

**UJI SITOTOKSISITAS  
FRAKSI-FRAKSI HASIL PEMISAHAN  
*CRUDE EXTRACT* DAUN KITOLOD (*Isotomalongiflora*L.)  
TERHADAP *CELL LINE* KANKER KOLON WiDr**

**Skripsi  
Untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai derajat Sarjana S-1**



**Luluk Magfiroh  
11630002**

**Kepada**

**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI SUNAN KALIJAGA  
YOGYAKARTA  
2015**

**SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR**

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir

Lamp :-

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

di Yogyakarta

*Assalamu 'alaikum wr. wb.*

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk, dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Luluk Magfiroh

NIM : 11630002

Judul Skripsi : Uji Sitotoksitas Fraksi-Fraksi Hasil Pemisahan *Crude Extract* Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* Linn) Terhadap *Cell Line* Kanker Kolon WiDr

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Program Studi Kimia.

Dengan ini kami mengharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut diatas dapat segera dimunaqasyahkan. Atas perhatiannya kami menyampaikan terimakasih.

*Wassalamu 'alaikum wr. wb.*

Yogyakarta, 23 November 2015

Pembimbing,



Esti Wahyu Widowati, M.Si., M.Biotech  
NIP. 19760830 200312 2 001



## NOTA DINAS KONSULTAN

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir

Kepada  
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta  
di Yogyakarta

*Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk, dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : Luluk Magfiroh  
NIM : 11630002  
Judul Skripsi : Uji Sitotoksitas Fraksi-Fraksi Hasil Pemisahan *Crude Extract* Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* Linn) Terhadap *Cell Line* Kanker Kolon WiDr

sudah benar dan sesuai ketentuan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam bidang Kimia.

Demikian kami sampaikan. Atas perhatiannya, kami ucapkan terima kasih.  
*Wassalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Yogyakarta, 23 Desember 2015  
Konsultan,

Miranda Adihimawati, M.Sc



## NOTA DINAS KONSULTAN

Hal : Persetujuan Skripsi/Tugas Akhir

Kepada  
Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi  
UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta  
di Yogyakarta

*Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk, dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami berpendapat bahwa skripsi Saudara:

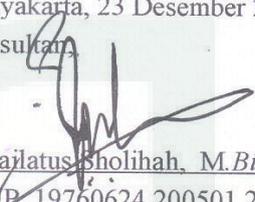
Nama : Luluk Magfiroh  
NIM : 11630002  
Judul Skripsi : Uji Sitotoksitas Fraksi-Fraksi Hasil Pemisahan *Crude Extract* Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* Linn) Terhadap *Cell Line* Kanker Kolon WiDr

sudah benar dan sesuai ketentuan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam bidang Kimia.

Demikian kami sampaikan. Atas perhatiannya, kami ucapkan terima kasih.

*Wassalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Yogyakarta, 23 Desember 2015  
Konsultan

  
Jumalatus Sholihah, M.Biotech  
NIP. 19760624 200501 2 007

**SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Luluk Magfiroh  
NIM : 11630002  
Jurusan : Kimia  
Fakultas : Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya yang berjudul :

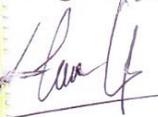
**Uji Sitotoksisitas Fraksi-Fraksi Hasil Pemisahan *Crude Extract* Daun Kitolod  
(*Isotoma longiflora* Linn) Terhadap *Cell Line* Kanker Kolon WiDr**

Adalah asli hasil penelitian saya sendiri dan bukan plagiasi hasil karya orang lain.

Yogyakarta, 24 Nopember 2015

Yang menyatakan



  
Luluk Magfiroh  
NIM. 11630002



**PENGESAHAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR**

Nomor : UIN.02/D.ST/PP.01.1/006/2016

Skripsi/Tugas Akhir dengan judul : Uji Sitotoksitas Fraksi-Fraksi Hasil Pemisahan *Crude Extract* Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L.) Terhadap *Cell Line* Kanker Kolon WiDr

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :  
Nama : Luluk Magfiroh  
NIM : 11630002  
Telah dimunaqasyahkan pada : 15 Desember 2015  
Nilai Munaqasyah : A-  
Dan dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga

**TIM MUNAQASYAH :**

Ketua Sidang

Esti Wahyu Widowati, M.Si, M.Biotech  
NIP.19760830 200312 2 001

Penguji I

Miranda Adihimawati, M.Sc.

Penguji II

Jumailatus Solimah, M. Si.  
NIP. 19760624 200501 2 007

Yogyakarta, 4 Januari 2016

UIN Sunan Kalijaga  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Dekan



Dr. Maizer Said Nahdi, M.Si.  
NIP. 19550427 198403 2 001

## MOTTO

Jika kau tidak tahan lelahnya belajar,  
maka kau akan menanggung perihnya kebodohan

(Imam Syafi'i)

seberapa besar usaha kita, sebesar itulah hasil yang kita peroleh

(Luluk Magfiroh)



## HALAMAN PERSEMBAHAN

*Sebagai rasa syukur kepada Allah SWT,*

*kupersembahkan karya ini untuk :*

*Alm. Ayahanda dan*

*Ibunda tercinta,*

*Keluargaku tersayang*

*Teman-teman seperjuanganku,*

*Serta*

*Almamater prodi KIMIA*

*UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta,*

*PP Wahid Hasyim Yogyakarta, dan*

*PP Darul 'Ulum Jombang*

## KATA PENGANTAR

Segala puji bagi *Rabbul'alamin* yang telah memberi kesempatan dan kekuatan sehingga skripsi yang berjudul “**Uji Sitotoksisitas Fraksi-Fraksi Hasil Pemisahan Crude Extract Daun Kitolod (*Isotoma Longiflora*L.) terhadap Cell Line Kanker Kolon Widr**” ini dapat diselesaikan sebagai salah satu persyaratan mencapai derajat Sarjana Kimia.

Penyusun mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dorongan, semangat, dan ide-ide kreatif sehingga tahap demi tahap penyusunan skripsi ini telah selesai. Ucapan terima kasih tersebut secara khusus disampaikan kepada:

1. Dr. Maizer Said Nahdi, M.Si., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
2. Dr. Susy Yunita Prabawati, M.Si. selaku Ketua Prodi Kimia yang telah memberikan motivasi dan pengarahan selama studi.
3. Ibu Esti Wahyu Widowati, M.Si., M. *Biotech.* selaku Dosen Pembimbing I dan Ibu Miranda Adihimawati, M. Sc., selaku Dosen Pembimbing II yang secara ikhlas dan sabar telah meluangkan waktunya untuk membimbing, mengarahkan, dan memotivasi dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
4. Bapak Didik Krisdianto, M.Si. selaku dosen Pembimbing Akademik dan Bapak Irwan Nugraha, M. Si. yang telah memberikan motivasi selama studi

5. Seluruh Staf Karyawan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga Yogyakarta yang telah membantu sehingga penyusunan skripsi ini dapat berjalan dengan lancar.
6. Ibunda Zumrotin tercinta dan seluruh keluarga yang selalu memberikan doa dan dukungan utama.
7. Teman-teman seperjuangan (Ayu, Idha, Bagus, Fina, Xarissa, mb Multiawati) dan angkatan KIMIA 2011 yang selalu memberikan motivasi dan bantuan.
8. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu atas bantuannya dalam penyelesaian skripsi ini.

Demi kesempurnaan skripsi ini, kritik dan saran sangat penulis harapkan. Penulis berharap skripsi ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan secara umum dan kimia secara khusus.

Yogyakarta, 19 November 2015

Penulis

Luluk Magfiroh

11630002

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	vii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	viii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xv
<b>ABSTRAK</b> .....	xvi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	5
C. Tujuan Penelitian .....	5
D. Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI</b> .....	6
A. Tinjauan Pustaka .....	6
B. Landasan Teori .....	8
1. Kitodol .....	8
2. Kanker .....	10
3. Siklus Sel .....	11
4. <i>Cell line</i> Kanker Kolon WiDr .....	14
5. Agen Antikanker .....	16
6. <i>MTT Assay</i> .....	18
7. Metabolit Sekunder .....	19
8. Ekstraksi Metabolit Sekunder .....	23
9. Skrining Fitokimia .....	24
10. Kromatografi Lapis Tipis .....	26
11. Kromatografi Kolom Vakum (KKV) .....	27
12. <i>Gas Chromatography-Mass Spektrometri (GC-MS)</i> .....	28
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	31
A. Waktu dan Tempat Penelitian .....	31
B. Alat dan Bahan .....	31

C. Prosedur Penelitian .....	33
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>43</b>
A. Determinasi Tanaman Kitolod .....	43
B. Pembuatan Simplisia.....	43
C. Isolasi Metabolit Sekunder Daun Kitolod.....	44
D. Pemisahan <i>Crude Extract</i> Etil Asetat Daun Kitolod.....	47
E. Uji Sitotoksisitas Fraksi Etil Asetat Daun Kitolod .....	50
F. Skrining Fitokimia .....	56
G. GC-MS .....	58
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>63</b>
A. Kesimpulan .....	63
B. Saran .....	63
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>64</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>71</b>

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1 Fase gerak yang digunakan pada pemisahan <i>crude extract</i> etil asetat daun Kitolod secara Kromatografi Kolom Vakum .....	36
Tabel 4.1 Rendemen <i>crude extract</i> daun Kitolod dengan pelarut <i>n</i> -heksana, etil asetat dan etanol .....	46
Tabel 4.2 Hasil KLT <i>crude extract</i> etil asetat daun Kitolod menggunakan plat silika Gel F <sub>254</sub> dengan berbagai sistem pelarut. Spot yang dihasilkan dideteksi dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm .....	48
Tabel 4.3 Rendemen fraksi hasil pemisahan <i>crude extract</i> etil asetat daun Kitolod .....	49
Tabel 4.4 Pengaruh konsentrasi fraksi hasil pemisahan <i>crude extract</i> etil asetat daun Kitolod terhadap pertumbuhan <i>cell line</i> kanker kolon WiDr dengan metode MTT .....	54
Tabel 4.5 Penentuan IC <sub>50</sub> fraksi-fraksi terpilih hasil pemisahan <i>crude extract</i> etil asetat daun Kitolod dengan metode MTT .....	55
Tabel 4.6 Hasil skrining fitokimia dari fraksi 15 hasil pemisahan <i>crude extract</i> etil asetat daun Kitolod dengan reagen semprot sesuai dengan Harborne (1987) .....	56
Tabel 4.7. Komponen senyawa bioaktif dari fraksi 15 hasil pemisahan <i>crude extract</i> etil asetat daun Kitolod dengan analisis GC-MS .....	59

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1(a) Tanaman Kitolod; (b) Sampel daun Kitolod.....	9
Gambar 2.2. Siklus seldan protein yang berperan dalam siklus sel .....	12
Gambar 2.3 Reaksi reduksi MTT menjadi formazan.....	18
Gambar 2.4. Struktur senyawa Guanin .....	20
Gambar 2.5. Struktur senyawa <i>Thymol</i> (C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O) salah satu golongan monoterpenoid yang bermanfaat sebagai antiseptik .....	21
Gambar 2.6. Struktur Senyawa <i>Epicatechin</i> .....	22
Gambar 4.1. Profil kromatogram hasil KLT <i>crude extract</i> etil daun Kitolod menggunakan eluen etil asetat, (a) <i>crude extract</i> n-heksana; (b) <i>crude extract</i> etil asetat; (c) <i>crude extract</i> etanol.....	46
Gambar 4.2. (a) <i>Cell line</i> kanker kolon WiDr setelah perlakuan sampel pada konsentrasi 1000 µg mL <sup>-1</sup> menunjukkan sel yang mati tampak bulat dan menyebar, (b) Kontrol sel tanpa perlakuan; (c) Kontrol sel setelah penambahan MTT menunjukkan terbentuknya kristal formazan pada sel yang hidup.....	53
Gambar 4.3. Grafik hubungan persentase sel hidup dengan log konsentrasi fraksi hasil pemisahan <i>crude extract</i> etil asetat daun Kitolod untuk penentuan nilai IC <sub>50</sub> .....	54
Gambar 4.4. Kromatogram fraksi 15 hasil pemisahan <i>crude extract</i> etil asetat daun Kitolod .....	58
Gambar 4.5. Fragmentasi <i>Benzaldehyde</i> .....	60
Gambar 4.6. Fragmentasi <i>Ethanone-1-phenyl</i> .....	61

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Determinasi daun Kitolod.....	71
Lampiran 2. KLT hasil pemisahan <i>crude extract</i> etil asetat daun Kitolod dengan pelarut campuran <i>n</i> -heksana : etil asetat (1) 1:3, (2) 3:1, (3) 2:3, (4) 3:2 dan campuran etil asetat : etanol (5) 1:3, (6) 3:1, (7) 2:3, (8) 3:2 .....	72
Lampiran 3. Profil hasil pemisahan dengan KLT terhadap 21 fraksi hasil KKV <i>crude extract</i> etil asetat daun Kitolod dengan eluen etil asetat : etanol (2:3).....	73
Lampiran 4. Perhitungan nilai $IC_{50}$ .....	73
Lampiran 5. Hasil pengamatan sel WiDr setelah perlakuan menggunakan mikroskop <i>inverted</i> .....	81
Lampiran 6. Skrining fitokimia fraksi 15 hasil pemisahan <i>crude extract</i> etil asetat daun Kitolod .....	82
Lampiran 7. Spektra massa senyawa dominan fraksi 15 hasil pemisahan <i>crude extract</i> daun Kitolod .....	83

## INTISARI

### UJI SITOTOKSISITAS FRAKSI-FRAKSI HASIL PEMISAHAN *CRUDE EXTRACT* DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora* L.) TERHADAP *CELL LINE* KANKER KOLON WiDr

Oleh:

Luluk Magfiroh  
NIM. 11630002

Studi untuk mengetahui kemampuan suatu tanaman sebagai salah satu alternatif pengobatan kanker yang sedang dikembangkan di Indonesia. Beberapa tanaman obat diketahui tidak hanya memiliki potensi untuk satu jenis penyakit, tetapi juga berpotensi terhadap penyakit yang lain. Untuk itu, studi tentang Kitolod dilakukan pada penelitian ini untuk mengetahui aktivitasnya terhadap *cell line* kanker kolon WiDr.

Penelitian ini dilakukan dengan tiga tahapan, yaitu pemisahan *crude extract* etil asetat dengan metode kromatografi kolom vakum (KKV), uji sitotoksitas terhadap *cell line* kanker kolon WiDr dengan metode MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) dan analisis senyawa dengan GC-MS.

Pemisahan *crude extract* etil asetat dengan metode KKV menghasilkan 21 fraksi. Empat fraksi (fraksi 9, 11, 15 dan 18) dipilih untuk pengujian lebih lanjut dengan metode MTT. Hasil menunjukkan bahwa fraksi 15 memiliki  $IC_{50}$  terendah yaitu  $191,74 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Hasil analisis GC-MS menunjukkan adanya enam senyawa dominan antara lain *benzaldehyde*, *ethanone-1-phenyl*, *E-2-Tetradecene-1-ol*, *1-isobutyl-2,5-dimethyl-4-phenyl-4-piperidinol*, *stigmasterol* dan *gamma sitosterol*. Aktivitas antikanker pada fraksi 15 diduga disebabkan oleh senyawa *benzaldehyde*, *ethanone-1-phenyl*, *E-2-Tetradecene-1-ol*.

**Kata Kunci** : antikanker, *Isotoma longiflora* L., WiDr, MTT, skrining fitokimia, GC-MS.

## **BAB I PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Kanker menempati urutan kedua setelah penyakit jantung dengan jumlah rasio 23% dari total penyebab kematian yang disebabkan oleh penyakit (Anonim, 2004). Data serupa menyatakan bahwa, pada tahun 2012 sekitar 8,2 juta kematian di Indonesia disebabkan oleh kanker. Setiap tahunnya, terdeteksi lebih dari 60% kasus baru dan 70% kematian yang diakibatkan oleh kanker di Afrika, Asia, Amerika Tengah dan Selatan. Peningkatan kasus kanker diperkirakan akan terjadi dalam dua dekade mendatang dari 14 juta (2012) menjadi 22 juta penderita (Anonim, 2015).

Secara umum, kanker merupakan penyakit yang terjadi karena pembelahan sel yang tidak terkontrol dan tidak terbatas (Masters dan Palsson, 2002). Jenis penyakit kanker yang sering ditemui di masyarakat adalah kanker payudara, kolon, mulut rahim, darah dan hati. Jenis kanker yang menempati urutan ketiga pada laki-laki sebagai kanker terganans di dunia setelah kanker paru-paru dan kanker prostat adalah kanker kolon dengan persentase kasus baru sebesar 21% dan kematian sebesar 10%. Sedangkan pada perempuan, kanker kolon menempati urutan kedua sebagai kanker terganans di dunia setelah kanker payudara dengan persentase kasus baru sebesar 14% dan kematian sebesar 7% (Anonim, 2012). Lebih lanjut, data yang diperoleh dari Instalasi Deteksi Dini dan Promosi Kesehatan RS Kanker Dharmais menyatakan bahwa pada tahun 2010-

2013 jumlah penderita kanker kolon semakin meningkat dari 86 pasien menjadi 133 pasien (Anonim, 2015).

Pada saat ini, terdapat empat metode pengobatan penyakit kanker yaitu operasi, kemoterapi, radioterapi, dan terapi biologi (Dipiro dkk., 2009). Metode operasimerupakan upaya pengobatan kanker dengan cara mengangkat jaringan tubuh yang terkena kanker. Sementara itu, metode kemoterapi merupakan metode pengobatan kanker dengan menggunakan obat-obatankimia untuk mematikan atau menghambat pertumbuhan sel kanker (Pelengaris dan Khan, 2006). Sedangkan metode radiasi adalah metode pengobatan dengan menggunakan gelombang berenergi tinggi seperti sinar gamma, berkas elektron, proton, foton, dan neutron untuk menghancurkan DNA sel kanker sehingga sel mati dan tidak berproliferasi (Khosravi-Far dan White, 2008). Selain ketiga metode tersebut, dikenal juga metode terapi biologi yang merupakan suatu metode pengobatan kanker yang memanfaatkan bahan alam. Kandungan senyawa bioaktif pada bahan alam dapat bekerja dengan mengaktivasi, mengubah struktur membran sel, menekan DNA dan menghambat replikasi sel sehingga terjadi kondisi anti-proliferaatif (Ma'at, 2003).

Idealnya, pengobatan kanker dapat mematikan sel kanker tanpa menimbulkan efek samping pada jaringan lainnya. Namun, metode operasi memiliki efek samping yang dapat menyebabkan komplikasi awal dan lanjut, infeksi, serta disfungsi organ operasi (Cassidi dkk., 2006). Begitu pula dengan metode kemoterapi memiliki efek samping terjadinya diare, kerontokan rambut, rentan terinfeksi, supresi sumsum tulang dan gangguan saraf (Huber dan Magrath,

1998). Sedangkan untuk metode radiasi dapat memicu timbulnya kanker baru dalam jangka waktu beberapa tahun kemudian dan dapat menurunkan kinerja jaringan tubuh yang sehat yang terpapar oleh gelombang energi tinggi (Huber dan Magrath, 1998). Oleh karena itu, pengobatan kanker yang ada saat ini dianggap belum mampu mengatasi permasalahan kanker di Indonesia yang semakin meningkat, sehingga sangat perlu dikembangkan metode pengobatan kanker yang lebih aman.

Metode pengobatan kanker yang masih terus dikembangkan adalah pemanfaatan bahan alam sebagai agen antikanker atau yang lebih dikenal dengan istilah kemopreventif (Pelengaris dan Khan, 2006). Metode ini lebih aman untuk digunakan dan memiliki efek samping yang kecil jika dibandingkan dengan metode operasi, kemoterapi dan radiasi (Baguley dan Kerr, 2002). Senyawa-senyawa yang terkandung pada bahan alam dapat bereaksi pada sel kanker dengan mekanisme yang kompleks, sehingga dapat mencegah dan menekan perkembangan kanker (Tsao dkk., 2004).

Penelitian tentang aktivitas sitotoksik bahan alam dilakukan oleh Muhtadi dkk. (2013) terhadap sel WiDr menggunakan tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang tumbuhan Sala memiliki  $IC_{50}$  sebesar  $6,29 \mu\text{g mL}^{-1}$  sedangkan  $IC_{50}$  ekstrak daun Sala yaitu  $0,41 \mu\text{g mL}^{-1}$  sehingga, ekstrak daun Sala memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak batang Sala.

Sementara itu, Katrin dan Winarno (2008) melakukan penelitian mengenai aktivitas sitotoksik kulit batang mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Sceff.)

Boerl) terhadap sel kanker. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa ekstrak etil asetat memiliki nilai  $IC_{50}$  tertinggi sebesar  $10,15 \mu\text{g mL}^{-1}$  terhadap sel kanker leukemia L1210 diikuti dengan ekstrak etanol ( $12,92 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) dan ekstrak *n*-heksana ( $13,35 \mu\text{g mL}^{-1}$ ). Fraksi dari ekstrak etil asetat yang merupakan ekstrak paling potensial kemudian diuji sitotoksitasnya terhadap empat jenis sel kanker, yaitu servik HeLa, leukemia THP1, karsinoma paru-paru A549 dan limfoma HUT 78 yang menunjukkan bahwa dua dari delapan fraksi aktif terhadap keempat sel uji dengan  $IC_{50}$  antara  $4,75 \mu\text{g mL}^{-1}$  sampai  $14,85 \mu\text{g mL}^{-1}$ .

Selain bahan alam diatas, Kitolod juga termasuk dalam salah satu bahan alam yang biasanya dimanfaatkan untuk pengobatan. Kitolod (*Isotoma longiflora*L.) merupakan tanaman yang dapat tumbuh di tempat yang teduh dan lembab. Tanaman ini telah digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati sakit gigi dan sakit mata (Wiant, 2006). Kandungan senyawa aktif dalam tanaman Kitolod adalah alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol (Basirun, 2010). Selain itu, pada batang, akar dan daun Kitolod terdapat aktinomisetes endofit yang dapat menghasilkan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri, antiinflamasi, antitumor dan antikanker (Peng, dkk., 2015; Sunaryanto dan Marsunah, 2013).

Meskipun demikian, diketahui bahwa penelitian terkait efek sitotoksitas daun Kitolod belum banyak ditemukan, terlebih pada kanker kolon. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan uji sitotoksitas ekstrak daun Kitolod terhadap *cell line* kanker kolon WiDr menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan

etanol. *Crude extract* yang terpilih, dipisahkan menjadi beberapa fraksi yang kemudian diuji aktivitasnya sebagai agen antikanker dengan metode MTT.

## **B. Rumusan Masalah**

1. Bagaimanakah potensi antikanker fraksi-fraksi hasil pemisahan dari *crude extract* terpilih daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L.) terhadap *cell line* kanker kolon WiDr?
2. Bagaimanakah profil metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi-fraksi hasil pemisahan dari *crude extract* terpilih daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L.) ?

## **C. Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui potensi antikanker fraksi-fraksi hasil pemisahan dari *crude extract* terpilih daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L.) terhadap *cell line* kanker kolon WiDr ?
2. Mengetahui profil metabolit sekunder yang terdapat dalam fraksi-fraksi hasil pemisahan dari *crude extract* terpilih daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L.) ?

## **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi antikanker dari daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L.) terhadap *cell line* kanker kolon WiDr.

## **BAB V PENUTUP**

### **A. KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan beberapa hal diantaranya:

- a. Empat fraksi terpilih (fraksi 9, 11, 15 dan 18) dari 21 fraksi yang berhasil dipisahkan dapat diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap *cell line* kanker kolon WiDr. Fraksi 15 memiliki aktivitas sitotoksik tertinggi dibandingkan dengan ketiga fraksi lainnya dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $191,74 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Berdasarkan nilai tersebut, fraksi-fraksi hasil pemisahan *crude extract* etil asetat daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L.) dinyatakan tidak potensial sebagai agen antikanker terhadap *cell line* kanker kolon WiDr.
- b. Analisis GC-MS menunjukkan adanya enam senyawa dominan antara lain: *benzaldehyde*, *ethanone-1-phenyl*, *E-2-Tetradecene-1-ol*, *1-isobutyl-2,5-dimethyl-4-phenyl-4-piperidinol*, *stigmasterol* dan *gamma sitosterol*. Sedangkan senyawa yang diduga memiliki aktivitas sebagai antikanker terhadap *cell line* kanker kolon WiDr adalah *benzaldehyde*, *ethanone-1-phenyl*, *E-2-Tetradecene-1-ol*.

### **B. SARAN**

Berdasarkan hasil penelitian, perlu dilakukan uji sitotoksitas daun Kitolod terhadap *cell line* selain *cell line* WiDr.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abuhammad, A., Fullam, E., Lowe, E.D., Staunton, D., Kamuwara, A., Westwood, I.M., Bakhta, S., Garner, A.C., Wilson, D.L., Seden, P.T., Davies, S.G., Russell, A.J. dan Garman, E.F., 2012, Piperidinols that show Anti Tubercular Activity as Inhibitors of Arylamine N-Acetyltransferase, An Essential Enzyme for Mycobacterial Survival Inside Macrophages, *J. Mol.*, 7, 12, 16275-16286.
- Adnan, M., 1997, *Teknik Kromatografi untuk Analisis Bahan Makanan*. Yogyakarta, Penerbit Andi.
- Allen P.H., 1943, Poionus dan Injurious Plant of Panama, *J.Med.*, 1, 23, 3-76.
- Amaliyah A.R., 2014, Pengaruh Infus Daun Kitolod (*Laurentia longiflora*) terhadap Histopatologi Mata Tikus Wistar Katarak yang Diinduksi Metyhl Nitroso Urea, *Skripsi*, Universitas Katolik Widya Mandala, Surabaya, 48-56.
- Andinata, Dodik, 2013, Profil dan Karakteristik Minyak Ikan Patin Hasil Variasi Pakan dan Metode Ekstraksi, *Skripsi*, Fakultas MIPA, Universitas Jember, 38-41.
- Ansel, H.C., 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Edisi IV, Jakarta, Universitas Indonesia, 606-608.
- Arianingrum, R., Arty, I.S. dan Atum, S., 2011, Uji Sitotoksik beberapa Senyawa Mono Para Hidroksi Kalkon terhadap Cancer *cell line* T47D, *J. Penelitian Saintek*. 2, 16, 126-131.
- Baguley, B. C. dan Kerr, D. J., 2002, *Anticancer Drugs Development*, Academic Press, California, 69.
- Barone, J.A. dan Hermes-DeSantis, E.R., 2000, Adverse drug reactions and drug-induced diseases. In E.T. Herfindal & D.R. Gourley (Eds.), *Textbook of therapeutics: Drug and disease management (7th edition)*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 21–34.
- Basirun, 2010, Efek antiinflamasi ekstrak daun dan bunga Kitolod (*Isotoma longiflora* Presl.) terhadap inflamasi buatan pada tikus putih jatah galur wistar, *Tesis*, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Brattain, M.G., Willson, J.K.V., Koterba, A., Patil, S. dan Venkateswarlu, S., 2002, Colorectal Cancer, dalam *Human Cell Culture*, John R.W., Masters and Palsson Kluwer Academic Publishers, New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow.
- Burdall, E.S., Hanby, M.A., Landsnown, R.J.M., dan Speirs, V., 2003, Breast Cancer Cell Line, *Breast Cancer Res*, 2, 6, 89-95.

- Burkill, I.H., 1935, *A Dictionary of The Economic Product of The Malay Peninsula*, Vol.1&2, Crwon Agent, London.
- Cannell, R.J.P., 1998, *Natural Product Isolation Methods in Biotechnology*, Humana Press, Totowa.
- Cassidi, J., Johnson, P. dan Van Custem, E., 2006, *Colorectal Cancer*, Informa Healthcare USA, Inc, New York.
- Coll, J.C. dan Bowden, B.F., 1986, The Aplication of Vacuum Liquid Chromatography to Separation of Terpene Mixtures, *J. Nat. Prod.*, 5, 49, 934-936.
- Cooper, G.M., dan Hausman, R.E., 2004, *The Cell: A Molecular Approach*, Fifth Edition, ASM Press and Sinauer Associates, Inc.
- Dalimarta, S., 2008, Atlas Tumbuhan Obat Indonesia, Jilid 5, Pustaka Bandung, Jakarta.
- Dewick, P. M., 2009, *Medical Natural Product A Biosynthetic Approach*, Third Edition, John Wiley & Sons Ltd., Chicester, West Sussex.
- Dipiro, J.T., Talbert, R.L., Yee, G.C., Matzke, G.R., Wells, B.G. dan Posey, L.M., 2009, *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach Seventh Edition*, The McGraw-Hill Companies, USA.
- Dittmar, T. dan Zanker, K.S., 2011, Cell Fusion in health and disease, *Volume II : Cell Fusion in Disease Introduction*, 714, 1-3.
- Djajanegara, I. dan Wahyudi, P., 2009, Pemakaian sel HeLa dalam Uji Sitotoksisitas Fraksi Kloroform dan Etanol Ekstrak Daun *Annona squamosa*, *JIFI*, 1, 7, 7-11.
- Ferrari, M., Fornasiero, M.C. dan Isetta, A.M., 1990, MTT colorimetric assay for testing macrophage cytotoxic activity in vitro, *J. Immunol. Methods.*, 2, 131, 165-172.
- Fessenden, R.J. dan Fessenden, J.S., 1994, *Organic Chemistry*, 5Edition, Willard Grant Press, Boston.
- Freshney, R.I., 2000, *Culture of animal cell: a manual of basic technique*, John Wiley & Sons Inc., New York.
- Giovanneti, E., Backus, H.H.J., Wouters, D., Ferreira, C.G., Van Houten, V.M.M., Brakenhoff, R.H., Poupon, M.F., Azzarello, A. dan G.J. Peters., 2007, Changes in the Status of p53 Affect Drugs Sensitivity ti Thymidylate Synthase (TS) Inhibitors by Altering TS Levels, *Br. J. Cancer*, 96, 769-775.
- Globocan, International Agency for Research on Cancer (IARC), 2012, <http://www.Globocan.go.id>, diakses pada tanggal 6 Agustus 2015 pada pukul 20:30.
- Gritter, R.J., Bobbit, J.M. dan Schwarting, 1991, Pengantar Kromatografi, diterjemahkan oleh Padmawinata Kosasih, ITB:Bandung.

- Handa, S.S., Khanuja, S.P.S., Longo, G., Rakesh, D.D., 2008, *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*, International Centre of Science and High Technology, Trieste, Italy.
- Harborne, J.B., 1996, *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerbit ITB, Bandung.
- Harvey, D., 2000, *Modern Analytical Chemistry*, McGraw-Hill, North America, 571-575.
- Herbert, R.B., 1995, *Biosintesis Metabolit Sekunder*, Edisi ke-2, Diterjemahkan oleh Bambang Srigandoro, IKIP Press, Semarang.
- Herdrich, K. dan Weinberger, H., 2010, *Selected Schedules in The Therapy of Malignant Tumors* 15 th Ed., Baxter Oncologz International.
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia III*, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan, Edisi ke-1, Penerbit Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta, 1821.
- Hites, R. dan Beimann, K., 1970, *Computer Evaluation og Continuosly Scanned Mass Spectra in Gas Chromatographic Effluents Anal Chem*, 42, 855-860.
- Huber, B.E. dan Magrath, I., 1998, *Gene Therapy in The Treatment of Cancer*, University Press, Cambridge, 5-49.
- Husni, A., Putra, D.F. dan Lelana, Y.B., 2014, Aktivitas Antioksidan *Padina* sp. Pada Berbagai Suhu dan Lama Pengeringan, *JPB Perikanan*, 2, 9, 165-173.
- Jannah, H., Sudarma, I.M. dan Andayani, Y., 2013, *Analisis Senyawa Fitosterol dalam Ekstrak Buah Buncis (Phaseolus vulgaris L.)*, Universitas Mataram.
- Jansen, W.J.M., Zwart, B., Hulscher, S.T.M., Giaccone, Pinedo, H.M. dan Boven, E., 1997, CPT-11 in Human Colon-Cancer Cell Lines dan Xenografts: Characterization of Cellular Sensitivity Determinants, *Int. J. Cancer*, 3, 70, 335-340.
- Kamuhabwa, A., Nshimo, C. dan de Witte, P., 2000, Cytotoxic of Stone Medicinal Plant Extracts Used in Tanzanian I2 Traditional Medicine, *J. Ethopharmacol*, 70, 143-149.
- Kartawiguna, E., 2001, Faktor-faktor yang berperan pada karsinogenesis, *J. Kedokteran Trisakti, Januari-April*, 1, 20, 16-26.
- Katrin, E. dan Winarno, Hendig., 2008, *Aktivitas Sitotoksik Fraksi-Fraksi Ekstrak Etil Asetat Kulit Batang Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa (Sceff.) Boerl) terhadap sel Kanker Manusia*, Laboratorium Bahan Kesehatan, Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, BATAN.

- Kavitha, S., Lincy, M.L.P., Kala, S.M.J., Mohan, V.R. dan Maruthupandian, A., 2015, GC-MS Analysis of Ethanol Extract of Stem of *Nothapodytes nimmoniana* (Graham) Mabb., *World J. Pharm. Sci.*, 3, 6, 1145-1150.
- Kemenkes RI, 2015, *Stop Kanker*, Pusat Data dan Informasi, Jakarta Selatan.
- Ketaren, S., 1985, *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*, Balai Pustaka, Jakarta.
- Kimball, J.W., 1990, *Biology*, Erlangga, Jakarta.
- Kitson, G. F., Larsen, B.S. dan McEwen, C.N., 1996, *Gas Chromatography and Mass Spectrometry, A Practical Guide*, Academic Press, California.
- Khosravi-Far, R. dan White, E., 2008, *Programmed Cell Death in Cancer Progression and Therapy*, Springer, USA.
- Lanham-New, S., Ian, A. M. dan Helen, M. R., 2011, *Nutrition And Metabolism*, Second Edition, John Wiley & Sons Ltd.
- Levrero, M., Laurenzi, V. De, Constanzo, A., Sabatini, S., Gong, J., Wang, J.Y.J. dan Melino, G., 2000, The p53/p63/p73 Family of Transcription Factors: Overlapping and Distinct Functions. *J. Cell Sci.*, 10, 113, 1661-1670.
- Ma'at, S., 2003, Tanaman Obat untuk Pengobatan Kanker, *J. Bahan Alam Indonesia ISSN 1412-2855*, 2, 4, 145-148.
- Ma'rufah, A.D., 2013, Efek ekstrak Kitolod untuk menurunkan volume edema inflamasi kronis pada kaki tikus putih model artritis reumatoid yang diinjeksi dengan *complete freund's adjuvant*, *Skripsi*, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 43-55.
- MacDonald, F., 1997, *Molecular Biology of Cancer*, Bios Scientific Publishers Limited, Oxford, 3, 11, 3587-3600.
- Manoi, Feri, 2006, Pengaruh Cara Pengeringan terhadap Mutu Simplisia Sambiloto, *Bul. Litro*, 1, 17, 1-5.
- Masters, J.R.W. dan Palsson, B., 2002, *Human Cell Culture, Volume II, Cancer Cell Lines Part 2*, Kluwer Academic Publisher.
- Mosmann, T., 1983, Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays, *J. Immunol. Methods*, 65, 1, 55-63.
- Muhtadi, H., Indrayudha, P., Azizah, T. dan Suhendi, A., 2013, Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) terhadap sel HeLa, T47D, dan WiDr, *J. Penelitian Saintek*, 2, 18, 25-27.
- Mursidi, A., 1985, *Statistika Farmasi dan Biologi*, Ghalia Indonesia, Jakarta.
- Noguchi, P., Wallace, R., Johnson, J., Earley, E.M., O'brien, S., Ferrone, S., Pellegrino, M.A., Milstein, J., Needy, C., Browne, W. dan Pettriciani, J., 1979, Characterization of WiDr : A Human Colon Carcinoma *Cell line*, *J. In Vitro*, 15, 6, 401-408.

- Pandiana, So'im, Hasniwan, D. Darwis., 2003, Isolasi Senyawa Steroid dari Fraksi Aktif Anti Bakteri Buah Melur (*Brucea javanica* (L) Merr), *J. Kimia Unand. (ISSN No. 2303-3401)*, 3, 2, 75-77.
- Patel, H.D., Anurag, D.Z., Dilip N.Z., Saavani S. dan Ankita S., 2013, Comparison Of The Mtt And Alamar Blue Assay For In Vitro Anti Cancer Activity By Testing Of Various Chalcone And Thiosemicarbazone Derivatives, *Int. J. Pharm. Biol Sci.*, 4, 2, 707-716.
- Pelengaris, S. dan Khan, M., 2006, *The Molecular Biology of Cancer*, Blackwell Publishing, USA, 444-463.
- Peng, S. dan Zhao, M., 2009, *Pharmaceutical Bioassay Methods and Applications*, John Wiley & Sons, Inc., Kanada.
- Peng, Q., Zhi-Xiang, F., Jie-Wei, T., Zu-Chao, L., Lei, W., Zhi-Gang, Z., Yi-Wen, C., dan Yong-Qiang, T., 2015, Diversity, bioactivities, and metabolic potentials of endophytic actinomycetes isolated from traditional medicinal plants in Sichuan, China, *CJNM*, 12, 13.
- Petterson, Marie., 2004, Factors Affecting Rates of Change in Soil Bacterial Communities. *Tesis*. LUND University Sweden, 7-9.
- Pin, K.Y., Chuah, T.G., Abdul Rashih, A., Law, C.L., Rasadah, M.A. dan Choong, T.S.Y., 2009, Drying of Betel Leaves (*Piper betle* L.): Quality and Drying Kinetics, *J.Dry. Technol.*, 27, 1, 149-155.
- Pradina, E.L., 2012, Aplikasi Metode GC-MS untuk Penetapan Kadar Residu Profenofos pada Buah Stroberi (*Fragaria* Sp.) setelah Pencucian, *Skripsi*, UMS, Surakarta. 4-5.
- Pratiwi, S.T., 2009, *Mikrobiologi Farmasi*, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Putri, W.S., Warditiani, N.K., dan Larasati, L.P.E., 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.), *JP Farmasi*.
- Ratna, S.M., Roostantia I., Teguh W.M. dan Lazuardi M., 2006, Sigi Kandungan Asam Amino Ekstrak Daun Benalu Duku (*Loranthaceae Dendrophthoe Spec*), *Laporan Penelitian DIPA PNBPN Tahun 2006*, Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Rosidah, A.N., Lestari, P.E. dan Astuti, P., 2014, Daya Antibakteri Ekstrak Daun Kendali (*Hippobroma longiflora* Linn G. Don) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Jember.
- Ruwaida, D.G., 2010, Uji Sitotoksitas Senyawa Hasil Isolasi Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa* (L.) Lamk.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), *Skripsi*, UNS, Surakarta, 36-37.

- Saputra, D.E, Handayani, N. dan Wartono, M.W., 2014, Isolasi dan Identifikasi Campuran Senyawa sitosterol dan stigmasterol dari Kulit Akar Slatri (*Calophyllum soulattri* Burm. f), *J. Penelitian Kimia*, 1, 10, 87-93.
- Sarker, S.D. dan Nahar, L., 2007, *Chemistry of Pharmacy Students General, organic and Natural Product Chemistry*, John Wiley & Sons Ltd., Chicester, West Sussex.
- Sarker, S.D., Latif, Z. dan Gray, A.I., 2006, *Natural Product Isolation, Second Edition*, HUMANA Press, Totowa, New Jersey.
- Sastrohamidjojo, H., 1996, *Sintesis Bahan Alam*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Septisetyani, E.P., Ikawati, M., Widaryanti, B. dan E. Meiyanto., 2008, Apoptosis Mediated Cytotoxicity of Curcumin Analogues PGV-0 and PGV-1 in WiDr Cell Line, *Proceeding Molecular Targeted Therapy Symposium*, Faculty of Pharmacy, Gadjah Mada University, Yogyakarta, 48-56.
- Siswandono, Soekardjo B., 2000, *Kimia Medisinal*, Edisi 2, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Siu, W.Y., Yam, C.H. dan Poon, R.Y.C., 1999, G1 versus G2 Cell Cycle After Andriamycin-induced Damage in Mouse Swiss 3T3 Cells, *Left*, 461, 299-305.
- Stahl,E.,1985, *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 568-570.
- Stein, G.S. dan Pardee, A.B., 2004, *Cell Cycle and Growth Control Biomolecular Regulation and Cancer, Second Edition*, John Wiley&Sons Inc., New York.
- Stockert, J.C., Castro, A.B, Canete M., Horobin, R.W. dan Villaneuva, A., 2012, MTT Assay for cell viability: Intracellular localization of the formazan product is in lipid droplets, *Acta Histochemica*, 8, 114, 785-796.
- Sudiana, I.K., 2001, *Patobiologi Molekuler Kanker*, Salemba Empat, Jakara, 45-52.
- Sukadana, I.M., 2010, Aktivitas antibakteri senyawa flavonoid dari kulit akar awar-awar (*Ficus septica* burm f), *J. Kimia*, Universitas Udayana, Bali, 4, 1. 63-70.
- Sunaryanto, R. dan Mahsunah, H., 2013., Isolation, Purification, and Characterization of Antimicrobila Substance from Endophytic Actinomycetes, *Makara J. Sci.*, 17, 3, 92-87.
- Supino, R., 1995, *MTT Assays, Methods in Molecular Biology*, 43, 137-138.
- Teicher, Beverly A., 2011, *Tumor Models in Cancer Research, Second Edition (Cancer Drug Discovery and Development)*, Humana Press, New York, USA, 107-113.

- Tsao, A.S., Kim, E.S. dan Hong, W.K., 2004, Chemoprevention of Cancer, American Cancer Society, *C.A. Cancer J. Clin.*, 54, 150-180.
- UCUNCU, O., CANSU, T.B., OZDEMIR, T., KARAOGLU, S.A. dan YAYLI, N., 2010, Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Mosses (*Tortula muralis* Hedw., *Homalothecium lutescens* (Hedw.) H. Rob., *Hypnum cupressiforme* Hedw., and *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb.) from Turkey, *Turk. J. Chem.*, 34, 825-834.
- Usmiati, S., dan Nurdjannah, N., 2007, Pengaruh Lama Perendaman dan Cara Pengeringan terhadap Mutu Lada Putih. *JIFI*, 3, 16, 91-98.
- Voight, R., 1994, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Diterjemahkan oleh S. Noerono, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Wiart, C., 2006, *Medicinal Plants of the Asia-Pacific : Drugs for the Future?*, University of Malaya, Malaysia.
- Widyasari, M., 2005, Uji Toksisitas Akut Fraksi Tanaman Kitolod (*Isotoma longiflora* (L.) Presl) terhadap Larva *Artemia salina* Leach. Beserta Profil KLT Fraksi Paling Aktif, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, 47-64.
- Wijayanti, W., 2008, Sintesis Senyawa Antibakteri Turunan Kalkon dari Piperonal dan Asetofenon menggunakan Katalis NaOH, *Skripsi*, UNDIP, Semarang, 1-4.
- Yulianty, Risfah., Hakim, L., Sardjiman, Alam, G., Nufika, R. dan Widyarini, S., 2012, Efektivitas Pentagamanuvon-0 terhadap Penghambatan Ekspresi Siklooksigenase-2 pada Model Kanker Kolon Tikus Wistar, *J. Kedokteran Hewan*, 2, 6, 126-128.
- Zambetti, G. P., 2005, *The p53 Tumor Suppressor Pathway and Cancer*, Springer, Tennessee, 81-140.

## Lampiran1. Determinasi Daun Kitolod

  
UNIVERSITAS GADJAH MADA  
FAKULTAS BIOLOGI  
LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN  
Jalan Telerka Selatan Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telpun (0274) 6492262/6492272; Fax: (0274) 580839

---

**SURAT KETERANGAN**  
Nomor : 0668/S.Th./V/2015

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa,

Nama : Luluk Magfiroh  
NIM : 11630002  
Asal instansi : Fakultas Sains dan Teknologi UIN - Sunan Kalijaga

telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

NO.	FAMILIA	GENUS	SPESES	NAMA DAERAH
1	Camparulaceae	<i>Isostoma</i>	<i>Isostoma langiflora</i> Presl.	Kitolod

identifikasi tersebut dibantu oleh Dr. Purnomo, M.S  
Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Yogyakarta, 12 Mei 2015

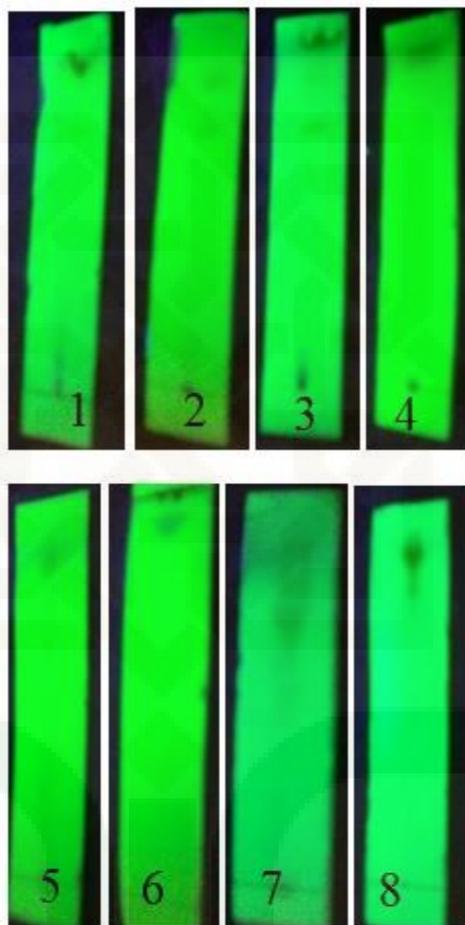
Mengetahui,  
Dekan Fakultas Biologi  
Universitas Gadjah Mada

  
Prof. Dr. Suwarno Hadisusanto, S.U.  
NIP. 195411161983031002

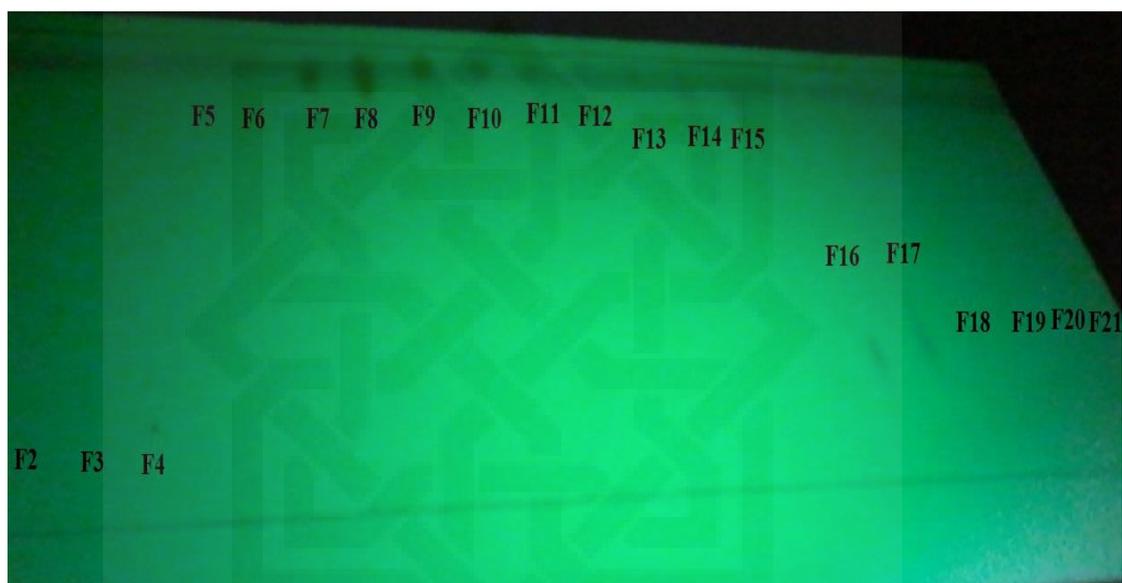
Kepala Laboratorium  
Sistematika Tumbuhan  
Fakultas Biologi UGM

  
Dr. Heri Sujadmiko, M.Si.  
NIP. 196402091991031001

Lampiran 2. KLT hasil pemisahan *crude extract* etil asetat daun Kitolod dengan pelarut campuran *n*-heksana : etil asetat (1) 1:3, (2) 3:1, (3) 2:3, (4) 3:2 dan campuran etil asetat : etanol (5) 1:3, (6) 3:1, (7) 2:3, (8) 3:2.



**Lampiran 3. Profil hasil pemisahan dengan KLT terhadap 21 fraksi hasil KKV *crude extract* etil asetat daun Kitolod dengan eluen etil asetat : etanol (2:3).**



**Lampiran 4. Perhitungan nilai IC<sub>50</sub>**

**1. Fraksi 9**

Konsentrasi ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Absorbansi			rata2 abs	abs m	abs k	% sel mati	Probit
	1	2	3					
62,5	0,63	0,62	0,62	0,62	0,07	0,64	2,59	3,12
125	0,63	0,62	0,60	0,61			4,01	3,24
250	0,63	0,61	0,58	0,60			6,01	3,44
500	0,62	0,57	0	0,59			7,22	3,52
1000	0,57	0,56	0,53	0,55			15,43	3,96

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{\text{abs perlakuan} - \text{abs media}}{\text{abs kontrol} - \text{abs media}} \times 100 \%$$

1) Konsentrasi  $62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,62 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 2,59 \%$$

2) Konsentrasi  $125 \mu\text{g mL}^{-1}$

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,61 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 4,01 \%$$

3) Konsentrasi  $250 \mu\text{g mL}^{-1}$

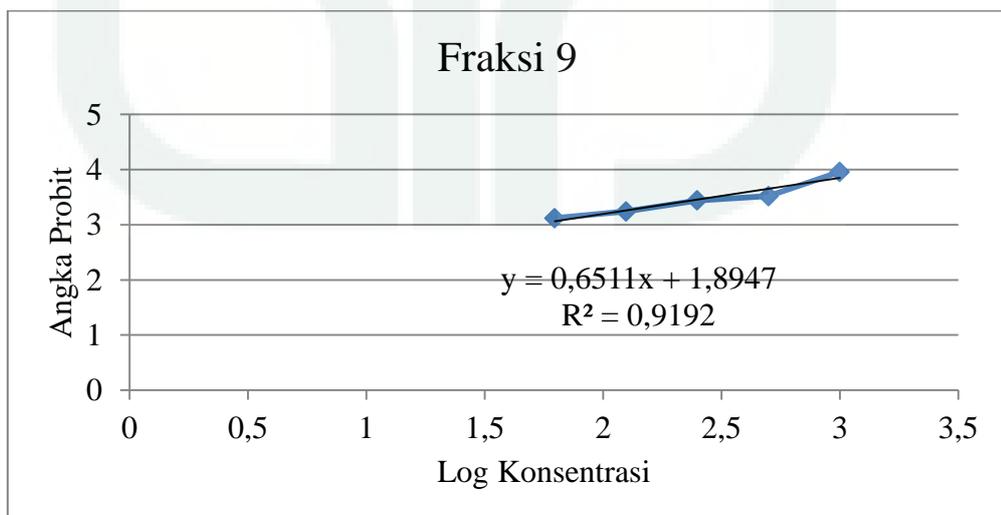
$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,60 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 6,01 \%$$

4) Konsentrasi  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,59 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 7,22 \%$$

5) Konsentrasi  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,55 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 15,43 \%$$



$$Y = 0,6511x + 1,8947 \quad , \quad Y = 5$$

$$5 = 0,6511x + 1,8947$$

$$X = \frac{5 - 1,8947}{0,6511}$$

$$X = 4,785$$

$$\text{Antilog } x = 60889,73$$

$$IC_{50} = 60889,73 \mu\text{g mL}^{-1}$$

$$R = 0,9584$$

$$R^2 = 0,9192$$

## 2. Fraksi 11

Konsentrasi ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Absorbansi			rata2 abs	abs m	abs k	% sel mati	Probit
	1	2	3					
62,5	0,53	0,53	0,53	0,53	0,07	0,64	19,03	4,12
125	0,52	0,52	0,49	0,51			22,62	4,26
250	0,48	0,48	0,50	0,49			26,39	4,36
500	0,39	0,39	0,39	0,39			44,30	4,84
1000	0,14	0,15	0,14	0,15			87,01	6,12

1) Konsentrasi  $62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,53 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 19,03 \%$$

2) Konsentrasi  $125 \mu\text{g mL}^{-1}$

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,51 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 22,62 \%$$

3) Konsentrasi  $250 \mu\text{g mL}^{-1}$

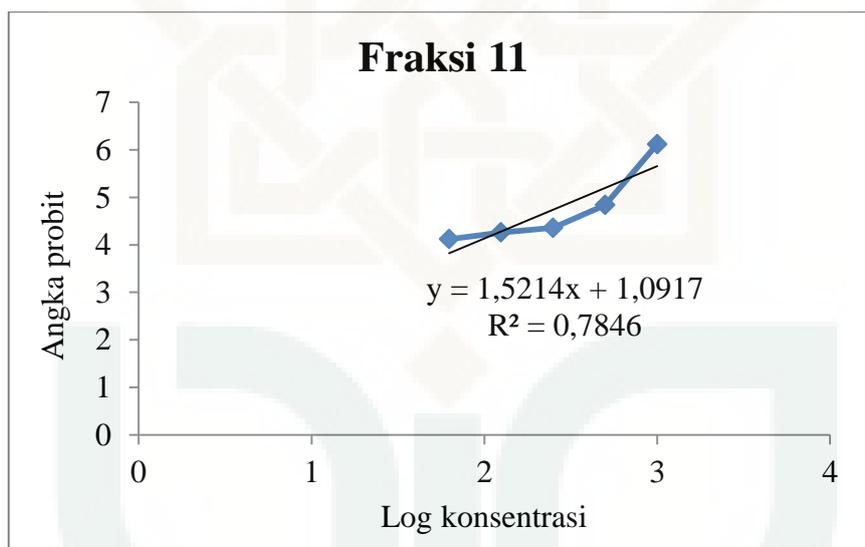
$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,49 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 26,39 \%$$

4) Konsentrasi  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,39 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 44,30 \%$$

5) Konsentrasi  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,15 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 87,01 \%$$



$$Y = 1,5214x + 1,0917$$

$$Y = 5$$

$$5 = 1,5214x + 1,0917$$

$$X = \frac{5 - 1,0917}{1,5214}$$

$$X = 2,606$$

$$\text{Antilog } x = 403,21$$

$$IC_{50} = 403,21 \mu\text{g mL}^{-1}$$

$$R = 0,8858$$

$$R^2 = 0,7846$$

### 3. Fraksi 15

Konsentrasi ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Absorbansi			rata2 abs	abs m	abs k	% sel mati	Probit
	1	2	3					
62,5	0,49	0,56	0,49	0,52	0,07	0,64	21,74	4,22
125	0,47	0,46	0,37	0,43			36,23	4,64
250	0,35	0,38	0,37	0,36			48,25	4,95
500	0,18	0,18	0,21	0,19			78,88	5,77
1000	0,11	0,10	0,11	0,11			93,73	6,53

1) Konsentrasi  $62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,52 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 21,74 \%$$

2) Konsentrasi  $125 \mu\text{g mL}^{-1}$

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,43 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 36,23 \%$$

3) Konsentrasi  $250 \mu\text{g mL}^{-1}$

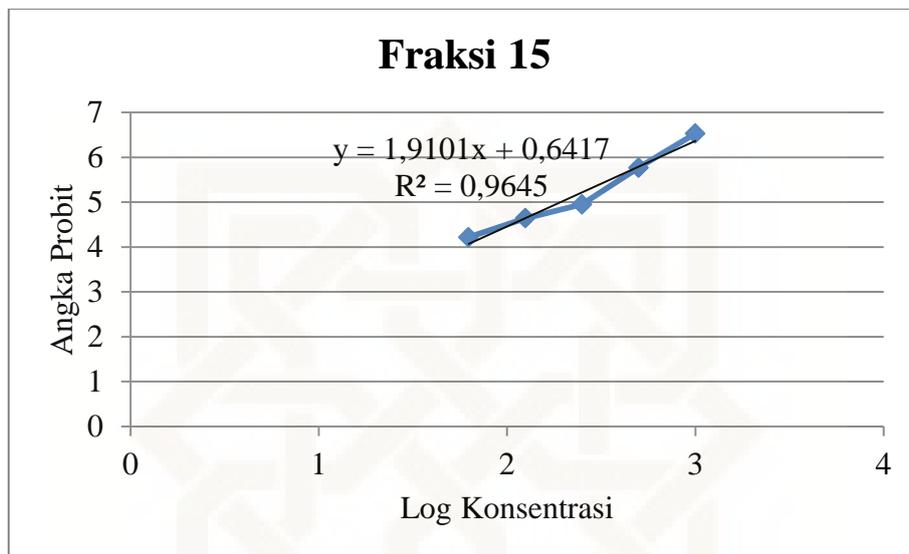
$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,36 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 48,25 \%$$

4) Konsentrasi  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,19 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 78,88 \%$$

5) Konsentrasi  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,11 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 93,73 \%$$



$$Y = 1,9101x + 0,6417, \quad Y = 5$$

$$5 = 1,9101x + 0,6417$$

$$X = \frac{5 - 0,6417}{1,9101}$$

$$X = 2,283$$

$$\text{Antilog } x = 191,74$$

$$\text{IC}_{50} = 191,74 \mu\text{g mL}^{-1}$$

$$R = 0,9820$$

$$R^2 = 0,9645$$

#### 4. Fraksi 18

Konsentrasi ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Absorbansi			rata2 abs	abs m	abs k	% sel mati	Probit
	1	2	3					
62,5	0,53	0,55	0,59	0,56	0,07	0,64	14,55	3,96
125	0,52	0,54	0,56	0,54			16,73	4
250	0,45	0,46	0,43	0,45			33,81	4,56
500	0,25	0,24	0,23	0,24			70,40	5,52
1000	0,09	0,09	0,09	0,09			96,44	6,78

1) Konsentrasi  $62,5 \mu\text{g mL}^{-1}$

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,56 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 14,55 \%$$

2) Konsentrasi  $125 \mu\text{g mL}^{-1}$

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,54 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 16,73 \%$$

3) Konsentrasi  $250 \mu\text{g mL}^{-1}$

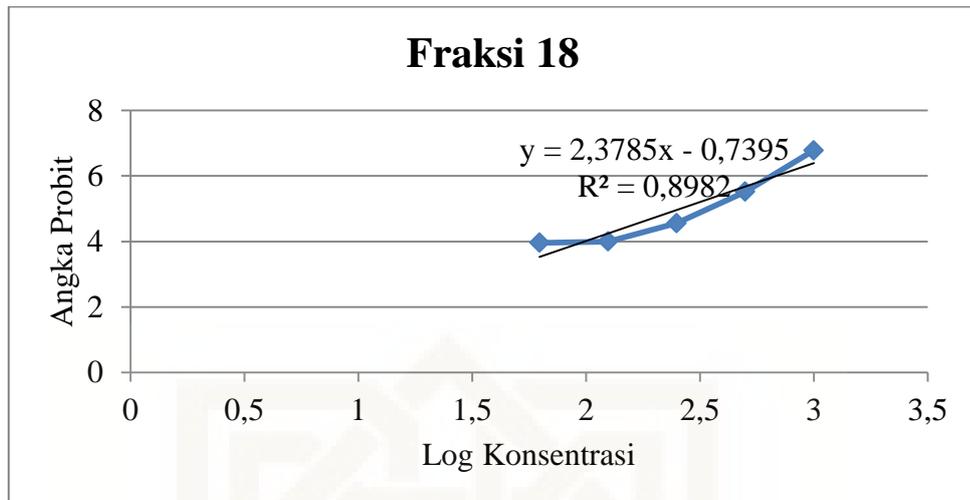
$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,45 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 33,81 \%$$

4) Konsentrasi  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,24 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 70,40 \%$$

5) Konsentrasi  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$

$$\% \text{ sel mati} = 100 - \frac{0,09 - 0,07}{0,64 - 0,07} \times 100 \% = 96,44 \%$$



$$Y = 2,3785x - 0,7395, \quad Y = 5$$

$$5 = 2,3785x - 0,7395$$

$$X = \frac{5 + 0,7395}{2,3785}$$

$$X = 2,422$$

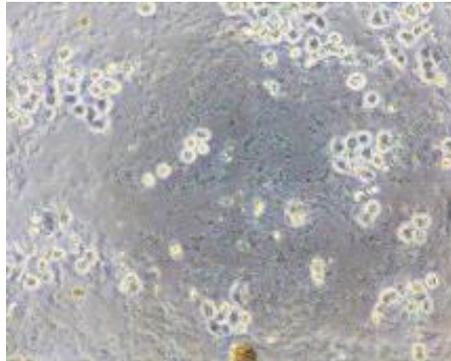
$$\text{Antilog } x = 264,20$$

$$\text{IC}_{50} = 264,20 \mu\text{g mL}^{-1}$$

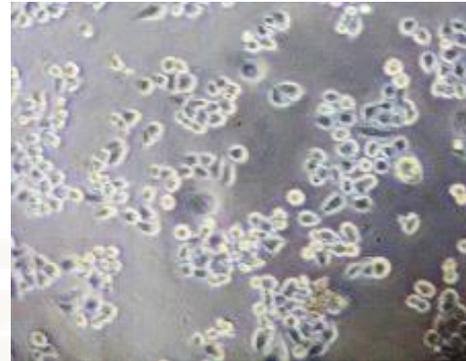
$$R = 0,9477$$

$$R^2 = 0,8982$$

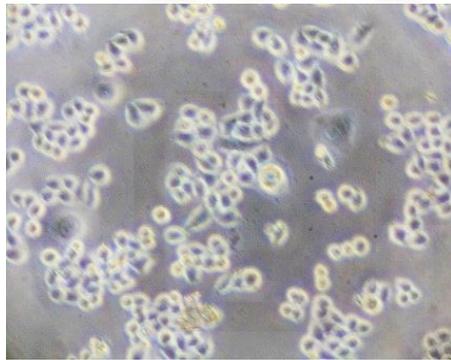
**Lampiran 5. Hasil pengamatan sel WiDr setelah perlakuan menggunakan mikroskop *inverted***



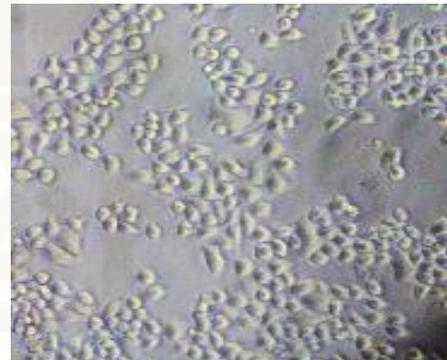
(b) Konsentrasi 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$



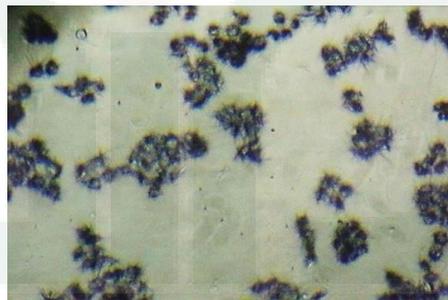
(c) Konsentrasi 250  $\mu\text{g mL}^{-1}$



(d) Konsentrasi 62,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$

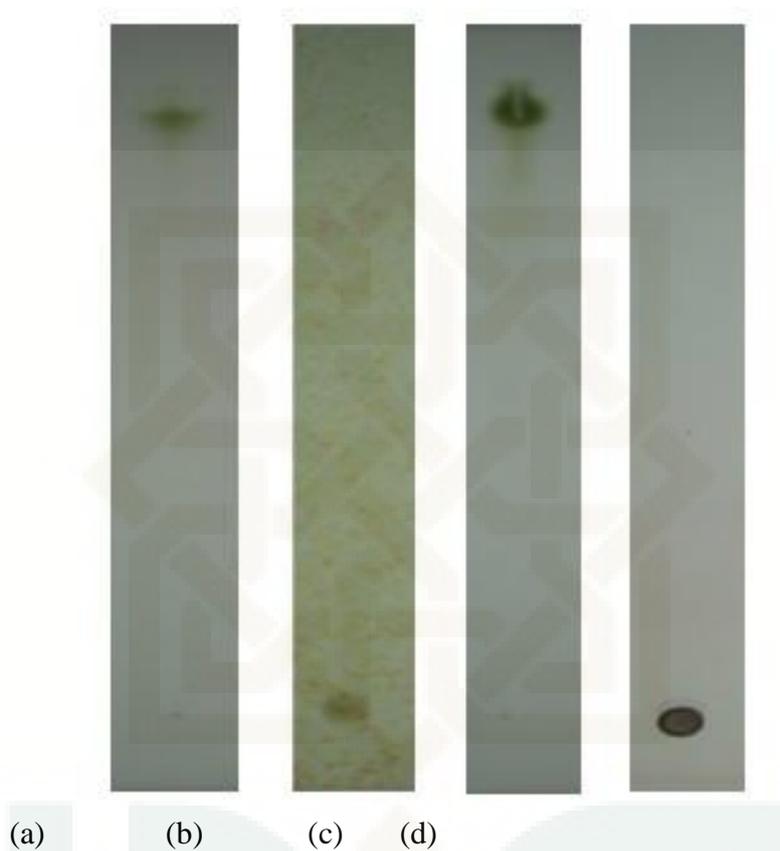


(e) Kontrol sel



(g) Kontrol sel setelah pemberian MTT, *cell line* kanker kolon WiDr yang hidup membentuk kristal formazan dengan morfologi sel yang berupa serabut dan bergerombol

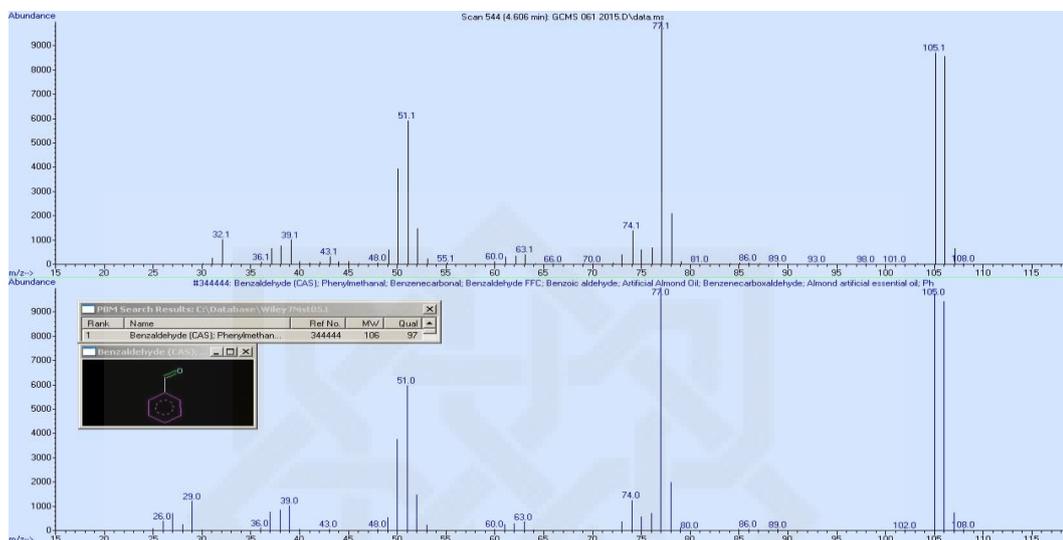
**Lampiran 6. Skrining fitokimia fraksi 15 hasil pemisahan *crude extract* etil asetat daun Kitolod**



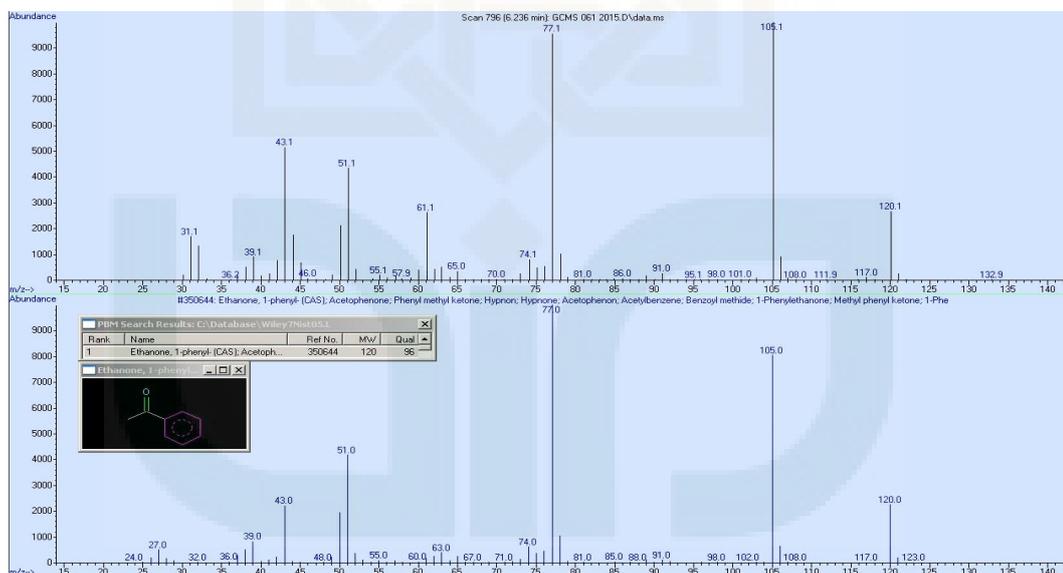
**Keterangan :**

- (a) Fasa gerak = etil asetat: asam formiat: toluena : air (6:1,5:3:0,5)
- (b) Fase gerak = toluena : etil asetat: dietil amin (7:2:1)
- (c) Fase gerak = etil asetat : asam formiat: asam asetat glassial: air (100:11:11:27)
- (d) Fase gerak = *n*- heksana : etil asetat (93:7)

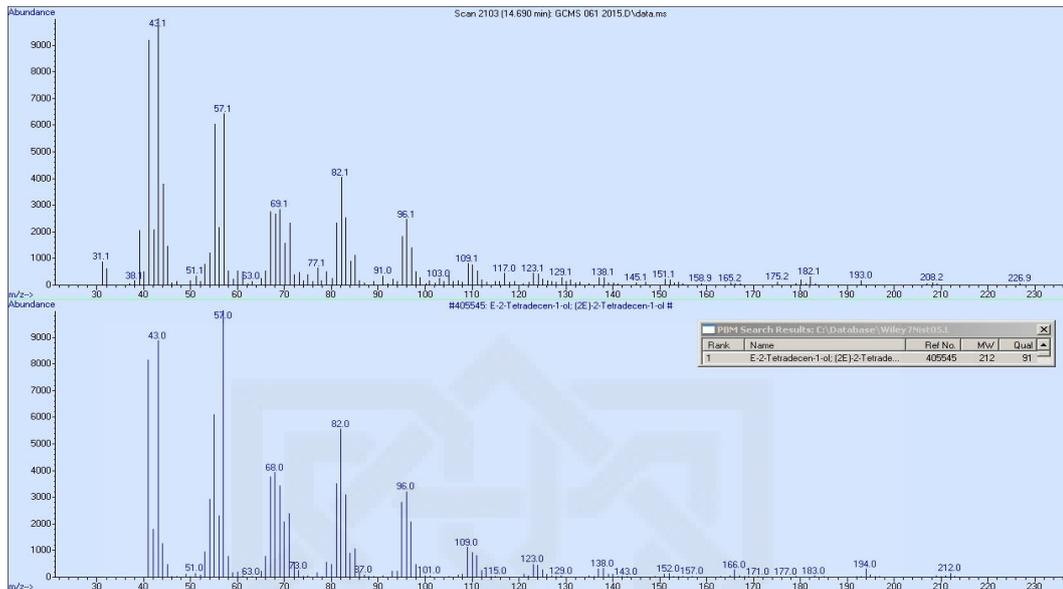
## Lampiran 7. Spektra massa senyawa dominan fraksi 15 hasil pemisahan *crude extract* daun Kitolod



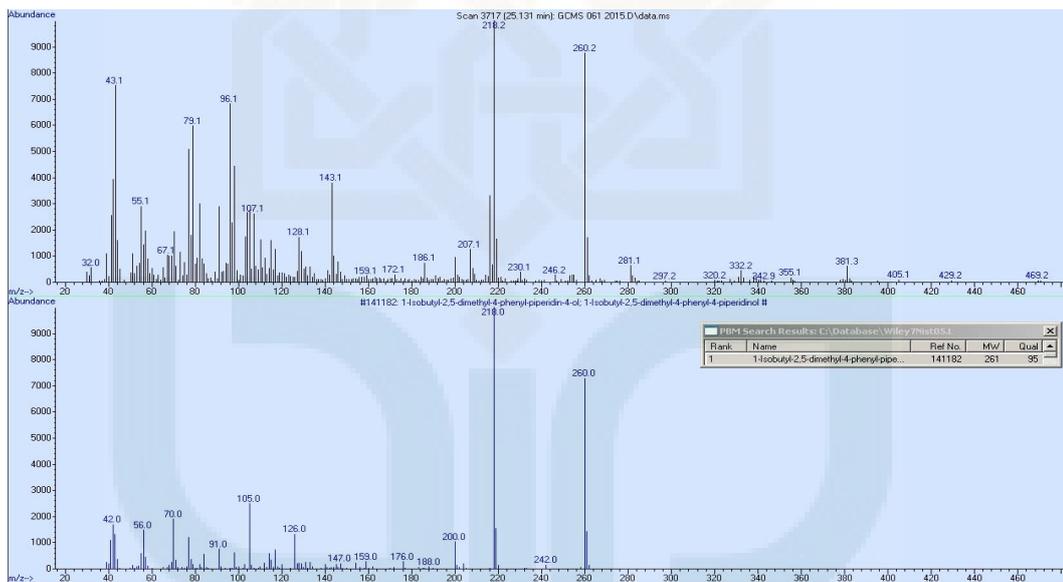
Gambar 1. Spektra massa puncak-1 hasil pemisahan *crude extract* daun Kitolod



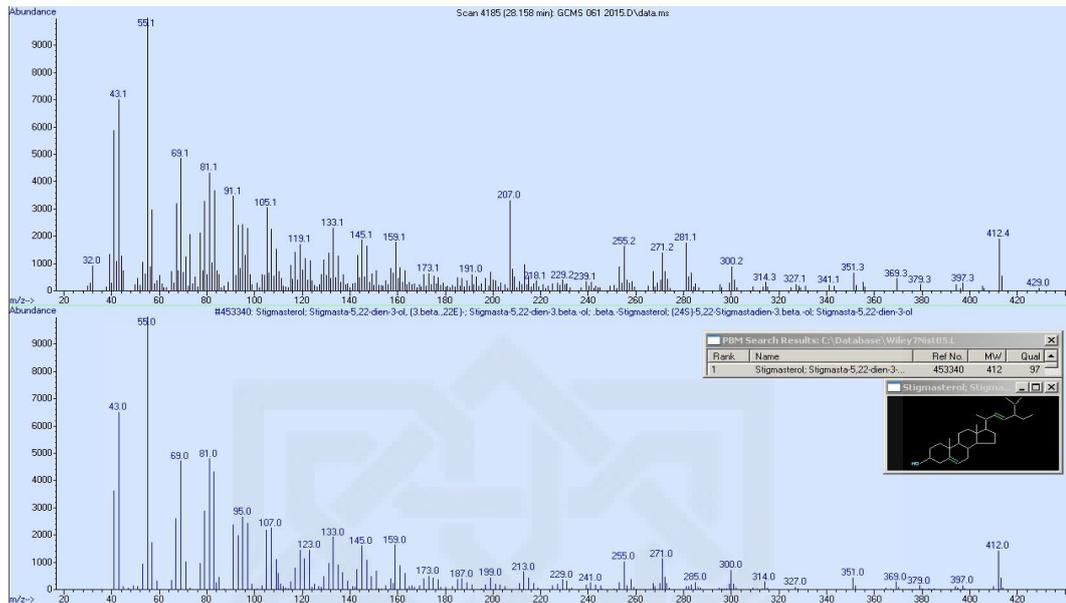
Gambar 2. Spektra massa puncak-2 hasil pemisahan *crude extract* daun Kitolod



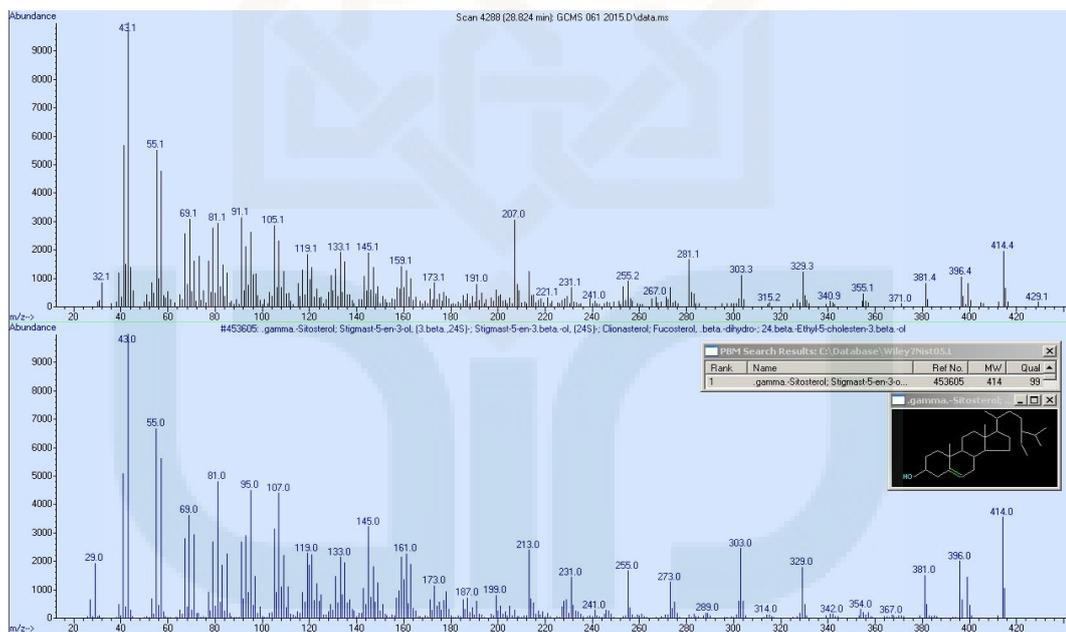
Gambar 3. Spektra massa puncak-3 hasil pemisahan *crude extract* daun Kitolod



Gambar 4. Spektra massa puncak-4 hasil pemisahan *crude extract* daun Kitolod



Gambar 5. Spektra massa puncak-5 hasil pemisahan *crude extract* daun Kitolod



Gambar 6. Spektra massa puncak-6 hasil pemisahan *crude extract* daun Kitolod