

**EFEK SITOTOKSIK DAN PENGHAMBATAN KINETIKA
PROLIFERASI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN KETAPANG
(*Terminalia catappa*) DAN DOXORUBICIN TERHADAP SEL KANKER
SERVIKS HeLa**



SKRIPSI

**Skripsi diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
memperoleh gelar Sarjana Farmasi**

**BINARIPAN SEPTIADI
1308010053**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PURWOKERTO
2017**

HALAMAN PERSETUJUAN


**EFEK SITOTOKSIK DAN PENGHAMBATAN KINETIKA
PROLIFERASI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN KETAPANG
(*Terminalia catappa*) DAN DOXORUBICIN TERHADAP SEL KANKER
SERVIKS HeLa**

BINARIPAN SEPTIADI

1308010053

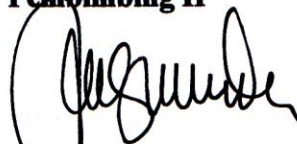
Telah diperiksa dan disetujui oleh :

Pembimbing I



(Dr. Nunuk Aries Nurulita, M. Si., Apt.)
NIK. 2160217

Pembimbing II



(Elza Sundhani, M. Sc., Apt.)
NIK. 2160494


HALAMAN PENGESAHAN

**EFEK SITOTOKSIK DAN PENGHAMBATAN KINETIKA
PROLIFERASI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN KETAPANG
(*Terminalia catappa*) DAN DOXORUBICIN TERHADAP SEL KANKER
SERVIKS HeLa**

**BINARIPAN SEPTIADI
1308010053**

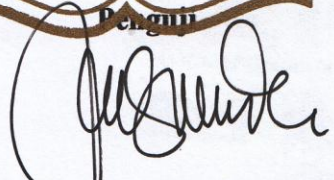
**Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Skripsi
Pada hari Selasa tanggal 01 Agustus 2017**

SUSUNAN PANITIA



Ketua
(Dr. Asmiyenti D. Aliasrin Djalil, M.Si.)
NIP. 19740122 200012 2 001

Sekretaris
(Dwi Hartanti, M. Farm., Apt.)
NIK. 2160348

Pengantar

(Elza Sunahani, M. Sc., Apt.)
NIK. 2160494

**Mengetahui
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Purwokerto**




(Dr. Agus Siswanto, M.Si., Apt.)
NIK. 2160309

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Binaripan Septiadi
NIM : 1308010153
Program Studi : Farmasi
Fakultas : Farmasi
Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Purwokerto

menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya dan semua sumber baik dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar serta bukan hasil penjiplakan dari karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan apabila kelak dikemudian hari terbukti ada unsur penjiplakan, saya bersedia menanggungjawabkan sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Purwokerto, 01 Agustus 2017

Yang membuat pernyataan



Binaripan Septiadi
1308010053

MOTTO

“Barang siapa yang menghendaki kehidupan dunia maka wajib baginya memiliki ilmu, dan barang siapa yang menghendaki kehidupan akherat, maka wajib baginya memmiliki ilmu, dan barang siapa yang menghendaki keduanya maka wajib baginya memiliki ilmu”

(HR. Tirmidzi)

“Kesuksesan hanya dapat diraih dengan segala upaya dan usaha yang disertai doa, karena sesungguhnya nasib seorang tidak akan berubah dengan sendirinya kecuali dengan usaha”



HALAMAN PERSEMBAHAN

1. Terkhusus dan paling special untuk kedua orang tuaku tercinta Tawun. S.p dan Suriyah. Amd. Keb, Terima kasih untuk dorongan dan semangatnya baik moril maupun materiil. Terima kasih untuk kasih sayang yang selalu diberikan kepadaku, semoga apa yang aku persembahkan ini bisa membuat Bapak dan Ibu bangga padaku.
2. Untuk yang kedua kakakku dan adikku tersayang Kun Amelia Sari. S.Kom, Wawan Yulianto. S.Farm.,Apt dan Kun Dewi Oktari. Terima kasih atas *support* yang telah diberika dan terima kasih juga untuk kasih sayangmu yang telah diberikan kepadaku.
3. Teman-temanku Erika, Dyfa, Senja, Euis, Vinda, Bani, Kun, Indri, Fatin, Randika, Ade, Firdan, Said, Muliastri, Anisa, Lupita, Topik, dan tim kultur. Terima kasih untuk semua hal menyenangkan dan melelahkan selama 4 tahun ini.
4. Untuk semua teman-teman Farmasi angkatan 2013, dan teman-teman yang tidak bisa disebutkan satu persatu, senang bisa mengenal kalian semua. Semoga kita semua bisa menjadi orang yang sukses dunia akhirat. Amin
5. Terima kasih untuk semua pihak yang sudah membantu dan memberikan informasi dan *support* dalam penulisan skripsi ini.

EFEK SITOTOKSIK DAN PENGHAMBATAN KINETIKA PROLIFERASI KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN KETAPANG (*Terminalia catappa*) DAN DOXORUBICIN TERHADAP SEL KANKER SERVIKS HELA

Binaripan Septiadi¹, Nunuk Aries Nurulita², Elza Sundhani²

ABSTRAK

Kanker serviks merupakan salah satu penyakit dengan tingkat prevalensi yang tinggi. Doxorubicin merupakan salah satu agen kemoterapi yang sering digunakan dalam terapi kanker serviks. Doxorubicin memiliki efek samping yang tinggi, sehingga perlu agen ko-kemoterapi dari alam yang dapat mengurangi efek samping. Ekstrak daun ketapang menunjukkan efek toksik terhadap beberapa sel kanker. Untuk meningkatkan efektivitas doxorubicin, dilakukan pengembangan terapi kombinasi dengan menggunakan ekstrak etanol daun ketapang (EEDK). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efek sitotoksik tunggal dan kombinasi doxorubicin dan EEDK pada sel kanker serviks HeLa, serta menentukan kemampuan penghambatan proliferasi sel kanker serviks HeLa. Uji sitotoksik yang dilakukan dengan menggunakan metode MTT memberikan nilai IC_{50} doxorubicin $3,4 \mu\text{M}$ dan EEDK $640 \mu\text{g/mL}$. Kombinasi doxorubicin dan EEDK dapat menurunkan viabilitas sel secara signifikan dibandingkan dengan perlakuan tunggal. Pengamatan kinetika proliferasi sel dengan metode *doubling time* menunjukkan bahwa kombinasi doxorubicin dan EEDK dapat menghambat proliferasi sel sampai jam ke-72 dengan penghambatan yang tidak berbeda dibandingkan perlakuan doxorubicin dan EEDK tunggal. Kombinasi doxorubicin dan EEDK sebagai agen ko-kemoterapi kanker serviks dapat menghambat proliferasi sel kanker serviks HeLa.

Kata Kunci: *Doxorubicin, daun ketapang, kanker serviks, ko-kemoterapi,*

**CYTOTOXIC EFFECT AND PROLIFERATION KINETICS IMPEDING
OF THE COMBINATION OF ETHANOL EXTRACTS OF KETAPANG
(*Terminalia Catappa*) LEAVES AND DOXORUBICIN TO THE HELA
CELLS OF CERVIX CANCER**

Binaripan Septiadi¹, Nunuk Aries Nurulita², Elza Sundhani²

ABSTRACT

Cervix Cancer is one of the diseases with high prevalence. Doxorubicin is one of the chemotherapy agents frequently used for curing the cervix cancer. Unfortunately it has a severe negative effect; it is necessary to have co-chemotherapy to reduce the adverse reaction. The extract of ketapang leaves have been proved to possess toxic effects against some cancer cells. To improve the affectivity of doxorubicin, the development was done by combining it with the ethanol extracts of the ketapang leaves. This research was done to determine the cytotoxic effect of the doxorubicin and its combination with the extract to the HeLa cancer cells and to measure its potential to block the cell proliferation. The cytotoxic test was conducted using MTT method, and the observation of proliferation employed a doubling time method. Based on the analysis, the IC₅₀ value of doxorubicin is 3,4 µM and that of EEDK is 640 µg/mL. Their combination can significantly decrease the cell viability compared to that of individual agent. Furthermore, the combination can block the cell proliferation to the level of 72nd hour, which is not different from the individual treatment. Thus, the combination as the agent of co-chemotherapy for the cervix cancer can impede the proliferation of HeLa cell.

Keywords: *Doxorubicin, ketapang leaves, cervix cancer, co-chemotherapy.*

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin, segala puji syukur tetap tercurah limpahkan atas anugrah dan karunia Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayahNya kepada penulis sehingga penulis dapat menyusun skripsi yang berjudul Efek sitotoksik dan penghambatan kinetika proliferasi kombinasi ekstrak etanol daun ketapang (*Terminalia catappa*) dan doxorubicin terhadap sel kanker serviks HeLa. Sholawat dan salam semoga senantiasa tercurahkan kepada nabi kita, Nabi Muhammad SAW yang telah mengajarkan kepada kita agama islam yang sempurna sebagai anugrah terbesar bagi seluruh umat manusia di dunia ini. Skripsi ini penulis susun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar kesarjanaan pada Program Studi Farmasi di Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

Skripsi ini tidak akan terselesaikan dengan baik dan benar tanpa peran dari berbagai pihak dan berkah dari Allah SWT sehingga kendala-kendala yang dihadapi tersebut dapat diatasi. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada yang terhormat:

- 1 Dr. H. Syamsuhadi Irsyad, S.H., M. H., selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Purwokerto;
- 2 Dr. Agus Siswanto, M.Si., Apt. selaku Dekan Farmasi yang telah memberi berbagai informasi dan bimbingan tentang tata laksana penyusunan skripsi;
- 3 Wahyu Utamingrum, M.Sc., Apt. selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi yang telah memberi berbagai informasi dan bimbingan tentang tata laksana penyusunan skripsi;
- 4 Dr. Nunuk Aries Nurulita, M. Si., Apt. selaku dosen pembimbing I yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan dalam penyusunan skripsi ini;
- 5 Elza Sundhani, M. Sc., Apt. selaku dosen pembimbing II yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan dalam penyusunan skripsi ini;
- 6 Dr. Asmiyenti Djaliasrin Djalil, M.Si., sebagai penguji yang telah memberikan masukan untuk kelayakan skripsi ini;

- 7 Dwi Hartanti, M. Farm, Apt. yang telah memberikan berbagai pertanyaan untuk menguji kelayakan sebagai sarjana Farmasi;
- 8 Bapak dan ibu serta saudara tercinta yang telah memberikan bantuan dan dukungan baik material maupun moral.

Demikianlah mudah-mudahan dengan terselesainya skripsi ini berguna bagi para pembaca pada khususnya dan Program Studi Farmasi umumnya.

Purwokerto, 21 Juli 2017

Penulis

BINARIPAN SEPTIADI

1308010053



RIWAYAT HIDUP

Nama : Binaripan Septiadi
Tempat, tanggal lahir : 18 September 1995
Jenis kelamin : Laki-laki
Agama : Islam
Kewarganegaraan : Indonesia
Status : Belum menikah
Alamat : Bentarsari RT 002 RW 001 Bentarsari, Kecamatan
Salem, Kabupaten Brebes
E-mail : binaripan30@gmail.com
Pendidikan :

1. SD Negeri 1 Bentarsari (2001-2007)
2. SMP Negeri 1 Salem (2007-2010)
3. SMK Semesta Bumiayu (2010-2013)
4. S-1 Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto (2013-2017)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
KATA PENGANTAR	ix
RIWAYAT HIDUP	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Penelitian Terdahulu	4
B. Landasan Teori	5
1. Kanker	5
2. Kanker Serviks	7
3. Siklus Sel.....	8
4. Sel HeLa.....	9
5. Doxorubicin	10
6. Ketapang (<i>Terminalia catappa</i>).....	12
C. Kerangka Konsep	14
D. Hipotesis.....	14

BAB III. METODE PENELITIAN	15
A. Jenis dan Rancangan Penelitian	15
B. Variabel Penelitian	15
1. Variabel Bebas	15
2. Variabel tergantung.....	15
3. Variabel terkontrol	15
C. Definisi Variabel Operasional.....	16
D. Bahan dan Alat.....	16
1. Bahan	16
2. Alat.....	17
E. Tempat dan Waktu Penelitian	14
1. Waktu Penelitian.....	14
2. Tempat Penelitian	14
F. Cara Penelitian	17
1. Identifikasi Tanaman.....	17
2. Pembuatan Simplisia.....	17
3. Pembuatan Ekstrak Kental	17
4. Pembuatan Larutan Uji	17
5. Preparasi sel HeLa	18
6. Uji sitotoksik tunggal dan kombinasi menggunakan metode MTT	18
7. Pengamatan proliferasi sel dengan <i>Doubling Time</i>	19
G. Analisis Hasil	19
1. Analisis IC ₅₀ (<i>Inhibition concentration 50</i>).....	19
2. Analisis Analisis <i>Combination Index</i> (CI)	20
3. Analisis poliferasi sel	20
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
A. Determinasi Tanaman	21
B. Pembuatan Simplisia.....	21
C. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Ketapang (EEDK).....	21
D. Skrining Metabolit Sekunder	23
E. Potensi Sitotoksik Tunggal Doxorubicin dan Ekstrak Etanol Daun Ketapang (<i>Terminalia catappa</i>) Menggunakan Metode MTT...	24

F. Uji Sitotoksik Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Ketapang dan Doxorubicin Menggunakan Metode MTT Assay	27
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	31
A. Kesimpulan	31
B. Saran.....	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Kandungan kimia ketapang	13
Tabel 3.1 Interpretasi Nilai CI	20
Tabel 4.1. Skrining metabolit sekunder EEDK	23



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Siklus sel (sumber: www2.le.ac.uk)	8
Gambar 2.2. Struktur Doxorubicin (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)	
Gambar 2.3. Ketapang	10
Gambar 2.4. Kerangka Konsep	12
Gambar 4.1. Daun ketapang dikeringkan sampai menjadi simplisia. Simplisia daun ketapang diserbuk kemudian sebanyak 250 gram simplisia diekstraksi menggunakan etanol 70% sehingga diperoleh ekstrak sebanyak 84,76 gram dengan randemen sebesar 33,904%.	23
Gambar 4.2. Efek perlakuan EEDK dan Doxorubicin terhadap pertumbuhan sel HeLa. Sebanyak 5×10^3 sel HeLa diinkubasi dengan EEDK dan Doxorubicin selama 24 jam	25
Gambar 4.3. Presentasi % viabilitas sel HeLa vs konsentrasi. (A) Perlakuan EEDK dan (B) Perlakuan Doxorubicin dengan waktu inkubasi 24 jam dilanjutkan dengan MTT pada akhir waktu inkubasi dan ditambahkan <i>stopper</i> SDS setelah 4 jam pemberian MTT	26
Gambar 4.4. Efek perlakuan kombinasi EEDK dan Doxo terhadap viabilitas sel HeLa. Sel diinkubasi selama 24 jam kemudian diberi perlakuan kombinasi EEDK (80-320 $\mu\text{g/ml}$) dan Doxo (0.5-2 μM)	28
Gambar 4.5. Efek perlakuan kombinasi EEDK dan Doxo terhadap viabilitas sel HeLa. Kombinasi EEDK dan Doxo menunjukkan adanya penurunan viabilitas sel yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan EEDK dan Doxo tunggal	28
Gambar 4.6. Efek perlakuan EEDK dan doxorubicin tunggal dan kombinasi terhadap proliferasi sel HeLa. Uji dilakukan dengan menginkubasi $2,5 \times 10^3$ sel HeLa	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Tahapan penelitian	37
Lampiran 2.	Hasil determinasi ketapang	38
Lampiran 3.	Pembuatan ekstrak daun etanol daun ketapang dan perhitungan randemen ekstrak	39
Lampiran 4.	Skrining metabolit sekunder	41
Lampiran 5.	Pemetaan (<i>mapping</i>) uji sitotoksik dan proliferasi sel	42
Lampiran 6.	Perhitungan seri konsentrasi EEDK untuk uji sitotoksik tunggal	43
Lampiran 7.	Perhitungan seri konsentrasi Doxorubicin untuk uji sitotoksik tunggal	45
Lampiran 8.	Perhitungan seri konsentrasi EEDK dan Doxorubicin untuk uji sitotoksik kombinasi	47
Lampiran 9.	Persentase viabilitas sel HeLa pada uji sitotoksik tunggal dan kombinasi	49
Lampiran 10.	Analisis IC50 Doxorubicin dengan metode Probit menggunakan program SPSS 16.0 for windows	52
Lampiran 11.	Analisis IC50 EEDK dengan metode Probit menggunakan program SPSS 16.0 for windows	55
Lampiran 12.	Analisis Combination Index EEDK dan Doxorubicin serta Perbandingan EEDK dan Doxorubicin Anova satu arah	58
Lampiran 13.	Perhitungan konsentrasi EEDK dan Doxorubicin untuk proliferasi sel	62
Lampiran 14.	Analisis hasil pengamatan proliferasi sel	64