

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI ETIL ASETAT  
BUAH RANTI HITAM (*Solanum nigrum* L.) HASIL  
FERMENTASI KOMBUCHA TERHADAP LINI SEL  
KANKER PAYUDARA MDA-MB 231**

**LAPORAN TUGAS AKHIR**

**DILLA NURUL FATIMAH**

**13171013**



**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS BHAKTI KENCANA  
BANDUNG  
2019**

**UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI ETIL ASETAT  
BUAH RANTI HITAM (*Solanum nigrum* L.) HASIL  
FERMENTASI KOMBUCHA TERHADAP LINI SEL  
KANKER PAYUDARA MDA-MB 231**

**LAPORAN TUGAS AKHIR**

Diajukan untuk memenuhi persyaratan Tugas Akhir II

**Dilla Nurul Fatimah  
13171013**

Bandung, Mei 2019

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



**(Rahma Ziska, M.Si)**

Pembimbing Serta,



**(Dadih Supriadi, M.Si., Apt)**

*Skripsi ini saya persembahkan untuk Bapak dan Mama  
tercinta, adik perempuan saya, keluarga besar dan kawan  
seperjuangan.*

## Abstrak

# UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI ETIL ASETAT BUAH RANTI HITAM (*Solanum nigrum* L.) HASIL FERMENTASI KOMBUCHA TERHADAP LINI SEL KANKER PAYUDARA MDA-MB 231

Oleh

Dilla Nurul Fatimah

13171013

**Latar belakang:** Pengobatan kanker diketahui memiliki efek samping jangka panjang yang merugikan. Salah satu upaya untuk mengurangi efek samping tersebut adalah dengan mencari pengobatan alternatif yang digunakan dalam terapi kanker. Salah satu tanaman yang diketahui memiliki potensi efek sitotoksik terhadap sel kanker adalah buah ranti hitam (*Solanum nigrum* L.). Beberapa penelitian tentang ranti hitam telah membuktikan bahwa tanaman tersebut mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas sitotoksik. **Tujuan:** Untuk mengetahui aktivitas sitotoksik terhadap lini sel kanker payudara MDA-MB 231 dari fraksi etil asetat buah ranti hitam (*Solanum nigrum* L.) sebelum dan setelah difermentasikan dengan kombucha. **Metode:** Pengujian yang digunakan pada penelitian ini adalah MTT (*3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide*). **Hasil:** Evaluasi dari fraksi sebelum dan sesudah fermentasi menunjukkan bahwa kadar fenol sebesar 5,37% dan 1,35%, dengan pH 5,30 dan 2,52, dan total asam sebesar 3,57% dan 11,11%, alkaloid total didapat 56% dan 60%. **Kesimpulan:** Hasil IC<sub>50</sub> yang didapat setelah fermentasi yaitu 1752.921 µg/mL sedangkan sebelum fermentasi 97.8436 µg/mL.

**Kata Kunci :** *Solanum nigrum* L, kombucha, MDA-MB 231, MTT, IC<sub>50</sub>.

*Abstract*

**CYTOTOXIC ACTIVITY ASSAY OF ETHYL ACETATE  
FRACTION OF BLACK NIGHTSHADES (*Solanum nigrum* L.)  
FROM FERMENTED BY KOMBUCHA AGAINST ON  
MDA-MB BREAST CANCER CELL LINES 231**

**Oleh**  
**Dilla Nurul Fatimah**  
**13171013**

**Background:** Anticancer treatments have harmful long-term side effects, one of the efforts to reduce these side effects is by looking for herbal treatments used in anticancer therapy. One plant that is known to have the potential cytotoxic effect on cancer cells is black nightshades (*Solanum nigrum* L). Several studies on black nightshades have proven that these plants contain compounds that have cytotoxic activity. **Objective:** To determine cytotoxic activity against MDA-MB 231 breast cancer cell line from ethyl acetate fraction of black nightshades (*Solanum nigrum* L.) before and after fermented with kombucha. **Method:** The method used was MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol- 2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide). The evaluation results of the fractions before and after fermentation showed that phenol levels were 5.37% and 1.35%, with pH 5.30 and 2.52, and total acids of 3.57% and 11.11% total alkaloid obtained 56% and 60%. **Conclusion:** while the  $IC_{50}$  results were obtained after fermentation was 1752,921  $\mu\text{g/mL}$  while before fermentation 97.843  $\mu\text{g/mL}$ .

**Keywords:** *Solanum nigrum* L, kombucha, MDA-MB 231, MTT,  $IC_{50}$ .

## **Kata Pengantar**

### ***Assalamu'alaikum Wr.Wb.***

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, yang senantiasa telah memberikan limpahan rahmat, karunia dan juga hidayahnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir ini.

Laporan penelitian ini dibuat sebagai bukti pertanggung jawaban penulis akan melaksanakan Tugas Akhir. Penulis sangat menyadari Laporan ini tidak akan terselesaikan dengan baik & tepat waktu, tanpa bantuan dari berbagai pihak yang terkait dalam pelaksanaan Tugas Akhir.

Oleh karena itu, Penulis mengucapkan Terimakasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat:

1. Bapak Dr. Entris Sutrisno, S.Farm., MH.Kes., Apt. Selaku ketua Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.
2. Ibu Lia Marliani, M.Si.,Apt. Selaku ketua Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.
3. Ibu Rahma Ziska, M.Si. Selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, mendukung dan mengarahkan dalam menyelesaikan Laporan Tugas Akhir ini.
4. Bapak Dadih Supriadi, M.Si., Apt. Selaku dosen pembimbing serta yang telah memberikan bimbingan dan dorongan dalam menyusun Laporan Tugas Akhir.
5. Kedua orang tua saya yang saya cintai telah memberikan do'a untuk keberhasilan Laporan Tugas Akhir ini dan terus mendukung saya.

6. Semua rekan-rekan satu angkatan yang ada di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung yang senantiasa menemani penulis dalam memberi informasi dan referensi yang menunjang dalam menulis laporan ini.
7. Bapak dan Ibu dosen yang telah memberikan dorongan dan do'a yang sangat berharga atas terselesaikannya laporan ini.

Di dalam pembuatan Laporan Tugas Akhir ini, penulis mengakui adanya kekurangan serta keterbatasan penyampaian materi yang dapat disajikan. Oleh sebab itu penulis mengharapkan adanya kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca.

Penulis berharap Laporan Tugas Akhir ini, dapat mencapai sasaran dan tujuan sebagaimana yang telah ditentukan, semoga dapat bermanfaat bagi semua pihak dan juga pembaca pada umumnya serta sebagai bahan acuan bagi mahasiswa yang akan melakukan Tugas Akhir di masa yang akan datang.

***Wassalamualaikum Wr. Wb***

Bandung, Juni 2019

Penulis.

## Daftar isi

Lembar Judul	
Lembar Pengesahan	
Abstrak .....	i
<i>Abstract</i> .....	ii
Kata Pengantar .....	iii
Daftar Isi .....	v
Datar Lampiran .....	viii
Daftar Gambar .....	ix
Daftar Tabel .....	x
Daftar Singkatan .....	xi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
I.1 Latar Belakang .....	1
I.2 Rumusan Masalah .....	3
I.3 Tujuan Penelitian .....	4
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
II.1 Buah Ranti Hitam ( <i>Solanum nigrum</i> L.) .....	5
II.2 Ekstraksi .....	9
II.3 Fraksinasi .....	12
II.4 Kombucha .....	12
II.5 Kanker .....	16
II.6 Kanker Payudara.....	17
II.7 Uji Sitotoksik .....	21
11.8 MTT <i>Assay</i> .....	22
II.9 Analisis Kadar Alkaloid Total Metode Gravimetri .....	23
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	25



<b>BAB IV ALAT DAN BAHAN .....</b>	<b>27</b>
<b>BAB V PROSEDUR PENELITIAN</b>	
V.1 Penyiapan Bahan .....	28
V.1.1 Pengumpulan Bahan Dan Determinasi .....	28
V.1.2 Sortasi Basah .....	28
V.1.3 Pencucian Simplisia .....	28
V.1.4 Pengeringan Simplisia .....	29
V.1.5 Perajangan .....	29
V.1.6 Pengeringan Simplisia Kembali .....	29
V.1.7 Sortasi Kering .....	29
V.2 Penetapan Kadar Air Simplisia .....	29
V.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Ranti Hitam .....	30
V.4 Proses Fraksinasi Etil Asetat Buah Ranti Hitam .....	31
V.5 Gravimetri .....	31
V.5.1 Analisis Kuantitatif Alkaloid .....	31
V.5.2 Analisis Kualitatif Alkaloid .....	32
V.5.3 Analisis Total Alkaloid Kromatografi Lapis Tipis .....	32
V.6 Pembuatan Starter Kombucha Teh .....	33
V.7 Peremajaan Starter Kombucha Menggunakan Sari Buah Ranti Hitam .....	33
V.8 Fermentasi Fraksi Etil Asetat Buah Ranti Hitam .....	34
V.9 Evaluasi Kombucha Buah Ranti Hitam .....	35
V.9.1 Analisis pH .....	35
V.9.2 Analisis Total Asam .....	35
V.9.3 Analisis Total Fenol .....	36
V.10 Kurva Pertumbuhan Kombucha Metode Turbidimetri ....	36
V.11 Pengaktifan dan Pemeliharaan Sel Kanker Payudara	

MDA-MB 231 .....	37
V.12 Uji Aktivitas Sitotoksik Dengan Metode MTT .....	39
V.13 Pengolahan dan Analisis Data .....	40
<b>BAB VI HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
VI.1 Pengumpulan Bahan dan Determinasi .....	41
VI.2 Pembuatan Simplisia .....	41
VI.3 Ekstraksi Simplisia Buah Ranti Hitam .....	42
VI.4 Fraksinasi Etil Asetat Buah Ranti Hitam .....	43
VI.5 Analisis Kadar Alkaloid Total .....	44
VI.6 Evaluasi Kombucha Buah Ranti Hitam .....	48
VI.7 Pengukuran Kurva Pertumbuhan Bakteri Kombucha .....	53
VI.8 Uji Aktivitas Sitotoksik Lini Sel Kanker Payudara	
MDA-MB 231 .....	55
VI.8.1 Proses Menumbuhkan Sel MDA-MB 231 .....	55
VI.8.2 Subkultur .....	56
VI.8.3 Uji Sitotoksik Menggunakan Metode MTT .....	57
VI.8.4 Perlakuan Fraksi Etil Asetat Buah Ranti Hitam .....	58
VI.8.5 Pengolahan dan Analisis Data .....	58
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
V.1 Kesimpulan .....	62
V.2 Saran .....	62
Daftar Pustaka .....	63
Lampiran .....	73

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi Tanaman Buah Ranti Hitam .....	73
Lampiran 2. Perhitungan Kadar Air Metode Gravimetri .....	74
Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Ekstrak dan Fraksi Etil Asetat Buah Ranti Hitam .....	75
Lampiran 4. Fermentasi Kombucha Sari Buah Ranti Hitam .....	76
Lampiran 5. Analisis Kuantitatif Alkaloid Total Metode Gravimetri .....	77
Lampiran 6. Analisis Uji pH .....	78
Lampiran 7. Analisis Total Asam .....	79
Lampiran 8. Analisis Total Fenol .....	80
Lampiran 9. Kurva Pertumbuhan Kombucha .....	82
Lampiran 10. Fraksinasi .....	83
Lampiran 11. Uji MTT <i>Assay</i> .....	84
Lampiran 12. Absorbansi Hasil Uji MTT Sebelum Fermentasi ..	85
Lampiran 13. Absorbansi Hasil Uji MTT Setelah Fermentasi ....	86
Lampiran 14. Kurva Uji Sitotoksik doxorubisin .....	87
Lampiran 15. Lini Sel Kanker Payudara MDA-MB 231 Fraksi Etil Asetat di Bawah Mikroskop <i>Inverted</i> .....	88

## DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1. Buah Ranti Hitam .....	5
Gambar II.2. Kombucha .....	12
Gambar VI.1. Analisis pH .....	49
Gambar VI.2. Analisis Total Asam .....	50
Gambar VI.3. Analisis Total Fenol .....	51
Gambar VI.4 Kurva Fermentasi .....	53
Gambar VI.5 Kurva MTT Fraksi Etil Asetat Sebelum Fermentasi Pada Panjang Gelombang 550 nm .....	59
Gambar VI.6 Kurva MTT Fraksi Etil Asetat Setelah Fermentasi Pada Panjang Gelombang 550 nm .....	59

## DAFTAR TABEL

Tabel II.1. Analisis Fitokimia Ekstrak Daun dan Buah	
Ranti Hitam .....	7
Tabel VI.1. Nilai IC <sub>50</sub> Fraksi Etil Asetat Sebelum Fermentasi ...	62
Tabel VI.2. Nilai IC <sub>50</sub> Fraksi Etil Asetat Setelah Fermentasi .....	63

## DAFTAR KATA SINGKATAN

SINGKATAN :

NAMA :

Co<sub>2</sub>

Carbon Dioksida

DMSO

Dimetil Sulfoksida

FBS

Fetal Bovine Saline

GAE

Gallic Acid Equivalent

IC<sub>50</sub>

Inhibitor Concentration 50

MTT

Microculture Tetrazolium

PBS

Phosfat Buffer Saline

RPMI

Roswell Park Memorial Institute

SCOBY

Symbiotic Culture of Bacteria  
and Yeast

TMS

Trimethylsilylimidazole

## **Bab I Pendahuluan**

### **I.1 Latar Belakang**

Kanker adalah sel normal yang tumbuh tidak terkendali yang ditandai adanya proses inisiasi, promosi dan progresi (Dipiro, 2009). Menurut data Kementerian Kesehatan RI (2013) kanker payudara dan kanker serviks menduduki prevalensi penderita paling tinggi di Indonesia pada tahun 2013, yaitu sebesar 0,5% dan 0,8% dari 61.682 penderita, dengan jumlah kematian terbesar yakni pada tahun 2012 mencapai 12,9% dari 8,2 juta orang (GLOBOCAN, 2012).

Beberapa metode terapi yang diberikan kepada pasien kanker payudara meliputi pembedahan, radioterapi, kemoterapi dan terapi hormonal (Jong, 2005). Hingga saat ini, metode terapi pasien kanker payudara diketahui memiliki efek samping akibat mekanisme kerjanya yang tidak spesifik. Obat-obat kemoterapi tidak hanya menghancurkan sel-sel kanker, tetapi juga menyerang sel-sel normal, terutama sel yang membelah dengan cepat (Noorwati, 2007). Menurut penelitian Faisal (2012), dari 101 pasien kemoterapi mengalami efek samping seperti alopesia (94,1%), mual (100%), muntah (100%), diare (80%), neuropati (50%), mialgia (90%), stomatitis (41,7%) dan trombositopenia (100%). Dari efek samping tersebut, alopesia merupakan aspek paling traumatik dari kemoterapi dan 8% pasien bahkan berhenti dari kemoterapi karena ketakutannya akan mengalami alopesia (Botchkarev, 2003).

Dewasa ini, penelitian tentang agen sitotoksik dari bahan alam telah banyak dilakukan. Hal ini diharapkan dapat menjadi metode

alternatif pengobatan kanker, karena dapat memberikan efek samping minimal, meskipun dikonsumsi dalam jangka waktu lama. Salah satu tanaman yang diketahui memiliki efek sitotoksik adalah buah ranti hitam (*Solanum nigrum* L.). Beberapa penelitian terhadap ekstrak etanol buah ranti hitam pada dosis 2 dan 5  $\mu\text{g/mL}$  menunjukkan aktivitas sitotoksik yang dapat menginduksi apoptosis sel kanker hati HepG2 (Lin *et al.*, 2008). Menurut Putri, Hermawan, dan Meiyanto (2010), ekstrak etanol buah ranti hitam dapat memberikan efek sinergis ketika dikombinasikan dengan obat kemoterapi doxorubisin terhadap sel kanker payudara T47D dengan  $\text{IC}_{50}$  4  $\mu\text{g/mL}$ . Selain itu, ekstrak etanol ranti hitam diketahui memiliki efek sitotoksik terhadap kanker kolon manusia dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  359,23  $\mu\text{g/mL}$  (Maruti *et al.*, 2011).

Selain ranti hitam, bahan alam lain yang juga berpotensi memiliki efek sitotoksik adalah kombucha. Kombucha adalah produk minuman tradisional hasil fermentasi antara SCOBY (*Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast*) dengan substrat. Substrat yang biasa digunakan yaitu teh hitam, teh hijau, rosella dan juga dapat dibuat dari jenis tanaman yang mengandung alkaloid seperti kopi dan kakao. SCOBY adalah hasil simbiosis antara beberapa genus bakteri dengan jamur sehingga membentuk suatu jamur teh (Dufrense dan Farnworth. 2000 ; Mayser, Stephani, Grunder. 1995). Proses fermentasi teh kombucha dapat menghasilkan beberapa senyawa penting seperti polifenol, asam asetat, etanol, asam glukoronat, asam laktat, asam fenolat, vitamin B dan vitamin C (Bhanja, Kumari, Banerjee, 2009). Senyawa polifenol diketahui memiliki aktivitas



dalam penyembuhan penyakit kanker (Dufresne dan Farnworth, 2000). Peningkatan senyawa fenol selama proses fermentasi kombucha merupakan hasil interaksi berbagai macam mikroba yaitu bakteri dan khamir yang bermetabolisme menghasilkan senyawa flavonoid melalui reaksi enzimatik (Suhardini dan Zubaidah, 2016).

Potensi efek sitotoksik yang dimiliki oleh buah ranti hitam dan kombucha yang diperoleh dari data beberapa penelitian terkait menjadi latar belakang kuat yang mendasari penelitian ini. Penelitian ini merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Nawangwulan *et al* (PKM-P 2018, belum terpublikasi), yang membuktikan bahwa ekstrak etanol buah ranti hitam hasil fermentasi kombucha memiliki efek sitotoksik terhadap lini sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 160,769  $\mu\text{g/mL}$ . Pada penelitian ini telah dilakukan uji aktivitas sitotoksik fraksi etil asetat buah ranti hitam sebelum dan setelah difermentasi menggunakan kombucha. Melalui proses fermentasi diharapkan efek sitotoksik dari fraksi tersebut dapat ditingkatkan dan mendapatkan nilai konsentrasi  $IC_{50}$  terbaik.

## **I.2 Rumusan Masalah**

Bagaimana aktivitas sitotoksik dari fraksi etil asetat buah ranti hitam (*Solanum nigrum* L.) hasil fermentasi kombucha terhadap lini sel kanker payudara MDA-MB 231?

### **I.3 Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui aktivitas sitotoksik fraksi etil asetat buah ranti hitam (*Solanum nigrum* L.) terhadap lini sel kanker payudara MDA-MB 231 sebelum dan sesudah difermentasikan dengan kombucha.

### **I.4 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Februari – Mei 2019, di Laboratorium Mikrobiologi Sekolah Tinggi Farmasi Bandung Jl. Soekarno-Hatta No.754 Bandung dan Laboratorium Sitogenetika Universitas Padjajaran, Jl. Prof. Eyckman No. 38 Bandung

## Bab II Tinjauan Pustaka

### II. 1 Buah Ranti Hitam (*Solanum nigrum*. L)



Gambar II.1. Buah Ranti Hitam (Saleem, 2009)

Morfologi tanaman:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Solanales
Famili	: Solanaceae
Genus	: Solanum
Spesies	: <i>Solanum nigrum</i> L. (Kartesz, 2004)

Ranti hitam merupakan tanaman yang termasuk dalam suku *Solanaceae* memiliki berbagai macam nama daerah di Indonesia. Seperti di Sumatera bernama rampai. Pada pulau Jawa bernama leunca, leunca badak, leunca manuk, leunca pahit, leunca piit. Sedangkan di Maluku leunca dikenal dengan nama anti, boose,

bobose. Nama asing dikenal sebagai *Longki kui*, *Ye hai jiao*, *Black nightshade*. Nama simplisia dikenal dengan Herba Solani (Dalimartha, 2008),

Tanaman ini banyak ditanam di halaman, ladang dan tempat-tempat lain yang cukup mendapat air dan sinar matahari sampai ketinggian 3.000 mdpl. Terna semusim, berbatang tegak, bercabang banyak, tinggi 30-175 cm. Berdaun tunggal, bertangkai, letak berseling dan terdapat dalam kelompok-kelompok. Helaian daun berbentuk bulat telur, ujung dan pangkal daun meruncing, berwarna hijau tua. Karangan jumlah bunga 2-10 kuntum, berwarna putih atau lembayung. Buah berupa buni, bulat-bulat berisi banyak biji, berwarna hijau dan jika sudah matang menjadi warna hitam atau ungu kehitaman, mengilap dengan rasa sedikit pahit (Dalimartha, 2008)

Tanaman ini memiliki beberapa kandungan kimia. Seperti, bagian herbanya mengandung *glykoalkaloids solanine*, *solasonine* dan *solamargine*. Juga terdapat *solanigrine*, *solanigridine*, *diosgenin*, *tigogenin*, sedikit *atropin*, *saponin*, resin, zat samak, minyak lemak, mineral (kalsium fosfor, besi) serta vitamin A dan C. bagian buah yang masih muda mengandung *glykoalkaloid* yang beracun (Dalimartha, 2008). Kadar yang tinggi pada *glykoalkaloid* menimbulkan rasa pahit dan menyebabkan keracunan pada hewan maupun manusia. Senyawa *glikolkaloid* berfungsi sebagai racun pada nyamuk yang mengakibatkan gangguan fungsi membran. Senyawa ini juga menghambat kerja enzim *asetilkolinesteraseae* yang menyebabkan akumulasi asetilkolin dalam sistem saraf,

sehingga akumulasi asetilkolin tidak normal dan mengakibatkan cacat pencernaan, gangguan saraf dan bahkan kematian (Kandita, Aisyah dan Putri, 2015). Bagian daun dan buah dari ranti hitam mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenol, saponin dan tanin (Simorangkir *et al.* 2013). *Solasodine* adalah aglikon dari *solasonin* dan *solamargin*. *Solanidin* adalah aglikon dari *solanin*. *Solasodin* mempunyai efek menghilangkan nyeri, penurunan panas, antiradang dan antisyok. *Solamargin* dan *solasonine* mempunyai efek antibakteri. *Solanin* mempunyai efek antimitosis (Dalimartha, 2008).

Tabel II.1 Analisis Fitokimia Ekstrak Daun dan Buah Ranti Hitam

Jenis Ekstrak	Jenis Metabolit Sekunder							
	Alkaloid	Steroid	Triterpenoid	Flavonoid	Fenol	Saponin	Kuinon	Tannin
<b>Daun</b>								
Heksan	+	+++	+++	-	+++	-	-	-
Etil Asetat	++	+++	+++	++	+++	-	-	+
Etanol	+++	++	++	+++	+	+++	+	+++
<b>Buah</b>								
Heksan	-	+++	+++	-	+	-	-	-
Etil Asetat	++	+++	+++	+	+++	-	-	+
Etanol	++	-	-	++	+++	++	++	++

(Simorangkir *et al.* 2017)

Herba ranti hitam bisa digunakan sebagai pengobatan tradisional seperti obat demam, kejang panas pada anak, sakit tenggorokan, radang saluran nafas menahun, sesak nafas, infeksi saluran kencing, radang payudara, keputihan, radang serviks, bengkak karena benturan, disentri, urin sedikit pada anak, tekanan darah tinggi, gatal-

gatal dan kanker. Selain pengobatan tersebut buah ranti hitam memiliki efek farmakologis untuk pengobatan beri-beri, sakit maag (gastritis) dan radang selaput lendir pada sariawan (Dalimartha, 2008).

Menurut penelitian *Cancer Chemoprevention Research Center* (CCRC, ) Farmasi Universitas Gajah Mada bahwa senyawa  $\beta$ -2-*solamargin* yang telah diisolasi dari buah ranti hitam bersifat toksik pada sel tumor kolon, prostat dan payudara. *Solamargin* diketahui dapat memodulasi protein TNFRs dan bcl-2 serta berpotensi sebagai agen antikanker untuk lini sel kanker yang resisten terhadap TNFRs dan bcl-2. *Solamargin* dapat memicu apoptosis sel yang termediasi mitokondria, selain itu ranti hitam mengandung solanin yang mampu menginduksi apoptosis pada sel kanker hepar HepG2 melalui penurunan ekspresi bcl-2. Ekstrak etanol ranti hitam pada dosis 2  $\mu$ g/mL dan 5  $\mu$ g/mL dapat menginduksi apoptosis sel kanker hati HepG2 melalui peningkatan ekspresi p-JNK dan BAX, pelepasan sitokrom c dan aktivitas caspase (Lin *et al.* 2008).

Ekstrak etanol buah ranti hitam yang telah matang dapat menghambat proliferasi lini sel kanker payudara MCF-7 melalui apoptosis yang ditunjukkan melalui semakin banyaknya fragmentasi DNA (son *et al.* 2003). Menurut penelitian Lai *et al* (2016) ekstrak air dari *Solanum nigrum* dapat menginhibisi kemampuan sel kanker payudara dengan mekanisme induksi apoptosis.

Menurut penelitian Simorangkir *et al* (2017), buah ranti hitam mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel leukemia L<sub>1210</sub> dengan

nilai  $IC_{50}$  sebesar 14,88  $\mu\text{g/mL}$ . Hal tersebut diduga merupakan aktivitas senyawa alkaloid  $\beta_2$ -Solanin ( $\text{C}_{39}\text{H}_{63}\text{NO}_{11}$ ) yang terkandung dalam ekstrak etanol buah ranti hitam. An *et al* (2006) menyatakan bahwa potensi sitotoksik dari ekstrak etanol *S. nigrum* (satu genus dengan ranti hitam) didasarkan pada kemampuannya mengganggu struktur dan fungsi membran sel tumor, mengganggu sintesis DNA dan RNA, mengubah distribusi siklus sel, menghalangi jalur anti-apoptosis NF-kappaB, mengaktifkan reaksi cascade caspase dan meningkatkan produksi nitrat pada kanker hati. Istiaji (2012) mengemukakan bahwa ekstrak etanol buah *S. nigrum* dapat menghambat proliferasi sel kanker payudara.

## II.2 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan senyawa-senyawa kimia dari tumbuh-tumbuhan, hewan dan lain-lain menggunakan pelarut tertentu. Pemilihan metoda ekstraksi tergantung pada tekstur, kandungan air dan jenis senyawa yang diisolasi dari suatu tumbuhan atau hewan, sehingga senyawa kimia yang diekstraksi dapat tertarik sempurna tanpa mengalami perubahan sifat dan strukturnya. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Untuk memilih pelarut yang akan dipakai dalam ekstraksi harus diketahui sifat kandungan kimia metabolit sekunder yang akan diisolasi. Senyawa polar lebih mudah larut dalam pelarut polar dan senyawa non polar mudah larut dalam non polar ( Harborne, 1987 ).

Tujuan dari ekstraksi yaitu penyarian komponen kimia atau zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis

biota laut umumnya mengandung senyawa-senyawa yang mudah larut dalam pelarut organik (Sudjadi, 1986).

Salah satu metode ekstraksi cara dingin yaitu maserasi. Maserasi berasal dari bahasa latin *macerare* yang berarti merendam, merupakan proses paling tepat dimana bahan yang sudah halus memungkinkan untuk direndam sampai meresap dan melunakkan susunan sel sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut. Maserasi merupakan proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (25° C). Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah, serta dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termostabil. Kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Depkes RI, 2000). Prinsip dari metode maserasi adalah pelarut akan menembus ke dalam rongga sel yang mengandung senyawa metabolit, senyawa metabolit akan larut karena perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa metabolit di dalam sel dengan yang di luar sel maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

### **Ekstraksi Cair-cair**

Ekstraksi cair-cair atau yang dikenal dengan ekstraksi solvent merupakan proses pemisahan fasa cair yang memanfaatkan perbedaan kelarutan zat terlarut yang akan dipisahkan antara larutan asal dan pelarut pengestrak (*solvent*). Prinsip dasar ekstraksi cair-cair ini melibatkan pengontakkan suatu larutan dengan pelarut



(*solvent*) lain yang tidak saling melarut (*immisible*) dengan pelarut asal yang mempunyai densitas yang berbeda sehingga akan terbentuk dua fasa beberapa saat setelah penambahan *solvent*. Hal ini menyebabkan terjadinya perpindahan massa dari pelarut asal ke pelarut pengeksrak (*solvent*). Perpindahan zat terlarut ke dalam pelarut baru yang diberikan, disebabkan oleh adanya daya dorong (*dirving force*) yang muncul akibat adanya beda potensial kimia antara kedua pelarut. Sehingga proses ekstraksi cair-cair merupakan proses perpindahan massa yang berlangsung secara difusional (Laddha dan Degaleesan, 1978).

Pada ekstraksi cair-cair, satu komponen bahan atau lebih dari suatu campuran dipisahkan dengan bantuan pelarut. Ekstraksi cair - cair terutama digunakan, bila pemisahan campuran dengan cara destilasi tidak mungkin dilakukan (misalnya karena pembentukan azeotrop atau karena kepekaannya terhadap panas) atau tidak ekonomis. Seperti ekstraksi padat-cair, ekstraksi cair-cair selalu terdiri dari sedikitnya dua tahap, yaitu pencampuran secara intensif bahan ekstraksi dengan pelarut dan pemisahan kedua fase. Pada ekstraksi cair-cair, satu komponen bahan atau lebih dari suatu campuran dipisahkan dengan bantuan pelarut.

Proses ekstraksi cair-cair berlangsung pada suatu alat yang dirancang sedemikian rupa sehingga mempunyai luas permukaan yang mencukupi untuk terjadinya kontak antar fasa-fasa yang terlibat (fasa kontinyu yang berisi zat terlarut dan fasa dispersi) sehingga distribusi komposisi dalam kedua fasa menjadi lebih sempurna dan

berhasil dengan baik alat yang biasanya digunakan yaitu menggunakan corong pisah (Ariono *et al*, 2006).

### II.3 Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu pemisahan yang didasarkan pada perbedaan kelarutan komponen dua pelarut yang tidak saling bercampur. Alat yang digunakan adalah alat yang sederhana yaitu corong pisah. Prinsip fraksinisasi menggunakan pelarut didasarkan pada distribusi zat terlarut dan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur (Harbone, 2006)

Fraksinasi ini merupakan teknik pemisahan ekstrak hasil dari maserasi yang telah diuapkan sehingga diperoleh cairan dalam beberapa jumlah kecil (fraksi). Fraksinasi ini menggunakan berbagai pelarut dengan kepolaran yang berbeda-beda, sehingga masing-masing pelarut mengandung senyawa dengan kepolaran yang berbeda pula. Pembagian atau pemisahan ini didasarkan pada bobot dari tiap fraksi, fraksi yang lebih berat akan berada paling dasar sedangkan fraksi yang lebih ringan akan berada di atas (Harbone, 2006).

### II.4 Kombucha



Gambar II.2. Kombucha (Jayabalan *et al*, 2014)

Kombucha merupakan produk minuman hasil fermentasi dari mikroorganisme kelompok bakteri dan jamur dengan penambahan campuran gula dan teh, mikroorganisme tersebut merupakan simbiosis kultur kombucha yang biasa disebut SCOBY (*Symbiotic Colony of Bacteria and Yeast*) antara *Acetobacter* yaitu *Acetobacter xylinum* dan beberapa jenis khamir yaitu *Brettanomyces*, *Zygosaccharomyces* dan *Saccharomyces* (Mayer, Stephani, Grunder. 1995). Bakteri dan khamir saling berkompetensi menghasilkan alkohol dan asam dengan merombak gula (Jayabalan *et al.* 2007). Komponen mayor yang dihasilkan saat fermentasi adalah asam asetat, etanol dan asam glukoranat, sedangkan komponen minor yang dihasilkan adalah asam laktat, asam fenolat, vitamin B dan enzim (Blanc. 1996). Kombucha juga mengandung senyawa-senyawa organik yang bermanfaat bagi tubuh yaitu vitamin B kompleks, asam organik dan senyawa lain yang berfungsi sebagai antibiotik (Naland. 2008) kombucha memiliki berbagai efek kesehatan antara lain dapat melancarkan pencernaan, antioksidan dan dapat digunakan sebagai antibakteri (Chan dan Chu. 2006)

Pada simbiosis dari starter kombucha ini khamir akan menghidrolisis sukrosa membentuk glukosa dan fruktosa untuk produksi alkohol, sedangkan bakteri akan mengkonversi glukosa membentuk asam glukonat dan fruktosa akan membentuk asam asetat. *Acetobacter sp* dalam kultur kombucha akan mengoksidasi alkohol menjadi asetildehid selanjutnya menjadi asam asetat. (Jayabalan *et al.* 2008).

Selain memiliki efek sitotoksik, fermentasi kombucha juga diketahui dapat meningkatkan aktivitas antioksidan suatu substrat, akibat dari

senyawa fenolik bebas yang dihasilkan selama proses fermentasi (Bhanja, Kumari dan Banerjee, 2009). Polifenol yang terkandung dalam teh, terutama EGCG (*Epygalo Chatekin Galat*) merupakan senyawa yang berperan dalam mencegah penyakit kanker. Senyawa ini merupakan antioksidan yang dapat menekan pertumbuhan sel-sel kanker. Katekin dari teh hijau dapat mengeliminasi radikal bebas yang merupakan penyebab berbagai jenis kanker dan juga memiliki efek antitumor (Liu, 2006 ; Gong *et al.* 2006). Senyawa tersebut juga memiliki kemampuan untuk menghambat mutasi gen dan menginduksi kemampuan sel kanker untuk mengakhiri metastasis (Watawana *et al.*, 2015).

Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi dari fermentasi pembuatan kombucha, salah satunya adalah starter kombucha yang berperan dalam terjadinya proses fermentasi, bioreaktor sebagai tempat berlangsungnya proses-proses penguraian substrat oleh mikroorganisme, media tumbuh yang berupa larutan substrat dan sukrosa yang berfungsi untuk menyediakan sumber energi bagi koloni bakteri dan khamir. Kondisi lingkungan, suhu, pH dan lama fermentasi (Otake, 2015)

Dalam fermentasi dimulai pada kondisi lingkungan yang sedikit oksigen. Organisme akan menghasilkan enzim untuk menguraikan senyawa gula menjadi alkohol dan karbondioksida. Dihasilkan produk samping berupa panas yang ditandai dengan naiknya suhu lingkungan. Setelah beberapa hari melakukan aktivitasnya koloni jamur dan bakteri akan berkumpul dalam cairan tersebut dan membentuk lapisan kenyal berwarna putih yang akan mengembang

pada permukaan cairan. Pertumbuhan kombucha umumnya ditandai dengan adanya piringan pertama yang tumbuh pada lapisan paling atas kemudian akan muncul pertumbuhan piringan berlapis-lapis di atasnya yang lambat laun akan menebal. Kultur yang berlapis-lapis tersebut bisa digunakan untuk fermentasi teh kombucha selanjutnya atau biasa disebut *baby kombucha* (Simanjuntak dan Mutiara, 2016). Lapisan ini merupakan agen kombucha yang dimanfaatkan kembali pada proses fermentasi kombucha selanjutnya (Naland, 2008)

Pada saat fermentasi, jamur akan memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa dengan bantuan enzim *ekstraselluler invertase*. Glukosa akan direduksi oleh jamur untuk memproduksi alkohol dan karbon dioksida yang ketika kontak dengan air akan menghasilkan asam karbonat. *Acetobacter sp.* akan mengoksidasi etanol menjadi asetaldehid yang kemudian menjadi asam glukonat. Glukosa juga digunakan bakteri asam asetat untuk mensintesis *microbial cellulose* (Jayabalan *et al.* 2014). Sintesis *microbial cellulose* diperoleh dari *Acetobacter sp.* jalur biosintesis dari sintesis selulosa pada *Acetobacter xylinum* diawali dengan diubahnya glukosa menjadi *glucose-6-phosphate* oleh enzim glukokinase. Pada tahap selanjutnya *glucose-6-phosphate* diubah menjadi *glucose-1-phosphate* oleh enzim *phosphoglucomutase*. Kemudian *glucose-1-phosphate* diubah menjadi *uridine diphosphat glucose (UDPG)* dengan adanya enzim *UDPG ipyrophosphorylase*. *UDPG* yang diproduksi digunakan sebagai substrat oleh enzim selulosa sintase yang bertanggung jawab dalam sintesis selulosa.

Greenwalt *et al.* (1998), menyatakan bakteri *Acetobacter xylinum* juga dapat mensintesis glukosa menjadi polisakarida atau selulosa yang berupa serat-serat putih. Selulosa membentuk lapisan nata secara bertahap hingga mencapai ketebalan sekitar 12 mm pada akhir fermentasi yang dapat digunakan sebagai inokulum pada proses fermentasi selanjutnya, selain itu khamir akan menghasilkan enzim-enzim seperti invertase, zimase, karboksilase, heksokinase, dehydrogenase dan bakteri menghasilkan enzim alkohol dehydrogenase (Aditiwati *et al.* 2003)

## **II.5 Kanker**

Kanker adalah suatu gangguan sel dengan ciri adanya kegagalan mekanisme pengatur multiplikasi dan fungsi homeostasis lainnya pada organisme multiseluler. Sifat umum dari kanker adalah seperti berikut :

1. Pertumbuhan berlebihan umumnya terbentuk tumor.
2. Gangguan diferensiasi dari sel dan jaringan sehingga mirip jaringan mudigah.
3. Bersifat invasif, mampu tumbuh di jaringan sekitarnya (perbedaan pokok dengan jaringan normal).
4. Bersifat metastasis, menyebar ke tempat lain dan menyebabkan pertumbuhan baru.
5. Memiliki hereditas bawaan kanker.
6. Pergeseran metabolisme ke arah pembentukan makromolekul dari nukleosida dan asam amino serta peningkatan katabolisme karbohidrat untuk energi sel (Dipiro, 2015).

Sel kanker mengganggu tuan rumah karena menyebabkan desakan akibat pertumbuhan tumor, penghancuran jaringan tempat tumor berkembang atau bermetastasis dan gangguan sistemik lain sebagai akibat sekunder dari pertumbuhan sel kanker. Antikanker diharapkan memiliki toksisitas selektif artinya menghancurkan sel kanker tanpa merusak sel jaringan normal. Pada umumnya antineoplastik menekan pertumbuhan atau proliferasi sel dan menimbulkan toksisitas, karena menghambat pertumbuhan sel normal yang proliferasinya cepat misalnya sumsum tulang, epitel germinativum, mukosa saluran cerna, folikel rambut dan jaringan limfosit. Terapi hanya dapat dikatakan berhasil baik, bila dosis yang digunakan dapat mematikan sel tumor yang ganas dan tidak terlalu mengganggu sel normal yang berproliferasi (Ganiswarna, 1995)

## **II. 6 Kanker Payudara**

Kanker payudara merupakan pertumbuhan sel yang abnormal yang berasal dari sel-sel yang terdapat pada payudara. Payudara terdiri dari lobulus-lobulus, duktus-duktus, lemak dan jaringan konektif, pembuluh darah dan limfe (Novianti dan Purnami, 2012). Penyakit terbatas pada lesi payudara lokal disebut sebagai awal, primer, lokal, atau dapat disembuhkan. Penyakit yang terdeteksi secara klinis atau radiologis di lokasi yang jauh dari payudara disebut sebagai kanker payudara tingkat lanjut atau metastatik (MBC), yang biasanya tidak dapat disembuhkan (Dipiro, 2015).

Berdasarkan karakter dan histologinya, kanker payudara dikelompokkan menjadi 2, yakni :

a. Kanker Payudara Invasif

Kanker payudara biasanya muncul di saluran atau lobulus kelenjar susu. Ketika sel-sel tumor menyusup di sekitar jaringan payudara, diagnosis kanker payudara invasif dibuat. Meskipun sebagian besar tumor payudara adalah adenokarsinoma, akan tetapi tidak berarti bahwa kanker payudara adalah salah satu penyakit (Dipiro, 2009).

b. Karsinoma Noninvasif

Kanker payudara yang tidak termasuk kasus karsinoma in situ (yaitu, tumor yang tidak hanya masuk pada saluran dan lobulus). *Ductal carcinoma in situ (DCIS)* menyumbang sekitar 85% dari semua kanker payudara in situ, sementara *lobular carcinoma in situ (LCIS)* mungkin bukan kanker yang sebenarnya, tetapi merupakan lesi premalignan yang berisiko tinggi. Mayoritas kasus dapat disembuhkan hanya dengan pembedahan. Meskipun tidak ada aktivitas yang terbukti untuk penerapan kemoterapi sitotoksik, akan tetapi pasien dengan tumor reseptor-positif hormon dapat mengambil manfaat dari penambahan tamoxifen (Dipiro, 2009).

Etiologi kanker payudara masih belum diketahui meskipun sejumlah faktor telah dikaitkan dengan risiko pengembangan penyakit. Bukti juga sangat menunjukkan bahwa kanker payudara melibatkan interaksi yang sangat kompleks antara hormon seks, faktor genetik, lingkungan, dan gaya hidup. Beberapa faktor resiko yang dapat mengarah pada kanker payudara adalah sebagai berikut :

1. Usia



Sebagai salah satu faktor penyebab, usia ini kurang mampu memperbaiki kerusakan genetik. Seorang wanita lebih dari 100 kali lebih berpotensi untuk mengembangkan kanker payudara di usia 60-an daripada di usia 20-an. Menurut *American Cancer Society*, sekitar 1 dari 8 kanker payudara invasif berkembang pada wanita berusia 45 tahun atau lebih muda. Sekitar 2 dari 3 kanker payudara invasif yang ditemukan pada wanita berusia 55 tahun atau lebih. Probabilitas kanker payudara meningkat dengan usia, tetapi kanker payudara cenderung lebih agresif pada seseorang berusia muda (Nelson, 2006).

## 2. Riwayat pribadi maupun keluarga

Baik riwayat pribadi maupun keluarga dapat memengaruhi risiko berkembangnya kanker payudara. Misalnya, seorang wanita yang memiliki sejarah kanker payudara memiliki peningkatan risiko berkembang lima kali lipat kanker payudara kontralateral. Riwayat kanker sebelumnya yang melibatkan uterus dan ovarium juga tampak berhubungan dengan peningkatan risiko terkena kanker payudara. Meskipun riwayat keluarga sering dikaitkan dengan risiko penyakit, persentase kanker payudara keluarga, dalam kenyataannya cukup rendah. (Malone, 1998)

## 3. Hormon

Pada wanita memiliki lebih banyak hormon estrogen. Estrogen dapat memicu atau menghidupkan gen BCL-2, yang jika dikeluarkan dalam tingkat tinggi akan menyebabkan sel kanker tumbuh secara cepat dan agresif. Banyak risiko terkait dengan total durasi paparan estrogen. Oleh karena itu, menarche dini

(menstruasi sebelum usia 12 tahun) dan menopause terlambat (setelah usia 55 tahun) dikaitkan dengan peningkatan risiko penyakit (Colditz GA, 1999)

#### 4. Obesitas

Kelebihan berat badan dapat meningkatkan risiko kanker payudara datang kembali (kambuh) pada wanita yang telah memiliki riwayat penyakit ini. Selain itu, penelitian telah menunjukkan bahwa wanita gemuk lebih berpotensi untuk memiliki tumor besar, keterlibatan kelenjar getah bening yang lebih besar. Namun, hubungan antara berat badan ekstra dan kanker payudara dipengaruhi oleh faktor-faktor lain. Sebagai contoh lokasi hal-hal berat badan. Ekstra lemak di sekitar perut dapat meningkatkan risiko berlebih (Protani, 2011)

#### 5. Jenis kelamin

Hal ini berhubungan juga dengan hormon estrogen. Dimana wanita memiliki banyak hormon estrogen dibanding pada pria, sehingga kemungkinan terkena penyakit ini lebih besar wanita dibanding laki-laki (Giordano, 2004).

#### 6. Terkena radiasi

Radiasi juga dikaitkan dengan peningkatan risiko kanker payudara. Meskipun risiko tampaknya terkait dengan dosis, tingkat paparan minimal tidak terdefinisi dengan baik (Berington, 2009)

#### 7. Terbukti positif terkait dengan mutasi gen BRCA 1 dan 2

BRCA adalah *Breast Cancer Susceptibility Gene* atau gen yang dapat meningkatkan peluang terjadinya kanker payudara. Karena BRCA1 dan BRCA2 adalah gen penekan tumor, mutasi

atau penyimpangan fungsional mengakibatkan hilangnya aktivitas penghambatan utama dari kedua protein. Bukti kuat dari pentingnya mereka adalah pengamatan bahwa wanita yang membawa mutasi dari BRCA1 beresiko tinggi untuk kanker payudara dan ovarium (masing-masing 85% dan 60%). Pembawa mutasi BRCA2 memiliki risiko yang sama untuk kanker payudara tetapi risiko yang jauh lebih rendah untuk kanker ovarium (Malone, 1998).

## **II.7 Uji Sitotoksik**

Uji sitotoksik adalah uji secara *in vitro* yang menggunakan kultur sel untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa. Penggunaan uji sitotoksitas pada kultur sel merupakan salah satu cara penetapan *in vitro* untuk mendapatkan obat-obat sitotoksik. Sistem ini merupakan uji kuantitatif dengan cara menetapkan kematian sel (Freshney, 1987).

Parameter yang digunakan untuk uji sitotoksik yaitu nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel. Nilai  $IC_{50}$  dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar harga  $IC_{50}$  maka senyawa tersebut semakin tidak toksik. (Djajanegara dan Wahyudi, 2009).

Uji MTT merupakan salah satu metode yang digunakan dalam uji sitotoksik. Metode ini merupakan metode kolorimetrik, dimana pereaksi MTT ini merupakan garam tetrazolium yang dapat dipecah

menjadi kristal formazan oleh sistem suksinat tetrazolium reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria yang aktif pada sel hidup. Kristal formazan ini memberi warna ungu yang dapat dibaca absorbansinya dengan menggunakan *ELISA reader* (Junedy, 2005). Reaksi reduksi MTT menjadi formazan dilakukan oleh enzim reduktase.

## **II.8 MTT assay (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)**

Metode ini merupakan salah satu metode pengujian aktivitas sitotoksik yang banyak digunakan karena relatif lebih cepat, sensitif dan akurat, dapat digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasil pengujian dapat memprediksi sitotoksik suatu bahan (Doyle dan Griffiths, 2000).

Prinsipnya adalah berdasarkan pada perubahan garam tetrazolium kuning ( 3-(4,5-dimetiltiazol- 2il)-2.5-difeniltetrazolium bromida) (MTT) menjadi formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup. MTT diabsorpsi ke dalam sel hidup dan dipecah melalui reaksi reduksi oleh enzim *succinic dehydrogenase* dalam rantai respirasi mitokondria menjadi formazan yang terlarut dalam SDS 10% berwarna ungu (Doyle dan Griffiths, 2000).

Konsentrasi formazan yang berwarna ungu dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim *dehydrogenase* yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif. Semakin besar absorpsi menunjukkan semakin banyak jumlah sel yang hidup.

Pemeriksaan MTT ini mengukur kecepatan proliferasi sel, sehingga bila terjadi reaksi metabolik yang menyebabkan apoptosis/nekrosis maka viabilitas selnya akan berkurang (Doyle dan Griffiths, 2000).

Metoda MTT memberikan hasil pengujian yang akurat karena dapat memberikan hubungan antara jumlah sel yang aktif dengan absorbansi yang diperoleh dari pengukuran yang digunakan untuk menentukan nilai  $IC_{50}$ .  $IC_{50}$  (*Inhibitory Concentration*) merupakan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50%. Nilai  $IC_{50}$  dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik aktif melakukan metabolisme. Semakin tajam warna yang dibentuk, maka akan semakin tinggi nilai absorbansi dan semakin banyak sel yang hidup (Wahyuni et al., 2011).

## **II.9 Analisis Kadar Alkaloid Total Metode Gravimetri**

Analisis Gravimetri adalah metode analisis berdasarkan atas pengukuran massa analit atau senyawa yang mengandung analit. Bagian terbesar dari penentuan senyawa Gravimetri meliputi transformasi unsur atau radikal senyawa stabil yang dapat segera diubah menjadi bentuk yang dapat ditimbang dengan teliti. Berat unsur dapat dihitung berdasarkan rumus senyawa dan berat atom unsur – unsur atau senyawa yang dikandung dilakukan dengan berbagai cara, seperti metode pengendapan, metode penguapan, metode elektroanalisis. (Khopkar, 2002).

Analisis Gravimetri ini merupakan cara analisis kuantitatif berdasarkan berat konstan. Dalam analisis ini, unsur atau senyawa yang dianalisis dipisahkan dari sejumlah bahan yang

dianalisis. Bagian terbesar analisis Gravimetri menyangkut perubahan unsur atau gugus senyawa yang dianalisis menjadi senyawa lain, sehingga dapat diketahui berat tetapnya. Berat unsur atau gugus yang dianalisis selanjutnya dihitung dari rumus senyawa serta berat atom penyusunnya (Gandjar, 2007).