



**PRASKRINING ANTIKANKER EKSTRAK DAUN KEPEL
(*Uvaria burahol*) DENGAN METODE BRINE SHRIMP
LETHALITY TEST**

Asal:	Harfiah	Klass
Terima Tol:	17 JUL 2007	616.958.079
No. Induk:		SRi
KLASIR / PENYALIN:		P

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Fakultas Kedokteran Umum (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

Bina Srimaharani
NIM 012010101023

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2007

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Papa dan Mama tercinta, drs.Tedjo Subagjo dan Karmitun, S.Sos, yang telah mendoakan dan memberikan dorongan, semangat, kasih sayang serta segalanya untukku selama ini;
2. adik-adikku tersayang, Candra, Diana dan Ruri, yang senantiasa memberikan doa dan dukungannya untuk menyelesaikan skripsi ini;
3. *Akhwati fillah* semuanya tak terkecuali, yang selalu menyemangati baik dalam dakwah maupun dalam menyelesaikan skripsi ini, *uhibuki fillah*;
4. guru-guruku sejak TK sampai SMU dan dosen-dosen FK, yang telah memberikan ilmu dan membimbing dengan penuh kesabaran;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
6. sobat-sobatku di FK UNEJ.

MOTTO

“Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat”.

(TQS. Al-Mujadalah:11)

“Dan bila aku sakit, maka (DIA) Allah yang menyembuhkanku”.

(TQS. Asy-Syu'ara :80)

“Tidaklah Aku ciptakan jin dan manusia kecuali untuk beribadah kepada-Ku”.

(TQS. Adz-dzariat:56)

“Hendaklah diantara kamu sekalian terdapat segolongan ummat yang menyeru kepada kebaikan, menyuruh kepada yang ma'ruf dan mencegah yang munkar.

Dan mereka itulah orang-orang yang beruntung”.

(TQS. Ali-Imran:104)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Bina Srimaharani

NIM : 012010101023

menyatakan dengan sesungguhnya, bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul: *"Praskrining Antikanker Ekstrak Daun Kepel (Uvaria Burahol) Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test"* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta saya bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini terbukti tidak benar.

Jember, 12 Juni 2007

Yang menyatakan,



Bina Srimaharani

NIM 012010101023

SKRIPSI

**PRASKRINING ANTIKANKER EKSTRAK DAUN KEPEL
(*Uvaria burahol*) DENGAN METODE BRINE SHRIMP
LETHALITY TEST**

Oleh

Bina Srimaharani
NIM 012010101023

Pembimbing

Dosen Pembimbing I : dr. Ali Santosa, Sp.PD

Dosen Pembimbing I : Moch. Amrun Hidayat, S.Si,Apt

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Praskrining Antikanker Ekstrak Daun Kepel (Uvaria Burahol)*
Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test telah diuji dan disahkan oleh
Fakultas Kedokteran Universitas Jember pada :

hari : Kamis

tanggal: 28 Juni 2007

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Tim Penguji:

Ketua.

dr. Ali Santosa, Sp.PD.
NIP. 140 189 028

Anggota I,

M. Amrun Hidayat, S.Si, Apt.
NIP. 132 296 951

Anggota II,

dr. Dina Helianti, M. Kes
NIP. 132 287 620

Mengesahkan

Dekan,



dr. Wasis Prayitno, Sp. OG.
NIP. 140 069 229

RINGKASAN

Praskrining Antikanker Ekstrak Daun Kepel (*Uvaria burahol*) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test, Bina Srimaharani, 012010101023; 2007; 36 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Kepel (*Uvaria burahol*) merupakan tanaman yang biasanya buahnya dimanfaatkan oleh masyarakat karena dapat membersihkan ginjal dan organ lain serta dapat menghilangkan bau kencing air seni, mengobati kencing batu dan asam urat. Dengan pendekatan kemotaksonomi tanaman kepel (*Uvaria burahol*) mempunyai genus yang sama dengan *Uvaria kweichowensis*. Ekstrak metanol daun *Uvaria kweichowensis* mengandung senyawa aktif yang menunjukkan aktivitas antikanker.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sitotoksisitas ekstrak metanol daun kepel (*Uvaria burahol*) terhadap larva *Artemia salina* yang berumur 48 jam dengan menghitung jumlah larva yang mati. Uji toksisitas ini merupakan uji pendahuluan untuk aktivitas antikanker dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BST).

Ekstrak kepel (*Uvaria Burahol*) dilakukan dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Konsentrasi ekstrak metanol yang diujikan 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm dan 1.000 ppm. Perhitungan dengan menggunakan metode analisis probit menghasilkan nilai LC_{50} ekstrak metanol daun kepel (*Uvaria burahol*) 635,63817 ppm. Nilai LC_{50} ekstrak metanol daun kepel (*Uvaria burahol*) < 1000 ppm menunjukkan potensi sebagai antikanker.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas rahmat, hidayah dan karunia-Nya, sehingga penulisan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul *Praskrining Antikanker Ekstrak Daun Kepel (Uvaria burahol) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test* dapat terselesaikan dengan baik. Karya tulis ini disusun guna memenuhi salah satu persyaratan untuk menyelesaikan program studi Sarjana Kedokteran pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. dr. Wasis Prayitno, Sp. OG sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah memberikan ijin penyusunan skripsi ini;
2. dr. Ali Santosa, Sp. PD selaku Dosen Pembimbing I, M. Amrun Hidayat, S. Si, Apt. selaku Dosen Pembimbing II dan dr. Dina Helianti, M. Kes selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
3. dr. Aries Prasetyo, M. Kes selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama menjadi mahasiswa;
4. Evi Umayah, S. Si, Apt. selaku Kabag Laboratorium Biologi Farmasi Program Studi Farmasi Universitas Jember dan analis Bu Arin, Bu Widi dan Bu Yetti yang telah membantu pelaksanaan penelitian;
5. Orangtua tercinta (drs. Tedjo Subagjo dan Karmitun S. Sos) yang telah memberikan dorongan dan doanya demi terselesaikannya skripsi ini;
6. adik-adikku tersayang Candra, Diana dan Ruri, yang selalu menyayangiku, mendukungku untuk selalu berada di jalan-Nya;

7. Bapak/Ibu guruku, dosenku, ustadzahku yang telah mendidik dan membinaku selama ini;
8. temanku Lusya CYK Wardhany,S.Ked yang telah membantu selama penyusunan skripsi ini;
9. Bu Kris sekeluarga yang telah bersedia memberikan daun Kcpel untuk penelitian ini;
10. saudaraku Mbak Hayyin, Mbak Alifah, Mbak Isti, Hanif, Isti, Anik dan semuanya yang telah mendukungku dan menjadi tim dalam perjuangan;
11. temen-temen kos dan *Akhwati Fillah* semuanya tak terkecuali, *uhibbuki fillah dan Allahuakbar*;
12. sobat-sobatku di FK UNIJ yang telah menemani dan mendukungku;
13. semua pihak yang telah membantu dalam bentuk moril maupun materiil selama penulisan Karya Tulis Ilmiah ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat menjadi tambahan ilmu yang bermanfaat dan tidak sia-sia bagi semua pihak. Penulis juga mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.

Jember, Juni 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ii
HALAMAN MOTTO.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tinjauan tentang Tanaman Kepel (<i>Uvaria burahol</i>).....	4
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kepel (<i>Uvaria burahol</i>).....	4
2.1.2 Nama Asing dan Nama Daerah Kepel.....	4
2.1.3 Morfologi dan Habitat Tanaman Kepel.....	4
2.1.4 Manfaat Tanaman Kepel.....	6

2.1.5 Kandungan Kimia Famili Annonaceae.....	6
2.1.5 Kandungan Kimia Tanaman Kepel.....	7
2.1.6 Maserasi.....	7
2.2 Tinjauan tentang Kanker.....	8
2.2.1 Definisi Kanker.....	8
2.2.2 Pengobatan Kanker.....	9
2.3 Tinjauan tentang Metode BST.....	10
2.4 Tinjauan tentang <i>Artemia salina</i>.....	12
2.4.1 Klasifikasi <i>Artemia salina</i>	12
2.4.2 Morfologi <i>Artemia sp.</i>	12
2.4.3 Sifat Ekologi <i>Artemia sp.</i>	14
2.4.4 Penggunaan <i>Artemia sp.</i> dalam Penelitian.....	15
2.5 Kerangka Konseptual.....	15
2.6 Hipotesis Penelitian.....	16
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....	17
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	17
3.1.1 Jenis Penelitian.....	17
3.1.2 Rancangan Penelitian.....	17
3.2 Sampel dan Populasi.....	18
3.2.1 Sampel penelitian.....	18
3.2.2 Populasi.....	19
3.3 Variabel Penelitian.....	19
3.3.1 Variabel Bebas (Independen).....	19
3.3.2 Variabel Tergantung (Dependen).....	19
3.3.3 Variabel Kendali.....	19
3.4 Definisi Operasional Variabel.....	19
3.4.1 Aktivitas Antikanker.....	19
3.4.2 Ekstrak Daun Kepel.....	20
3.4.3 Waktu Pemetikan Daun Kepel (<i>Uvaria burahol</i>).....	20

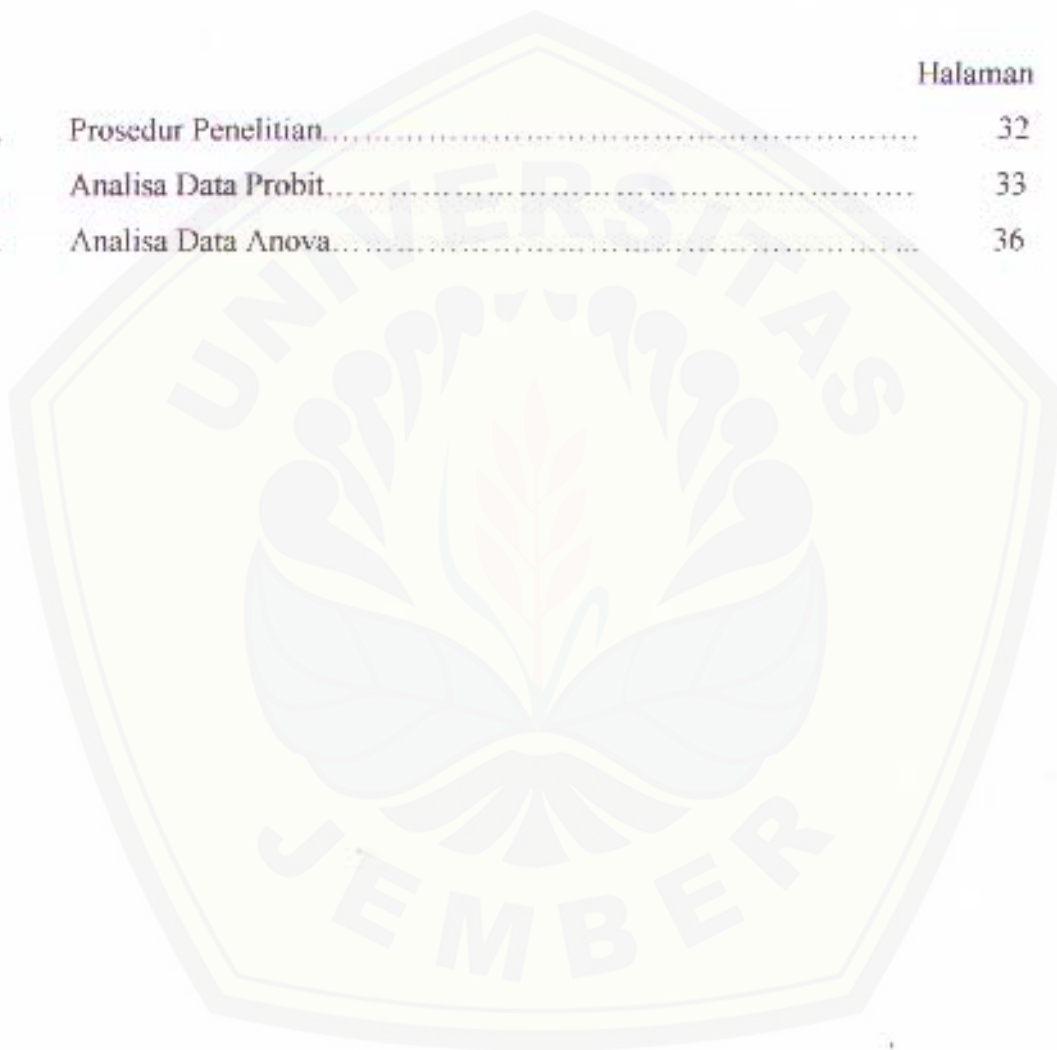
3.4.4 Penetasan Larva <i>Artemia salina</i>	20
3.4.5 Pengujian Antikanker dengan Metode BST.....	21
3.4.6 Penilaian Pengujian.....	21
3.5 Alat dan Bahan	21
3.5.1 Alat.....	21
3.5.2 Bahan.....	22
3.6 Lokasi dan Waktu Penelitian	22
3.6.1 Lokasi Penelitian.....	22
3.6.2 Waktu Penelitian.....	22
3.7 Prosedur Penelitian	23
3.7.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kepel (<i>Uvaria burahol</i>).....	23
3.7.2 Pembuatan Larutan Uji.....	23
3.7.3 Penyiapan Larva <i>Artemia salina</i>	23
3.7.4 Pengujian Antikanker dengan Metode BST.....	24
3.8 Analisis Data	24
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1 Hasil Penelitian.....	25
4.2 Analisa Data.....	25
4.3 Pembahasan.....	26
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	28
5.1 Kesimpulan.....	28
5.2 Saran.....	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	32

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Tanaman Kepel (<i>Uvaria burahol</i>).....	5
2.2 Tahap Penetasan <i>Artemia salina</i>	13
2.3 Morfologi Nauplius.....	14
2.4 Kerangka Konseptual Penelitian.....	16
3.1 Rancangan Penelitian.....	17
3.2 Skema Pengujian.....	24
4.1 Mortalitas Larva <i>Artemia salina</i> pada Pengamatan 24 jam Setelah Perlakuan.....	25

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Prosedur Penelitian.....	32
B. Analisa Data Probit.....	33
C. Analisa Data Anova.....	36





BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker disebabkan oleh beberapa faktor antara lain faktor karsinogen (eksogen) yang menginduksi pertumbuhan abnormal; faktor endogen dan faktor lingkungan yang menimbulkan modifikasi. Modalitas pengobatan kanker yaitu operasi, radioterapi, kemoterapi, terapi hormonal dan imunoterapi. Kemoterapi kanker dapat menyembuhkan kanker yang ditemukan telah metastase maupun menyebar secara mikroskopik. Kira-kira 50% penderita kanker dapat disembuhkan dengan kontribusi kemoterapi 17% (Katzung, 2001: 190).

Kemoterapi menjadi salah satu terobosan dalam pengendalian dan terapi kanker. Kemoterapi baik sebagai terapi primer maupun adjuvant, dapat menyembuhkan jika pembedahan atau radioterapi saja tidak efektif. Penggunaan kemoterapi adjuvant bersamaan dengan tindakan eksisi bedah dan radioterapi dalam penyembuhan kanker adalah untuk mengontrol sel kanker lokal residual atau kelainan sistemik yang masih tersembunyi (Nealon dan Nealon, 1996: 98)

Seiring dengan berkembangnya kemoterapi dalam pengendalian dan terapi kanker, banyak dilakukan penelitian obat antikanker baik secara penapisan dan desain rasional senyawa baru, antara lain sintesis peptida dan protein dengan teknik DNA rekombinan dan antibodi monoklonal. (Katzung, 2000: 194).

Distribusi aktivitas antikanker sangat luas pada tumbuh-tumbuhan. Kekayaan hayati hutan tropis di Indonesia terdiri atas 30.000 jenis tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat-obatan (Biworo dan Qamariah, 2005). Farnsworth melaporkan bahwa 400 spesies tanaman dalam 315 genus dan 97 famili mempunyai aktivitas sebagai penghambat tumor. Pendekatan yang sering dilakukan untuk mencari kandungan kimia tanaman yang berkhasiat



BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker disebabkan oleh beberapa faktor antara lain faktor karsinogen (eksogen) yang menginduksi pertumbuhan abnormal; faktor endogen dan faktor lingkungan yang menimbulkan modifikasi. Modalitas pengobatan kanker yaitu operasi, radioterapi, kemoterapi, terapi hormonal dan imunoterapi. Kemoterapi kanker dapat menyembuhkan kanker yang ditemukan telah metastase maupun menyebar secara mikroskopik. Kira-kira 50% penderita kanker dapat disembuhkan dengan kontribusi kemoterapi 17% (Katzung, 2001: 190).

Kemoterapi menjadi salah satu terobosan dalam pengendalian dan terapi kanker. Kemoterapi baik sebagai terapi primer maupun adjuvant, dapat menyembuhkan jika pembedahan atau radioterapi saja tidak efektif. Penggunaan kemoterapi adjuvant bersamaan dengan tindakan eksisi bedah dan radioterapi dalam penyembuhan kanker adalah untuk mengontrol sel kanker lokal residual atau kelainan sistemik yang masih tersembunyi (Nealon dan Nealon, 1996: 98)

Seiring dengan berkembangnya kemoterapi dalam pengendalian dan terapi kanker, banyak dilakukan penelitian obat antikanker baik secara penapisan dan desain rasional senyawa baru, antara lain sintesis peptida dan protein dengan tehnik DNA rekombinan dan antibodi monoklonal. (Katzung, 2000: 194).

Distribusi aktivitas antikanker sangat luas pada tumbuh-tumbuhan. Kekayaan hayati hutan tropis di Indonesia terdiri atas 30.000 jenis tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat-obatan (Biworo dan Qamariah, 2005). Farnsworth melaporkan bahwa 400 spesies tanaman dalam 315 genus dan 97 famili mempunyai aktivitas sebagai penghambat tumor. Pendekatan yang sering dilakukan untuk mencari kandungan kimia tanaman yang berkhasiat

sebagai antikanker adalah dengan kemotaksonomi tanaman, yaitu tanaman yang termasuk dalam takson tertentu mempunyai kemiripan tanda-tanda anatomi, histologi, morfologi dan kemiripan zat yang dikandungnya (Versteegh, 1992).

Tanaman kepel (*Uvaria burahol*) merupakan tanaman yang termasuk dalam famili Annonaceae, genus *Uvaria*. Famili Annonaceae mempunyai kandungan acetogenin. *Bullatacin* adalah acetogenin yang terkandung dalam *Annona bullata* yang mempunyai sitotoksisitas tinggi, menunjukkan potensi yang lebih besar daripada adriamycin (doxorubicin) dan dipatenkan sebagai antitumor. *Uvaria narum* dan *Uvaria hookeri* merupakan genus *Uvaria* yang memiliki sitotoksisitas (Wiar, 2002: 4). *Uvaria kwechowensis* menunjukkan aktivitas antikanker (Xu *et al.*, 2005). Berdasarkan pendekatan kemotaksonomi, maka tanaman kepel (*Uvaria burahol*) mempunyai kemiripan zat yang dikandung genus *Uvaria* lain yang memiliki potensi sebagai antikanker (Wiar, 2002: 5).

Pencarian senyawa bioaktif tersebut dilakukan setelah menunjukkan hasil yang positif atau aktif dalam pengujian praskrining aktivitas terhadap ekstrak tanaman tersebut (Laughlin *et al.*, 1991). Brine Shrimp Lethality Test (BST) merupakan uji skrining bioaktif yang digunakan untuk menskrining hasil ekstraksi serta untuk mendeteksi senyawa aktif biologis dari hasil isolasi. Kelebihan uji BST adalah, sederhana; cepat; murah; dapat dilakukan dalam ruangan; mempunyai korelasi yang positif dengan uji sitotoksisitas 9 KB (Karsinoma nasofaring manusia); digunakan oleh Laboratorium Kultur Sel, Purdue Cancer Center untuk praskrining 6 panel sel tumor padat manusia (Laughlin *et al.*, 1998: 515) dan aktif pada uji toksisitas kanker paru, kanker payudara dan kanker usus besar, sehingga BST dapat digunakan sebagai petunjuk kandungan senyawa bioaktif antikanker (Anderson, 1991: 513).

Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan praskrining aktivitas antikanker ekstrak daun kepel (*Uvaria burahol*) yang tumbuh di daerah Jember dengan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BST).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian ini adalah : Apakah ekstrak daun kepel (*Uvaria burahol*) mempunyai aktivitas antikanker dengan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BST) ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antikanker ekstrak daun kepel (*Uvaria burahol*) dengan menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test (BST).

1.3.2 Tujuan Khusus

Penelitian ini untuk melakukan praskrining aktivitas antikanker ekstrak daun kepel (*Uvaria burahol*) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BST) pada pemberian ekstrak daun kepel (*Uvaria burahol*) dengan tingkat konsentrasi sebagai berikut:

1. 1.000 ppm,
2. 800 ppm,
3. 600 ppm,
4. 400 ppm,
5. 200 ppm.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dapat memberikan informasi tentang potensi ekstrak daun kepel (*Uvaria burahol*) sebagai antikanker dan dapat dipergunakan sebagai dasar ilmiah untuk pengembangan penelitian tanaman yang memiliki potensi sebagai antikanker.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Tanaman Kepel (*Uvaria burahol*)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kepel (*Uvaria burahol*)

Tanaman Kepel merupakan suku kenanga-kenangaan yang diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Sub kelas	: Lignosae
Famili	: Annonaceae
Genus	: <i>Uvaria</i>
Spesies	: <i>Uvaria burahol</i> (Shukla dan Shital, 1997: 224)

2.1.2 Nama Asing dan Nama Daerah Tanaman Kepel

Nama Latin tanaman Kepel adalah *Uvaria burahol* atau *Stelechocarpus burahol* (Heyne, 1987). Masyarakat Jawa menyebutnya Kepel, Kecindul, Simpol dan Cindul. Masyarakat Sunda menyebutnya Burahol dan ada juga yang menyebutnya Turalak.

2.1.3 Morfologi dan Habitat Tanaman Kepel

Tanaman kepel merupakan tanaman pohon yang tingginya mencapai 25 meter dan diameter batang pohonnya bisa mencapai 40 centimeter (Heyne, 1987). Kulit batangnya berbenjol-benjol, tempat bunga dan buahnya keluar.

Tanaman ini mempunyai daun tunggal berbentuk bundar lonjong atau lonjong runcing, berwarna hijau mengkilap.



Gambar 2.1 Tanaman Kepel (*Uvaria burahol*)

Bunganya berkelamin tunggal dan berbau harum. Bunga jantan tumbuh pada bagian atas atau batang pohon yang tua, bergerombol dengan jumlah delapan sampai enam belas kuntum, sedangkan bunga betina hanya ada pada batang pohon bagian bawah.

Buahnya berbentuk bulat dengan pangkal runcing, warnanya coklat keabu-abuan dan berbau harum. Bijinya berbentuk elips, berjumlah empat sampai enam pada setiap buah. Tanaman ini biasanya berbunga dan berbuah setiap tahun pada bulan September dan Oktober.

2.1.4 Manfaat Tanaman Kepel

Buah kepel dimakan untuk membersihkan ginjal dan organ-organ lain. Buah ini memberikan bau dari bunga *violtjes* pada air seni, oleh karena itu dipergunakan untuk menghilangkan bau kencing air seni (Versteegh, 1983). Daging buah kepel yang sudah matang digunakan untuk obat radang ginjal (Depkes, 2005). Beberapa pengobatan alternative dan pengobatan Cina memberikan resensi bahwa tanaman ini dapat menyembuhkan penyakit kencing batu dan asam urat (Sinardi, 2005).

2.1.5 Kandungan Kimia Famili Annonaceae

Tanaman yang diklasifikasikan dalam famili ini antara lain genus *Annona*, *Asimia*, *Goniothalamus*, *Polyalthia*, *Rollinia*, *Xylopa* dan *Uvaria* mempunyai kandungan senyawa lemak yang unik dan spesifik yang disebut *acetogenin*. *Acetogenin* terdiri dari 35-39 karbon, satu atau dua cincin tetrahidrofuran, gugus terminal g-lactone dan sejumlah gugus fungsi oksigen lain. *Acetogenin* menghambat kerja enzim NADH ubiquinon reduktase yang bertanggungjawab pada proses transport elektron di mitokondria dan oleh karena itu memiliki sitotoksisitas yang tinggi (Wiert, 2002: 4).

Famili Annonaceae juga mengandung senyawa alkaloid yang disebut isoquinoline alkaloid. Isoquinolin alkaloid memiliki sifat sitotoksik, antimikroba, parasitidal dan neuroaktif. Senyawa terpenoid dan flavonoid yang terkandung dalam famili Annonaceae seperti *chalcone* dan *flavonone* pada genus *Uvaria* menunjukkan sitotoksisitas dan antimikroba. Ekstrak akar dan batang *Uvaria narum* dan *Uvaria hookert* juga bersifat sitotoksik (Wiert, 2002: 4). Senyawa *cyclohexene polyoxygen* yang diisolasi dari ekstrak daun *Uvaria kweichowensis* mempunyai aktivitas antikanker (Xu *et al.*, 2005).

2.1.5 Kandungan Kimia Tanaman Kepel

Belum banyak ahli yang melakukan penelitian tentang tanaman ini, belum ditemukan kandungan protein atau mineral apa yang terkandung dalam buah kepel. Daging buah dan akar kepel (*Uvaria burahol*) mengandung saponin, flavonoid dan polifenol. Biji kepel mengandung alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol (Depkes, 2005). Tanaman kepel (*Uvaria burahol*) merupakan tanaman yang termasuk dalam famili Annonaceae dan genus *Uvaria* yang mempunyai kemiripan senyawa yang dikandung spesies *Uvaria* lain yang mempunyai sitotoksisitas dan aktivitas antikanker.

2.1.6 Maserasi

Secara umum ekstraksi senyawa metabolit sekunder dari seluruh bagian tumbuhan dengan cara maserasi menggunakan pelarut organik polar seperti metanol. Maserasi merupakan proses perendaman sampel tumbuhan dengan pelarut organik pada temperatur ruang. Proses ini sangat menguntungkan karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Secara umum pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses ekstraksi bahan alam karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder. Hasil yang diperoleh berupa ekstrak yang didalamnya terdapat seluruh senyawa bahan alam yang terlarut dalam pelarut yang digunakan. (Harborne, 1987: 7 dan Lcny, 2006: 6)

2.2 Tinjauan tentang Kanker

2.2.1 Definisi Kanker

Kanker adalah penyakit yang disebabkan oleh ketidakteraturan perjalanan hormon sehingga mengakibatkan tumbuhnya daging pada jaringan tubuh yang normal. Kanker merupakan tumor yang bersifat ganas.

Kanker merupakan suatu penyakit sel yang ditandai dengan suatu pergeseran mekanisme kontrol yang mengatur proliferasi dan diferensiasi sel. Sel-sel yang berkembang cepat dan menekan atau bahkan menyerang struktur jaringan yang sehat di sekitarnya. Proses invasif, metastatik kanker dan kelainan metabolisme akibat kanker akan menyebabkan penyakit dan akhirnya dapat menghantarkan kepada kematian kecuali apabila kanker dapat disembuhkan dengan pengobatan. Sepertiga penderita kanker dapat disembuhkan dengan tindakan terapi bedah atau radiasi yang efektif (Katzung, 2001: 195).

Sel-sel kanker mempunyai ekspresi gen yang berbeda dengan sel yang normal, sel-sel kanker tidak dapat menghentikan pembelahan sel setelah sel matang dan tidak dapat mengontrol ekspresi gen. Semua sel di dalam tubuh mempunyai kemampuan untuk tumbuh menjadi kanker. Sebenarnya semua sel mempunyai kemampuan untuk tumbuh sesuai dengan fungsinya dan dapat memperbaiki sel yang rusak atau terluka secara terbatas. Sel yang normal tumbuh dan berfungsi sesuai dengan peraturan yang terkandung dalam DNA yang ada di dalam inti setiap sel (Nealon dan Nealon, 1996).

DNA merupakan software untuk memberitahu kapan sel mulai tumbuh dan memberi pesan untuk menghentikan pertumbuhan. Secara singkat kanker dapat terjadi pada waktu sel mulai tumbuh dengan sendirinya karena pesan yang salah dari DNA untuk tumbuh terus, atau tidak menerima pesan untuk berhenti tumbuh. Akhirnya sel tumbuh melalui proses mitosis terlepas dari sistem kendali tubuh dan menjadi sel kanker yang melawan dan merusak tubuh. Gen-gen yang dapat menyebabkan sel-sel tumbuh seperti ini disebut onkogen.

Penelitian genetik telah menemukan bahwa DNA mengandung beberapa gen yang dapat membuat sel berubah menjadi kanker, tetapi biasanya gen-gen ini terkunci dan tidak dipergunakan dalam pertumbuhan dan perbaikan jaringan tubuh. Terdapat tiga hal penting yang dapat menyebabkan perubahan sel menjadi kanker, yaitu faktor keturunan atau genetik, infeksi virus dan zat-zat karsinogen yang merupakan faktor eksogen yang menginduksi pertumbuhan sel yang abnormal.

2.2.2 Pengobatan Kanker

Ada beberapa pendekatan penyakit kanker, yaitu pencegahan, menemukan kanker sedini mungkin dan pengobatan. Pengobatan kanker tergantung jenis dan derajat atau stadium kanker. Ada beberapa modalitas pengobatan kanker antara lain operasi atau pembedahan, radioterapi, kemoterapi, terapi hormonal dan imunoterapi.

Kemoterapi kanker dimulai pada tahun 1941 dengan menggunakan hormone untuk kanker prostat dan kanker payudara. Penerapannya sebagai terapi primer maupun terapi adjuvant pada tumor-tumor padat dapat menyebabkan kesembuhan ketika pembedahan dan radioterapi saja tidak efektif. Kemoterapi pada tumor padat digunakan untuk mempengaruhi metastasis (Nealon dan Ncalon, 1996). Kemoterapi terutama dipakai secara kuratif dan adjuvant. Kemoterapi bekerja pada sel yang sedang giat berganda dan mempengaruhi seluruh system tubuh (de Jong, 1997). Konsep kemoterapi dalam onkologi sama dengan konsep kemoterapi pada penyakit infeksi, yaitu membunuh bakteri pada infeksi. Beberapa kanker yang cukup peka terhadap kemoterapi antara lain beberapa penyakit keganasan hemopoetik, karsinoma testis, koriokarsinoma dan sarcoma terutama pada anak.

Akhir-akhir ini mulai dikembangkan kemoterapi dari fitofarmaka. Seiring dengan perkembangan teknologi, penggunaan tanaman sebagai obat-obatan telah

mengalami perkembangan dari yang bersifat empiris menjadi ilmiah (Biworo dan Qamariyah, 2005). Beberapa tanaman yang mengandung zat antikanker telah berhasil diisolasi dari penelitian terdahulu. Senyawa sitotoksik seperti furan, thiophene, thiazole, oxazole dan imidazole menghambat proliferasi sel sehingga efektif digunakan sebagai agen antikanker, senyawa atau substansi seperti karotenoid, vitamin C, selenium, serat dan komponen-komponennya, dithiolthiones, isothiocyanates, indoles, phenols, inhibitor protease, senyawa allium, sterol tanaman, fitoestrogen dan limonene yang terdapat pada tanaman obat yang telah banyak digunakan sebagai pencegahan dan pengobatan kanker (Saputra *et al.*, 2000: 52).

Glukosinolat dan indol, thiosianat dan isothiosianat, fenol dan coumarin dapat menginduksi multiplikasi enzim fase II (melarutkan dan umumnya mengaktifasi); askorbat dan fenol memblok pembentukan karsinogen seperti nitrosamine; flavonoid dan karotenoid yang bertindak sebagai antioksidan; karotenoid dan sterol merubah struktur membrane atau integritas; senyawa yang mengandung sulfur dapat menekan DNA dan sintesis protein sedangkan fitoestrogen bersaing dengan estradiol untuk reseptor estrogen sehingga akan terjadi keadaan antiproliferatif (Saputra *et al.*, 2000: 52). Famili cruciferae memiliki efek antitumor, *Morinda citrifolia* L (Mengkudu) memiliki efek antikanker, *Andrographis paniculata* Ness (Sambiloto) memiliki efek antitumor, *Gynura procumbens* (Daun dewa) sebagai antikanker, *Viscum album* L (Mistletoe) digunakan sebagai terapi adjuvant kanker dan masih banyak tanaman yang berkhasiat atau setidaknya membantu dalam pengobatan kanker (Saputra *et al.*, 2000: 53-87).

2.3 Tinjauan tentang Metode BST

Pengembangan *assay* koloni in vitro sederhana untuk mengukur sensitivitas sel induk tumor manusia akan mempercepat dan mempersingkat

waktu tes antikanker di masa depan. Setelah zat dengan aktivitas antikanker diketahui, perlu dilakukan uji toksikologi preklinik dan penelitian farmakologi terbatas pada hewan. Beberapa tanaman yang mengandung berbagai zat yang berkhasiat sebagai antikanker telah berhasil diisolasi. Pencarian senyawa bioaktif tersebut dilakukan setelah menunjukkan hasil yang positif atau aktif dalam pengujian praskrining aktivitas terhadap ekstrak tanaman tersebut (Laughlin *et al.*, 1991). Pencarian bahan bioaktif yang mempunyai aktivitas antikanker menggunakan beberapa metode skrining aktivitas biologis sebagai berikut :

1. Uji Letalitas Larva Udang Laut atau *Brine Shrimp Lethality Test* (BST),
2. Uji Hambatan Tumor pada Lempeng Kentang atau *Potato Disc Crown Gall Tumor Inhibition Assay*,
3. Uji Proliferasi Kuncup Lemna atau *Lemna Frond Proliferation Assay*,
4. Uji Sitotoksik *in vitro* dan *in vivo* (Anderson, 1991: 513).

Senyawa bioaktif hampir selalu toksik pada dosis tinggi. Farmakologi adalah toksikologi sederhana pada dosis rendah. Toksikologi adalah farmakologi sederhana pada dosis tinggi, dengan demikian letalitas *in vivo* pada organisme sederhana bisa digunakan sebagai monitor yang cepat dan sederhana untuk menguji sitotoksitas fraksinasi ekstrak tanaman bioaktif.

Brine Shrimp lethality Test (BST) merupakan uji biologis umum yang digunakan untuk mendeteksi suatu rentang lebar aktivitas biologis. Uji ini merupakan uji biologis pendahuluan yang sederhana, murah, cepat dan cukup dilakukan di dalam ruangan. Uji ini digunakan untuk skrining atau menapis dan memantau hasil ekstraksi dan fraksinasi ekstrak aktif fisiologis serta untuk mendeteksi senyawa aktif biologis hasil isolasi (Anderson, 1991: 514). Senyawa-senyawa yang mempunyai zat aktif pada BST, juga menunjukkan keaktifan pada uji toksisitas kanker nasofaring manusia (Laughlin, 1998), kanker payudara, kanker usus besar dan kanker paru. Dengan demikian BST dapat digunakan sebagai petunjuk adanya senyawa bioaktif antikanker (Anderson, 1991: 515).

Metode BST ini menggunakan *brine shrimp* atau *Artemia salina* (Meyer, 1982). Penggunaan larva *Artemia salina* dikembangkan untuk menguji ekstrak, fraksi atau senyawa murni pada konsentrasi 10,100 dan 1.000 ppm per vial berisi 5 mL air laut dan 10 ekor larva. Masing-masing konsentrasi dibuat tiga replikasi. Setelah 24 jam dihitung jumlah larva yang mati dalam masing-masing vial. Selanjutnya data dianalisis untuk mengetahui Lethal Concentration 50 % (LC_{50}) yaitu konsentrasi yang menyebabkan kematian 50 % populasi hewan coba dengan derajat kepercayaan 95 % (Meyer, 1982).

2.4 Tinjauan tentang *Artemia salina*

2.4.1 Klasifikasi *Artemia salina*

Artemia termasuk udang yang diklasifikasikan sebagai berikut :

Phylum	: Arthropoda
Kelas	: Crustaceae
Sub kelas	: Branchiopoda
Famili	: Artemidae
Genus	: <i>Artemia</i>
Spesies	: <i>Artemia salina</i> (Ismansetyo dan Kurniastuty, 1995: 52)

2.4.2 Morfologi *Artemia salina*

Artemia diperjualbelikan dalam bentuk telur istirahat yang disebut kista. Kista ini apabila dilihat dengan mata telanjang berbentuk bulatan-bulatan kecil yang berwarna kelabu kecoklatan. Diameternya antara 200-350 mikron. Satu gram kista *Artemia* kering rata-rata terdiri atas sekitar 200.000-300.000 butir kista. Kista yang berkualitas baik menetas sekitar 18-24 jam apabila dinkubasi dalam air yang bersalinitas 5-70 permil (Ismansetyo dan Kurniastuty, 1995: 52).

Ada beberapa tahap proses penetasan kista *Artemia salina*, yaitu tahap hidrasi, tahap pecah cangkang dan tahap payung atau tahap pengeluaran.

1. Tahap hidrasi

Tahap hidrasi terjadi penyerapan air sehingga kista yang diawetkan dalam bentuk kering tersebut akan menggebung dan mulai aktif bermetabolisme.

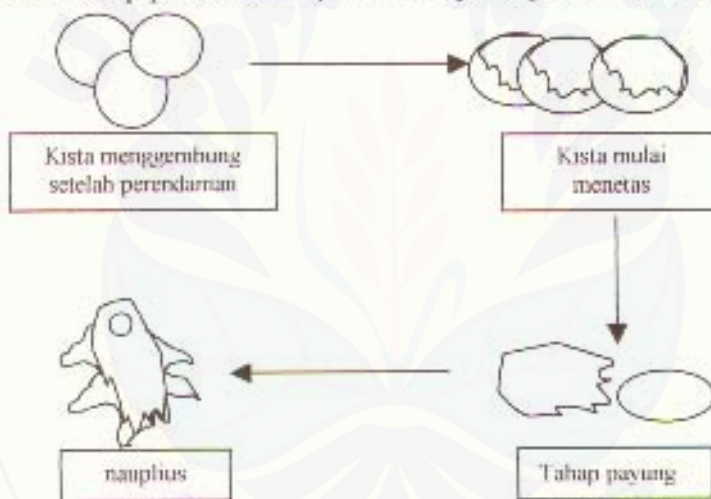
2. Tahap pecah cangkang

Tahap pecah cangkang ini diawali cangkang mulai retak dan akhirnya pecah.

3. Tahap payung

Tahap payung terjadi beberapa saat sebelum nauplius keluar dari cangkang.

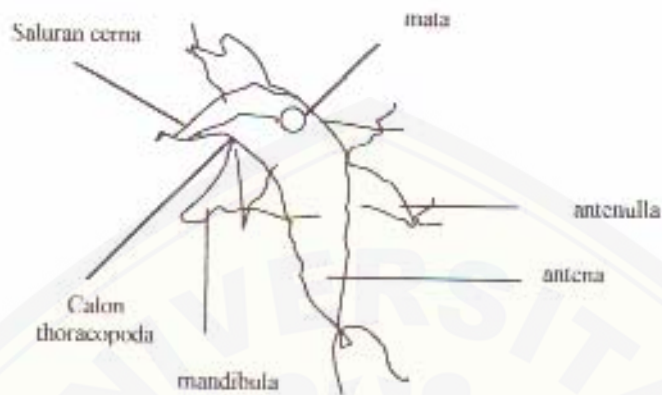
Untuk mengetahui tahap penetasan dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 2.2 Tahap Penetasan *Artemia salina*

Nauplius adalah *Artemia* yang baru menetas. Nauplius berwarna oranye, berbentuk bulat lonjong dengan panjang sekitar 400 mikron, lebar 170 mikron dan beratnya 0,002 miligram. Ukuran-ukuran tersebut bervariasi tergantung strainnya. Nauplius mempunyai sepasang antenulla dan antenna. Di antara antenulla terdapat bintik mata yang disebut ocellus. Sepasang mandibula rudimenter terdapat di belakang antenna. Labrum (semacam mulut) terdapat di bagian ventral.

Morfologi nauplius (Ismansetyo dan Kurniastuty, 1995: 54) dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 2.3 Morfologi Nauplius

2.4.3 Sifat Ekologi *Artemia*

Secara umum *Artemia* tumbuh dengan baik pada suhu 25 C-30 C, tetapi kista *Artemia* kering sangat tahan terhadap suhu yang ekstrim dari -273 C sampai 100 C.

Artemia banyak ditemukan di danau-danau yang kadar garamnya sangat tinggi sehingga disebut juga brine shrimp. Tolcransinya terhadap garam sangat menakjubkan, bahkan pada siklus hidupnya memerlukan kadar garam yang tinggi lebih dari 100 permil agar dapat menghasilkan kista. Untuk pertumbuhan yang baik kadar garam yang diperlukan antara 30-50 ppt.

Artemia membutuhkan pH air yang sedikit bersifat basa untuk kehidupannya. Agar dapat tumbuh dengan baik, pH air yang digunakan antara 7,5-8,5. Kandungan oksigen yang baik untuk pertumbuhannya lebih dari 3 miligram per liter. Kandungan amoniaknya sebaiknya kurang dari 80 miligram per liter (Ismansetyo dan Kurniastuty, 1995: 55).

2.4.4 Penggunaan *Artemia* dalam Penelitian

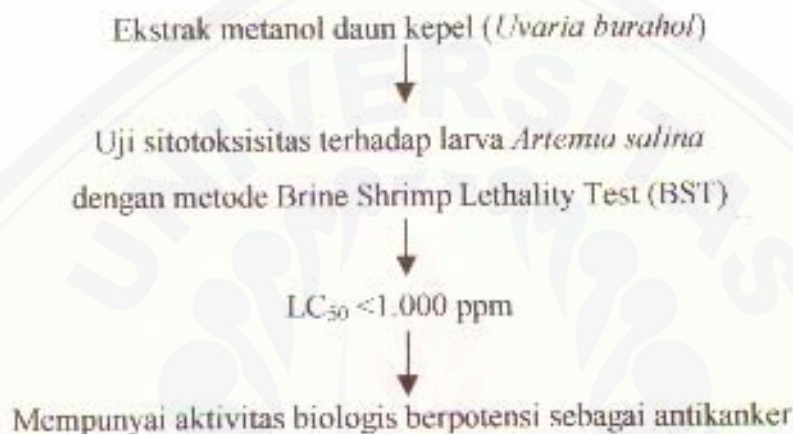
Senyawa bioaktif hamper selalu toksik pada dosis tinggi, oleh karena itu daya bunuh *in vivo* terhadap organisme hewan coba dapat digunakan untuk menskrining ekstrak tumbuhan yang mempunyai aktivitas biologis dan juga memonitor fraksi bioaktif selama fraksinasi atau pemurnian.

Brine shrimp atau *Artemia salina* (Leach) telah banyak digunakan dalam berbagai penelitian dan uji bioassay, antara lain penelitian tentang analisis residu pestisida, mikrotoksin, polutan air, bahan anastesi, toksin dinollagellata, senyawa analog morfin, toksisitas dispersan minyak, di-n-alkyl phthalate dan kokarsinogenik phorbol ester. *Brine shrimp* dianjurkan penggunaannya sebagai monitor yang diperlukan untuk mendeteksi dan mengisolasi senyawa bioaktif tanaman yang mempunyai efek toksisitas pada nauplius (Meyer, 1982).

2.5 Kerangka Konseptual

Tanaman yang tergolong dalam famili Annonaceae mempunyai senyawa lemak unik dan spesifik yang disebut *acetogenin*. *Acetogenin* ini mempunyai sitotoksitas yang tinggi. Senyawa yang bersifat sitotoksik dapat menghambat tahap proliferasi sel sehingga efektif sebagai agen antikanker. Tanaman Kepel (*Uvaria burahol*) termasuk dalam famili Annonaceae. Dengan menggunakan pendekatan kemotaksonomi tanaman Kepel (*Uvaria burahol*) mempunyai genus yang sama dengan *Uvaria kwechowensis* yang mempunyai aktivitas antikanker, *Uvaria narum* dan *Uvaria hookeri* yang sitotoksik dan kemiripan zat yang dikandung oleh famili Annonaceae yang memiliki potensi sitotoksitas seperti *Annona bullata* (*bullatacin*), yang dipatenkan sebagai antitumor yang mempunyai potensi lebih besar daripada adriamycin (doxorubicin) dan senyawa haru polioksigen sikloheksana yang diisolasi dari ekstrak daun *Uvaria kwechowensis* yang mempunyai aktivitas antikanker. Diperkirakan pada ekstrak metanol daun kepel (*Uvaria burahol*) juga terdapat senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik,

Salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat sitotoksik adalah dengan uji sitotoksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* (Leach) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BST). Konsentrasi ekstrak yang mematikan 50% populasi larva *Artemia salina* (LC_{50}) menjadi parameter aktivitas antikanker. LC_{50} kurang dari 1.000 ppm menunjukkan potensi sebagai antikanker (Meyer, 1982).



Gambar 2.4 Kerangka Konseptual Penelitian

2.6 Hipotesis Penelitian

Melalui berbagai teori dan fakta empirik yang kemudian dituangkan dalam kerangka konseptual penelitian ini maka disusun hipotesis sebagai berikut :
 Ekstrak metanol daun kepel (*Uvaria burahol*) mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap *Artemia salina* dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BST), sehingga berpotensi sebagai antikanker.



BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

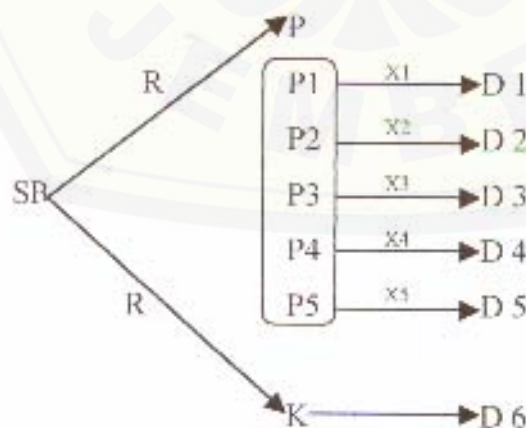
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris.

3.1.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design* atau rancangan post test dengan kelompok kontrol, membagi subyek penelitian (larva *Artemia salina*) menjadi dua kelompok secara random, diberikan perlakuan pada kelompok pertama dengan tingkat konsentrasi yang berbeda 1.000 ppm, 800 ppm, 600 ppm, 400 ppm, 200 ppm dan kelompok kedua tidak diberi perlakuan. Setelah 24 jam, kemudian diobservasi dan dihitung jumlah larva *Artemia salina* yang mati pada masing-masing kelompok tersebut (Pratiknya, 2003).



Gambar 3.1 Rancangan Penelitian

Keterangan :

- SP : Sampel Penelitian
- R : Randomisasi
- P : Kelompok perlakuan
- P 1 : Kelompok perlakuan 1
- P 2 : Kelompok perlakuan 2
- P 3 : Kelompok perlakuan 3
- P 4 : Kelompok perlakuan 4
- P5 : Kelompok perlakuan 5
- x 1 : Pemberian ekstrak 1.000 ppm selama 24 jam pemaparan
- x 2 : Pemberian ekstrak 800 ppm selama 24 jam pemaparan
- x 3 : Pemberian ekstrak 600 ppm selama 24 jam pemaparan
- x 4 : Pemberian ekstrak 400 ppm selama 24 jam pemaparan
- x 5 : Pemberian ekstrak 200 ppm selama 24 jam pemaparan
- K : Kelompok kontrol
- D 1 : Data hasil kelompok perlakuan pemberian ekstrak 1.000 ppm
- D 2 : Data hasil kelompok perlakuan pemberian ekstrak 800 ppm
- D 3 : Data hasil kelompok perlakuan pemberian ekstrak 600 ppm
- D 4 : Data hasil kelompok perlakuan pemberian ekstrak 400 ppm
- D 5 : Data hasil kelompok perlakuan pemberian ekstrak 200 ppm
- D 6 : Data hasil kelompok kontrol

3.2 Sampel dan Populasi

3.2.1 Sampel penelitian

Sampel penelitian ini adalah daun kepel (*Uvaria burahol*) yang diperoleh dari Jl. Imam Sukari RW II Mangli, Jember dan dipetik pada bulan Januari 2007, waktu tanaman berbunga dan sebelum buah menjadi masak (Dalimartha dan Wijayakusuma, 2001: 14).

3.2.2 Populasi

Populasi penelitian ini adalah nauplii atau larva *Artemia salina* yang baru menetas. Jumlah larva *Artemia salina* pada setiap kelompok perlakuan 10 ekor (Carballo *et al.*, 2002)

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas (Independen)

Variabel bebas penelitian ini adalah ekstrak daun kepel (*Uvaria burahol*) dengan tingkat konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm dan 1.000 ppm.

3.3.2 Variabel Tergantung (Dependen)

Variabel tergantung penelitian adalah aktivitas antikanker dengan menghitung jumlah larva *Artemia salina* yang mati dalam setiap vial.

3.3.3 Variabel Kendali

Variabel kendali penelitian ini meliputi:

1. Jenis hewan coba
2. Suhu
3. Salinitas
4. Cara ekstraksi
5. Cara pengenceran
6. Cara pengambilan hewan coba
7. Cara penghitungan nauplius.

3.4 Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Aktivitas Antikanker

Aktivitas antikanker ditentukan dari sitotoksisitas ekstrak pada larva *Artemia salina*. Sitotoksisitas ditentukan berdasarkan konsentrasi yang

menyebabkan kematian 50% populasi dalam waktu 24 jam (LC_{50}). Apabila nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm, ekstrak dinyatakan berpotensi sebagai antikanker, apabila nilai LC_{50} lebih dari 1000 ppm, ekstrak dinyatakan tidak berpotensi sebagai antikanker (Meyer, 1982).

3.4.2 Ekstrak Daun Kepel (*Uvaria burahol*)

Ekstrak daun kepel dibuat dari daun kepel (*Uvaria burahol*) yang dikeringkan. Pengeringan daun dilakukan dengan tujuan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah terjadinya pembusukan oleh jamur atau bakteri dan bahan yang sudah dikeringkan akan lebih mudah untuk dihaluskan menjadi serbuk dengan menggunakan blender, dimaserasi dengan menggunakan pelarut metanol, difiltrasi dan dipekatkan dengan menggunakan rotavapor (Leny, 2006: 6).

3.4.3 Waktu Pemetikan Daun Kepel (*Uvaria burahol*)

Daun kepel (*Uvaria burahol*) dipetik pada bulan Januari 2007, waktu tanaman berbunga dan sebelum buah menjadi masak untuk mendapatkan bahan yang mengandung metabolit sekunder yang berkhasiat sebagai obat (Dalimartha dan Wijayakusuma, 2001: 14).

3.4.4 Penetasan Larva *Artemia salina*

Telur *Artemia salina* ditimbang 50 gram, kemudian dimasukkan ke dalam toples yang berisi 1 liter air laut yang sudah disaring. Telur *Artemia salina* diinkubasikan dalam air laut pada temperatur 28–30^o C dengan aerasi yang tinggi dan pencahayaan yang terus menerus dengan menggunakan lampu 5 watt selama 24 jam. Telur menetas dalam waktu 24 jam. Larva yang berumur 24 jam siap digunakan untuk pengujian Brine Shrimp Lethality Test (BST).

3.4.5 Pengujian Antikanker dengan Metode BST

Larutan induk dipipet sesuai dengan konsentrasi, kemudian dimasukkan ke dalam vial yang telah dikalibrasi, dikeringkan, ditambah larutan DMSO, masukkan 10 ekor larva *Artemia salina* yang sudah berumur 24 jam pada masing-masing vial dan tambahkan air laut sampai volumenya 5 mL. Setiap konsentrasi dibuat 3 replikasi. Vial berisi larva *Artemia salina* yang sudah diberi perlakuan dibiarkan selama 24 jam.

3.4.6 Penilaian Pengujian

Penilaian pengujian BST ini dilakukan sesuai dengan standar penilaian WHO yaitu 24 jam setelah pemberian ekstrak daun kepel (*Uvaria burahol*) dengan menghitung jumlah larva yang mati pada setiap vial. Koreksi angka kematian dilakukan bila persentase kematian nauplius pada kelompok kontrol > 5%, tetapi tidak melebihi 20%. Koreksi angka kematian pada perlakuan menggunakan rumus Abbot sebagai berikut:

$$AI = \frac{A - C}{100 - C} \times 100\%$$

Keterangan:

- AI = persentase setelah dikoreksi
- A = persentase kematian nauplius kelompok perlakuan
- C = persentase kematian nauplius kelompok control

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah:

1. Aquarium
2. Toples besar
3. Blender
4. Corong

5. Kertas saring
6. Rotavapor
7. Aerator
8. Lampu
9. Neraca
10. Vial
11. Kaca pembesar
12. Mikropipet
13. Alat gelas

3.5.2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah:

1. Daun kepel (*Uvaria burahol*)
2. Telur *Artemia salina* (Leach)
3. Air laut
4. DMSO (Dimetilsulfoksida)
5. Metanol
6. Akuades

3.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.6.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Farmasi dan Kimia Farmasi Program Studi Farmasi Universitas Jember.

3.6.3 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Pebruari 2007.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kepel (*Uvaria burahol*)

Daun kepel yang sudah kering dihaluskan menjadi serbuk dengan menggunakan blender. Serbuk daun ditimbang 100 g, dimasukkan ke dalam toples, 1 liter pelarut metanol redestilasi ditambahkan, sesering mungkin diaduk, kemudian didiamkan selama 24 jam. Filtrat dikumpulkan dengan cara enap tuang secara berulang sampai serbuk tak berwarna hijau. Filtrat disaring untuk memisahkan ampas. Filtrat diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak yang kental, kemudian dianginkan di lemari asam sampai diperoleh ekstrak yang pekat.

3.7.2 Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan terlebih dahulu membuat larutan induk. Larutan induk dibuat dengan menimbang 20 mg ekstrak daun kepel ditambah pelarut metanol sampai volumenya 2 mL. Selanjutnya larutan induk diencerkan dengan metanol dan dibuat larutan uji dengan konsentrasi 1.000, 800, 600, 400 dan 200 ppm.

3.7.3 Penyiapan Larva *Artemia salina*

Siapkan air laut 500 mL, kemudian disaring, dimasukkan ke dalam aquarium yang disekat menjadi dua dengan satu lubang pada sekat tersebut. Masukkan 50 g telur *Artemia salina* pada satu sisi, kemudian tutup. Letakkan lampu 5 watt pada sisi yang lain untuk menarik larva *Artemia salina* yang baru menetas. Jaga kondisi tetap hangat 48-72 jam agar kondisi larva *Artemia salina* konsisten. Larva yang berumur 24 jam siap diambil dengan menggunakan pipet untuk pengujian BST.

3.7.4 Pengujian Antikanker dengan metode BST

Larutan uji 1.000 ppm, 800 ppm, 600 ppm, 400 ppm dan 200 ppm

Masukkan ke dalam masing-masing vial, lalu uapkan

Tambahkan DMSO <math><50\ \mu\text{l}</math> untuk melarutkan



Masukkan ke dalam masing-masing vial 10 ekor nauplius

dan air laut sampai volumenya 5 ml



Hitung jumlah nauplius yang mati pada setiap vial setelah 24 jam

Gambar 3.2 Skema Pengujian

3.8 Analisis Data

Data dianalisis dengan menggunakan analisis probit SPSS 11,5 for windows untuk mengetahui konsentrasi yang menyebabkan kematian 50 % larva *Artemia salina* atau LC_{50} (Maharani dan Handayani, 2005). Apabila nilai LC_{50} kurang dari 1000 ppm, ekstrak dinyatakan berpotensi sebagai antikanker, apabila nilai LC_{50} lebih dari 1000 ppm, ekstrak dinyatakan tidak berpotensi sebagai antikanker (Meyer, 1982). Analisa data dilanjutkan dengan anova satu arah untuk menentukan perbedaan nilai pada tiap konsentrasi.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak metanol daun kepel (*Uvaria burahol*) menunjukkan potensi sebagai antikanker dengan metode Brinc Shrimp Lethality Test (BST).

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan yakni uji aktivitas antikanker dengan menggunakan isolat dan senyawa murni kandungan kimia berkhasiat dari ekstrak metanol daun kepel (*Uvaria burahol*) pada sel kanker, baik in vitro maupun in vivo.



DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J. E. . 1991. *Blind Comparison of Simple Bench Top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreen, Phytochemical Analysis*. New York: Drug Information Association Inc.
- Biworo, Agung & Qamariah, Nur. 2005. Potensi Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) Sebagai Antioksidan dan Analgetik, *J. Profesi Medika*, 5(2): 11-21.
- Carballo, Hernandezinda, Perez, and Garcigravalos. 2002. A Comparison between Two Brine Shrimp Assay to Detect in vitro Cytotoxicity in Marine Natural Products. *BMC Biotechnology* [serial online]. <http://www.biomedcentral.com/1472-6750/2/17> [17 Maret 2006]
- De Jong, Wim. 1997. *Buku Ajar Ilmu Bedah Edisi Revisi*. Jakarta: EGC.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Tentang: Acuan Sediaan Herbal*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI Direktur Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Depatremen Pendidikan dan Kebudayaan RI. 1991. *Kamus Besar Bahasa Indonesia edisi Kedua*. Jakarta: Balai Pustaka.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid II* diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan.
- Ismansetyo, Alim & Kurniastuty. 1995. *Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton*. Yogyakarta: Kanisius.
- Leny, Sofia. 2006. *Isolasi dan Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Uji Brine Shrimp*. Tidak Dipublikasikan. Skripsi. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Mackeen, Ali, Lajis, Kawazu, Hassan, Amran, Habsah, Mooi, and Mohamed. 2000. Antimicrobial, Antioxidant, Antitumor –promoting and Cytotoxic

Activities of Different Plant Extracts of *Garcinia atroviridis* Griff. ex T. Anders. *J. Ethnopharmacol* 2000. 72 (3): 395-402.

Maharani, Astri & Handayani, F. D. 2005. Insect Grow Regulator (IGR) terhadap Larva *Aedes aegypti* di Laboratorium. *J. Profesi Medika*, 5(2): 67-75.

Mc Laughlin, J. L. & Rogers, L. L. 1991. *Crown Gall Tumours on Potato Discs and Brine Shrimp Bioassay for Higher Plant Biochemistry vol.6, Assay for Bioactivity*. New York: Academic Press Limited.

Mc Laughlin, J. L. & Rogers, L. L. 1998. *The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals*. New York: Drug Information Association Inc.

Meyer. 1982. *Planta Medica*. New York: Planta Medica Inc.

Midleton, J. E. 2000. The effect of Plant Flavonoids on Mammalian cells; Implication for heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*, 52: 673-751.

Nealon, T. F. dan Nealon, W. H. 1996. *Ketrampilan Pokok Ilmu Bedah*. Jakarta: EGC.

Nkunya, M. H. 2005. Unusual Metabolites from Some Tanzanian Indigenous Plant Species. *Pure and Applied Chemistry*, 77(11) 1943-1955 [serial online] http://www.pure_appl_chem.com [27 Maret 2007]

Katzung, B. G. 2001. "Farmakologi Dasar dan Klinik" translated by Dripta Sjabana dkk. from *Basic and Clinical Pharmacology*. Jakarta: EGC.

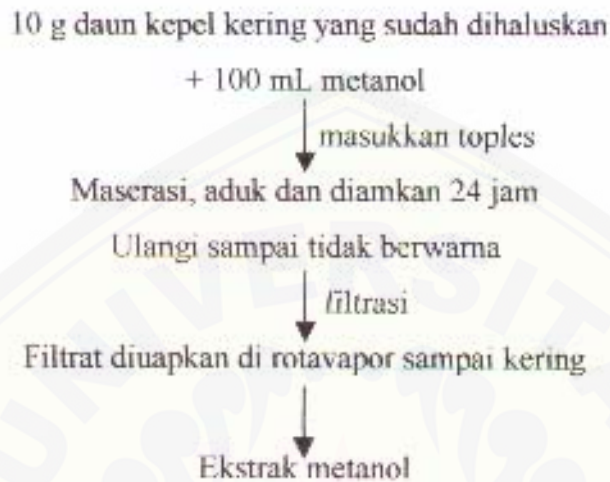
Mangan, Yellia. 2005. *Cara Bijak Menaklukan Kanker*. Jakarta: Agro Media Pustaka.

Pratiknya, A. W. 2003. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.

Saputra, K., Maat, S., & Soedoko, R. 2000. *Terapi Biologi untuk Kanker*. Surabaya : Airlangga University Press.

Shukla, P & Misra, Shital. 1997. *An Introduction to Taxonomy of Angiosperms*. New Delhi: Vikas Publishing House PVT LTD.

- Sinardi, Gandung. 2005. *Minum Sirup Kepel, Wangi Sepanjang Hari*.
unwama.ac.id/info/?p=71 [22 Juni 2007]
- Suhartono, Setiawan, Edyson, dan Yuliasari. 2004. Uji Aktivitas Antioksidan Rebusan Daun Dewa (*Gynura pseudochina*) dan Perannya Sebagai Inhibitor Advanced Glycation End Products (AGEs) Akibat Reaksi Glikosilasi, *J. Mutiara Medika*, 4(2): 77-136.
- Universitas Jember. 2006. *Pedoman Penulisan Karya Ilmiah*. Jember: Jember University Press.
- Versteegh, J. H. 1983. *Petunjuk Lengkap Mengenai Tanaman-tanaman Indonesia dan Khasiatnya Sebagai Obat-obatan Tradisional Jilid 1 Bagian Botani*. Yogyakarta: Yayasan Dana Sejahtera.
- Verheij, E. W. M & Coronel, K. E. 1992. *Plant Resources of South-east Asia 2 Edibles Fruits and Nuts*. Bogor: PROSEA.
- Wiert, Christophe. 2002. *Plants of Southeast Asia*. Malaysia : Prentice Hall.
- Wijayakusuma, Hembing & Dalimartha, Sctiawan. 2001. *Ramuhan Tradisional untuk Pengobatan Darah Tinggi*. Jakarta: Panebar Swadaya.
- Wukandari, Eny. 2002. *Pengaruh Penyinaran Ultraviolet Bacillus thuringiensis terhadap Mortalitas Larva Ulat Grayak (Spodoptera litura)*. Tidak Dipublikasikan. Skripsi. Jember: Universitas Jember.
- Xu, Zou, Xu, and Yang,. 2005. New Polyoxygenated Cyclohexenes from *Uvaria kweichowensis* and Their Antitumour Activities. PubMed Abstract from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/?=Retrieve&db=PubMed&list_uids=15997144&dopt=Abstract

LAMPIRAN A. Prosedur Penelitian**1. Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Kepel (*Uvaria burahol*)****2. Perhitungan Larutan Uji**

$$\text{Larutan Induk } 10.000 \text{ ppm} = \frac{20 \text{ mg}}{2 \text{ mL}}$$

$$\text{Larutan uji } 1.000 \text{ ppm: } \frac{1000 \text{ ppm} \times 5 \text{ ml}}{10.000 \text{ ppm}} = 500 \mu\text{l}$$

$$\text{Larutan uji } 800 \text{ ppm: } \frac{800 \text{ ppm} \times 5 \text{ ml}}{10.000 \text{ ppm}} = 400 \mu\text{l}$$

$$\text{Larutan uji } 600 \text{ ppm: } \frac{600 \text{ ppm} \times 5 \text{ ml}}{10.000 \text{ ppm}} = 300 \mu\text{l}$$

$$\text{Larutan uji } 400 \text{ ppm: } \frac{400 \text{ ppm} \times 5 \text{ ml}}{10.000 \text{ ppm}} = 200 \mu\text{l}$$

$$\text{Larutan uji } 200 \text{ ppm: } \frac{200 \text{ ppm} \times 5 \text{ ml}}{10.000 \text{ ppm}} = 100 \mu\text{l}$$

LAMPIRAN B. ANALISA DATA PROBIT

***** PROBIT ANALYSIS *****

DATA Information

5 unweighted cases accepted.
 0 cases rejected because of missing data.
 1 case is in the control group.
 0 cases rejected because LOG-transform can't be done.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

***** PROBIT ANALYSIS *****

Parameter estimates converged after 11 iterations.
 Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept +
 BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
KNSTR	1,74941	,24642	7,09934

	Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
	-4,90396	,67615	-7,25280

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 9,052 DF = 3 P = ,029

Since Goodness-of-Fit Chi square is significant, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

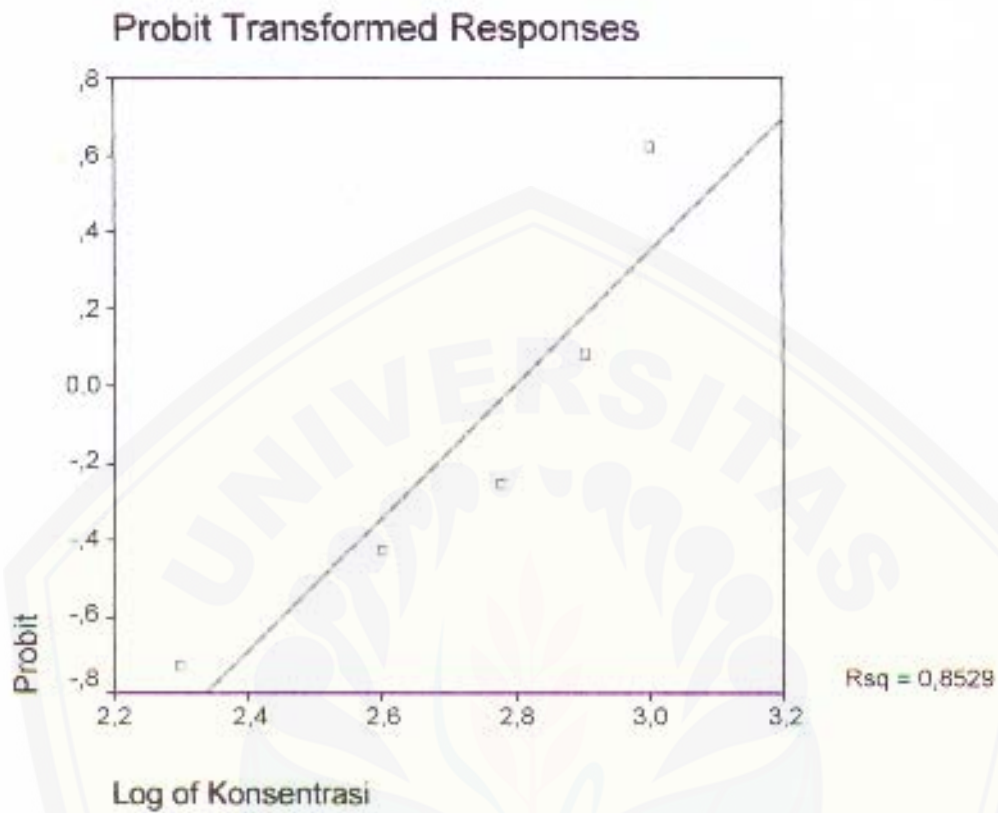
***** PROBIT ANALYSIS *****
 Observed and Expected Frequencies

KNSTR	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
2,30	10,0	2,33	1,8983	4,350	,18983
2,60	10,0	3,33	3,6246	-2,913	,36246
2,78	10,0	4,00	4,8252	-8,252	,48252
2,90	10,0	5,33	5,6935	-3,602	,56935
3,00	10,0	7,33	6,3468	9,866	,63468

***** PROBIT ANALYSIS *****

Confidence Limits for Effective KNSTR

Prob	KNSTR	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
,01	29,74543	,00105	110,22598
,02	42,58372	,00530	135,60862
,03	53,46979	,01476	154,79999
,04	63,45717	,03187	171,10980
,05	72,94185	,05958	185,72515
,06	82,12368	,10145	199,22713
,07	91,12059	,16170	211,95056
,08	100,00950	,24538	224,10956
,09	108,84437	,35844	235,85171
,10	117,66517	,50789	247,28475
,15	162,46607	2,14007	302,21945
,20	209,95268	6,65456	357,54630
,25	261,61180	17,40282	417,97723
,30	318,75097	40,49557	490,00166
,35	382,78298	85,68036	586,93199
,40	455,39829	163,64889	742,64887
,45	538,74007	272,28456	1048,21561
,50	635,63817	386,24965	1712,00119
,55	749,96442	487,49733	3142,66747
,60	887,21432	579,40338	6209,64389
,65	1055,52206	670,21576	12973,60265
,70	1267,55968	767,11872	28726,10310
,75	1544,41001	877,34354	68517,64763
,80	1924,41400	1010,71971	181828,48229
,85	2486,89395	1184,59474	570720,13128
,90	3433,77640	1438,42870	2420387,24916
,91	3712,05129	1506,54533	3433266,26155
,92	4039,97482	1583,87064	5020348,83068
,93	4434,07879	1673,10819	7625819,34342
,94	4919,84607	1778,29707	12166278,4214
,95	5539,15058	1905,84451	20732478,1866
,96	6367,06436	2066,77902	38793905,2420
,97	7556,33957	2282,47134	83842010,7120
,98	9488,03731	2603,01525	233680341,229
,99	13583,12603	3198,93618	1176719383,16



Persamaan Regresi :

$$Y = -4,90396 + 1,74941 X$$

LAMPIRAN C. ANALISA DATA ANOVA

Oneway Anova

Descriptives

Mortalitas Larva

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol	3	,00	,00	,00	,00	,00	0	0
200 ppm	3	2,33	,58	,33	,90	3,77	2	3
400 ppm	3	3,33	,58	,33	1,90	4,77	3	4
600 ppm	3	4,00	,00	,00	4,00	4,00	4	4
800 ppm	3	5,33	,58	,33	3,90	6,77	5	6
1000 ppm	3	7,33	,58	,33	5,90	8,77	7	8
Total	18	3,72	2,40	,56	2,53	4,91	0	8

ANOVA

Mortalitas Larva

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	94,944	5	18,989	85,450	,000
Within Groups	2,667	12	,222		
Total	97,611	17			

