



**LAPORAN AKHIR
PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA**

**PESONA EKSOTIKA BATANG BUNGA MATAHARI (*Helianthus annuus L.*)
SEBAGAI ANTIKANKER KOLON DAN UJI SITOTOKSIK**

**BIDANG KEGIATAN:
PKM-P**

Diususun oleh:

Nurul Syifa	G84090079	2009
Rina Novianti	G84090040	2009
Nasruddin	G84090001	2009
Azka Rabbani	G84100079	2010

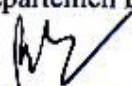
**INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2013**

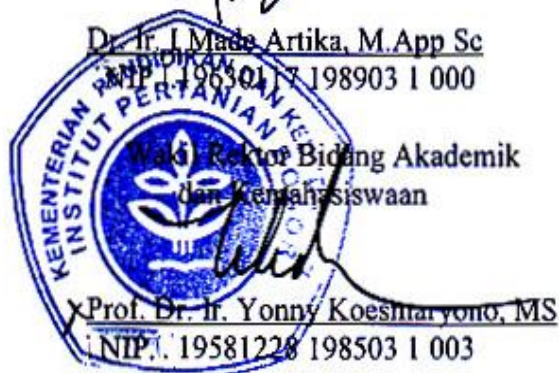
HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul Kegiatan : Pesona Eksotika Bunga Matahari (*Helianthus Annuus L.*) sebagai antikanker kolon WiDR dan Uji Sitotoksik
2. Bidang kegiatan : PKM-P PKM-K PKM-KC
 PKM-T PKM-M
3. Ketua Pelaksana Kegiatan
- a. Nama Lengkap : Nurul Syifa
b. NIM/NRP : G84090079
c. Jurusan : Biokimia
d. Universitas/Institut : Institut Pertanian Bogor
e. Alamat Rumah/HP : Jl. Ahmad Yani Gg. Mesjid 1 Rt. 04/04 No.44/085771077797
f. Alamat Email : syifa.nurul23@gmail.com
4. Anggota Pelaksana Kegiatan : 3 orang
5. Dosen Pendamping
- a. Nama Lengkap dan Gelar : Dr. Syamsul Falah, S.Hut, M.Si
b. NIDN : 0005037012
c. Alamat Rumah/No. HP : Jl. Abesin Gg. Langgar II No 28 Rt/Rw 02/04 Cibogor, Bogor / Hp 081210832207
d. Alamat E-mail : syamsulfalah@yahoo.com
6. Biaya Kegiatan Total
- a. DIKTI : Rp 8.000.000,00.
b. Sumber lain : -
7. Jangka Waktu Pelaksanaan : 4 Bulan

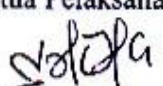
Bogor, 26 Juni 2013

Menyetujui,
Ketua Departemen Biokimia

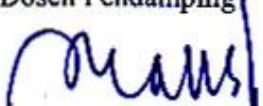

Dr. Ir. I Made Artika, M.App Sc
NIP. 196301171989031000



Ketua Pelaksana


Nurul Syifa
NIM.G84090079

Dosen Pendamping


Dr. Syamsul Falah, S.Hut, M.Si
NIDN. 0005037012

ABSTRAK

kanker kolon secara dominan dipicu oleh gaya hidup dan pola makan yang tidak sehat. Pengobatan kanker kolon biasanya dilakukan dengan kemoterapi, radioterapi, hipertermia dan imunoterapi menimbulkan efek samping yang berbahaya pada sel normal. Oleh karena itu, pemanfaatan tanaman herbal perlu digunakan sebagai obat alternatif dengan efek samping yang minimal. Salah satunya adalah batang bunga matahari (*Helianthus annuus* L.). penelitian ini bertujuan menentukan dan mengetahui aktivitas antikanker ekstrak sumsum batang bunga matahari terhadap sel kanker kolon secara *in vitro* dan sitotoksinya terhadap sel normal. Tahapan penelitian ini meliputi ekstraksi maserasi dengan pelarut air, etanol 30%, dan etanol 70%, analisis fitokimia, uji sitotoksik dan uji aktivitas anti kanker menggunakan MTT assay. Hasil pengukuran menunjukkan rendemen ekstrak air sebesar 7%, etanol 30% sebesar 6%, sedangkan rendemen ekstrak etanol 70% sebesar 13%. Hasil analisis fitokimia menunjukkan bahwa batang bunga matahari mengandung alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin. Nilai IC_{50} uji sitotoksik ekstrak air, etanol 30% dan 70% terhadap sel Chang masing-masing sebesar 1813.89, 1762.696, 1499.22 ppm, dan hasil uji aktivitas antikanker terhadap sel HCT116 masing-masing ekstrak sebesar 120.12, 390.23, dan 463.36 ppm. Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak bersifat tidak toksik terhadap sel normal ($IC_{50} > 1000$ ppm) aktivitas antikanker dari ekstrak air mendekati konsentrasi moderat aktif sebagai antikanker.

A. TARGET LUARAN

1. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini menentukan dan mengetahui aktivitas antikanker ekstrak sumsum batang bunga matahari terhadap sel kanker kolon secara *in vitro* dan sitotoksinya terhadap sel normal.

2. Luaran

Hasil penelitian ini dapat dijadikan jurnal ilmiah bidang kesehatan tentang aktivitas antikanker bunga matahari terhadap sel kanker kolon dan sitotoksik terhadap sel normal. Selain itu, dihasilkan produk herbal antikanker yang memiliki efektifitas tinggi tanpa disertai efek samping.

B. TINJAUAN PUSTAKA

KANKER

Kanker merupakan penyakit yang disebabkan oleh perubahan sel-sel tubuh yang tidak normal. Pertumbuhan yang tidak terkendali tersebut disebabkan kerusakan DNA akibat mutasi di gen vital yang mengontrol pembelahan sel. Secara umum dinyatakan bahwa perkembangan kanker kolon merupakan interaksi berbagai faktor yakni faktor lingkungan dan genetik. Faktor lingkungan yang multiple bereaksi terhadap predisposisi genetik atau defek yang didapat dan berkembang menjadi kanker kolon dan retum. Selain itu faktor yang memicu kanker kolon adalah gaya hidup modern yang mengutamakan makanan cepat saji

yang mengandung lemak tinggi, kurangnya aktivitas fisik seperti olahraga karena kesibukan, terpapar zat karsinogenik dan faktor keturunan (Dalimartha, 2003). Pengobatan antikanker operasi pada bagian saluran cerna seperti lidah, mandibula, faring, esophagus, lambung dapat menurunkan kemampuan menelan dan pencernaan makanan (Trujillo, 2005).

Sitotoksik merupakan salah satu sifat dasar yang diharapkan pada obat-obat antikanker, maka metoda uji sitotoksik dapat digunakan untuk menentukan apakah senyawa atau ekstrak berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antikanker ataukah tidak sama sekali. Nilai ketoksikan suatu zat dapat dilihat dari nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ menunjukkan konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel (Meiyanto, 2002).

BUNGA MATAHARI (*Helianthus annuus* L.)

Salah satu tanaman herbal yang biasa digunakan dalam pengobatan adalah bunga matahari. Pemanfaatan bunga matahari selama ini lebih cenderung pada bagian bunga atau biji, sedangkan batang bunga matahari jarang dimanfaatkan dalam pengobatan. Minyak bunga matahari (setelah mengalami proses ekstraksi) biasanya digunakan sebagai bahan baku kosmetik, bahan tambahan pangan serta bahan baku suplemen kesehatan karena mengandung vitamin, mineral dan asam lemak esensial (Galucio *et al.* 2011; NAS 2013). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kandungan hemiselulosa sumsum batang bunga matahari berperan sebagai anti tumor kolon pada tikus percobaan (Barlow *et al.* 2012). Namun, penelitian tentang potensi batang bunga matahari sebagai antikanker kolon belum pernah dilakukan.

C. METODE

Tahapan metode yang dilakukan pada penelitian ini antara lain :

1. Penyiapan sampel

Sebanyak 5 Kg berat basah batang bunga matahari dipotong kecil-kecil memanjang dengan diameter 0.5 cm, kemudian dikeringkan pada suhu 60 °C selama dua hari. Sampel yang sudah kering kemudian digiling dengan mesin penggiling hingga menjadi serbuk berukuran 100 mesh.

2. Ekstraksi batang bunga matahari

Ekstraksi menggunakan prosedur maserasi menggunakan pelarut air, etanol 30% dan etanol 70%. Simplisia sebanyak 20 gr dimasukan kedalam Erlenmeyer kemudian ditambahkan pelarut masing-masing 200 ml (1:10) diamkan selama 3x24 jam. Filtrate disaring menggunakan kertas saring dan kemudian dikumpulkan. Cairan hasil ekstraksi ini dipekatkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak pekat.

3. Analisis fitokimia

Uji alkaloid. Sebanyak 0.1 gram masing-masing 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 Meyer dan Wagner. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih oleh pereaksi Meyer dan endapan coklat oleh pereaksi Wagner.

Uji saponin dan flavonoid. Sebanyak 1 gram masing-masing ekstrak dimasukan dalam gelas piala kemudian ditambahkan 100 ml air panas dan dididihkan 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 masing-masing ekstrak ekstrak ditambahkan 2 mL air kemudian dididihkan selama beberapa menit. Lalu disaring dan filtratnya ditambah 1 tetes FeCl_3 1% (b/v). warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tannin.

Uji Terpenoid dan Steroid. Sebanyak 0.1 gram masing-masing ekstrak ditambah 2 mL etanol 30% lalu dipanaskan dan disaring. Filtratnya diuapkan kemudian ditambah eter 1:1. Lapisan eter ditambah pereaksi Liebermann Burchard (3 tetes asam asetat anhidrida dan 1 tetes H_2SO_4 pekat). Warna merah dan warna hijau menunjukkan adanya terpenoid dan warna hijau menunjukkan adanya steroid.

4. Uji sitotoksik terhadap sel Chang

Pada sel chang menggunakan metode MTT *assay*. Sel chang (ATCC CCL 81) ditumbuhkan dalam media DMEM, dilengkapi dengan 10% FBS (*Fetal Bovine Serume*), penicillin 100 U/ml, dan streptomisin 100 $\mu\text{g/ml}$. Sel (2×10^3 sel per sumur) di kultur dalam *mikroplate* berisi 100 μL media pertumbuhan per sumur dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 dan atmosfer 5% CO_2 .

Pengujian sitotoksisitas secara kolorimetri menggunakan reagen MTT. Ekstrak air, etanol 30% dan etanol 70% batang matahari sebanyak 100 μL pada berbagai konsentrasi ditambahkan ke dalam kultur sel sehari setelah transplantasi. Konsentrasi ekstrak batang matahari yang digunakan untuk perlakuan terhadap sel chang adalah 7.81,15.63,31.25,62.5, 125, 250, 500, dan 1000 ppm, sel yang tidak mendapat perlakuan ekstrak batang matahari dijadikan sebagai kontrol selanjutnya sel diinkubasi selama 48 jam. Pada hari ketiga ditambahkan 10 μL per sumur reagen MTT konsentrasi 5 mg/ml. Setelah 4 jam inkubasi ditambahkan 100 μL larutan 0.1 N HCl-isopropanol ke dalam tiap sumur untuk melarutkan kristal formazan yang terbentuk. Pengukuran densitas optik dilakukan menggunakan *mikroplate reader* pada panjang gelombang 562 nm. Semua tahapan dilakukan triplo.

5. Uji Aktivitas Antiproliferasi ekstrak batang matahari terhadap sel kanker kolon

Uji aktivitas antikanker secara *in vitro* pada sel kanker kolon 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 $\pm 95\%$.

Pengujian secara kolorimetri menggunakan 3-(4-,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium bromida (MTT) digunakan untuk menentukan proliferasi dan viabilitas sel. Ekstrak batang matahari sebanyak 100 µL pada berbagai konsentrasi (IC₅₀, 1/2 IC₅₀, 1/4 IC₅₀, 1/8 IC₅₀, 1/16 IC₅₀ sel chang) 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 batang matahari. setelah 48 jam ditambahkan 10 µL/sumur reagen MTT konsentrasi 5 mg/ml per sumur. Setelah 4 jam inkubasi ditambahkan 100 µL larutan 0.01 N HCl dalam isopropanol ke dalam tiap sumur. Pengukuran densitas optik dilakukan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 562 nm. Semua tahapan dilakukan duplo.

D. PELAKSANAAN PROGRAM

WAKTU DAN TEMPAT PELAKSANAAN

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan selama 5 bulan. Pelaksanaan kegiatan ini bertempat di Laboratorium PAU IPB dan Laboratorium Pusat Studi Satwa Primata IPB, Bogor.

TAHAPAN PELAKSANAAN

Tahap	Kegiatan	Presentase Kegiatan	Presentase Pelaksanaan	Jadwal kegiatan
Tahap 1	Preparasi sampel bunga matahari Ekstraksi batang matahari (akuades, etanol 30% dan etanol 70%)	30%	30%	8 Maret – 10 April 2013
Tahap 2	Analisis fitokimia (Alkaloid, Flavonoid, Tanin, Saponin) Uji sitotoksik terhadap sel vero	35%	65%	15 April – 3 Mei 2013
Tahap 3	Pengujian ekstrak akuades, etanol 30%, dan etanol 70% sebagai antikanker kolon HCT	35%	100%	1 Juli – 5 Juli 2013

RINCIAN PENGELUARAN BIAYA

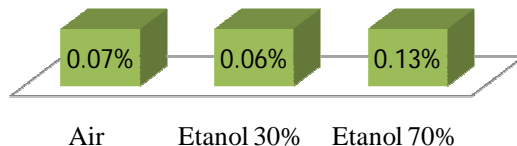
No	Keterangan kegiatan	Biaya
1	Preparasi sampel, alat dan bahan	
	- Bunga matahari (133 batang)	Rp 675.000
	- Penggilingan	Rp 30.000
	- Kering oven	Rp 8.000
	- Aquades	Rp 18.500
	- Etanol 70%	Rp 105.000
	- N-hexan	Rp 35.000
	- Kertas saring	Rp 32.000
	- Corong	Rp 80.000
	- Box plastic	Rp 35.000
	- Erlenmeyer 500 mL	Rp 120.000
	- Gelas ukur 100 mL	Rp 85.000
2	Ekstraksi batang bunga matahari	
	Rotav	Rp 500.000
3	Analisis fitokimia	Rp 400.000
4	Uji sitotoksik sel Chang	Rp 2.500.000
5	Uji sel kanker HCT116	Rp 2.500.000
6	Transportasi dan uang makan	Rp 500.000
7	Alat tulis kantor dll	
	- Log book	Rp 12500
	- Pulpen	Rp 3500
	- Pulsa modem	Rp 50000
	- Baterai foto	Rp 9000
	- Scan nota dan logbook	Rp 19000
	- Print, burning laporan kemajuan	Rp 25000
8	Determinasi	Rp 30000
9	Biaya poster	Rp 300000
10	Penerbitan jurnal	Rp 250000
	TOTAL	Rp 7.571.500

Peruntukan sisa biaya

Keterangan kegiatan	biaya
Analisis uji flavonoid	Rp 720000
Administrasi lab	Rp 400000
Transportasi ke LIPI	Rp 30000
TOTAL	Rp 1.150.000

E. KETERCAPAIAN TARGET

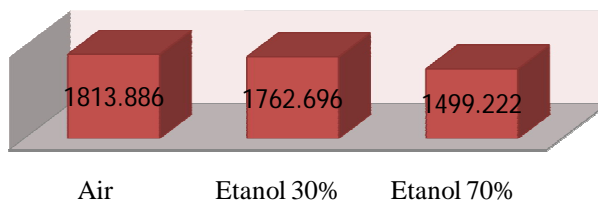
1. Hasil penelitian yang telah dicapai adalah sebagai berikut :



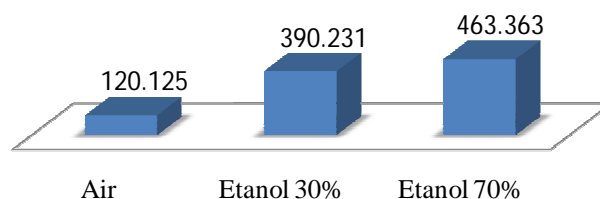
Gambar 1 Rendemen ekstrak batang bunga matahari

Tabel 1 uji fitokimia ekstrak batang matahari

Sampel	Uji	Hasil
Ekstrak air (Gambar 1)	Alkaloid	+
	Saponin	+
	Flavonoid	+
	Tanin	+
	Terpenoid	-
	Steroid	-
Ekstrak etanol 30% (Gambar 2)	Alkaloid	+
	Saponin	-
	Flavonoid	+
	Tanin	+
	Terpenoid	-
	Steroid	-
Ekstrak etanol 70% (Gambar 3)	Alkaloid	+
	Saponin	-
	Flavonoid	+
	Tanin	+
	Terpenoid	-
	Steroid	-



Gambar 2 Hasil pengukuran IC₅₀ (ppm) pada uji sitotoksitas



Gambar 3 Hasil perhitungan nilai IC₅₀ (ppm) pada uji aktivitas antikanker

1. Pembahasan

Analisis fitokimia merupakan tahapan identifikasi metabolit sekunder secara kualitatif ekstrak batang bunga matahari dengan pelarut yang berbeda. Komponen bioaktif yang diidentifikasi, yaitu: alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, terpenoid dan steroid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak batang bunga matahari dengan pelarut berbeda mengandung jenis metabolit sekunder yang berbeda (tabel 1). Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak air batang bunga matahari mengandung saponin, tanin, steroid dan terpenoid. Hasil yang berbeda diperoleh pada analisis fitokimia ekstrak etanol 30% batang bunga matahari, ekstrak etanol 30% batang bunga matahari mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan steroid. Sedangkan hasil analisis fitokimia pada ekstrak etanol 70% batang bunga matahari menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan steroid.

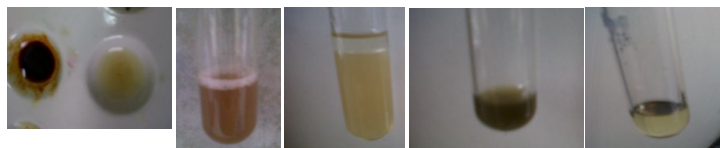
Tahapan perhitungan IC₅₀ berkaitan dengan hasil pengukuran uji toksisitas ekstrak batang bunga matahari terhadap sel Chang (sel normal). Uji toksisitas perlu dilakukan untuk mengidentifikasi tingkat toksisitas ekstrak terhadap sel normal. Sel yang digunakan dalam pengujian ini adalah sel Chang. Pengujian ini berkaitan dengan keamanan penggunaan ekstrak. Pengujian dilakukan secara bertingkat, berdasarkan konsentrasi ekstrak (1000 ppm, 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62.5 ppm, 31.25 ppm, 15.63 ppm dan 7.81 ppm). Hasil perhitungan IC₅₀ pada ekstrak batang bunga matahari dari pelarut yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda (Gambar 2). Nilai IC₅₀ masing-masing ekstrak (ekstrak air, ekstrak etanol 30% dan ekstrak etanol 70%) berbeda satu sama lain. Nilai IC₅₀ ekstrak air sebesar 1813.886 ppm. Hasil pengukuran IC₅₀ ekstrak etanol 30% batang bunga matahari menunjukkan nilai yang lebih kecil dibandingkan ekstrak air, yaitu sebesar 1762.696 ppm. Sedangkan hasil pengukuran IC₅₀ ekstrak etanol 70%, yaitu sebesar 1499.222 ppm.

Hasil pengujian antikanker menunjukkan pengaruh yang berbeda pada setiap ekstrak terhadap sel kanker. Korelasi antara konsentrasi ekstrak dan daya inhibisi terhadap sel kanker cenderung bersifat positif. Berdasarkan persamaan eksponensial, IC₅₀ ekstrak air sebesar 120.125 ppm; IC₅₀ ekstrak etanol 30% sebesar 390.231 ppm; sedangkan IC₅₀ ekstrak 70% sebesar 463.363 ppm (Gambar 3).

F. DAFTAR PUSTAKA

- [NAS] National Academy of Sciences. 2012. *Ethical and Scientific Issues in Studying the Safety of Approved Drugs*. Washington: The National Academies Press.
- Barlow DJ *et al.* 2012. In-silico Studies in Chinese Herbal Medicines' Research: Evaluation of In-silico Methodologies and Phytochemical Data Sources, and a Review of Research to Date. *Journal of Ethnopharmacology*. 140 (2012):524-534.
- Dalimartha S. 2003. Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Kanker; Seri Agrohehat. Jakarta: Penebar Swadaya. halaman 1-5, 76-77.
- Galucio *et al.* 2011. Physicochemical Characterization of Monoacylglycerols from Sunflower Oil. *Procedia Food Science* 1 (2011):1459 – 1464.
- Trujillo EB, Bergerson ASL, Graf JC, Mechael M (2005): Cancer. In: The American Society for Parenteral and Enteral Nutrition Support Practice Manual. pp 150-170.

LAMPIRAN



Gambar 4 Uji Fitokimia Ekstrak air (alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, terpenoid/ steroid)

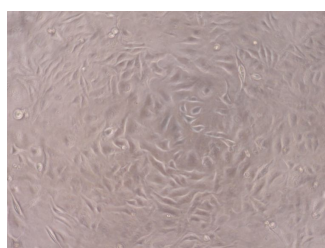


Gambar 5 Uji Fitokimia Ekstrak Etanol 30% (alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, terpenoid/ steroid)

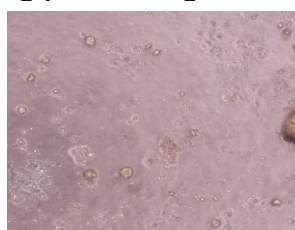


Gambar 6 Uji Fitokimia Ekstrak Etanol 70% (alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, terpenoid/steroid)

Gambar 7 Sel Chang pada berbagai konsentrasi ekstrak



Sel Chang normal



Ekstrak 1000 ppm



Ekstrak 500 ppm

