

ABSTRAK

UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK BUAH MERAH (*Pandanus conoideus* Lam) TERHADAP KULTUR SEL HeLa

Thomas Anggara, 2006

Pembimbing : Hana Ratnawati, dr., MKes.

Buah Merah diduga secara empiris dapat mengobati kanker. Kandungan kimia dalam Buah Merah seperti tokoferol dan β karoten mempunyai efek antikanker, disamping efek kandungan kimia lainnya yang menunjang penyembuhan kanker. Karsinoma serviks merupakan salah satu keganasan penyebab utama kematian wanita di Indonesia. Penelitian bertujuan untuk melihat efek toksik ekstrak Buah Merah terhadap kultur sel karsinoma serviks (sel HeLa).

Penelitian dilakukan secara *in vitro* dengan berbagai dosis ekstrak Buah Merah, sebagai kontrol positif, doksorubisin 15 $\mu\text{g/ml}$. Setelah sel-sel HeLa perlakuan diinkubasi selama 24, 48 dan 72 jam, dilakukan pengamatan dengan cara menghitung jumlah sel hidup.

Hasilnya menunjukkan ekstrak Buah Merah dapat bersifat toksik terhadap sel HeLa. *Lethal Concentration* (LC50) Buah Merah pada pengamatan 24, 48 dan 72 jam sebesar 0,1343 $\mu\text{g/ml}$; 0,02511 $\mu\text{g/ml}$ dan kurang dari 0,0078125 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan persentase kematian sel menggunakan doksorubisin 15 $\mu\text{g/ml}$ pada pengamatan 24, 48 dan 72 jam sebesar 40,30%; 75,96% dan 90,87%. Hasil uji *doubling time* terlihat jumlah sel hidup menurun secara linear terhadap waktu inkubasi dan besar dosis Buah Merah yang digunakan. Dari hasil Uji *Anova* dan *Tukey HSD* pada waktu inkubasi 24, 48 dan 72 jam menunjukkan efek sitotoksik terhadap sel HeLa yang sangat signifikan ($p = 0,000$)

Dapat disimpulkan bahwa semakin besar pemberian dosis ekstrak Buah Merah pada kultur sel dan semakin lama waktu inkubasi terhadap kultur sel, maka semakin besar persentase kematian sel HeLa

Kata Kunci : Buah Merah (*Pandanus conoidues* Lam), Karsinoma Serviks, Kultur sel HeLa

ABSTRACT

CITOTOXICITY TEST OF RED FRUIT EXTRACT (Pandanus conoideus Lam) TOWARDS CULTURE OF HeLa CELLS

Thomas Anggara, 2006

Tutor : Hana Ratnawati, dr., MKes.

Red Fruit (Pandanus conoideus Lam) has been used traditionally as medicinal plant and empirically used to treat cancer. Biochemical contents of Red Fruit such as tocopherol, β caroten and the other substances had the effect as a potential antioxidant, which is known would treat cancer disease. Cervical cancer is the most common cancer in Indonesian women. The aim of this study was to determine the toxicity effects of Red Fruit towards culture of cervical cancer cells / HeLa cells.

The experiment was done with various concentrations of Red Fruit extract and doxorubicin as possitive control. The level of cytotoxicity was determined by calculating the level of lethal concentration (LC 50) which was based on the percentage of the cell death following in 24, 48 and 72 hours incubation with the extract.

The study shows that Red Fruit extract was cytotoxic to HeLa cells culture, with the LC 50 of Red Fruit after 24, 48 and 72 hours of incubations are 0,1343 μ g/ml; 0,02511 μ g/ml and less than 0,0078125 μ g/ml. Even thought percentage of cells death with doxorubicin 15 μ g/ml after 24, 48 and 72 hours of incubations are 40,30 %; 75,96% and 90,87%. Doubling Time Test Result showed total live cells was decreased linearly versus incubation time and Red Fruit doses. Statistic result with Anova Test and Tukey HSD after 24, 48 and 72 hours of incubations shows toxicity effect which very significant ($p=0,000$)

It might be concluded that more additioning doses of Red Fruit extract on cells culture and more incubationions time's given on cells culture will give more percentage of mortality of HeLa cells.

Key words : Red Fruit (Pandanus conoideus Lam), Cervical Cancer, Culture of HeLa cells

DAFTAR ISI

Judul Dalam.....	(i)
Lembar Persetujuan	(ii)
Surat Pernyataan	(iii)
Abstrak	(iv)
<i>Abstract</i>	(v)
Prakata.....	(vi)
Daftar Isi.....	(viii)
Daftar Diagram.....	(xii)
Daftar Grafik	(xiii)
Daftar Tabel.....	(xiv)
Daftar Gambar	(xv)
Daftar Lampiran	(xvi)

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Identifikasi Masalah	2
1.3. Maksud dan Tujuan	3
1.4. Manfaat Karya Tulis Ilmiah.....	3
1.5. Kerangka Pemikiran dan Hipotesis	3
1.5.1. Kerangka Pemikiran.....	3
1.5.2. Hipotesis Penelitian.....	4
1.6 Metodologi	4
1.7 Lokasi dan Waktu Penelitian	5

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gambaran Umum Karsinoma	6
2.1.1 Siklus Sel Normal	8
2.1.2 Tanda-tanda sel yang mengalami transformasi	8

2.1.3. Agen Karsinogenik	10
2.1.3.1 Karsinogen Kimia	10
2.1.3.2 Karsinogen Virus Onkogenik	10
2.1.3.3 Karsinogen Radiasi	11
2.1.4 Insidensi dan Epidemiologi Karsinoma Serviks.....	12
2.1.5 Faktor Risiko	13
2.1.6 Klasifikasi Karsinoma Serviks	14
2.1.6.1 Klasifikasi CIN	14
2.1.6.2 Klasifikasi FIGO	15
2.1.7 Hubungan dengan HPV	16
2.1.7.1 Histopatogenesis Karsinoma Serviks	17
2.1.7.2 Infeksi HPV	18
2.1.8 Pemeriksaan Skrining	20
2.1.9 Terapi	20
2.1.10 Prognosa	21
2.2 Buah Merah.....	21
2.2.1 Klasifikasi Buah Merah	21
2.2.2 Morfologi Buah Merah	22
2.2.3 Kandungan Kimia Buah Merah.....	23
2.3 Antioksidan	25
2.3.1 Pengertian Antioksidan	25
2.3.2 Peran Antioksidan dalam Kesehatan	30
2.3.3 Kandungan Buah Merah sebagai antioksidan	30
2.3.3.1 Betakaroten	30
2.3.3.2 Tokoferol	31
2.3.3.3 Vitamin C.....	31
2.3.3.4 Karotenoid	31
2.4 Sel HeLa	32
2.5 Kultur Sel.....	33
2.5.1 <i>Cell line</i> (Sel Turunan).....	35
2.5.2 Mengawali Kultur Sel.....	35

2.5.3 Mempertahankan Kehidupan <i>Cell Line</i>	36
2.5.4 Memelihara <i>Cell Line</i>	37
2.6 Uji Sitotoksitas (Akut)	37
2.6.1 Metode	39
2.6.2 Uji <i>Doubling Time</i>	39
2.7 Doksorubisin	39

BAB III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat	40
3.2 Pemilihan Tanaman	40
3.3 Persiapan Penelitian	41
3.3.1 Sterilisasi Alat	41
3.3.2 Pembuatan Medium RPMI 1640	41
3.3.3 Preparasi Sel HeLa	41
3.3.4 Pembuatan Larutan Uji	42
3.4 Percobaan Pendahuluan	42
3.5 Metode Penelitian	43
3.5.1 Desain Penelitian	43
3.5.1.1 Uji Sitotoksitas	43
3.5.1.2 Uji <i>Doubling Time</i>	43
3.5.2 Variabel Penelitian	43
3.5.3 Cara Kerja	44
3.5.3.1 Perlakuan Percobaan	44
3.5.3.2 Cara Penghitungan Sel	45
3.6 Analisa Data	46
3.6.1 Hipotesis Statistik	46
3.6.2 Kriteria Uji	46

BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Percobaan Pendahuluan	47
4.2 Uji Sitotoksitas Buah Merah	49

4.2.1 Uji Sitotoksisitas Buah Merah terhadap sel HeLa secara kualitatif	49
4.2.2 Uji Sitotoksisitas Buah Merah terhadap sel HeLa secara kuantitatif (24jam)	52
4.2.3 Uji Sitotoksisitas Buah Merah terhadap sel HeLa secara kuantitatif (48jam)	57
4.2.4 Uji Sitotoksisitas Buah Merah terhadap sel HeLa secara kuantitatif (72 jam)	62
4.3 Uji <i>Doubling Time</i>	68
4.4 Pengujian Hipotesis Penelitian	69
4.5 Kesimpulan	69
BAB V.KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	70
5.2 Saran	70
DAFTAR PUSTAKA	71
RIWAYAT HIDUP	86

DAFTAR DIAGRAM

Diagram 4.1 Perbandingan Rata-rata Persentase Kematian Sel Hela antara kelompok Bahan Uji dengan Kontrol positif (24 jam).....	55
Diagram 4.2 Perbandingan Rata-rata Persentase Kematian Sel Hela antara kelompok Bahan Uji dengan Kontrol positif (48 jam).....	60
Diagram 4.3 Perbandingan Rata-rata Persentase Kematian Sel Hela antara kelompok Bahan Uji dengan Kontrol positif (72 jam).....	65

DAFTAR GRAFIK

Grafik 4.1 Persentase Kematian sel HeLa (Percobaan Pendahuluan)	48
Grafik 4.2 Persentase Kematian sel HeLa (24 Jam)	56
Grafik 4.3 Persentase Kematian sel HeLa (48 Jam)	61
Grafik 4.4 Persentase Kematian sel HeLa (72 Jam)	66
Grafik 4.5 Grafik Dosis Buah Merah v/s Persentase Kematian Sel	66
Grafik 4.6 Grafik Waktu Inkubasi v/s Jumlah Sel Hidup	68

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Hubungan Virus dengan Kanker Manusia.....	11
Tabel 2.2	Klasifikasi FIGO	16
Tabel 2.3	Kandungan Senyawa Aktif dalam Sari Buah Merah.....	23
Tabel 2.4	Komposisi Gizi per 100 gram Buah Merah	24
Tabel 2.5	Kandungan Karoten.....	24
Tabel 2.6	Kandungan Betakaroten.....	24
Tabel 2.7	Kandungan Tokoferol.....	25
Tabel 4.1	Aktivitas sitotoksik Buah Merah terhadap sel HeLa (Percobaan Pendahuluan).....	47
Tabel 4.2	Aktivitas sitotoksik Buah Merah terhadap sel HeLa (24 jam)	52
Tabel 4.3	Hasil Uji Anova Efek Toksik Ekstrak Buah Merah terhadap sel HeLa pada inkubasi 24 jam	53
Tabel 4.4	Hasil Uji Beda Rata-Rata Metode <i>Tukey</i> Persentase Kematian sel HeLa antar Kelompok Perlakuan (24 Jam)	54
Tabel 4.5	Aktivitas sitotoksik Buah Merah terhadap sel HeLa (48 jam)	57
Tabel 4.6	Hasil Uji Anova Efek Toksik Ekstrak Buah Merah terhadap sel HeLa pada inkubasi 48 jam	58
Tabel 4.7	Hasil Uji Beda Rata-Rata Metode <i>Tukey</i> Persentase Kematian sel HeLa antar Kelompok Perlakuan (48 Jam)	59
Tabel 4.8	Aktivitas sitotoksik Buah Merah terhadap sel HeLa (72 jam)	62
Tabel 4.9	Hasil Uji Anova Efek Toksik Ekstrak Buah Merah terhadap sel HeLa pada inkubasi 72 jam	63
Tabel 4.10	Hasil Uji Beda Rata-Rata Metode <i>Tukey</i> Persentase Kematian sel HeLa antar Kelompok Perlakuan (72 Jam)	64
Tabel 4.11	Jumlah Sel Hidup / Uji <i>Doubling Time</i>	68

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Patologi Karsinoma Serviks	6
Gambar 2.2	Histopatologi Karsinoma Serviks berdasarkan CIN.....	15
Gambar 2.3	Tingkatan Karsinoma Serviks menurut FIGO.....	15
Gambar 2.4	Proses metaplasia sel epitel	18
Gambar 2.5	Konsep Hubungan HPV dan Kanker Serviks.....	19
Gambar 2.6	Buah Merah (<i>Pandanus conoideus Lam</i>).....	22
Gambar 2.7	Reaksi radikal bebas terhadap kerusakan sel	26
Gambar 2.8	Sel Normal yang terpapar sedikit radikal bebas	28
Gambar 2.9	Sel yang mengalami <i>oxidative-injury</i> karena radikal bebas.....	29
Gambar 2.10	Sel yang mendapat terapi antioksidan.....	29
Gambar 2.11	Mekanisme Antioksidan.....	29
Gambar 2.12	Sel HeLa.....	33
Gambar 2.13	Peralatan Kultur Sel	34
Gambar 4.1	Sel HeLa pada kontrol (-).....	49
Gambar 4.2	Sel HeLa pada pemberian dosis BM 0,125 µg/ml.....	50
Gambar 4.3	Sel HeLa pada pemberian dosis BM 0,25 µg/ml.....	50
Gambar 4.4	Sel HeLa pada pemberian doksorubisin 15 µg/ml (Kontrol positif).....	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Penghitungan Jumlah Sel	74
Lampiran 2	Penghitungan Statistik SPSS 12 untuk Uji Sitotoksitas Buah Merah pengamatan 24 Jam	76
Lampiran 3	Penghitungan Statistik SPSS 12 untuk Uji Sitotoksitas Buah Merah pengamatan 48 Jam	79
Lampiran 4	Penghitungan Statistik SPSS 12 untuk Uji Sitotoksitas Buah Merah pengamatan 72 Jam	82
Lampiran 5	Foto Peralatan	85