Uji Sitotoksisitas Fraksi Etil Asetat Tanaman Sarang Semut (Myrmecodia pendens Merr. & Perry) Terhadap Sel Burkitt's lymphoma (Kajian secara in Vitro)

Cytotoxicity Test Of Ethyl Acetate Fraction Of Ant Nest Plants (Myrmecodia pendens Merr. & Perry) Towards Burkitt's lymphoma Cells in Vitro

Surya Saputra¹, Ana Medawati²

¹Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

²Dosen Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

Abstrak: Kanker merupakan salah satu penyakit kronis yang menyebabkan kematian pada penderitanya dan merupakan penyebab kematian utama di dunia. Sel raji merupakan sel yang berasal dari kanker *Burkitt's lymphoma* yang terpapar oleh *Epstein-Barr Virus (EBV)* dengan pertumbuhan dan perkembanganya yang sangat agresif. Terapi kanker konvensional seperti kemoterapi, radioterapi, pembedahan dan kombinasi memiliki dampak yang buruk terhadap tubuh. Pencarian obat antikanker sebagai terapi herbal yang diharapkan efektif dan memiliki efek samping yang minimal. Fraksi etil asetat dari kandungan senyawa-senyawa aktif dari tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens Merr. & Perry*) antara lain seperti flavonoid, saponin, dan tannin memiliki potensi sebagai agen antikanker.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi aktivitas sitotoksisitas fraksi etil asetat tanaman sarang semut (Myrmecodia pendens Merr. & Perry) terhadap sel Burkitt's lymphoma. Jenis penelitian ini merupakan penelitian laboratoris murni yang dilakukan secara in vitro. Metode penelitian dengan melakukan uji sitotoksisitas menggunakan metode MTT Assay dengan pembacaan absorbansi sel menggunakan ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) microplate reader dengan pengaturan panjang gelombang 595 nm. Sel Burkitts's lymphoma diberikan perlakuan dengan berbagai konsentrasi fraksi etil asetat, yaitu 125; 250;500 dan 1000 μg/ml.

Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat aktivitas sitotoksik fraksi etil asetat tanaman sarang semut terhadap sel *Burkitt's lymphoma*. Hasil pembacaan absorbansi sel menggunakan ELISA *reader* pada konsentrasi 125 μg/mL besar persentase kematian sel sebesar 98.82% yang menunjukkan data tersebut bias. Analisis secara deskriptif menunjukkan bahwa fraksi etil asetat tanaman sarang semut terhadap sel *Burkitt's lymphoma* memiliki data yang bias karena tidak sesuai dengan fenomena *dose-dependent* maka tidak dapat membuktikkan potensi sitotoksik. Kesimpulan menunjukkan bahwa disimpulkan bahwa fraksi etil asetat tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens Merr. & Perry*) tidak mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel *Burkitt's lymphoma* secara *in vitro*.

Kata Kunci: Myrmecodia pendens, sitotoksisitas, sel Burkitt's lymphoma, Fraksi etil asetat

Abstract: Cancer is one of the chronic diseases that cause death and is the leading cause of death in the world. Raji cells is from the Burkitt's lymphoma cancer that infected by Epstein-Barr Virus (EBV) with very aggressive growth and development characteristics. Conventional cancer therapies such as chemotherapy, radiotherapy, surgery and combinations have a negative impact for the patient's body. Searching for anticancer drugs as herbal therapies is expected to be effective and have minimal side effects. Ethyl acetate fraction from the content of active compounds from ant nest plants (Myrmecodia pendens Merr. & Perry), among others, such as flavonoids, saponins, and tannins have the potential as anticancer agents

This study aims to examine the potential cytotoxicity activity of ethyl acetate fraction of ant nest plants (Myrmecodia pendens Merr. & Perry) towards Burkitt's lymphoma cells. This type of research is pure laboratory research conducted in vitro. The research method by conducting cytotoxicity tests using the MTT Assay method with cell absorbance readings using ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) microplate reader by setting a wavelength of 595 nm. Burkitts's lymphoma cells were treated with various concentrations of ethyl acetate fractions, namely 125; 250;500 and 1000 μ g / ml

The results showed that there was not cytotoxic activity of ethyl acetate fraction of ant nest plants (Myrmecodia pendens Merr. & Perry) towards Burkitt's lymphoma cells because there was bias result that can't prove there was cytotoxicity. The explanation descriptively the ethyl acetate fraction of ant nest plants (Myrmecodia pendens Merr. & Perry) towards Burkitt's lymphoma cells have the greatest cell death in lowest concentration (125 μ g / ml) at 98.82 % that shows this data is bias because that results is not suitable with dose-dependent phenomenone. Based on the results of these studies, it can be concluded that the ethyl acetate fraction of the ant nest plant (Myrmecodia pendens Merr. & Perry) has not cytotoxic activity towards Burkitt's lymphoma cells in vitro.

Keywords: Myrmecodia pendens, Cytotoxicity, Burkitt's lymphoma cell, Ethyl acetate fraction

PENDAHULUAN

Kanker adalah penyakit yang dicirikan dengan adanya pertumbuhan sel yang tak terkendali, menginvasi ke jaringan sekitarnya dan menyebar (metastasis) ke bagian tubuh yang lain. Pada kanker ,sel kehilangan fungsi kontrolnya terhadap daur sel maupun fungsi homeostasis, sehingga sel dapat berproliferasi terus-menerus dan membentuk jaringan abnormal¹.

Kanker merupakan masalah kesehatan masyarakat utama di seluruh dunia dan merupakan penyebab kematian kedua terbesar di Amerika Serikat². Prevalensi penyakit kanker di Indoenesia cukup tinggi, menurut data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013 yaitu 1,4 per 100 penduduk atau sekitar 347.000 jiwa. Salah satu jenis kanker yaitu kanker kepala dan leher yang dilaporkan terdapat 650.000 ribu kasus baru di seluruh dunia per tahun

dengan angka kematian mencapai 350.000 ribu per tahun³.

Kanker memiliki beberapa tipe, diantaranya beberapa adalah kanker payudara, kanker kolorektal, kanker paru, kanker kepala dan leher. Kanker kepala dan leher merupakan salah satu jenis kanker yang prevalensi nya kian meningkat, beberapa contoh dari kanker kepala dan leher adalah tumor kelenjar parotid, kelenjar sublingualis, kelenjar submandibularis, kelenjar tiroid dan kelenjar limfa⁴. Sebanyak 2/3 kanker kepala dan leher dapat mengalami metastasis ke kelenjar limfonodi, sehingga termasuk tipe kanker kelenjar limfa⁵.

Burkitt's lymphoma merupakan jenis kanker kelenjar limfa dan termasuk dalam subgrup limfoma non-Hodgkin agresif dengan waktu replikasi yang cepat dan berasal dari limfosit B. Pemberian nama *Burkitt's lymphoma* merujuk kepada penemu penyakit yaitu Denis Parsons Burkitt, yang menyatakan bahwa distribusi geografis nya terjadi di zona endemik *Plasmodium falciparum* malaria⁶.

Kanker jenis ini salah satu penyebabnya berhubungan dengan Epstein-Barr dan paling sering ditemukan di daerah endemik malaria di daerah khatulistiwa Afrika dan Papua Nugini (disebut *Burkitt's lymphoma* endemik). Kasus insidensi tinggi yang muncul berupa kasus tumor rahang atau perut pada anak dan 100% menunjukan positif virus Epstein- $Barr^7$.

Perawatan untuk penderita penyakit Burkitt's lymphoma dibutuhkan perawatan yang intensif dan siklus singkat dikarenakan sel-sel dari Burkitt's lymphoma memiliki waktu pembelahan yang singkat dan sangat agresif. Pilihan utama perawatannya adalah dengan terapi konvensional yaitu kemoterapi, namun perawatan kemoterapi ataupun radioterapi sering menimbulkan hal yang tidak menguntungkan bagi pasien dan penggunaan kemoterapi masih dianggap kurang efektif untuk pengobatan kanker⁸. Sehingga dibutuhkan terapi lain dengan tujuan efek samping minimal bagi tubuh.

Indonesia akan kaya keanekaragaman hayati dapat yang dimanfaatkan khasiatnya sebagai obat. Beberapa tanaman herbal yang sudah dimanfaatkan sebagai obat herbal sebagai antikanker seperti Tapak Dara (Vinca rosea), Daun Sambiloto (Andrographis paniculata (Burm.f.) Nees) dan Tanaman sarang semut (Myrmecodia pendens Merr. & Perry).

Tanaman sarang semut (Myrmecodia pendens Merr. & Perry) merupakan tumbuhan epifit asal papua dari hydnophytinae (rubiaceae) yang dapat bersimbiosis dengan semut dan dikatakan epifit karena menempel pada tanaman lain, namun tidak hidup secara parasit terhadap inangnya⁹. Sarang semut merupakan tanaman yang berasal dari Papua. Walaupun sebenarnya sarang semut ini tidak hanya terdapat di Papua, namun keragaman sarang semut di pulau tersebut memang paling tinggi hingga 10 varietas¹⁰.

Tanaman sarang semut memiliki spesialisasi yaitu ujung batangnya yang menggelembung (hyptocotyl) berbentuk bulat saat muda, menjadi lonjong memendek atau memanjang setelah tua dan bagian luar dari tanaman ini seperti berduri, untuk melindungi dari pemangsa herbivora. Masyarakat menduga batang yang

menggelembung itu sebagai umbi, jika dilihat dari bentuknya. Bagian batang pada tanaman sarang semut memiliki keunikan yaitu terdapat rongga-rongga yang dijadikan rumah oleh kawanan semut, sehingga tanaman ini lazim disebut dengan sarang semut⁹. Tanaman ini berpotensi untuk pengobatan macam penyakit seperti hemorrhoid, sakit punggung, mimisan, gangguan asam urat, stroke, iantung koroner, TBC, tumor dan juga kanker¹¹.

Tanaman sarang semut memiliki beberapa senyawa aktif yang memiliki manfaat, antara lain flavonoid, tanin dan polifenol yang memiliki fungsi sebagai antioksidan dalam tubuh. Selain itu terdapat juga senyawa aktif lainnya yang bermanfaat seperti tokoferol, magnesium, kalsium, besi, fosfor, natrium dan seng¹¹. Senyawa bioaktif di dalam kandungan tanaman sarang semut yang berperan sebagai senyawa antikanker adalah flavonoid dan pada senyawa polifenol juga memiliki khasiat sebagai antikanker^{11,12}.

Uji sitotoksisitas merupakan evaluasi yang terstandarisasi untuk menentukkan apakah suatu material mengandung bahan yang berbahaya (toksik) secara biologis¹³. Uji sitotoksisitas tersebut menggunakan metode yang umum digunakan yaitu MTT assay merupakan metode

kolorimetrik untuk mengukur viabillitas sel. MTT assay didasarkan pada reduksi garam kuning tetrazolium oleh sistem reduktase yang mengalami konversi MTT menjadi kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut oleh air¹⁴.

Berdasarkan uraian tersebut diatas, maka penting dilakukan penelitian mengenai uji sitotoksisitas fraksi etil asetat tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens Merr. Perry*) terhadap sel *Burkitt's lymphoma*.

BAHAN DAN CARA

1. Pembuatan ekstrak dan fraksi etil asetat tanaman sarang semut (Myrmecodia pendens Merr. & Perry).

Tanaman M.pendens Merr. & Perry dipilih dan diambil sebanyak 1000 gram kemudian dicuci dengan air mengalir dan dipotong menjadi beberapa bagian. Setelah potongan М. pendens itu, tanaman dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama 5 jam. Kemudian, setelah kering tanaman dijadikan serbuk menggunakan mesin penyerbuk hingga halus. Sebelum dilakukan proses maserasi, tanaman M. pendens yang sudah berbentuk serbuk ini akan dilakukan proses penyaringan lemak terlebih dahulu dengan cara direndam dalam

petroleum eter agar tidak mengganggu proses ekstraksi.

Proses maserasi dilakukan selama 24 3 kali jam dengan pengulangan menggunakan pelarut etanol 96%. Hasil maserasi kemudian disaring sebanyak 3 kali menggunakan corong bruncher sehingga didapat filtrat I. Filtrat I kemudian diuapkan dengan waterbath, sedangkan ampasnya kembali dimaserasi menggunakan pelarut yang sama selama 24 jam. Setelah itu, filtrat disaring lagi sehingga didaptkan filtrat II dan ampasnya dimaserasi lagi untuk mendapatkan filtrat III. Untuk memperoleh ekstrak kental dengan konsentrasi 100%, filtrat I, filtrat II dan filtrat III dicampur kemudian diuapkan menggunakan vacuum rotary evaporator pada suhu 60-70°C.

Pembuatan fraksi etil asetat dengan sebelumnya dilakukan ekstraksi pada tanaman sarang semut (Myrmecodia pendens Merr. & Perry) dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Setelah itu dilakukan fraksinasi untuk mendapatkan fraksi yang diinginkan. Untuk mendapatkan fraksi etil asetat, maka sebelumnya harus didapatkan hasil lapisan fraksi heksan yang jernih dan lapisan residu heksan, kemudian lapisan residu heksan ditambahkan dengan dengan pelarut n-heksan hingga diperoleh fraksi n-heksan yang jernih dan lapisan

residu n-heksan. Setelah itu, lapisan residu n-heksan ditambahkan dengan pelarut etil asetat hingga diperoleh fraksi etil asetat yang jernih (tidak memberikan hasil positif terhadap pereaksi FeCl₃). Hasil fraksi etil asetat selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan dilakukan *freeze dryer* (-40°C) hingga diperoleh ekstrak kering dari fraksi tersebut. Setelah itu menghasilkan dari beberapa konsentrasi, yaitu 125; 250; 500 dan 1000 μg/ml.

2. Persiapan pembiakan sel *Burkitt's lymphoma*

Sel *Burkitt's lymphoma* dibiakan dalam larutan RPMI-1640, FBS 10%, antibiotik penisillin-streptomisin 2% dan fungizon 0,5%. Sel di inkubasi pada suhu 37°C dengan kelembaban udara 95% dan CO₂ 5%. Setelah itu, melakukan perhitungan sel yang dibutuhkan dengan menggunakan bilik hitung dan didapatkan hasil sel yang diperlukan yaitu 5 x 10⁴ cell/well.

3. Panen sel Burkitt's lymphoma

Sel diambil dari inkubator CO₂ untuk mengamati kondisi sel menggunakan mikroskop inverted. Panen sel dilakukan setelah sel 80% konfluen. Kemudian, buang media

dengan menggunakan mikropipet atau pipet pasteur steril. Pencucian sel diulang 2 kali dengan PBS (volume PBS adalah \pm 1/2 volume media awal. Setelah itu menambahkan tripsin EDTA (tripsin 0,25%) secara merata dan inkubasi di dalam inkubator selama 3 menit dan untuk menginaktifkan tripsin dengan menambahkan media \pm 5 ml, kemudian resuspensi sel dengan pipet sampai sel terlepas satu-satu tidak atau menggerombol. Pengamatan keadaan sel di mikroskop setelah itu transfer sel yang telah lepas satu-satu ke dalam conical steril baru dan setelah itu dilakukan prosedur perhitungan sel dengan counter.

4. Uji sitotoksisitas dengan metode MTT Assay

Uji aktivitas sitotoksik metode MTT menggunakan 96 well-plate atau sumuran. Setelah melakukan panen sel dan perhitungan sel, transferkan sel yang telah diencerkan dengan menggunakan medium ke dalam sumuran, masingmasing 100µl, usahakan sel tetap homogen dengan cara meresuspensi sel setiap kali mengisi 12 sumuran dan menyisakan 3 sumuran kosong untuk kontrol media. Kemudian, mengecek

kondisi sel untuk perlakuan sampel dan setelah itu memasukkan 100µl dari fraksi dengan konsentrasi 125; 250; 500 dan 1000 µg/ml kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 37⁰ selama 24 jam.

Sel telah diinkubasi yang kemudian diamati dengan mikroskop inverted untuk setiap perlakuan sel. Kemudian, menambahkan pada masingmasing well atau sumuran termasuk kontrol media dengan 100 µl MTT (5 mg MTT + 1 ml PBS + 9 ml medium RPMI komplit) dan selanjutnnya inkubasi sel selama 2-4 jam didalam inkubator CO₂ . Setelah inkubasi , dilakukan pengamatan sel dengan inverted mikroskop untuk melihat formazan telah jelas terbentuk dan ditambahkan larutan stopper 100µl SDS 10% dalam 0,01 HCL pada masingmasing well atau sumuran. Setelah pemberian larutan stopper, dilakukan pembungkusan 96 well-plate dengan kertas atau alumunium foil dan diinkubasikan di tempat gelap pada temperatur kamar selama satu malam.

Hasil uji sitotoksisitas diperoleh dengan pembacaan absorbansi menggunakan alat ELISA *reader* dengan panjang gelombang 595 nm, lalu perhitungan persentase kematian sel menggunakan rumus:

% Sel Hidup

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

Setelah didapatkan persentase viabilitas sel, selanjutnya dilakukan pengurangan dengan angka 100, maka didapatkan persentase kematian sel yang terjadi.

Hasil Penelitian

Tabel 1. Hasil penghitungan persentase kematian sel

Konsentrasi (µg/ml)	Kematian sel (%)
125	98.82
250	87.72
500	58.1
1000	12.63

Keterangan:

Konsentrasi : Konsentrasi fraksi etil asetat

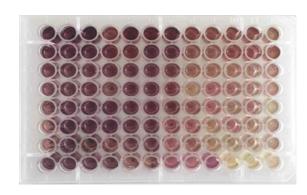
tanaman sarang semut

Kematian : % Kematian sel Burkitt's

lymphoma

Tabel 1. Menunjukkan bahwa dari 4 konsentrasi fraksi etil asetat tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens Merr. & Perry*) memiliki nilai persentase kematian sel *Burkitt's lymphoma* yang

semakin berbeda-beda. tinggi konsentrasi larutan uji semakin rendah kematian persentase yang terjadi. Konsentrasi 1000 µg/ml menunjukkan persentase kematian sel paling kecil yaitu 12,63 % yang berarti hanya sedikit sel-sel yang mengalami kematian. Kematian sel terbesar terjadi pada konsentrasi 125 µg/ml yaitu dengan persentase 98,82 % yang berarti banyak sel-sel yang mengalami kematian pada konsentrasi tersebut atau pada konsentrasi fraksi yang kecil.



Gambar 1. Sumuran sel *Burkitt's lymphoma* setelah *treatment* dengan berbagai konsentrasi fraksi heksan tanaman *M. pendens* dan MTT *Assay*.

Gambar 1. menunjukkan sumuran 96 well plate yang bermakna warna ungu merefleksikan banyaknya sel yang hidup sedangkan sumuran berwarna kuning merefleksikan semakin banyak sel yang mengalami kematian.

Pembahasan

Berdasarkan Gambar 1. menunjukkan hasil uji sitotoksisitas dengan metode pengamatan dengan MTT pada sumuran pada fraksi etil asetat tanaman sarang semut terhadap sel Burkitt's lymphoma yang dapat diintepretasikan warna ungu pada sumuran merefleksikan banyaknya sel yang hidup sedangkan sumuran berwarna kuning merefleksikan semakin banyak sel yang mengalami kematian¹⁵.

Intensitas warna ungu yang terbentuk sebanding dengan jumlah sel yang aktif melakukan metabolisme atau dengan kata lain sebanding dengan jumlah sel yang hidup. Hal ini menunjukkan pada beberapa konsentrasi sumuran yang berwarna ungu yang berarti terdapat banyak sel yang hidup mengindikasikan fraksi etil asetat tanaman sarang semut tidak menyebabkan kematian atau tidak memilki potensi sitotoksik terhadap sel Burkitt's lymphoma yang diujikan. Pada sumuran diperoleh intensitas warna ungu dan kuning yang tidak merata.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi etil asetat tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens Merr. & Perry*) tidak memiliki potensi sitotoksisitas terhadap sel Burkitt's *lymphoma*. Hal tersebut dapat dilihat pada konsentrasi tertinggi (1000 µg/ml) menyebabkan kematian sel paling sedikit, sedangkan pada

konsentrasi terendah (125 μ g/ml) menghasilkan persentase kematian sel yang tinggi (98,82).

Menurut CCRC (2013) semakin tinggi konsentrasi larutan uji semakin rendah persentase kematian sel yang terjadi. Penelitian yang dilakukan oleh Darma, et al (2009) menunjukkan adanya fenomena dose dependent atau terdapat hubungan antara konsentrasi larutan. uji dengan efek toksik yang ditimbulkan. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa efek toksik meningkat seiring peningkatan konsentrasi yang berarti semakin kecil sel yang hidup. Tetapi, fenomena dose-dependent tersebut tidak terjadi pada penelitian ini yang menunjukkan hasil konsentrasi tinggi (1000 ug/mL) menghasilkan persentase kematian sel yang rendah (12.63%) dan konsentrasi rendah (125) $\mu g/mL$) menghasilkan persentase kematian sel yang tinggi (98.82%). Hal tersebut menunjukkan bahwa hasil penelitian bias atau mengalami kegagalan dalam prosedur.

Kegagalan tersebut dapat mempengaruhi hasil pembacaan absorbansi dan perhitungan persentase kematian sel yang terjadi. Kegagalan-kegagalan yang dapat terjadi yaitu antara lain pada hasil sumuran setelah dilakukan *treatment* menghasilkan hasil absorbansi yang bias

sehingga menghasilkan perhitungan persentase kematian sel yang bias juga. Faktor yang menyebabkan hasil absorbansi menjadi bias merupakan salah satunya dari sampel yang berwarna yang dapat memberikan absorbansi pada pembacaan ELISA *reader*¹⁵.

Faktor kegagalan lainya adalah penggunaan pelarut DMSO pada prosedur pengenceran untuk masing-masing konsentrasi fraksi uji. Menurut Sarker (2006) pelarut DMSO dan pelarut organik lainya tidak biasanya memberikan hasil yang baik dalam hal kelarutan dan ketidakcocokan dalam media uji , serta memiliki efek toksik tertentu pada pengujian organisme atau pada ekstrak uji. Berdasarkan hal tersebut maka bias nya hasil absorbansi dapat melalui efek toksik yang dikontribusi oleh pelarut DMSO yang terbaca pada pembacaan absorbansi dengan ELISA reader serta disimpulkan hasil itu bukan dari absorbansi persentase kematian sel, tetapi efek toksik dari pelarut DMSO tersebut¹⁶.

Faktor kegagalan lainya yang dapat terjadi yaitu tidak dilakukan penggantian *tip* setiap konsentrasi yang berbeda pada proses *treatment*pada sel di dalam sumuranyang menyebabkan terjadinya kontaminasi sehingga menyebabkan hasil absorbansi yang bias. Menurut Gilson (2018) untuk mencegah terjadinya kontaminasi diperlukan prosedur

penggantian *tip* pada setiap dilakukan *pippeting*. Kemungkinan penyebab bias yaitu kontaminasi pipet-ke-sampel dengan kondisi menggunakan *tip* atau pipet yang sudah terkontaminasi dan kontaminasi sampel-ke-sampel (*sample carryover*) dengan kondisi menggunakan *tip* bekas untuk setiap sampel yang berbeda¹⁷.

Berdasarkan pembahasan tersebut dikatakan tidak terdapat potensi sitotoksik pada fraksi etil asetat tanaman sarang semut terhadap sel *Burkitt's lymphoma* yang dapat ditunjukkan pada persentase kematian sel yang terjadi dari masing-masing konsentrasiyang menunjukkan hasil penelitian tidak sesuai dengan hipotesis penelitian.

SIMPULAN

Fraksi etil asetat tanaman sarang semut (Myrmecodia pendens Merr. & Perry) tidak memiliki potensi sitoktoksik terhadap sel Burkitt's lymphoma.

SARAN

- Perlu dilakukan uji MTT Assay yang berulang terhadap sel uji agar mendapatkan hasil absorbansi yang akurat.
- Perlu perhatian terhadap pemahaman penggunaan instrumen penelitian dan pemahaman terhadap prosedur pengujian MTT Assay secara runtut dan jelas

DAFTAR PUSTAKA

- Darma, A. P., Ashari, R. A., Nugroho, P. A., Monikawati, A., Fauzi, I. A., Hermawan, A., et al. 2009. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanolik Herba Ciplukan (Physalis angulata L.) Pada Sel Kanker Leher Rahim HeLa Melalui Modulasi Ekspresi Protein p53, vol.1, no.2, pp.1-10.
- Siegel, R. L., & Miller, K. D. 2017.
 Cancer Statistics. CA Cancer Journal Clinical, vol.67, no.1, pp.7-30.
- Syrigos, K. N., Karachalios, D., Karapanagiotou, E. M., Nutting, C. M., Manolopoulus, L., & Harrington, K. J. 2009. Head and Neck Cancer in Elderly: An Overview on The Treatment Modalities. *Elseiver:* Cancer Treatments Review , pp.237-345.
- American Cancer Society. 2015.
 Diakses 29 Maret, 2018, dari
 American Cancer Society
- Yamamoto, E., Shibuya, H.,
 Yoshimura, R. -i., & Miura, M.
 2002. Site Specific Dependency of Second Primary Cancer in Early Stage Head and Neck Squamous Cell

- Carcinoma. AmericanCancer Society, vol .94, no.7, pp.2007-2014.
- 6. Whitten, J. 2012. Burkitt's Lymphoma: Case Review. *Pathology Case Review*, vol.17, no.2, pp.9-83.
- 7. Chabay, P., & Preciado, M. V. 2016. Epidemiology of Epstein-Barr virus-associated pediatric lymphoma. *Elseiver*, vol.73, no.1, pp.47-54.
- 8. Murti, K. 2015. Burkitt's Lymphoma.

 Jurnal Kedokteran dan Kesehatan,
 vol.2, no.2, pp.150-156.
- 9. Crisnaningtyas, F., & Rachmadi, A. T. 2010. Pemanfaatan Sarang Semut (Myrmecodia pendans) Asal Kalimantan Selatan Sebagai Antibakteri. *Jurnal Riset Industri Hasil Hutan*, vol.2, no.2, pp.31-35.
- 10. Muhammad, A. 2017. Sarang Semut dan Buah Merah Pembasmi Ragam Penyakit Ganas, Laksana Publish.
- 11. Frengki, & Roslizawaty. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Sarang Semut Lokal Aceh. *Jurnal Medika Veterinaria*, vol.8, pp.60-62.
- 12. Engida, A. M., Kasim, N. S., Tsigie,
 Y. A., Ismadji, S., Huynh, L. H., &
 Ju, Y.-H. 2012. Extraction,
 identification and quantitative HPLC
 analysis of flavonoids from sarang

- semut (Myrmecodia pendans). *Elseiver*, vol.41, pp.392-396.
- 13. CCRC. 2013. Cancer
 Chemoprevention Research Center.
 Diakses dari Cancer
 Chemoprevention Research Center.
- 14. Merloo, J. v., Kaspers, G. J., & Cloos, J. 2011. Cell Sensitivty Assays: The MTT Assay. Springer-Science, Business Media.
- Dona, R., Sulistyani, N., & Nurani,
 L. H. 2016. Uji Sitotoksisitas dan
 Antiproliferatif Ekstrak Etanol Daun
 Leunca (Solanum nigrum L.)
 terhadap Sel Raji. Pharmaciana, pp.
 1-10.

- Sarker, S. D., Latif, Z., & Gray, A. I.
 2006. Natural Products Isolation
 (2nd ed.). Totowa, New Jersey:
 Humana Press.
- 17. Gilson. 2018. Guide to Pippeting, Handbook (3th ed.), (p. 32-33)