

**AKTIVITAS PENGHAMBATAN PROLIFERASI SEL KANKER
SERVIKS OLEH FRAKSI HEKSANA BIJI KECIPIR
(*Psophocarpus tetragonolobus* L.)**

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
Mencapai derajat sarjana S-1



Meinar Kumala Dewi

1108010020

**Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Purwokerto
Purwokerto
2015**

**AKTIVITAS PENGHAMBATAN PROLIFERASI SEL KANKER
SERVIKS OLEH FRAKSI HEKSANA BIJI KECIPIR
(*Psophocarpus tetragonolobus* L.)**

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
Mencapai derajat sarjana S-1



Diajukan Oleh:

Meinar Kumala Dewi

1108010020

**Kepada
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Purwokerto
Purwokerto
2015**

HALAMAN PERSETUJUAN

AKTIVITAS PENGHAMBATAN PROLIFERASI SEL KANKER
SERVIKS OLEH FRAKSI HEKSANA BIJI KECIPIR
(*Psophocarpus tetragonolobus* L.)

SKRIPSI



Diajukan oleh:
Meinar Kumala Dewi
1108010020

Telah diperiksa dan disetujui oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II



Binar Asrining Dhiani, M.Sc., Apt.
NIK. 2160392



Dr. Asmiyenti Djaliasrin Djalil, M.Si.
NIP. 197405222000122001


HALAMAN PENGESAHAN

**AKTIVITAS PENGHAMBATAN PROLIFERASI SEL KANKER
SERVIKS OLEH FRAKSI HEKSANA BIJI KECIPIR
(*Psophocarpus tetragonolobus* L.)**

**Meinar Kumala Dewi
1108010020**

**Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Skripsi
Pada hari Kamis, tanggal 19 Februari 2015**

SUSUNAN PANITIA




Ketua
Dr. Nunuk Aries Nurulita, M.Si., Apt.
NIK. 2160217

Sekretaris
Dwi Haranti, M Farm., Apt.
NIK. 2160399

Penguji I
Binar Asrining Dhiani, M. Sc., Apt.
NIK. 2160392

Penguji II
Dr. Asmiventi Djaliasrin Djaliil, M.Si.
NIP. 197405222000122001

**Mengetahui,
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Purwokerto**



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

PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini, saya :

Nama : Meinar Kumala Dewi

NIM : 1108010020

Program studi : Farmasi

Fakultas/Universitas : Farmasi/Universitas Muhammadiyah Purwokerto

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini adalah hasil dari proses penelitian saya yang telah dilakukan sesuai dengan prosedur penelitian yang benar dengan arahan dari dosen pembimbing dan bukan dari hasil penjiplakan dari hasil karya orang lain atau terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan penulis juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Demikian pernyataan ini, apabila kelak dikemudian hari terbukti ada unsur penjiplakan, maka saya bersedia mempertanggung jawabkan sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Purwokerto, 19 Februari 2015

Yang menyatakan,

Meinar Kumala Dewi

INTISARI

Penyakit kanker serviks merupakan jenis kanker penyebab kematian peringkat pertama pada wanita di Indonesia. Pencarian sumber obat baru untuk menghasilkan senyawa antikanker dari bahan alam terus dilakukan. Salah satu sumbernya yaitu biji kecipir yang merupakan keluarga Fabaceae mengandung isoflavonoid, vitamin, mineral, dan antioksidan. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas sitotoksik fraksi heksana biji *Psophocarpus tetragonolobus* L. terhadap sel kanker serviks HeLa, untuk mengetahui hambatan proliferasi, dan mengetahui mekanisme kematian sel melalui induksi apoptosis. Percobaan dilakukan dengan cara serbuk biji kecipir diekstraksi secara maserasi menggunakan penyari metanol dan dihidrolisis dengan HCl, lalu difraksinasi dengan heksana. Penelitian ini menggunakan fraksi heksana biji kecipir dalam konsentrasi serial yaitu 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 62,5 µg/ml, 31,25 µg/ml, dan 15,625 µg/ml. Uji sitotoksik dilakukan menggunakan metode MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide). Uji proliferasi menggunakan metode *doubling time* dengan waktu 0, 24, 48 dan 72 jam menggunakan fraksi biji kecipir sebanyak 250 µg/ml, 500 µg/ml, dan 1000 µg/ml. Uji apoptosis menggunakan metode *double staining* dengan pengecatan *acridine orange-ethidium bromide*. IC_{50} (*inhibitory concentration*) fraksi heksana biji kecipir dan *doxorubicin* masing – masing adalah 667 µg/ml dan 802,5 µg/ml. Pada uji proliferasi diperoleh penghambatan hingga jam ke-72, yang menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi semakin besar pula menghambat proliferasi. Uji apoptosis diduga melalui mekanisme apoptosis, namun pada penelitian ini belum dapat mendeteksi apoptosis pada tahap yang lengkap. Kesimpulan yang diperoleh yaitu raksi heksana biji kecipir dapat menghambat pertumbuhan sel kanker serviks HeLa dengan aktivitas lebih tinggi dibandingkan dengan *doxorubicin* yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} . Uji proliferasi menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi semakin besar pula dalam menghambat proliferasi. Fraksi heksana biji kecipir juga mampu menginduksi apoptosis.

Kata Kunci: Biji kecipir, *Psophocarpus tetragonolobus* L., sel kanker serviks HeLa, proliferasi sel.

ABSTRACT

Cervical cancer is the first ranks of cancer which cause womens' death in Indonesia. The investigation for finding new drugs to produce anti cancer compounds from plant is very interesting. One of the plant is winged bean seeds which belong to Fabaceae family. It contains isoflavonoids, vitamins, minerals, and antioxidants compounds. Purpose of this study to determine the cytotoxic activity of *Psophocarpus tetragonolobus* L. seed's hexane fraction against HeLa cervical cancer cells, to determine the barriers to proliferation, and knowing the mechanism of cell death through apoptotic induction. This experiment was done by winged bean seed powder was extracted by maceration using methanol and hydrolyzed with HCl then fractionated with hexane. Winged bean fraction in serial concentration of 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 250 µg/ml, 62.5 µg/ml, 31.25 µg/ml, and 15.625 µg/ml, were used in this research. Cytotoxic test performed using MTT (3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay. Proliferation test performed with observation on 0, 24, 48, and 72 hours using 250 µg/ml, 500 µg/ml, dan 1000 µg/ml of winged bean fraction. Apoptotic test using double staining with acridine orange-ethidium bromide. IC₅₀ (*inhibitory concentration*) of winged bean seed's hexane fraction and doxorubicin are 667 µg/ml and 802.5 µg/ml respectively. In the proliferation test, inhibition exhibited up to 72nd (seventy second) hour which indicated that the greater concentration, the greater inhibition. Apoptotic test showed induction of cell death by apoptotic mechanism, but this study had not been able to detect apoptotic in a complete stage. Conclusions obtained by the winged bean seed's hexane fraction was able to inhibit the growth of HeLa cervical cancer cells with higher activity than doxorubicin. Proliferation test showed that the greater concentration, the greater of inhibition. Hexane fraction of winged bean seeds are also able to induce apoptotic.

Keywords: Winged bean seeds, *Psophocarpus tetragonolobus* L., HeLa cervical cancer cells, proliferation cells.

MOTTO

“Lebih baik menyalakan lilin dibandingkan dengan mengutuk kegelapan”

“Adanya kenangan membuat kehilangan seseorang yang berarti dalam hidup kita tak hilang selamanya”

“Mengerti adalah tahu apa yang akan dilakukan, kebijaksanaan adalah tahu apa yang akan dilakukan selanjutnya, keberanian adalah sungguh-sungguh melakukannya” (Tristan Gylberd)



PERSEMBAHAN

Dengan Nama Allah Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang.
Skripsi ini akan penulis persembahkan untuk:

1. Ibu dan Bapak tercinta yang selama ini telah memberikan kasih sayang yang luar biasa besarnya, do'a yang tak pernah berhenti mengiringi dalam setiap langkah kaki dan senantiasa memberikan usaha berupa dukungan serta senyum yang tulus. Terimakasih untuk semua yang telah kalian berikan.
2. Adik tersayang Ghinatia Tyas Amardeni yang selalu mendukung dan setia mendengarkan keluh kesah kakaknya. Terima kasih telah menyayangi kakak selama ini.
3. Dosen pembimbingku (Ibu Binar dan Ibu Asmiyenti) yang selama ini sangat dengan sabar membimbingku, terima kasih.
4. Dosen dan Staf Karyawan Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
5. Bagian dari Fakultas Farmasi Muhammad Azzam, Ero Nadia, Asih Noviana, Arrum, Abdul, Prasetyo, Kartika, Nindita, Intan, Binta, Febby, Dini, Dimas, Ari Faris, Hasan, Wahyu, Yahya, Rihan, bang VJ, Nabial, terima kasih untuk nasehat, semangat dan dukungannya selama ini.
6. Sahabat secepat di Green house Lulu, Nisa, Yuli, Nunung, Desy, Ayu, Tiara, Laras, Lia, Unyil. Terimakasih atas tawa, canda, tangis yang telah kalian berikan selama ini.
7. Kakak-kakakku tercinta Grah Retno, Sri Puji, Noviana Murdiyati, Dina Febrina, Latifah, Yuvika, Agustina Olivia, Siti Mundiya, Lina Purnamasari, Khusnul, Fifi, Uko, terimakasih untuk nasihat dan bimbingannya selama ini.
8. Teman-teman angkatan 2011" B" dan FSOA terkasih yang tidak bisa saya tulis satu persatu.
9. Adik angkatan Kelik, Ratri, Verawaty, Azul, Eka, Esti, Rachmi, Anggi, Yogo, Rizko, Aji.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrohmaannirrohiim..

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian skripsi dengan judul “Aktivitas Penghambatan Proliferasi Sel Kanker Serviks oleh Fraksi Heksana Biji Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* L.)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi syarat dalam memperoleh gelar sarjana S-1 di Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari berbagai pihak, penulis tidak dapat menyelesaikan tugas ini dengan baik. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Drs. H. Syamsuhadi Irsyad, S.H., M.H. selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
2. Dr. Nunuk Aries Nurulita, M.Si., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi.
3. Binar Asrining Dhiani, S.Farm., M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing I dan Dr. Asmiyenti Djaliasrin Djali, M.Si. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan arahan, masukan dan bimbingan dalam penyusunan skripsi ini dengan kesabaran, ketekunan sehingga dapat diselesaikan dengan baik.
4. Seluruh dosen yang telah memberikan ilmunya dan staf karyawan Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
5. Prof. dr. H. Supargiyono, DTMH. S.U., Ph.D., Sp.ParK. yang telah memberikan perkuliahan mengenai kultur sel kepada penulis, sehingga penulis dapat memahami tentang penelitian ini lebih dari sebelumnya.
6. Ibu Rumbiwati selaku teknisi laboratorium parasitologi kedokteran Fakultas Kedokteran UGM yang telah membantu dan dengan sabar membimbing penulis selama penelitian berlangsung.

7. Muhammad Azzam yang telah berjuang bersama, terima kasih atas kerjasama, kesabaran serta suka dukanya selama penelitian berlangsung.
8. Semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satupersatu.

Penulis menyadari dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, untuk itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi perbaikan penelitian di masa mendatang. Semoga Allah SWT senantiasa membalas amal kebaikan yang telah Bapak/Ibu/Saudara berikan, dan harapan penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis sendiri pada khususnya dan bagi semua pihak yang membutuhkan.

Purwokerto, 19 Februari 2015

Penulis,

Meinar Kumala Dewi

RIWAYAT HIDUP

Nama : Meinar Kumala Dewi
TTL : Pemalang, 09 Mei 1993
Orang Tua : Sugiyanto (Ayah), Sri Widati (Ibu)

Pendidikan :

- SD : SD N 1 Kebandaran, tahun 2000 – 2005
- SMP : SMP N 1 Bodeh, tahun 2005 – 2008
- SMA : SMA N 1 Comal, tahun 2008 – 2011
- S1 : Universitas Muhammadiyah Purwokerto, tahun 2011 – 2015

Kegiatan Ilmiah Mahasiswa

- PKM-P (Program Kreativitas Mahasiswa - Penelitian) = Pemanfaatan Biji Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* L.) tahun 2013 (Anggota).

Keanggotaan Organisasi

- Bendahara Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) Fakultas Farmasi periode 2013 – 2014
- Bendahara Seminar Nasional "Obat Off Label" Kerjasama antara BEM Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto dan Ikatan Apoteker Indonesia PC Banyumas tahun 2014
- Anggota Ikatan Senat Mahasiswa Farmasi (ISMAFARSI) periode 2013 – 2014

Kegiatan Kefarmasian

- Asisten praktikum Farmasi Fisika semester gasal tahun 2013 – 2014
- Asisten praktikum Farmasi Fisika semester gasal tahun ajaran 2014 – 2015
- Asisten praktikum Farmakokinetika semester gasal tahun ajaran 2014 – 2015

- Asisten praktikum Farmakologi Kedokteran semester gasal tahun ajaran 2014 – 2015
- Mentor Ilmu Resep Dasar semester gasal tahun ajaran 2013 – 2014
- Mentor Ilmu Resep Dasar semester gasal tahun ajaran 2014 – 2015



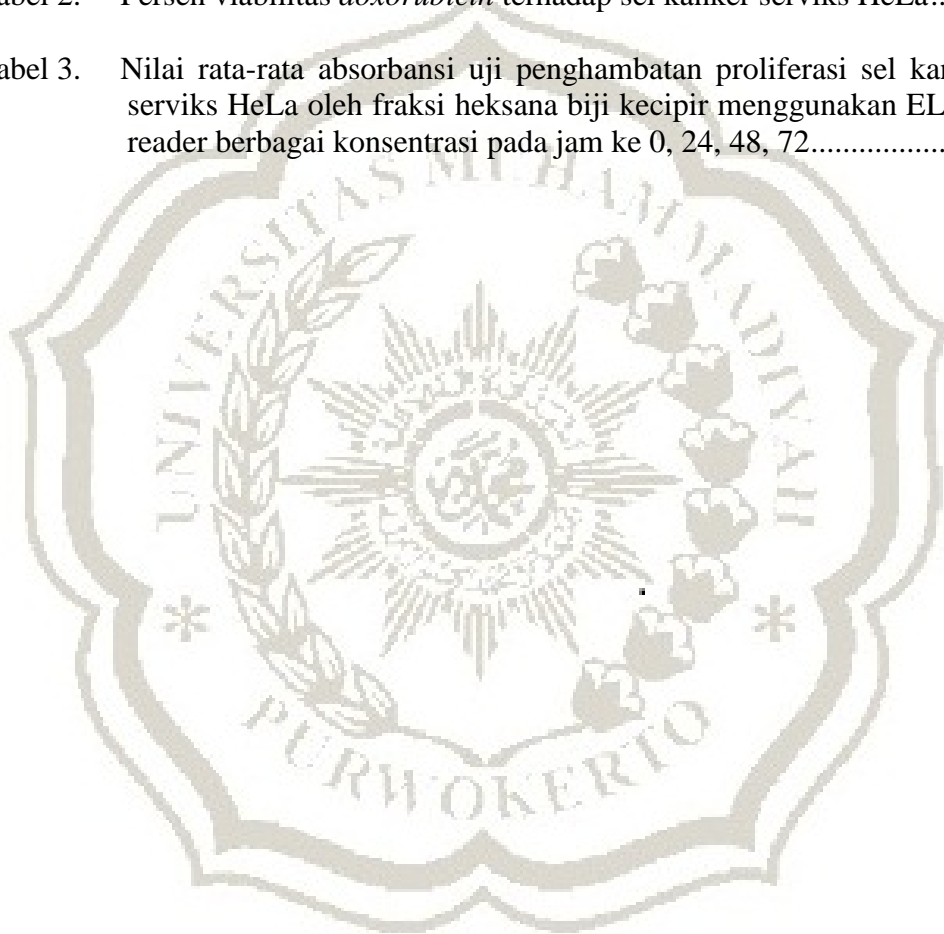
DAFTAR ISI

| DAFTAR ISI | Halaman |
|--|---------|
| DAFTAR TABEL | xv |
| DAFTAR GAMBAR | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvii |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| A. Latar Belakang | 1 |
| B. Perumusan Masalah | 2 |
| C. Tujuan Penelitian | 3 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | |
| A. Kanker | 4 |
| B. Kanker Serviks | 7 |
| C. Sel HeLa | 8 |
| D. Tanaman Kecipir (<i>Psophocarpus tetragonolobus</i> L.)..... | 8 |
| 1. Sistematika Tanaman | 8 |
| 2. Morfologi Tanaman | 9 |
| 3. Kandungan Kimia | 10 |
| 4. Pemanfaatan Tradisional Kecipir | 11 |
| 5. Aktivitas Farmakologi | 11 |
| E. Flavonoid | 11 |
| F. <i>Doxorubicin</i> | 12 |
| G. Proliferasi Sel | 13 |
| H. Apoptosis | 14 |
| 1. Jalur Intrinsik | 15 |
| 2. Jalur Ekstrinsik..... | 16 |
| BAB III METODE PENELITIAN | |
| A. Jenis dan Rancangan Penelitian | 17 |
| B. Variabel Penelitian | 17 |
| C. Definisi Variabel Operasional | 17 |

| | |
|--|----|
| D. Waktu dan Tempat Penelitian | 18 |
| E. Bahan dan Alat | 18 |
| 1. Bahan..... | 18 |
| a. Sel HeLa..... | 18 |
| b. Bahan untuk Uji Sitotoksik | 18 |
| c. Bahan Uji Proliferatif..... | 19 |
| d. Bahan Uji Apoptosis | 19 |
| 2. Alat..... | 19 |
| F. Cara Penelitian | 19 |
| 1. Determinasi Tanaman | 19 |
| 2. Pengumpulan Bahan | 19 |
| 3. Pembuatan Sediaan Uji..... | 20 |
| 4. Uji Sitotoksik menggunakan Metode MTT..... | 20 |
| 5. Uji Proliferasi dengan <i>Doubling Time</i> | 21 |
| 6. Pengamatan Apoptosis..... | 21 |
| G. Analisis Hasil..... | 21 |
| 1. Uji Sitotoksitas | 21 |
| 2. Analisis Proliferasi..... | 22 |
| 3. Analisis Apoptosis | 22 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 23 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN..... | 35 |
| DAFTAR PUSTAKA | 36 |
| LAMPIRAN..... | 40 |

DAFTAR TABEL

| | | |
|----------|---|----|
| Tabel 1. | Persen viabilitas fraksi heksana biji kecipir terhadap sel kanker serviks HeLa..... | 28 |
| Tabel 2. | Persen viabilitas <i>doxorubicin</i> terhadap sel kanker serviks HeLa..... | 28 |
| Tabel 3. | Nilai rata-rata absorbansi uji penghambatan proliferasi sel kanker serviks HeLa oleh fraksi heksana biji kecipir menggunakan ELISA reader berbagai konsentrasi pada jam ke 0, 24, 48, 72..... | 31 |



DAFTAR GAMBAR

| | | |
|------------|--|----|
| Gambar 1. | Struktur dasar isoflavonoid | 12 |
| Gambar 2. | Struktur <i>doxorubicin</i> | 13 |
| Gambar 3. | Siklus sel | 14 |
| Gambar 4. | Skema jalur molekuler secara intrinsik dan ekstrinsik yang menyebabkan apoptosis | 15 |
| Gambar 5. | Reduksi MTT di dalam sel hidup oleh enzim reduktase di dalam mitokondria menghasilkan kristal formazan | 26 |
| Gambar 6. | Efek perlakuan fraksi heksana pada konsentrasi 1000 µg/ml terhadap sel kanker serviks HeLa | 27 |
| Gambar 7. | Morfologi sel HeLa yang digunakan dalam penelitian dengan morfologi HeLa yang digunakan dalam penelitian terdahulu oleh peneliti dari CCRC UGM | 29 |
| Gambar 8. | Grafik persentase konsentrasi fraksi heksana biji kecipir dan <i>doxorubicin</i> vs % viabilitas sel | 30 |
| Gambar 9. | Grafik rata-rata pada uji penghambatan proliferasi sel kanker serviks HeLa hingga jem ke-72 dengan berbagai konsentrasi fraksi heksana..... | 31 |
| Gambar 10. | Induksi apoptosis setelah perlakuan fraksi heksana biji kecipir terhadap sel HeLa..... | 33 |
| Gambar 11. | Ilustrasi morfologi kematian sel secara nekrosis dan apoptosis | 34 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|---|----|
| Lampiran 1. Cara kerja sistematis | 41 |
| Lampiran 2. Tahapan pembuatan fraksi heksana biji kecipir dan perhitungan rendemen ekstrak metanol biji kecipir | 42 |
| Lampiran 3. Hasil determinasi tanaman kecipir (<i>Psophocarpus tetragonolobus</i> L.)..... | 43 |
| Lampiran 4. Pemetaan (<i>mapping</i>) uji sitotoksik dan uji penghambatan proliferasi | 44 |
| Lampiran 5. Perhitungan seri konsentrasi sampel fraksi heksana biji kecipir untuk uji sitotoksik sel kanker serviks HeLa | 45 |
| Lampiran 6. Perhitungan seri konsentrasi <i>doxorubicin</i> untuk uji sitotoksik sel kanker serviks HeLa | 47 |
| Lampiran 7. Persentasi viabilitas sel uji sitotoksik sel | 49 |
| Lampiran 8. Perhitungan IC ₅₀ fraksi heksana biji kecipir dan <i>doxorubicin</i> (waktu inkubasi 24 jam) dengan menggunakan program GraphPad Prism 6 | 50 |