

UJI SITOTOKSIK EKSTRAK DAN FRAKSI DARI DAUN GAHARU (*Aquilaria malaccensis* Lam) TERHADAP SEL KANKER SERVIKS (SEL HeLa) MENGGUNAKAN METODE MTT ASSAY

Laporan Tugas Akhir

**Asep Ramdani
11161010**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

UJI SITOTOKSIK EKSTRAK DAN FRAKSI DARI DAUN GAHARU (*Aquilaria malaccensis* Lam) TERHADAP SEL KANKER SERVIKS (SEL HeLa) MENGGUNAKAN METODE MTT ASSAY

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

Asep Ramdani
11161010

Bandung, 20 Agustus 2020

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(Apt. Aris Suhardiman, M.Si)



(Dewi Kurnia, M.Si)

ABSTRAK

UJI SITOTOKSIK EKSTRAK DAN FRAKSI DARI DAUN GAHARU (*Aquilaria malaccensis* Lam) TERHADAP SEL KANKER SERVIKS (SEL HeLa) MENGGUNAKAN METODE MTT ASSAY

Oleh :

Asep Ramdani

11161010

Kanker serviks merupakan salah satu dari jenis kanker yang menyerang perempuan baik di Negara maju dan Negara berkembang. Kanker dapat muncul dari kesalahan pembelahan sel atau kerusakan DNA dari paparan lingkungan tertentu yang menimbulkan adanya radikal bebas sebagai faktor dari terjadinya sel kanker. Tanaman gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam) telah dikenal oleh masyarakat sebagai bahan teh kesehatan. Kandungan senyawa yang terdapat dalam teh dipercaya memiliki aktivitas antioksidan dan antikanker. Dalam penelitian sebelumnya ditemukan beberapa bahan senyawa aktif yang terkandung dalam daun gaharu diantaranya seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin dan tanin. Pengujian yang telah dilakukan sebelumnya bahwa tanaman gaharu memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker MCF-7 yang baik dari salah satu fraksi yaitu fraksi n-heksana. Pada penelitian ini dilakukan uji potensi lain sitotoksik dari tanaman gaharu pada sel kanker lain yaitu sel HeLa. Ekstraksi dilakukan dengan metode Soxhletasi menggunakan pelarut etanol 96% lalu di fraksinasi dengan pelarut n-heksana, etil asetat, dan metanol:air. Metode MTT *assay* digunakan untuk menguji aktivitas sitotoksik sampel penelitian pada kultur sel yang digunakan. Pengukuran dilakukan menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 550 nm. Hasil menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ dari keempat sampel yang diujikan yaitu ekstrak etanol (299,506 µg/ml), fraksi n-heksana (120,913 µg/ml) , fraksi etil asetat (3490,476 µg/ml) dan fraksi metanol:air (294,060 µg/ml). dari ekstrak dan fraksi diketahui nilai tertinggi ditunjukkan oleh fraksi n-heksana dengan kategori cukup aktif / moderate.

Kata Kunci : Sel HeLa, MTT *assay*, Gaharu, Sitotoksik, IC₅₀

ABSTRACT

CYTOTOXIC TEST EXTRACTS AND FRACTION OF THE LEAF AGARWOODS (*Aquilaria malaccensis* Lam) AGAINST CERVICAL CANCER CELL (HeLa CELLS) USING MTT ASSAY METHOD

By :

Asep Ramdani

11161010

*Cervical cancer is one type of cancer that attacks women in both developed and developing countries. Cancer can arise from cell division errors or DNA damage from certain environmental exposures that cause free radicals as a factor of cancer cells. Agarwood plant (*Aquilaria malaccensis* Lam) has been known by society as a health tea ingredient. The content of compounds contained in tea is believed to have anticancer and antioxidant activity. In previous studies found some of the active compound ingredients contained in the leaves of agarwood such as alkaloids, flavonoids, triterpenoid, saponins and tannins. Tests that have been done previously that agarwood plants have good cytotoxic activity against cancer cells MCF-7 from one of the fractions, the n-hexane fraction. In this study another cytotoxic potential test was carried out from aloe plants on other cancer cells, namely HeLa cells. Extraction was carried out by the Soxhletation method using 96% ethanol solvent then fractionated with n-hexane solvent, ethyl acetate, and methanol: water. The MTT assay method is used to test the cytotoxic activity of sample research on cell cultures used. Measurements were performed using ELISA reader at 550 nm wavelength. The results showed that the IC₅₀ values of the four samples tested were ethanol extract (299,506 µg / ml), n-hexane fraction (120,913 µg / ml), ethyl acetate fraction (3490,476 µg / ml) and methanol fraction: water (294,060 µg) / ml). from extracts and fractions it is known that the highest value is shown by the n-hexane fraction in the moderately active / moderate category.*

Keywords: HeLa Cells, MTT assay, Agarwoods, Cytotoxic, IC₅₀

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Universitas Bhakti Kencana, dan terbuka untuk umum.

Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizing pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh skripsi haruslah seizin Kepala Program Studi lingkungan Universitas Bhakti Kencana.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas berkah, rahamat dan hidayah-Nya yang senantiasa dilimpahkan kepada penulis, sehingga nisa menyelesaikan skripsi dengan judul “ **Uji Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi dari Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam) Terhadap Sel Kanker Serviks (Sel HeLa) Menggunakan Metode MTT assay** “. Laporan tugas akhir ini diajukan sebagai salah satu dari syarat untuk memenuhi persyaratan kelulusan Program Strata Satu di Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung..

Dalam Penyusunan skripsi ini banyak hambatan serta rintangan yang penulis hadapi namun pada akhirnya dapat melalui berkat adanya bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak baik secara moral maupun spiritual. Untuk itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Keluarga, yaitu orang tua bapak dan ibu yang sangat penulis sayangi dan cintai. Terima Kasih atas dukungan do'a dan semangat yang telah diberikan baik moral maupun material, dalam penyusunan laporan tugas akhir ini.
2. Bapak Apt. Aris Suhardiman, M.Si., selaku pembimbing utama dan Ibu Dewi Kurnia, M.Si., selaku pembimbing serta yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan bimbingan. Semoga Allah membalas segala kebaikan beliau dengan rahmat-Nya.
3. Seluruh dosen dan seluruh civitas akademik Fakultas Farmasi yang tidak dapat disebutkan satu persatu.
4. Rekan-rekan seperjuangan Program Studi S1 Farmasi Angkatan 2016 yang telah membantu dan memberi dukungan bagi penulis sehingga akhirnya dapat menyelesaikan laporan tugas akhir ini.

Penulis mohon maaf atas segala kesalahan yang pernah dilakukan. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat untuk mendorong penelitian-penelitian selanjutnya.

Bandung ,20 Agustus 2020

penulis

PERSEMBAHAN

Dipersembahkan kepada orang tua yang sangat cintai dan sayangi oleh penulis, serta saudara-saudara yang selalu mendukung, mendoakan, dan menyemangati baik secara moril maupun materil. Pembimbing yang sudah sabar membimbing penulis dan teman-teman farmasi S1 angkatan 2016 yang selalu menemani serta memberikan dukungan dan ide ketika mengalami kendala.

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xi
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 .Rumusan masalah.....	3
1.3. Tujuan dan manfaat penelitian.....	3
1.4. Hipotesis penelitian	4
1.5. Tempat dan waktu Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Deskripsi.....	5
2.2 Morfologi Tanaman	5
2.3 Penyebaran Tanaman.....	5
2.4 Taksonomi Tanaman Gaharu.....	6
2.5 Pemanfaatan.....	7
2.6 Kandungan fitokimia.....	7
2.7 Ekstraksi	7
2.8 Fraksinasi	8
2.9 Kanker	8
2.10 Kanker Serviks.....	8
2.10.1 Pengertian.....	8
2.10.2 Epidemiologi	9
2.11 MTT <i>assay</i>	9
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	10
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN	11
4.1 Penyiapan Bahan	11
4.1.1 Determinasi Bahan Tanaman.....	11
4.1.2 Pengumpulan Bahan.....	11

4.1.3 Pembuatan Simplisia	11
4.2 Karakteristik Simplisia.....	12
4.2.1 Kadar Abu Total	12
4.2.2 Kadar Abu Tidak Larut Asam.....	12
4.2.3 Uji Kadar sari larut air	13
4.2.4 Uji Kadar Sari Larut Etanol	13
4.2.5 Susut Pengeringan	13
4.3 Penapisan Fitokimia.....	13
4.3.1 Uji alkaloid	14
4.3.2 Uji flavonoid.....	14
4.3.3 Uji Saponin.....	14
4.3.4 Uji Steroid	14
4.3.5 Uji Tanin	14
4.3.6 Uji Kuinon.....	15
4.4 Ekstraksi Daun Gaharu.....	15
4.5 Fraksinasi	15
4.6 Uji Aktivitas Sitotoksik Metode <i>MTT assay</i>	15
4.7 Perhitungan IC_{50}	16
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	17
5.1 Pengumpulan bahan dan Determinasi Tanaman	17
5.2 Karakterisasi Simplisia	17
5.3 Penapisan Fitokimia.....	18
5.4 Ekstraksi.....	20
5.5 Fraksinasi	21
5.6 Pemantauan.....	22
5.7 Uji Aktivitas Sitotoksik Menggunakan Metode <i>MTT Assay</i>	24
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN.....	28
6.1 Kesimpulan	28
6.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA.....	29
LAMPIRAN	32

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia Daun Gaharu (<i>Aquilaria malaccensis</i> Lam).....	17
Tabel 5.2 Hasil Skrinning Fitokimia Simplisia Daun Gaharu (<i>Aquilaria malaccensis</i> Lam).....	19
Tabel 5.3 Hasil Rendemen Fraksinasi Simplisia Daun Gaharu (<i>Aquilaria malaccensis</i> Lam).....	21
Tabel 5.4 Nilai IC ₅₀ Sampel Ekstrak dan Fraksi Daun Gaharu (<i>Aquilaria malaccensis</i> Lam).....	26
Tabel 5.5 Kategori Sitotoksik (NCI, 2001).	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman Gaharu	5
Gambar 5.1 Fase Gerak Non Polar N-Heksana : Etil Asetat (9 : 1).....	22
Gambar 5.2 Fase Gerak Semi Polar Klorofom : Metanol (9 : 1)	23
Gambar 5.3 Fase Gerak Polar Etil Asetat : Metanol : Air (8 : 1 : 1).....	24
Gambar 5.4 Hasil data ekstrak setelah diolah menjadi grafik.....	25
Gambar 5.5 Hasil data Fraksi N-Heksana setelah diolah menjadi grafik.....	25
Gambar 5.6 Hasil data fraksi Etil asetat setelah diolah menjadi grafik.....	25
Gambar 5.7 Hasil data Fraksi metanol : air setelah diolah menjadi grafik	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Determinasi Pohon Gaharu (<i>Aquilaria malaccensis</i> Lam).....	33
Lampiran 2 Gambar dan Perhitungan Karakterisasi Simplisia	34
Lampiran 3 Hasil Pengamatan Skrinning Fitokimia	36
Lampiran 4 Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi	38
Lampiran 5 Tabel dan Perhitungan Pengujian Aktivitas Sitotoksik	39

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	MAKNA
add	Ditambahkan
AlCl ₃	Aluminium Klorida
b/v	Bobot per volume
Ca	Kalsium
CCRC	Cancer Chemoprevention Research
cm	Centimeter
Depkes RI	Departemen Kesehatan Republik Indonesia
Dkk	Dan kawan-kawan
DMSO	Dimethyl Sulfoksida
DNA	Deoksiribonukleat Acid
ECC	Ekstraksi Cair-cair
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FeCl ₃	Besi (III) Klorida
g	Gram
HCL	Asam Klorida
HeLa	Henrietta Lacks
HPVs	Human Papillomavirus
H ₂ SO ₄	Asam Sulfat
IC ₅₀	Inhibition Concentration 50
K	Kalium
KEMENKES	Kementrian Kesehatan
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
LC ₅₀	Letal Concentration 50
m	Meter
MA	Management Authority
MCF-7	Michigan Cancer Foundation-7
Mg	Magnesium
ml	Mililiter
mm	Milimeter
MTT	[3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromid
µg	Mikrogram
µL	Mikroliter
Na	Natrium
NCI	National Cancer Institute
nm	Nano Meter
RPMI 1640	Roswell Park Memorial Institute 1640
UV	Ultra Violet
WHO	World Health Organitazion
°C	Derajat Celcius
%	Persen
λ	Lamda

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Penelitian tentang obat herbal telah lama dilakukan demi mencari alternatif bagi penyakit yang menggunakan obat-obatan kimia. Penggunaan obat-obatan kimia jangka panjang biasanya menimbulkan efek samping dan biaya yang tinggi. Salah satu pemanfaatan obat herbal yang dikembangkan adalah untuk membantu penyembuhan penyakit kanker. Kanker merupakan masalah kesehatan global dengan banyaknya laporan yang berkaitan dengan penyakit kanker di negara maju dan negara berkembang. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan sekitar 27 juta kasus baru kanker dan 17,5 juta kematian akibat kanker setiap tahun pada tahun 2050 (Hussain dkk, 2016)

Kanker payudara dan kanker serviks merupakan 2 jenis kanker terbanyak pada perempuan baik di negara maju maupun berkembang. Di Indonesia angka kejadian penyakit kanker berada pada urutan 8 di Asia Tenggara sedangkan di Asia urutan ke 23. Kanker merupakan pertumbuhan sel-sel yang bersifat abnormal dan tidak terkontrol. Kanker serviks merupakan tumbuhnya sel-sel yang abnormal pada jaringan serviks atau leher rahim. Pada tahun 2018 angka kejadian kanker payudara di Indonesia sebesar 42,1 dari 100.000 penduduk yang diikuti kanker leher rahim sebesar 23,4 dari 100.000 penduduk dengan rata-rata kematian 13,9 dari 100.000 penduduk (Kemenkes, 2019).

Kanker dapat muncul sebagai akibat dari kesalahan yang terjadi ketika pembelahan sel atau karena kerusakan DNA yang disebabkan oleh paparan lingkungan tertentu. Paparan lingkungan yang menyebabkan kanker termasuk zat-zat seperti bahan kimia dalam asap tembakau dan radiasi seperti sinar ultraviolet dari sinar matahari. Paparan lingkungan tersebut menimbulkan adanya radikal bebas sebagai salah satu faktor dari terjadinya sel kanker (NCI, 2017)

Radikal bebas adalah sekelompok bahan kimia baik berupa atom maupun molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya atau kehilangan elektron, sehingga apabila dua radikal bebas bertemu, mereka bisa memakai bersama elektron tidak berpasangan membentuk ikatan kovalen. Molekul non radikal dan radikal bebas bertemu, akan membentuk suatu molekul radikal yang baru. Radikal bebas bersifat tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul di sekitarnya, sehingga radikal bebas bersifat toksik terhadap molekul biologi/sel dan dapat

mengganggu produksi DNA. Elektron dari DNA yang diambil oleh radikal bebas dapat menyebabkan perubahan struktur DNA sehingga timbulah sel-sel mutan dan jika berlangsung lama dapat menjadi kanker (Werdhasari, 2014)

Human Papillomavirus (HPVs) seperti HPV18 memainkan peran sentral dalam pengembangan semua tentang kasus kanker serviks. Dalam 10 tahun terakhir, bukti kuat menguatkan hipotesis bahwa human HPVs, terutama HPV yang beresiko tinggi seperti HPV16 dan HPV18 adalah yang utama dalam menyebabkan kanker serviks. Faktor-faktor lain seperti hormon, asap rokok, dan disregulasi gen onkogen dan gen penekan tumor juga dibutuhkan untuk transformasi maligna penuh (Herrington, 1995); (Yang, dkk, 1996); (Yang, dkk, 1997).

Banyak senyawa yang telah dikembangkan untuk melawan kanker yang meliputi senyawa antimetabolit, hormon, pengalkilasi, obat radiomimetik, dan senyawa antagonis (Cram dkk, 1992; Hoppe dkk, 1992; Lorgan dkk, 1996). Lingkungan alam Indonesia yang terdiri dari 17.000 pulau memiliki potensi yang besar. Indonesia merupakan salah satu lingkungan dengan keanekaragaman hayati terbesar di dunia, bahwa kepulauan Indonesia memiliki setidaknya 30.000 spesies tanaman obat (Departemen Perdagangan RI, 2009). Beberapa tanaman dengan penggunaannya sebagai obat sangat wajar tumbuh di hutan-hutan, rawa, bahkan kebun-kebun milik masyarakat Indonesia. Bahkan mungkin ada beberapa tanaman yang dapat menyembuhkan penyakit langka. Indonesia memiliki potensi untuk berkontribusi pada obat-obatan yang besar bagi dunia.

Salah satu tanaman yang tersebar di wilayah Indonesia dan di beberapa negara Asia Tenggara dan Cina yang sering digunakan oleh masyarakat sebagai bahan teh kesehatan yaitu tanaman gaharu. Dalam penelitian ditemukan beberapa bahan senyawa aktif yang terkandung dalam daun gaharu diantaranya seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin dan tanin. (Khalil dkk, 2013). Jenis tanaman gaharu adalah salah satu tanaman yang sering dimanfaatkan sebagai dupa untuk acara keagamaan, parfum, hiasan dan komponen pengobatan tradisional (Shoebm dkk, 2010).

Pada penelitian tentang uji sitotoksik pada sel MCF-7 atau *Michigan Cancer Foundation-7* (model sel kanker payudara) sebelumnya yang dilakukan Hana (2019), ekstrak etanol, fraksi metanol air, fraksi etil asetat dan fraksi N-heksan daun gaharu menunjukkan nilai IC₅₀ berturut turut adalah ekstrak sebesar 728,412 µg/ml, fraksi

methanol air sebesar 505,026 µg/ml, fraksi etil asetat 1881,482 µg/ml dan fraksi N-heksan sebesar 144,458 µg/ml. sehingga aktivitas sitotoksik yang paling baik ditunjukkan pada sampel fraksi N-heksan. Suatu bahan atau ekstrak memiliki aktivitas sangat toksik apabila nilai LC_{50} nya <20 µg/ml (National Cancer Institute, 2001). Adapun pada penelitian sebelumnya bahwa daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam) memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} sebesar 25,71 µg/ml, (Ridwanti, 2017). Hasil penelitian aktivitas antioksidan diperoleh hasil etanol daun gaharu memiliki IC_{50} sebesar 27,83 µg/ml (Nugraha dkk, 2015). Aktivitas antioksidan merupakan salah satu parameter awal yang menunjukkan kemungkinan tanaman dapat dieksplorasi potensinya sebagai antikanker (Wil dkk, 2014). Pada penelitian yang dilakukan Mega dan Swastini (2010), diketahui bahwa ekstrak metanol daun gaharu (*Grinops versteegii*) mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan senyawa fenolik. Senyawa senyawa tersebut telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antikanker. Pada penelitian lain oleh Dewi (2013), diketahui ekstrak metanol daun gaharu jenis *Aquilaria microcarpa* Papua dan Gorontalo memiliki nilai konsentrasi mematikan 50% (LC_{50}) <30 µg/ml.

Berdasarkan latar belakang diatas, perlu adanya penelitian lebih lanjut terhadap tanaman gaharu mengenai potensi untuk melawan kanker serviks. Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol dan fraksi n-heksan, etil asetat dan metanol;air dari daun gaharu pada sel kanker serviks (Sel HeLa) menggunakan metode MTT assay.

1.2 .Rumusan masalah

Bagaimana aktivitas sitotoksik dari ekstrak dan fraksi daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*) terhadap sel kanker serviks HeLa.

1.3. Tujuan dan manfaat penelitian

Penelitian ini dibatasi hanya pada uji aktivitas sitotoksik dari ekstrak dan fraksi daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*) terhadap sel kanker serviks HeLa dengan metode MTT assay.

1.4. Hipotesis penelitian

Diduga ekstrak dan fraksi daun gaharu (*Aquilaria malaccensis*) memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker serviks HeLa.

1.5. Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2019 sampai bulan Juni 2020 di laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung JL. Soekarno Hatta No. 754 Bandung dan di Culture Cytogenetic Laboratory Rumah Sakit Pendidikan Universitas Padjajaran JL. Prof. Eyckman No.38 Bandung

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi

Ding Hao (1960) mendeskripsikan enam jenis *Aquilaria* spp. yang tersebar di Indonesia. Whitmor (1983) juga mendeskripsikan lima jenis *Aquilaria* spp. Jenis-jenis tersebut berpotensi untuk dikembangkan dan berasal dari hutan alam. Hampir semua spesies *Aquilaria* banyak yang dikembangkan di Indonesia diantaranya : *Aquilaria microcarpa*, *A. malaccensis*, *A. hirta*, *A. cumingiana*, *A. filarial*, *A. becariana*. (Susilo, 2014).

2.2 Morfologi Tanaman

Deskripsi Pohon, tinggi hingga 40 m, diameter mencapai 60 cm, biasanya lurus, kadang-kadang bergalur tebal 10 cm, kulit halus, keputihan. Daun tunggal, berseling, tangkai daun 4-6 mm, elips-lonjong ke lonjong-lanset, panjang 7,5-12 cm, lebar 2,5-5,5 cm, gundul, kadang-kadang bawah kasar, mengkilap pada kedua permukaan, pangkal dan ujung runcing, pertulangan menyirip, 12-16 pasang, agak tidak teratur, hijau. Perbungaan terminal, di ketiak daun, bentuk payung, biasanya bercabang menjadi 2-3 umbels, masing-masing dengan sekitar 10 bunga, gagang bunga panjang 5-15 mm, tangkai bunga ramping, panjang 3-6 mm, bunga 5 helai, lonceng, 5-6 mm panjang, hijau atau kotor-kuning, tersebar. Buah kapsul, bulat telur, panjang 3-4 cm, lebar 2,5 cm, hijau. Biji bulat telur, hitam. (backer & brink, 1968.)

Bagian yang digunakan dan manfaat empirik Getah : membantu mengurangi encok, pusing. Kayu : membantu mengatasi gigitan serangga, encok, diare dan muntah (EISAI, 1995).

2.3 Penyebaran Tanaman

Saat ini diperkirakan terdapat lebih kurang 27 jenis tumbuhan gaharu yang dikelompokkan ke dalam delapan marga dan tiga suku. Bentuk hidupan tumbuhan penghasil gaharu dapat berupa pohon, semak dan perdu yang merambat.(Santoso, 2011) Berdasarkan sebaran tempat tumbuh, tanaman gaharu umumnya tumbuh di beberapa pulau yaitu :

1. Kalimantan (12 jenis)
2. Sumatera (10 jenis)

3. Nusa Tenggara (3 jenis)
4. Papua (2 jenis)
5. Sulawesi (2 jenis)
6. Jawa (2 jenis)
7. Maluku (1 jenis)

Dari tanaman gaharu yang diketahui tersebut, ada 7 (tujuh) jenis yang sangat populer diusahakan di Indonesia, yaitu: *Aquilaria malaccensis*, *A. microcarpa*, *A. beccariana*, *A. hirta*, *A. filaria*, *A. cumingiana* dan *Gyrinops*. Gaharu jenis *A. filaria* masih banyak ditemukan di propinsi Papua. Tempat tumbuh penyebarannya banyak di hutan rawa-rawa dan juga di hutan yang bertanah mineral. Karena masih melimpahnya potensi *Aquilaria filaria* yang mengandung gaharu, maka daerah Papua ditetapkan oleh Management Authority (MA) sebagai daerah penghasil gaharu jenis *A. filaria*. (Santoso, 2011)

Menurut survey yang dilakukan di Ipuh, Bengkulu Utara ditemukan bahwa pada: empat plot pengamatan seluas 0.25 hektar dengan ukuran empat persegi, maka tiap plot terdapat 2 pohon (0.31%), 8 tiang (1.06%) dan 11 anakan (1.38%) *A. malaccensis*, dari seluruh 642 pohon, 751 tiang dan 793 anakan dari berbagai macam pohon per hektar. Hal ini mengindikasikan bahwa populasi *A. malaccensis* sangat sedikit dan tidak merata penyebarannya, karena kemungkinan lokasi hutan tersebut sudah dimasuki pemburu gaharu. (Santoso, 2011).

2.4 Taksonomi Tanaman Gaharu



Gambar 2.1 Tanaman Gaharu

Sumber foto : galeri foto pribadi

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Malvales
Family	: Thymelaeaceae
Genus	: <i>Aquilaria</i>
Species	: <i>Aquilaria malaccensis</i> Lam

(Backer dkk, 1963)

2.5 Pemanfaatan

Di Sumatera dan Kalimantan, daun *A. malaccensis* untuk teh dan makanan badak. Produk-produk gaharu dimanfaatkan antara lain dalam bentuk dupa untuk upacara ritual dan keagamaan, pengharum tubuh dan ruangan, bahan kosmetik, obat-obatan sederhana, parfum, aroma terapi, sabun, body lotion oleh berbagai etnis di negara-negara Asia. Bijinya dimakan oleh burung, tupai, dan tikus tanah. Kayu dimakan oleh larva kumbang dan rayap tanah. (Ding Hao, 1960).

2.6 Kandungan fitokimia

Menurut Khalil dkk (2013) pada daun gaharu memiliki beberapa senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin dan tanin.

2.7 Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyaring simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok diluar pengaruh cahaya matahari langsung. Ekstraksi kering harus mudah digerus menjadi serbuk (Ansel, 1989).

Ekstraksi merupakan proses penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman, hewan serta beberapa jenis ikan termasuk bioata laut (Harborne, 1987),

Sedangkan ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah bahan yang tidak larut dan senyawa aktif yang tidak larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain lain (Depkes RI, 2000).

2.8 Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu kuantitas tertentu dari campuran (padat, cair, terlarut, suspensi atau isotop dibagi dalam jumlah kecil (fraksi) komposisi perubahan menurut kelandaian. Pembagian atau pemisahan ini didasarkan pada bobot tiap fraksi. Fraksi yang lebih berat akan berada paling dasar sedangkan fraksi yang ringan akan berada diatas (Adijuwana dan Nur, 1989).

Ekstraksi cair-cair merupakan salah satu metode fraksinasi. Tujuan dari ekstraksi ini adalah untuk memperoleh ekstrak yang lebih spesifik sifat kepolarannya. Prinsip ekstraksi cair-cair adalah adanya distribusi komponen target pada dua pelarut yang tidak saling larut. Sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua (Khopkhar, 2008).

2.9 Kanker

Kanker menurut *American Cancer Society* tahun 2017 merupakan kelompok penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan dan penyebaran sel abnormal yang tidak terkontrol. Penyebaran yang tidak terkontrol akan mengakibatkan kematian. Kasus baru kanker yang tinggi dan sekitar 40% dari kematian akibat kanker yang berkaitan erat dengan faktor resiko kanker yang seharusnya dapat dicegah.

Kanker adalah penyakit yang timbul akibat pertumbuhan tidak normal sel jaringan tubuh yang berubah menjadi sel kanker, sedangkan tumor adalah kondisi dimana pertumbuhan sel tidak normal sehingga membentuk suatu lesi atau dalam banyak kasus, benjolan di tubuh (Kemenkes RI, 2015).

2.10 Kanker Serviks

2.10.1 Pengertian

Kanker serviks merupakan keganasan yang berasal dari serviks. Serviks merupakan sepertiga bagian bawah uterus, berbentuk silindris, menonjol dan berhubungan dengan vagina melalui ostium uteri eksternum (Kemenkes RI, 2015).

2.10.2 Epidemiologi

Estimasi jumlah insiden kanker serviks pada tahun 2010 sebesar 45.000 kasus (Pedoman Pelayanan Medik Kanker Ginekologi, 2011) . Data ini didapatkan dari registrasi kanker berdasarkan populasi, registrasi data vital, dan data otopsi verbal dari 187 negara dari tahun 1980 sampai 2010. Per tahun insiden dari kanker serviks meningkat 3,1% dari 378.000 kasus pada tahun 1980. Ditemukan sekitar 200.000 kematian terkait kanker serviks dan 46.000 diantaranya adalah wanita usia 15-49 tahun yang hidup di negara sedang berkembang (ESGO, 2011).

Kanker serviks menduduki urutan ke-7 secara global dalam segi angka kejadian (urutan ke 6 di negara kurang berkembang) dan urutan ke-8 sebagai penyebab kematian (menyumbangkan 3,2% mortalitas, sama dengan angka mortalitas akibat leukemia). Kanker serviks menduduki urutan tertinggi di negara berkembang, dan urutan ke-10 pada negara maju atau urutan ke 5 secara global (GLOBOCAN, 2012). Di Indonesia kanker serviks menduduki urutan ke-2 dari 10 kanker terbanyak berdasarkan data dari Patologi Anatomi tahun 2010 dengan insidens sebesar 12,7.

2.11 MTT assay

MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromid merupakan salah satu metode untuk menilai sitotoksitas suatu bahan. Dasar uji enzimatik mtt adalah mengukur kemampuan sel hidup berdasarkan aktivitas mitokondria dari kultur sel (Meizarini dkk, 2005)

MTT adalah molekul larut berwarna kuning, yang dapat digunakan untuk menilai aktivitas enzimatik selular, berdasarkan pada kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam MTT. Adapun prinsip metode MTT adalah reaksi redoks yang terjadi di dalam sel. Garam tetrazolium berwarna kuning akan di reduksi di dalam sel yang mempunyai aktivitas metabolik. Mitokondria dari sel hidup dan berperan penting dalam hal ini, adalah yang menghasilkan enzim suksinat dehidrogenase. Bila enzim suksinat dehidrogenase tidak aktif karena efek sitotoksik, maka formazan tidak akan terbentuk. Jumlah formazan yang terbentuk dalam (berwarna ungu), proporsional dengan aktivitas enzimatik (Kasugai dkk, 1991). Jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak (Tiabilitas sel tinggi) (CCRC, 2013)