

**UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL KULTUR AKAR
CEPLUKAN (*Physalis angulata* L.) YANG DITUMBUHKAN
PADA MEDIA MURASHIGE-SKOOG DENGAN
PENGURANGAN KONSENTRASI NITRAT
TERHADAP SEL MYELOMA**

SKRIPSI



Oleh :

**LENI DAMAYANTI
K 100040064**

FAKULTAS FARMASI

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kanker merupakan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol diikuti proses invasi ke jaringan sekitar dan penyebarannya (metastatis) ke bagian tubuh yang lain. Sebagai sifat utama sel kanker ditandai dengan hilangnya kontrol pertumbuhan dan perkembangan sel kanker tersebut (King, 2000).

Berdasarkan daftar Badan Kesehatan Dunia (WHO) angka kematian yang disebabkan oleh kanker sangat tinggi, tidak hanya di Indonesia melainkan di berbagai negara di dunia (Anonim, 2007). Sedangkan menurut Menteri Kesehatan Indonesia, Siti Fadilah Supari, pada tahun 2005 jumlah penderita kanker di Indonesia mencapai 6% dari populasi (Siswono, 2005).

Dewasa ini banyak dikembangkan obat-obatan untuk antikanker baik yang berasal dari bahan kimia maupun yang berasal dari bahan alam yang dikenal sebagai bahan obat-obatan tradisional. Antikanker diharapkan mempunyai toksisitas selektif artinya dapat menghancurkan sel kanker tanpa merusak jaringan normal (Nafrialdi dan Ganiswara, 1995). Obat antikanker yang ideal akan membasmi sel kanker tanpa merugikan jaringan normal. Sampai sekarang ini belum banyak obat yang memenuhi kriteria tersebut sehingga perlu dikembangkan obat baru yang mempunyai efek terapi yang baik (Katzung, 1995). Salah satu tanaman yang mempunyai efek antikanker adalah ceplukan (Diah, 2007).

kelemahan karena dipengaruhi oleh waktu panen, faktor lingkungan, kelembaban sehingga berpengaruh pada kandungan senyawa aktifnya. Oleh karena itu, budidaya alternatif sangat diperlukan untuk menghasilkan senyawa-senyawa metabolit sekunder dan dapat mengatasi keterbatasan tersebut. Produksi metabolit sekunder dimungkinkan dengan teknik kultur jaringan tanaman (Indrayanto, 1988). Teknik kultur *in vitro* digunakan dalam usaha produksi metabolit sekunder melalui kultur kalus, kultur sel, kultur akar terutama untuk senyawa aktifnya (Santoso dan Nursandi, 2004).

Salah satu cara untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder pada kultur jaringan tanaman adalah dengan melakukan pengurangan kadar total nitrat. Dari beberapa penelitian terbukti bahwa pengurangan kadar nitrat dapat meningkatkan produksi dari capsaicin pada *Capsicum frutescens*, antrakininon pada *Morinda citrifolia* dan antosianin pada spesies *Vitis* (Ramachandra dan Ravishankar, 2002). Kultur akar juga dapat menghasilkan metabolit sekunder, bahwa antosianin dihasilkan dari kultur akar *Rhapanus sativus* L (Fumi Betsui, *et al*,2004). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pengurangan konsentrasi nitrat terhadap produksi metabolit sekunder melalui kultur akar ceplukan (*Physalis angulata* L.) yang diekstraksi dengan etanol kemudian diuji efek sitotoksiknya terhadap sel Myeloma dengan metode MTT.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut dapat dirumuskan masalah sebagai berikut: apakah ekstrak etanol kultur akar ceplukan (*Physalis angulata* L.) yang ditumbuhkan pada media Murashige-Skoog dengan pengurangan konsentrasi nitrat mempunyai efek sitotoksik terhadap sel Myeloma yang lebih poten dibandingkan dengan ekstrak etanol tanaman utuhnya dan mengetahui kandungan kimia kultur akarnya?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak etanol kultur akar ceplukan (*Physalis angulata* L.) yang ditumbuhkan pada media Murashige-Skoog dengan pengurangan konsentrasi nitrat terhadap sel Myeloma dan mengetahui kandungan kimia kultur akarnya.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Ceplukan (*Physalis angulata* L.)

Ceplukan merupakan tanaman herba menahun yang tumbuh di daerah tropis termasuk Afrika, Asia, Amerika (Anonim^a, 2005). Tanaman ceplukan (*Physalis angulata* L.) memiliki klasifikasi lengkap sebagai berikut:

Divisio : Spermatophyta

Sub divisio : Angiospermae

Familia : Tubiflorae (Solanales, Pensonatae)

Ordo : Solanaceae

Genus : *Physalis*

Species : *Physalis angulata* L

(Steenis, 1997)

Tanaman ceplukan memiliki ciri-ciri berupa herba 1 tahun tegak, tinggi 0,1-1 m. Bagian yang hijau berambut pendek atau boleh dikatakan gundul. Batang berusuk bersegi tajam, berongga. Helaian daun bulat telur memanjang, bentuk lanset, dengan ujung runcing, bertepi rata atau tidak, 5-15 kali 2,5-10,5 cm. Tangkai bunga tegak dengan ujung yang mengangguk, langsing, lembayung, 8-23 mm, kemudian tumbuh sampai 3 cm. Kelopak bercelah 5, berbagi kurang dari separo jalan, dengan taju-taju bersudut 3, runcing, hijau, dengan rusuk yang lembayung. Mahkota berbentuk lonceng lebar, tinggi 7-9 mm, kuning muda dengan pangkal hijau, tepian berlekuk 5 tidak dalam, dalam leher dengan noda-noda coklat atau kuning coklat, di bawah tiap noda terdapat kelompokan rambut-rambut pendek rapat yang berbentuk V (Steenis, 1997). Buahnya ditutupi oleh kelopak dan dapat dimakan (Hyene, 1987).

Physalis angulata L. dikenal dengan nama: daun boba (Ambon), daun kopokopi (Maluku), daun Loti-loto (Maluku), leletop (Sumatera Timur), cecendet (Sunda), cecendetan (Sunda), cecendet kunir (Sunda), cecenet (Sunda), cecenetan (Sunda), cicendet (Sunda), cicendetan (Sunda), cicenet (Sunda), cicindit (Sunda), ceplukan (Jawa), ceplukan sapi (Jawa), ceplokan (Jawa), ciplukan (Jawa), ceplukan

Studi fitokimia terhadap tanaman ceplukan dimaksudkan untuk mengetahui berbagai tipe aktivitas biologinya, dan berbagai kandungan kimianya termasuk flavonoid, alkaloid, dan berbagai macam steroid (Anonim^a, 2005). Buahnya mengandung 0,8% asam sitrat, vitamin A dan P, kira - kira 30 mg vitamin C dan 2,8 mg vitamin B12 per 100 g, juga mengandung banyak pektin (Anonim^b, 2005).

Pemanfaatan tanaman ceplukan di Amerika Utara dan Amerika Selatan digunakan untuk pengobatan penyakit akibat infeksi bakteri dan virus, serta untuk terapi kanker dan leukemia (Anonim^a, 2005), asma, masalah urinari, reumatik, dan tumor (Silva, *et al.*, 2005).

2. Kultur Jaringan Tanaman

Kultur jaringan tanaman adalah teknik untuk menumbuhkan organ, jaringan, dan sel tanaman pada media hara cair atau agar padat yang dapat menghasilkan kalus yaitu massa atau sel-sel yang tidak tertata (Wetter dan Constabel, 1991). Kultur jaringan sesuai definisinya sebagai teknik budidaya sel, jaringan, dan organ tanaman dalam suatu lingkungan yang terkendali dan dalam keadaan aseptik atau bebas mikroorganisme mengandung prinsip dasar yang jelas yaitu bahan tanam yang bersifat totipoten dan budidaya yang terkendali (Santoso dan Nursandi, 2004).

Beberapa hal yang mendukung dan berpengaruh pada teknik kultur jaringan tanaman adalah:

a. Media

Macam-macam media banyak sekali diantaranya adalah media, Knudson C,

garam anorganik media yang tinggi dan mengandung ion ammonium dan nitrat sebagai sumber nitrogen (Yusnita, 2003).

Komponen pada media kultur jaringan tanaman meliputi makronutrien, mikronutrien, zat besi, vitamin-vitamin, sumber karbon, dan zat pengatur tumbuh (Dodds dan Roberts, 1995).

1) Makronutrien

Kultur jaringan membutuhkan suplai senyawa inorganik secara kontinyu, baik dari karbon, hidrogen, oksigen, dan elemen penting yang dibutuhkan dalam jumlah besar. Makronutrien terdiri dari nitrogen, fosfor, potasium, kalsium, magnesium, dan sulfur. Nitrogen ditambahkan dalam jumlah besar dalam bentuk ion nitrat (NO_3^-) atau ion amonium (NH_4^+). Peranan unsur N pada tanaman terutama sebagai penyusun ikatan N yaitu protein, basa organik, enzim, vitamin dan klorofi. Magnesium diberikan dalam bentuk magnesium sulfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Sulfur diberikan dalam bentuk Na_2SO_4 . Fosfor ditambahkan dalam bentuk $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , atau $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$. Potasium ditambahkan dalam bentuk KCl, KNO_3 , atau KH_2PO_4 . Sedangkan kalsium diberikan dalam bentuk $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

2) Mikronutrien

Mikronutrien dibutuhkan oleh semua sel tanaman dalam jumlah kecil tetapi sama pentingnya dengan kebutuhan akan makronutrien, vitamin, dan zat pengatur tumbuh. Elemen ini sangat penting bagi tumbuhan tingkat tinggi. Elemen mikro ini

meliputi Besi (Fe), Mangan (Mn), Zink (Zn), Boron (B), Molybdenum (Mo),

seng (Zn), boron (B), molibdenum (Mo), tembaga (Cu), dan klorin (Cl) (Dodds *and* Roberts, 1995).

Unsur Fe berfungsi untuk menyangga kestabilan pH media selama digunakan untuk menumbuhkan jaringan tanaman, untuk pernafasan, dan pembentukan hijau daun (Sriyanti dan Wijayani, 1994). Unsur Mn berperan sebagai aktivator enzim, pembentuk klorofil, pembentuk vitamin C, dan aktif dalam fotosintesis serta metabolisme protein. Unsur Zn berperan sebagai aktivator enzim, penyusun klorofil, dan memacu pembentukan zat tumbuh. Unsur Cu berperan sebagai bagian dari enzim, membantu proses fotosintesis, dan reduksi nitrit. Unsur Cl berperan pada aktivitas enzim. Unsur B berperan sebagai penyusun ikatan-ikatan penting untuk metabolisme karbohidrat, ikut menyusun struktur dinding sel, mengatur penyerapan ion ke dalam sel, dan sebagai aktivator dan inaktivator bagi zat tumbuh. Sedangkan unsur Mo berperan sebagai bagian dari enzim reduktase, ikut dalam metabolisme P, dan sintesis asam askorbat (Santoso dan Nursandi, 2004).

3) Sumber karbon

Sumber karbon yang dianggap standart adalah sukrosa atau glukosa. Sukrosa biasanya digunakan pada konsentrasi 2-3% (Santoso dan Nursandi, 2004).

4) Vitamin

acid dan piridoksin dan ada pula yang ditambahkan panthotenat dan biotin (Santoso dan Nursandi, 2004).

5) Zat pengatur tumbuh

Zat pengatur tumbuh merupakan senyawa organik bukan nutrisi yang dibutuhkan dalam jumlah yang relatif sedikit tergantung pada kebutuhan dan orientasi kultur termasuk pertimbangan bahan apa yang hendak dikultur (Santoso dan Nursandi, 2004).

Zat-zat yang digunakan sebagai pengatur tumbuh adalah:

a) Auksin

Auksin adalah senyawa yang menstimulasi elongasi sel. Auksin ini sangat berguna untuk menstimulasi pertumbuhan akar dan menghambat pembentukan tunas dan memegang peran dalam embriogenesis. Zat-zat yang digolongkan sebagai auksin yaitu asam indolasetat (IAA), asam 2,4-diklorophenoksiasetat (2,4-D), asam 2-metil-4-klorophenoksiasetat (MCPA), asam 2-naftalosiasetat (NOA) (Dodds dan Roberts, 1995).

b) Sitokinin

Sitokinin berperan dalam memacu pembentangan dan pembelahan sel, mengarahkan transport zat hara, mendorong proses morfogenesis, dan pertunasan. Dalam kegiatan kultur jaringan, sitokinin telah terbukti dapat menstimulir terjadinya pembelahan sel, proliferasi kalus, pembentukan tunas, mendorong proliferasi meristem ujung, menghambat pembentukan akar, dan mendorong pembentukan klorofil pada kalus. Sitokinin sintetik yang sering digunakan dalam

yang terbentuk dari hasil penguraian sebagian DNA tua sperma ikan hering (Santoso dan Nursandi, 2004).

c) Gibberilin

Gibberilin (GA) dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan pada berbagai hal seperti mempengaruhi pemanjangan batang atau ruas batang, mendorong pembungaan, induksi buah, dan tumbuhnya mata tunas.

(Santoso dan Nursandi, 2004)

b. Sterilisasi

Pada kultur kalus, khususnya untuk organ-organ yang digunakan sebagai sumber jaringan eksplan harus bebas dari kontaminan alami (George dan Sherrington, 1984) karena sumber eksplan sangat rawan dalam mensintesis metabolit sekunder (Dixon dan Gonzales, 1994). Oleh karena itu perlu dilakukan sterilisasi untuk menjaga kondisi aseptis tersebut (George dan Sherrington, 1984).

Metode sterilisasi yang sering digunakan dalam pengerjaan kultur jaringan tanaman adalah:

1) Pemanasan kering

Metode ini digunakan untuk alat gelas, alat logam, atau alat lain yang tidak hangus pada pemanasan tinggi. Metode ini membutuhkan suhu 160⁰-170⁰C dengan waktu kurang dari 2 jam (Ansel, 1989).

2) Pemanasan basah

Pemanasan basah digunakan untuk sterilisasi larutan media dan alat-alat yang tidak tahan oleh pemanasan tinggi. Alat yang digunakan adalah autoklaf dengan suhu

3) Ultrafiltrasi

Beberapa komponen media misalnya vitamin dan zat pengatur tumbuh tidak stabil dengan pemanasan. Oleh karena itu disterilkan dengan ultrafiltrasi. Diameter lubang dari filter untuk sterilisasi pada metode ini adalah 0,22 mikron (Indrayanto, 1988). Membran penyaring ini bekerja sebagai sekat yang menahan semua partikel dan mikroba yang lebih besar dari ukuran pori pada permukaannya (Ansel, 1989).

4) Sterilisasi kimia

Permukaan area bekerja biasanya disterilkan dengan etanol 70% atau isopropanol 70%. Etanol juga digunakan untuk mensterilkan alat-alat yang sebelum digunakan, yang kemudian dipijarkan di atas lampu spiritus. Bahan tanaman yang akan ditanam juga bisa disterilkan dengan metode ini, yaitu dengan menggunakan 0,5% NaOCl atau larutan kalsium hipoklorit (Indrayanto, 1988).

c. Eksplan

Eksplan adalah suatu organ atau bagian dari tanaman yang digunakan untuk memulai kultur jaringan (Dodds and Roberts, 1995). Eksplan tanaman yang sangat potensial dalam pertumbuhannya adalah organ-organ meristem (George and Sherrington, 1984) yaitu organ yang memiliki kemampuan untuk terus membelah atau tumbuh (Northington and Schneider, 1996), karena pembelahan serta penggandaan sel terjadi hanya di beberapa bagian khusus pada tumbuhan yaitu di tempat jaringan yang bersifat embrionik dan pada sel yang tetap mempertahankan kemampuan untuk membelah (Hidayat, 1995). Bagian meristem tumbuhan ini

Umur fisiologis eksplan berhubungan dengan juvenilitas eksplan, semakin muda daur fisiologisnya keberhasilan kultur semakin besar, karena eksplan mudah untuk diinduksi membentuk kalus atau organ lain. Sebelum digunakan dalam kultur *in vitro*, sumber eksplan diberi perlakuan pendahuluan yang mencakup: musim pada saat pengambilan eksplan, pemberian hara untuk merangsang juvenilitas, pemberian zat pengatur tumbuh dan pemangkasan (Santoso dan Nursandi, 2004).

3. Ekstraksi dengan Cara Maserasi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai (Anonim, 1979). Metode pembuatan ekstrak yang umum digunakan antara lain maserasi, perkolasi, soxhletasi. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna (Ansel, 1989).

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dengan cairan penyari. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol, atau pelarut lain. Sepuluh bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan dalam bejana, lalu dituangi 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari sari dikerai, ampas diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya, diaduk dan

dipapatkan dengan cara diuapkan pada tekanan rendah dan suhu 50°C hingga konsentrasi yang dikehendaki (Anonim, 1986).

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Sedangkan kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Anonim, 1986).

4. Kanker

Kanker adalah penyakit yang ditandai dengan proliferasi yang tidak terkontrol dan mengarah pada invasi jaringan di sekitarnya serta menyebar ke bagian lain dalam tubuh. Aktivitas proliferasi yang tidak terkontrol akan membentuk jaringan abnormal yang disebut neoplasma (King, 2000).

Sifat-sifat sel kanker antara lain:

- a. Kontrol pertumbuhan sudah hilang
- b. Daya melekat sel satu dengan yang lain berkurang
- c. Inhibisi kontak sudah tidak ada
- d. Sistem enzimnya lebih sedikit jumlah/macamnya, misalnya sel kanker tidak mempunyai asparagin sintetase
- e. Enzim-enzim untuk pertumbuhan lebih besar dibanding sel normal

(Mulyadi, 1997)

Kanker sebenarnya merupakan suatu tumor atau neoplasma atau neoplastoma yang terdiri dari tumor jinak (benign, benigna) dan tumor ganas (malignant, maligna,

kanker). Kanker dibedakan menjadi dua yaitu sarkoma dan karsinoma. Sarkoma

Sedangkan karsinoma bersifat epitelial sebagai contoh kanker payudara, kanker lambung, kanker uterus, kanker kulit (Mulyadi, 1997).

Penyebab kanker (karsinogen) dapat digolongkan menjadi beberapa faktor antara lain:

a. Senyawa kimia (zat karsinogen)

Senyawa kimia yang dapat menyebabkan kanker misalnya ter atau jelaga berupa cairan atau gas sebagai hasil pembakaran zat biologi seperti kayu. Di dalam ter banyak mengandung karsinogen berupa benzena, toluen, fenol, aerosol. Pada biji kacang-kacangan yang ditumbuhi jamur *Aspergillus flavus* terdapat aflatoksin yang merupakan karsinogen alami dan dapat menyebabkan kanker hati (Sukardja, 2000).

b. Faktor fisika

Faktor fisika yang terutama adalah radiasi. Pengaruh radiasi pada molekul DNA dapat menimbulkan:

- 1) Perubahan yang dapat kembali (reversibel)
- 2) Molekul DNA berubah (rusak) dan sel akan mati
- 3) Terjadi perubahan pada molekul DNA yang tidak dapat kembali (irreversibel) dan mulai terjadinya kanker (Mulyadi, 1997).

c. Hormon

Pada manusia hormon-hormon endogen atau eksogen dapat menyebabkan kanker payudara, endometrium dan prostat (Velde, *et al.*, 1996).

d. Virus

Rous Sarcoma Virus (RSV) dapat menyebabkan kanker pada ayam, leukemia
PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

perubahan paraneoplas dan neoplastik di dalam servik uteri. Kanker pada sel hepar yang disebabkan virus hepatitis B (HBV) (Velde, *et al.*, 1996)

5. Uji Sitotoksik

Uji sitotoksitas merupakan uji secara *in vitro* dengan menggunakan kultur sel yang digunakan dalam evaluasi keamanan obat, kosmetik, zat-zat tambahan makanan dan digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa (Freshney, 1986).

Uji sitotoksik ini merupakan perkembangan metode untuk memprediksi keberadaan obat sitotoksik baru dari bahan alam yang berpotensi sebagai antikanker (Burger, 1970). Adapun dasar dari uji *in vitro* ini antara lain bahwa sistem penetapan aktivitas biologis akan menghasilkan kurva dosis-respon dan kriteria respon menunjukkan hubungan lurus dengan jumlah sel. Informasi yang diperoleh dari kurva sebenarnya berhubungan dengan efek *in vivo* dari obat yang sama (Freshney, 1986).

Dua metode umum yang digunakan untuk uji sitotoksik adalah metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan biru tripan (*trypan blue*) dan metode MTT *assay* (Junedy, 2005).

Uji sitotoksik dapat menggunakan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan

potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Melannisa, 2004).

6. Sel Myeloma

Suatu neoplasma ditandai dengan adanya proliferasi sel plasma. Penyakit ini timbul pada tulang, dapat soliter, difus atau multipel (Robianto, 2004), penggantian sumsum tulang, dan pembentukan paraprotein (Tierney, *et al.*, 2003).

Myeloma multipel adalah suatu proliferasi malignan dari sel plasma, merupakan gamopati malignan yang paling sering. Sel Myeloma menghasilkan faktor dengan berat molekul rendah yang secara selektif merangsang osteoklas (faktor pengaktif osteoklas). Sel myeloma diduga menjadi dewasa cara abnormal, pendewasaan nukleus terlambat di belakang pendewasaan sitoplasma (Bellanti, 1993).

Medium pertumbuhan untuk sel myeloma adalah RPMI 1640. Media ini mengandung garam-garam yang diperlukan, asam amino dan vitamin untuk pertumbuhan sel. Beberapa media RPMI mengandung bikarbonat atau hepes, glutamin dan serum sebagai tambahan esensial, dapat juga ditambahkan antibiotik, dan 2-merkaptto etanol sebagai bahan non esensial (Mahardika, 2003).

7. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode pemisahan komponen –

pengembangan sangat dipengaruhi oleh macam dan polaritas zat – zat kimia yang dipisahkan. Fase diam yang umum dan banyak digunakan adalah silika gel yang dicampur dengan CaSO_4 untuk menambah daya lekat partikel silika gel pada pendukung (pelat) absorban lain yang banyak dipakai adalah alumina, serbuk selulose, kanji dan sephadex (Mulya dan Suharman, 1995).

Parameter pada kromatografi lapis tipis adalah faktor retensi (Rf), merupakan perbandingan jarak yang ditempuh solut dengan jarak yang ditempuh fase gerak. Adapun rumusnya sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solute (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak (cm)}} \quad (1)$$

Harga Rf umumnya lebih kecil dari 1, sedangkan bila dikalikan dengan 100 akan berharga 1-100, sehingga parameter ini dapat digunakan untuk perhitungan kualitatif dalam pengujian sampel dengan kromatografi lapis tipis (Sumarno, 2001).

E. Landasan Teori

Physalin B dan physalin F yang diisolasi dari *Physalis angulata* dapat menghambat pertumbuhan sel leukemia, K562 (erythroleukemia), APM 1840 (T lymphoid leukemia akut), dan sel B (leukemia B lymphoid akut) (Chiang, *et al.*, 1992).

Penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak etanolik *Physalis angulata* L. mempunyai efek sitotoksik terhadap sel Myeloma dengan IC_{50} 70,92 $\mu\text{g/ml}$ (Diah,

tersebut dan meningkatkan metabolit sekundernya. Produksi metabolit sekunder dimungkinkan dengan teknik kultur jaringan tanaman, misalnya dengan kultur akar juga dapat menghasilkan metabolit sekunder, bahwa antosianin dihasilkan dari kultur akar *Rhapanus sativus* L (Fumi Betsui, *et al*,2004).

Beberapa cara untuk meningkatkan metabolit sekunder pada kultur jaringan tanaman adalah dengan melakukan elisitasi (Mulabagal *and* Sheng, 2003), peningkatan konsentrasi sukrosa dan pengurangan konsentrasi nitrat (Ramachandra *and* Ravishankar, 2002).

F. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori di atas, maka dapat disusun hipotesis, yaitu pengurangan konsentrasi nitrat dapat meningkatkan kandungan senyawa metabolit sekunder kultur akar ceplukan (*Physalis angulata* L.) yang tercermin dari peningkatan efek sitotoksiknya terhadap sel Myeloma.

.