



LAPORAN AKHIR PKMP

AKTIVITAS ANTIKANKER METABOLIT SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) TERHADAP SEL KANKER SERVIKS

Disusun Oleh :

Dhian Anugerah Purnama Suci	G84090073	2009
Yayuk Kartika	G84090052	2009
Nova Mardia Ningsih Kaswati	G84090034	2009
Aneisti Septiani	G84100087	2010
Hana Filya	G84100100	2010

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2013**

HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul Kegiatan : Aktivitas Antikanker Metabolit Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Terhadap Sel Kanker Serviks.
2. Bidang Kegiatan : (✓) PKM-P () PKM-M () PKM-KC () PKM-K () PKM-T
3. Ketua Pelaksana Kegiatan
 - a. Nama Lengkap : Dhian Anugerah Purnama Suci
 - b. NIM : G84090073
 - c. Jurusan : Biokimia
 - d. Universitas/Institut/Politeknik : Institut Pertanian Bogor
 - e. Alamat Rumah dan No Tel./HP : Kp. Pitara Rt.03/13 No. 45 Depok/085711215071
 - f. Alamat email : dhian.g84090073@gmail.com
4. Anggota Pelaksana Kegiatan/Penulis : 5 orang
5. Dosen Pendamping
 - a. Nama Lengkap dan Gelar : Dr. Mega Safithri, S.Si, M.Si.
 - b. NIDN : 0015097702
 - c. Alamat Rumah dan No Tel./HP : -
6. Biaya Kegiatan Total : Rp 12.000.000,00
 - a. Dikti : -
 - b. Sumber lain : -
7. Jangka Waktu Pelaksanaan : 4 bulan

Menyetujui,
Ketua Departemen



Dr. Ir. I Made Artika, M.App.Sc
NIP. 196301171 198903 1 000



Wakil Rektor
Bidang Akademik dan Kemahasiswaan

Prof. Dr.Ir. Yonny Koesmaryono, MS
NIP. 19581228 198503 1 000

Bogor, 26 Juni 2013

Ketua Pelaksana Kegiatan



Dhian Anugerah Purnama Suci
NIM. G84090073

Dosen Pendamping



Dr. Mega Safithri S.Si, M.Si
NIDN. 0015097702

ABSTRAK

DHIAN ANUGERAH PURNAMA SUCI, YAYUK KARTIKA, NOFA MARDIA NINGSIH KASWATI, HANA FILYA, ANEISTI SEPTIANI. Aktivitas antikanker Metabolit Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Terhadap Sel Kanker Serviks. Dibimbing oleh MEGA SAFITHRI.

Kanker serviks merupakan kanker penyebab kematian kedua terbesar pada wanita di Indonesia setelah kanker payudara. Salah satu upaya pengobatan kanker dapat dilakukan dengan memanfaatkan senyawa dari bahan alam. Beberapa tanaman mempunyai potensi sebagai antikanker. Salah satunya adalah daun sirih merah, yang berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak methanol daun sirih merah memiliki nilai IC₅₀ 44.25 µg/mL pada sel kanker payudara (T47D). mengidentifikasi senyawa flavonoid dan mengetahui aktivitas antikanker ekstrak air dan etanol 30% terhadap sel kanker serviks secara *in vitro* dengan uji *microculture tetrazolium technique* (MTT). Rendemen tertinggi diperoleh dari ekstrak etanol 30% sebesar 6.30%. Pengujian identifikasi senyawa flavonoid dengan LC-MS menunjukkan pada ekstrak air terdapat lebih banyak senyawa yang diduga sebagai flavonoid. Ekstrak etanol 30% daun sirih merah memiliki aktivitas sitotoksik paling tinggi terhadap sel HeLa dengan nilai IC₅₀ sebesar 266.01 µg/mL daripada ekstrak air, dengan IC₅₀ berturut-turut sebesar 408.13 µg/mL. Kata kunci: kanker serviks, sel HeLa, sitotoksitas

PENDAHULUAN

Latar Belakang Masalah

Penyakit kanker merupakan penyakit yang menjadi salah satu ancaman utama terhadap kesehatan karena merupakan penyebab kematian kedua setelah penyakit jantung. Kejadian kanker serviks di Indonesia, dilaporkan sebesar 20-24 kasus kanker serviks baru setiap harinya. Berbagai kendala dan efek samping yang ditimbulkan dari berbagai cara pengobatan kanker memicu perlunya suatu terobosan cara pengobatan kanker dengan efektifitas tinggi dan efek samping yang minimal. Salah satu upaya untuk mengatasi penyakit kanker ini adalah mengembangkan pembuatan obat herbal dari tumbuh-tumbuhan yang memiliki kandungan-kandungan senyawa antikanker. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antikanker adalah sirih merah (*Piper crocatum*).

Berbagai penelitian mengenai khasiat sirih merah telah banyak dilakukan, diantaranya penelitian yang dilakukan oleh safithri (2012) formula ekstrak daun sirih merah dan kulit kayu manis dengan perbandingan (5:3) memiliki aktivitas antihiperlipidemia yang dikur secara *in vitro*. Penelitian Alfarabi (2010) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah memiliki aktivitas antioksidan dengan menghambat oksidasi asam lemak dengan daya hambat 80.40%. Ekstrak etanol daun sirih merah juga memiliki aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase. Penelitian Wicaksono (2009) ekstrak methanol daun sirih merah dapat menghambat proliferasi sel kanker payudara (T47D).

Perumusan Masalah

Penyakit kanker merupakan penyakit mematikan yang prevalensinya terus meningkat yang memerlukan pengobatan secara efektif tanpa menimbulkan efek samping pengobatan. Kandungan metabolit sirih merah diduga memiliki berbagai khasiat sebagai salah satu obat herbal, salah satunya adalah sebagai antikanker. Maka untuk pengembangan obat tradisional dan dugaan potensi senyawa flavonoid sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai antikanker serviks perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Tujuan Program

Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi senyawa flavonoid dan mengetahui aktivitas antikanker ekstrak air dan etanol 30% terhadap sel kanker serviks secara *in vitro*.

Luaran yang diharapkan

Hasil penelitian ini diharapkan bisa dijadikan sebagai jurnal ilmiah tentang aktivitas antikanker sirih merah terhadap sel kanker serviks.

Kegunaan Program

Penelitian ini diharapkan bisa dijadikan sebagai informasi penting terhadap khasiat ekstrak air dan etanol 30% sirih merah sebagai antikanker serta dapat dikembangkan dan diaplikasikan untuk dijadikan sebagai obat herbal antikanker.

TINJAUAN PUSTAKA

Sirih Merah

Sirih merah (*Piper crocatum*) merupakan salah satu tanaman obat yang banyak tumbuh di Indonesia. Tanaman yang dikenal sebagai tanaman hias yang eksotis ini, memiliki manfaat untuk mengobati berbagai macam penyakit. Klasifikasi lengkap dari tanaman ini adalah sebagai berikut; Divisi Spermatophyta, Subdivisi Angiospermae, Kelas Monochlamydeae, Bangsa Piperales, Suku Piperaceae, Genus *Piper*, dan Jenis *piper crocatum*

Sirih merah dapat digunakan untuk mengobati diabetes, hipertensi, kanker payudara, peradangan, hepatitis, ambeien, asam urat, maag, luka dan lain-lain. Pemanfaatan sirih merah dilakukan dengan cara mengkonsumsi daunnya atau di ekstrak terlebih dahulu untuk mengambil bahan aktifnya (Sudewo 2005). Menurut Safithri dan Fahma (2005), daun sirih merah mengandung senyawa bioaktif flavonoid, alkaloid dan tannin dalam ekstrak airnya. (masukin data-data penelitian sebelumnya)

Kanker Serviks

Kanker adalah pertumbuhan sel-sel baru secara abnormal yang tumbuh melampaui batas normal, dan dapat menyerang bagian sebelah tubuh dan menyebar ke organ lain. Proses ini disebut metastasis. Metastasis merupakan penyebab utama kematian akibat kanker (WHO 2010). Sel Kanker memiliki berbagai macam jenis dengan berbagai akibat dan salah satu jenis kanker adalah kanker serviks.

Kanker serviks atau kanker leher rahim adalah tumor ganas yang tumbuh di daerah leher rahim (serviks), yaitu suatu daerah pada organ reproduksi wanita yang merupakan pintu masuk ke arah rahim yang terletak antara rahim (uterus) dan vagina (Jundi 2010). Kanker mulut rahim menempati peringkat pertama kanker pada perempuan di Indonesia. Ada 15.000 kasus baru per tahun dengan kematian 8000 orang per tahun. Angka harapan hidup lima tahun jika kanker ini diketahui dan diobati pada stadium I adalah 70 – 75%, pada stadium 2 adalah 60%, pada stadium 3 tinggal 25%, dan pada stadium 4 penderita sulit diharapkan bertahan (Kompas 2007).

Kanker serviks mulai menyerang dari leher rahim (bagian dari uterus atau rahim) dan kemudian mencapai vagina. Tumor tersebut tumbuh dengan menyebar ke arah atas menuju ke *endometrial cavity*, ke arah bawah menuju ke vagina dan ke sisi menuju ke arah dinding pelvis. Kanker tersebut juga bisa menginvasi pundi kencing dan rektum secara terus (Garcia 2009). Penyebab paling umum adalah serangan virus HPV (*Human Papillomavirus*) (Puguh 2010).

Pengobatan kanker dapat dibagi menjadi tiga, yakni terapi radiasi, operasi, dan terapi adjuvan (pendamping). Terapi adjuvan dapat dibagi menjadi terapi hormonal, kemoterapi, dan imunoterapi (Hahn & Payne 2003). Efek samping pengobatan kanker beragam, mulai dari kerontokan rambut, pusing, mual, penurunan kemampuan pertahanan tubuh, hingga kematian. Pengobatan kemoterapi ditujukan untuk menghancurkan sel kanker sehingga ukuran kanker mengecil dan kemunculannya setelah pengobatan dapat dicegah (Lewis 2003).

METODE PENDEKATAN

Metode Penelitian

Pembuatan ekstrak daun sirih merah (Depkes RI 2000)

Serbuk kering daun sirih merah diekstraksi dengan metode refluks. Serbuk kering daun sirih merah sebanyak 20 g diekstraksi dengan 200 ml etanol 30% selama 2 jam pada suhu 70 °C menggunakan refluks. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dengan kertas saring. Ekstraksi diulang tiga kali selama 6 jam. Kemudian ekstrak dilakukan *freeze dry* sehingga diperoleh ekstrak kasar.

Analisis kuantitatif dan identifikasi flavonoid

Ekstrak air dan etanol 30% sirih merah diuji kuantitatif kandungan dan jenis flavonoidnya dengan menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy (LC-MS)*.

Uji Aktivitas Antikanker

Uji aktivitas antikanker secara *in vitro* pada sel kanker serviks menggunakan metode yang dikembangkan oleh *Tokyo Universitas of Pharmacy and Life Science Hachioji Japan* dan ITB. Sel kanker dibiakan dalam media RPMI-1640, dilengkapi dengan 5% FBS (*Fetal Bovine Serume*) dan kanamisin (100 µg/ml). Sel (3×10^3 sel per sumur) di kultur dalam *mikroplate* berisi 100 µL media pertumbuhan per sumur dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam dalam kelembaban air 95% dan atmosfer 5% CO₂. Kultur sel yang digunakan untuk uji aktivitas antikanker memiliki viabilitas ± 95%.

Pengujian secara kolorimetri menggunakan 3-(4-,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium bromida (MTT) digunakan untuk menentukan proferilasi dan viabilitas sel. Ekstrak sirih merah sebanyak 10 µL pada berbagai konsentrasi (0, 0.125, 0.25, 0.50, dan 1 mg/mL) ditambahkan ke dalam kultur sel sehari setelah transplantasi. Sel kanker yang tidak diberi perlakuan digunakan sebagai kontrol negatif. Sebagai kontrol positif digunakan obat antikanker dokorubicin dengan konsentrasi yang sama seperti ekstrak daun sirih merah. Pada hari ketiga ditambahkan 20 µL reagen MTT sebanyak 5 mg/ml per sumur. Setelah 4 jam inkubasi ditambahkan 100 µL larutan 10% SDS 10%-0.01 N HCl ke dalam tiap sumur. Selanjutnya tambahkan kristal formazan dalam tiap sumur, larutkan dengan pengadukan menggunakan mikropipet. Pengukuran optikal densiti dilakukan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 540 nm. Semua tahapan dilakukan duplo.

PELAKSANAAN PROGRAM

WaktudanTempatPelaksanaan

Penelitian dimulai pada bulan Maret sampai bulan Juli 2013. Tempat pelaksanaannya di Laboratorium Penelitian Biokimia, Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam, IPB ,Pusat Studi Satwa Primata, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat IPB, dan Laboratorium Bioteknologi PUSPITEK Tangerang.

TahapanPelaksanaan

1. Ekstraksi air dan etanol daun sirih merah
2. Analisis kuantitatif dan identifikasi senyawa flavonoid dengan LC-MS
3. Analisis antikanker dengan MTT Assay

Rekapitulasi Rancangan dan Realisasi Biaya

No	Uraian	Harga (Rp)
1	Pembelian bahan baku dan bahan kimia	1.085.000
2	ATK	381.000
3	Adm. Lab	660.000
4	Fraksinasi dan kuantitatif flavonoid	2.000.000
5	Transportasi dan akomodasi	891.000
5	Identifikasi Flavonoid dengan LC-MS	1.200.000
6	Uji Aktivitas sel HeLa	5.000.000

Jumlah	11.017.000
Pemasukan	11.500.000
Saldo	183.000

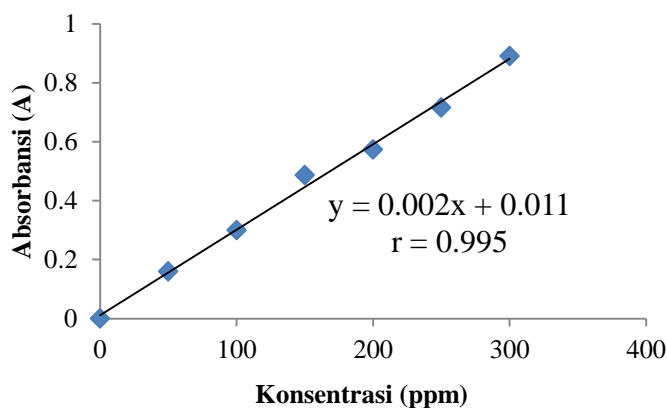
HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi air dan etanol daun sirih merah

Rendemen hasil ekstraksi menghasilkan nilai yang berbeda-beda sesuai dengan pelarut yang digunakan. Rendemen ekstrak terbesar diperoleh pada ekstrak etanol 30% sebanyak 28.92% diikuti oleh ekstrak air 16.58% (Tabel 2). Hasil ini mengindikasikan komponen-komponen bioaktif dalam daun sirihmerah lebih banyakterlarut dalamekstraketanol. Pemilihan pelarut air diharapkan dapat membawa komponen-komponen polar yang terdapat pada daun sirih merah. Pemilihan etanol sebagai pelarut didasarkan pada asumsi bahwa etanol mampu menggabungkan gugus polar dan nonpolar sehingga komponen pada daun sirih merah yang bersifat polar dan nonpolar dapat terekstrak.

Pelarut yang bersifat polar dapat mengikat komponen senyawa fenolik termasuk flavonoid. Flavonoid dapat terlarut oleh pelarut seperti air dan etanol karena mempunyai gugus hidroksil sehingga flavonoid larut dalam pelarut polar. Hal ini sesuai dengan uji fitokimia pada penelitian sebelumnya, bahwa daun sirih merah mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin (Safithri & Fahma 2005).

Kadar flavonoid ekstrak air dan etanol 30 %



Kurva standar kueresetin

Flavonoid total yang terukur pada penentuan konsentrasi flavonoid total merupakan sumbangan dari golongan flavon dan flavonol yang terdapat pada ekstrak karena hanya golongan inilah yang dapat membentuk kompleks stabil dengan $AlCl_3$. Senyawa $AlCl_3$ juga membentuk senyawa kompleks asam yang labil dengan gugus ortohidroksil pada cincin A atau B dari flavonoid. Hal ini menyebabkan flavonoid memiliki serapan yang kuat pada panjang gelombang 350-450 nm. Panjang gelombang yang digunakan pada penentuan kadar flavonoid sirih merah adalah 370 nm. Kadar flavonoid dari ekstrak air dan ekstrak etanol sirih merah ditunjukkan pada Tabel 3. Kadar flavonoid total yang terukur setara dengan kueresetin. Kueresetin merupakan senyawa golongan flavonol yang paling aktif dan umumnya terdapat dalam tanaman. Persamaan garis yang diperoleh pada kurva standar kueresetin adalah $y=0.011 + 0.002x$ dengan koefisien korelasi 0.995. Nilai konsentrasi flavonoid total secara berturut-turut dari ekstrak air dan ekstrak metanol adalah 0.2357% (b/b) dan 0.3046% (b/b).

Konsentrasi flavonoid yang lebih tinggi pada ekstrak etanol diduga terjadi karena tingkat kepolaran etanol yang lebih mendekati tingkat kepolaran flavonoid dibandingkan dengan tingkat kepolaran air.

Ekstrak air dan etanol 30% sirih merah yang sudah di fraksinasi diidentifikasi flavonoidnya menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy (LC-MS)*. Penggunaan detektor LC-MS telah banyak digunakan sebagai metode pemisahan dan identifikasi bagi kebanyakan senyawa obat/organik. Detektor ini lebih sensitif dan selektif dibandingkan dengan UV biasa (Ortelli *et al.* 2000). Spesifikasi LC-MS yang digunakan adalah sebagai berikut. Kolom Acquity UPLC BEH C18 1.7um, 2.1x50 mm dan fase gerak berupa H₂O+0.1% *formic acid*, dan *Acetonitrile* + 0.1%. Laju alir dari alat ini sebesar 0.3 mL/min dengan volume yang diinjeksikan sebesar 5µL. Hasil analisis menggunakan LC-MS, diketahui bahwa senyawa aktif yang dihasilkan oleh ekstrak etanol 30% sirih merah memiliki banyak senyawa yang ditandai dengan munculnya beberapa puncak (Lampiran 2), dimana salah satu puncak merupakan senyawa turunan dari flavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan kanker serviks. Prediksi senyawa dan bobot molekul pada ekstrak etanol 30 % dapat dilihat pada Lampiran 1. Hasil analisis menggunakan ekstrak air hampir sama dengan analisis menggunakan ekstrak etanol 30%. Pada analisis LC-MS ekstrak air sirih merah, terlihat beberapa puncak yang muncul pada Lampiran 4, dimana salah satu puncak merupakan senyawa turunan flavonoid yang mampu menghambat pertumbuhan kanker serviks. Prediksi senyawa dan bobot molekul pada ekstrak etanol 30 % dapat dilihat pada Lampiran 3

Aktivitas Inhibisi Sel HeLa

Uji inhibisi pertumbuhan sel HeLa dalam penelitian ini menggunakan metode MTT *assay*. Prinsip kerja metode ini didasarkan atas reduksi garam tetrazolium MTT oleh enzim suksinat dehidrogenase pada sel yang hidup (Willey 2010). Reaksi ini akan menghasilkan suatu produk kristal formazan tidak larut air yang harus dilarutkan menggunakan berbagai jenis pelarut seperti larutan 0.1 N HCL-Isopropanol. Pengukuran viabilitas sel didasarkan pengukuran absorbansi larutan formazan pada panjang gelombang tertentu. Absorbansi yang terukur sebanding dengan jumlah sel hidup yang terdapat di dalam mikroplate.

Uji sitotoksitas dalam penelitian ini dilakukan untuk melihat seberapa jauh ekstrak daun sirih merah dapat menghambat pertumbuhan sel kanker serviks (HeLa). Hasil uji MTT menunjukkan semua ekstrak daun sirih merah tidak bersifat toksik terhadap sel HeLa karena nilai IC₅₀ >100 ppm. Nilai IC₅₀ ekstrak daun sirih merah 859.2774 ppm (ekstrak air), 899.896 ppm (ekstrak etanol 30%). Nilai IC₅₀ semua ekstrak daun sirih merah terhadap sel kanker serviks HeLa >100 µg/ml. Berdasarkan *Natianal Cancer Institute (NCI)*, nilai ini menunjukkan aktivitas antikanker ekstrak daun sirih merah sangat lemah terhadap sel kanker HeLa. Ekstrak kasar dikatakan memiliki potensi yang kuat sebagai agen antikanker jika nilai IC₅₀ nya < 20 ppm (Boyd 1997). Sedangkan penelitian lain oleh wicaksono et al. (2009) nilai IC₅₀ ekstrak methanol daun sirih merah yang diuji pada sel kanker payudara T47D adalah 44.25 µg/ml yang menunjukkan bahwa ekstrak methanol daun sirih merah bersifat moderat aktif.

Nilai IC₅₀ ekstrak sirihmerah terhadap sel HeLa

Cell Lines	Ekstrak	
	Air (ppm)	Etanol 30 % (ppm)
HeLa	859.2774	899.896

Keterangan : Potensi antikanker berdasarkan *National Cancer Institute (NCI) Guideline*, Aktif (IC₅₀< 20 ppm), moderat aktif (20 ppm ≤ IC₅₀< 100 ppm), tidak aktif (IC₅₀≥ 100 ppm).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Ekstrak etanol 30% daun sirih merah memiliki rendemen yang lebih besar daripada ekstrak air daun sirih merah. kadar flavonoid total ekstrak etanol 30% lebih besar daripada ekstrak air daun sirih merah. Jumlah bobot molekul yang diprediksi sebagai flavonoid pada ekstrak air lebih banyak daripada pada ekstrak etanol 30%. Dan aktivitas antikanker yang memiliki inhibisi terbesar ada pada ekstrak etanol 30%. Ekstrak terbaik yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker adalah ekstrak etanol 30% daun sirih merah.

Saran

Perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut agar dapat senyawa murni yang berfungsi sebagai antikanker pada daun sirih merah.

DAFTAR PUSTAKA

- [WHO] World Health Organization. 2010. Serviks cancer. [terhubung berkala]. <http://www.who.int/zoonoses/vph/en/>. [2 Oktober 2012].
- Alfarabi M, Bintang M, Suryani, Safithri M. 2010. The comparative ability of antioxidant activity of *Piper crocatumin* inhibiting fatty acid oxidation and free radical scavenging. *Hayati Journal of Bioscience* 17: 201-204.
- Aryani DH. 2006. Kajian aktivitas antiproliferasi sel kanker K-562. [skripsi]. Bogor: Departemen TPG Fateta IPB.
- Duryatmo S. 2005. *Dulu hiasan kini obat*. Jakarta: Trubus. 427: 37
- Gandasentana, Robert. 1997. Kanker serviks dan kanker payudara serta permasalahannya. *Majalah Ilmiah Fakultas Kedokteran, USAKTI*. Volume 16. Nomor 1.
- Garcia AA. 2009. Cervical Cancer. University of Southern California. [terhubung berkala]. <http://emedicine.medscape.com/article/253513-overview> [2 Oktober 2012]
- Hahn DB, Payne WA. 2003. *Focus on Health*. New York: Mc-Graww Hill.
- Harahap RE. 1984. Neoplasia Intraepitel Pada Serviks (NIS). Jakarta : UI Press.
- Lewis R. 2003. *Human Genetics: Concepts and Application*. New York: McGraw-Hill.
- Manoi F. 2007. Sirih Merah sebagai tanaman multi fungsi. *WartaPuslitbangbun*. Vol.13
- Manuaba. 2008. *Ilmu Kebidanan, Penyakit Kandungan, dan Keluarga Berencana untuk Bidan*. Jakarta : EGC.
- Mitra remaja, Perkumpulan KB Indonesia. 2007. Memelihara dan merawat organ reproduksi wanita. [terhubung berkala]. <http://www.kompas.com/arsip/september-01/kesehatan>. [2 Oktober 2012].
- Murakami T *et al*. 1999. Triglycerides are major determinants of cholesterol esterification/transfer and HDL remodeling in human plasma. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15, 1819 –1828.
- Murray *et al*. 2003. *Biokimia Harper*. Penerjemah: Andri *et al*. Jakarta: ECG. Terjemahan dari *Harper's Biochemistry*.

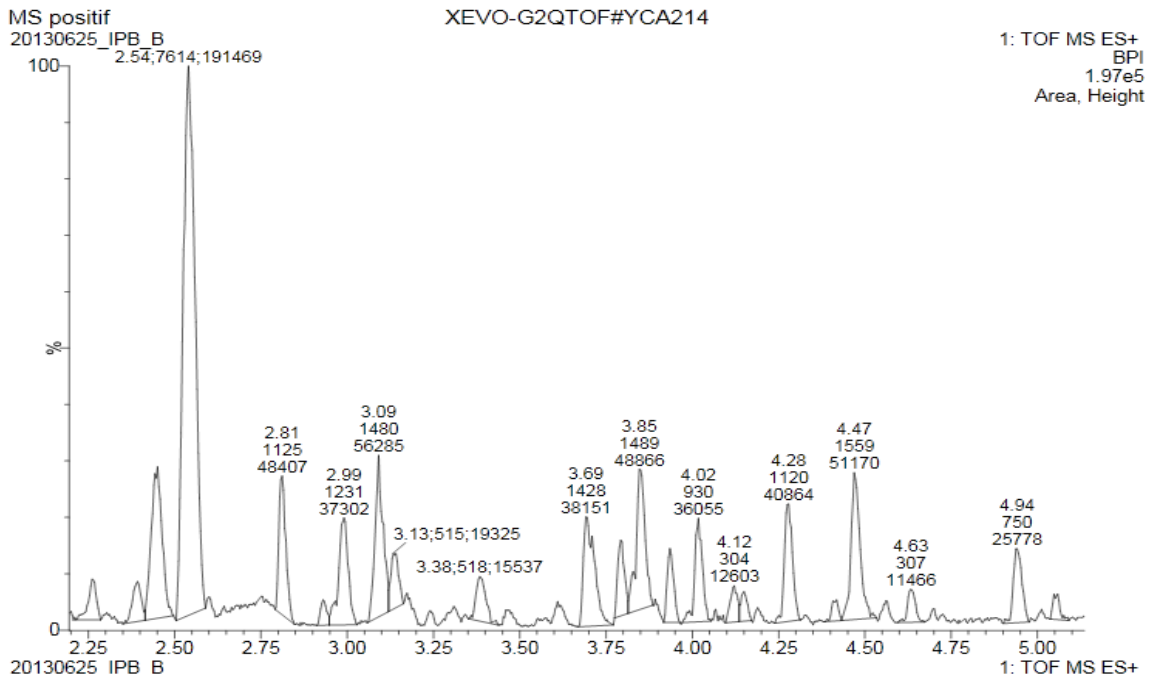
- Puspitasari HP, Sukardiman, Widyawayuranti. 2003. Uji aktivitas sitotoksik ekstrak methanol herba *Ageratum conyzoides* L. pada kultur sel myeloma mencit. *Majalah Farmasi Airlangga* 3: 93-95.
- Safithri M, Fatma F. 2005. Potency of *Piper crocatum* decocotion as an antihyperglycemia in rat strain *Sprague dawley*. Hayati J. Biosci 15(1):45-48
- Safithri M. 2011. Mekanisme Antihyperglukemik Minuman Fungsional Campuran Sirih Merah (*Piper Crocatum*) dan Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* Blume). [disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Semuel MY. 2008. Aktivitas antioksidasi dan antikanker ekstrak kulit batang langsung (*Lansium domesticum* L.) [Tesis]. Bogor : Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Sudewo B. 2005. *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*. Jakarta: agromedia pustaka
- Wicaksono BD, Handoko YA, Arung ET, Kusuma IW, Yulia D, Pancaputra AN, Sandra F. 2009. Antiproliferasi Effect of the Methanol Extract of *Pipper crocatum* Ruiz & Pav Leaves on Human Breast (T47D) Cell *In-Vitro*. *International Journal of PharmTech Reaserch* 8:345-352.

LAMPIRAN

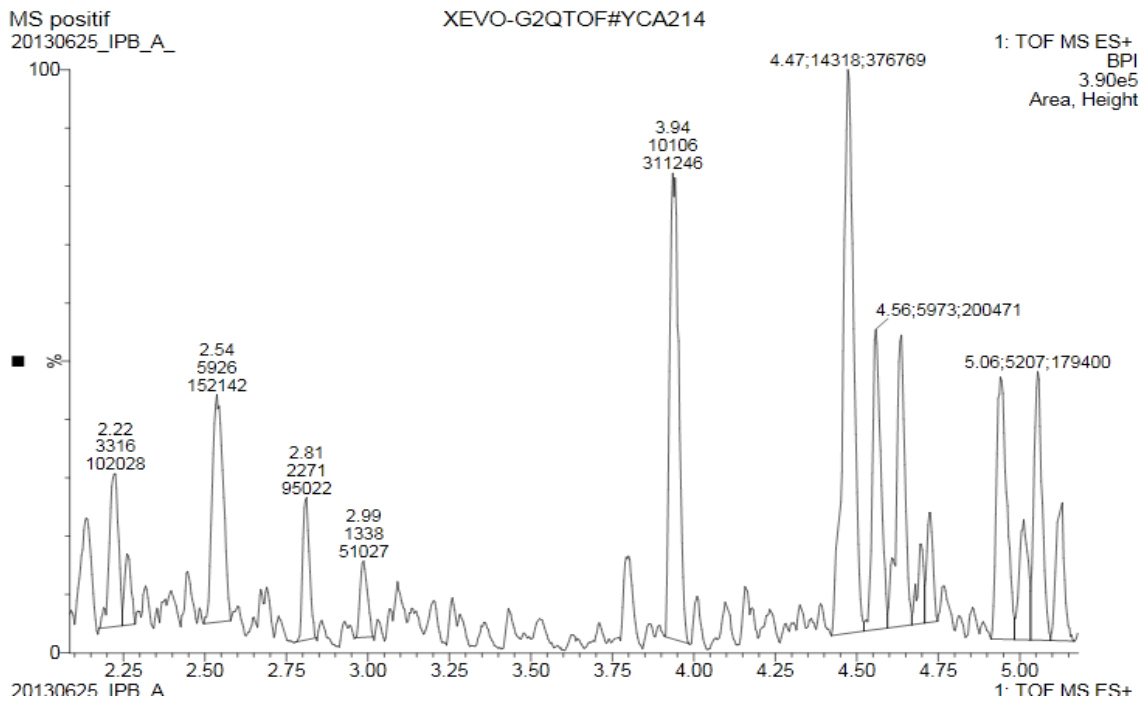
Lampiran 1 Rumus molekul dan bobot molekul hasil pengujian LC-MS

Ekstrak Air		Ekstrak Etanol	
Bobot Molekul	Rumus Molekul	Bobot Molekul	Rumus Molekul
487.2330	C27 H35 O8	339.2317	C23 H31 O2
419.1845	C26 H27 O5	579.1719	C27 H31 O14
451.2114	C27 H31 O6	595.1660	C27 H31 O15
453.2277	C27 H33 O6	663.2665	C33 H43 O14
471.2374	C27 H35 O7	679.5130	C40 H71 O8
511.2327	C29 H35 O8	419.1845	C26 H27 O5
553.2814	C32 H41 O8	451.2114	C27 H31 O6
571.2541	C31 H39 O10		
611.2860	C34 H43 O10		

Lampiran 2 Kromatogram LC-MS ekstrak etanol 30%



Lampiran 3 Kromatogram Hasil LC-MS ekstrak air



Tabel data persen inhibisi ekstrak air daun sirih merah terhadap sel HeLa

konsentrasi (ppm)	OD kontrol	OD sampel			rata-rata	% inhibisi
		ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
6.25	0.446	0.457	0.399	0.499	0.45	-1.27
12.5	0.446	0.518	0.504	0.594	0.54	-20.78
25	0.446	0.469	0.387	0.54	0.47	-4.33
50	0.446	0.444	0.462	0.454	0.45	-1.64
100	0.446	0.43	0.463	0.372	0.42	5.46
200	0.446	0.375	0.376	0.364	0.37	16.67
400	0.446	0.42	0.386	0.326	0.38	15.40
800	0.446	0.233	0.245	0.251	0.24	45.52

Tabel data persen inhibisi ekstrak etanol 30% daun sirih merah terhadap sel HeLa

konsentrasi (ppm)	OD kontrol	OD sampel			rata-rata	% inhibisi
		ulangan 1	ulangan 2	ulangan 3		
6.25	0.446	0.523	0.363	0.448	0.44	0.30
12.5	0.446	0.393	0.436	0.41	0.41	7.40
25	0.446	0.418	0.409	0.535	0.45	-1.79
50	0.446	0.442	0.283	0.408	0.38	15.32
100	0.446	0.395	0.385	0.346	0.38	15.84
200	0.446	0.349	0.343	0.432	0.37	15.99
400	0.446	0.281	0.272	0.26	0.27	39.24
800	0.446	0.292	0.254	0.283	0.28	38.04

Contoh perhitungan :

• **Ekstrak Air 100 ppm**

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Inhibisi} &= \frac{(\text{Rata-rata OD kontrol} - \text{Rata-rata OD sampel})}{\text{Rata-rata OD kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{(0.446 - 0.44)}{0.446} \times 100\% \\
 &= 0.30 \%
 \end{aligned}$$

• **Ekstrak etanol 30% 100 ppm**

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Inhibisi} &= \frac{(\text{Rata-rata OD kontrol} - \text{Rata-rata OD sampel})}{\text{Rata-rata OD kontrol}} \times 100\% \\
 &= \frac{(0.446 - 0.38)}{0.446} \times 100\% \\
 &= 15.99 \%
 \end{aligned}$$

