



**LAPORAN AKHIR PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA
JUDUL PROGRAM**

**POTENSI ANTIKANKER EKSTRAK SARANG SEMUT PUTIH
PAPUA (*Myrmecodia pendans*) TERHADAP SEL MCF-7 SECARA
*IN VITRO***

**BIDANG KEGIATAN:
PKM-PENELITIAN**

Diusulkan Oleh:

GALUH ANJAR SARI	(G84110024/ 2011)
MUSTIKA PERMATASARI	(G84110041/ 2011)
I.D.A. A. CARLITA A	(G84110080/ 2011)
ANDREA FAADILLAH A	(G84110078/ 2011)
M. MUNASIR	(G84120079/ 2012)

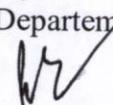
**INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2014**

HALAMAN PENGESAHAN

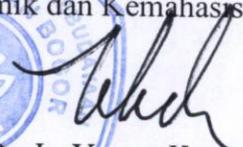
1. Judul Kegiatan : Potensi antikanker ekstrak sarang semut putih papua (*Myrmecodia pendans*) terhadap sel MCF-7 secara *in vitro*
2. Bidang Kegiatan : PKM-P
3. Ketua Pelaksana Kegiatan
 - a. Nama Lengkap : Galuh Anjar Sari
 - b. NIM : G84110024
 - c. Jurusan : Biokimia
 - d. Universitas/Institut/Politeknik : Institut Pertanian Bogor
 - e. Alamat Rumah dan No. Tlp./Hp : Jalan babakan raya RT 03/05, Dramaga, Bogor / 085778740804
 - f. Alamat email : galuhcakradiharja@gmail.com
4. Anggota Pelaksana Kegiatan/penulis : 4 Orang
5. Dosen Pendamping
 - a. Nama Lengkap : Waras Nurcholis, S.Si, M.Si
 - b. NIDN : 0002018003
 - c. Alamat Rumah dan No. Tlp./Hp : Komplek Griya Asri Blok C no. 04 RT/RW 004/006 Pagelaran Ciomas, Bogor/0817 9825 145
6. Biaya Kegiatan Total
 - a. Dikti : Rp 8.412.500,00
 - b. Sumber lain : -
7. Jangka Waktu Pelaksanaan : 4 bulan

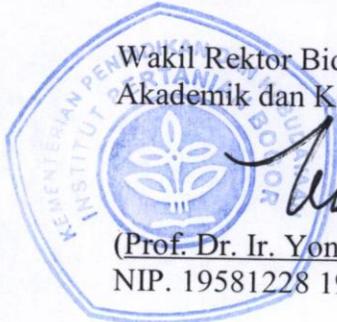
Bogor, 10 Oktober 2013

Menyetujui,
Ketua Departemen Biokimia

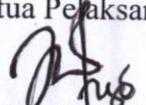

(Dr. I Made Artika, M.App.Sc)
NIP.196301171989031001

Wakil Rektor Bidang
Akademik dan Kemahasiswaan


(Prof. Dr. Ir. Yonny Koesmaryono, MS)
NIP. 19581228 198503 1 003



Ketua Pelaksana Kegiatan


(Galuh Anjar Sari)
NIM.G84110024

Dosen Pendamping


(Waras Nurcholis, S.Si, M.Si)
NIP. 19800102 200912 1 002

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan menentukan senyawa fitokimia yang bermanfaat untuk memperlambat proliferasi sel kanker melalui uji sitotoksitas dengan metode BSLT dan uji in vitro dengan sel MCF-7. Metode penelitian diawali dengan penyiapan sampel sarang semut. Selanjutnya, Serbuk kering sarang semut putih diekstraksi menggunakan etanol 70%, akuades, dan etanol 96% dengan perbandingan 1:20 (b/v) secara maserasi selama 2 hari. Ekstrak sarang semut putih kemudian dilakukan uji keaktifan dengan metode BSLT, analisis fitokimia, dan uji sitotoksitas terhadap sel MCF-7. Taraf konsentrasi yang digunakan pada metode BSLT 0, 1, 10, 100, 500, dan 1000 µg/mL. Ekstrak dinyatakan aktif apabila nilai LC₅₀ lebih kecil dari 1000 µg/mL. Nilai LC₅₀ etanol 70% lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak lainnya yaitu sebesar 22.765 ppm. Uji fitokimia yang dilakukan pada ketiga sampel dinyatakan mengandung alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, dan steroid. Uji Sitotoksitas secara in vitro pada sel MCF-7 menggunakan metode MTT assay. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% memiliki efek penghambatan terhadap sel MCF-7 dan sel Hela tetapi memiliki efek penghambatan yang lebih baik pada sel Hela.

Kata kunci: BSLT, MTT assay, sarang semut putih, sel MCF-7, sel Hela

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Kanker payudara merupakan penyakit kanker yang sering ditemui pada wanita setelah kanker leher rahim. NCI (2012) memperkirakan pada tahun 2012 di Amerika Serikat akan terjadi kasus baru kanker payudara sebanyak 226.870 (wanita) dan 2.190 (laki-laki) dengan jumlah kematian sebanyak 39.510 (wanita) dan 410 (laki-laki). Pengobatan pada kanker payudara menimbulkan berbagai efek samping seperti mual, muntah, dan rambut rontok (Winarto *et al.* 2007). Selain itu, NCI (2012) menyebutkan efek samping lainnya seperti masalah kulit, mual, muntah, dan kelelahan.

Banyaknya efek samping yang ditimbulkan menyebabkan para penderita kanker beralih pada pengobatan herbal. Obat herbal yang umum digunakan dalam pengobatan kanker payudara adalah daun sirsak, kulit manggis, jinten hitam, sarang semut, buah merah dan rimpang (suku Zingiberaceae). Setiap tumbuhan herbal memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing. Daun sirsak memiliki nilai LC₅₀ sebesar 3.062 ppm tetapi herbal ini lebih aktif sebagai antikanker paru-paru (Monica 2012). Fatimawali (2013) menyebutkan nilai LC₅₀ kulit manggis adalah 418 ppm sehingga tidak dapat digunakan sebagai antikanker. Radji *et al* (2010) menyebutkan nilai LC₅₀ dari herbal mahkota dewa, buah merah dan temu putih adalah 835 ppm, 421 ppm, dan 58.9 ppm. Rimpang yang memiliki aktivitas antikanker tertinggi adalah lempuyang gajah karena memiliki nilai IC₅₀ sebesar 50 ppm terhadap sel MCF-7 (Sinaga 2011). Meskipun berbagai obat herbal telah banyak diteliti, belum ada obat herbal khusus yang dianggap mampu menyembuhkan kanker payudara. Oleh karena itu, penelitian terhadap herbal lain yang lebih potensial sebagai antikanker payudara.

Depdag (2011) mengemukakan bahwa Indonesia memiliki 30.000 tanaman obat dari total 40.000 tanaman obat di dunia. Sarang semut (*Myrmecodia pendens*) merupakan salah satu tumbuhan khas Indonesia yang dapat dikembangkan sebagai kandidat antikanker. Sarang semut terdiri atas 3 varietas yaitu sarang semut merah, coklat, dan putih. Tumbuhan sarang semut merah dan coklat mengandung flavonoid dan tanin yang berpotensi sebagai senyawa antikanker (Subroto dan Saputro 2006). Sarang semut coklat diketahui dapat membunuh sel kanker dengan mekanisme apoptosis (kematian sel secara terprogram sehingga tidak merusak sel normal dan tidak menimbulkan rasa sakit) (Rao 2007). Menurut mitos yang berkembang di masyarakat, sarang semut putih merupakan sarang semut dengan kualitas super yang memiliki aktivitas lebih tinggi dari sarang semut coklat dan merah. Namun, hal tersebut belum didukung dengan penelitian terhadap sarang semut putih. Program kreatifitas mahasiswa ini dilakukan untuk mengeksplorasi senyawa yang berpotensi sebagai antikanker pada varietas sarang semut putih endemik papua (*Myrmecodia pendens*) dan pengaruhnya terhadap sel MCF-7 (Sel kanker payudara) secara *in vitro*.

1.2. Perumusan Masalah

Perumusan masalah yang muncul dari uraian diatas adalah belum diketahui kandungan fitokimia pada ekstrak kasar sarang semut putih dan aktivitas sitotoksitasnya pada uji BSLT yang berpotensi dalam penurunan proliferasi kanker pada uji *in vitro*.

1.3. Tujuan

Tujuan dari pelaksanaan program ini adalah menentukan senyawa fitokimia yang bermanfaat untuk memperlambat proliferasi sel kanker melalui uji sitotoksitas dengan metode BSLT dan uji *in-vitro* dengan sel MCF-7.

1.4. Luaran yang Diharapkan

Luaran yang diharapkan dari penelitian ini mengetahui potensi bahan hayati dari ekstrak kasar sarang semut putih yang berpengaruh terhadap penurunan proliferasi sel MCF 7 sehingga dapat dimanfaatkan sebagai sediaan pengobatan baru.

1.5. Kegunaan

Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan ekstrak kasar sarang semut putih yang digunakan untuk menurunkan proliferasi sel kanker sehingga sarang semut putih dapat dijadikan sediaan alternatif penyembuhan kanker.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sarang semut

Sarang semut (*Myrmecodia pendens*) merupakan salah satu tumbuhan khas Indonesia yang dapat dikembangkan sebagai kandidat antikanker. Penelitian yang telah dilakukan oleh Soeksmanto (2010) menyebutkan ekstrak polar sarang semut dengan menggunakan pelarut air menunjukkan efek antikanker lebih tinggi terhadap sel kanker serviks dibandingkan dengan ekstrak nonpolar sarang semut dengan menggunakan etil asetat dan n-butanol. Tumbuhan sarang semut mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan tanin (Subroto dan Saputro 2006). Flavonoid berperan dalam inaktivasi karsinogen, antiproliferasi, penghambatan siklus sel, induksi apoptosis dan diferensiasi, inhibisi angiogenesis, dan pembalikan resistensi multi-obat atau kombinasi dari mekanisme-mekanisme tersebut (Ren 2003). Tanin berfungsi untuk menghambat pertumbuhan sel kanker (Yi *et al.* 2005).

2.2 Kanker

Kanker merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan pembelahan yang tidak terkendali dari sel yang kemudian sel-sel tersebut memiliki kemampuan untuk menyerang sel tetangganya (invasi) ataupun bermigrasi ketempat yang jauh untuk menyerang sel lainnya (metastasis). Kanker payudara atau *breast cancer* adalah *neoplasma* ganas yang berasal dari *parenchyma* payudara (Roses 2005). Penyebab dari kanker payudara bersifat multifaktor yang berkaitan dengan diet, faktor reproduksi, dan berhubungan dengan ketidakseimbangan hormonal. Pola hidup yang kurang sehat seperti terlalu banyak mengonsumsi makanan tinggi kalori, lemak, dan protein serta kurangnya aktivitas tubuh. Faktor risiko lainnya adalah usia, jenis kelamin, riwayat keluarga, riwayat menstruasi, konsumsi alkohol, dan rokok (Bai *et al.* 2001). Kanker payudara yang disebabkan oleh riwayat keluarga (keturunan) melalui tahapan dari mutasi genetik, hiperlasia, karsinoma *in situ* hingga timbul menjadi kanker yang umum terjadi pada usia muda. Sementara itu, kanker payudara akibat pola hidup (herediter) terjadi dari mutasi yang berhubungan dengan proses perbaikan DNA dan kematian sel secara terprogram (apoptosis) (DeVita *et al.* 2005).

Hormon utama yang menjadi pemicu kanker payudara adalah estrogen. Hormon ini dapat mempengaruhi perkembangan dan perubahan dari kelenjar payudara. Selain itu, paparan estrogen dalam kadar yang tinggi dapat meningkatkan faktor-faktor proliferasi sel (DeVita *et al.* 2005).

Proses diagnosa sel kanker memerlukan pemeriksaan makroskopik jaringan yang diperoleh dengan biopsi. Pengobatan kanker rata-rata menggunakan bahan kimia sintetik dan teknologi tinggi yang memiliki efek samping pada tubuh penderita. Efek samping pengobatan kanker beragam, mulai dari mual, kerontokan rambut, hilangnya nafsu makan (Winarto 2007). Saat ini penelitian untuk mengidentifikasi obat secara herbal sangat digalakkan sehingga obat herbal yang memiliki kemampuan antikanker yang tinggi dapat ditemukan.

2.3 Proliferasi Sel dan Sel Kanker MCF-7

Kanker menyebabkan progeni dari sel normal yang telah kehilangan aktivitas selularnya dalam pengontrolan proliferasi. Proliferasi dapat terjadi karena faktor pertumbuhan pada lokasi yang spesifik sehingga pertumbuhan yang diintruksikan hanya terjadi pada lingkungan yang mendapatkan instruksi untuk melakukan pembelahan sel dan bertumbuh (Berridge 2009).

Sel Kanker Payudara MCF-7 adalah jenis sel yang diisolasi pada tahun 1970 dari jaringan payudara wanita ras kaukasian. Sel MCF-7 biasa digunakan untuk berbagai penelitian tentang kanker payudara secara *in vitro* karena memiliki beberapa karakteristik yang sama dengan epitel payudara terkait kemampuan memproses estrogen dalam bentuk estradiol melalui reseptor estrogen di dalam sitoplasma. Hal ini membuat sel MCF-7 dapat bertindak sebagai kontrol positif reseptor estrogen.

III. METODE PELAKSANAAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama empat bulan yakni pada tanggal 24 Februari sampai 4 Juli 2014 di Laboratorium Penelitian Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Kampus Dramaga IPB.

3.2 Materi Penelitian

Sarang semut putih didatangkan dari Papua yang akan dibeli dari agen. Sarang semut yang digunakan sebanyak 3 kg dalam keadaan kering.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1. Preparasi sampel sarang semut putih

Sarang semut putih yang telah dikeringanginkan, dipisahkan dari kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dan dicuci. Sampel dikeringkan dengan oven pada suhu 40-50°C selama 4-5 hari sehingga kadar air kurang dari 10 persen agar bahan yang diperoleh tidak mudah rusak. Sarang semut putih dihaluskan dengan blender dan diayak dengan ukuran 100 mesh. Simplisia yang didapat kemudian dibungkus dan disimpan untuk tahap selanjutnya.

Perhitungan:

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{a-b}{a} \times 100\%$$

Keterangan:

a = Bobot sampel sebelum pengeringan (g)

b = Bobot sampel sesudah pengeringan (g)

$$\text{Rata-rata persen kadar air} = \frac{\text{Ulangan 1} + \text{Ulangan 2} + \text{ulangan 3}}{3}$$

3.3.2. Ekstraksi Sarang Semut Putih (ICS-UNIDO 2008)

Serbuk kering sarang semut putih diekstraksi menggunakan etanol 70%, akuades, dan etanol 96% dengan perbandingan 1:7 (b/v) secara maserasi selama 2 hari dengan sesekali dilakukan pengadukan. Hasil maserasi disaring dengan kertas Whatmann No. 1 dan filtratnya ditampung dalam wadah plastik. Perlakuan maserasi (menggunakan sampel sarang semut, bekas maserasi sebelumnya) diulang hingga 3 kali. Hasil maserasi dipisahkan dengan rotavapor hingga didapat ekstrak yang kering. Ekstrak kemudian diukur berat bersihnya.

3.3.3. Uji Toksisitas Ekstrak Sarang Semut Putih dengan metode BSLT

Larutan uji ekstrak kasar etanol 70%, etanol 96% dan akuades dari sarang semut putih dilarutkan dalam air laut dengan konsentrasi setelah pengenceran masing-masing menjadi 1, 10, 100, 500, dan 1000 µg/mL. Sampel non polar yang kurang larut ditambahkan DMSO. Setelah 48 jam, 100 µL air laut yang berisi 10-15 ekor larva udang dimasukkan ke dalam botol uji dan larutan uji hingga konsentrasi dalam tiap botol menjadi 10, 5, dan 1 µg/mL. Sebagai kontrol dipakai air yang berisi 10-15 ekor larva udang dengan konsentrasi sama. Setelah dibiarkan selama 24 jam, udang yang masih hidup dan yang sudah mati kemudian dihitung jumlahnya.

Tingkat kematian atau (%) mortalitas diperoleh dengan membandingkan antara jumlah larva yang mati dibagi dengan jumlah total larva. Nilai LC₅₀ ditentukan dengan analisis probit. Ekstrak dinyatakan aktif apabila nilai LC₅₀ lebih kecil dari 1000 µg/mL. Ekstrak dengan pelarut teraktif kemudian digunakan untuk uji selanjutnya.

Perhitungan :

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{Jumlah artemia mati}}{\text{Jumlah total yang diuji}} \times 100\%$$

$$\text{Rerata \% kematian} = \frac{\% \text{ kematian ulangan 1} + \text{ulangan 2} + \text{ulangan 3}}{\text{jumlah ulangan}}$$

3.3.4. Analisis Fitokimia (Krishnaiah 2009)

Uji alkaloid. Sebanyak 0.1 gram ekstrak ditambahkan 3 mL kloroform dan 3 tetes amoniak. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan 10 tetes H₂SO₄ 2 M. Fraksi asam diambil, kemudian ditambahkan pereaksi Dragendorf, Meyer dan Wagner. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih oleh pereaksi Meyer, endapan coklat oleh pereaksi Wagner, dan endapan merah pada penambahan pereaksi Dragendorf.

Uji saponin dan flavonoid. Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan dalam gelas piala kemudian ditambahkan 100 ml air panas dan didihkan selama 5 menit, setelah itu disaring dan filtratnya digunakan untuk pengujian. Uji saponin dilakukan dengan pengocokan 10 mL filtrat dalam tabung reaksi tertutup selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 menit. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih/busa yang stabil.

Sebanyak 10 mL filtrat yang lain ditambahkan 0.5 gram serbuk magnesium, 2 mL alkohol karbohidrat (campuran HCl 37% dan etanol 95% dengan perbandingan 1:1 dan 20 mL amil alkohol kemudian dikocok kuat. Terbentuknya warna merah, kuning, dan jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid.

Uji Tanin. Sebanyak 0.1 gram ekstrak ditambahkan 2 mL air kemudian dididihkan selama beberapa menit. Lalu disaring dan filtratnya ditambah 1 tetes FeCl₃ 1% (b/v). warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tannin.

Uji Terpenoid dan Steroid. Sebanyak 0.1 gram ekstrak ditambah 2 mL etanol 30% lalu dipanaskan dan disaring. Filtratnya diuapkan kemudian ditambah eter 1:1. Lapisan eter ditambah pereaksi Lieberman Burchard (3 tetes asam asetat anhidrida dan 1 tetes H₂SO₄ pekat). Warna merah dan warna hijau menunjukkan adanya terpenoid dan warna hijau menunjukkan adanya steroid.

3.3.5. Uji Sitotoksitas Ekstrak Sarang Semut Putih Terhadap Sel MCF-7 (Hsu 2010)

Uji Sitotoksitas secara *in vitro* pada sel MCF-7 menggunakan metode MTT *assay*. Sel MCF-7 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.

Pengujian sitotoksitas secara kolorimetri menggunakan 3-(4-,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium bromida (MTT) digunakan untuk menentukan proliferasi dan viabilitas sel. Ekstrak sarang semut putih sebanyak 10 µL pada berbagai konsentrasi (0, 1, 10, 100, 500, dan 1000 µg/mL) ditambahkan ke dalam kultur sel sehari setelah transplantasi. 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 triplo.

$$\% \text{ sel hidup} = (\text{Absorbansi perlakuan} / \text{Absorbansi Kontrol}) \times 100\%$$

IC₅₀ diartikan sebagai konsentrasi perlakuan yang mampu menghambat pertumbuhan sel sebanyak 50%. Penentuan IC₅₀ menggunakan analisis probit.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Simplisia sarang semut putih memiliki bobot basah sekitar 3000 g. Setelah mengalami proses pengeringan selama 3 hari, bobotnya menyusut menjadi 2434.88 g. Hal ini menunjukkan bahwa susut bobot simplisia sarang semut putih ialah 18.84%. Analisis selanjutnya ialah pengukuran kadar air yang dilakukan untuk menentukan mutu dari simplisia sarang semut putih. Mutu simplisia akan semakin rendah apabila kadar airnya tinggi. Pengurangan kadar air dilakukan hingga kadar air sarang semut putih kurang dari 10%. Hal ini dilakukan agar sampel yang digunakan tidak mudah rusak akibat aktivitas biologi dan kimia. Penelitian ini menggunakan tiga kali ulangan dengan bobot petri ulangan pertama sampai ketiga secara berturut-turut ialah 20.45 g, 34.63 g, dan 30.42 g. Bobot bahan yang digunakan untuk tiap petri ialah 2 g. Pengukuran kadar air dilakukan dengan oven selama 3 jam. Bobot cawan dan sampel berturut-turut setelah dikeringkan ialah 22.36 g, 36.52 g, dan 32.34 g. Data-data tersebut dapat disimpulkan bahwa kadar air simplisia pada cawan petri pertama ialah 4.5%, cawan petri kedua ialah 5.5%, dan cawan petri ketiga ialah 4.0%. Kadar air rata-rata dari simplisia sarang semut putih ini ialah 4.667% (Tabel 1).

Tabel 1 Hasil kadar air simplisia sarang semut putih

Ulangan	Bobot Cawan Kosong (g)	Bobot Sampel Sebelum Pengeringan (g)	Bobot Cawan Setelah Pengeringan (g)	Bobot Sampel Setelah Pengeringan (g)	Kadar Air (%)	Rata-Rata Kadar Air (%)
1	20.45		22.36	1.91	4.5	
2	34.63	2	36.52	1.89	5.5	4.667
3	30.42		32.34	1.92	4.0	

Kandungan senyawa aktif dari ekstrak sarang semut putih dapat diperoleh dengan cara ekstraksi. Ekstraksi merupakan suatu transfer solut dari suatu fasa ke fasa yang baru. Terdapat berbagai jenis ekstraksi yakni ekstraksi cair-cair, ekstraksi cair-padat, ekstraksi padat-cair, dan ekstraksi gas-padat (Harjadi 1986). Ekstraksi akan menghasilkan senyawa tertentu yang diinginkan dengan pelarut yang sesuai. Metode ekstraksi tergantung pada polaritas senyawa yang akan diekstrak. Penelitian ini menggunakan maserasi yakni ekstraksi komponen dengan merendam contoh menggunakan pelarut sesuai dan waktu tertentu. (Teyler *et al.* 1988). Metode maserasi ini menggunakan banyak pelarut dan waktu yang lama dalam prosesnya, tetapi memiliki keuntungan, yaitu dapat menjaga agar kandungan senyawa dalam sampel yang tidak tahan panas, tidak rusak, dan sampel yang diekstraksi bisa langsung dalam jumlah yang banyak.

Proses ekstraksi pada penelitian ini menggunakan 3 jenis pelarut, yaitu akuades, etanol 70%, dan etanol 96%. Metode ini dilakukan duplo (kecuali pelarut akuades) untuk mendapatkan hasil terbaik. Rerata persen rendemen terbesar didapatkan dari pelarut etanol 70 % yakni sebesar 8.48% (Tabel 2). Rendemen dipengaruhi oleh kadar air. Simplisia sarang semut putih memiliki kadar air yang kecil sehingga % rendemennya pun kecil.

Tabel 2 Rendemen ekstrak

Jenis Ekstrak	Ulangan	Bobot _{cawan}	Bobot _{cawan+ekstrak} (g)	Bobot Ekstrak	% Rendemen	Rerata (%)
---------------	---------	------------------------	------------------------------------	---------------	------------	------------

				(g)		
Akuades	1	-	-	1.50	3.75	3.75
Etanol	1	79.43	80.83	1.40	7.00	8.48
70%	2	166.61	168.60	1.99	9.95	
Etanol	1	79.19	80.60	1.41	7.05	7.70
96%	2	82.65	84.32	1.67	8.35	

Fitokimia merupakan senyawa kimia yang berasal dari tanaman termasuk pigmen (zat warna) tanaman. Analisis fitokimia adalah salah satu cara untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada suatu tanaman (Pratiwi 2009). Analisis fitokimia yang dilakuakn terdiri dari pengujian alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, steroid, dan triterpenoid dengan dua kali ulangan kecuali uji alkaloid. Hasil analisis fitokimia ditunjukkan pada Tabel 3. Suatu sampel ekstrak dapat dikatakan mengandung alkaloid jika salah satu pereaksi menunjukkan hasil positif. Pereaksi yang menunjukkan hasil positif pada ketiga sampel ekstrak hanya pada penambahan pereaksi Dragendorf. Ketiga sampel ekstrak dapat dinyatakan mengandung alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, dan steroid. Senyawa alkaloid pada ekstrak dapat berperan sebagai stimulan syaraf otonom, analgesik, bioinsektisida, obat malaria, antikanker, antineoplastik, dan antibakteri (Putra 2007). Tanin bermanfaat sebagai obat keputihan, peradangan, dan untuk melangsingkan tubuh (Mooryadi 1998). Flavonoid yang diisolasi dari tumbuhan dapat berguna sebagai insektisida, antimikroba, antivirus, antijamur, obat infeksi pada luka, mengurnai pembekuan darah di dalam tubuh, mempercepat pembekuan darah di luar tubuh, antioksidan, antitumor, dan antikanker. Flavonoid yang diisolasi dari tumbuhan dapat berguna sebagai insektisida, antimikroba, antivirus, antijamur, obat infeksi pada luka, mengurnai pembekuan darah di dalam tubuh, mempercepat pembekuan darah di luar tubuh, antioksidan, antitumor, dan antikanker (Sabirin 2000). Rahayu (2013) menyebutkan bahwa ekstrak metanol dari sarang semut mengandung senyawa fenol dan flavonoid sedangkan ekstrak air dari sarang semut mengandung senyawa fenol, flavooid dan tanin.

Tabel 3 Hasil uji fitokimia ekstrak

Uji	Akuades		Etanol 70%		Etanol 96%	
	1	2	1	2	1	2
Alkaloid						
Dragendorf		+		+		+
Meyer		-		-		-
Wagner		-		-		-
Tanin	+	+	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+	+	+
Saponin	+	+	+	+	+	+
Steroid	+	+	+	+	+	+
Triterpenoid	-	-	-	-	-	-

Pengujian BSLT menggunakan tiga pelarut yaitu akuades, etanol 96%, dan etanol 70% pada berbagai konsentrasi yaitu 0, 10, 50, 100, 500, dan 1000 ppm. Hasil pengujian BSLT yang ditunjukkan pada Tabel 4 menunjukkan banyaknya populasi *Artemia salina* L setelah ditambahkan ekstrak sarang semut putih selama semalam

dan dinyatakan dalam persen kematian. Persen kematian yang paling besar yaitu pada konsentrasi ekstrak 500 dan 1000 ppm rata-rata persen kematian sebesar 96.667 dan 93.333 %. Nilai LC50 pada larutan akuades sebesar 225.048 ppm. Pengujian ekstrak dengan menggunakan larutan etanol 96% diperoleh rata-rata persen kematian yang paling besar yaitu pada konsentrasi ekstrak 1000 ppm sebesar 100%. nilai LC50 yang diperoleh sebesar 279.511 ppm. Ekstrak dengan etanol 70% menunjukkan bahwa rerata persen kematian yang paling besar yaitu pada konsentrasi 1000 dan 500 ppm sebesar 100.000 dan 96.667 % . Nilai LC50 yang diperoleh sebesar 22.765 ppm. NCI menetapkan suatu standar bahwa harga LC₅₀ untuk senyawa antikanker pada uji coba kanker serviks (HELA) adalah ≤ 20 mg/L.

Hasil pengujian BSLT pada Tabel 4 menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% bersifat lebih toksik dibandingkan dengan pelarut etanol 96% dan akuades karena nilai LC50 etanol 70% lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Metode BSLT ini merupakan metode untuk menguji senyawa yang diduga sebagai antioksidan atau agen antikanker melalui hasil uji toksisitasnya. Suatu senyawa dikatakan bersifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach apabila mempunyai nilai LC50 kurang dari 1000 ppm (Santoso *et al* 2013).

Tabel 4 Pengujian BSLT

Ulangan	[Ekstrak] ppm	Jumlah Artemia Mati (ekor)			% Kematian			% Rerata Kematian	LC ₅₀ (ppm)
		1	2	3	1	2	3		
Akuades									
1	0	1	1	2	10	10	20	13.333	225.048
2	10	1	0	4	10	0	40	16.667	
3	50	0	1	0	0	10	0	3.333	
4	100	2	1	1	20	10	10	13.333	
5	500	10	10	9	100	100	90	96.667	
6	1000	9	10	9	90	100	90	93.333	
Etanol 96%									
1	0	1	1	2	10	10	20	13.333	279.511
2	10	3	4	4	30	40	40	36.667	
3	50	3	2	3	30	20	30	26.667	
4	100	1	3	2	10	30	20	20.000	
5	500	5	8	9	50	80	90	73.333	
6	1000	10	10	10	100	100	100	100.000	
Etanol 70%									
1	0	1	1	2	10	10	20	13.333	22.765
2	10	3	4	4	30	40	40	36.667	
3	50	8	9	6	80	90	60	76.667	
4	100	8	10	7	80	100	70	83.333	
5	500	10	10	10	100	100	100	100.000	
6	1000	10	10	9	100	100	90	96.667	

Pengujian pengaruh ekstrak etanol 70% sarang semut putih terhadap inhibisi beberapa sel kanker secara *in vitro* dilakukan dengan metode MTT atau 3-(4-,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium bromida . Metode ini digunakan untuk menentukan proliferasi dan viabilitas sel MCF-7 dan sel Hela. Hambatan proliferasi sel kanker payudara MCF-7 terdeteksi dengan adanya absorbansi sel dalam bentuk warna. Sel hidup berwarna ungu, membentuk kristal formazan akibat reaksi reduksi

garam tetrazolium MTT pada rantai respirasi mitokondria sel hidup tersebut, sedangkan sel mati berwarna kuning. Pada penelitian ini terjadi perubahan intensitas warna pada kelompok perlakuan sesuai kadar ekstrak yang diberikan. Deteksi lebih lanjut dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang 595 nm (Putra *et al.* 2012).

Jumlah sel MCF-7 yang berkurang hampir 50% terdapat pada sampel dengan konsentrasi sebesar 40 ppm (Tabel 5). Namun, daya inhibisi ekstrak sebesar 50% terhadap sel Hela diperlihatkan pada konsentrasi yang lebih rendah, yaitu 10 ppm (Tabel 6). Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% memiliki efek penghambatan yang lebih baik pada sel Hela. Senyawa yang berperan dalam inhibisi proliferasi sel kanker adalah senyawa flavonoid dan alkaloid. Senyawa flavonoid dapat menghambat pertumbuhan dan menginduksi apoptosis sel-sel kanker target melalui pengaktifan MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase) (Abdillah 2006).

Tabel 5 Uji *in vitro* ekstrak etanol sarang semut putih terhadap sel MCF-7

Sampel (ppm)	Ulangan			Rerata	% Inhibisi
	ODI	ODII	ODIII		
320	0.018	0.045	0.041	0.03	95.00
160	0.078	0.013	0.11	0.07	90.33
80	0.366	0.339	0.301	0.34	51.59
40	0.385	0.407	0.414	0.40	41.96
20	0.517	0.5	0.467	0.49	28.59
10	0.535	0.543	0.511	0.53	23.53
Kontrol sel	0.684	0.698	0.696	0.69	0.00

Tabel 6 Uji *in vitro* ekstrak etanol sarang semut putih terhadap sel Hela

Sampel (ppm)	Ulangan			Rerata	% Inhibisi
	ODI	ODII	ODIII		
320	0.088	0.067	0.084	0.08	82.72
160	0.085	0.076	0.082	0.08	82.43
80	0.124	0.121	0.097	0.11	75.27
40	0.176	0.189	0.17	0.18	61.32
20	0.212	0.152	0.226	0.20	57.34
10	0.264	0.271	0.231	0.26	44.61
Kontrol sel	0.460	0.460	0.463	0.46	0.00

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Ekstrak etanol sarang semut putih memiliki nilai LC50 terbesar yaitu 22.765 ppm. Ekstrak etanol 70% sarang semut putih memiliki daya hambat terhadap sel MCF-7 dan sel HeLa pada konsentrasi 80 ppm dan 20 ppm. Penghambatan terjadi karena adanya antiproliferasi oleh senyawa flavonoid pada ekstrak etanol 70% sarang semut putih.

5.2 Saran

Perlu adanya uji lanjutan secara in vivo untuk mengetahui efeknya pada makhluk hidup dan mekanisme penghambatannya. Perlu adanya fraksinasi dan isolasi senyawa aktif khusus yang berperan dalam penghambatan proliferasi sel kanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah A. 2006. Aktivitas antiproliferasi ekstrak air daun sisik naga (*Pyrrosia nummularifolia* (Sw.) Ching) terhadap sel lestari tumor HeLa secara in vitro. [skripsi]. Bogor. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Bai M, Agnantis NJ, Kamina S, Demou A, Zagorianakou P, Katsaraki A, Kanavaros P. 2001. In vivo cell kinetics in breast carcinogenesis. *Breast Cancer*. (3): 276-283.
- Berridge. 2009. *Cell Signalling Biology*. New York (US): Portland Pr.
- Depdag. 2011. *Indonesian Herbal : The Traditional Therapy*. Jakarta (ID): Ministry of Trade Republic of Indonesia
- DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. 2005. *Pharmacology of Endocrine Manipulation Cancer*. Philadelphia (US): Lippincott Williams & Wilkins.
- Fatimawali. 2013. Acute toxicity test of ethanol extract from mangoesteen pericarp (*Garcinia mangostana* L.) against *Artemia salina* leach larvae using brine shrimp lethality test (BSLT). *J Pharmacon*. 2(1):12-20.
- Harjadi W. 1986. *Ilmu Kimia Analitik Dasar*. Jakarta (ID): Erlangga.
- Harris DC. 2003. *Quantitative Chemical Analysis 6th Ed*. Philadelphia (US): WH Freeman and Co.
- Hsu. 2010. Toona sinensis extracts induced cell cycle arrest in the human lung large cell carcinoma. *J. Med Sci* 26:68–75.
- ICS-UNIDO. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Trieste: United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology.
- Krishnaiah . 2009. Studies on phytochemical constituents of six Malaysian medicinal plants. *J. of Medicinal Plants* 3(2): 067-082.
- Mooryadi S. 1998. *Alam Sumber Kesehatan*. Jakarta (ID): Balai Pustaka.
- Murray et al. 2003. *Biokimia Harper*. Penerjemah: Andri et al. Jakarta (ID): ECG. Terjemahan dari Harper's Biochemistry.
- NCI. 2012. *Cancer Treatment*. <http://www.cancer.gov/cancertopics/treatment.html> (29 Mei 2013).
- Pratiwi E. 2009. Antioxidant activity of extract and active fraction of temukunci *Boesenbergia pandurata* [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Putra A, Tjahjono, Winarto. 2012. Efektivitas ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi diklorometanolik dalam menghambat proliferasi sel MCF-7 kanker payudara. *J. Indon Med Assoc*. 62 (1): 10-15.
- Putra SE. 2007. Alkaloid: Senyawa Organik terbanyak di Alam. [www.chem-Is-Try.org/artikel kimia/biokimia/alkaloid senyawa organik terbanyak di alam](http://www.chem-Is-Try.org/artikel_kimia/biokimia/alkaloid_senyawa_organik_terbanyak_di_alam) [internet]. [diunduh 2014 Maret 13].

- Radji M, Aldrat H, Harahap Y, Irawan C. 2010. Uji sitotoksitas buah merah, mahkota dewa dan temu putih terhadap sel kanker serviks. *J Farmasi Indonesia*. 5 (1): 41-47.
- Rao EV. 2007. Drug recovery from botanical. *Curr Sci*. 93(8): 1060-1063.
- Ren W. 2003. Flavonoids: Promising Anticancer Agents. *Medicinal research Reviews*. 23(4): 519- 534.
- Roses DF. 2005. Breast Cancer 2nd Edition. Philadelphia (US): Elsevier.
- Sabirin M. 2000. Pengaruh gugus hidroksi pada metilsalisilat dan asetofenon terhadap sintesis senyawa khalkon. *Jurnal Nusantara Kimia*. 1(1).
- Santoso INMA, Ida ARAA, AAlA Mayun L. 2013. Isolasi dan Identifikasi senyawa toksik pada ekstrak metanol daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*). *Jurnal Kimia*. 7 (2) : 163-171.
- Sinaga E, Suprihatin, Wiryati I. 2011. Perbandingan ekstrak rimpang 3 jenis tumbuhan zingiberaceae terhadap sel kanker MCF-7. *J Farmasi Indonesia*. 5(3): 125-133.
- Soeksmanto A, Subroto, MA, Wijaya H, Simanjuntak P. 2010. Anticancer Activity testfor Extract of Sarang Semut Plant(*Myrmecodya Pendens*) to HeLa and MCM-B2Cells. *Pakistan Journal of Biological Science* 13(3): 148-151.
- Subroto M.A. dan Saputro H. 2006. *Gempur Penyakit dengan Sarang Semut*. Depok (ID): Penebar Swadaya
- Winarno FG, Fernandes IE. 2010. *Nanoteknologi Bagi Industri Pangan dan Kemasan*. Bogor (ID): Mbrio Presss
- Winarto WP. 2007. *Pengobatan Herbal untuk Kanker Payudara*. Jakarta (ID): Karyasari Herbal Media.
- Yi W, Fischer G, Krewer G, Akoh CC, 2005. Phenolic Compounds From Blueberries Can Inhibit Colon Cancer Cell Proliferation And Induce Apoptosis. *Journal of Agriculturaland Food Chemistry* 53 (18): 7320-7329.

Lampiran 1. Dokumentasi kegiatan



Gambar 1. Sampel sarang semut putih basah



Gambar 2. Pengeringan sampel sarang semut putih basah



Gambar 3. Pengukuran kadar air simplisia sarang semut putih



Gambar 4. Proses maserasi simplisia sarang semut putih



Gambar 5. Proses penyaringan maserat dengan pompa vakum



Gambar 6. Proses pembuatan ekstrak etanol 70% dan 96% sarang semut putih dengan *rotatory evaporator*



Gambar 7. Proses pembuatan ekstrak akuades sarang semut putih dengan *rotatory evaporator*

Lampiran 2. Hasil uji fitokimia ekstrak

Uji	Gambar
Ekstrak Akuades	
Alkaloid	
Dragendorf	
Meyer	
Wagner	
Tanin	
Flavonoid	

Saponin



Steroid

Triterpenoid



Ekstrak Etanol 70%

Alkaloid

Dragendorf

Meyer

Wagner



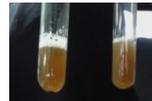
Tanin



Flavonoid



Saponin



Steroid

Triterpenoid



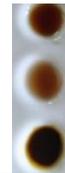
Ekstrak Etanol 96%

Alkaloid

Dragendorf

Meyer

Wagner



Tanin



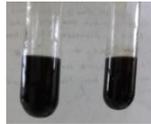
Flavonoid



Saponin



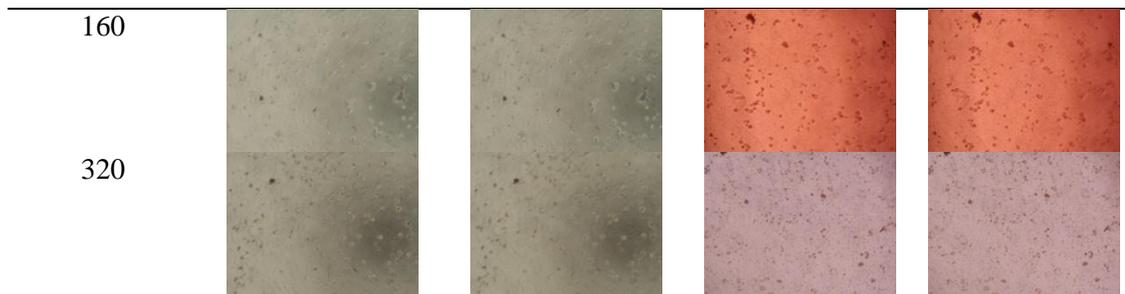
Steroid



Triterpenoid

Lampiran 3. Hasil uji *invitro* ekstrak etanol sarang semut putih terhadap penghambatan proliferasi sel MCF-7 dan sel Hela

Sampel (ppm)	Sel MCF-7		Sel Hela	
	1	2	1	2
Kontrol 1				
Kontrol 2				
10				
20				
40				
80				



Lampiran 4. Realisasi biaya kegiatan PKM-P

Tanggal	Jenis belanja	Pembelangan	Jumlah
24 Februari 2014	Belanja bahan	Pembelian sarang semut putih	Rp 700.000
3 Maret 2014	Belanja bahan	Penyewaan Labolabrium	Rp 450.000
11 Maret 2014	Honorarium petugas	Pembayaran jasa penggilingan	Rp 150.000
14 Maret 2014	Belanja bahan	Pembelian Aluminium Foil	Rp 15.000
15 Maret 2014	Belanja bahan	Pembelian Etanol 70%.	Rp 44.000
17 Maret 2014	Belanja bahan	————— 96%	Rp 50.000
1 Juli 2014	Honorarium petugas	Pembayaran jasa pengujian antiKanker secara in vitro	Rp 3.600.000
6 Juni 2014	—————	Pencetakan poster	Rp 70.000
5 Juni 2014	—————	Pencetakan laporan kemajuan	Rp 121.000
	—————	Penyewaan Lab. diluar jam kerja	Rp 50.000
			<u>Rp 5.290.000</u>
	Pemasukkan		Rp 3.000.000
	Dana Talangan IBS		Rp 2.290.000
	————— Anggota		<u>Rp 5.290.000</u>

Potensi Antikanker Suang Beras

No. _____
Telah terima dari Munawir
Uang sejumlah Semua biaya pembelian bahan-bahan
Untuk pembayaran pembuatan senbuh suang beris
Rp. 150.000
Bayan. 13-03-14
(Sipriada)

No. _____
Telah terima dari Carliha
Uang sejumlah Amo untuk biaya suwah
Untuk pembayaran gases organasi
Rp. 50.000
24 Maret 2014
Setiawan



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
PUSAT STUDI SATWA PRIMATA
Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Institut Pertanian Bogor

Primate Research Center-Bogor Agricultural University
Jalan Lodaya II No. 5 Bogor 16151
Tel. +62-251-8320417, 8313637 Fax. 62-251-8360712

HASIL UJI

Pengirim Sampel : I.D.A Ayu Carlita A
Departemen Biokimia IPB
Penerimaan sampel : 23 Juni 2014
Tanggal Uji : 30 Juni – 3 Juli 2014
Sel yang digunakan : Sel MCF-7 (*ATCC HTB 22*)
Sel HeLa (*ATCC CCL 2*)
Pelarut ekstrak : Media penumbuh sel
Media penumbuh sel MCF7 : RPMI 1640, Fetal Bovine Serum (FBS) 10%
dan Penicillin 100U/mL,
Streptomycin 100 ug/mL
Media penumbuh sel HeLa : DMEM, Fetal Bovine Serum (FBS) 10%
dan Penicillin 100U/mL,
Streptomycin 100 ug/mL

Metode

Sel MCF7 dan sel HeLa ditumbuhkan dengan konsentrasi 5000 sel dalam 100ul media penumbuh. Ekstrak ditambahkan setelah sel mencapai konfluen 50% (24 jam). Uji MTT dilakukan pada hari ke 3, dengan menambahkan MTT (5mg/mL) sebanyak 10 ul per sumur, inkubasi 4 jam pada suhu 37°C. Kristal formazan dilarutkan dalam etanol. Pembacaan nilai absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 595 nm.

**Hasil
Terlampir**

Penanggung jawab
Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi

Silmi Mariya, S.Si, M.Si

Mengetahui,
Kepala UPT Laboratorium

Dr. drh. Diah Iskandriati