



**ANALISIS KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK UMBI RUMPUT TEKI
(*Cyperus Rotundus L.*) SERTA UJI SITOTOKSISITAS PADA SEL KANKER HeLa**

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Gizi



Oleh:

Natasya Andia Putri Indigus

145070307111025

PROGRAM STUDI ILMU GIZI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

**ANALISIS KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK UMBI RUMPUT TEKI
(*Cyperus Rotundus L.*) SERTA UJI SITOTOKSISITAS PADA SEL KANKER HeLa**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Gizi**



Oleh :

Natasya Andia Putri Indigus

145070307111025

**PROGRAM STUDI ILMU GIZI
FAKULTAS KEDOKTERAN**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

ANALISIS KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK UMBI RUMPUT TEKI (*Cyperus Rotundus L.*) SERTA UJI SITOTOKSISITAS PADA SEL KANKER HeLa

Oleh:

Natasya Andia Putri Indigus

NIM 145070307111025

Telah diuji pada: Hari/Tanggal:

Jumat, 5 Juli 2019 dan

dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I



Jaya Mahar Maligan, STP., MP

NIP. 198201142008121003

Penguji-II / Pembimbing I



Titis Sari Kusuma, S.Gz., MP

NIP. 198007022006042001

Penguji-III / Pembimbing II



Rahma Micho Widyanto, S.Si., MP

NIP. 2016078408251001

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Gizi




Dr. Nurul Muslihah, SP. M.Kes

NIP. 197401262008012002

Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Umbi Rumput Teki (*Cyperus Rotundus L.*) Serta Uji Sitotoksitas pada Sel Kanker HeLa

ABSTRAK

Kanker merupakan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol, diikuti dengan proses invasi ke jaringan sekitarnya dan penyebaran (metastasis) ke bagian tubuh yang lain. Diantara beberapa jenis kanker, terdapat kanker serviks atau kanker leher rahim yang merupakan penyebab utama kematian wanita di seluruh dunia. Umbi rumput teki diketahui memiliki kandungan flavonoid yang mampu bersifat sebagai sitotoksik dan antioksidan kuat. Penelitian ini menganalisis kadar flavonoid total dan potensi senyawa antikanker pada ekstrak umbi rumput teki terhadap sel kanker HeLa sehingga dapat menjadi salah satu metode alternative pengobatan herbal dalam mencegah penyakit kanker serviks. Kadar flavonoid total dilakukan dengan metode kolorimetri aluminium klorida dengan pengukuran absorbansi secara spektrofotometri. Metode ini melibatkan pembentukan kompleks antara flavonoid dan $AlCl_3$. Spektrum flavonoid ditentukan dalam larutan dengan pelarut etanol. Persentase kadar flavonoid total diketahui sebesar 1,3 mg/g dengan rata-rata nilai absorbansi 0,104175 pada sampel 1 gram. Untuk uji sitotoksitas ekstrak umbi rumput teki pada sel kanker HeLa menggunakan metode MTT Assay dengan 6 rentang konsentrasi dari 31,25 hingga 1000 $\mu\text{g/ml}$, dan dibandingkan dengan satu kontrol sel tanpa perlakuan. Uji dilakukan secara *triplo* dan dibaca dengan ELISA Reader dengan panjang gelombang 570 nm. Analisis dilakukan dengan menumbuhkan sel kanker serviks pada 96 well plate dan diinkubasi selama 24 jam. Didapatkan hasil yang menunjukkan bahwa penghambatan proliferasi paling tinggi terjadi pada konsentrasi 500 $\mu\text{g/ml}$ yaitu sebesar 71,9223% dengan nilai IC_{50} sebesar 362,95064 yang berarti ekstrak umbi rumput teki memiliki kemampuan aktivitas sitotoksik moderat dengan aktivitas relatif lemah namun tetap dapat digunakan untuk mencegah atau menghambat sel kanker ataupun bertindak sebagai kemoprevensi.

Kata kunci: Umbi rumput teki; sel kanker HeLa, kanker serviks, kadar flavonoid, MTT assay, ekstraksi

Total Flavonoid Level Analysis of Nut Grass Extract (*Cyperus Rotundus L.*) and Cytotoxicity Assay on HeLa Cancer Cells

ABSTRACT

Cancer is an uncontrolled cell growth, followed by a process of invasion to the surrounding tissues and spreads to other parts of the body (metastatic). Among several types of cancer, Cervical Cancer is the leading cause of death for women worldwide. On the other hand, nut grass is known to have cytotoxic abilities and high antioxidants. This study analyzed the level of total flavonoids in Nut Grass Extract and its potential as anticancer compounds against HeLa cancer cells – so it can be an alternative method of herbal treatment in preventing cervical cancer. Total flavonoid levels are analyzed with aluminium chloride colorimetric method by measuring spectrophotometry absorbance. This method involves the complex formation between flavonoids and $AlCl_3$. The flavonoid spectrum was determined in a solution using ethanol as a solvent. The percentage of total flavonoid levels is known to be 1,3 mg/g with an average absorbance value of 0.104175 on a sample of 1 gram. To test the cytotoxicity of nut grass extract on HeLa cancer cells, using MTT assay method with 6 concentration ranges from 31,25 to 1000 $\mu\text{g/ml}$, compared with one control cell without any treatment. The test was done in triplo and read with an ELISA reader with a wavelength of 570 nm. The analysis was performed by growing cervical cancer cells on 96 well plates and incubated for 24 hours. The results showed that the highest proliferation inhibition occurred at a concentration of 500 $\mu\text{g/ml}$, which was 71,9223% with an IC_{50} value of 362,95064 – meaning that the extract of nut grass has a moderate cytotoxic activity with relatively weak acitivity but can still be used to prevent or inhibit cancer cells or act as chemoprevention.

keywords: Nut grass; Cervical cancer, HeLa cancer cells, total flavonoid, MTT assay, extraction

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbilalamin

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT karena atas berkah dan rahmat Nya, senantiasa memudahkan dan melancarkan segala rencana dan harapan yang saya miliki sehingga pada akhirnya Tugas Akhir yang berjudul “**Analisa Kadar Flavonoid Total Ekstrak Umbi Rumput Teki (*Cyperus rotundus L.*) Serta Uji Sitotoksitas Pada Sel Kanker HeLa**” ini dapat diselesaikan dengan baik dan melekat tepat pada waktunya.

Penulis menyadari bahwa rangkaian Tugas Akhir ini tidak akan mampu terselesaikan tanpa bantuan dari berbagai pihak. Maka dari itu di kesempatan ini penulis hendak menyampaikan ungkapan rasa terimakasih kepada:

1. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan untuk menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
2. Dian Handayani, S.K.M., M.Kes., Ph.D., Ketua Jurusan Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang selalu memberikan kesempatan dan dukungan rasa semangat kepada penulis untuk menuntut ilmu dan menyelesaikan tugas akhir di Jurusan Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
3. Titis Sari Kusuma, S.Gz., M.P., dosen pembimbing I dalam pengerjaan tugas akhir yang selalu memberikan kritik berupa masukan membangun dan motivasi-motivasi selama proses pengerjaan dan bimbingan tugas akhir
4. Rahma Micho Widyanto, S.Si, MP., dosen pembimbing II yang selalu meluangkan tenaga beserta pikiran untuk membantu dan me
5. Keluarga tersayang, Ayah Didi, Mama Arry, Adik Biby, Nek Po dan Kakek Habib yang dengan penuh kesabaran dan pengertian memberi kasih sayang serta semangat yang luar biasa serta membawa dukungan doa tanpa batas

6. Para sahabat-sahabat terkasihi, Ardin, Nafisa, Indira, Balqis, Priscilla, Wilson, Thobie, Didin, Cut Fira, Dinda W., Oktavia, Jenny dan para sahabat dekat lainnya yang selalu memberi dukungan setiap saat dan selalu mengasihi, memberi dan mengerti dalam segala suasana
7. Falya Ayu Anandea, yang selalu mengingatkan dan memberi dukungan semangat selama pengerjaan skripsi dan masa perkuliahan
8. Teman-teman S1 Gizi Angkatan 2014 dan 2015, yang selalu memberi bantuan, dukungan serta semangat, terimakasih banyak.
9. Semua pihak lainnya yang turut membantu selama proses pengerjaan yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari banyaknya kesalahan dan kekurangan adalah bagian dari menjadi manusia, begitupun terkait Tugas Akhir ini yang masih jauh dari kesempurnaan dan masih memerlukan banyak perbaikan. Maka dari itu, penulis memohon kritik serta saran yang diharapkan dapat membantu dalam kesempurnaan penyelesaian Tugas Akhir ini. Semoga di masa yang akan datang, penelitian ini dapat bermanfaat bagi penulis maupun bagi yang membutuhkannya, serta dapat menjadi referensi ataupun inspirasi bagi pembaca dalam mengembangkan ilmu pengetahuan khususnya di bidang gizi dan kesehatan.

Malang, 29 Maret 2019

Penulis

	DAFTAR ISI
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
1.4.1 Manfaat Akademik	3
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Umbi Rumpuk Teki	5
2.1.1 Asal-usul Rumpuk Teki	5

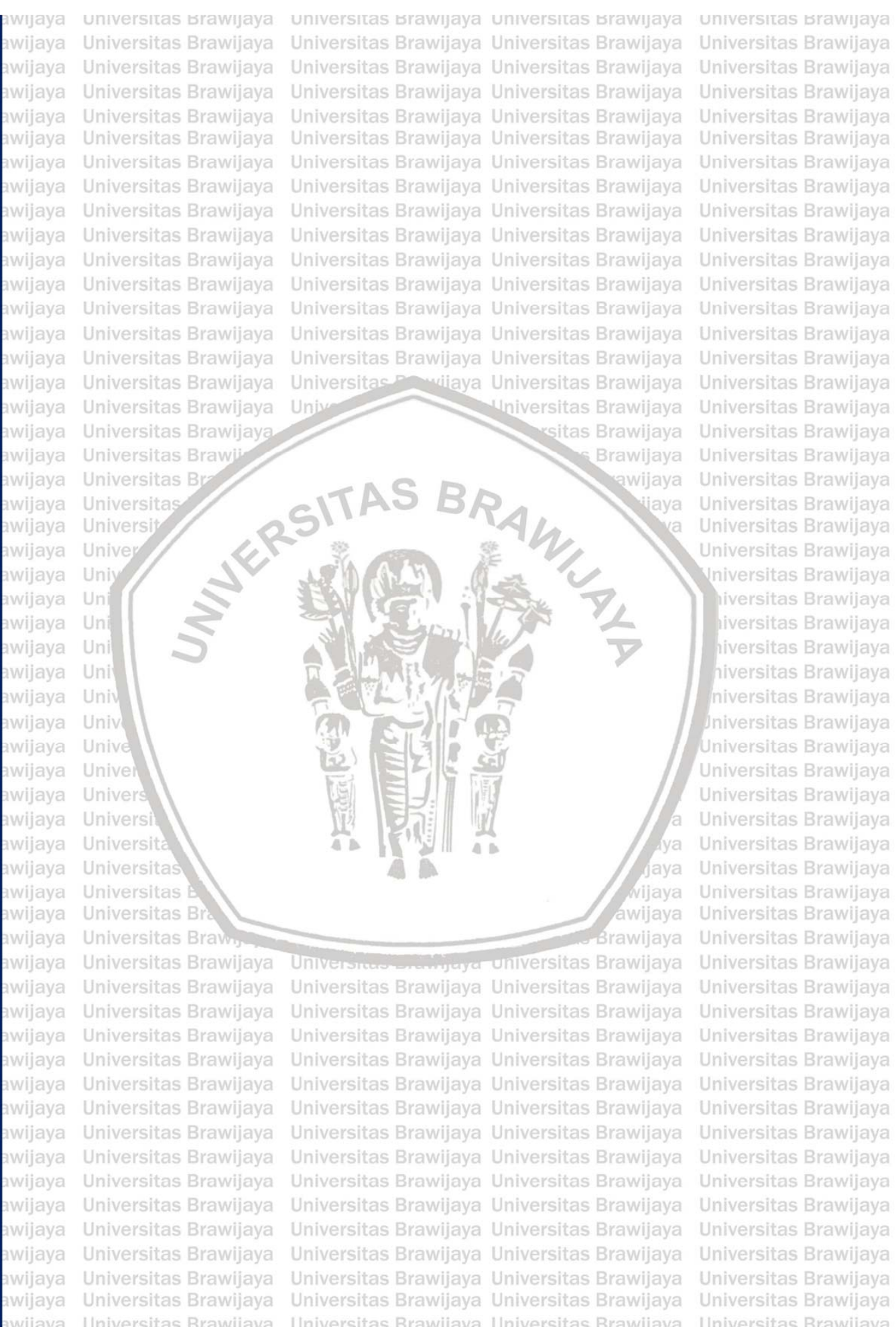


2.1.2 Klasifikasi Ilmiah	6
2.1.3 Rumpuk Teki.....	7
2.1.4 Kandungan Gizi Umbi Rumpuk Teki	8
2.1.5 Kandungan Lain.....	8
2.2 Kanker Serviks	9
2.2.1 Definisi Kanker.....	9
2.2.2 Definisi Kanker Serviks	10
2.2.3 Epidemiologi Kanker Serviks	11
2.2.4 Patofisiologi Kanker Serviks	12
2.2.5 Etiologi Kanker Serviks	14
2.2.6 Faktor Risiko Kanker Serviks.....	15
2.2.7 Terapi pengobatan Kanker	17
2.3 Sel Kanker Serviks (HeLa).....	20
2.3.1 Sejarah Sel Kanker Serviks (HeLa)	20
2.4 Antioksidan.....	21
2.4.1 Pengertian Antioksidan.....	21
2.4.2 Manfaat dan Peran Antioksidan	21
2.5 Flavonoid pada Kanker	22
2.5.1 Pengertian Flavonoid	22
2.5.2 Flavonoid pada Kanker.....	23
2.6 Analisis Kadar Flavonoid Total.....	23
2.6.1 Uji Kadar Flavonoid Total.....	23
2.7 Uji Sitotoksisitas	24



2.7.1 MTT Assay.....	24
2.8 Ekstraksi.....	25
2.8.1 Pengertian Proses Ekstraksi.....	25
2.8.2 Pengertian Proses Maserasi.....	25
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	27
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	27
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep	28
3.3 Hipotesis Penelitian.....	28
BAB IV METODE PENELITIAN.....	29
4.1 Rancangan Penelitian	29
4.2 Metode Penelitian dan Tahapan Penelitian.....	29
4.2.1 Ekstraksi dengan Metode Maserasi.....	29
4.2.2 Analisa Kadar Flavonoid Total.....	30
4.2.3 Uji Sitotoksitas dengan metode MTT Assay.....	31
4.2.3.1 Alat dan Bahan	32
4.2.3.2 Penanaman Sel	33
4.2.3.3 Perlakuan Sampel Pada Sel.....	34
4.2.3.4 MTT dan Stopper.....	35
4.2.3.5 ELISA Reader.....	35
4.2.3.6 Perhitungan IC ₅₀	36
4.3 Variabel Penelitian	37
4.3.1 Variabel Bebas.....	37
4.3.2 Variabel Terikat.....	37

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	38
4.4.1 Lokasi Penelitian	38
4.4.2 Waktu Penelitian	38
4.5 Definisi Operasional	38
4.6 Prosedur Penelitian	39
4.6.1 Alur Prosedur Penelitian	39
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....	40
5.1 Uji Kadar Flavonoid	40
5.2 Uji Sitotoksitas pada sel HeLa dengan metode MTT Assay.....	41
BAB VI PEMBAHASAN.....	44
6.1 Analisa Kadar Flavonoid Total	44
6.2 Uji Sitotoksitas dengan metode MTT Assay	46
6.3 Keterbatasan Penelitian	48
BAB VII PENUTUP	49
7.1 Kesimpulan.....	49
7.2 Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA	50





DAFTAR SINGKATAN

WHO : *World Health Organization*

RISKESDAS : Riset Kesehatan Dasar



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Kanker merupakan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol, diikuti dengan proses invasi ke jaringan sekitarnya dan penyebaran (metastasis) ke bagian tubuh yang lain. Diantara beberapa jenis kanker, terdapat kanker serviks. Kanker serviks atau kanker leher rahim adalah penyakit yang disebabkan oleh proses keganasan yang terjadi pada serviks atau area leher rahim yaitu bagian rahim yang menghubungkan rahim bagian atas dengan vagina (King, 2000; Setiawan, 2015).

Kanker serviks merupakan salah satu kanker penyebab utama kematian wanita di seluruh dunia. Data menurut *World Health Organization* (WHO) menunjukkan bahwa Indonesia merupakan negara dengan jumlah penderita kanker serviks terbesar di dunia (Kemenkes, 2015).

Salah satu langkah penyembuhan kanker adalah dengan melakukan kemoterapi. Namun dalam kerjanya, kemoterapi tidak hanya membunuh sel-sel kanker tetapi juga menyerang sel-sel sehat seperti sel sumsum tulang belakang, rambut, kulit, dan sel-sel lain yang memiliki aktivitas membelah dengan cepat (Setiawan, 2015). Alternatif pengobatan kanker dapat dilakukan dengan memanfaatkan senyawa yang terkandung dalam bahan alami dari tanaman (Handoko, *et al*, 2011).

Senyawa bioaktif yang terdapat dalam tumbuhan umumnya dalam bentuk metabolit sekunder yang diantaranya berupa alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, dan senyawa-senyawa lainnya. Diketahui bahwa senyawa tersebut memiliki kemampuan sebagai antioksidan maupun antiinflamasi. Pada tumbuhan, senyawa metabolit sekunder tersebut dapat ditemukan pada akar, batang, daun, buah, bunga, biji, dan pada getah. Umumnya metabolit sekunder pada tumbuhan mempunyai aktifitas biologis dan berperan sebagai pelindung tumbuhan itu sendiri dari gangguan

hama penyakit maupun lingkungan yang dapat mengganggu tumbuh kembang dari tumbuhan (Taiz dan Zeigher, 2003)

Salah satu tanaman yang mengandung banyak metabolit sekunder adalah umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) yang merupakan herbal menahun yang tumbuh liar dan kurang mendapat perhatian, padahal bagian tanaman ini terutama umbinya dapat digunakan sebagai analgetik (Sudarsono, *et al*, 1996).

Studi fitokimia sebelumnya menunjukkan bahwa umbi rumput teki memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, pati, glikosida, furochromones, dan seskui-terpenoid (Lawal, 2009). Dari penelitian sebelumnya juga diketahui bahwa tanaman umbi rumput teki memiliki sejumlah manfaat farmakologis, diantaranya adalah sebagai antioksidan, sitotoksik, apoptosis, serta analgesik antipeuretik.

Flavonoid merupakan golongan senyawa bahan alam dari senyawa fenolik yang merupakan pigmen tumbuhan. Flavonoid sebagai senyawa fenolik memiliki kemampuan sebagai sitotoksik dan bersifat antioksidan kuat yang terbukti mampu menghambat proses stres oksidatif pada beberapa penyakit termasuk untuk pencegahan dan pengobatan penyakit kanker (Heinrich *et al*, 2010; Apsari dan Susanti, 2011).

Pada penelitian sebelumnya belum ditemukan adanya uji atau analisis mengenai analisis flavonoid total serta uji potensi zat antikanker pada ekstrak umbi rumput teki. Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian ini dengan tujuan untuk menganalisis kandungan flavonoid pada ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) serta mengetahui potensi zat antikanker dengan melakukan uji sitotoksitas pada ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) terhadap sel kanker serviks (HeLa).

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapakah kadar flavonoid total ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*)?
2. Apakah ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) berpotensi memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker serviks (HeLa)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

1. Untuk mengetahui kadar flavonoid total pada ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*)
2. Untuk mengetahui potensi senyawa antikanker pada ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) terhadap sel kanker HeLa

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui efektivitas kadar flavonoid total pada ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*)
2. Untuk mengetahui nilai penghambatan proliferasi ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) terhadap kultur sel kanker HeLa

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Penelitian ini diharapkan dapat menambah wawasan serta memberi informasi ilmiah yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan terkait gizi dan pangan khususnya tentang kadar flavonoid total pada umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) serta potensi ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) sebagai senyawa yang berpotensi sebagai zat antikanker sehingga dapat digunakan sebagai salah satu metode alternatif pengobatan herbal dalam pencegahan penyakit kanker serviks.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kesehatan kepada masyarakat terkait kandungan antioksidan dan potensi antikanker pada umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*).



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Umbi Rumput Teki

2.1.1 Asal-usul Rumput Teki

Nama genus *Cyperus* berasal dari suatu nama dalam Bahasa Yunani Kuno *Cypeiros*. Sedangkan nama spesies *rotundus* berasal dari suatu kata dalam Latin bulat yang merujuk pada tanaman umbi (David *et al.*, 2012). Rumput teki atau yang biasa dikenal sebagai *motha* atau *musta* di India serta terkenal dengan nama *purple nut sedge* di seluruh dunia merupakan salah satu tanaman yang dominan sebagai gulma invasif. Rumput teki tersebar luas di daerah beriklim, tropis, dan subtropis di dunia termasuk India, Cina, Taiwan, Korea, Filipina, Thailand, Vietnam, Malaysia, Indonesia, Kepulauan Pasifik, Afrika, Amerika Selatan, Amerika Utara, Meksiko, Australia, New Zealand dan Timur Tengah (Nagarajan *et al.*, 2015).

Rumput teki dapat tumbuh secara liar pada dataran rendah hingga ketinggian 1000 m di atas permukaan laut. Rumput teki tumbuh di berbagai tempat terbuka yang tidak terlalu kering seperti pada lapangan rumput, pinggir jalan, tanah terlantar, tegalan, atau lahan pertanian yang tumbuh menjadi gulma yang sulit untuk diberantas (Dalimartha, 2009).

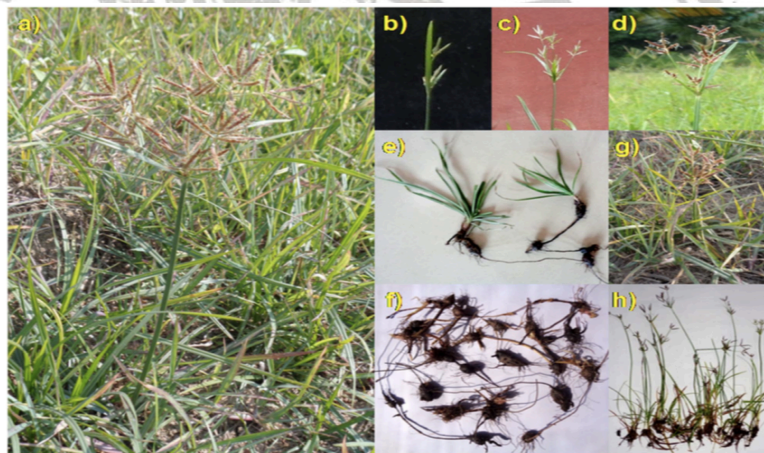
Rumput Teki adalah suatu gulma yang mengganggu, ia dapat tumbuh hingga ketinggian 7 - 40 cm dan berkembangbiak secara rimpang dan umbi-umbian (Khalida dan Siddiqui, 2014). Sejak zaman dahulu, rimpang dan umbi rumput teki lama digunakan sebagai pengobatan herbal untuk mengobati gangguan usus dan sakit perut lainnya di beberapa negara termasuk Cina, India, Iran, dan Jepang (Srivastava *et al.*, 2013).

Spesies yang tersebar luas ini merupakan sebuah gangguan bagi dunia pertanian karena pertumbuhannya yang sangat cepat, sifat kompetitif yang keras

untuk kebutuhan nutrisi tanah sehingga memicu penurunan hasil produksi yang ingin dicapai pada suatu lahan pertanian dan menjadi gulma bagi tanaman. Meski demikian, aspek yang menarik dari umbi rumput teki terletak pada potensinya untuk dikembangkan menjadi zat antikanker (Susianti, 2009).

Para ilmuwan telah melaporkan bahwa rimpang dan umbi rumput teki memiliki kemampuan sebagai antidiare, antioksidan, anti-inflamasi, antimutagenik, antiperiodik, antikonvulsan, anti-saturatif, antipeuretik, antijamur, antidiabetes, antimalaria, anti-saturatif, antilipidemik, antibakteri, antivirus, anti-tumor, kardioprotektif, dan mampu membantu penyembuhan luka (Pirzada, et al., 2015).

2.1.2 Klasifikasi Ilmiah



Gambar 2.1 *Cyperus rotundus* L. (Pirzada, et al., 2015)

Taksonomi rumput teki

- Divisi : *Spermatophyta*
- Subdivisi : *Angiospermae*
- Kelas : *Monocotyledonae*
- Bangsa : *Cyperales*

Suku : Cyperaceae, Cyperus

Jenis (Spesies) : *C. rotundus* L.

Nama umum : Teki

(Sudarsono *et al.*, 1996; Depkessos RI, 2000)

2.1.3 Rumput Teki

Tanaman rumput teki memiliki tinggi ± 40 cm. Batang nya berwarna hijau pucat, berbentuk segitiga tajam, bertekstur lunak, dan membentuk ubi. Rumput teki memiliki daun tunggal berwarna hijau sepanjang ± 50 cm dan lebar ± 5 mm yang berbentuk lanset dengan pelepah daun memeluk pangkal batang, ujung meruncing dan bertepi rata. Bunga rumput teki berwarna coklat, memiliki panjang 13 cm dan lebar 2 mm, bersifat majemuk, berada di ujung batang, bentuk bulir, memiliki benang sari tiga, kepala sari merah, dan putik sepanjang $\pm 1,5$ cm. Buahnya berwarna coklat, memiliki panjang $\pm 1,5$ cm dan berbentuk bulat seperti telur. Akarnya serabut dan berwarna putih kotor.

Sedangkan umbi rumput teki memiliki ukuran sebesar kelingking, panjang ± 13 cm, berbentuk bulat atau lonjong, berkerut atau berlekuk, bila diraba terasa agak berduri, bagian luarnya berwarna coklat atau kehitaman dan bagian dalamnya berwarna putih, ada pula bagian yang kemerahan, berbau seperti rempah-rempah dan berasa agak pahit (Sudarsono *et al.*, 1996).

Rumput teki sejak lama dimanfaatkan sebagai obat untuk bermacam penyakit karena bersifat anti-diare, anti-diabetik, anti-jamur, anti-mikroba, anti-oksidan, anti-mutagenik, anti-peuretik, analgesik, anti-emetik, stimulan, diuretik, sedatif, anti-obesitas dan sebagai anti-kanker. Penelitian terkait khasiat teki pun sudah banyak dilakukan. Di kalangan masyarakat, umbi keadaan segar dimemarkan dan dibubuhkan ke dalam minuman sebagai obat *urolithiasis* atau kencing batu. Selain itu, air hasil rebusan umbi digunakan sebagai pengatur siklus haid, penyembuh keputihan, juga sebagai penenang, antispasmodik, melunakkan feses, dan mampu

mempercepat pembekuan darah pada luka yang baru (Sudarsono, 1996; Susianti, 2009; Sivapalan, 2013).

2.1.4 Kandungan Gizi Umbi Rumpuk Teki

Studi yang dilakukan oleh Lawal (2009), mengungkapkan bahwa *Cyperus rotundus* mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, pati, glikosida, dan furochromones, dan seskuiterpenoid saponin dan minyak atsiri. Subhuti (2005) juga menyatakan bahwa seperti tanaman lain, *Cyperus rotundus* memiliki banyak kandungan kimia yang dapat menunjukkan aktivitas farmakologi.

Subhuti (2005) menyatakan bahwa seperti tanaman lain *Cyperus rotundus*, memiliki banyak kandungan kimia, banyak yang dapat menunjukkan aktivitas farmakologi, namun komponen aktif utama tampaknya adalah seskuiterpen. Diantara seskuiterpen utama yang diidentifikasi dalam rimpang *Cyperus* sejauh ini adalah: α -cyperone, β -selinene, cyperene, cyperotundone, patchoulone, sugeonol, kobusone, dan isokobusone. *Cyperus* juga mengandung terpena lainnya, seperti pinene komponen tanaman yang sering ditemukan (monoterpena), dan beberapa turunan *sesquiterpenes*, seperti *cyperol*, *isocyperol*, dan *cyperone*. Kandungan dari umbi teki ini berbeda di setiap daerah, hal ini dikarenakan keadaan geografis masing-masing daerah yang tidak sama (Lawal, 2009).

2.1.5 Kandungan Lain

Dari berbagai penelitian telah teridentifikasi berbagai kandungan senyawa pada rumput teki yang berupa antioksidan maupun senyawa lain yang diduga memiliki efek medis dan cukup potensial untuk dikembangkan sebagai obat. Kandungan rumput teki antara lain alkaloid, flavonoid, glikosida, furokromon, tanin, sitosterol, lemak, monoterpeneseskuiterpenoid, polifenol dan minyak esensial. Senyawa utama minyak esensial yang telah berhasil diisolasi antara lain α cyperone, cyperene, cyperotundone, cyperol, β selinene, β caryophyllene, valerenal, sugeonyl acetate, α copaene, patchoulene, transpinocarveol, patchoulenone, aristrol9en3one, selina4, 11 diene,

aristol9en8one, kobusone, sugetriol, isokobusone, isocyperol, sugeonol dan sitosterol.

2.2 Kanker Serviks

2.2.1 Definisi Kanker

Kanker adalah penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tidak normal pada tubuh, dimana jaringan tersebut tumbuh dengan sangat cepat, tidak dapat dikendalikan, menginfiltrasi atau menyebar, dan menekan jaringan tubuh sehingga mempengaruhi organ tubuh (Akmal, *et al*, 2010).

Sedangkan Sunaryati (2011), berpendapat bahwa penyakit kanker adalah suatu penyakit yang ditandai dengan adanya pembelahan sel secara tidak terkendali. Sel-sel tersebut mampu menyerang jaringan biologis tubuh lainnya, baik dengan cara pertumbuhan langsung di jaringan yang berada bersebelahan atau invasi, maupun secara migrasi pada sel yang berada lebih jauh atau metastasis.

Menurut *World Health Organization* atau WHO, kanker merupakan suatu istilah umum yang digunakan untuk satu kelompok besar penyakit yang mempengaruhi seluruh bagian tubuh. Istilah lainnya adalah tumor ganas dan neoplasma. Definisi lain kanker adalah tumbuhnya sel-sel baru secara tidak normal yang jumlahnya melebihi batas dan mampu menyerang serta menyebar ke bagian organ tubuh lain. Rangkaian ini merupakan proses dari metastasis. Penyebab kematian akibat kanker utamanya disebabkan oleh proses metastasis. (WHO, 2009).

Menurut Hejmadi (2010), kanker dapat didefinisikan sebagai suatu penyakit dimana terdapat sekelompok sel abnormal yang tumbuh tidak terkendali. Pertumbuhan sel-sel kanker tersebut tidak mengikuti aturan normal dari pembelahan sel. Dalam keadaan yang normal, sel-sel dalam tubuh manusia secara konstan mengikuti suatu sinyal yang akan menentukan apakah sel harus berperan untuk membelah diri, menggantikan sel-sel lain, atau mati. Namun sel-sel kanker meningkatkan tingkat otonomi dari sinyal tersebut yang mengakibatkan pertumbuhan sel secara tidak terkontrol dan terjadinya proliferasi. Apabila proliferasi ini dibiarkan

untuk berlanjut dan menyebar, maka dapat berakibat fatal. Fakta menunjukkan bahwa hampir 90% dari kematian terkait kanker, disebabkan karena keadaan tumor telah menyebar ke jaringan tubuh lain melalui suatu proses yang dinamakan metastasis.

2.2.2 Definisi Kanker Serviks

Kanker serviks adalah suatu proses dari keganasan tumor yang berada di dalam leher rahim atau serviks. Serviks merupakan bagian terendah rahim yang menempel pada bagian puncak vagina. (Diananda, Rama, 2009)

Menurut *American Cancer Society* (ACS), perkembangan kanker serviks ditandai dengan adanya gangguan pada sel-sel yang melapisi serviks. Namun terdapat beberapa kanker serviks yang ditandai pada suatu tempat yang disebut zona transformasi, yaitu titik bertemunya sel squamosa dan sel glandular. Pada awalnya sel-sel ini tidak langsung berubah menjadi kanker. Sel-sel serviks yang normal secara bertahap akan berkembang menuju tahap pra-kanker dan baru selanjutnya berubah menjadi kanker. Pada beberapa kasus biasanya kanker memerlukan waktu selama beberapa tahun untuk berkembang dari tahap pra-kanker serviks menjadi kanker serviks, namun bisa juga terjadi dalam waktu kurang dari setahun. Bagi sebagian besar wanita, sel pra-kanker dapat hilang begitu saja tanpa perawatan apapun. Namun, pada beberapa wanita lainnya sel pra-kanker dapat berkembang menjadi kanker yang bersifat invasif. (ACS, 2014)

Kanker serviks dan pra-kanker serviks dapat diklasifikasikan berdasarkan tampilannya dibawah mikroskop. Jenis utama kanker serviks adalah sel squamosa karsinoma dan adenokarsinoma. 9 dari 10 kasus kanker serviks merupakan sel squamosa karsinoma. Kanker ini terbentuk dari sel-sel di eksoserviks dan memiliki fitur sel-sel squamosa di bawah mikroskop. Jenis kanker serviks lainnya adalah adenokarsinoma. Adenokarsinoma adalah kanker yang berkembang dari sel-sel kelenjar. Adenokarsinoma serviks berkembang dari sel kelenjar yang memproduksi mukus atau lendir dari endoserviks. Adenokarsinoma serviks menjadi lebih umum pada 20 - 30 tahun terakhir (ACS, 2014).

2.2.3 Epidemiologi Kanker Serviks

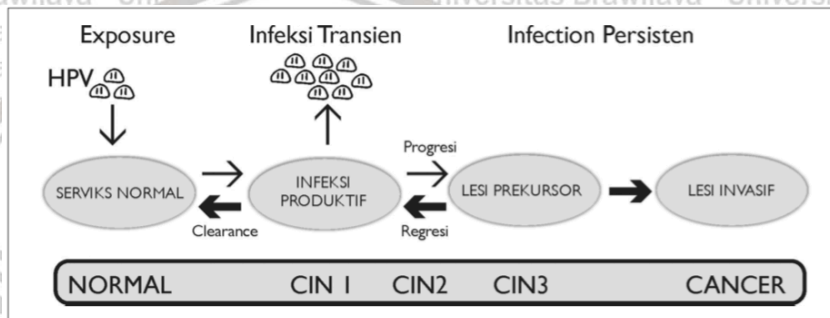
Kanker serviks merupakan penyakit kanker yang diderita oleh perempuan dan merupakan penyakit kanker penyebab kematian wanita nomor dua di dunia setelah kanker payudara. Di seluruh dunia, terdapat kurang lebih 500.000 kasus baru terkait kanker leher rahim yang terjadi setiap tahunnya, serta 250.000 kasus kematian pada wanita akibat kanker serviks dimana 80% dari kasus tersebut terjadi pada negara berkembang. Sampai saat ini pun kanker serviks masih menjadi masalah kesehatan perempuan di negara-negara berkembang termasuk di Indonesia sehubungan dengan angka kejadian dan angka kematiannya yang tinggi (Rasjidi, 2009). Hal ini diperkuat dengan pernyataan WHO (2003) bahwa kanker merupakan masalah kesehatan yang sangat serius karena jumlahnya yang terus meningkat hingga 20% per tahun (Azamris, 2006).

Di Indonesia, kanker serviks diperkirakan terjadi tidak kurang dari 15.000 kasus pertahun (Kemkes, 2015). Serta data estimasi insidensi kanker serviks sebesar 17 dari 100.000 perempuan di Indonesia (IARC, 2012). Tiap hari di Indonesia, dari 40 perempuan dengan diagnosa kanker serviks, 20 diantaranya meninggal karena kanker serviks. Tingginya prevalensi kasus kanker serviks di Indonesia, membuat WHO menempatkan Indonesia sebagai negara berkembang dengan kasus kanker serviks terbanyak di dunia. Bahkan menurut WHO, pada tahun 2030 akan terjadi peningkatan penderita kanker di Indonesia sampai dengan tujuh kali lipat. Hal ini juga menyebabkan semakin tingginya jumlah kematian akibat kanker (Kemkes, 2015).

Kanker serviks yang sudah memasuki stadium lanjut banyak yang menyebabkan kematian dalam jangka waktu yang relatif cepat. Hanya 5% dari masyarakat di Indonesia yang melakukan penapisan atau deteksi dini untuk kanker serviks, keadaan inilah yang menyebabkan 76,6% pasien datang ke rumah sakit dengan keadaan sudah memasuki stadium lanjut. Hal ini di dukung oleh data dari Departemen Kesehatan RI yang menunjukkan bahwa lebih dari 70% kasus pasien yang datang ke rumah sakit dalam keadaan stadium lanjut. Rendahnya deteksi dini atau *screening* kanker serviks merupakan salah satu alasan semakin berkembangnya kanker serviks. Hal-hal lain seperti keterlambatan diagnosis pada stadium lanjut, jenis

histopatologi, keadaan umum yang lemah, status sosial ekonomi yang rendah, keterbatasan sumber daya, keterbatasan sarana dan prasarana serta derajat pendidikan juga ikut serta dalam menentukan prognosis dari penderita kanker serviks (Rasjidi, 2009).

2.2.4 Patofisiologi Kanker Serviks



Gambar 2.2 Patofisiologi Kanker Serviks (Rasidji, 2009)

Karsinoma serviks adalah penyakit yang progresif, mulai dengan intraepitel, berubah menjadi neoplastik, dan akhirnya menjadi kanker serviks setelah 10 tahun atau lebih. Secara histopatologi lesi pre invasif biasanya berkembang melalui beberapa stadium displasia (ringan, sedang dan berat) menjadi karsinoma insitu dan akhirnya invasif. Berdasarkan karsinogenesis umum, proses perubahan menjadi kanker diakibatkan oleh adanya mutasi gen pengendali siklus sel. Gen pengendali tersebut adalah onkogen, tumor supresor gene, dan repair genes. Onkogen dan tumor supresor gen mempunyai efek yang berlawanan dalam karsinogenesis, dimana onkogen memperantarai timbulnya transformasi maligna, sedangkan tumor supresor gen akan menghambat perkembangan tumor yang diatur oleh gen yang terlibat dalam pertumbuhan sel. Meskipun kanker invasive berkembang melalui perubahan intraepitel, tidak semua perubahan ini progres menjadi invasif. Lesi preinvasif akan mengalami regresi secara spontan sebanyak 3 - 35%.

Bentuk ringan (displasia ringan dan sedang) mempunyai angka regresi yang tinggi. Waktu yang diperlukan dari displasia menjadi karsinoma insitu (KIS) berkisar

antara 1 – 7 tahun, sedangkan waktu yang diperlukan dari karsinoma insitu menjadi invasif adalah 3 – 20 tahun. Proses perkembangan kanker serviks berlangsung lambat, diawali adanya perubahan displasia yang perlahan-lahan menjadi progresif. Displasia ini dapat muncul bila ada aktivitas regenerasi epitel yang meningkat misalnya akibat trauma mekanik atau kimiawi, infeksi virus atau bakteri dan gangguan keseimbangan hormon. Dalam jangka waktu 7 – 10 tahun perkembangan tersebut menjadi bentuk preinvasif berkembang menjadi invasif pada stroma serviks dengan adanya proses keganasan. Perluasan lesi di serviks dapat menimbulkan luka, pertumbuhan yang eksofitik atau dapat berinfiltrasi ke kanalis serviks. Lesi dapat meluas ke forniks, jaringan pada serviks, parametria dan akhirnya dapat menginvasi ke rektum dan atau vesika urinaria. Virus DNA ini menyerang epitel permukaan serviks pada sel basal zona transformasi, dibantu oleh faktor risiko lain mengakibatkan perubahan gen pada molekul vital yang tidak dapat diperbaiki, menetap, dan kehilangan sifat serta kontrol pertumbuhan sel normal sehingga terjadi keganasan (Suryohudoyo, 1998; Debbie, 1998). Berbagai jenis protein diekspresikan oleh HPV yang pada dasarnya merupakan pendukung siklus hidup alami virus tersebut. Protein tersebut adalah E1, E2, E4, E5, E6, dan E7 yang merupakan segmen open reading frame (ORF). Di tingkat seluler, infeksi HPV pada fase laten bersifat epigenetic.

Infeksi HPV terjadi pada hampir semua kejadian kanker serviks. Jenis HPV dapat diklasifikasikan berdasarkan risiko penyebab terjadinya kanker serviks. Klasifikasinya yaitu HPV berisiko rendah (misalnya HPV-6 dan HPV-11) dan berisiko tinggi (misalnya HPV-18 dan HPV-16) (Boardman, 2016). HPV-6 dan -11 berhubungan dengan lesi yang mayoritas lebih jinak yang mempengaruhi daerah anogenital, seperti kutil kelamin (kondiloma) dan lesi squamous intraepithelial kelas rendah pada serviks (Steben dan Eliane, 2007).

HPV awalnya menginfeksi sel-sel epitel basal, yang merupakan satu-satunya lapisan sel dalam epitel yang aktif membelah, dan sel sel diantaranya (parabasal). DNA virus dipertahankan dalam jumlah salinan yang rendah dalam inti sel - sel basal yang terinfeksi sebagaimana sel – sel tersebut

mengalami diferensiasi dan bergerak menuju permukaan epitel. Pada akhir diferensiasi sel pada permukaan epitel, virus bereplikasi ke jumlah salinan yang tinggi, gen akhir diekspresikan, dan virus baru diproduksi (Boardman, 2016).

Progres dan hasil dari infeksi HPV tergantung pada jenis HPV, lokasi anatomi, bentuk dan lamanya pengaruh sel dan jaringan sekitar. Virus mengakses sel basal dan sel parabasal di daerah erosi dan DNA virus memasuki inti sel. Pembentukan sel sel yang terinfeksi virus bergantung pada aktivitas proliferasi sel epitel dan dalam kasus perbaikan jaringan yang luas, infeksi virus dengan mudah dapat disebarluaskan. Persistensi keratinosit dapat terjadi secara bervariasi tergantung pada tipe virus yang menginfeksi. Integrasi DNA virus pun dapat terjadi, sehingga terjadi persistensi seumur hidup gen virus tertentu dalam sel (Knoff et al, 2014; Boardman, 2016).

2.2.5 Etiologi Kanker Serviks

Sel kanker serviks pada awalnya berasal dari sel epitel serviks yang mengalami mutasi genetik dan kemudian mengubah perilakunya. Sel yang bermutasi ini melakukan pembelahan sel yang tidak terkendali, imortal dan menginvasi jaringan stroma dibawahnya. Keadaan yang menyebabkan mutasi genetik yang tidak dapat diperbaiki akan menyebabkan terjadinya pertumbuhan kanker (Aziz, *et al*, 2006)

Penyebab utama dari kanker serviks adalah virus. Virus tersebut dikenal dengan nama *Human Papilloma Virus* atau HPV. Virus papiloma manusia ini ditemukan pada 95% kasus penyakit kanker serviks. Mutagen virus ini pada umumnya berasal dari agen-agen yang dapat dengan mudah ditularkan melalui aktivitas seksual (Emilia, 2010). HPV tipe 16 dan tipe 18 diketahui sebagai beberapa tipe HPV yang dapat menyebabkan kanker, serta tipe 31, 34, 45, dan lain-lain (Depkes RI, 2009). Lebih dari 90% kanker serviks jenis skuamosa mengandung DNA virus HPV dan 50% kanker serviks berhubungan dengan HPV tipe 16. HPV tipe 6 dan 11 berhubungan

erat dengan displasia ringan yang sering regresi. HPV tipe 16 dan 18 dihubungkan dengan displasia berat yang jarang mengalami regresi dan seringkali progresif menjadi karsinoma in situ. Infeksi HPV persisten dapat berkembang menjadi neoplasia intraepitel serviks (NIS) (Zhao *et al*, 2012)

Infeksi HPV terjadi dalam persentase yang besar pada wanita yang aktif secara seksual. Kebanyakan dari infeksi virus HPV dapat disembuhkan dalam waktu beberapa bulan hingga tahun, dan hanya sebagian kecil saja yang berkembang menjadi suatu kanker. Hal ini menunjukkan bahwa diperlukan adanya faktor lain sehingga dapat mencetuskan suatu proses karsinogenesis (Garcia, 2009).

Faktor lain yang berhubungan dengan kanker serviks adalah aktivitas seksual terlalu muda (<16 tahun), jumlah pasangan seksual yang tinggi (>4 orang), dan adanya riwayat infeksi berpapil (*warts*). Karena hubungannya yang erat dengan infeksi HPV, wanita yang mendapat atau menggunakan penekan kekebalan (*immunosuppressive*) dan penderita HIV berisiko menderita kanker serviks.

Bahan karsinogenik spesifik dari tembakau dijumpai dalam lendir serviks wanita perokok. Bahan ini dapat merusak DNA sel epitel skuamosa dan bersamaan dengan infeksi HPV mencetuskan transformasi maligna (Aziz, *et al*, 2006)

2.2.6 Faktor Risiko Kanker Serviks

Faktor resiko terjadinya kanker serviks yang sudah dibuktikan kebenarannya antara lain:

1. Hubungan Seksual

Karsinoma serviks atau kanker leher rahim diperkirakan sebagai penyakit yang ditularkan secara seksual. Beberapa bukti menunjukkan adanya hubungan antara riwayat hubungan seksual dan risiko penyakit ini. Sesuai dengan etiologi infeksi, wanita dengan pasangan seksual yang banyak dan wanita yang memulai hubungan seksual pada usia muda akan meningkatkan risiko terkena kanker serviks. Karena sel kolumnar serviks lebih peka terhadap metaplasia

selama usia dewasa maka wanita yang berhubungan seksual sebelum usia 18 tahun akan berisiko terkena kanker serviks lima kali lipat. Keduanya, baik usia saat pertama berhubungan maupun jumlah pasangan seksual, adalah faktor risiko kuat untuk terjadinya kanker serviks. (Rasjidi, 2009)

Menurut penelitian Wahyuningsih dan Mulyani (2014) diketahui bahwa berhubungan seksual pertama kali pada umur ≤ 20 tahun mempunyai resiko lebih besar untuk mengalami lesi prakanker serviks dibandingkan dengan responden yang berhubungan seksual pertama kali pada umur > 20 tahun. Hal ini mungkin terkait dengan komplemen histon pada semen yang bertindak sebagai antigen. Paling berbahaya apabila terinfeksi HPV pada 5-10 tahun setelah *menarche*. Ketika sel sedang membelah secara aktif atau metaplasia seharusnya tidak terjadi kontak atau rangsangan apapun dari luar. Hal tersebut akan mengakibatkan perkembangan sel ke arah abnormal. Infeksi dalam rahim dengan mudah terjadi apabila timbul luka akibat masuknya benda asing. Sel abnormal dalam mulut rahim akan mengakibatkan kanker mulut rahim.

2. Karakteristik Pasangan

Sirkumsisi pernah dipertimbangkan menjadi faktor pelindung, tetapi sekarang hanya dihubungkan dengan penurunan faktor risiko. Terdapat studi kasus kontrol yang menunjukkan bahwa pasien dengan kanker serviks lebih sering menjalani seks aktif dengan pasangan yang melakukan seks berulang kali. Selain itu, pasangan dari pria dengan kanker penis atau pasangan dari pria yang istrinya meninggal terkena kanker serviks juga akan meningkatkan risiko kanker serviks (Rasjidi, 2009).

3. Riwayat Ginekologis

Keadaan usia menarkhe atau menopause diketahui tidak mempengaruhi risiko kanker serviks. Namun kehamilan di usia muda dan jumlah kehamilan atau manajemen persalinan yang tidak tepat dapat meningkatkan risiko terjadinya kanker serviks (Rasjidi, 2009). Keadaan lain seperti multi paritas juga diketahui

sebagai risiko penyebab kanker serviks. Paritas merupakan suatu keadaan dimana seorang wanita pernah melahirkan bayi yang dapat hidup atau tidak. Paritas yang berbahaya adalah dengan memiliki jumlah anak lebih dari 2 orang atau jarak persalinan yang terlalu dekat. Hal tersebut karena dapat menyebabkan timbulnya perubahan sel-sel abnormal pada mulut rahim. Jika jumlah anak yang dilahirkan melalui persalinan normal, banyak menyebabkan terjadinya perubahan sel abnormal dari epitel serviks dan dapat berkembang menjadi keganasan (Aminati, 2013). Sedangkan ACS (2014) menyatakan bahwa wanita yang telah mengalami 3 atau lebih kehamilan dalam jangka penuh memiliki peningkatan risiko untuk terjadinya kanker serviks. Penelitian telah menunjukkan bahwa perubahan hormon selama kehamilan kemungkinan membuat perempuan lebih rentan terhadap infeksi HPV atau pertumbuhan kanker.

2.2.7 Terapi Pengobatan Kanker

Kanker serviks dapat ditangani dengan beberapa metode, antara lain pembedahan, radioterapi, kemoterapi, atau kombinasi dari metode-metode tersebut (Komite Medik, 2004). Pemilihan terapi tergantung pada ukuran tumor, stadium klinis, tingkat penyebaran tumor, gambaran histologis, adanya keterlibatan kelenjar getah bening, faktor risiko dari pembedahan atau terapi radiasi, umur, dan kondisi kesehatan pasien (Williams dan Wilkins, 2001).

Terapi pada pasien kanker bertujuan untuk membinasakan sel-sel kanker dengan membunuhnya ataupun membuangnya (Uripi 2002). Walaupun saat ini cukup banyak pilihan terapi yang dapat dilakukan untuk setiap jenis kanker tetapi sebagian besar menimbulkan komplikasi dan penyulit pada penderitanya. Secara umum tujuan terapi kanker adalah memperbesar angka harapan hidup dan mengatasi gejala yang berarti memperbaiki kualitas hidup. Berikut ini jenis terapi untuk pasien kanker:

a. Kemoterapi

Kemoterapi adalah penggunaan bahan kimia atau obat untuk mengobati kanker. Sedangkan operasi dan terapi radiasi digunakan untuk mengobati tumor lokal.

Kemoterapi adalah terapi sistemik yang efeknya mempengaruhi seluruh tubuh. Aksi target dari kemoterapi tidak hanya terbatas pada jaringan ganas, hal itu juga mempengaruhi sel-sel normal. Sel-sel tubuh dengan peredaran yang cepat seperti sumsum tulang, folikel rambut, dan mukosa saluran pencernaan biasanya yang paling terpengaruh. Gejala gizi yang dialami akibat kemoterapi meliputi myelosupresi (penurunan dalam produksi sel darah merah, sel darah putih dan trombosit oleh sumsum tulang), kelelahan, mual dan muntah, kehilangan nafsu makan, mucositis, perubahan rasa dan bau, xerostomia (mulut kering), disfagia, dan perubahan fungsi usus. Akibatnya, asupan makan dan status gizi dapat terpengaruh (Grant, 2008).

Kemoterapi adalah penggunaan obat untuk penyembuhan atau pengendalian kanker. Kemoterapi merupakan terapi sistemik yang dapat mempengaruhi seluruh tubuh. Obat ini akan bekerja dengan menghambat atau mematikan sel-sel tumor, dan juga berpengaruh pada sel normal seperti ketika sel-sel pada saluran pencernaan terkena dapat menyebabkan diare, konstipasi, ataupun menghambat penyerapan zat gizi. Efek samping ini bersifat sementara karena sel-sel saluran cerna mengganti dirinya sendiri setiap tiga hari. Namun karena kemoterapi dilakukan dalam waktu yang lama sehingga dapat menyebabkan status gizi buruk (Levine and Colleagues 2008 dalam Peckenpaugh 2010).

Tingkat keparahan efek samping tergantung pada agen tertentu, dosis, lamanya pengobatan, obat yang digunakan, respon individu, dan status kesehatan saat ini. Penggunaan waktu dan terapi yang tepat seperti antiemetic, antidiarrhe, agen hematopoetik, dan antibiotik, serta perubahan pola makan, sangat penting bagaimana mengatur efektivitasnya terkait dengan efek samping pengobatan (Grant, 2008).

b. Radiasi

Terapi radiasi dapat diberikan secara eksternal ke dalam tubuh dari akselerator linier atau unit kobalt atau internal dengan menempatkan sumber radioaktif secara langsung di dalam tubuh atau pada tumor dengan dosis tinggi. Berbeda dengan kemoterapi yang merupakan terapi sistemik, terapi radiasi berpengaruh hanya pada tumor dan daerah sekitarnya. Efek samping terapi radiasi

biasanya hanya pada daerah yang teradiasi. Radiasi juga dapat diberikan dengan mengkombinasikannya dengan terapi kemoterapi agar meningkatkan efek radiasi.

Terapi radiasi yang dilakukan pada leher, dada, kerongkongan, dan perut menyebabkan masalah makan yang akut. Efek samping dari pengobatan sering menyebabkan ketidaknyamanan penderitanya, seperti disfagia, mulut sakit, stomatitis, esofagitis (radang kerongkongan) dan penurunan produksi air liur yang menyebabkan mulut kering (Grant, 2008).

c. Operasi

Operasi dilakukan dalam pengobatan kanker dalam upaya untuk mengangkat tumor atau mengurangi gejala (misalnya obstruksi pada saluran cerna). Masalah gizi dapat berkembang tergantung pada jenis prosedur yang dilakukan. Memberikan gizi yang optimal diperlukan dengan cara memodifikasi diet berdasarkan kemampuan atau ketidakmampuan seseorang untuk mengkonsumsi, dan mencerna makanan.

Operasi digunakan untuk pengobatan kanker dapat pula dikombinasikan dengan kemoterapi adjuvant sebelum operasi atau pasca operasi atau terapi radiasi. Setelah operasi diet yang diberikan yaitu tinggi energi dan protein yang diperlukan untuk penyembuhan luka dan pemulihan. Gejala yang umum terjadi seperti kelelahan, kesakitan, kehilangan nafsu makan, dan perubahan makan. Umumnya efek samping tersebut sementara dan menghilang beberapa hari setelah operasi (Peckenpaugh, 2010).

d. Imunoterapi

Imunoterapi adalah bentuk terapi kanker yang baru diciptakan yang memanfaatkan dua sifat atau ciri utama dari sistem imun: spesifitas dan daya ingat. Imunoterapi dapat digunakan untuk mengidentifikasi tumor dan memungkinkan pendeteksian semua tempat metastasis yang tersembunyi. Imunoterapi dapat

merangsang sistem kekebalan agar berespons secara lebih agresif terhadap tumor, atau sel-sel tumor dapat diserang oleh antibodi yang dibuat di laboratorium.

Imunoterapi yang digunakan seperti; Antibodi Berlabel Fluoresen, Stimulan Imunitas, dan Antibodi penyerang. Selain itu, sedang dikembangkan terapi yang didasarkan pada biologi molekuler sel tumor yang khas yang berbeda dengan sel-sel non kanker, contoh terapi biologis untuk tumor yaitu menggunakan obat-obat yang secara spesifik menghambat faktor angiogenesis dan enzim-enzim tumor tertentu misalnya kolagenase tipe IV (Corwin, 2001).

2.3. Sel Kanker Serviks (HeLa)

2.3.1 Sejarah Sel Kanker Serviks (HeLa)

Kultur sel HeLa atau HeLa *cell line* adalah suatu *continuous cell line* yang berasal dari sel epitel kanker leher rahim atau *cervix* seorang wanita penderita kanker leher rahim yang berasal dari Baltimore, USA, bernama Henrietta Lacks yang meninggal akibat kanker serviks pada tahun 1951. Sel HeLa adalah suatu sel yang bersifat imortal dan produktif (Freshney, 1986; Khotimah, 2004)

Sel HeLa adalah sel kanker leher rahim akibat dari infeksi *Human Papilloma Virus* (HPV) 18 yang memiliki sifat berbeda dengan sel leher rahim normal. HPV yang menginfeksi sel kanker leher rahim diketahui dapat mengekspresikan 2 onkogen, yaitu E6 dan E7. Protein E6 dan E7 dapat menyebabkan sifat imortal pada kultur primer keratinosit manusia, namun sel ini tidak bersifat tumorigenik hingga terjadinya suatu proses genetik (Goodwin dan DiMaio, 2000)

Sel HeLa kini digunakan sebagai bahan studi serta bahan penelitian untuk mengetahui efek dari suatu toksin, obat, hormon, juga virus dalam pertumbuhan sel kanker tanpa eksperimen langsung pada tubuh manusia. Sel HeLa juga berperan penting dalam perkembangan pembuatan vaksin polio dan dalam berbagai bidang penelitian virologi, transportasi sel hidup, pengobatan genetik, dan lain-lain (Kappel, 2011)

2.4 Antioksidan

2.4.1 Pengertian Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu substansi yang pada konsentrasi kecil secara signifikan mampu menghambat atau mencegah oksidasi pada substrat yang disebabkan oleh radikal bebas (Isnindar, *et al*, 2011). Radikal bebas merupakan molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dalam orbital luarnya sehingga dapat bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel tersebut (Utomo, *et al*, 2008). Radikal bebas yang dihasilkan secara terus menerus selama proses metabolisme normal, dianggap sebagai penyebab terjadinya kerusakan fungsi sel-sel tubuh yang akhirnya menjadi pemicu timbulnya penyakit degeneratif (Juniarti, *et al*, 2009).

Antioksidan sintetik seperti BHA (butylated hidroxy aniline) dan BHT (butylated hidroxy toluen) telah diketahui memiliki efek samping yang besar antara lain menyebabkan kerusakan hati (Kikuzaki, *et al*, 2002). Di sisi lain alam menyediakan sumber antioksidan yang efektif dan relatif aman seperti flavonoid, vitamin C, beta karoten dan lain-lain. Hal tersebut mendorong semakin banyak dilakukan eksplorasi bahan alam sebagai sumber antioksidan.

2.4.2 Manfaat dan Peranan Antioksidan

Peran antioksidan di dalam tubuh adalah sebagai pertahanan pertama tubuh terhadap radikal bebas. Kadar radikal bebas yang terus meningkat ditubuh didapatkan dari rokok, polusi, stress dan lain sebagainya yang dapat menyebabkan berbagai kerusakan dalam tubuh dan memicu terjadinya penuaan dan penyakit degeneratif. Antioksidan akan mengontrol proses pembentukan dan reaksi dari radikal bebas sebelum radikal bebas menyerang sel supaya tidak berlanjut (Devasagam *et al*, 2004).

2.5 Flavonoid pada Kanker

2.5.1 Pengertian Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu dari sekian banyak senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh suatu tanaman, yang bisa dijumpai pada bagian daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga dan biji. Secara kimia, flavonoid mengandung cincin aromatik tersusun dari 15 atom karbon dengan inti dasar tersusun dalam konjugasi C6-C3-C6 yaitu dua inti aromatik terhubung dengan 3 atom karbon (Robbinson, 1995).

Peranan flavonoid yaitu melancarkan peredaran darah ke seluruh tubuh dan mencegah terjadinya penyumbatan pada pembuluh darah, mengurangi kandungan kolesterol serta mengurangi timbunan lemak pada dinding pembuluh darah, mengurangi resiko jantung koroner, mengandung antiinflamasi (antiradang) dan juga berfungsi sebagai antioksidan dan mengurangi pembengkakan. Selain itu kegunaan flavonoid pada tumbuhan yang mengandungnya adalah sebagai antimikroba dan antivirus (Robbinson, 1995).

Efek flavonoid terhadap macam-macam organisme sangat banyak macamnya dan dapat menjelaskan mengapa tumbuhan yang mengandung flavonoid dipakai dalam pengobatan tradisional. Flavonoid dapat bekerja sebagai inhibitor kuat pernapasan. Beberapa flavonoid menghambat fosfodiesterase, flavonoid lain menghambat aldoreduktase, monoamina oksidase, protein kinase, balik transkriptase, DNA polimerase dan lipooksigenase (Robbinson, 1995).

Penelitian secara *in vivo* maupun *in vitro* menunjukkan flavonoid memiliki efek antiradang, antibakteri, anti alergi, antioksidan, antikarsinogen dan melindungi pembuluh darah. (Sabir, 2003; Wilmana, 2001).

2.5.2 Flavonoid pada Kanker

Senyawa flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lemak (Dewi *et al*, 2014).

Metabolit sekunder flavonoid berpotensi sebagai agen antikanker yang memiliki berbagai mekanisme seperti inaktivasi zat karsinogenik, antiproliferasi, menghentikan siklus sel, menginduksi apoptosis, dan menghambat angiogenesis.

Flavonoid dapat menghambat pertumbuhan sel kanker dengan menghambat sintesis enzim topoisomerase yang berperan penting pada sintesis dan replikasi DNA sel kanker. Mekanisme inilah yang diperkirakan terjadi pada penghambatan sel hidup sel kanker HeLa yang mengalami mutasi protoonkogen menjadi onkogen akibat infeksi virus HPV sehingga pertumbuhan sel kanker tidak terkendali (Ren *et al*, 2003; Khanam *et al*, 2012; Mutiah *et al*, 2018).

2.6 Analisa Kadar Flavonoid Total

2.6.1 Uji Kadar Flavonoid Total

Penentuan kadar flavonoid total berdasarkan parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI, 2000) menggunakan metode kolorimetri aluminium klorida dengan pengukuran absorbansi secara spektrofotometri. Metode ini melibatkan pembentukan kompleks antara flavonoid dan $AlCl_3$. $AlCl_3$ membentuk kompleks yang stabil dengan gugus keto C_4 dan gugus hidroksil dari C_3 atau C_5 pada flavon dan flavonol. Banyaknya kompleks yang terbentuk diketahui dari hasil pengukuran spektrofotometer UV-Vis. Hukum Lambert-Beer menyatakan perbandingan lurus antara absorbansi dan kadar analit (Cahyanta, 2016).

Spektrum flavonoid biasanya ditentukan dalam larutan dengan pelarut metanol atau etanol. Spektrum khas flavonoid terdiri atas dua maksimal pada rentang 230 - 295 nm (pita II) dan 350 - 560 nm (pita I) (Neldawati, 2013).

2.7 Uji Sitotoksitas

2.7.1 MTT Assay

Uji sitotoksik adalah uji toksisitas secara *in vitro* menggunakan kultur sel yang digunakan 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, 2000; Anggriati, 2008).

Parameter yang digunakan untuk uji sitotoksik yaitu nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel. Nilai IC₅₀ dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar harga IC₅₀ maka senyawa tersebut semakin tidak toksik. Senyawa sitotoksik adalah senyawa yang bersifat toksik pada sel (Djajanegara dan Wahyudi, 2009).

Dua metode umum yang digunakan untuk uji sitotoksik adalah metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan biru tripan (*trypan blue*) dan metode MTT assay. Uji MTT assay 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 yang masih hidup. Kristal formazan ini memberi warna ungu yang dapat dibaca absorbansinya dengan menggunakan ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) *Plate Reader* (Freshney, 2000; Junedy, 2005).

2.8 Ekstraksi

2.8.1 Pengertian Proses Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan suatu komponen atau zat aktif sebuah sampel dengan pelarut tertentu. Metode ekstraksi senyawa dipengaruhi oleh faktor sifat kandungan zat aktif atau kelarutan dalam pelarut. Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam pelarut non polar (Amalina, 2008; Fahri, 2010). Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi adalah pelarut non polar (n-heksan), pelarut semi polar (diklorometan atau etil asetat) dan pelarut polar (metanol atau etanol) (Fahri, 2010).

Dalam proses ekstraksi, terjadi peristiwa difusi pelarut ke dalam sel bahan. Pelarut yang masuk ke dalam sel bahan tersebut akan melarutkan senyawa bila kelarutan senyawa yang diekstrak sama dengan pelarut. Dengan cara tersebut akan tercapai kesetimbangan antara zat terlarut dan pelarut. Pengeluaran bahan aktif dari bahan tergantung kepada laju difusi substansi dari serbuk bahan ke dalam pelarut, waktu kontak dan laju pelarut menembus bahan. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi kecepatan ekstraksi, yaitu penanganan pendahuluan, lama ekstraksi, suhu dan tipe pelarut yang digunakan (Nurmillah, 2009).

Pelarut yang digunakan pada saat ekstraksi harus memenuhi syarat tertentu yaitu tidak toksik, tidak meninggalkan residu, harganya murah, tidak korosif, aman dan tidak mudah meledak (Nurmillah, 2009).

2.8.2 Pengertian Proses Maserasi

Maserasi berasal dari bahasa Latin, *macerare*, yang artinya merendam. Maserasi merupakan proses penyarian dengan cara merendam sampel menggunakan pelarut sampai dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Dalam proses maserasi, sampel yang akan di ekstraksi ditempatkan pada wadah atau bejana, bejana ditutup rapat dan isinya dikocok

berulang-ulang. Maserasi biasanya dilakukan dalam waktu tiga hari sampai bahan-bahan yang larut melarut (Amalina, 2008).

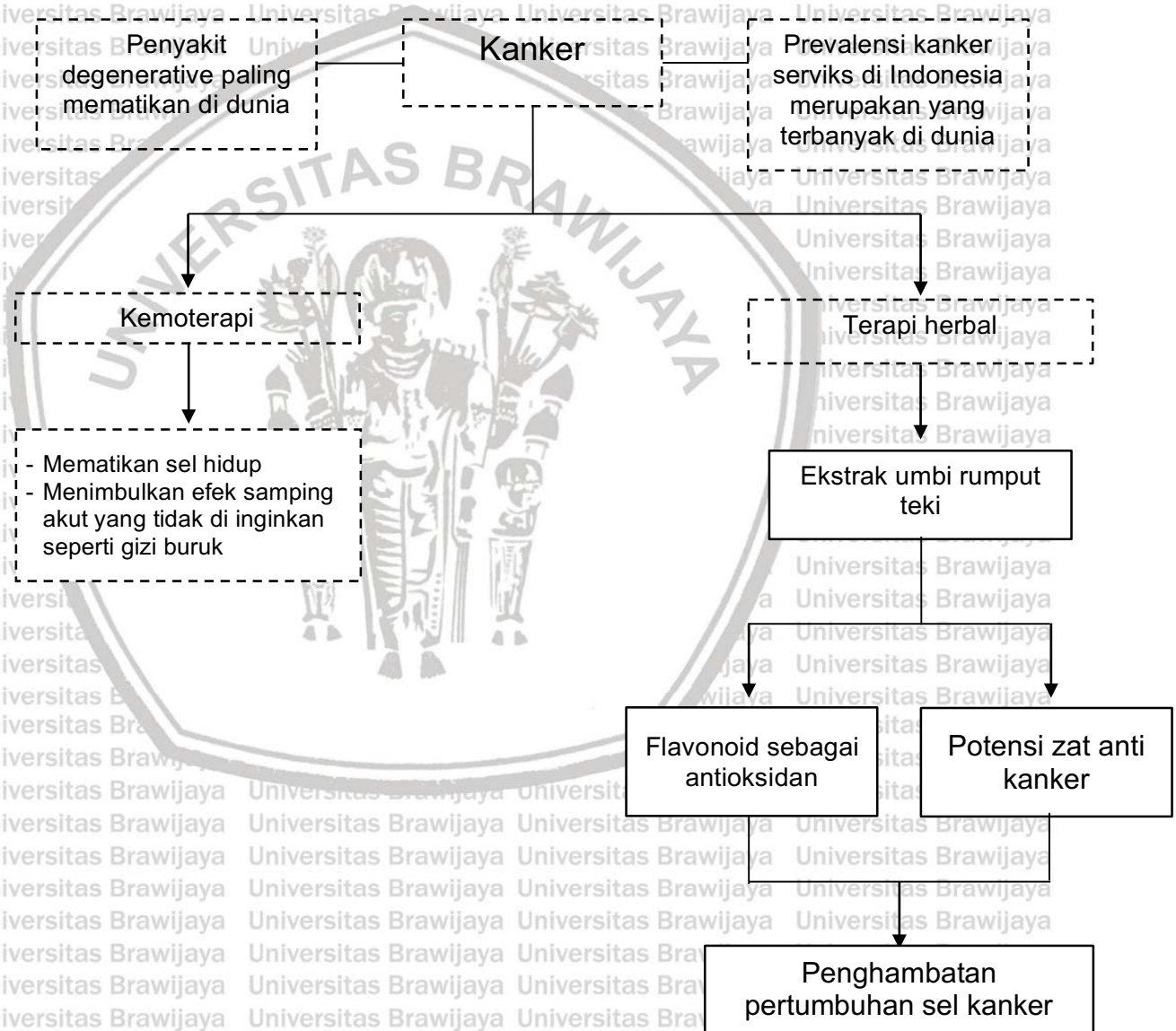
Maserasi adalah salah satu jenis metoda ekstraksi dengan sistem tanpa pemanasan atau dikenal dengan istilah ekstraksi dingin, jadi pada metoda ini pelarut dan sampel tidak mengalami pemanasan sama sekali. Sehingga maserasi merupakan teknik ekstraksi yang dapat digunakan untuk senyawa yang tidak tahan panas ataupun tahan panas (Hamdani, 2014). Maserasi merupakan cara penyarian yang mudah dan sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari (Afifah, 2012).

Rotary evaporator adalah alat yang digunakan untuk mengefisienkan serta mempercepat pemisahan pelarut dari suatu larutan. Alat ini menganut prinsip vakum destilasi, dimana tekanan akan menurun dan pelarut akan menguap dibawah titik didihnya. *Rotary evaporator* mampu menguapkan pelarut dibawah titik didih sehingga zat yang terkandung dalam pelarut tersebut tidak rusak karena suhu yang terlalu tinggi (Pengestu, 2011)

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Pola hidup yang tidak sehat membuat tubuh terpapar berlebih oleh radikal bebas, sehingga tubuh membutuhkan peningkatan antioksidan agar dapat mencegah terjadinya penyakit degeneratif. Peningkatan antioksidan bagi tubuh dapat diperoleh dari suplementasi antioksidan eksogen yang dapat digunakan sebagai salah satu cara preventif untuk mencegah terjadinya penyakit-penyakit seperti kanker. Umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) diketahui memiliki kadar antioksidan tinggi, berupa senyawa flavonoid, sehingga dapat diolah sebagai suplementasi atau terapi herbal. Untuk mengetahui kadar flavonoid total serta potensi antikanker yang mungkin terdapat pada umbi rumput teki, dilakukan pengujian terhadap umbi rumput teki sehingga dapat dikonsumsi sebagai suplemen. Setelah didapatkan sampel umbi rumput teki akan dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi lalu di analisa kadar flavonoid totalnya dan di uji sitotoksitasnya terhadap sel kanker HeLa agar dapat diketahui potensinya sebagai anti kanker.

3.3 Hipotesis Penelitian

Hipotesa penelitian ini adalah umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) memiliki potensi sebagai zat anti kanker serta memiliki aktivitas kadar flavonoid tinggi.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *experimental* atau *true experimental design* secara *in vitro* dengan menggunakan sel kanker HeLa sebagai objek penelitian untuk membuktikan ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) mempunyai kandungan senyawa aktif yang berpotensi menjadi zat anti kanker serta menganalisa kadar flavonoid total pada umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*).

4.2 Metode Penelitian dan Tahapan Penelitian

4.2.1 Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Tahap 1

Metode eksperimen untuk membuat ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) dilakukan dengan cara maserasi, yaitu dengan merendam serbuk umbi rumput teki (simplicia) dalam larutan etanol. Selanjutnya dengan menggunakan *evaporator* akan diperoleh ekstrak yang pekat

Tahap 2

Menganalisa kadar flavonoid total yang terkandung dalam ekstrak umbi rumput teki dengan metode kolorimetri yang bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan tinggi

Tahap 3

Menguji sitotoksitas dengan metode MTT Assay yang bertujuan untuk melihat potensi zat anti kanker ekstrak umbi rumput teki, serta untuk mengetahui nilai IC50 yang dimiliki.

4.2.2 Analisa Kadar Flavonoid Total

Penentuan kadar flavonoid total dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri. Berikut ini adalah langkah-langkah pengujian menggunakan alat spektrofotometer ultraviolet:

1. Preparasi sampel

- 1 gram bahan baku di timbang lalu dimasukkan ke dalam labu alas bulat
- Ditambahkan dengan 1,0 ml larutan 0,5% (b/v) hexamethylenetetramine, 20 ml aseton dan 2,0 ml HCl 25% (b/v), refluks selama 2 jam sejak mendidih
- Campuran disaring menggunakan kapas ke dalam labu ukur 100 ml
- Kemudian kapas dibilas dengan aseton, lalu aseton ditambahkan sampai 100 ml dan dikocok sampai homogen
- Dimasukkan 20 ml filtrat ke dalam corong pisah, dan ditambahkan dengan 20 ml air
- Ditambahkan 15 ml etil asetat, dikocok 10 menit

2. Penetapan kadar

- Memasukkan 10 ml fraksi etil asetat ke dalam labu ukur 25 ml
- Menambahkan 1 ml larutan AlCl_3 (2 g dalam 100 ml asam asetat glasial - metanol)
- Menambahkan asam asetat glasial-metanol sampai tanda batas volume

3. Pembuatan larutan blanko

- Memasukkan 10 ml fraksi etil asetat ke dalam labu ukur 25 ml
- Menambahkan asam asetat glasial-metanol sampai tanda batas volume

4. Pengukuran

- Mendinginkan larutan sampel selama 30 menit, kemudian scan antara 300 – 500 nm
- Mengukur absorbansi larutan pada λ maksimum (± 425 nm)

Setelah dilakukan pengujian terhadap ekstrak umbi rumput teki, dilakukan perhitungan persentase flavonoid dengan rumus:

$$\% \text{ Flavonoid} = \text{absorbansi sampel} \times 1,25 \text{ per gram sampel}$$

Keterangan:

A = Absorbansi Sampel

g = berat kering sampel dalam gram = $(100 - KA) \% \times W$

KA = susut pengeringan (% b/b)

W = berat sampel sesuai dengan penimbangan dalam gram

4.2.3 Uji Sitotoksisitas dengan metode MTT Assay

Metode MTT merupakan metode kolorimetrik, dimana pereaksi MTT [(3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) yang merupakan garam tetrazolium dapat dipecah menjadi kristal formazan oleh sistem yang terdapat dalam jalur respirasi pada sel mitokondria yang aktif pada sel hidup. Kristal formazan ini memberi warna ungu yang dapat dibaca absorbansinya dengan menggunakan *Microplate Reader* atau dengan *ELISA Reader*.

Metode MTT dapat digunakan untuk mengevaluasi sel yang hidup berdasarkan aktivitas enzim yang dapat diukur secara kolorimetri. Metode ini cepat, sensitif, dan akurat. MTT dapat digunakan untuk estimasi sel hidup (baik yang membelah maupun tidak), aktivitas metabolik, maupun penghambatan yang terjadi di dalam sel. (CCRC, 2013)

Uji sitotoksisitas umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*) menggunakan metode MTT terhadap sel kanker HeLa dengan 6 rentang konsentrasi yaitu dari 31,25 hingga 1000 $\mu\text{g/ml}$, dibandingkan dengan satu kontrol sel yang tidak mendapatkan perlakuan. Uji dilakukan dengan 3 kali pengulangan atau *triplo*, dibaca dengan ELISA Reader dengan panjang gelombang 570 nm.



Terdapat sebanyak 5 tahapan dalam metode MTT ini yaitu penanaman sel, perlakuan sampel pada sel, MTT dan *Stopper*, ELISA Reader serta penghitungan IC50 (CCRC, 2013).

4.2.3.1 Alat dan Bahan

Alat:

- Mikropipet 10 μ l, 100 μ l dan 1000 μ l
- Tabung reaksi kecil
- Rak tabung kecil
- *Conical tube*
- *Yellow tip* dan *blue tip*
- ELISA reader

- 96-well plate

Bahan:

- Media Kultur sel yang mencapai konfluen 80% (sel adheren)
- DMSO sebagai pelarut sampel
- MTT 0,5 mg/mL PBS
- SDS 10% dalam 0,1 N HCl (larutan *stopper*)
- Tissue
- Aluminium Foil
- Phosphat Buffer Saline 1x (CCRC, 2013)

4.2.3.2 Penanaman Sel

1. Sel diambil dari inkubator CO₂, kemudian amati kondisi sel. Kultur sel yang dapat digunakan untuk dipanen adalah yang dalam keadaan 80% konfluen
2. Sel dipanen sesuai dengan protokol panen yang tersedia
3. Jumlah sel dihitung dan dibuat pengenceran sel dengan media kultur yang sesuai dengan kebutuhan sesuai protokol penghitungan sel
4. Sel di pindahkan ke dalam sumuran, dengan masing-masing 100 μ l. Lakukan resuspensi sel setiap kali mengisi 12 sumuran agar sel tetap homogen.
5. Untuk kontrol media, di sisakan 3 sumuran kosong tanpa di isi sel
6. Keadaan sel diamati di mikroskop *inverted* untuk melihat distribusi sel
7. Sel di inkubasi dalam inkubator CO₂ selama semalam

4.2.3.3 Perlakuan Sampel Pada Sel

Perlakuan sel dengan sampel dapat dilakukan setelah sel kembali dalam keadaan normal. Sel dapat di inkubasikan kembali apabila dalam waktu semalam kondisi sel belum kembali pulih

1. Buat seri konsentrasi sampel untuk perlakuan (termasuk untuk kontrol sel dan kontrol DMSO) yang sesuai dengan protokol preparasi sampel

2. *Plate* yang telah berisi sel diambil dari inkubator CO₂

3. Seri konsentrasi sampel dimasukkan ke dalam sumuran (*triplo*)

4. Inkubasi di dalam inkubator CO₂ selama semalam

5. Kondisi sel di dokumentasikan pada setiap perlakuan

6. Media sel dibuang dengan cara *plate* di balik 180° diatas tempat pembuangan dengan jarak 15 cm, kemudian tiriskan sisa cairan dengan cara menekan *plate* secara perlahan di atas tisu makan

7. 100 μ l 1 PBS di masukkan ke dalam semua sumuran yang terisi sel, kemudian buang sisa cairan PBS dengan cara *plate* di balik seperti no.6

4.2.3.4 MTT dan *Stopper*

1. Reagen MTT dipersiapkan untuk perlakuan (0,5 mg/ml) dalam PBS, dengan cara ambil 1 ml stok MTT dan ditambah 10 ml MK (untuk setiap 1 buah 96-well *plate*).

2. Ditambahkan reagen MTT 110 μ l pada setiap sumuran, termasuk kontrol media tanpa sel. Inkubasi sel dilakukan selama 2-4 jam dalam inkubator CO₂ 5% sampai terbentuk formazan.

3. Kondisi sel diperiksa dengan mikroskop *inverted*. Saat formazan sudah terbentuk dengan jelas, ditambahkan *stopper* 100 μ l SDS 10% dalam 0,1 N HCl.



4. *Plate* dibungkus dengan kertas alumunium foil dan di inkubasi di tempat yang gelap pada temperatur kamar selama semalam.

4.2.3.5 ELISA Reader

1. Nyalakan ELISA reader dan tunggu proses *progressing* selesai

2. Pembungkus *plate* dan tutup *plate* dibuka dan di masukkan ke dalam ELISA reader. Baca absorbansi masing-masing sumuran dengan ELISA reader dengan rentang 550-600 nm.

3. Turn off ELISA reader dan simpan serta tempel kertas hasil ELISA

4. Persentase sel hidup dihitung dan dilakukan analisis nilai IC50 dengan menggunakan Excel untuk menentukan regresi linear dari log konsentrasi atau SPSS (Probit/Logit)

4.2.3.6 Perhitungan IC50

1. Lihat apakah absorbansi kontrol pelarut lebih rendah dari kontrol sel atau sama dengan kontrol sel.

- Jika absorbansi kontrol pelarut sama dengan kontrol sel maka hitung prosentase sel hidup dengan rumus berikut:

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

- Jika absorbansi kontrol pelarut lebih rendah dari absorbansi kontrol sel maka hitung persentase sel hidup dengan rumus berikut:

$$\frac{(\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media})}{x100(\text{absorbansi kontrol pelarut} - \text{absorbansi kontrol media})}$$

2. Langkah selanjutnya:

- Buat grafik log konsentrasi vs prosentase sel hidup dengan *chart type scatter* dan *chart subtype compare pairs of values*
- Cari persamaan regresi linier dari grafik tersebut
- Lihat parameter r pada persamaan regresi linier. Jika r lebih besar dari r tabel maka persamaan regresi linier memenuhi standar untuk mencari IC50
- Masukkan y = 50% pada persamaan regresi linier dan cari nilai x kemudian hitung antilog dari konsentrasi tersebut hingga diperoleh IC50

3. Perhitungan IC50 dapat juga dilakukan dengan menggunakan SPSS analisis Probit dengan konsentrasi adalah variabel bebas dan persen viabilitas adalah variabel tergantung, sehingga diperoleh nilai IC50. (CCRC, 2013)

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas (Independent Variable)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak umbi rumput teki (*Cyperus rotundus L.*)

4.3.2 Variabel Terkait (Dependent Variable)

Variabel terkait dalam penelitian ini adalah kadar flavonoid total serta nilai IC50

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1 Lokasi Penelitian

- Pembuatan ekstrak umbi rumput teki dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang
- Uji Sitotoksitas dengan metode MTT Assay dilaksanakan di Laboratorium Kultur Sel LAPTIAB BPPT Serpong, Tangerang
- Analisa Kadar Flavonoid Total dilaksanakan di Unit Layanan Pengujian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya

4.4.2 Waktu Penelitian

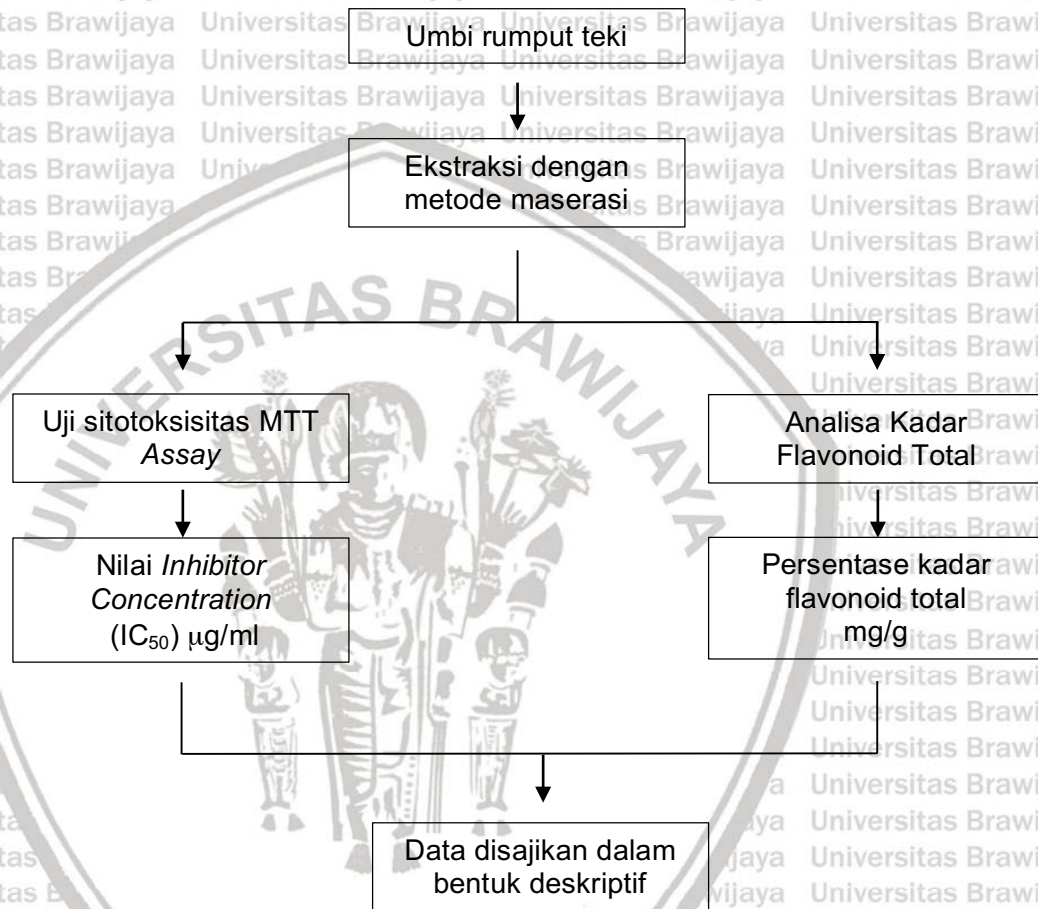
Penelitian ini dimulai pada bulan April 2018 sampai bulan November 2018.

4.5 Definisi Operasional

Nama Variabel	Definisi	Alat Ukur	Hasil	Skala
Ekstrak umbi rumput teki	Merupakan hasil ekstraksi dengan metode maserasi dan pelarut etanol	-	-	-
Aktivitas antikanker	Merupakan nilai besarnya potensi ekstrak umbi rumput teki dalam menghambat pertumbuhan sel kanker HeLa	Uji sitotoksitas dengan metode MTT Assay	µg/ml	Rasio
Kadar Flavonoid Total	Merupakan nilai kadar flavonoid total dalam kemampuannya sebagai antioksidan	Metode spektrofotometri	g/mg	Rasio

4.6 Prosedur Penelitian

4.7.1 Alur Prosedur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Prosedur Penelitian

BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Penelitian terkait analisis kadar flavonoid total dan uji sitotoksitas ekstrak umbi rumput teki terhadap sel kanker HeLa secara *in vitro* dilakukan selama 3 bulan yaitu pada akhir bulan Agustus 2018 hingga November 2018. Penelitian dilakukan di Unit Layanan Pengujian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya dan di Laboratorium Kultur Sel LAPTIAB BPPT Serpong, Tangerang.

5.1 Uji kadar flavonoid

Umbi rumput teki yang sudah melewati proses ekstraksi dengan metode maserasi kemudian di uji kadar flavonoidnya dengan metode spektrofotometri. Metode pengujian spektrofotometri digunakan untuk menganalisis kandungan total senyawa flavonoid pada ekstrak umbi rumput teki. Prinsip dari metode pengujian ini adalah pengukuran daya serapan radiasi elektromagnet pada sampel yang diujikan dengan panjang gelombang tertentu. Radiasi yang dihasilkan oleh alat ini berupa radiasi sinar ultraviolet. Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak umbi rumput teki dari pengujian dengan metode spektrofotometri UV-Vis, didapatkan hasil berupa data secara kuantitatif.

No.	Parameter	Metode + BD	Hasil (Rerata ± RPD)
1.	Flavonoid	Spektrofotometri	(0,13 ± 0,2%)

*RPD = *Relative Percent Difference*

Perhitungan sampel dilakukan dengan rumus berikut:

$$\% \text{ Flavonoid} = \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{g sampel}} \times 1,25 \text{ per gram sampel}$$

g sampel	Absorbansi	% Flavonoid
1.0256	0.104260	0.127

1.0264	0.104090	0.127
Rerata		0.13
Δx		0.000306
RPD		0.2

5.2 Uji Sitotoksisitas pada Sel HeLa dengan metode MTT Assay

Ekstrak umbi rumput teki kemudian di uji sitotoksik terhadap sel kanker HeLa dengan menggunakan metode MTT Assay untuk mengetahui potensi senyawa antikanker. Data kemudian dianalisa secara *in vitro*. Uji sitotoksisitas ekstrak umbi rumput teki dengan metode MTT Assay kemudian dibaca absorbansinya menggunakan ELISA Reader dengan panjang gelombang 570 nm. Absorbansi kemudian digunakan untuk menghitung persen penghambatan proliferasi pada sel kanker serviks (HeLa). Uji sitotoksik dilakukan dengan 5 rentang konsentrasi yaitu dari 31,25 µg/ml hingga 500 µg/ml. Pengujian dilakukan secara triplo atau dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Hasil uji sitotoksisitas ekstrak umbi rumput teki terlihat pada tabel 5.3.

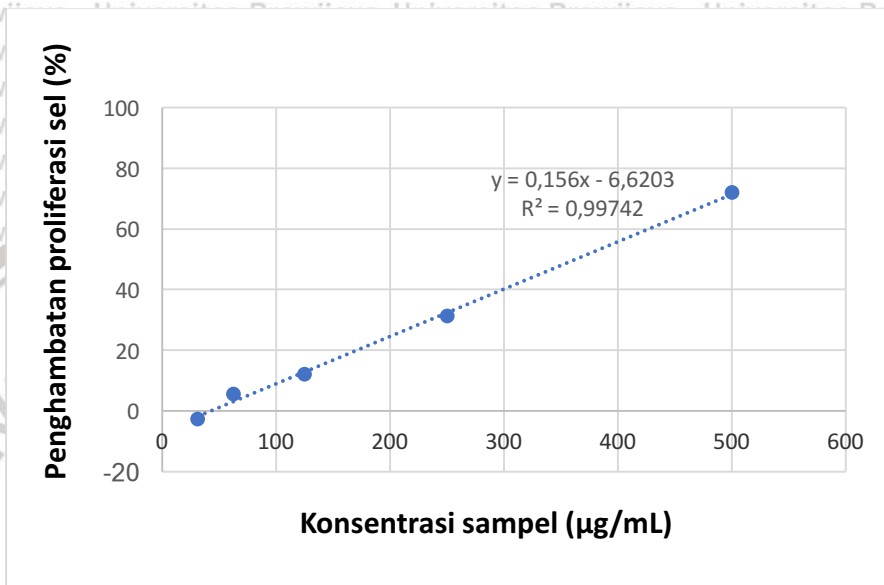
Tabel 5.3 Hasil Penghambatan Proliferasi Ekstrak Umbi Rumput Teki Terhadap Sel HeLa

Konsentrasi (µg/ml)	%PP 1	%PP2	%PP3	Rata-rata	SD
31,25	-2,826	-5,014	-0,365	-2,735	2,326
62,5	7,019	9,480	0,182	5,561	4,818
125	14,403	6,746	14,950	12,033	4,587
250	28,350	33,820	31,632	31,267	2,753
500	68,004	69,918	77,849	71,923	5,220

Keterangan: PP= Penghambatan Proliferasi SD= Standar Deviasi

Dari hasil uji diketahui bahwa penghambatan proliferasi tertinggi diperoleh pada perlakuan sampel 500 µg/ml yaitu sebesar 71,923% dan berdasarkan data konsentrasi dan penghambatan proliferasi tersebut dapat dibuat kurva regresi linier

untuk melakukan proses perhitungan nilai IC_{50} . Hasil yang didapatkan yaitu nilai R^2 sebesar 0,9974.



Gambar 5.1 Kurva Regresi Linier Dari Konsentrasi Ekstrak Umbi Rumput Teki serta Persentase Penghambatan Proliferasi Sel HeLa

Dari persamaan regresi linier kemudian dihitung nilai IC_{50} (*inhibitory concentration 50*) yaitu nilai konsentrasi dari ekstrak umbi rumput teki yang mampu menghambat sebanyak 50% proliferasi sel kanker serviks atau sel HeLa. Cara menentukan nilai IC_{50} adalah dengan rumus berikut:

$$Y = mx + c$$

Keterangan	m	c	y	IC_{50} (µg/ml)
Ekstrak umbi rumput teki	0,156	-6,6203	50	362,95064

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Analisa Kadar Flavonoid Total

Pengujian spektrofotometri UV-Vis dilakukan untuk menganalisis senyawa flavonoid yang terdapat pada sampel umbi rumput teki yang sudah melalui proses ekstraksi dengan etanol. Penentuan kadar flavonoid total dilakukan dengan menggunakan standar kuersetin. Penggunaan standar kuersetin dalam pengujian dengan metode pengujian spektrofotometri UV-Vis dikarenakan kuersetin umumnya merupakan senyawa flavonol dari golongan flavonoid terbanyak dalam suatu tanaman (Ramadhan, 2015). Dalam proses pengujian spektrofotometri UV-Vis, dilakukan beberapa tahapan meliputi preparasi sampel, penetapan kadar, dan pembuatan larutan blanko. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi maksimum dari sampel ekstrak umbi rumput teki pada rentang panjang gelombang 300 – 500 nm. Pada pengujian ini dilakukan pengulangan sebanyak dua kali pada sampel ekstrak. Dari pengukuran yang sudah dilakukan tersebut, diperoleh panjang nilai absorbansi dan gelombang maksimum sebesar 425 nm. Nilai absorbansi dari ekstrak tersebut digunakan untuk perhitungan persentase flavonoid. Dari nilai absorbansi yang didapat, dikalikan dengan konstanta 1,25/g sampel. Rumus perhitungan nilai konstanta merupakan metode pengembangan dari ULP Unair untuk menetapkan kadar flavonoid total dengan standar kuersetin. Berikut adalah hasil pengujian spektrofotometri UV-Vis.

Tabel 6.1 Hasil Pengujian Spektrofotometri UV-Vis

No	Nama Sampel	Berat sampel	Absorbansi	%Flavonoid	Rata-rata%
1	Flavon 11-274a	1,0256 g	0,104260	0,127	0,13
2	Flavon 11-274b	1,0264 g	0,104090	0,127	

Keterangan: Flavon= ekstrak umbi rumput teki. a=pengujian pertama dan b=pengujian kedua

Dari Tabel 6.1 diperoleh data berupa nilai absorbansi, persentase kadar flavonoid (%Flavonoid), dan nilai rata-rata persentase kadar flavonoid %flavonoid dari ekstrak umbi rumput teki. Sampel pertama dengan nilai berat sampel sebesar 1,0256 gram memiliki nilai absorbansi sebesar 0,104260 dan %flavonoid sebesar 0,127 sedangkan sampel kedua dengan nilai berat sampel sebesar 1,0264 gram memiliki nilai absorbansi sebesar 0,104090 dan %flavonoid sebesar 0,127. Dari data tersebut diperoleh nilai rata-rata %flavonoid kedua sampel adalah sebesar 0,13%. Persentase kadar flavonoid total dari ekstrak umbi rumput teki dikonversi menjadi satuan mg/gram, yaitu sebesar 1,3 mg/g.

Penelitian sebelumnya dilakukan oleh Syafrida, dkk (2018) yang turut menguji kadar flavonoid total umbi rumput teki dengan metode serupa yaitu dengan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 434,2 nm. Kandungan flavonoid sampel diperoleh berdasarkan hasil perhitungan dari kurva standar kuersetin. Sampel umbi rumput teki yang diuji didapatkan dari hasil proses pengeringan. Dari penelitian tersebut diketahui bahwa kadar flavonoid total pada daun umbi rumput teki sebesar 4,94 mg/g dan kadar flavonoid total pada umbi rumput teki sebesar 0,27 mg/g. Kandungan flavonoid total pada daun rumput teki lebih besar daripada kandungan flavonoid total pada umbi rumput teki. Hal ini disebabkan karena proses biosintesis senyawa fenolik paling banyak terjadi pada sitoplasma daun (Hernawan dan Setiawan, 2003). Flavonoid memiliki struktur dasar fenol karena merupakan golongan polifenol yang senyawanya

memiliki sifat mudah teroksidasi dan sensitif terhadap perlakuan panas sehingga dengan adanya suhu dari proses pengeringan yang dilakukan pada penelitian tersebut akan mempengaruhi kadar flavonoid yang terkandung pada sampel rumput teki yang diuji. Kandungan senyawa flavonoid akan menurun seiring peningkatan suhu karena terjadinya dekomposisi fenol yang mempengaruhi kandungan flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki sifat tidak tahan terhadap suhu (Syafarina, dkk, 2017). Kadar flavonoid total umbi rumput teki yang melalui proses pengeringan lebih rendah dari kadar flavonoid total ekstrak umbi rumput teki yang melalui proses ekstraksi dengan etanol. Hal ini dapat disebabkan karena tinggi dan rendahnya senyawa fitokimia dipengaruhi oleh polaritas pelarut pada proses ekstraksi. Dari penelitian yang dilakukan oleh Pangestuti, dkk (2017) diketahui bahwa pelarut etanol serta pelarut yang bersifat polar cenderung lebih efektif dalam menarik senyawa fitokimia. Penggunaan etanol dalam proses ekstraksi bertujuan agar kandungan tumbuhan dapat tersari dengan sempurna. Hal tersebut dikarenakan etanol adalah suatu pelarut polar golongan alkohol yang mampu menyari sebagian besar kandungan kimia dari suatu tanaman. Senyawa flavonoid umumnya terdapat dalam bentuk glikosida yang bersifat polar sehingga harus dilarutkan dengan pelarut yang bersifat polar. Selain itu pula, proses ekstraksi dengan metode maserasi merupakan suatu metode yang sederhana tanpa melalui proses pemanasan, sehingga kemungkinan rusaknya komponen senyawa kimia dapat diminimalisir.

6.2 Uji Sitotoksisitas Ekstrak Umbi Rumput Teki pada Sel HeLa dengan Metode MTT Assay

Prinsip dari metode MTT Assay adalah sistem reduktase mereduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid). Pembentukan Kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air tetapi larut dengan penambahan reagen *stopper* yang bersifat detergenik oleh suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel hidup (CCRC, 2009). Konsentrasi yang dapat menghambat 50% dari sel kanker disebut

dengan nilai IC_{50} . Semakin kecil nilai IC_{50} menandakan bahwa sampel yang diujikan tersebut menjadi semakin toksik,

Aktivitas sitotoksik dibagi menjadi tiga berdasarkan nilai IC_{50} yaitu $IC_{50} < 100 \mu\text{g/ml}$ merupakan sitotoksik potensial, $IC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ adalah sitotoksik moderat dan tidak memiliki aktivitas sitotoksik jika $IC_{50} > 1000 \mu\text{g/ml}$ (Prayong et al., 2008). Senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik yang potensial dapat digunakan sebagai senyawa antikanker dan senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik moderat digunakan untuk mencegah atau menghambat sel kanker atau sebagai kemoprevensi (Tussanti and Johan, 2014). Terdapat data lain berdasarkan U.S. *National Cancer Institute* (NCI) yang kemudian menegaskan bahwa suatu ekstrak kasar dianggap memiliki aktivitas sitotoksitas yang sangat aktif apabila memiliki nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/ml}$, dan lemah apabila nilai $IC_{50} > 100 \mu\text{g/ml}$. (NCI, 2009).

Diketahui bahwa ekstrak umbi rumput teki yang telah diuji memiliki nilai sitotoksitas terhadap sel kanker serviks (HeLa) setelah di analisis dengan metode MTT Assay dengan menumbuhkan sel kanker serviks pada 96 *well plate* dan diinkubasi selama 24 jam. Didapatkan hasil yang menunjukkan bahwa penghambatan proliferasi paling tinggi terjadi pada konsentrasi 500 $\mu\text{g/ml}$ yaitu sebesar 71,923% sedangkan nilai IC_{50} diketahui sebesar 362,95064 $\mu\text{g/ml}$. Apabila data tersebut dibandingkan dengan referensi yang dimiliki, maka dapat diketahui bahwa ekstrak umbi rumput teki yang telah diuji sitotoksitas dengan metode MTT Assay memiliki nilai IC_{50} sebesar 362,95064 $\mu\text{g/ml}$ yang berarti bahwa ekstrak tersebut memiliki kemampuan aktivitas sitotoksik moderat dengan aktivitas yang relatif lemah namun tetap dapat digunakan untuk mencegah atau menghambat sel kanker ataupun bertindak sebagai kemoprevensi. Hal ini mungkin terjadi karena penggunaan etanol yang mampu mengambil senyawa-senyawa polar maupun non-polar pada proses ekstraksi yang membantu menghasilkan nilai IC_{50} yang cukup bagus.

Aktivitas sitotoksik ekstrak umbi rumput teki terhadap sel kanker HeLa dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekunder yaitu flavonoid kuersetin.

metabolit sekunder flavonoid berpotensi sebagai agen antikanker yang memiliki berbagai mekanisme seperti inaktivasi zat karsinogenik, antiproliferasi, menghentikan siklus sel, menginduksi apoptosis, dan menghambat angiogenesis.

Flavonoid dapat menghambat pertumbuhan sel kanker dengan menghambat sintesis enzim topoisomerase yang berperan penting pada sintesis dan replikasi DNA sel kanker. Mekanisme inilah yang diperkirakan terjadi pada penghambatan sel hidup sel kanker HeLa yang mengalami mutasi protoonkogen menjadi onkogen akibat infeksi virus HPV sehingga pertumbuhan sel kanker tidak terkendali (Ren *et al*, 2003; Khanam *et al*, 2012; Mutiah *et al*, 2018).

6.3 Keterbatasan Penelitian

Dalam penelitian analisa kadar flavonoid total ekstrak umbi rumput teki serta uji sitotoksisitas ini terdapat beberapa kendala dan keterbatasan. Keterbatasan berupa pengerjaan uji sitotoksisitas dan analisa kadar flavonoid total yang bukanlah suatu kompetensi utama di bidang gizi, sehingga memerlukan bantuan dari pihak yang lebih berkompeten untuk melakukan uji-uji terkait di laboratorium. Sedangkan hal terkait yang dapat dimaksimalkan oleh peneliti adalah pengolahan data yang sudah didapatkan serta mencari variable dan masalah-masalah yang mungkin dapat diujikan. Agar dapat memastikan bahwa data yang dikeluarkan dari hasil penellitian ini dapat memenuhi validitas, perlu diadakan penelitian atau uji validitas lebih lanjut.

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Dari hasil analisis data pada penelitian ini diketahui bahwa ekstrak umbi rumput teki yang telah melalui proses ekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol, memiliki kadar flavonoid dan berpotensi menjadi senyawa antikanker moderat atau lemah dalam penghambatan pertumbuhan sel kanker HeLa. Diketahui bahwa ekstrak umbi rumput teki yang telah diuji memiliki nilai sitotoksitas terhadap sel kanker serviks (HeLa) setelah di analisis dengan metode MTT Assay dengan menumbuhkan sel kanker serviks pada 96 well plate dan diinkubasi selama 24 jam. Didapatkan hasil yang menunjukkan bahwa penghambatan proliferasi paling tinggi terjadi pada konsentrasi 500 µg/ml yaitu sebesar 71,923% sedangkan nilai IC₅₀ diketahui sebesar 362,95064 µg/ml. Aktivitas sitotoksik ekstrak umbi rumput teki terhadap sel kanker HeLa dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekunder yaitu flavonoid kuersetin. metabolit sekunder flavonoid berpotensi sebagai agen antikanker yang memiliki berbagai mekanisme seperti inaktivasi zat karsinogenik, antiproliferasi, menghentikan siklus sel, menginduksi apoptosis, dan menghambat angiogenesis. Flavonoid dapat menghambat pertumbuhan sel kanker dengan menghambat sintesis enzim topoisomerase yang berperan penting pada sintesis dan replikasi DNA sel kanker. Mekanisme inilah yang diperkirakan terjadi pada penghambatan sel hidup sel kanker HeLa yang mengalami mutasi protoonkogen menjadi onkogen akibat infeksi virus HPV sehingga pertumbuhan sel kanker tidak terkendali. Sehingga ekstrak sampel tersebut dapat menjadi alternatif pengobatan kanker karena dapat bertindak sebagai kemoprevensi.

7.2 Saran

Dengan hasil tersebut penelitian ini dapat dikembangkan:

1. Penambahan uji lainnya untuk mendukung efektivitas ekstrak umbi rumput teki sebagai zat antikanker seperti pengujian kandungan fitokimia lainnya (alkaloid, saponin, tannin)

2. Pengujian ekstrak umbi rumput teki dengan pelarut dengan tingkat polar lainnya seperti methanol
3. Pengujian ekstrak umbi rumput teki pada sel kanker lain
4. Pengujian ekstrak rumput teki dengan menggunakan daun rumput teki atau bagian tumbuhan lainnya



DAFTAR PUSTAKA

Achyad, D.E. dan Rasyidah, R. 2000, *Teki Cyperus rotundus L.*, PT. Asiamaya Dotcom Indonesia, Jakarta.

Anggrianti, P., 2008. *Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Kemukus (Piper cubeba L.) Terhadap Sel HeLa*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.

Astawan, Made. 2009. *Sehat dengan Hidangan Kacang dan Biji-bijian*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Apsari, Pramudita Dwi., & Susanti, H. 2011. Penetapan kadar fenolik total ekstrak metanol kelopak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa Linn*) dengan variasi tempat tumbuh secara spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2(1), 73-80.

Barnes, J., Anderson L. A., and Philipson J. D., 1996, *Herbal Medicine*, 2 edition,

Cahyanta, Agung Nur. 2016. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Pare Metode Kompleks Kolori dengan Pengukuran Absorbansi secara Spektrofotometri. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol. 5 (1) : 58 - 61.

Foodreview Indonesia, 2013. *Freeze Drying Technology : for Better Quality & Flavor of Dried Products.* , VIII(2), pp.52–57.

Freshney, R.I., 1986, *Animal Cell Culture, A Practical Approach, 1st ED*, IRL Press, Washington D.C.

Freshney, R.I., 2000. *Culture of Animal Cells : A Manual of Basic Technique*, Wiley-Liss Inc. New York.

Hagerman A.E. (2002). *Tannin Handbook*. Department of Chemistry and Biochemistry. Miami University

Herbert, R. B. (1995). Biosintesis metabolit Sekunder, Edisi Kedua Press.

Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., Williamson, E.M., 2010. Farmakognosi dan Fitoterapi (Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy). Dialih bahasakan oleh Winny R. Syarif, dkk. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC

Kappel, H. 2011. *Henrietta Lacks and Her 'Immortal' Cells*. Darthmouth Undergraduated Journal of Science, (May), pp. 12-13.

KEMENKES. Buletin Kanker. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI 2015. 2015.

Khanam U.K.S., Oba S., 2012, Bioactive Substances in Leaves of Two Amaranth Species, *Amaranthus tricolor* and *A.hypochondriacus*, Canadian Journal Of Plant Science, 9 (3), 47-58.

Khotimah, K., 2004. Uji sitotoksitas dan antiproliferasi fraksi petroleum eter dan fraksi ethanol kulit batang kamboja (*Plumeria acuminata*) terhadap sel HeLa. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.

King, R. J. B., 2000, *Cancer Biology*, Second Edition, Person Education Limited, London

Lawal, Oladipupo A and Adebola, O Oyedei. 2009. Chemical Composition Of The Essential Oils Of *Cyperus Rotundus* L. From South Africa. *Journal Molecules* 14], ISSN 1420- 3049, Agustus, 2009. p 2910-2911

Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida. Departemen Kimia FMIPA USU, Medan.

Mutiah R., Suryadinata A, Nurani P.S., 2018. Uji Sitotoksik Kombinasi Cisplatin dengan Ekstrak Etanol Benalu Alpukat (*Dendrophthoe pentandra*) pada Sel HeLa, *Majalah Kesehatan*, 5 (3), 133-143.

Molyneux P., (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, Songklanakarin J. Sci. Technol., 26 (2) : 211-219.

Neldawati, Ratnawulan dan Gusnedi. 2013. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Pillar of Physics*. Vol. 2 : 76 - 83.

Nurjanah, Izzati, L., Abdullah, A. (2011). Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen sp.*). Ilmu Kelautan. Vol.16 (3): 119-124.

Ramadhan, P. (2015). Mengenal Antioksidan. Yogyakarta: Graha Ilmu.

Ren W., Qiao Z., Wang H., Zhang L., Zhu L., 2003, Flavonoids : Promising Anticancer Agents, *Medicinal Research Review*, 20 (4), 519-534.

Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS). (2013). Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI tahun 2013

Santosa H.M., Budiati, A.S., Fuad, A., Kusumawati, I., (1998). Pengujian Antiradikal Bebas Difenilpicril Hidrazil (DPPH) Ekstrak *Graptophyllum pictum* (L). Griff. Secara Spektrofotometri, Seminar Nasional Tumbuhan Obat XIII, Malang.

Setiawan S.D., 2015, The Effect Of Chemotherapy In Cancer Patient to Anxiety, *J Majority*, 4 (4), 94–99.

Sudarsono, Pujirianto, A. Gunawan, D. Wahyono, S. Donatus, I.A, Drajad, M. Wibowo dan Ngatidjan. 1996. Tumbuhan Obat, Hasil Penelitian, Sifat-Sifat dan Penggunaan. Pusat Penelitian Obat Tradisional (PPOT UGM). Yogyakarta. p 112-117

Syafarina, M., Irfham, T., Edyson. 2017. Perbedaan Total Flavonoid antara Tahapan Pengeringan Alami dan Buatan pada Ekstrak Daun Binjai



(*Mangifera caesia*). Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Univ. Lambung Mangkurat, Banjarmasin.

Yuhernita, Juniarti. (2011). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Surian Yang Berpotensi Sebagai Antioksidan, Makara Sains, 15(1): 48-52.

