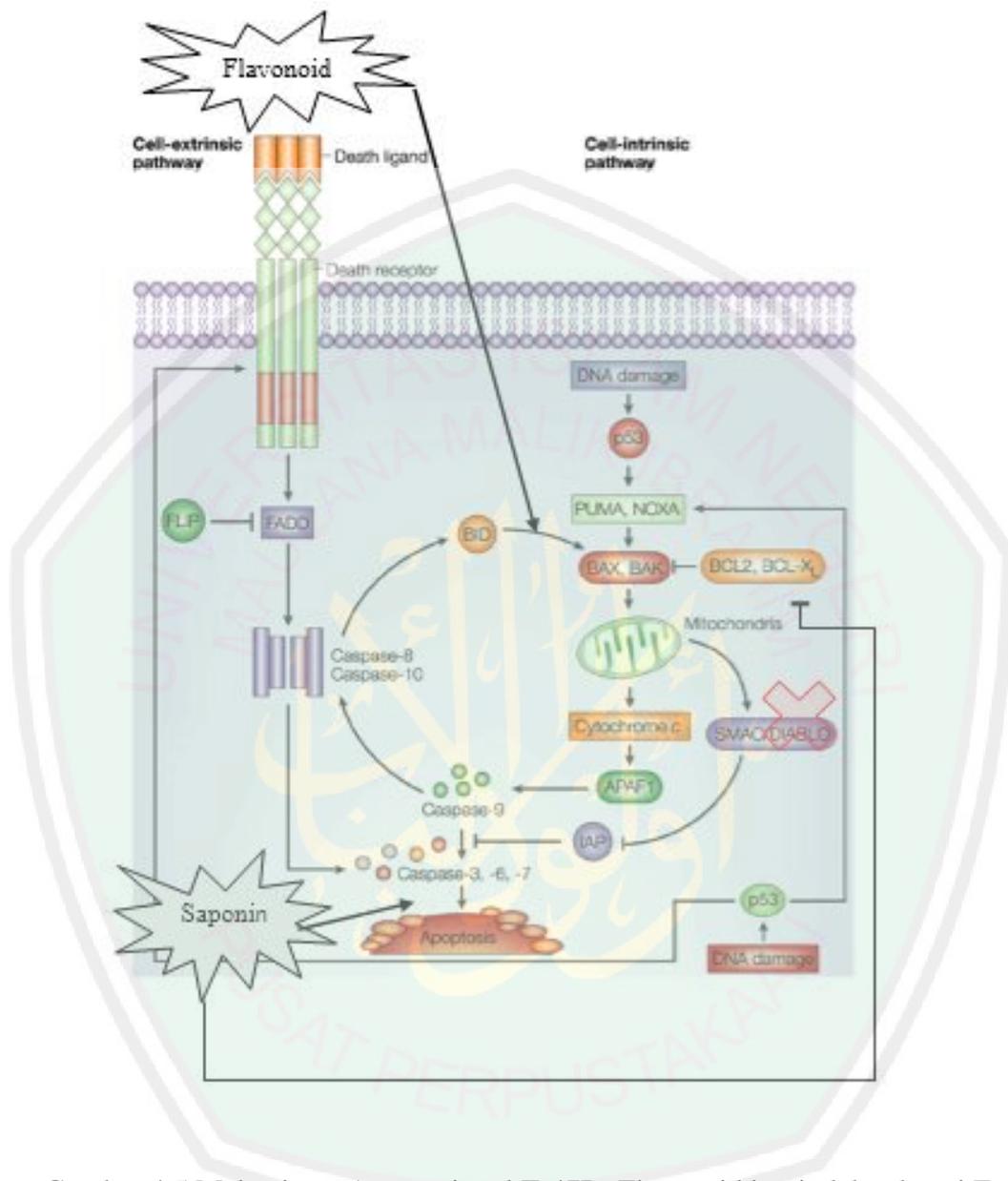


Gambar 4.4 Grafik hubungan antara persentase sel hidup dengan konsentrasi. Kontrol positif dengan menggunakan doxorubicin (a). Sel T-47D diberi perlakuan ekstrak etanol daun lidah mertua dengan 5 seri konsentrasi (500, 250, 125, 62,5 dan 31,25  $\mu\text{g/mL}$ ) (b). Inkubasi dilakukan selama 24 jam didalam inkubator  $\text{CO}_2$  5% dengan suhu  $37^\circ\text{C}$ .

Korelasi antara persentase sel hidup dengan konsentrasi ekstrak dapat diidentifikasi melalui koefisien determinasi ( $R^2$ ) berganda dengan nilai antara  $0 \leq 1$ . Nilai  $R^2$  yang mendekati angka 1 menunjukkan semakin tingginya kemampuan variabel independen (ekstrak) mempengaruhi kondisi variabel dependen (persentase sel hidup) (Ulupui, 2007). Berdasarkan grafik hubungan antara persentase sel hidup dengan konsentrasi (gambar 4.4) diketahui bahwa nilai  $R^2$  perlakuan ekstrak ( $R^2 = 0.9779$ ) lebih mendekati 1 dibandingkan pada perlakuan kontrol + ( $R^2 = 0.0025$ ). Hal ini berarti bahwa terdapat korelasi negatif yang kuat antara konsentrasi ekstrak dengan persentase sel hidup. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak menyebabkan persentase sel hidup semakin rendah. Sebaliknya, nilai  $R^2$  pada perlakuan kontrol doxorubicin (0.0025) lebih mendekati angka 0 yang berarti hubungan antara perlakuan dengan persentase sel hidup lemah atau dapat

diabaikan. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa konsentrasi ekstrak etanol daun lidah mertua berbanding terbalik dengan persentase sel hidup. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak menyebabkan persentase sel hidup semakin rendah. Hal ini mengindikasikan adanya keterlibatan senyawa aktif yang terdapat didalam ekstrak (Gambar 4.5).





Gambar 4.5 Mekanisme Apoptosis sel T-47D. Flavonoid bertindak sebagai Fas Ligan dan memacu ekspresi protein Bax. Sedangkan saponin memacu meningkatkan protein caspase 3 dan menghambat Bcl-2 (Morris dan Zhang, 2006; Fitria, 2011).

Sel yang mengalami mutasi pada gen p53 seperti T-47D mengalami apoptosis melalui jalur Fas/Caspase8 dan Akt/Bad (jalur apoptosis ekstrinsik) (Gambar 4.5) (Lahiry, 2009; CCRC, 2012). Fas merupakan *death reseptor* yang

paling banyak terekspresi pada sel T-47D (Chen, 2012). Apoptosis pada sel T-47D diinisiasi dengan adanya ikatan antara ligan dengan *death reseptor*. Menurut Morris dan Zhang (2006), flavonoid dan senyawa aktif lainnya dapat berfungsi sebagai ligan pada reseptor kematian Fas.

Ikatan antara reseptor Fas dengan senyawa aktif dalam ekstrak etanol daun lidah mertua akan menyebabkan terbentuknya ikatan dengan FADD (*Fas Associated Death Domain*) pada sisi *Death Domain*. Selanjutnya, FADD akan berikatan dengan procaspase 8 pada sisi DED (*Death Effector Domain*). Keseluruhan kompleks ini disebut DISC (*Death Inducing Signaling Complex*). DISC akan menghasilkan caspase 8 yang kemudian bebas disitoplasma. Caspase 8 yang aktif akan bertindak sebagai aktivator caspase 3 (eksekutor). Caspase 8 dapat mengaktifkan caspase 3 melalui 2 jalur, yakni secara langsung mengubah procaspase 3 menjadi caspase 3 atau melalui pembelahan Bid (Robert, 2000).

Bid merupakan molekul proapoptosis yang berperan dalam aktivasi apoptosis jalur intrinsik yang melibatkan mitokondria. Caspase 8 membelah Bid menjadi t-Bid (Gewies, 2003). T-Bid akan mengaktifasi protein Bax yang bertugas membuat pori pada membran mitokondria. Pori yang terbentuk akan menyebabkan sitokrom C keluar ke sitosol. Senyawa aktif flavonoid juga bekerja dengan meningkatkan ekspresi protein Bax (Graidist, 2015). Disisi lain, protein Bcl-2 yang merupakan anggota protein antiapoptosis akan menghalangi keluarnya sitokrom C menuju sitosol. Pada tahapan ini. Senyawa aktif dari ekstrak etanol daun lidah mertua berupa saponin akan bekerja menghambat pembentukan Bcl-2 yang

diekspresikan terlalu tinggi (Fitria, 2011). Hal ini mengakibatkan sitokrom C bebas keluar menuju sitosol.

Sitokrom C yang berada di sitosol dapat berikatan dengan protein *Apaf-1* dan mengaktifasi *procaspase-9* menjadi *caspase-9*. Kompleks ikatan antara sitokrom C, *Apaf-1* dan *caspase-9* disebut dengan apoptosom. Selanjutnya, *Caspase-9* akan mengaktifasi *procaspase-3* menjadi *caspase-3* (Goodwin dan DiMaio, 2000; Robert, 2000).

*Caspase-3* yang teraktifasi akan memecah berbagai macam substrat dan menyebabkan apoptosis. Beberapa macam substrat tersebut, seperti: enzim DNA repair (*poly-ADP ribose polymerase* (PARP) dan DNA protein kinase yang merupakan protein struktural seluler dan nukleus), apparatus mitotik inti, lamina nukleus, aktin, dll. Selain memecah substrat, *caspase-3* juga berfungsi sebagai activator *caspase* lain, seperti *caspase-6* dan *7* (Sukardiman, 2006). Untuk memaksimalkan kerja *caspase-3*, senyawa aktif berupa saponin juga mampu menginduksi protein *caspase-3* yang diekspresikan terlalu rendah (Fitria, 2011).

Efektivitas ekstrak etanol daun lidah mertua dalam mematikan sel T-47D melalui jalur apoptosis selanjutnya dianalisis kembali menggunakan SPSS Probit untuk mengetahui nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration*). Menurut Ernawati (2010), salah satu tujuan dilakukannya uji sitotoksik adalah untuk mengetahui nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan nilai konsentrasi yang menyebabkan penghambatan proliferasi sel sebesar 50%.

Hasil analisis menunjukkan bahwa nilai  $IC_{50}$  sel T-47D sebesar 367, 537  $\mu\text{g/mL}$ . Menurut Prayong (2008), sitotoksitas suatu bahan berdasarkan nilai

IC<sub>50</sub>nya digolongkan menjadi 3, yaitu: sitotoksik potensial (IC<sub>50</sub><100µg/mL), sitotoksik moderat atau sedang (100µg/ml< IC<sub>50</sub><1000µg/mL) dan rendah (IC<sub>50</sub>>1000 µg/mL). Selanjutnya, berdasarkan *National Cancer Institute* (NCI) (2017) suatu senyawa dikatakan tergolong anti kanker yang kuat jika IC<sub>50</sub><20 µg/mL. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol daun lidah mertua memiliki kemampuan sitotoksik sedang yang dapat digunakan sebagai agen kemoprevensi (Prayong, 2008). Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam surat Ali-‘imran (3):190-191;

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ  
اللَّهَ قِيَامًا وَفُجُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا  
سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

“*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka"*”(QS. Ali-‘Imran (3):190-191).

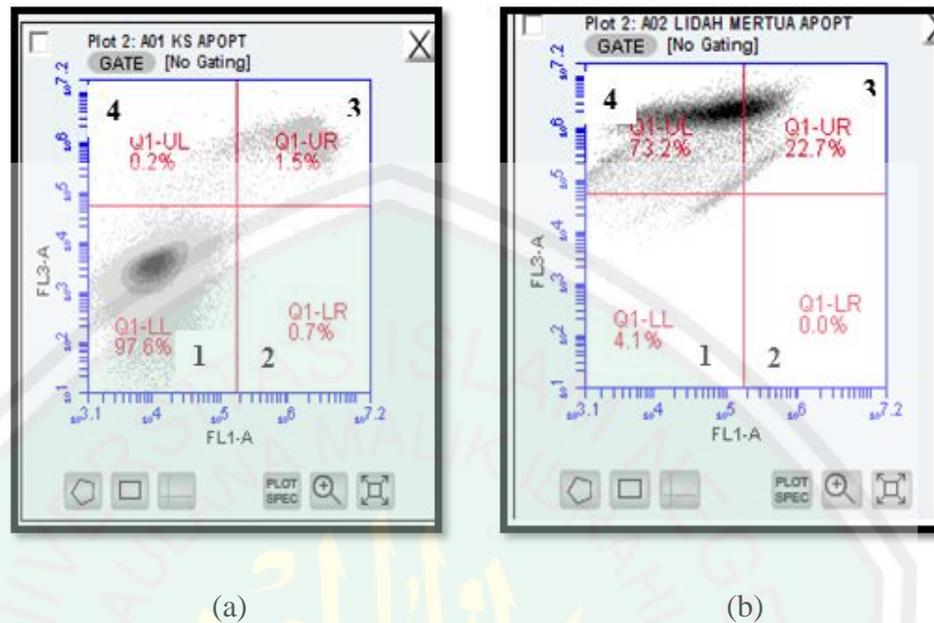
Kata *بَاطِلًا* menurut Ibnu Katsir (1999) dapat diartikan “sia-sia”. Maksud ayat diatas adalah bahwa Allah SWT tidaklah menciptakan sesuatu dengan sia-sia atau tidak ada manfaatnya. Dalam hal ini, ekstrak etanol daun lidah mertua tidak memiliki kemampuan sitotoksik terhadap sel T-47D yang kuat. Akan tetapi, kemampuan sitotoksiknya tergolong sedang dan dapat digunakan sebagai agen kemopreventif.

Kemoprevensi berarti ekstrak etanol daun lidah mertua dapat digunakan untuk mencegah dan menghambat pertumbuhan sel kanker serta memicu sel untuk

apoptosis (Prayong, 2008). Kemampuan kemoprevensi ekstrak diuji kembali melalui *Flow cytometry* untuk mengetahui efek biologis yang mungkin ditimbulkan pada sel T-47D. Beberapa efek biologis yang mungkin terjadi diantaranya sel tetap hidup, apoptosis awal, apoptosis akhir dan nekrosis. Selain itu, sel yang mengalami apoptosis awal pada uji sitotoksik masih terdeteksi sebagai sel hidup (Setiawati, 2011). Pengamatan menggunakan *flow cytometry* merupakan konfirmasi dari uji sitotoksik (Setiawati, 2011).

#### **4.2 Analisis Efek Biologis Akibat perlakuan Ekstrak Etanol Daun Lidah Mertua *Sansevieria trifasciata* Prain terhadap Sel T-47D**

Aman atau tidaknya suatu agen kemoprevensi dapat dinilai dari efek biologis yang mungkin ditimbulkan saat digunakan, Untuk itu, dalam penelitian ini dilakukan uji efek biologis menggunakan metode *Flow cytometry*. *Flow cytometry* merupakan suatu metode yang digunakan untuk menghitung dan menganalisa suatu partikel mikroskopis dalam aliran fluida (Sayed, 2009). Keadaan sel dianalisa dengan bantuan reagen annexin v dan PI untuk membedakan sel yang hidup, apoptosis awal, apoptosis akhir dan nekrosis. Oleh karena itu, melalui teknik ini dapat diketahui efek biologis yang mungkin timbul dan menjadi penyebab penghambatan dan kematian sel T-47D. Hasil dari uji efek biologis menunjukkan persentase sel hidup, apoptosis awal, apoptosis akhir dan nekrosis (Gambar 4.6).



Gambar 4.6 Hasil analisis efek biologis menggunakan *Flow cytometry*. Keterangan: Kontrol sel T-47D (a), T-47D+ Ekstrak etanol daun lidah mertua (b), persentase sel hidup (1), persentase sel apoptosis awal (2), persentase sel apoptosis akhir (3) dan persentase sel nekrosis (4).

Data menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol dan ekstrak terdapat perbedaan persentase sel hidup yang signifikan, yakni 97,6%: 4,1%. Rendahnya persentase sel hidup pada perlakuan ekstrak dibandingkan dengan kontrol membuktikan bahwa ekstrak dapat menurunkan viabilitas sel kanker T-47D. Menurunnya viabilitas sel T-47D dapat diakibatkan oleh apoptosis maupun nekrosis. Namun, penyebab yang diharapkan adalah ekstrak mampu menurunkan viabilitas sel dengan cara apoptosis.

Apoptosis merupakan mekanisme kematian sel yang penting untuk menentukan selektivitas ekstrak sebagai agen kemopreventif. Selektivitas ekstrak menjadi hal yang penting bagi agen kemopreventif. Sel yang mati akibat apoptosis

tidak menimbulkan reaksi inflamasi, sehingga mengurangi efek samping pada pasien (Gewies, 2003; Herbert, 2003).

Data berikutnya menunjukkan persentase apoptosis awal pada kontrol sel sebesar 0,7% dan apoptosis akhir sebesar 1,5%. Data ini menunjukkan bahwa terdapat faktor lain yang menyebabkan sel T-47D tanpa perlakuan mengalami apoptosis awal. Hal ini diperparah dengan perlakuan ekstrak, sehingga pada perlakuan ekstrak tidak ditemukan adanya sel yang mengalami apoptosis awal (persentase apoptosis awal sebesar 0,0%). Faktor lain tersebut bersama-sama dengan senyawa aktif dari ekstrak terus memicu sel T-47D menuju apoptosis akhir. Hal ini menyebabkan persentase apoptosis akhir pada perlakuan ekstrak cukup besar (22,7%). Analisis ini semakin dikuatkan dengan data yang menunjukkan bahwa persentase sel hidup dengan perlakuan ekstrak konsentrasi 500 $\mu$ g/mL pada uji MTT sebesar 38,25%. Persentase sel hidup ini berbeda jauh dengan perlakuan konsentrasi ekstrak yang sama pada uji *Flow Cytometri* yang menyebabkan persentase sel hidup hanya sebesar 4,1%. Persentase sel hidup dengan perlakuan ekstrak pada uji MTT dan Flow cytometry seharusnya tidak berbeda jauh karena baik media, suhu, konsentrasi perlakuan dan waktu inkubasi yang diberikan pada keduanya sama. Selain itu, data selanjutnya menunjukkan bahwa sel dengan perlakuan ekstrak etanol daun lidah mertua menyebabkan nekrosis sebesar 73,2%, sedangkan pada kontrol sebesar 0,2%. Menurut Wyllie (2000), nekrosis merupakan kematian sel karena terluka akibat tekanan fisik, lingkungan atau kimia yang sangat berpengaruh.

Persentase nekrosis yang cukup tinggi pada perlakuan ekstrak diduga disebabkan karena suhu penyimpanan dan waktu tunggu sebelum analisis yang cukup lama. Sel yang akan dianalisis terlebih dahulu disimpan dalam lemari pendingin yang terdapat diruang analisis. Lemari pendingin yang digunakan untuk menyimpan sampel sementara sebelum analisis berbeda dengan lemari pendingin yang digunakan saat uji MTT. Hal ini memungkinkan adanya perbedaan suhu pada kedua lemari pendingin tersebut.

Tujuan dari penyimpanan sementara ini adalah untuk menjaga keadaan sel dari kerusakan. Akan tetapi, suhu pada lemari pendingin yang digunakan diduga tidak mampu memfiksasi sel dengan baik. Hal ini menyebabkan sel mengalami cekaman lingkungan yang mengarahkan ke kematian secara nekrosis. Menurut De Jarnette (2000) semakin lama sel disimpan pada suhu fiksasi yang tidak tepat (tidak cukup dingin) akan mengakibatkan energi sel terkuras habis. Menurut Hariono (2009) sel dapat terfiksasi pada suhu 4<sup>0</sup>C. Hal ini menyebabkan membran sel lebih semipermeabel terhadap elektrolit. Konsentrasi elektrolit yang tinggi dialam sel menyebabkan membran sel pecah yang berakibat sel mengalami nekrosis. Alvarez dan Storey (1995), menambahkan bahwa semakin lama penyimpanan sel, ROS (*reactive oxygen species*) yang terbentuk juga semakin banyak. ROS dengan konsentrasi yang tinggi menyebabkan rusaknya komponen penting dari fosfolipid penyusun membran sel berupa *polyunsaturated fattyacid*. Selain itu, ROS juga menyebabkan inaktivasi enzim-enzim glikolitik, pemutusan rantai DNA dan merusak membran mitokondria.

Penyebab sel mengalami nekrosis perlu ditelaah secara mendetail, karena nekrosis dapat menimbulkan respon inflamasi dan gangguan yang merugikan pada sel-sel normal disekitarnya. Dalam terapi kanker, hal ini dinilai sangat merugikan pasien. Respon inflamasi sistemik dapat menimbulkan efek samping yang serius, bahkan mematikan (Muti'ah, 2014). Berdasarkan data hasil penelitian serta analisis yang telah dilakukan, diketahui bahwa nekrosis pada sel T-47D tidak semata-mata akibat dari perlakuan ekstrak akan tetapi akibat waktu tunggu sebelum analisis yang terlalu lama.

Ekstrak etanol daun lidah mertua mampu menurunkan konfluenitas sel T-47D secara signifikan. Kemampuan ini berbanding lurus dengan tingginya konsentrasi yang diberikan. Namun, kemampuan sititoksik ekstrak terhadap sel T-47D tergolong (Moderat) sedang, sehingga ekstrak lebih baik digunakan sebagai agen kemoprevensi.

Kemampuan ekstrak menginduksi apoptosis pada sel T-47D belum dapat dikonfirmasi secara mendetail, sehingga dibutuhkan penelitian lanjutan. Langkah ini merupakan salah satu upaya untuk menemukan bahan yang berpotensi sebagai antikanker, seperti sabda Rasulullah SAW;

عَنْ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءٌ دَاءٍ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّوَجَلَّ

Rasulullah SAW bersabda “*Setiap penyakit ada obatnya, dan bila telah ditemukan dengan tepat obat suatu penyakit, niscaya akan sembuh dengan izin Allah Azza wa Jalla.*” (HR. Muslim no. 1475).

Kata دَاءٍ berarti penyakit yang diderita manusia, baik berupa penyakit lahir maupun batin. Dalam konteks ini, penyakit yang dimaksud adalah penyakit lahir

berupa kanker payudara. Hadist ini mengandung makna bahwa terdapat obat bagi semua jenis penyakit atas izin Allah SWT. Untuk itu, segala usaha harus tetap dilakukan sebagai bentuk ikhtiar mendapatkan izin serta ridho dari Allah SWT dalam penyembuhan kanker.



## BAB V

### PENUTUP

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain) memiliki potensi sitotoksik moderat (sedang) terhadap sel T-47D. Potensi sitotoksik moderat dibuktikan dengan penurunan konfluenitas dan nilai  $IC_{50}$ .

#### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, dapat dikemukakan beberapa saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan pengujian menggunakan *Flow cytometri* untuk mengetahui efek biologis akibat perlakuan ekstrak pada sel, dengan memperhatikan faktor-faktor luar yang dapat mempengaruhi hasil.
2. Perlu dilakukan uji sitotoksik pada sel normal (vero) menggunakan metode MTT untuk membuktikan keamanan ekstrak etanol daun lidah mertua sebagai agen kemopreventif.
3. Perlu dilakukan isolasi senyawa spesifik menggunakan metode fraksinasi pada lidah mertua untuk memaksimalkan kemampuan kemopreventif.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adjo, J., dan Lin, S. 2012. *Comparison of Functional Proteomic Analyses of Human Breast Cancer Cell Lines T47D and MCF7*. *Plos One*. 7(2), 14.
- Aksamitiene, Edita. 2012. *Cell Signaling Networks*.  
<http://www.cellsignet.com/media/plates/6.jpg>. Diakses pada tanggal 16 juli 2017 pukul 14.17 WIB
- Alteri, Rick. 2013. *Breast Cancer Facts & Figures*. Atlanta: American Cancer Society.
- Alvarez JG, Storey. 1995. Differential Incorporation of Fatty Acid into and Peroxidative Loss of Fatty Acid from Phospholipid of Human Spermatozoa. *Mol Reprod Dev* 42: 334-345.
- Angkasa, S., K. Rizkika, L. Wijayanti, E. Syariefa, L.A. Tambunan, D. Cahyana, I. Wiguna, A. Helmina, N. Artdiyasa, D.A. Susanto, R.N. Apriyanti, dan V. Fitriyani. 2008. *Trubus: Sansevieria, 200 jenis spektakuler*. Niaga Swadaya. Jakarta. hal. 10-22.
- Arifianti, L, Sukardiman, H., Rakhmawati., dan Megawati, L. 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Biji Sirsak (*Annona muricata L.*) terhadap Sel Kanker Mamalia secara in Vitro. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 1(2):63-66
- Ary, D., Jacob, L.C. dan Razavieh, A. 1985. *Introduction to Research in Education*. 3<sup>rd</sup> Edition. New York: Holt, Rinehart and Winston.

- Azka, Rudi Abu. 2016. *Tafsir Surat Al- An'am Ayat 98-99*.  
<http://www.ibnukatsironline.com/2015/05/tafsir-surat-al-anam-ayat-98-99.html>. Diakses tanggal 29 juli 2017 pikul 12.04 wib.
- Baskar, R., V. Rajeswari, T.S. Kumar. 2007. *In vitro antioxidant studies in leaves of Annona sp. Indian J Exp Biol. 45 (5): 480-5.*
- Basmal, J., Amini, S., Sugiyono., dan Murniyati. 2009. Seminar Nasional Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Jakarta
- Boik J. 1996. *Cancer and Natural Medicine: A Textbook of Basic Science and Clinical Research*. New York: Oregon Medical Pr.
- Borek, Carmia. 2004. Antioxidants and Radiation Therapy. *American Society for Nutritional Sciences. J. Nutr. 134: 3207s–3209s*
- Bouker, K.B., Skaar, T.C., Hamburger, D.S., Riggins, R.B., Fernandez, D.R., Zwart, A., Wang, A. & Clarke, R. 2005. *Tumor suppressor activities of interferon regulatory factor-1 in human breast cancer associated with caspase activation and induction of apoptosis, Carcinogenesis 26 1527-1535.*
- Bratawidjaja, Karnen Garna dan Renganis, Iris. 2014. *Imunologi Dasar. Edisi ke 11 (Cetakan ke-2)*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- CCRC. 2012. Mekanisme dan Regulasi Apoptosis. Tersedia dalam: <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/wp-content/uploads/mekanisme-danregulasi-apoptosis1.pdf>. Diakses pada tanggal 3 juni 2017 pukul 14.00 wib
- Cory S. dan Adams M. 2002. The BCl-2 Family: Regulators of the Cellular Life or Death Switch. *Nature Rev.*, 2, 647-656

Dasuki, H. 1990. Al-Quran dan Tafsirnya Jilid 1. Yogyakarta: PT. Dana Bhakti Wakaf

Davey, Patrick. 2006. *At a Glance Medicine*. Jakarta: Erlangga

De Jarnette JM, Barnes DA, Marshall CE.2000. Effect of Pre and Post Thaw Termhal Insults on Viability Characteristics of Cry Preserved Bovine Semen. *Theriogenology* 53: 1225-1238.

Depamede, S. N., dan Rosyidi, A. 2009. Penghambatan Poliferasi Limfosit Mencit Balb/C Oleh Ekstrak Testis Sapi Bali. Peran TGF- $\beta$ . *Media Peternakan*, 32(2).

Dewi, Y. S Dan Hapsari I. 2012. Kajian Efektifitas Daun Puring (*Codiaeum Variegatum*) Dan Lidah Mertua (*Sansevieria Trifasciata*) Dalam Menyerap Timbal Udara Ambien. *J. Ilmiah Universitas Satya Negara Indonesia*. Vol.5 No.2. Hal: 1-7

Dey, B., R. Bhattacharjee, A. Mitra, R.K. Singla, A. Pal. 2014. Mechanistic Explorations of Antidiabetic Potentials of *Sansevieria trifasciata*. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(2)

Djati, M. S. 2006. *Teknologi Manipulasi dan Kultur Sel Jaringan Hewan*. Malang: Universitas Brawijaya

Djuwita, I. 2002. *Biologi Kultur Jaringan*. Modul Pelatihan Dosen Universitas. Bogor. Modul L.

Ellis IO, Schnitt SJ, Sastre GX. 2003. *Invasive Breast Carcinoma in World Health Organization Classification of Tumors Pathology & Genetics Tumors of the Breast and Female Genital Organs*. France: IARC Press

- El-Sayyad, H.I., Ismail, M.F., Shalaby, F.M., Abou-El-Magd, R.F., ernando, A., Raj, MRG. & Quhtit, A. 2009. Histopathological Effects of Cisplatin, Doxorubicin and 5-Fluorouracil (5-FU) on the Liver of Male Albino Rats. *International Journal of Biological Science*, 5(5): 466-473.
- Ernawati, F. 2010. Uji Sitotoksik Isolat Aktif Dari Ekstrak Kloroform Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) Terhadap Sel Hela Dan Siha. Skripsi. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret
- Esteller, M. 2006. *The necessity of a human epigenome project. Carcinogenesis* 27: 1121- 1125.
- Ferlay, J., Bray, F., Pisani, P., and Parkin, D.M. 2004. *Globocan 2008, Cancer incidence, mortality and prevalence. Worldwide IARC. Cancer base No. 5 Version 2.0' Lyon: IARC Press.*
- Fitria, M., Armandari, I., Septhea, D.B., Ikawati, M & Meiyanto, E. 2011. Ekstrak Etanolik Herba Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Berefek Sitotoksik dan Menginduksi Apoptosis pada Sel Kanker Payudara MCF-7. *Bionatura Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati dan Fisik* 13 (2):101-107.
- Foster, J.S., Henley, D.C., Ahamed, S., dan Wimalasena, J. 2001. *Estrogen and Cell Cycle Regulation in Breast Cancer. Trend in Endocrinology and Metabolism*. 12(7): 320-327.
- Freshney, R.I. 2000. *Culture of Animal Cell*. New York: Wiley-liss, Inc
- Gay, L.R. 1983. *Educational Research Competencies for Analysis & Application. 2<sup>nd</sup> Edition*. Ohio: A Bell & Howell Company.

Geffen, Jeremy r. 2007. *Kanker Payudara; Cara Pengobatan Alternatif*. Jakarta:

Indeks

Gewies. 2003. Introduction to Apoptosis. *Apo Review*, 3(1):1-26.

Gibbs, J.B. 2000. *Anticancer Drug Targets: Growth Factors & Growth Factor Signaling*. *J Clin Invest* 105(1): 9-13.

Gitasari YD, 2011. Aktifitas Antibakteri Fraksi Aktif Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain). *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Goepel, J.R. 1996. *Reusponses to Celluler Iniury, In: Underwood JCE. General and systematic pathology. 2<sup>nd</sup> Ed, Churchill Livingstone*. New York-London-Madrid: 117-119.

Goodwin EC. Di Maio D. 2000. Repression of human papillomavirus oncogenes in HeLa cervical carcinoma cells causes the orderly reactivation of dormant tumor suppressor pathways. Department of Genetics, Yale University School of Medicine.

Graidist, P.; Martla, M.; Sukpondma, Y. 2015. *Cytotoxic Activity of Piper cubeba Extract in Breast Cancer Cell Lines*. *Nutrients*, 7, 2707-2718

Greenwald, P. 2002. *Cancer Chemoprevention*. *British Medical Journal*, 324: 714-718.

Gupta, S. M., Agarwal, A., Kumar, K., Arya, M. C., & Nasim, M. 2015. Physiochemical response of air purifying indoor plants under cold stress. *International Journal of Biochemistry*, 2, 1–7.

Guyton dan Hall. 1996. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 15*. Jakarta: EGC

- Hahn DB, Payne WA. 2003. *Focus on Health*. New York: McGraw Hill
- Hanahan, D., dan Weinberg, R.A. 2000. *The Hallmarks of Cancer*. *Cell* 100, 57-70
- Hariana, A. 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Seri II. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hayashi SI, Eguchi H, Tanimoto K, Yoshida T, Omoto Y, Inoue A, Yoshida N, Yamaguchi Y. 2003 .*The expression and function of estrogen receptor alpha and beta in human breast cancer and its clinical application*. *Endocr Relat Cancer*. Jun; 10(2):193-202.
- Hebert, P. D. N. Ratnasingham S., waard J. R. D. 2003. Barcoding Animal Life: Cytochrome C oxidase Subunit 1 Divergences among Closely Related Species. *Proc. R. Soc. Lond. B*. 270: S96-S99, doi. 10. 1098/rsbl. 2003. 0025
- Hengartner MO. 2000. *The Biochemistry of Apoptosis*. *Nature*, 407:770-6
- Henley, R.W. 1982. Sansevieria in Florida - Past and Present. *Proceedings of the florida state horticultural society* 95:295-298.
- Hennessy, B.T., Smith, D.L., Ram, P.T., Lu,Y., & Mills, GB. 2004. Exploiting the PI3K/Akt Pathway for Cancer Drug Discovery. *Nature Review*, 4(12): 988- 1004.
- Hermansyah, A., bambang gonggo murcito. 2017. Uji microtetrazolium (mtt) ekstrak metanol daun *phaleria macrocarpa (scheff.) Boerl* terhadap sel kanker payudara mcf. *Jurnal pendidikan dan ilmu kimia*. 1(1):27-32 (2017) issn 2252-8075

- Hidayat ma 2002. Uji aktifitas antikanker ekstrak heksan daun *eupatorium triplinerve* vahl. Terhadap kultur sel meiloma. *Jurnal ilmu dasar* 3:9297.
- Holliday, d., & speirs, v., 2011. Review: *choosing the right cell line for breast cancer research*. *Holliday and Speirs Breast Cancer Research*, 2011, 13:215.
- Imani, F. 2004. *Tafsir Nurul Qur'an Jilid 2*. Jakarta: Al-Huda.
- Kasdu, Dini. 2008. *Solusi Problem Wanita Dewasa*. Jakarta: Puspa Swara
- Kerbel R., dan Folkman J., 2002. Clinical Translation of Angiogenesis inhibitor. *Nature Rev.*, 2, 727 - 739.
- Kresno, S.B. 2001. *Ilmu Onkologi Dasar*. Bagian patologi klinik FKUI: 13-15
- Lahiry, L., Saha, B., Chakraborty, J., Adhikarya, A., Mohanty, S., Hossain, DM S., Banerjee, S., Das, Sa, G., & Das, T. 2009. Theaflavin Target Fas/Caspase-8 abd Akt/pBad pathways to Induce Apoptosis in p53-Mutated Human Breast Cancer Cell. *Carcinogenesis*, 31: 259-268.
- Laimheheriwa, C., Wullur, A. C., Lolo W. A. 2014. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus* L.) Yang Diinduksi Sukrosa. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT Vol. 3 No. 3*
- Lamson, D.W., dan Brignall, M.S., 2000, Antioxidants and cancer III Quercetin. *Alternative Medicine Review*, 5 (3): 196-208.
- Leclercq G, Lacroix M. 2004. *Relevance of breast cancer cell lines as models for breast tumours: an update*. *Breast Cancer Res Treat* 83: 249–289

- Lewis R. 2003. *Human Genetics: Concept and Application*. New York: McGrawHill.
- 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.
- Lindley, C., dan L. B. Michaud. 2005. *Breast Cancer, Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach. Edisi ke- enam*. United States of America: The McGraw-Hill Companies.
- Lombogia, B., Budiarmo, F., Bodhi, Widdhi. 2016. Uji daya hambat ekstrak daun lidah mertua (*Sansevieriae trifasciata folium*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Streptococcus sp.* *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, Volume 4, Nomor 1, Januari-Juni 2016
- Lumongga, F., 2008, *Apoptosis*. Medan: Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara
- Mahassni S.H. & Al-Reemi R.M. 2013. Apoptosis and necrosis of human breast cancer cells by an aqueous extract of garden cress (*Lepidium sativum*) seeds. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 20, 131-139
- Mardiana, A.D., Ibrahim, M., Lisdian, L. 2015. Potensi Filtrat Daun *Sansevieria Trifasciata* Terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Lenterabio Vol. 4 No. 1, Januari 2015: 6–12*
- Meiyanto, D., Melannisa R., & Da'i, M. 2006. Penurunan Ekspresi Bcl-2 Berperan dalam Ooptosis Sel Kanker Payudara T47D yang diinduksi PGV-1 dan 17β-Ekstradiol. *Pharmacon* 7(2): 58-62.

- Mien, Dumanauw J., Carolin, W. A., Firhani, P. A. 2015. Penetapan Kadar Saponin Pada Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria Trifasciata Prain Varietas S. Laurentii*) Secara Gravimetri. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kesehatan*, Vol. 2, Nomor 2, Maret 2015, Hlm: 65 – 69
- Mimaki, Y., Toshihiro Inoue, Minpei Kuroda, dan Yutaka Sashida. 1996. Steroidal saponin from *Sansevieria trifasciata*. *Phytochemistry*, Vol. 43, Hal. 1325-1331
- Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G., & Gianni, L. 2004. Anthracyclins: Molecular Advances and Pharmacologic Developments in Antitumor Activity and Cardiotoxicity. *Pharmacology Review*, 56: 185-228
- Morris, M.E. & Zhang, S. 2006. Flavonoid- Drug Interaction on ABC Transporter. *Life Science*, 78: 2116- 2130.
- Murkies, A. L., Wilcox, G., and Davis, S. R. 1998. Phytoestrogens. *J Clin Endocrinol Metab* 83, 297 - 303.
- Muti'ah, Roihatul. 2016. TLC (Thin Layer Chromatography) Finger Printing dan aktivitas antikanker daun benalu (*Macrosolen cochinchinensis*) terhadap cell line kanker payudara T47D. Penelitian Penguatan Program Studi. Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri (Uin) Maliki Malang
- National Cancer Institute. 2017. *Breast Cancer Treatment (PDQ®)–Health Professional Version*. <https://www.cancer.gov/types/breast/hp/breast->

[treatment-pdq#link/952\\_toc](#). Diakses tanggal 29 Juli 2017 pukul 14. 42  
wib

- Novita, L., Gangga, E., Asrani, H. 2007. Analisis Pendahuluan Metabolit Sekunder Dari Kalus Mahkota Dewa (*Phaleris macrocarpa* [Scheff.] Boerl.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 5, No. 1:17-22
- Nooble MEM., Endicott JA. dan Johnson LN. 2004. Protein Kinase Inhibitors: Insights into Drug Design from Structure (Rev.). *Science*, 303, 1800 – 1805
- Nuri, Wicaksono y., dan Utami w. s., 2013. Sandaritasi dan studi praformulasi ekstrak kering daun kembang bulan. *J. laporan penelitian fakultas farmasi Universitas jember. Jawa timur. Hal: 167-175*
- Pilar,E., Bosch, A., Perez, Fidalgo, J., dan Lluch, A., 2012 Molecular biology in breast cancer: Intrinsic subtypes and signaling pathways, *J.CTRV*, 38(2012), 698- 707.
- Posangi J. 2000. *Buku Penuntun Praktikum: Ekstraksi*. Manado: Bagian Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Unsrat; hal. 3-4.
- Prayong P, Barusrux S, Weerapreeyakul N. 2008. *Cytotoxic activity screening of some indigenous Thai plants*. *Fitoterapia*: 79(7): 598-601.
- Prayugo, S., Haikal, F. L., Riski, E., Wibowo, A., Budiana, NS. 2008. *Galeri Sansevieria*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Prihatman, K.2001. *Saponin untuk Pembasmi Hama Udang*. Bandung: Pusat Penelitian Perkebunan Gambung
- Purwanto, Arie W. 2006. *Sansevieria Flora Cantik Penyerap Racun*. Yogyakarta: Kanisius

- Purwanto, Sigit. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Aktif Ekstrak Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L) terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal Keperawatan Sriwijaya*, 2 (2).
- Purwoastuti, Endang. 2008. *Kanker Payudara*. Pencegahan Dan Deteksi Dini. Yogyakarta: Kasinus
- Putra, W. S. 2013. *Sehat Tanpa Dokter Dengan Ramuan Herbal*. Yogyakarta: Citra Medika Pustaka.
- Puspitasari, E & Ulfa, E.U., 2009. Uji Sitotoksitas Ekstrak Metanol Buah Buni (*Antidesma bunius* (L) Spreng) terhadap Sel Hela. *Jurnal ILMU DASAR* 10(2): 181-185.
- Qomariyah, N., Sarto, M. dan Pratiwi, R. 2012. *Antidiabetic Effect a Decoction of Leaves of Sansevieria trifasciata in Alloxan-Induced Diabetic White Rats (Rattus novergicus L.)*. *ITB J. Sci., Vol. 44 A, No. 4*
- Rahim, F., Yenti, R., ramadhani, P. 2016. Karakterisasi dan formulasi ekstrak kering daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata prain*). *SCIENTIA vol. 6 no.2*
- Rana P.Singh, Puja Agrawal, Dongsool Yim, Chapla Agarwal dan Rajesh Agarwal. 2005. Acacetin inhibits cell growth and cell cycle progression, and induces apoptosis in human prostate cancer cells: structure-activity relationship with linarin and linarin acetate. *Carcinogenesis*, 26, 845 - 85.
- Rao, M. R. P., U. R. Adagale, A. Shetty, P. Namjoshi, P. Gaitonde, and P. Jain. 2007. *Cancer Immunotherapy*. <http://www.pharmainfo>.

Net/reviews/cancer-immunotherapy. Diakses pada tanggal 27 juli 2017 pukul 15. 17

Restasari , A., Kusriani, K., dan Fachriyah, E. 2009. Isolasi dan Identifikasi Fraksi Teraktif dari ekstrak Kloroform Daun Ketapang (*Terminalia catappa* Linn.). Skripsi. Semarang: Jurusan Kimia Universitas Diponegoro

Robert, Buckman dan Whittaker, Tereza. 2000. *Apa yang Seharusnya Anda Ketahui tentang Kanker Payudara*.UK. Marshall Publishing Ltd.

Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Edisi VI, Hal 191-216, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB

Sahid, A., Pandiangan, D., Siahaan, P., & R, M.J. 2013. Uji Sitoksisitas Ekstrak Metanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* Presl.) terhadap Sel Leukimia P388. *Jurnal MIPA Unsrat Online* 2 (2): 94-99.

Sayed DM, el-Attar MM, Hussein AA. 2009. Evaluation of flow cytometric immunophenotyping and DNA analysis for detection of malignant cells in serosal cavity fluids. Diagn Cytopathol. Jul; 37(7):498-504. doi: 10.1002/dc.21047

Schafer JM, Lee ES, O'Regan RM, Yao K, Jordan VC. 2000. Rapid development of tamoxifen-stimulated mutant p53 breast tumors (T47D) in athymic mice. Clin Cancer Res. 2000 Nov; 6(11):4373-80.

Septiani, S dan Suara, M. 2012. Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Perilaku Pemeriksaan Payudara Sendiri (Sadari) Pada Siswa SMAN 62 Jakarta 2012. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Vol. 5. No. 1. Januari 2013*.

- Setiawati, A., Septisetyani, E P., Wijayanti, T R., dan Rokhman, M R. 2007. Sambung Nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) Sebagai Agen Kemopreventif. *Cancer Chemoprevention Research Center*. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir al-Misbah Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Quran*. Jakarta: Lentera Hati
- Sirait, Midian. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: Penerbit ITB
- Snyder, C. R., J. J. Kirkland, and J. L. Glajach. 1997. *Practical HPLC Method Development, Second Edition*. New York: John Wiley and Sons, Lnc. Pp. 722-723.
- Sorlie, T., Perou, CM., Eisen, MB., Van, de Rijn M., Jeffrey, SS., Rees, CA., et al. 2000. *Molecular portraits of human breast tumours*. *Nature*. 406(6797):747-52.
- Srivastava, S., Somasagara, Ranganatha R., Hegde, M., Nishana, M., Tadi, Satish K., Srivastava, M., Raghavan, Sathees, C. dan Bibha. 2016. Quercetin, a Natural Flavonoid Interacts with DNA, Arrests Cell Cycle and Causes Tumor Regression by Activating Mitochondrial Pathway of Apoptosis. *SCIENTIFIC RepoRts* | 6:24049 | DOI: 10.1038/srep24049
- Sugiyono. 2011. *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D*. Bandung: Alfabeta.
- Suharsi, T.K. dan Andini N. 2013. Pertumbuhan tunas (*Sansevieria trifasciata* prain 'laurentii') pada beberapa komposisi media tanam dan konsentrasi GA3. *J.Bul. agrohorti*. 1(1):89-93

- Sukardiman, Ekasari, W dan Hapsari, P.P. 2006. Aktivitas Antikanker dan Induksi Apoptosis Fraksi Kloroform Daun Pepaya (*Carica papaya* L) terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma. *Media Kedokteran Hewan* 22 (2): 104-111.
- Tahir, M. Indrariansi dan M.Sitanggang. 2008. *165 Sansevieria Eksklusif*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Tambunan GW, Lukito JS. 2007. *Strategi deteksi kanker payudara stadium awal*. Jakarta: Cermin Dunia Kedokteran. Hlm. 55-9.
- Teponno, RB., Tanaka, C., Jie, B., Tapondjou, LA. , Miyamoto, T. 2016. Trifasciatosides A-J, Steroidal Saponins from *Sansevieria trifasciata*. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2016; 64(9):1347-55.2` Doi: 10.1248/cpb.c16-00337.
- Theoret, C., 2009. *Tissue Engineering in Wound Repair. The three "R"s Repair, Replace, Regenerate. Surgery*. 38:905-913
- Torre, Lindsey A., Bray, F., Siegel, Rebecca L., Ferlay J., Tieuvent, J., Jemal, A. 2015. Global Cancer Statistics, 2012. *CA CANCER J CLIN* 2015; 65:87-108
- Ulupui, I.G.K.A. 2007. Analisis Pengaruh Rasio Likuiditas, Leverage, Aktivitas, dan Profitabilitas Terhadap Return Saham (Studi pada Perusahaan Makanan dan Minuman dengan Kategori Industri Barang Konsumsi di BEJ). *Jurnal Ilmiah Akuntansi dan Bisnis*. Vol 1 (2): 1-20.
- Ulya, Zakia A., Rusman. 2012. Cegah Diabetes Dengan Rempeyek Lidah Mertua. *Jurnal Pendidikan Dompot Dhuafa, Vol. 2, No. 1, Mei 2012*

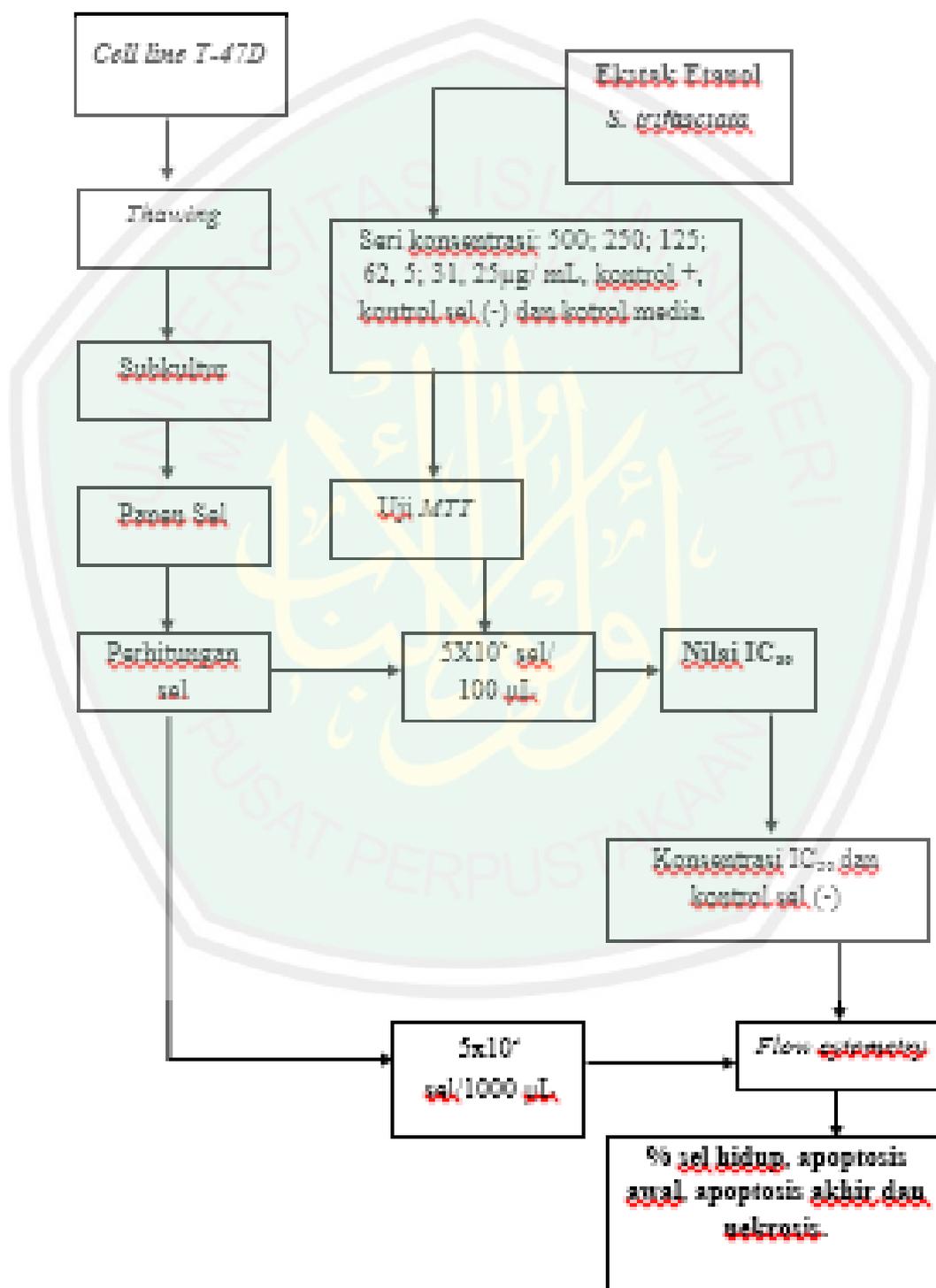
- Van de Graff, Kent M. Stuart Ira Fox. 1995. *Concept of Human Anatomy Physiology*. United State: Wm.C. Brown Publishers
- Wikipedia, 2014. Flavonoid. <https://en.wikipedia.org/wiki/Flavonoid>. Diakses pada tanggal 30 juli 2017 pukul 11.20 wib
- Wikipedia, 2014. Saponin. <https://en.wikipedia.org/wiki/Saponin>. Diakses pada tanggal 30 juli 2017 pukul 17.30 wib
- Wikipedia, 2014. Alkaloid. <https://en.wikipedia.org/wiki/Alkaloid>. Diakses pada tanggal 30 juli 2017 pukul 18.00 wib
- Wyllie A.H., Kerr J.F.R., Currie A.R. Cell deaththe significance of apoptosis. *Int. Rev. Cytol.* 1980; 68:251–306.
- Yager JD dan Davidson NE. 2006. *Mechanism of Disease, Estrogen Carcinogenesis in Breast Cancer. New England Journal of Medicine.* 354: 270-82.
- Youlden, D.R. 2014. *Incidence and Mortality of Female Breast Cancer in the Asia-Pacific Region. Cancer biology & medicine*, 11, pp.101–15.
- Zampieri, L., Bianchi, P., Ruff, P., & Arbuthnot, P. 2002. *Differential Modulation by Estradiol of Pglycoprotein Drug Resistance Protein Expression in Cultured MCF7 and T47D Breast Cancer Cells. Anticancer Research*, 22:2253-2259.
- Zein, U. 2005. *Pemanfaatan Tumbuhan Obat dalam Upaya Pemeliharaan Kesehatan*. Sumatra Utara: Fakultas Kedokteran.

Zhai. S., Dai, R., Friedman, F., and Vestal, R. 1998. Comparative Inhibition of Human cytochromes P450 1A1 and 1A2 By Flavonoids. *Drug Metabolism and Disposition*, 26, 989 – 992



## LAMPIRAN

## Lampiran 1. Rancangan Penelitian



**Lampiran 2. Hasil Pembacaan Elisa Reader Uji MTT**

a. Ekstrak etanol daun lidah mertua + sel T-47D

		7	8	9
1000ug/mL	A	0.371	0.351	0.392
500ug/mL	B	0.384	0.401	0.429
250ug/mL	C	0.658	0.630	0.594
125ug/mL	D	0.888	0.810	0.775
60, 5ug/mL	E	0.814	0.847	0.791
31, 25ug/mL	F	0.914	0.807	0.998

b. Doxorubicin + sel T-47D

G	0.428	0.423	0.425
H	0.481	0.478	0.467

I	0.547	0.512	0.584
H	0.433	0.488	0.555

G	0.497	0.518	0.632
H	0.438	0.438	0.435

c. kontrol sel T-47D dan kontrol media RPMI 10%

G	0.988	0.924	0.863
H	0.881	0.883	0.888

**Lampiran 3. Hasil Analisis SPSS Uji MTT**

```
PROBIT Hambatan OF Max WITH Konsentrasi
/LOG 10
/MODEL PROBIT
/PRINT FREQ CI

/CRITERIA P(0.15) ITERATE(20) STEPLIMIT(.1).
```

**Probit Analysis**

[DataSet0]

**Warnings**

Relative Median Potency Estimates are not displayed because there is no grouping variable in the model.



**Data Information**

		N of Cases
Valid		5
Rejected	Missing	0
	LOG Transform Cannot be Done	0
	Number of Responses > Number of Subjects	0
Control Group		0

**Convergence Information**

	Number of Iterations	Optimal Solution Found
PROBIT	15	Yes

## Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
PROBIT* Konsentrasi	-1.810	.184	-9.856	.000	-2.169	-1.450
Intercept	4.642	.422	10.996	.000	4.220	5.064

a. PROBIT model:  $PROBIT(p) = \text{Intercept} + BX$  (Covariates X are transformed using the base 10.000 logarithm.)

## Chi-Square Tests

		Chi-Square	df <sup>a</sup>	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	4.500	3	.212 <sup>b</sup>

a. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

b. Since the significance level is greater than .150, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

## Cell Counts and Residuals

	Number	Konsentrasi	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	1	2.699	100	38	40.444	-2.194	.404
T	2	2.398	100	63	61.899	1.121	.619
	3	2.097	100	85	80.166	4.964	.802
	4	1.796	100	87	91.808	-4.328	.918
	5	1.495	100	98	97.363	.727	.974

Confidence Limits

	Probability	95% Confidence Limits for $Konsentrasi$			95% Confidence Limits for $\log(Konsentrasi)^2$		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	0.01	7094.961	3802.862	17864.948	3.851	3.680	4.252
	0.02	5015.076	2841.758	11609.468	3.700	3.484	4.069
	0.03	4024.353	2361.650	8833.830	3.605	3.373	3.946
	0.04	3410.311	2054.445	7193.566	3.533	3.313	3.857
	0.05	2980.624	1834.087	6087.360	3.474	3.263	3.784
	0.06	2657.820	1665.110	5281.317	3.425	3.221	3.723
	0.07	2403.682	1529.700	4663.230	3.381	3.185	3.669
	0.08	2196.822	1417.738	4171.709	3.342	3.152	3.620
	0.09	2024.190	1322.970	3770.037	3.306	3.122	3.576
	0.1	1877.298	1241.279	3434.752	3.274	3.094	3.536
	0.15	1374.270	952.763	2337.229	3.136	2.979	3.369
	0.2	1072.536	771.362	1722.824	3.030	2.887	3.236
	0.25	867.059	642.907	1327.460	2.938	2.808	3.123
	0.3	716.315	545.327	1051.450	2.855	2.737	3.022
	0.35	600.127	467.626	848.194	2.778	2.670	2.928
	0.4	507.353	403.991	692.755	2.705	2.606	2.841
0.45	431.267	349.384	570.531	2.635	2.543	2.756	
0.5	367.537	302.470	472.378	2.566	2.481	2.674	
0.55	313.229	261.061	392.272	2.496	2.417	2.594	
0.6	266.252	223.929	326.072	2.425	2.350	2.513	
0.65	225.052	190.058	270.810	2.352	2.279	2.433	
0.7	188.581	158.779	224.237	2.275	2.201	2.351	
0.75	155.795	129.650	184.504	2.193	2.113	2.265	

0.8	125.948	102.445	149.953	2.100	2.010	2.176
0.85	98.295	77.050	118.984	1.993	1.887	2.075
0.9	71.956	53.270	89.887	1.857	1.726	1.954
0.91	66.735	48.668	84.102	1.824	1.687	1.925
0.92	61.490	44.100	78.270	1.789	1.644	1.894
0.93	56.199	39.554	72.353	1.750	1.597	1.859
0.94	50.825	35.013	66.302	1.706	1.544	1.822
0.95	45.321	30.453	60.044	1.656	1.484	1.778
0.96	39.610	25.833	53.472	1.598	1.412	1.728
0.97	33.567	21.090	46.400	1.526	1.324	1.667
0.98	26.936	16.090	38.458	1.430	1.207	1.585
0.99	19.040	10.488	28.650	1.280	1.021	1.457

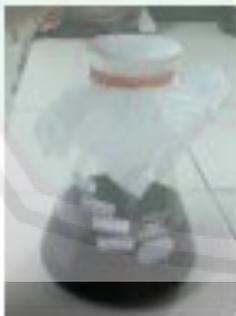
a. Logarithm base = 10.

**Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian**

**a. Proses Pembuatan Simplisia Daun Lidah Mertua**

	
<p>Koleksi daun lidah mertua.</p>	<p>Proses pengeringan daun lidah mertua</p>
	
<p>Hasil pengeringan daun lidah mertua</p>	<p>Penimbangan hasil pengeringan daun lidah mertua</p>
	
<p>Proses penumbukan daun lidah mertua</p>	<p>Proses pengayakan daun lidah mertua yang telah ditumbuk</p>
	
<p>Serbuk halus daun lidah mertua (Simplisia)</p>	

## b. Proses Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Lidah Mertua

	
Simplisia daun lidah mertua	Proses penimbangan. Simplisia daun lidah mertua sebanyak 100gr
	
Pemindahan simplisia ke wadah ekstraksi (erlemeyer 1000mL)	Proses ekstraksi maserasi simplisia daun lidah mertua dengan etanol 70% 1x24 jam.
	
Proses remaserasi dilakukan setiap 1x24 jam sebanyak 3x	Proses penyaringan (pemisahan) ampas dengan maserat (hasil maserasi)

	
<p>Proses pemekatan maserat menggunakan <i>Rotary Vacuum Evaporator</i></p>	<p>Diperoleh ekstrak etanol daun lidah mertua</p>

c. Uji MTT

	
<p>Proses penanaman sel T-47D pada 96-wellplate</p>	<p>Proses pembuatan seri konsentrasi ekstrak etanol daun lidah mertua</p>
	
<p>Proses pemberian perlakuan ekstrak etanol daun lidah mertua pada sel T-47D</p>	

## Lampiran 5. Bukti Konsultasi Pembimbing Biologi



KEMENTERIAN AGAMA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI  
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341) 558933  
Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email: [biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

### KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Desy Sari Utami  
NIM : 13620063  
Program Studi : S1 Biologi  
Semester : Ganjil TA. 2017/2018  
Pembimbing : Kholifah Holil, M.Si  
Judul Skripsi : Uji Potensi Antikanker Payudara Ekstrak Etanol Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain) menggunakan Sel T-47D secara *in Vitro*

NO	TANGGAL	URAIAN KONSULTASI	TTD PEMBIMBING
1.	07-09-2015	Konsultasi konsep penelitian	1. ✓
2.	27-01-2016	Acc judul penelitian	2. ✓
3.	30-01-2016	Konsultasi BAB I	3. ✓
4.	07-02-2016	Konsultasi BAB I dan BAB III	4. ✓
5.	20-02-2016	Revisi BAB I dan BAB III	5. ✓
6.	01-03-2016	Konsultasi BAB II	6. ✓
7.	08-05-2016	Revisi BAB II	7. ✓
8.	17-07-2016	Revisi BAB I, BAB II, dan BAB III	8. ✓
9.	21-11-2016	Acc BAB I, BAB II, dan BAB III	9. ✓
10.	10-03-2017	Konsultasi Analisis Data	10. ✓
11.	15-05-2017	Revisi Analisis Data	11. ✓
12.	09-08-2017	Konsultasi BAB IV	12. ✓
13.	13-10-2017	Revisi BAB IV	13. ✓
14.	17-11-2017	Revisi BAB IV	14. ✓
15.	20-12-2017	Revisi BAB IV	15. ✓
16.	02-01-2018	Revisi BAB IV dan BAB V	16. ✓
17.	05-01-2018	Konsultasi abstrak	17. ✓
18.	16-01-2018	ACC Skripsi	18. ✓

Pembimbing Skripsi,

**Kholifah Holil, M.Si**  
NIP. 19751106 200912 2 002

Malang, 16 Januari 2018  
Ketua Jurusan

**Romaidi, M.Si., D.Sc**  
NIP. 19810201 200901 1 019

## Lampiran 6. Bukti Konsultasi Pembimbing Agama



KEMENTERIAN AGAMA  
 UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG  
 FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
 JURUSAN BIOLOGI  
 Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp./ Faks. (0341)  
 558933 Website: <http://biologi.uin-malang.ac.id> Email:  
[biologi@uin-malang.ac.id](mailto:biologi@uin-malang.ac.id)

### KARTU KONSULTASI AGAMA

Nama : Desy Sari Utami  
 NIM : 13620063  
 Program Studi : S1 Biologi  
 Semester : Ganjil 2017/2018  
 Pembimbing : Umaiatus Syarifah, M.A  
 Judul Skripsi : Uji Potensi Antikanker Payudara Ekstrak Etanol Lidah Mertua  
 (*Sansevieria trifasciata* Prain) menggunakan Sel T-47D secara *in Vitro*

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1	10-10-2016	Konsultasi integrasi BAB I dan II	1
2	15-10-2016	Revisi Integrasi BAB I dan II	2
3	03-11-2017	Konsultasi Integrasi BAB IV	3
4	12-11-2017	Revisi Integrasi BAB IV	4
5	16-01-2018	ACC Skripsi	5

Malang, 16 Januari 2018

Pembimbing Skripsi,

Umaiatus Syarifah, MA  
 NIP. 19820925 200901 2 005

Ketua Jurusan Biologi,

Romardi, D. Sc  
 NIP. 19810201 200901 1 019