

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER FRAKSI ETIL
ASETAT DAUN ASAM KANDIS TERHADAP SEL
KANKER PAYUDARA T47D DENGAN METODE
MICROTETRAZOLIUM**

SKRIPSI



Oleh :

GHINA ATHAYA LILLAH
2020112061

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2024**

ABSTRAK

Kanker payudara merupakan salah satu masalah kesehatan yang ada di dunia. Penyakit ini sering diderita oleh perempuan dan laki-laki (tetapi kemungkinan sangat kecil). Secara umum kanker payudara dapat diobati dengan operasi, kemoterapi, radioterapi dan pengobatan lainnya, namun pengobatan secara alternatif dari bahan alam juga dapat dilakukan untuk penanganan kanker. Daun asam kandis diketahui memiliki fungsi sebagai efek farmakologi dan dapat digunakan sebagai antikanker, oleh karena itu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antikanker fraksi etil asetat daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap sel kanker payudara T47D dengan menggunakan metode Microtetrazolium secara in vitro. Uji antikanker didapatkan berupa data absorban sel hidup dengan menggunakan Spektrofotometer *Microplate Reader* untuk menghitung presentase sel T47D yang hidup sehingga didapatkan IC₅₀. Pada konsentrasi 100, 10, 1, dan 0,1 µg/ml didapatkan rata-rata % viabilitas sebesar 111,970 %, 80,287 %, 91,663 %, dan 83,930 %. Hasil penelitian didapatkan bahwa fraksi etil asetat daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) didapatkan bahwa berpotensi sebagai antikanker terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai IC₅₀ 31,38 µg/ml, kategori moderat aktif dan variasi konsentrasi fraksi etil asetat daun asam kandis memiliki pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan sel kanker payudara T47D dengan ($P < 0,05$).

kata kunci: Sitotoksik, Fraksi Etil Asetat, Daun Asam Kandis, Sel T47D, Microtetrazolium

ABSTRACT

Breast cancer is a health problem that exists in the world. This disease often affects women and men (but the chances are very small). In general, breast cancer can be treated with surgery, chemotherapy, radiotherapy and other treatments, but alternative treatments from natural ingredients can also be used to treat cancer. Kandis acid leaves are known to have a pharmacological effect and can be used as an anticancer, there fore research was carried out aimed at determining the anticancer activity of the ethyl acetate fraction of kandis acid leaves (*Garcinia cowa* Roxb.) against T47D breast cancer cells using the Microtetrazolium method in vitro. The anticancer test was obtained in the form of live cell absorbance data using a microplate reader spectrophotometer to calculate the percentage of live T47D cells to obtain IC₅₀. At concentrations of 100, 10, 1, and 0.1 µg/ml, the average % viability was 111.970 %, 80.287 %, 91.663 %, and 83.930 %. The results of the research showed that the ethyl acetate fraction of kandis acid leaves (*Garcinia cowa* Roxb.) was found to have potential as an anticancer agent against T47D breast cancer cells with an IC₅₀ value of 31.38 µg/ml, moderately active category and variations in the concentration of the ethyl acetate fraction of kandis acid leaves had a significant effect. significant effect on the growth of T47D breast cancer cells with (P < 0.05).

keywords: Cytotoxic, Ethyl Acetate Fraction, *Garcinia cowa* Roxb, T47D Cells, Microtetrazolium

DAFTAR ISI

UJI AKTIVITAS ANTIKANKER FRAKSI ETIL ASETAT DAUN ASAM KANDIS TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D DENGAN METODE MICROTETRAZOLIUM	
KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tinjauan Biologi Tumbuhan Asam Kandis	6
2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Asam Kandis	6
2.1.2 Morfologi Tumbuhan Asam Kandis	6
2.1.3 Khasiat dan Kegunaan Tumbuhan Asam Kandis	7
2.1.4 Tinjauan Kimia Tumbuhan Asam Kandis	7
2.1.5 Tinjauan Farmakologi Tumbuhan Asam Kandis	8
2.1.6 Tinjauan Farmasetik Tumbuhan Asam Kandis.....	8
2.2 Ekstraksi	9
2.2.1 Definisi Ekstraksi.....	9
2.2.2 Metode Ekstraksi.....	9
2.3 Fraksinasi	11
2.4 Kanker Payudara	12
2.4.1 Definisi Kanker Payudara	12
2.4.2 Jenis-Jenis Kanker Payudara.....	13
2.4.3 Fase Perkembangan Sel	15
2.4.4 Patofisiologi Kanker Payudara.....	18
2.4.5 Tanda Dan Gejala Kanker Payudara.....	20
2.4.6 Penyebab Terjadinya Kanker Payudara	22
2.4.7 Pengobatan Kanker Payudara	23
2.5 Doksorubisin	26
2.6 Lini Sel Kanker Payudara.....	27

2.6.1	Sel T47D	27
2.6.2	Sel MCF-7	28
2.7	Metode Pengujian Sitotostik	29
2.7.1	Metode MTT	29
2.7.2	Metode BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>).....	30
2.7.3	Metode CGPD (<i>Crown-Gall Potato</i>).....	31
BAB III. METODE PENELITIAN		32
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian	32
3.2	Alat dan Bahan	32
3.2.1	Alat.....	32
3.2.2	Bahan	32
3.3	Prosedur Penelitian.....	33
3.3.1	Pengambilan Sampel.....	33
3.3.2	Identifikasi Tumbuhan Asam Kandis (<i>Garcinia cowa Roxb.</i>)	33
3.3.3	Ekstraksi dengan Metode Maserasi.....	33
3.3.4	Fraksinisasi	34
3.3.5	Karakterisasi Fraksi Etil Asetat.....	34
3.3.6	Skrining Fitokimia Fraksi	36
3.4	Uji Aktivitas Antikanker dengan Metode MTT	37
3.4.1	Penumbuhan Sel.....	37
3.4.2	Perhitungan Jumlah Sel.....	38
3.4.3	Peletakan Sel pada <i>Plate 96-well</i>	39
3.4.4	Pembuatan dan Peletakan Larutan Uji	39
3.4.5	Penambahan Larutan MTT	40
3.5	Analisis Data	41
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN		42
4.1	Hasil	42
4.2	Pembahasan	44
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....		53
5.1	Kesimpulan.....	53
5.2	Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA		54
LAMPIRAN.....		60

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Teori Stokastik	19
Gambar 2. Teori Sel Induk Kanker	19
Gambar 3. Anatomi Fisiologi Payudara.....	20
Gambar 4. Struktur Kimia Doksorubisin	26
Gambar 5. Perubahan MTT Menjadi Formazan	29
Gambar 6. <i>Haemocytometer</i>	37
Gambar 7. Grafik Analisa Statistik <i>Graphpad Prism</i> terhadap Fraksi Etil Asetat Daun Asam Kandis dan Doksorubisin	51
Gambar 8. Identifikasi Daun Asam Kandis (<i>Garcinia cowa</i> Roxb.) dari Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas	60
Gambar 9. Skema Kerja Fraksi Etil Asetat Daun Asam Kandis (<i>Garcinia cowa</i> Roxb.).....	61
Gambar 10. Skema Kerja Panenan Sel Kanker T47D	62
Gambar 11. Skema Pengujian Anktivitas Antikanker Fraksi Etil Asetat Daun Asam Kandis Sel Kanker T47D	63
Gambar 12. Skema Pengujian Anktivitas Antikanker Doksorubisin Terhadap Sel Kanker T47D	64
Gambar 13. Panjang Ukuran Daun Asam Kandis.....	79
Gambar 14. Tumbuhan Asam Kandis.....	79
Gambar 15. <i>Plate 96-well</i> Sebelum Diinkubasi Menggunakan MTT.....	79
Gambar 16. <i>Plate 96-well</i> Setelah Diinkubasi Menggunakan MTT.....	79
Gambar 17. Sel Kanker Payudara T47D Doksorubisin 0,1 ppm	80
Gambar 18. Sel Kanker Payudara T47D Doksorubisin 1 ppm	80
Gambar 19. Sel Kanker Payudara T47D Doksorubisin 10 ppm	80
Gambar 20. Sel Kanker Payudara T47D Doksorubisin 100 ppm	80
Gambar 21. Sel Kanker Payudara T47D Fraksi Etil Asetat 0,1 ppm.....	81
Gambar 22. Sel Kanker Payudara T47D Fraksi Etil Asetat 1 ppm.....	81
Gambar 23. Sel Kanker Payudara T47D Fraksi Etil Asetat 10 ppm.....	81
Gambar 24. Sel Kanker Payudara T47D Fraksi Etil Asetat 100 ppm.....	81

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Asam Kandis (<i>Garcinia cowa</i> Roxb.)	65
Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Rendemen Fraksi Etil Asetat Daun Asam Kandis (<i>Garcinia cowa</i> Roxb.)	65
Tabel 3. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Fraksi Etil Asetat Daun Asam Kandis (<i>Garcinia cowa</i> Roxb.)	66
Tabel 4. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Fraksi Etil Asetat Daun Asam Kandis (<i>Garcinia cowa</i> Roxb.)	66
Tabel 5. Hasil Kadar Abu Fraksi Etil Asetat Daun Asam Kandis (<i>Garcinia cowa</i> Roxb.).....	67
Tabel 6. Uji Kelarutan Fraksi Etil Asetat Daun Asam Kandis (<i>Garcinia cowa</i> Roxb.).....	67
Tabel 7. Data Hasil Uji Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Asam Kandis (<i>Garcinia cowa</i> Roxb.)	68
Tabel 8. Data Hasil Pengukuran Absorban dan % Viabilitas Fraksi Etil Asetat Daun Asam Kandis (<i>Garcinia cowa</i> Roxb.) dengan Metode MTT	71
Tabel 9. Data Hasil Pengukuran Absorban dan % Viabilitas Doksorubisin Dengan Metode MTT.....	72
Tabel 10. Hasil Uji Viabilitas	76

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Identifikasi Daun Asam Kandis (<i>Garcinia cowa</i> Roxb.).....	60
Lampiran 2. Skema Kerja Penelitian	61
Lampiran 3. Hasil Data Pemeriksaan Fraksi Etil Asetat Daun Asam Kandis (<i>Garcinia cowa</i> Roxb.)	65
Lampiran 4. Perhitungan Data dan Hasil Uji Aktivitas Antikanker Fraksi Etil Asetat Daun Asam Kandis (<i>Garcinia cowa</i> Roxb.) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D dengan Metode MTT	70
Lampiran 5. Hasil Data Penelitian Menggunakan <i>Graphpad Prism</i>	74
Lampiran 6. Hasil Pengolahan Statistik Anova Satu Arah	76
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian.....	79

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan penyakit yang berhubungan dengan abnormalitas dan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol (*American Cancer Society, 2022.*) Kanker merupakan masalah kesehatan dari banyak negara di dunia dan termasuk penyakit yang menjadi perhatian serius pada bidang kedokteran. Hal ini disebabkan oleh jumlah pasien yang terus meningkat dari tahun ketahun dan belum ditemukan cara yang efektif untuk pengobatannya (Ihami, 2013).

Kanker payudara merupakan kanker yang paling sering ditemukan pada wanita, tidak hanya dialami oleh wanita tetapi juga oleh pria dengan prevalensi 1 % (Jhofi, 2021). Kanker payudara (*Carcinoma mammae*) adalah tumor ganas yang tumbuh pada jaringan payudara, yang dapat menyebar ke organ tubuh lain. Kanker payudara merupakan penyakit dengan prognosis yang buruk, karena selalu ditemukan pada stadium yang sudah lanjut. Teknik untuk diagnosis kanker payudara meliputi *triple diagnostic* yaitu: klinis, *imaging*, dan sitologi. Dengan mengetahui faktor risiko, maka bisa kita waspadai untuk memeriksakan diri dan dapat didiagnosis pada stadium sedini mungkin (Ketut, 2022).

Salah satu jenis kanker yang berbahaya adalah kanker payudara yang mana banyak menyebabkan kematian. Data *Global Burden of Cancer Study* (Globocan) tahun 2020, menunjukkan jumlah kasus kanker payudara mencapai 68.858 kasus (16,6%) dari total 396.914 kasus baru kanker di Indonesia. Sementara itu, jumlah kematian yang disebabkan kanker payudara mencapai lebih dari 22 ribu jiwa kasus (Kemenkes, 2022). Penelitian Ihami 2012 menyatakan bahwa pengobatan antikanker yang telah digunakan umumnya bersifat tidak selektif, karena selain

memiliki khasiat sebagai antikanker obat tersebut juga bersifat merusak sel-sel yang normal. Karenanya, usaha penelitian terus dilakukan untuk menemukan obat kanker yang ideal. Salah satu sumber obat-obatan kemoterapi yang potensial yaitu tumbuh-tumbuhan. Sehingga sampai saat ini pencarian obat-obatan yang potensial dari tumbuh-tumbuhan terus dilakukan.

Salah satu jenis tumbuhan yang telah diidentifikasi adalah *Garcinia cowa* Roxb., atau yang lebih dikenal dengan nama asam kandis, merupakan jenis tumbuhan dengan pohon berukuran sedang dan buahnya dapat dimakan telah digunakan masyarakat sebagai obat disentri, antipiretik, dan anti-inflamasi. Beberapa penelitian juga menyatakan bahwa asam kandis telah berhasil diisolasi dengan senyawa santon yang dikenal dengan potensi efek sitotoksiknya. Beberapa yang telah diuji dari tanaman asam kandis adalah ekstrak etanol kulit buah asam kandis memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker serviks HeLa dengan nilai IC_{50} $16,194 \pm 3,5019 \mu\text{g}/\text{mL}$ (Wahyuni, 2017).

Pada penelitian sitotoksik sel kanker payudara T47D menggunakan ekstrak n-heksan memiliki aktivitas sitotoksik dengan IC_{50} $19,43 \pm 4,803 \mu\text{g}/\text{ml}$ dan antioksidan kuat sebesar $89,625 \pm 2,258 \mu\text{g}/\text{ml}$. Ekstrak etil asetat daun asam kandis yang didapatkan aktivitas sitotoksik moderat dengan IC_{50} $28,39 \pm 9,887 \mu\text{g}/\text{ml}$ dan aktivitas antioksidan kuat IC_{50} $31,018 \pm 0,127 \mu\text{g}/\text{ml}$. Ekstrak etanol juga memiliki aktivitas sitotoksik lemah dengan IC_{50} $25,63 \pm 4,729 \mu\text{g}/\text{ml}$ dan antioksidan sangat kuat dengan IC_{50} $26,892 \pm 0,124 \mu\text{g}/\text{ml}$ (Jhofi, 2021).

Meskipun telah dilakukan penelitian ini, namun masih diperlukan penelitian tambahan untuk melengkapi penelitian sebelumnya. Maka dilakukanlah uji lanjutan menggunakan fraksinasi. Fraksinasi merupakan pemisahan atau

pengelompokkan kandungan kimia ekstrak berdasarkan tingkat kepolaran dan homogenitas sifat zat lebih mudah dimurnikan atau diisolasi menjadi senyawa tunggal atau zat murni, dimana pelarut tidak akan tercampur dan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda.

Pemeriksaan aktivitas antikanker dapat menggunakan metode uji MTT (Microtetrazolium) dengan reagen 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid dimana uji MTT merupakan suatu metode uji sitotoksik secara kolorimetri untuk menentukan jumlah sel yang hidup berdasarkan perubahan larutan MTT yang aktif pada sel hidup. Metode MTT didasarkan terjadinya pembentukan garam formazan tidak larut berwarna ungu dari reaksi reduksi tetrazolium yang sifat awalnya larut dalam air dengan menghasilkan larutan berwarna kuning. Intensitas warna ungu yang terbentuk berbanding lurus dengan jumlah sel yang aktif melakukan metabolisme. Semakin tajam warna yang dibentuk, maka akan semakin tinggi nilai absorban, dan semakin banyak sel yang hidup (Doyle and Griffiths, 2000).

Keuntungan menggunakan MTT test ini adalah cepat, sensitif, akurat, dan banyak sampel yang bisa diuji. Metode MTT memberikan hasil pengujian yang akurat karena dapat memberikan hubungan antara jumlah sel yang aktif dengan absorban yang diperoleh dari pengukuran yang digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} . IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) merupakan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50 %. Pada data yang sudah pernah diteliti sebelumnya nilai IC_{50} dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai senyawa sitotoksik. Kelemahan pada metode MTT ini jika senyawa yang diteliti

berwarna, dapat menyebabkan adanya absorbansi yang diberikan oleh sampel, sehingga harus menggunakan kontrol sampel pada pembacaan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah pada penelitian ini sebagai berikut :

1. Bagaimana aktivitas antikanker fraksi etil asetat daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap sel kanker payudara T47D ?
2. Bagaimana pengaruh varian konsentrasi fraksi etil asetat daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap aktivitas antikanker sel kanker T47D ?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

2. Untuk mengetahui aktivitas antikanker fraksi etil asetat daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.).
2. Untuk mengetahui pengaruh varian konsentrasi fraksi etil asetat daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap aktivitas antikanker sel kanker T47D.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan pengetahuan tentang uji aktivitas antikanker fraksi etil asetat daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap sel T47D.
2. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai pengaruh aktivitas antikanker fraksi etil asetat daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap sel T47D.
3. Bagi peneliti, diharapkan dapat menambah pemahaman, pengetahuan, serta wawasan dalam pengujian sitotoksik etil asetat daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) terhadap sel T47D.

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Aktivitas fraksi etil asetat daun asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb.) memiliki potensi sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D sebesar 31,38 µg/ml dengan kategori moderat aktif.
2. Variasi konsentrasi pada fraksi etil asetat daun asam kandis memiliki pengaruh yang signifikan terhadap penghambatan sel kanker payudara T47D dengan nilai $P < 0,05$

5.2 Saran

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk melakukan:

1. Mengamati potensi sitotoksik fraksi etil asetat daun asam kandis terhadap kultur sel dengan menggunakan sel kanker lainnya seperti sel MCF-7.
2. Mengamati potensi sitotoksik fraksi etil asetat daun asam kandis terhadap kultur sel dengan menggunakan metode lainnya.

