UJI ANTIOKSIDAN DAN UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK UMBI RUMPUT TEKI *(Cyperus rotundus L.)* DENGAN METODE DPPH DAN MTT *ASSAY* PADA SEL LEUKEMIA HL-60

TUGAS AKHIR

Untuk memenuhi persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Ilmu Gizi

Oleh :

Falya Ayu Anandea

155070300111021

PROGRAM STUDI ILMU GIZI

JURUSAN GIZI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN .....Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR .....Error! Bookmark not defined.
ABSTRAK.....Error! Bookmark not defined.
ABSTRACT.....Error! Bookmark not defined.
DAFTAR ISI **2**
DAFTAR TABEL **4**
DAFTAR GAMBAR **5**
BAB 1 PENDAHULUAN .....Error! Bookmark not defined.
1.1 Latar Belakang.....Error! Bookmark not defined.
1.2 Rumusan Masalah.....Error! Bookmark not defined.
1.3 Tujuan Penelitian.....Error! Bookmark not defined.
1.3.1 Tujuan Umum .....Error! Bookmark not defined.
1.3.2 Tujuan Khusus .....Error! Bookmark not defined.
1.4 Manfaat Penelitian.....Error! Bookmark not defined.
1.4.1 Manfaat Akademis.....Error! Bookmark not defined.
1.4.2 Manfaat Praktis.....Error! Bookmark not defined.
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....Error! Bookmark not defined.
2.1 Rumput Teki.....Error! Bookmark not defined.
2.1.1 Taksonomi Rumput Teki .....Error! Bookmark not defined.
2.1.2 Morfologi Rumput Teki.....Error! Bookmark not defined.
2.1.3 Kandungan Umbi Rumput Teki .....Error! Bookmark not defined.
2.2 Metode Ekstraksi Maserasi .....Error! Bookmark not defined.
2.3 Radikal Bebas.....Error! Bookmark not defined.
2.4 Kanker.....Error! Bookmark not defined.
2.5 Sel Kanker HL-60.....Error! Bookmark not defined.
2.6 Uji Sitoksisitas MTT *Assay*.....Error! Bookmark not defined.
2.7 Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Error! Bookmark not defined.
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN...Error! Bookmark not defined.
3.1 Kerangka Konsep.....Error! Bookmark not defined.
3.2 Hipotesis.....Error! Bookmark not defined.
BAB 4 METODE PENELITIAN .....Error! Bookmark not defined.
4.1 Rancangan Penelitian.....Error! Bookmark not defined.

4.2 Variabel Penelitian .....Error! Bookmark not defined.
4.2.1 Variabel *Dependent* .....Error! Bookmark not defined.
4.2.2 Variabel *Independent* .....Error! Bookmark not defined.
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian .....Error! Bookmark not defined.
4.4 Alat dan Bahan .....Error! Bookmark not defined.
4.5 Definisi Operasional.....Error! Bookmark not defined.
4.6 Prosedur.....Error! Bookmark not defined.
4.6.1 Alur Penelitian .....Error! Bookmark not defined.
4.6.2 Metode DPPH.....Error! Bookmark not defined.
4.6.3 MTT *Assay* .....Error! Bookmark not defined.
4.6.4 Perhitungan IC_{50} .....Error! Bookmark not defined.
4.7 Pengolahan dan Analisis Data.....Error! Bookmark not defined.
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA .Error! Bookmark not defined.
5.1 Hasil Penelitian.....Error! Bookmark not defined.
5.1.1 Hasil Uji Antioksidan dengan Metode DPPH .Error! Bookmark not defined.
5.1.2 Hasil Uji Sitotoksisitas Metode MTT *Assay* ...Error! Bookmark not defined.
BAB 6 PEMBAHASAN .....Error! Bookmark not defined.
6.1 Uji Antioksidan dengan Metode DPPH ....Error! Bookmark not defined.
6.2 Uji Sitotoksisitas MTT *Assay* .....Error! Bookmark not defined.
6.3 Implikasi Bidang Gizi .....Error! Bookmark not defined.
6.4 Keterbatasan Penelitian .....Error! Bookmark not defined.
BAB 7 PENUTUP .....Error! Bookmark not defined.
7.1 Kesimpulan .....Error! Bookmark not defined.
7.2 Saran.....Error! Bookmark not defined.
DAFTAR PUSTAKA.....Error! Bookmark not defined.
LAMPIRAN .....Error! Bookmark not defined.

repository.ub.ac.id

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil Uji Antioksidan DPPH Asam Askorbat 28

Tabel 5.2 Hasil Uji Antioksidan DPPH Ekstrak Umbi Rumput Teki..... 29

Tabel 5.3 Hasil Absorbansi dan Persentase Sel HL-60 Hidup..... 32

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Rumput Teki 5

Gambar 2.2 Mekanisme Antioksidan Endogen 12

Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian 17

Gambar 4.1 Alur Penelitian 21

Gambar 5.1 Kurva Regresi Linier dari Konsentrasi Asam Askorbat dan Persen Inhibisi 28

Gambar 5.2 Kurva Regresi Linier dari Konsentrasi Ekstrak Umbi Rumput Teki dan Persen Inhibisi 30

Gambar 5.3 Kurva Regresi Non-Linier dari Log Konsentrasi dan Persentase Sel Hidup 32

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI ANTIOKSIDAN DAN UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK UMBI RUMPUT TEKI *(Cyperus rotundus L.)* DENGAN METODE DPPH DAN MTT *ASSAY* PADA SEL LEUKEMIA HL-60

Oleh :

Falya Ayu Anandea
NIM 155070300111021

Telah diuji pada:

Hari : Jumat

Tanggal : 5 Juli 2019

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I

Jaya Mahar Maligan., STP., MP
NIP. 198201142008121003

Pembimbing-I/Penguji-II

Titis Sari Kusuma, S.Gz., MP.
NIP. 198007022006042001

Pembimbing-II/Penguji-III

Rahma Micho Widyanto, S.Si., MP.
NIP. 2016078408251001

Mengetahui,
Ketua Program Studi S1Ilmu Gizi

Dr. Nurul Muslihah, SP., M.Kes
NIP. 197401262008012002

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
Scanned with CamScanner

repository.ub.ac.id

ABSTRAK

Anandea, Falya Ayu. 2015. **Uji Antioksidan dan Uji Sitotoksisitas Ekstrak Umbi Rumput Teki *(Cyperus rotundus L.)* dengan Metode DPPH dan MTT *Assay* Pada Sel Leukemia HL-60**. Tugas Akhir, Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Titis Sari Kusuma, S.Gz., MP. (2) Rahma Micho Widyanto, S.Si., MP.

Angka kejadian penyakit kanker pada penduduk di semua umur pada tahun 2013 di Indonesia adalah 1,4 per 1000 orang atau diperkirakan sejumlah 347.792 orang. Dalam perkembangan dalam bidang kesehatan, pengobatan kanker dilakukan secara kemoterapi maupun operatif, namun kendala utama adalah faktor biaya yang mahal. Hal ini mendorong masyarakat untuk melakukan pengobatan menggunakan bahan alami atau obat tradisional. Penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas antioksidan umbi rumput teki dan sitotoksisitasnya pada suatu sel kanker. Umbi rumput teki inilah yang dapat dimanfaatkan menjadi alternatif pengobatan kanker karena kandungan antioksidan yang terdapat didalamnya. Selain itu, rumput teki merupakan tumbuhan yang mudah didapatkan dan dapat hidup dimana saja karena rumput teki termasuk gulma. Penelitian eksperimental murni dengan rancangan *post-test control group* dengan 3 kali pengulangan digunakan pada penelitian ini dan terdiri dari 4 perlakuan yaitu sel kanker HL-60 diberikan ekstrak umbi rumput teki sebanyak 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, dan 800 ppm dan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dengan ekstrak umbi rumput teki dibuat dalam konsentrasi 30; 40; 50; 60; 70; 80 ppm. Hasil menunjukkan menunjukkan bahwa nilai IC50 yang diperoleh dari ekstrak umbi rumput teki adalah 62.82 ppm yang termasuk dalam kategori antioksidan yang kuat dan nilai IC_{50} yang didapatkan dari uji sitotoksisitas MTT *Assay* adalah 220 ppm yang dikategorikan dalam senyawa yang mempunyai efek sitotoksik lemah. Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini adalah ekstrak dari umbi rumput teki memiliki aktivitas antioksidan yang kuat.namun mempunyai sifat sitotoksisitas yang lemah terhadap sel leukemia HL-60.

Kata kunci: umbi rumput teki, uji aktivitas antioksidan, uji sitotoksisitas MTT *Assay*

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

ABSTRACT

Anandea, Falya Ayu. 2015. **Antioxidant Activities And Cytotoxicity Of *Cyperus rotundus L.* Rhizomes Extract**. Final Assignment, Nutrition Program, Medical Faculty, Brawijaya University. Supervisors: (1) Titis Sari Kusuma, S.Gz., MP. (2) Rahma Micho Widyanto, S.Si., MP.

The incidence of cancer in residents of all ages in 2013 in Indonesia is 1.4 per 1000 people or an estimated of 347,792 people. In developments in the field of health, cancer treatment is carried out either chemotherapy or operatively, but the main obstacle is the expensive cost factor. This encourages people to treat using natural or traditional medicines. This study aims to look at the antioxidant activity of *Cyperus rotundus L.* rhizomes and cytotoxicity on a cancer cell. This *Cyperus rotundus L.* rhizomes can be used as an alternative cancer treatment because of the antioxidant content contained in it. Moreover, *Cyperus rotundus L.* rhizomes is a plant that is easy to get and can live anywhere because *Cyperus rotundus L.* categorized as weeds. Pure experimental research with a post-test control group design with 3 repetitions was used in this study and consisted of 4 treatments, HL-60 cancer cells given 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, and 800 ppm and testing of antioxidant activity using the DPPH method given 30; 40; 50; 60; 70; 80 ppm concentration of extracts of *Cyperus rotundus L.* rhizomes. The results showed that the IC50 value obtained from *Cyperus rotundus L.* rhizomes extract was 62.82 ppm which was included in the strong antioxidant category and IC50 value obtained from the MTT Assay cytotoxicity test was 220 ppm which was categorized in compounds that have weak cytotoxic effects. The conclusion obtained from this study is that extracts from *Cyperus rotundus L.* rhizomes have strong antioxidant activity. However, they have weak cytotoxicity to HL-60 leukemia cells.

Keywords : *Cyperus rotundus L*., rhizomes, antioxidant activities, cytotoxicity.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker adalah penyakit yang timbul akibat pertumbuhan sel jaringan tubuh yang tidak normal secara cepat dan sel tidak mengalami diferensiasi sesuai seharusnya. Kanker merupakan penyakit yang belum diketahui secara pasti penyebabnya, namun penyakit kanker dipengaruhi oleh banyak faktor pencetus seperti merokok maupun terkena paparan asap rokok, konsumsi alkohol, paparan sinar ultraviolet, obesitas, serta kurangnya aktifitas fisik. Menurut Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI (2015), prevalensi penyakit kanker pada penduduk semua umur di Indonesia pada tahun 2013 sebesar 1,4 per 1000 orang atau diperkirakan sekitar 347.792 orang. Pada orang dewasa, kanker serviks dan kanker payudara masih menjadi penyakit kanker dengan prevalensi tertinggi yaitu 0.8 per 1000 orang dan 0.5 per 1000 orang. Pada anak-anak, prevalensi kanker paling tinggi adalah leukemia.

Leukemia merupakan kanker sel darah putih. Kanker ini menyerang bagian sumsum tulang belakang yang merupakan tempat sel darah putih diproduksi. Menurut Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI (2015), jumlah kasus baru leukemia di RS Dharmais meningkat dari tahun 2010 sebanyak 31 kasus hingga tahun 2013 sebanyak 55 kasus dengan angka kematian dari tahun 2010 sebanyak 19 kasus hingga tahun 2013 sebanyak 30 kasus. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa kasus baru leukemia semakin bertambah tiap tahunnya dan mortalitasnya tinggi. Hal ini dapat disebabkan karena penanganan kanker pada anak masih lemah

sehingga anak-anak yang dibawa ke rumah sakit biasanya sudah pada kanker stadium lanjut.

Meskipun begitu, kanker dapat dicegah dengan mengurangi paparan faktor risikonya. Dalam perkembangan di bidang kesehatan, pengobatan kanker dilakukan secara kemoterapi maupun operatif, namun kendala utama adalah faktor biaya yang mahal. Hal ini mendorong masyarakat untuk melakukan pengobatan menggunakan bahan alami atau obat tradisional (Muaja *et al*, 2013). Penggunaan obat tradisional untuk pengobatan komplementer alternatif kanker telah banyak dilakukan karena selain faktor biaya dari pengobatan kedokteran konvensional terdapat faktor lain yaitu banyaknya macam pilihan tanaman obat yang ditawarkan. Tanaman obat yang digunakan adalah yang mengandung senyawa seperti karotenoid, flavonoid, vitamin C, fenol, fitoestrogen, selenium, kumarin, dan lain-lain. (Redha, 2010; Hasanah dan Widowati, 2016).

Umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) diketahui mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, pati, glikosida, dan seskuiterpenoid yang dapat di ekstraksi dengan metode maserasi dimana menurut beberapa penelitian, kandungan ini berpotensi untuk menghambat proliferasi sel kanker (Lawal dan Oyedeji, 2009). Mekanisme penghambatan ini dilakukan dengan cara menghambat terjadinya peradangan kronik di dalam tubuh yang menginduksi pertumbuhan sel kanker (Thyagarajan dan Sahu 2018). Selain itu, mekanisme penghambatan proliferasi sel kanker juga dapat dilakukan dengan cara meredam aktivitas radikal bebas, senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbitalnya, yang bersifat sangat reaktif dan mampu mengoksidasi molekul seperti lemak, protein, dan

DNA yang ada di sekitarnya. Apabila sel mengalami kerusakan DNA, sel dapat mengalami kerusakan pada pengaturan sinyal mengenai siklus kehidupan sel sehingga sel tersebut terus tumbuh tanpa mengalami diferensiasi menjadi sel lain atau mati (Hejmadi, 2010; Werdhasari, 2014).

Dilihat dari jenis tanamannya, rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) adalah salah satu gulma yang penyebarannya luas dan hampir selalu ada di sekitar tanaman budidaya karena rumput teki memiliki kemampuan beradaptasi yang tinggi pada jenis tanah yang beragam (Pranasari*,et al*., 2012). Sehingga, rumput teki dapat dijadikan sebagai alternatif pengobatan kanker yang murah dan mudah dibudidayakan apabila terbukti mempunyai potensi antikanker didukung dengan nilai aktivitas antioksidannya dan sitotoksisitasnya pada sel suatu sel kanker.

Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti ingin melakukan penelitian tentang potensi kandungan antikanker dalam umbi rumput teki terhadap perkembangan sel kanker HL-60 menggunakan metode MTT *Assay* serta nilai aktivitas dari aktioksidan yang terkandung didalamnya menggunakan metode DPPH.

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapa nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*)?
2. Bagaimana potensi antikanker pada umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk menguji kadar sitotoksisitas pada ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) terhadap sel kanker HL-60 dan mengetahui nilai aktivitas antioksidannya.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui potensi antikanker pada umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) terhadap sel kanker HL-60 menggunakan metode MTT *Assay*
2. Mengetahui nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) menggunakan metode DPPH
3. Mengetahui dosis dari ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) yang lebih efektif untuk menghambat pertumbuhan sel kanker

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

Dapat dijadikan sebagai dasar teori untuk menambah ilmu pengetahuan tentang potensi antikanker umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*), pada dosis berapa ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) akan menghambat perkembangan dari sel kanker HL-60, dan nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*).

1.4.2 Manfaat Praktis

Menginformasikan kepada masyarakat tentang potensi antikanker umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) sehingga dapat menjadi alternatif pengobatan.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rumput Teki

2.1.1 Taksonomi Rumput Teki

Gambar 2.1 Rumput Teki
(Sumber: https://biodiversitywarriors.org/teka-teki-keripik-rumput-teki.html)

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Cyperales
Suku	: Cyperaceae
Marga	: Cyperus
Jenis	: Cyperus rotundus L.

(Lawal dan Oyedeji, 2009)

2.1.2 Morfologi Rumput Teki

Rumput teki merupakan gulma tahunan yang ramping, bersisik merayap rimpang, bulat di dasar dan timbul tunggal dari umbi-umbian yang

sekitar 1-3 cm. Apabila diamati dari luar, umbi rumput teki berwarna kehitaman dan di dalamnya berwarna putih kemerahan, dengan bau yang khas. Batangnya tumbuh sekitar 25 cm dan daun yang linear, gelap hijau dan beralur pada bagian permukaan atas. Bunganya kecil dan terdiri dari bunga kecil dengan kulit merah-coklat. Umbi rumput teki merupakan tanaman asli India, namun sekarang ditemukan di daerah tropis, subtropis dan sedang (Lawal dan Oyedeji, 2009).

2.1.3 Kandungan Umbi Rumput Teki

Menurut Lawal dan Oyedeji (2009), umbi rumput teki mengandung alkaloid. flavonoid, tanin, saponin, pati, glikosida dan furochromones, dan seskuiterpenoid. Kandungan utama dari umbi rumput teki adalah seskuiterpenoid yang merupakan senyawa aromatik. Senyawa seskuiterpenoid ini mempunyai berbagai jenis *α-cyperone, β-selinene, cyperene, cyperotundone, patchoulenone, sugeonol, kobusone* dan *isokobusone* (Dharmanand, 2005).

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan dalam jaringan hewan dan tumbuhan. Senyawa metabolit sekunder merupakan hasil turunan dari metabolit primer yang diproduksi oleh organisme untuk bertahan diri dari lingkungan ataupun dari serangan organisme yang lain. Alkaloid diketahui memiliki banyak efek farmakologi yaitu antimikroba, antiinflamasi, hepatoprotektor dan meningkatkan efek antioksidan sel. Senyawa alkaloid piperin telah terbukti menurunkan lipid peroksidase pada hati dan melindungi dari kerusakan oksidatif akibat dari senyawa karsinogenik (Drenth dan Guest, 2004).

Flavonoid juga merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Flavonoid mempunyai kemampuan untuk menangkap radikal bebas serta menghambat oksidasi lipid. Flavonoid dapat berfungsi untuk antikanker, menurut penelitian yang dilakukan Dai Q, *et al*., (2002) total isoflavonoid yang di ekskresi melalui urin pada sampel urin dari pasien kanker payudara lebih rendah dibandingkan dengan sebelum dilakukan terapi kanker yaitu konsumsi flavonoid dalam jumlah banyak (Ren *et al.*, 2003). Menurut Syafrida, *et al* (2018), umbi rumput teki mengandung zat antioksidan flavonoid sebanyak 1,37 mg/g. Hasil ini diperoleh dengan menggunakan uji flavonoid pada ekstrak umbi rumput teki dengan pelarut metanol 80%.

Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang juga diketahui mempunyai beberapa manfaat yaitu sebagai antidiare, antibakteri, dan antioksidan. Tanin terdiri dari senyawa fenolik yang sulit dipisahkan dan sulit mengkristal. Tanin akan mengendapkan protein dari larutannya dan bersatu dengan senyawa protein tersebut (Desmiaty, *et al.* 2008 dalam Malangngi, *et al*. 2012). Dalam penelitian Malangngi, *et al*. (2012), ekstrak biji alpukat biasa kering mengandung tanin dan mempunyai nilai aktivitas antioksidan tinggi yaitu sebesar 93,045%.

Beberapa senyawa yang terkandung dalam umbi rumput teki merupakan senyawa antioksidan. Antioksidan adalah senyawa kimia yang mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan satu atau lebih elektron (*electron donor*) kepada radikal bebas yang mengakibatkan reaksi radikal bebas tersebut terhambat. Senyawa ini mempunyai berat molekul yang

kecil namun dapat menghambat berkembangnya reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal (Winarsi, 2007)

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen merupakan enzim-enzim dalam tubuh yang bersifat antioksidan seperti *Superoksida Dismutase* (SOD), katalase (Cat), dan glutathione peroksidase (Gpx). Sedangkan antioksidan eksogen merupakan antioksidan yang didapat dari luar tubuh atau dari makanan yang kita konsumsi. Bahan aktif yang banyak terdapat pada bahan makanan adalah vitamin C, vitamin E, vitamin A, flavonoid, dan lain-lain.

Antioksidan juga bisa digolongkan menjadi antioksidan alami dan sintesis. Antioksidan alami bisa diperoleh dari makanan seperti buah, sayuran, atau kacang-kacangan yang dikonsumsi oleh manusia. Antioksidan alami sendiri dibagi menjadi dua golongan yaitu non-enzimatik dan enzimatik. Contoh antioksidan alami golongan non-enzimatik adalah vitamin E, vitamin C, karotenoid, fenolik. Vitamin E dapat bereaksi dengan radikal bebas *fatty acid peroxyl*, yang merupakan produk utama dari peroksidasi lemak, dengan mengganggu rantai reaksinya. Vitamin E bereaksi dengan radikal bebas ini dengan sangat cepat sebelum radikal bebas tersebut mulai bereaksi dengan sel dan setelah menetralkan radikal bebas, vitamin E berubah menjadi radikal yang sangat stabil. Vitamin C merupakan antioksidan yang larut di dalam air. Vitamin C dan antioksidan fenolik seperti flavonoid bekerja mendonorkan elektronnya kepada radikal bebas dan kemudian berubah menjadi radikal yang stabil. Contoh antioksidan enzimatik adalah Superoksida Dismutase (SOD), Katalase

(Cat), Glutation Peroksidase (GPx), dan Glutation Reduktase (GRed). Antioksidan sintesis merupakan antioksidan yang disintesis kimiawi sehingga tidak terbentuk secara alami dan biasanya ditambahkan dalam makanan. Tujuan dari pemberian antioksidan ini adalah untuk mencegah oksidasi dari lemak dengan cara menstabilkan lemak dan minyak. Contoh antioksidan sintetik adalah *Butylated hydroxytoluene* (BHT) dan *butylated hydroxyanisole* (BHA) (Atta *et al*, 2017).

Antioksidan dibutuhkan untuk mencegah stres oksidatif yang terjadi di dalam tubuh. Stres oksidatif merupakan kondisi ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan jumlah antioksidan yang ada di dalam tubuh. Sedangkan, radikal bebas merupakan senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbitalnya sehingga bersifat sangat reaktif dan mampu mengoksidasi molekul seperti lemak, protein, DNA, dan karbohidrat yang ada di sekitarnya. Antioksidan mempunyai sifat mudah dioksidasi sehingga radikal bebas akan mengoksidasi antioksidan dan molekul yang lain akan terjaga dari kerusakan akibat oksidasi radikal bebas tersebut (Werdhasari ,2014).

2.2 Metode Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi adalah sebuah proses pemisahan antara suatu senyawa dengan bahan campurannya menggunakan pelarut yang sesuai. Metode ekstraksi dapat dipilih sesuai dengan karakteristik/sifat dari senyawa yang akan pisahkan. Hal lain yang harus diperhatikan sebelum memilih metode ekstraksi adalah menentukan target ekstraksinya, antara lain senyawa bioaktif yang belum diketahui dalam ekstrak; senyawa yang sudah diketahui

terkandung di dalam organisme; hubungan antar senyawa yang ada dalam sebuah organisme (Tetti, 2014)

Metode ekstraksi ada beberapa macam diantaranya adalah metode maserasi. Metode maserasi melibatkan proses perendaman bagian tumbuhan dengan pelarut dalam wadah tertutup pada suhu ruang selama minimal 3 hari dan diaduk secara berkala. Tujuan dari proses ini adalah untuk menghancurkan dinding sel tanaman sehingga melepaskan senyawa fitokimia yang terlarut. Setelah 3 hari, dilakukan filtrasi dari hasil perendaman dan pemanasan dilakukan secara konveksi dan konduksi. Pemilihan pelarut yang digunakan akan menentukan jenis senyawa yang berhasil diekstrak dari sampel (Azwanida, 2015). Kelebihan dari metode ekstraksi ini adalah mudah dilakukan, namun kekurangannya adalah apabila peneliti kurang tepat dalam memilih pelarut dan suhu ekstraksi, senyawa fitokimia yang ingin diekstrak dapat berkurang atau tidak maksimal jumlahnya. Hal ini dapat mempengaruhi hasil dari uji yang akan dilakukan kepada ekstrak tersebut. Oleh karena itu, pemilihan pelarut dan suhu ekstraksi dalam metode ini merupakan hal yang sangat penting (Ong *et al*., 2010).

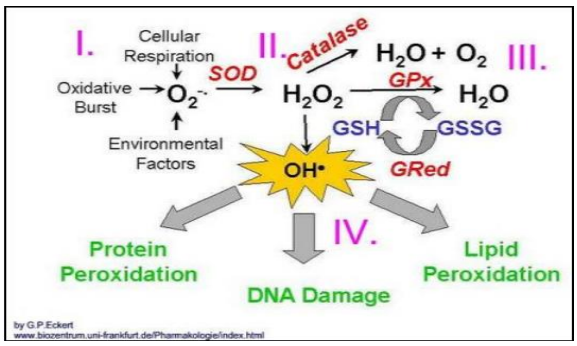
2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yaitu senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Hal ini yang membuat radikal bebas menjadi sangat reaktif dan tidak stabil karena elektron yang tidak berpasangan akan selalu berusaha untuk mencari pasangan elektron baru sehingga mudah bereaksi dengan zat lain seperti protein, lemak, karbohidrat maupun DNA di dalam tubuh (Winarti, 2010). Dalam tubuh manusia terdapat molekul oksigen yang stabil dan yang tidak stabil. Molekul

oksigen yang stabil berperan penting untuk kehidupan sel, begitu juga molekul oksigen yang tidak stabil dalam jumlah tertentu mempunyai peran untuk melawan radang, membunuh bakteri, dan mengatur tonus otot polos dalam organ dan pembuluh darah (Sayuti dan Yenrina, 2015)

Menurut Sayuti dan Yenrina (2015), radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan sel melalui tiga cara yaitu peroksidasi komponen lipid dari membran sel dan sitosol yang menyebabkan reduksi asam lemak dan mengakibatkan kerusakan membran dan organel sel; kerusakan DNA yang mengakibatkan mutasi DNA hingga dapat menimbukan kematian sel; modifikasi protein teroksidasi karena terbentuknya *cross linking* protein melalui mediator sulfidril atas beberapa asam amino labil seperti metionin, lisin, sistein, dan histidin.

Radikal bebas dapat terbentuk melalui proses peradangan, kekurangan nutrisi, respons adanya sinar ultraviolet, polusi lingkungan, asap rokok serta proses metabolisme komponen makanan diubah menjadi energi. Pada proses ini, sering terjadi kebocoran elektron yang mengakibatkan terbentuknya radikal bebas seperti anion superoksida, hidroksi, dan lain-lain. Radikal bebas juga dapat terbentuk dari senyawa lain yang bukan radikal bebas namun mudah berubah menjadi radikal bebas seperti Hidrogen peroksida (H_2O_2). Senyawa radikal bebas ini biasa juga disebut *Reactive oxygen species* (ROS). ROS sangat tidak stabil karena merupakan molekul yang tidak berpasangan. ROS hanya dapat bertahan dalam hitungan *millisecond* sebelum bereaksi dengan molekul lain untuk menstabilkan diri (Widayati, 2019).



Gambar 2.2 Mekanisme antioksidan endogen
(Sumber : http://www.biozentrumuni.frankfrut.de/Pharmakologie/index.html)

Superoksida ($O_2^{-\cdot}$) merupakan radikal bebas yang dapat bersumber dari respirasi seluler, dari lingkungan sekitar, dan reaksi imunitas dari dalam tubuh yang menyebabkan *oxidative burst* atau kondisi dimana tubuh menghasilkan superoksida atau hidrogen peroksida (H_2O_2) dengan sangat banyak. Superoksida di dalam tubuh akan di ubah menjadi hidrogen peroksida oleh enzim Superoksida Dismutase (SOD) yang ada dalam sitosol dan mitokondria. Selanjutnya, hidrogen peroksida akan di katalis oleh enzim katalase dan glutation peroksidase (GPx). Enzim katalase akan merubah hidrogen peroksida menjadi air (H_2O) dan oksigen (O_2) sedangkan glutation peroksidase akan mengkatalis hidrogen peroksida dan lipid hidroperoksida dengan menggunakan glutation tereduksi (GSH) yang bertujuan untuk melindungi lipid membran dan hemoglobin dari hemolisis. GSH akan dioksidasi menjadi GS-SG dan kemudian GS-SG akan direduksi kembali menjadi GSH oleh enzim Glutation reduktase (GRed). Hidrogen peroksidase yang tidak diubah menjadi air, dapat membentuk radikal bebas hidroksil (OH·) yang akan bersifat lebih reaktif apabila bereaksi dengan ion logam $Fe^{2+}/Cu^{+\cdot}$ Hal ini dapat berbahaya karena radikal hidroksil dapat menyebabkan kerusakan sel melalui peroksidasi protein, lipid, serta DNA.

2.4 Kanker

Kanker merupakan penyakit dimana grup dari sel abnormal bertumbuh secara cepat dan tidak terkontrol. Sel yang normal mempunyai pengaturan sinyal mengenai kapan sel tersebut harus tumbuh dan membelah lalu berdiferensiasi menjadi sel lain atau mati. Sel kanker mengalami perubahan pada sinyal yang mengatur hal tersebut sehingga sel menjadi tumbuh dan berproliferasi tidak terkontrol. Apabila proliferasi terus dilakukan, sel kanker dapat menyebar ke organ yang lain, biasa disebut metastasis, dan berakibat fatal bagi penderitanya karena menimbulkan kematian pada hampir 90% pasien kanker (Hejmadi 2010).

Kanker belum diketahui secara pasti penyebabnya namun dapat disebabkan oleh faktor lingkungan seperti radiasi, paparan asap rokok, bahan kimia, organisme infeksius serta faktor di dalam tubuh seperti mutasi yang diturunkan, hormon, kondisi imunitas, dan mutasi yang terjadi dari metabolism. Faktor-faktor ini dapat secara bersamaan atau tidak yang berakibat perubahan perilaku sel menjadi abnormal dan proliferasi berlebihan. Namun, mekanisme tersebut biasanya membutuhkan waktu berbulan-bulan hingga tahun agar mutasi DNA ini terjadi dan terdeteksi menjadi kanker (Hejmadi 2010; Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI 2015).

2.5 Sel Kanker HL-60

Sel kanker HL-60 diambil dari pasien leukemia myeloid akut pada tahun 1977. Sel kanker HL-60 merupakan sel kanker leukemia *promyelocytic* yang tumbuh dalam kultur suspensi dengan waktu tumbuh berkisar 20 hingga 45 jam. Sel ini mempunyai karakteristik seperti berukuran besar, berbentuk seperti sel blast berisi nukleus berbentuk bulat, dan sitoplasma basofilik

dengan granula azurofilik (Birnie 1988). Sel ini termasuk kultur suspensi yaitu dapat tumbuh pada *non treated tissue-culture flask*. Sel yang tumbuh pada suspensi tetap mengambang pada media yang digunakan dan tidak melekat pada permukaan *flask* yang digunakan. Sel yang tumbuh secara suspensi juga mempunyai densitas yang lebih tinggi karena sel dapat terus berkembang tanpa harus menempel pada suatu permukaan (Santoso dan Larasati, 2013).

2.6 Uji Sitoksisitas MTT *Assay*

Uji sitotoksisitas merupakan salah satu bentuk evaluasi yang telah terstandarisasi untuk menentukan apakah suatu material mengandung bahan yang berbahaya (toksik) secara biologis. Syarat yang harus dipenuhi untuk sistem uji sitotoksisitas diantaranya adalah sistem pengujian harus dapat menghasilkan kurva dosis-respon yang reprodusibel dengan variabilitas yang rendah, kriteria respon harus menunjukan hubungan linier dengan jumlah sel serta informasi yang didapat dari kurva dosis-respon harus sejalan dengan efek yang muncul pada *in vivo*. Salah satu metode yang umum digunakan untuk menetapkan jumlah sel adalah metode MTT (Cancer Chemoprevention Research Center, 2013).

Prinsip dari metode MTT adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5- dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) oleh sistem reduktase. Suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan reagen stopper (bersifat detergenik) akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan ELISA *reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk

proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak (WHO 2014).

Tahapan dalam metode MTT ini ada 5, yaitu penanaman sel, perlakuan sampel pada sel, MTT dan *Stopper*, ELISA *Reader* serta penghitungan IC_{50} (Cancer Chemoprevention Research Center 2013)

IC_{50} merupakan besarnya konsentrasi sebuah ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker sebanyak 50%. Sebuah senyawa dapat dikatakan mempunyai sifat sangat toksik pada sel yang menjadi subyek penelitian apabila apabila mempunyai nilai IC_{50} <30 ppm, lemah apabila mempunyai nilai IC_{50} sebesar >100 ppm, dan tidak toksik apabila mempunyai nilai IC_{50} >400 ppm (Vijayarathna dan Sasidharan, 2012; Mathabe *et al.*, 2008).

2.7 Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

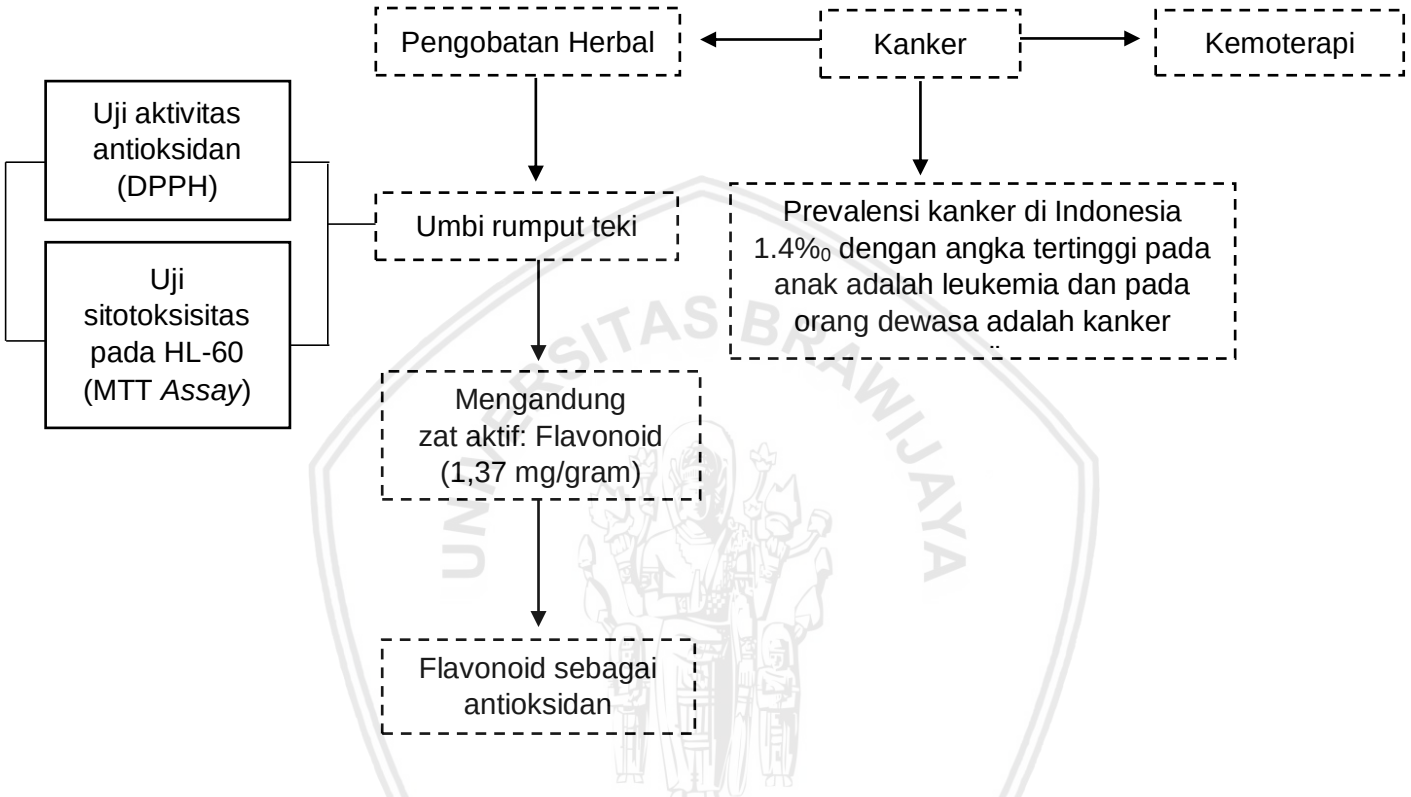
Metode ini merupakan metode untuk menghitung aktivitas dari antioksidan dalam suatu sampel. Metode ini merupakan yang cukup sederhana, peka, dan cepat untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan sehingga sudah umum digunakan untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron. Metode ini menggunakan prinsip pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan melakukan pengukuran penangkapan radikal DPPH (2.2-difenil-1-pikrilhidrazil) oleh senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga kemudian akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC_{50}. Nilai ini didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50}-nya maka semakin tinggi

pula aktivitas peredaman radikal bebasnya. Prinsip kerja dari pengukuran dalam metode ini adalah mencampurkan radikal bebas stabil yaitu DPPH dengan senyawa antioksidan yang memiliki kemampuan mendonorkan hidrogen (Ridho, 2013).

Sebuah senyawa dapat dikatakan mempunyai nilai aktivitas antioksidan yang sangat kuat apabila mempunyai nilai IC_{50} <50 ppm, kuat apabila mempunyai nilai IC_{50} sebesar 50-100 ppm, sedang apabila mempunyai nilai IC_{50} sebesar 101-250 ppm, lemah apabila mempunyai nilai IC_{50} sebesar 251-500 ppm, dan tidak memiliki antioksidan apabila mempunyai nilai IC_{50} lebih dari 500 ppm (Badarinath *et al*. 2010)

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan :

: Variabel yang diteliti

: Variabel yang tidak diteliti

Prevalensi penyakit kanker di Indonesia tahun 2013 menurut Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI (2015) sebesar 1,4 per 1000 orang atau diperkirakan sekitar 347.792 orang dengan prevalensi kanker tertinggi pada anak adalah leukemia dengan peningkatan jumlah kematian 30 kasus setiap tahunnya dan pada orang dewasa yaitu kanker serviks sebanyak 0.8 per 1000 orang. *Treatment* yang dapat dilakukan untuk mengatasi penyakit kanker adalah dengan

menggunakan terapi kemoterapi dan tindakan operatif. Namun, dikarenakan mahalnya biaya serta banyak efek samping yang ditimbulkan oleh pengobatan tersebut, masyarakat biasanya beralih kepada pengobatan alternatif menggunakan obat herbal. Obat herbal tersebut biasanya berasal dari tanaman yang berpotensi sebagai antikanker dan dapat menurunkan pertumbuhan dari sel kanker. Contoh tanaman yang berpotensi sebagai antikanker adalah umbi rumput teki. Umbi rumput teki mengandung flavonoid, antioksidan yang dapat bekerja sebagai zat antikanker, sebanyak 1,37 mg/gram.. Dengan begitu, angka mortalitas dari kanker akan menurun.

3.2 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi dan berpotensi sebagai zat antikanker.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental murni (*true experimental design*) secara *in vitro* menggunakan rancangan *Post-test control group design*. Penelitian ini menggunakan sel kanker HL-60 sebagai obyek penelitian dimana terdapat empat kelompok perlakuan dengan 3 kali pengulangan (*triplo*) dan satu kelompok kontrol sehingga mempunyai total sampel sebanyak 15 buah dengan rincian:

1. Kelompok Kontrol: Sel kanker HL-60 tidak diberikan perlakuan apapun
2. Perlakuan 1: Sel kanker HL-60 diberikan ekstrak umbi rumput teki sebanyak 100 ppm
3. Perlakuan 2: Sel kanker HL-60 diberikan ekstrak umbi rumput teki sebanyak 200 ppm
4. Perlakuan 3: Sel kanker HL-60 diberikan ekstrak umbi rumput teki sebanyak 400 ppm
5. Perlakuan 4: Sel kanker HL-60 diberikan ekstrak umbi rumput teki sebanyak 800 ppm

Penelitian ini juga menggunakan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dengan kontrol positif asam askorbat. Ekstrak umbi rumput teki dibuat dalam konsentrasi 30; 40; 50; 60; 70; 80 ppm.

Ekstrak umbi rumput teki didapatkan dari Laboratorium Farmasi Universitas Muhammadiyah Malang (dr. Sulistyo Mulyo Agustini., Sp. PK) menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol.

4.2 Variabel Penelitian

4.2.1 Variabel *Dependent*

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah sel kanker HL-60 dan jumlah radikal bebas DPPH yang teredam.

4.2.2 Variabel *Independent*

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi dari sampel ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*).

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan April hingga Desember 2018

1. Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya untuk pengujian sitotoksisitas metode MTT *assay*.
2. Laboratorium Mikrobiologi Kesehatan LAPTIAB BPPT Serpong Tangerang untuk pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH

4.4 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah labu ukur 50 ml, labu 100 ml, pipet 1600 µL, mikropipet 200, 1000 µL, tabung reaksi kecil, rak tabung kecil, *96-well plate*, *conical tube,* dan ELISA *reader*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 9,875 mg DPPH, metanol, asam askorbat, PBS, MK (DMEM/RPMI), DMSO, MTT 5mg/Ml PBS (50 mg MTT dan 10 mL PBS), SDS 10% dalam 0.01 N HCL (larutan stopper), dan aluminium foil.

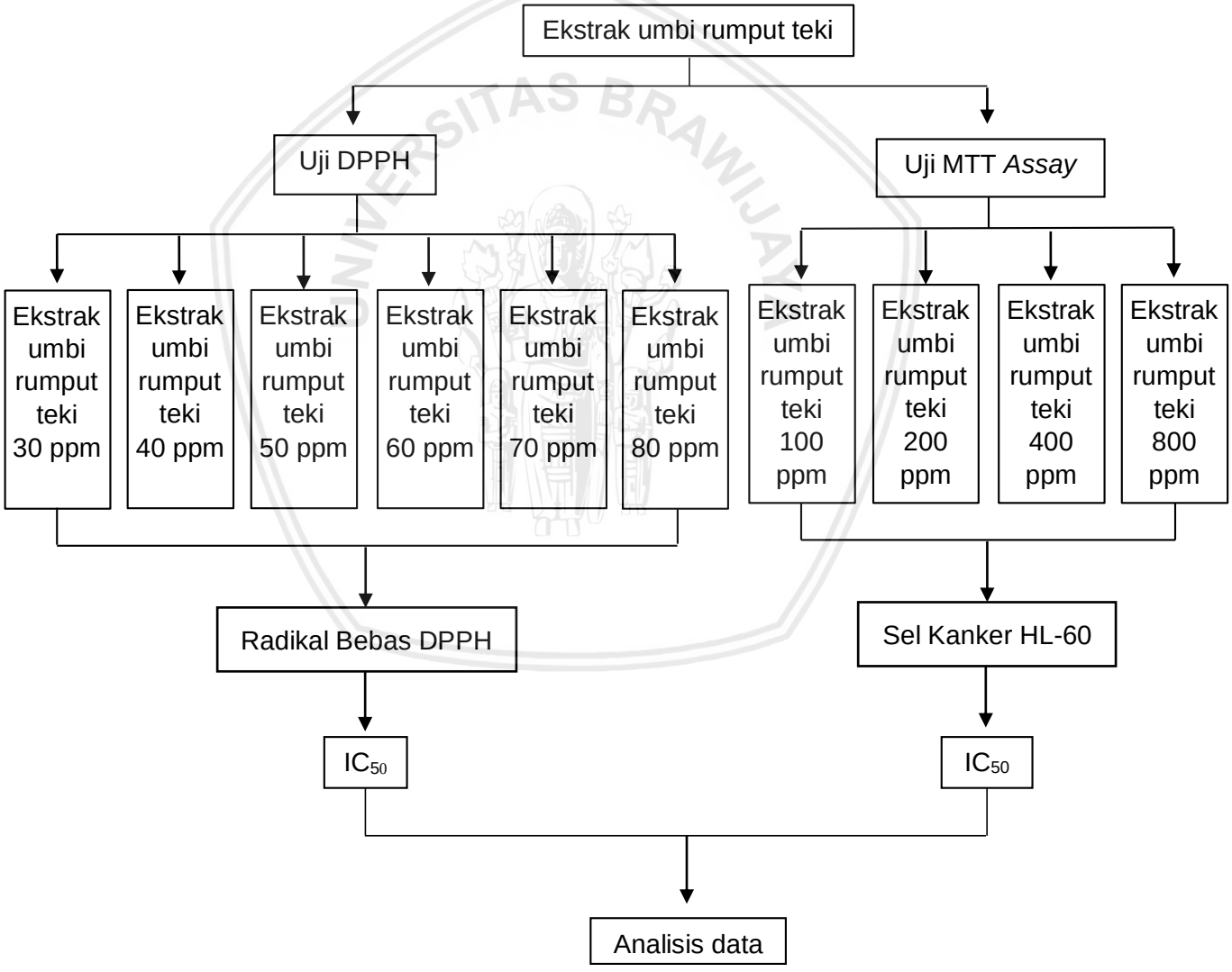
4.5 Definisi Operasional

Nama Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil	Skala
Ekstrak Umbi Rumput Teki	Merupakan hasil dari proses ekstraksi umbi rumput teki menggunakan teknik maserasi dengan pelarut etanol	-	-	-
Aktivitas Antikanker	Merupakan besarnya kemampuan ekstrak umbi rumput teki dalam menghambat pertumbuhan sel kanker HL-60	Uji Sitotoksisitas MTT *Assay*	Sangat toksik: <30 ppm Lemah: >100 ppm Tidak Toksik: >400 ppm	Rasio

Aktivitas Antioksidan	Merupakan besarnya kemampuan antioksidan yang terkandung dalam ekstrak umbi rumput teki untuk mereduksi radikal bebas DPPH	Metode DPPH	Sangat kuat: <50 ppm Kuat: 50-100 ppm Sedang: 101-250 ppm Lemah: 251-500 ppm Tidak memiliki antioksidan: >500 ppm	Rasio

4.6 Prosedur

4.6.1 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

4.6.2 Metode DPPH

1. Membuat larutan DPPH dengan konsentrasi 0.5 mM. Sebanyak 9.875 mg DPPH dilarutkan menggunakan metanol dalam labu ukur 50 ml.
2. Membuat larutan induk standar (asam askorbat) dibuat dengan konsentrasi 50 ppm. sebanyak 5 mg standar dilarutkan dengan metanol dalam labu 100 ml. Dari larutan induk dibuat variasi konsentrasi 2; 3; 4; 5; 6; 7 ppm.
3. Membuat larutan induk sampel 1 dibuat dengan konsentrasi 2000 ppm dalam pelarut metanol. Dari larutan induk dibuat variasi konsentrasi 500; 750; 1000; 1250; 1500 ppm.
4. Membuat larutan induk sampel 2 dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm dalam pelarut metanol. Dari larutan induk dibuat variasi konsentrasi 30; 40; 50; 60; 70; 80 ppm.
5. Pengukuran daya antioksidan standar dengan cara dipipet 1600 µL larutan standar dari berbagai konsentrasi 2; 3; 4; 5; 6; 7 ppm. Kemudian masing-masing ditambahkan 400 µL larutan DPPH, dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang dan gelap selama 30 menit. Kontrol negatif (blangko) disiapkan dengan dipipet 1600 µL metanol dan 400 µL larutan DPPH. Larutan diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm.
6. Pengukuran daya antioksidan standar dengan cara dipipet 1600 µL larutan sampel dari berbagai konsentrasi. Kemudian masing-masing ditambahkan 400 µL larutan DPPH, dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang dan gelap selama 30 menit. Kontrol negatif (blangko)

disiapkan dengan dipipet 1600 µL metanol dan 400 µL larutan DPPH. Larutan diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm.

4.6.3 MTT *Assay*

A. Penanaman Sel (Modifikasi dari Cancer Chemoprevention Research Center, 2013)

1. Sel diambil dari inkubator CO_2 lalu diamati kondisinya. Apabila kultur sel dalam kondisi 80% konfluen untuk dipanen, maka kultur sel tersebut yang akan digunakan
2. Kemudian sel dipanen dengan cara mengambil semua media dan cairan yang ada di flask lalu ditaruh di dalam falcon tube. Selanjutnya di sentrifuge selama 5 menit dengan kecepatan 800 rpm, kemudian sel akan mengendap dan dibuang supernatannya. Kemudian tambahkan 5 ml media dan dihitung selnya sebanyak 5×10^4 sel/sumuran menggunakan metode *trypan blue* dengan alat *haemocytometer*. Metode *trypan blue* ini adalah metode penghitungan sel menggunakan pewarnaan oleh *trypan blue*. Sel yang masih hidup memiliki membran sel yang tertutup dan sangat selektif terhadap zat yang dapat melewati membran selnya sehingga tidak menyerap zat pewarna ini. Oleh karena itu, zat pewarna ini akan masuk kedalam sel yang mati karena sel tersebut sudah tidak bisa menyeleksi zat-zat yang masuk melewati membran selnya.
3. Kemudian transfer sel ke dalam sumuran masing-masing 100 µl. Hal yang perlu diperhatikan adalah setiap kali mengisi 12 sumuran, resuspensi kembali sel agar tetap homogen dan sisakan 3 sumuran kosong untuk kontrol media.

4. Keadaan sel diamati di mikroskop *inverted* untuk melihat distribusi sel dan kemudian didokumentasikan
5. Sel kemudian di inkubasi kembali dalam inkubator minimal 4 jam agar sel menyatu kembali setelah dipanen.
6. Perlakuan sel dengan sampel dilakukan setelah sel kembali menyatu dalam keadaan normal.

B. Perlakuan Sampel pada Sel (Modifikasi dari Cancer Chemoprevention Research Center 2013)

1. Seri konsentrasi sampel dibuat untuk perlakuan pada sel dengan konsentrasi 100, 200, 400, dan 800 ppm.
2. *Plate* dari inkubator CO_2 diambil kemudian dibawa ke LAF
3. Seri konsentrasi sampel dimasukkan ke dalam sumuran, satu konsentrasi menggunakan tiga sumuran atau biasa disebut triplo.
4. Kemudian diinkubasi dalam inkubator CO_2 selama 24-48 jam tergantung dari munculnya efek perlakuan terhadap sel.

C. MTT dan *Stopper* (Modifikasi dari Cancer Chemoprevention Research Center 2013)

1. Stok MTT dibuat dengan cara menimbang 50 mg serbuk MTT lalu dilarutkan pada PBS ad 10 ml. Reagen MTT (0,5 mg/ml) disiapkan untuk perlakuan dengan cara mengambil 1 ml stok MTT dalam PBS (5 mg/ml) lalu diencerkan dengan MK ad 10 ml.
2. Ditambahkan reagen MTT 100 µl ke setiap sumuran termasuk kontrol media (tanpa sel).
3. Sel diinkubasi selama 2-4 jam di dalam inkubator CO_2

4. Jika sudah terbentuk formazan saat sel diperiksa dengan mikroskop *inverted*, *stopper* 100 µl SDS 10% dalam 0.01 N HCL ditambahkan.
5. *Plate* dibungkus dengan kertas atau aluminum foil dan diinkubasikan di tempat gelap pada temperature kamar selama semalam.

D. ELISA *Reader*

1. Pembungkus *plate* dibuka dan *plate* ditutup kembali lalu dimasukkan ke dalam ELISA *reader*. Absorbansi masing-masing sumuran dibaca dengan ELISA *reader* dengan λ= 595 nm.
2. Grafik absorbansi (setelah dikurangi kontrol media) terhadap konsentrasi dibuat kemudian di hitung persentase sel hidup dan dianalisis IC_{50}-nya dengan Excell (Regresi linear dari log konsentrasi), SPSS (Probit/Logit), dan *software* lain seperti *GraphPad Prism 8*.

4.6.4 Perhitungan IC_{50}

A. Metode DPPH

Langkah-langkah perhitungan IC_{50}

1. % Inhibisi = $\left(\frac{Abs.blangko - Abs.sampel}{Abs.blangko}\right) \times 100\%$

2. Pembuatan kurva kalibrasi dengan memasukkan data konsentrasi (x) dan %inhibisi (y). Kemudian diperoleh persamaan regresi dari kurva kalibrasi.

3. Dari persamaan regresi $y = ax + b$, dapat diperoleh nilai $IC_{50} = \frac{50-b}{a}$

B. MTT *Assay*

Langkah-langkah perhitungan IC_{50} menggunakan software GraphPad Prism 8 (www.graphpad.com/scientific-software/prism):

i. Tabel XY baru dibuat dengan memilih opsi X adalah “Numbers” dan Y adalah “Enter 3 replicate values in side-by-side subcolumns”

ii. Konsentrasi dimasukkan pada tabel X dan nilai absorbansi perlakuan pada pengulangan 1 sampai 3 pada tabel Y

iii. Pada menu “Analyze”, dipilih opsi “transform”, kemudian dipilih “OK”

iv. Pada pilihan “Transform X values using X=Log(X)” dicentang lalu dipilih “OK”

v. Setelah data pada Tabel X berubah menjadi bentuk Logaritma, “Analyze” dipilih kemudian “Normalize”

vi. Setelah data pada tabel Y dinormalisasi, klik “Analyze”, kemudian opsi “Nonlinear regression (curve fit)” dipilih.

vii. Pada menu “Dose-Response – Inhibition” dipilih “log (inhibitor) vs. normalized response – variable slope” kemudian nilai IC_{50} akan keluar secara otomatis**.**

(GraphPad Prism 2016)

4.7 Pengolahan dan Analisis Data

Analisa statistik yang digunakan adalah:

1) Uji normalitas data (*Saphiro-Wilk)*, untuk mengetahui apakah data sudah terdistribusi secara normal atau belum. Uji ini dilakukan apabila jumlah sampel <50. Apabila data belum terdistribusi secara normal, maka perlu ditransformasikan terlebih dahulu

2) Analisis regresi linier digunakan untuk mengetahui hubungan konsentrasi dengan persentase inhibisi dari uji aktivitas antioksidan

3) Analisis menggunakan *software GraphPad Prism 8* untuk mengetahui nilai IC_{50} dari uji sitotoksisitas metode MTT *Assay*

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Uji Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji ini menggunakan penangkapan radikal bebas DPPH (2.2-difenil-1-pikrilhidrazil) untuk melihat aktivitas antioksidan dalam ekstrak umbi rumput teki. Dalam uji ini diperlukan satu jenis kontrol positif yaitu asam askorbat. Asam askorbat dibagi menjadi enam kelompok perlakuan dengan konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm, dan 7 ppm. Untuk esktrak umbi rumput teki dibagi menjadi enam kelompok perlakuan dengan konsentrasi 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, dan 80 ppm. Setelah itu, diberikan larutan DPPH pada setiap kelompok konsentrasi dan diinkubasi selama 30 menit. Setelah inkubasi selesai, dilakukan pengukuran serapannya pada panjang gelombang 517 nm. Persen Inhibisi dapat dihitung dengan rumus %Inhibisi $=\left(\frac{Abs.blangko-Abs.sampel}{Abs.blangko}\right)\times 100\%$. Setelah itu, dibuat kurva antara persen inhibisi dengan konsentrasi dan diperoleh persamaan regresi linier untuk mencari IC_{50}. Pada persamaan $y = ax + b$ dimasukkan angka 50 pada y kemudian didapatkan nilai IC_{50}.

Sebelum dilakukan uji regresi linier pada grafik antara persen inhibisi dengan konsentrasi, dilakukan uji normalitas data menggunakan *software IBM SPSS Statistics 16 for Windows* dengan signifikansi 0.05 (p=0.05) dan taraf kepercayaan 95%. Hasil dari uji normalitas untuk absorbansi asam askorbat dan absorbansi esktrak umbi rumput teki adalah 0.848 dan 0.967. Sehingga dapat dikatakan bahwa data

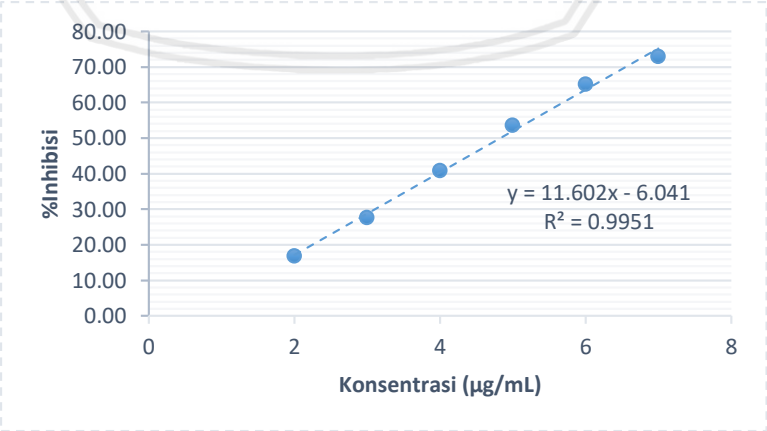
absorbansi asam askorbat dan absorbansi ekstrak umbi rumput teki terdistribusi normal karena lebih dari 0.05.

A. Standar (Asam Askorbat)

Tabel 5.1 Hasil Uji Antioksidan DPPH Asam Askorbat

Standar Asam Askorbat			
Konsentrasi (ppm)	**Absorbansi**	**% Inhibisi**	**IC_{50} (ppm)**
Blangko	1.113	0.00	4.83
2	0.926	16.80	
3	0.805	27.67	
4	0.659	40.79	
5	0.516	53.64	
6	0.388	65.14	
7	0.301	72.96	

Asam askorbat dibagi menjadi enam kelompok perlakuan dengan konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm, dan 7 ppm. Kemudian setelah diberi larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Hasil absorbansi seperti yang sudah ditampilkan pada Tabel 5.1 digunakan untuk mencari persentase inhibisi pada setiap konsentrasinya dan setelah itu dibuat kurva antara persentase inhibisi dengan konsentrasi yang ada.



Gambar 5.1 Kurva Regresi Linier dari Konsentrasi Asam Askorbat dengan Persen Inhibisi

Persamaan IC_{50} yaitu y= 11.602x – 6.041 didapatkan dari pengujian aktivitas antioksidan dengan menghubungkan dalam grafik antara persentase inhibisi dengan konsentrasi sampel. Nilai IC_{50} dapat diperoleh dari mengganti nilai y dengan angka 50. Kemudian dimasukkan ke dalam rumus untuk menghitung IC_{50} pada metode DPPH yaitu $y = ax - b$, dengan nilai a sebesar 11.602 dan b sebesar -6.041. Sehingga didapatkan nilai x atau nilai IC_{50} sebesar 4.83 ppm.

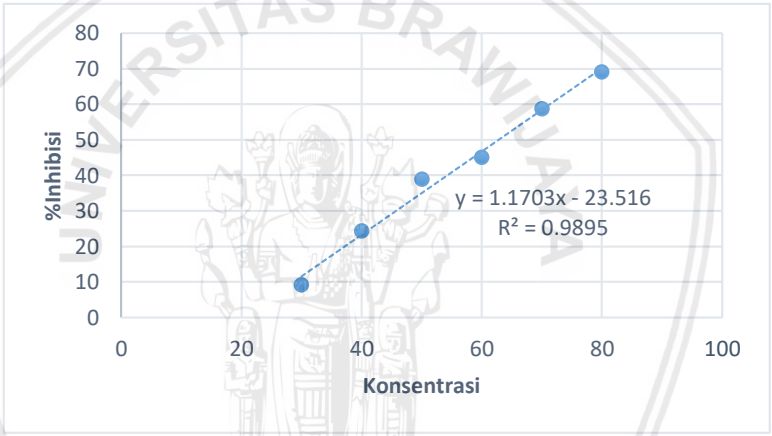
Fungsi dari uji aktivitas antioksidan terhadap asam askorbat adalah sebagai kontrol positif. Kontrol positif digunakan untuk memastikan bahwa prosedur penelitian yang dilakukan sudah benar-benar dapat menghasilkan nilai yang sesuai (Festing dan Altman, 2002). Asam askorbat sudah teruji dan diakui dalam kemampuan aktivitas antioksidannya yang sangat kuat. Apabila nilai IC_{50} dari asam askorbat yang diujikan menghasilkan nilai IC_{50} yang rendah yang berarti bahwa aktivitas antioksidannya sangat kuat, maka dapat dipastikan bahwa prosedur yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan pada ekstrak umbi rumput teki sudah sesuai dan dapat menghasilkan nilai yang valid.

B. Ekstrak Umbi Rumput Teki

Tabel 5.2 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Umbi Rumput Teki

Ekstrak Umbi Rumput Teki			
Konsentrasi (ppm)	**Absorbansi**	**% Inhibisi**	**IC_{50} (ppm)**
Blangko	0.824	0.00	62.82
30	0.768	9.11	
40	0.640	24.26	
50	0.517	38.82	
60	0.464	45.09	
70	0.349	58.70	
80	0.261	69.11	

Umbi rumput teki dibagi menjadi enam kelompok perlakuan dengan konsentrasi 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, dan 80 ppm. Kemudian setelah diberi larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Hasil absorbansi seperti yang sudah ditampilkan pada Tabel 5.2 digunakan untuk mencari persentase inhibisi pada setiap konsentrasinya dan setelah itu dibuat kurva antara persentase inhibisi dengan konsentrasi yang ada.



Gambar 5.2 Kurva Regresi Linier dari Konsentrasi Ekstrak Umbi Rumput Teki dengan Persen Inhibisi

Persamaan IC_{50} yaitu y= 1.1703x – 23.516 didapatkan dari pengujian aktivitas antioksidan dengan menghubungkan dalam grafik antara persentase inhibisi dengan konsentrasi ekstrak umbi rumput teki. Nilai IC_{50} dapat diperoleh dari mengganti nilai y dengan angka 50. Kemudian dimasukkan ke dalam rumus untuk menghitung IC_{50} pada metode DPPH yaitu $y = ax - b$, dengan nilai a sebesar 1.1703 dan b sebesar -23.516. Sehingga didapatkan nilai x atau nilai IC_{50} sebesar 62.82 ppm.

5.1.2 Hasil Uji Sitotoksisitas Metode MTT *Assay*

Metode ini menggunakan sel HL-60 yang disubkultur di Laboratorium Sentra Ilmu Hayati (LSIH) Universitas Brawijaya sebagai obyek penelitian. Subkultur dilakukan pada *96-well plate* yang terbagi dalam empat kelompok konsentrasi yang masing-masing terdiri dari tiga *well plate* (tiga kali pengulangan). Dalam metode MTT *Assay* diperlukan dua jenis kontrol yaitu kontrol media yang berisi media DMSO dan kontrol sel yang berisi sel HL-60 dan DMSO. Empat kelompok tersebut terdiri dari konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, dan 800 ppm kemudian diinkubasi selama 48 jam. Setelah inkubasi selesai, dilakukan uji MTT *Assay* dan didapatkan hasil absorbasi dari pembacaan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm. Perhitungan IC_{50} dilakukan menggunakan software GraphPad Prism 8.

Sebelum dilakukan perhitungan IC_{50}, dilakukan uji normalitas data menggunakan *software IBM SPSS Statistics 16 for Windows* dengan signifikansi 0.05 (p=0.05) dan taraf kepercayaan 95%. Hasil dari uji normalitas untuk absorbansi pengulangan 1, 2, dan 3 pada setiap konsentrasi adalah 0.453, 0.877, dan 0.967. Sehingga dapat dikatakan bahwa data absorbansi pengulangan 1, 2, dan 3 terdistribusi normal karena lebih dari 0.05.

Persentase sel yang hidup dalam metode MTT *Assay* dapat dihitung dengan rumus

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media})}{(\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{Absorbansi kontrol media})} \times 100\%$$

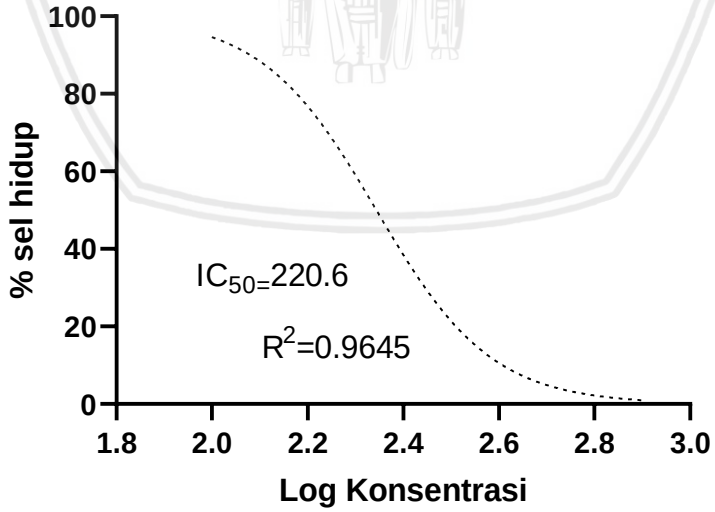
Absorbansi kontrol sel yang didapatkan adalah 0.779 dan absorbansi kontrol media sebesar 0.129. Setelah dilakukan perhitungan menurut

rumus diatas diperoleh hasil persentase sel HL-60 yang hidup seperti yang disajikan pada Tabel 5.3

Tabel 5.3 Hasil Absorbansi dan Persentase Sel HL-60 Hidup

Konsentrasi (ppm)	Replikasi			Rata-rata Absorbansi Pengulangan	% Sel HL-60 Hidup
	Absorbansi Pengulangan 1 (x_1)	Absorbansi Pengulangan 2 (x_2)	Absorbansi Pengulangan 3 (x_3)		
100	0.778	0.736	0.685	0.733	92.97
200	0.586	0.538	0.546	0.557	65.85
400	0.389	0.407	0.353	0.383	39.13
800	0.359	0.303	0.322	0.328	30.67

Pada konsentrasi 100 ppm terdapat 92.97% sel yang hidup, pada konsentrasi 200 ppm terdapat 65.85% sel yang hidup, pada konsentrasi 400 ppm terdapat 39.13% sel yang hidup, sementara itu pada konsentrasi 800 ppm terdapat 30.68% sel yang hidup. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi dari ekstrak umbi rumput teki mengakibatkan penurunan persentase sel HL-60 yang hidup.



Gambar 5.3 Kurva Regresi Non-Linier dari Log Konsentrasi dan Persentase Sel Hidup

Pada perhitungan nilai IC_{50} menggunakan *software* GraphPad Prism 8, didapakan nilai IC_{50} sebesar 220.6 ppm. Nilai IC_{50} didapatkan dengan menganalisis log konsentrasi dengan nilai absorbansi yang sudah dinormalisasi. Untuk mengubah konsentrasi menjadi log konsentrasi pada *software* GraphPad Prism 8 adalah memilih opsi “transform” pada menu “Analyze” kemudian dicentang pada opsi “Transform X values using X=Log(X)” pada konsentrasi yang sudah dimasukkan pada tabel X sebelumnya. Untuk menormalisasi nilai absorbansi yang sudah terlebih dahulu diimasukkan ke dalam tabel Y, dipilih opsi “Normalize” pada menu “Analyze”. Nilai IC_{50} didapatkan dengan memilih opsi “Nonlinear regression (curve fit)” pada menu “Analyze”. Kemudian pada menu “Dose-Response – Inhibition” dipilih “log (inhibitor) vs. normalized response – variable slope” kemudian nilai IC50 akan keluar secara otomatis.

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Uji Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji antioksidan dengan metode DPPH mempunyai hasil akhir yaitu nilai IC_{50}. Nilai ini merupakan besarnya konsentrasi yang dapat meredam radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} yang diperoleh dari ekstrak umbi rumput teki adalah 62.82 ppm. Menurut Badarinath *et al*. (2010) nilai IC_{50} pada rentang 50-100 ppm termasuk dalam kategori antioksidan yang kuat. Hasil aktivitas antioksidan dapat dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan dalam metode ekstraksi sampel. Pelarut ini dipilih dan disesuaikan berdasarkan sifat polar atau nonpolar dari target ekstraksi. Apabila target senyawa memiliki sifat polar, maka senyawa tersebut akan larut dalam pelarut yang polar. Begitupun sebaliknya, apabila target senyawa memiliki sifat nonpolar, maka senyawa tersebut akan larut dalam pelarut yang nonpolar (Arifianti *et al*. 2014).

Pelarut yang digunakan pada metode ekstraksi umbi rumput teki ini adalah pelarut etanol. Menurut (Altemimi *et al.* 2017), pelarut dengan kadar polaritas yang tinggi seperti etanol mempunyai kemampuan mengekstrak senyawa antioksidan dengan baik. Etanol dilaporkan memiliki kemampuan yang lebih baik untuk mengekstraksi senyawa antioksidan yang ada dalam tanaman. Hal ini dibuktikan dengan hasil dari uji total fenolik dari ekstrak tanaman di daerah Ivory dengan pelarut etanol mempunyai konsentrasi/jumlah fenolik yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak yang menggunakan pelarut air, aseton, dan metanol.

Aktivitas antioksidan yang tinggi juga dapat disebabkan karena kandungan flavonoid yang ada dalam umbi rumput teki. Menurut penelitian Syafrida, *et al* (2018), kandungan flavonoid ditemukan di dalam umbi rumput teki sebanyak 1.37 mg/g. Flavonoid inilah yang mungkin memberikan peran yang lebih banyak dalam aktivitas antioksidan selain senyawa fitokimia yang lain di dalam umbi rumput teki. Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat dalam bagian dari tanaman yang berfungsi sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidatif flavonoid bersumber pada kemampuannya dalam mendonasikan atom hidrogennya (Redha 2010).

Selain bagian akar, menurut penelitian yang dilakukan oleh Syafrida, *et al* (2018), bagian daun dari rumput teki memiliki kadar flavonoid sebesar 6.17 mg/g. Hal ini dapat terjadi dikarenakan karena pada sitoplasma daun, proses biosintesis senyawa fenolik terjadi paling banyak daripada pada daerah umbi.

6.2 Uji Sitotoksisitas MTT *Assay*

Nilai IC_{50} yang didapatkan dari uji sitotoksisitas MTT *Assay* yang telah dilakukan adalah 220 ppm. Menurut Vijayarathna dan Sasidharan (2012); Mathabe *et al.* (2008) nilai IC_{50} >100 ppm dikategorikan sebagai senyawa yang mempunyai efek sitotoksik lemah. Efek sitotoksik yang ditimbulkan oleh ekstrak umbi rumput teki dapat disebabkan oleh kandungan antioksidan yang terdapat pada umbi rumput teki seperti flavonoid, alkaloid, dan tanin yang bekerja secara sinergis. Kandungan antioksidan ini bekerja dengan menangkap dan menetralisir oksidan hidroksil (H_2O_2) yang sangat reaktif dan memiliki kemampuan untuk

merusak biomolekul seperti rantai DNA sel dalam tubuh yang berkontribusi dalam terjadinya proses karsinogenesis, mutasi, dan sitotoksisitas sel (Soumaya *et al.* 2014). Selain mekanisme tersebut, kandungan antioksidan yang ada dalam ekstrak umbi rumput teki juga berfungsi untuk detoksifikasi atau pembuangan ion metal yang menghambat pembentukan *oxyradical* sehingga mencegah terbentuknya stres oksidatif. Menurut penelitian Kilani-jaziri *et al*. (2011), sel leukemia L1210 yang diberikan ekstrak umbi rumput teki menunjukkan adanya pembentukan formasi DNA yang menginduksi apoptosis dilihat menggunakan analisis elektroforetik.

Meskipun umbi rumput teki memiliki efek sitotoksik yang lemah terhadap sel HL-60, menurut penelitian yang dilakukan oleh Kilani *et al.*,(2008), umbi rumput teki dengan pelarut etil asetat mempunyai nilai IC_{50} sebesar 200 ppm terhadap sel leukemia L1210 sehingga nilai ini termasuk dalam kategori sitotoksik lemah. Pada penelitian yang dilakukan oleh Simorangkir (2019), ekstrak umbi rumput teki dengan pelarut etanol menunjukkan hasil IC_{50} sebesar 122 ppm dengan menggunakan sel MCF-7 dan hasil ini juga termasuk dalam kategori lemah.

Selain bagian umbi dari rumput teki, bagian batang dan daun dari rumput teki juga dilakukan uji sitotoksisitas MTT *Assay* oleh peneliti yang lain. Pada sel leukemia K562, ekstrak rumput teki bagian batang dan daun yang menggunakan pelarut metanol menunjukkan hasil IC_{50} sebesar 175 ppm sehingga hasil ini juga termasuk dalam kategori sitotoksik lemah. Namun, nilai IC_{50} berubah pada uji yang dilakukan terhadap sel leukemia L1210 dengan pelarut metanol dibandingkan dengan pelarut etil asetat.

Nilai IC_{50} mengalami penurunan menjadi 400 ppm sehingga termasuk dalam kategori tidak toksik (Soumaya *et al*. 2014).

Dari penjelasan yang sudah dipaparkan sebelumnya, terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi nilai dari IC_{50} suatu senyawa. Beberapa faktor tersebut antara lain adalah pelarut serta jenis sel kanker yang digunakan dalam penelitian tersebut. Selain itu, bentuk dari ekstrak yang masih dalam bentuk kasar atau *crude form* dan mungkin mengandung banyak senyawa lain yang bekerja secara sinergis sehingga menghasilkan efek sitotoksik tersebut. Namun belum bisa diketahui secara pasti senyawa-senyawa apa yang bekerja secara sinergis dalam umbi rumput teki. (Soumaya *et al*. 2014).

Apabila dilihat dari hasil antara uji aktivitas antioksidan yang telah dilakukan dengan hasil uji sitotoksisitas, didapatkan hasil bahwa ekstrak umbi rumput teki memiliki aktivitas antioksidan yang kuat namun memiliki efek sitotoksik yang lemah. Hal ini dapat dipengaruhi oleh pelarut yang digunakan, jenis sel kanker yang digunakan pada penelitian tersebut serta bentuk dari ekstrak umbi rumput teki.

6.3 Implikasi Bidang Gizi

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa secara *in vitro* ekstrak umbi rumput teki tidak terbukti berpotensi sebagai antikanker pada sel kanker leukemia HL-60 namun mempunyai aktivitas antioksidan yang tergolong kuat. Hal ini dapat disebabkan karena sampel dari ekstrak umbi rumput teki masih dalam bentuk *crude form* atau bentuk kasar dan mengandung banyak senyawa lain yang bekerja secara sinergis sehingga menghasilkan efek sitotoksik tersebut. Namun belum bisa diketahui secara

pasti senyawa-senyawa apa yang bekerja secara sinergis dalam umbi rumput teki (Soumaya *et al*. 2014). Ekstrak umbi rumput teki dapat dijadikan minuman untuk menunjang pengobatan kanker secara herbal karena aktivitas antioksidannya yang kuat. Tujuan dari pembuatan minuman dari ekstrak umbi rumput teki dikarenakan rumput teki sendiri bukan merupakan tumbuhan yang biasa dijadikan makanan sehari-hari.

6.4 Keterbatasan Penelitian

Dalam penelitian uji sitotoksisitas dan uji aktivitas antioksidan dari eksrak umbi rumput teki ini terdapat keterbatasan penelitian. Keterbatasan yang pertama berupa uji yang dilakukan masih secara *in vitro*. Sehingga belum dapat dipastikan efek samping yang dapat ditimbulkan apabila dibuat minuman dari ekstrak umbi rumput teki yang dapat dikonsumsi masyarakat. Kedua, bentuk sampel dari ekstrak umbi rumput teki yang masih dalam bentuk *crude form* atau bentuk kasar dapat mengandung banyak senyawa lain yang bekerja secara sinergis sehingga menghasilkan efek sitotoksik namun, belum bisa diketahui secara pasti senyawa-senyawa apa yang bekerja secara sinergis tersebut. Ketiga, pada penelitian ini belum dilengkapi dengan kontrol positif untuk membandingkan dengan zat antikanker yang sudah teruji seperti Cisplatin.

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Dari hasil analisis data pada penelitian ini dapat diketahui bahwa nilai aktivitas antioksidan dari umbi rumput teki sebesar 62.82 ppm dan tergolong kuat namun memiliki sifat toksik yang lemah terhadap sel kanker HL-60 dengan nilai IC_{50} sebesar 220.6 ppm. Sehingga ekstrak umbi rumput teki dapat dikatakan tidak terbukti berpotensi menjadi zat antikanker dilihat dari sifat toksiknya terhadap sel HL-60 secara *in vitro*.

7.2 Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu:

1. Menambahkan uji kandungan fitokimia yang lain pada ekstrak umbi rumput teki seperti uji kandungan senyawa fenolik.
2. Menguji ekstrak umbi rumput teki dengan pelarut yang lain
3. Menguji ekstrak umbi rumput teki dengan sel kanker yang lain
4. Menguji ekstrak umbi rumput teki secara *in vivo*

repository.ub.ac.id

DAFTAR PUSTAKA

Altemimi, Ammar, Naoufal Lakhssassi, Azam Baharlouei, dan Dennis G Watson. 2017. "Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts." https://doi.org/10.3390/plants6040042.

Arifianti, Lusiana, Rice Disi Oktarina, dan Idha Kusumawati. 2014. "Pengaruh Jenis Pelarut Pengektraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun Orthosiphon stamineus Benth." *Planta Husada* 2 (1): 3–6.

Atta, Emad Mahrous, Nawal H. Mohamed, dan Ahmed A.M. Abdelgawad. 2017. "Antioxidants : An Overview on the Natural and Synthetic Types." *European Chemical Bulletin*, no. August 2018. https://doi.org/10.17628/ecb.2017.6.374-384.

Azwanida. 2015. "Medicinal & Aromatic Plants A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants , Principle , Strength and Limitation" 4 (3): 3–8. https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196.

Badarinath, A V, K Mallikarjuna Rao, C Madhu Sudhana Chetty, S Ramkanth, T V S Rajan, dan K Gnanaprakash. 2010. "A Review on In-vitro Antioxidant Methods : Comparisions , Correlations and Considerations" 2 (2): 1276–85.

Birnie, G D. 1988. "The HL60 cell line: A model system for studying human myeloid cell differentiation," 41–45.

Cancer Chemoprevention Research Center. 2013. "Uji Sitotoksik Metode MTT."

Dharmananda, Subhuti. 2005. "Cyperus Primary Qi Regulating Herb of Chinese Medicine." *ITMed* 2: 1–6.

Drenth, Editors André, dan David I Guest. 2004. "Diversity and Management of

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Phytophthora in Southeast Asia" 114.

Festing, Michael F W, dan Douglas G Altman. 2002. "Guidelines for the Design and Statistical Analysis of Experiments Using Laboratory Animals."

GraphPad Prism. 2016. "Prism 6 Step-by-Step Example," 1–9.

Hasanah, Siti Nur, dan Lucie Widowati. 2016. "Jamu Pada Pasien Tumor/Kanker sebagai Terapi Komplementer" 6 (1): 49–59.

Hejmadi, Momna. 2010. *Introduction of Cancer Biology*.

Kilani-jaziri, S, W Bhouri, I Skandrani, I Limem, L Chekir-ghedira, dan K Ghedira. 2011. "Phytochemical , antimicrobial , antioxidant and antigenotoxic potentials of Cyperus rotundus extracts." *South African Journal of Botany* 77 (3): 767–76. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2011.03.015.

Kilani, Soumaya, Mohamed Ben, Ilef Limem, Ines Bouhlel, dan Jihed Boubaker. 2008. "In vitro evaluation of antibacterial , antioxidant , cytotoxic and apoptotic activities of the tubers infusion and extracts of Cyperus rotundus Bioresource Technology In vitro evaluation of antibacterial , antioxidant , cytotoxic and apoptotic activities of the tubers infusion and extracts of Cyperus rotundus," no. July. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.04.066.

Lawal, Oladipupo A, dan Adebola O Oyedeji. 2009. "Chemical Composition of the Essential Oils of Cyperus rotundus L. from South Africa," 2909–17. https://doi.org/10.3390/molecules14082909.

Malangngi, Liberty P, Meiske S Sangi, dan Jessy J E Paendong. 2012. "Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (Persea americana Mill.)" 1 (1): 5–10.

Mathabe, Matlakala Christina, Ahmed A. Hussein, Roumiana V. Nikolova, Adriaan E. Basson, J.J. Marion Meyer, dan Namrita Lall. 2008. “Antibacterial activities and cytotoxicity of terpenoids isolated from Spirostachys africana.” *Journal of Ethnopharmacology* 116 (1): 194–97.

Muaja, Arter D, Harry S J Koleangan, dan Max R J Runtuwene. 2013. “Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (Saurauia bracteosa DC) dengan Metode Soxhletasi” 2 (2): 115–18.

Ong, Hooi Yung, Mohamad Yusof Maskat, dan Wan Aida Wan Mustapha. 2010. “Effects of extraction on polyphenol content, antioxidant activity and pH in pegaga (Centella asiatica).” *Sains Malaysiana* 39: 747–52.

Pranasari, Rizka Amalia, Tutik Nurhidayati, dan Kristanti Indah Purwani. 2012. “Persaingan Tanaman Jagung (Zea mays) dan Rumput Teki (Cyperus rotundus) Pada Pengaruh Cekaman Garam (NaCl).” *Jurnal Sains dan Seni* 1 (1): 54–57.

Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. 2015. “Situasi Penyakit Kanker.”

Redha, A. 2010. “Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis.” *Jurnal Teknologi Pertanian Politeknik Negri Pontianak* 9 (2): 196–202. https://doi.org/10.1186/2110-5820-1-7.

Ren, Wenying, Zhenhua Qiao, Hongwei Wang, Lei Zhu, dan Li Zhang. 2003. “Flavonoids : Promising Anticancer Agents” 23 (4): 519–34. https://doi.org/10.1002/med.10033.

Ridho, Ery Al. 2013. “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Buah Lakum (Cayratia trifola) Dengan Metode DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidarzil),” 55–60.

Santoso, Adi, dan Larasati. 2013. *Teknik Dasar Kultur Sel Mamalia*. Laboratorium Protein Terapetik dan Vaksin Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI.

Sayuti, Kesuma, dan Rina Yenrina. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.

Simorangkir, Delisma. 2019. “Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol dan Fraksi Rimpang Teki (Cyperus rotundus L .) Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 Secara In Vitro.”

Soumaya, Kilani-jaziri, Ghedira Zied, Nasr Nouha, Krifa Mounira, Ghedira Kamel, Dijoux Marie, dan Ghedira Chekir Leila. 2014. “Evaluation of in vitro antioxidant and apoptotic activities of Cyperus rotundus,” 105–12. https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60004-3.

Syafrida, Mulia, Sri Darmanti, dan Munifatul Izzati. 2018. “Pengaruh Suhu Pengeringan Terhadap Kadar Air , Kadar Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun dan Umbi Rumput Teki (Cyperus rotundus L .)” 20 (1).

Tetti, Mukhriani. 2014. “Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif.”

Thyagarajan, Anita, dan Ravi P Sahu. 2018. “Potential Contributions of Antioxidants to Cancer Therapy : Immunomodulation and Radiosensitization.” https://doi.org/10.1177/1534735416681639.

Vijayarathna, Soundararajan, dan Sreenivasan Sasidharan. 2012. “Cytotoxicity of methanol extracts of Elaeis guineensis on MCF-7 and Vero cell lines” 2 (10):

826–29. https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60237-8.

Werdhasari, Asri. 2014. “Peran Antioksidan Bagi Kesehatan.” *Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan Balitbangkes* Vol.3.2: 59–68.

WHO. 2014. “WHO | Why does childhood overweight and obesity matter?” *WHO*. http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood_consequences/en/.

Widayati, Eni. 2019. “Oxidasi Biologi, Radikal Bebas, dan Antioksidan.”

Winarsi, Heny. 2007. *Antioksidan & Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.

Winarti, Sri. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Graha Ilmu.

LAMPIRAN

1. Hasil Uji Normalitas Absorbansi Asam Askorbat dan Ekstrak Umbi Rumput Teki

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Absorbansi Asam Askorbat	.142	6	.200*	.964	6	.848
Absorbansi Ekstrak Umbi Rumput Teki	.130	6	.200*	.983	6	.967

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

2. Hasil Uji Normalitas Absorbansi Perlakuan 1,2 dan 3 pada Setiap Konsentrasi

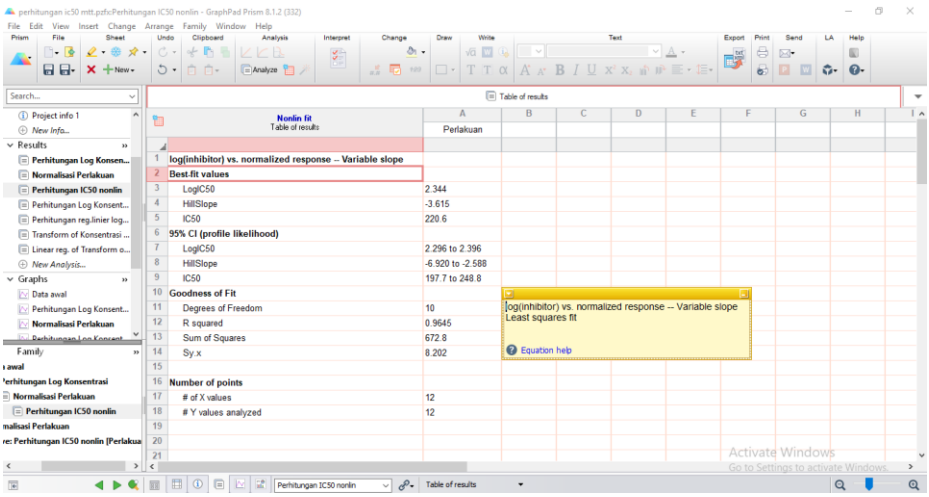
Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Absorbansi Pengulangan 1	.262	4	.	.904	4	.453
Absorbansi Pengulangan 2	.183	4	.	.976	4	.877
Absorbansi Pengulangan 3	.265	4	.	.907	4	.466

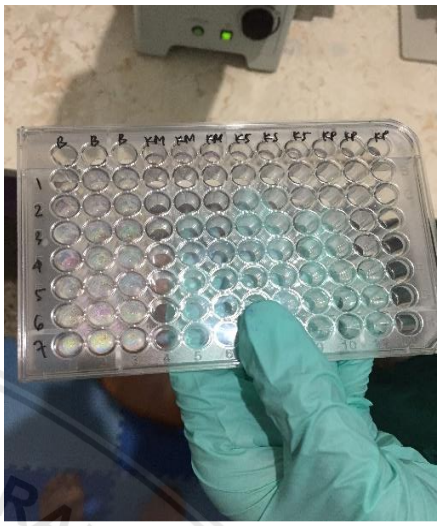
a. Lilliefors Significance Correction

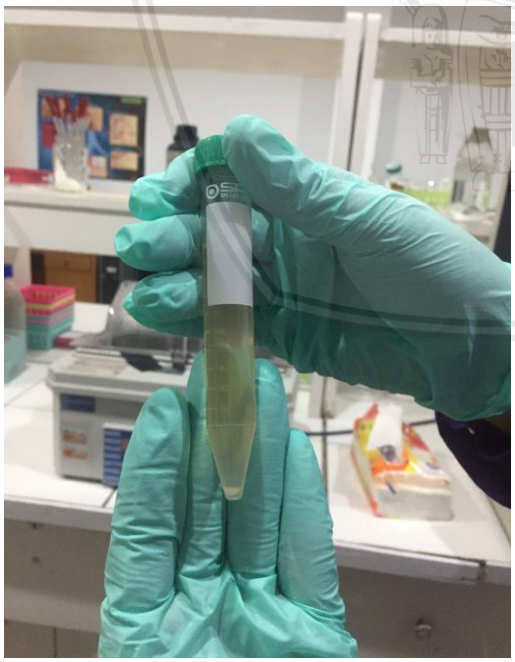
*. This is a lower bound of the true significance.

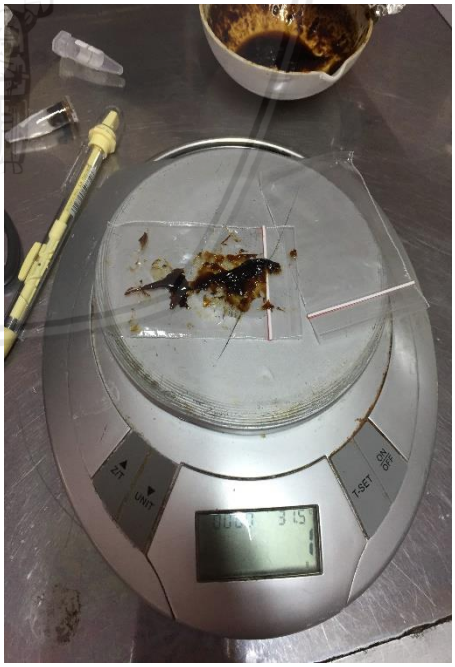
3. Hasil Perhitungan IC_{50} Metode MTT *Assay* Menggunakan *software* GraphPad Prism 8

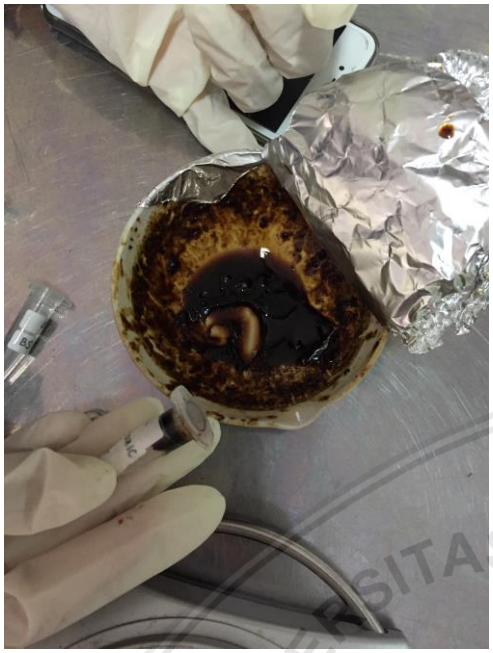


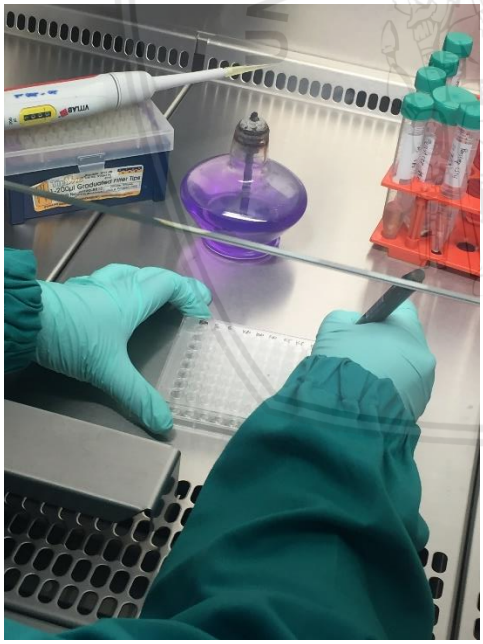
4. Dokumentasi Hasil Penelitian



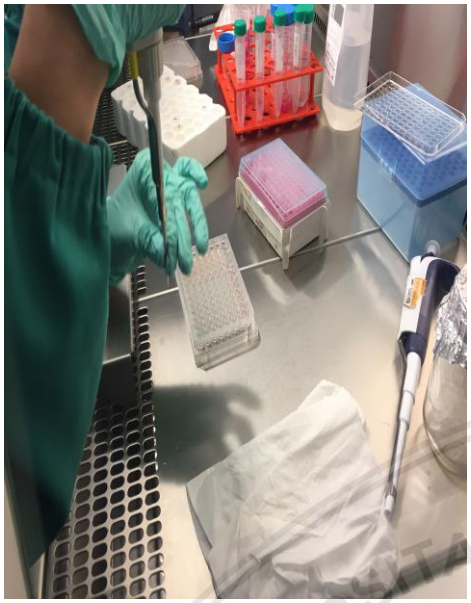


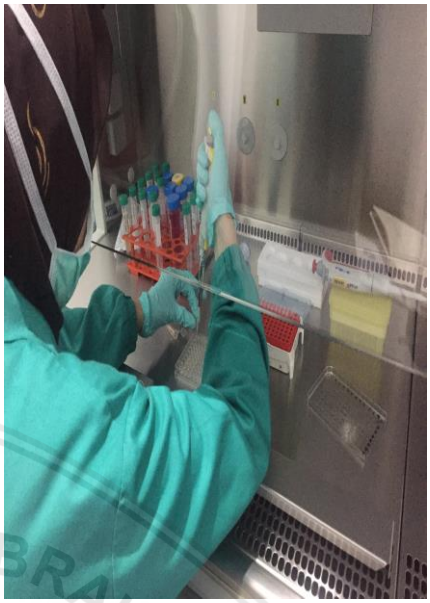




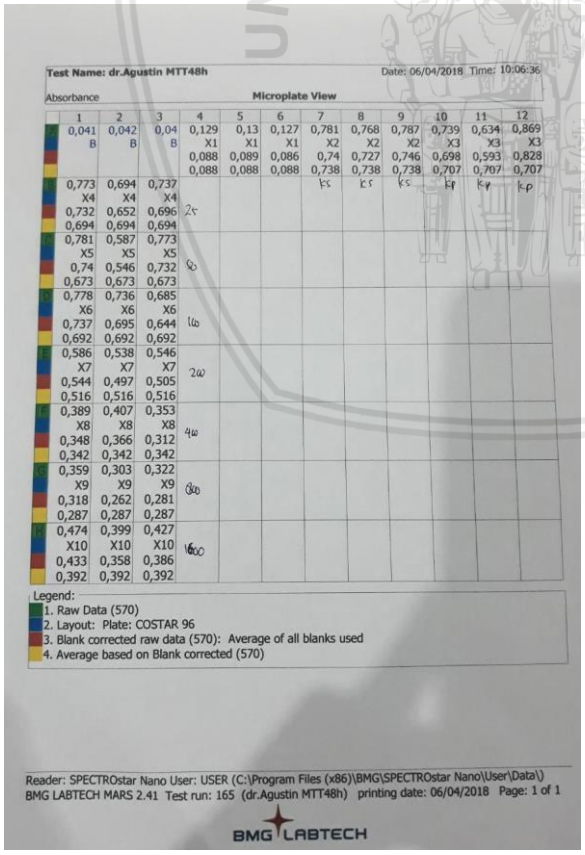


repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA





5. Hasil Pembacaan Elisa Reader Uji MTT *Assay*



Test Name: dr.Agustin MTT48h Date: 06/04/2018 Time: 10:06:36

Absorbance — Microplate View

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,041	0,042	0,04	0,129	0,13	0,127	0,781	0,768	0,787	0,739	0,634	0,869
	B	B	B	X1	X1	X1	X2	X2	X2	X3	X3	X3
				0,088	0,089	0,086	0,74	0,727	0,746	0,698	0,593	0,828
				0,088	0,088	0,088	0,738	0,738	0,738	0,707	0,707	0,707
B	0,773	0,694	0,737				ks	ks	ks	kp	kp	kp
	X4	X4	X4	25								
	0,732	0,652	0,696									
	0,694	0,694	0,694									
C	0,781	0,587	0,773									
	X5	X5	X5	50								
	0,74	0,546	0,732									
	0,673	0,673	0,673									
D	0,778	0,736	0,685									
	X6	X6	X6									
	0,737	0,695	0,644	100								
	0,692	0,692	0,692									
E	0,586	0,538	0,546									
	X7	X7	X7									
	0,544	0,497	0,505	200								
	0,516	0,516	0,516									
F	0,389	0,407	0,353									
	X8	X8	X8									
	0,348	0,366	0,312	400								
	0,342	0,342	0,342									
G	0,359	0,303	0,322									
	X9	X9	X9									
	0,318	0,262	0,281	800								
	0,287	0,287	0,287									
H	0,474	0,399	0,427									
	X10	X10	X10									
	0,433	0,358	0,386	1600								
	0,392	0,392	0,392									

Legend:
1. Raw Data (570)
2. Layout: Plate: COSTAR 96
3. Blank corrected raw data (570): Average of all blanks used
4. Average based on Blank corrected (570)

Reader: SPECTROstar Nano User: USER (C:\Program Files (x86)\BMG\SPECTROstar Nano\User\Data\)
BMG LABTECH MARS 2.41 Test run: 165 (dr.Agustin MTT48h) printing date: 06/04/2018 Page: 1 of 1

BMG LABTECH