

**AKTIVITAS ANTIOSTEOPOROSIS EKSTRAK METANOL BIJI
PANDAN SAMAK (*Pandanus odoratissimus*) SECARA *IN VITRO*
MENGUNAKAN SEL PREOSTEOBLAS MC3T3-E1**

***IN VITRO ANTIOSTEOPOROSIS ACTIVITY OF METHANOLIC
EXTRACT OF *Pandanus odoratissimus* SEEDS
USING PREOSTEOBLAST CELLS MC3T3-E1***

SKRIPSI SARJANA SAINS

Oleh

CLARISSA SALWA SAFIRA JOHN



**FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS NASIONAL
JAKARTA
2022**

FAKULTAS BIOLOGI UNIVERSITAS NASIONAL

Skripsi, Jakarta Agustus 2022

Clarissa Salwa Safira John

AKTIVITAS ANTIOSTEOPOROSIS EKSTRAK METANOL BIJI PANDAN SAMAK (*Pandanus odoratissimus*) SECARA *IN VITRO* MENGGUNAKAN SEL PREOSTEOBLAS MC3T3-E1

ix + 62 halaman, 9 tabel, 8 gambar, 26 lampiran

Osteoporosis merupakan masalah kesehatan yang sering diderita wanita pascamenopause yang salah satunya disebabkan oleh defisiensi estrogen. Pengobatan osteoporosis umumnya dilakukan dengan *Hormone Replacement Therapy* (HRT) menggunakan hormon sintesis, tetapi penggunaan jangka panjang akan menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan, seperti meningkatkan risiko kanker rahim dan payudara. Pemilihan bahan alam sebagai alternatif pengobatan menjadi salah satu langkah yang dapat dilakukan. Salah satu tumbuhan yang berpotensi untuk pengobatan osteoporosis adalah pandan samak (*Pandanus odoratissimus*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mekanisme antiosteoporosis ekstrak metanol biji pandan samak melalui aktivitasnya dalam menginduksi diferensiasi osteoblas yang ditandai dengan peningkatan aktivitas enzim alkalin fosfatase (ALP). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji pandan samak dapat menginduksi diferensiasi sel preosteoblas MC3T3-E1 yang ditandai dengan peningkatan aktivitas ALP secara signifikan ($p < 0,05$). Perbedaan konsentrasi ekstrak metanol biji pandan samak memberikan pengaruh yang berbeda signifikan dalam meningkatkan aktivitas ALP, dan konsentrasi ekstrak yang memberikan pengaruh terbaik adalah konsentrasi menengah, yaitu 12,5 ppm. Ekstrak metanol biji pandan samak yang digunakan memiliki daya antioksidan yang sangat kuat dengan IC_{50} sebesar 28,908 ppm, dan mengandung senyawa fenol total sebesar 269,64 mg/g, 46,1 mg/g di antaranya merupakan senyawa flavonoid. Hasil analisis flavonoid HPLC menunjukkan adanya 2 senyawa yang terdeteksi, yaitu rutin (0,240 mg/g) dan mirisetin (0,33 mg/g), sedangkan hasil analisis LC-MS/MS menunjukkan adanya berbagai senyawa bioaktif, antara lain sappanone B dan 7,2',3'-Trihydroxy-4'-methoxy-isoflavan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol biji pandan samak memiliki aktivitas antiosteoporosis melalui aktivitasnya dalam menginduksi diferensiasi sel-sel preosteoblas MC3T3-E1 yang ditandai dengan peningkatan aktivitas enzim ALP.

Kata kunci : ALP, antiosteoporosis, MC3T3-E1, *Pandanus odoratissimus*

Daftar bacaan : 104 (1985-2022)

**AKTIVITAS ANTIOSTEOPOROSIS EKSTRAK METANOL BIJI
PANDAN SAMAK (*Pandanus odoratissimus*) SECARA *IN VITRO*
MENGUNAKAN SEL PREOSTEOBLAS MC3T3-E1**

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
SARJANA SAINS DALAM BIDANG BIOLOGI**

Oleh

**CLARISSA SALWA SAFIRA JOHN
206201446036**



**FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS NASIONAL
JAKARTA
2022**

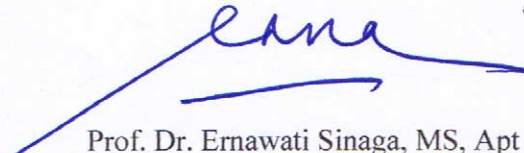
Judul Skripsi : AKTIVITAS ANTIOSTEOPOROSIS EKSTRAK METANOL BIJI
PANDAN SAMAK (*Pandanus odoratissimus*) SECARA *IN VITRO*
MENGUNAKAN SEL PREOSTEOBLAS MC3T3-E1

Nama Mahasiswa : Clarissa Salwa Safira John

Nomor Pokok : 206201446036


MENYETUJUI

Pembimbing Pertama



Prof. Dr. Ernawati Sinaga, MS, Apt

Pembimbing Kedua



Dr. Sri Endarti Rahayu, MSi

Dekan



Dr. Tatang Mitra Setia, MSi.

Tanggal lulus: 15 Agustus 2022

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji penulis ucapkan kepada Allah subḥanahu wata‘ala karena berkat ramhat, ridho, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **AKTIVITAS ANTIOSTEOPOROSIS EKSTRAK METANOL BIJI PANDAN SAMAK (*Pandanus odoratissimus*) SECARA IN VITRO MENGGUNAKAN SEL PREOSTEOBLAS MC3T3-E1**. Selain itu, penulis juga mengucapkan salam dan shalawat kepada Rasulullah shalallaahu alaihi wassalaam karena berkat perjuangan Rasulullah kita dapat merasakan nikmatnya beragama Islam.

Skripsi ini penulis susun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains dalam bidang biologi. Dalam penyusunan skripsi ini, penulis telah mendapatkan banyak bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak, sehingga pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tuaku tercinta, Mamah dan Ayah yang senantiasa mendoakan, mendukung, dan memberikan motivasi sehingga Clarissa bisa menyelesaikan pendidikan ini dengan baik. Terima kasih atas cinta dan kasih sayang yang tulus dari Mamah dan Ayah.
2. Ibu Prof. Dr. Ernawati Sinaga, MS. Apt selaku pembimbing pertama yang telah meluangkan waktunya dengan memberikan saran, masukan, dan memberikan wawasan baru untuk penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Sri Endarti Rahayu, M.Si selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktunya dengan memberikan saran, masukan, dan memberikan wawasan baru untuk penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih ibu telah memfasilitasi semua hal yang terkait dengan penelitian ini.
4. Bapak Drs. Gautama Wisnubudi, M.Si selaku pembimbing akademik dan Ketua Program Studi Fakultas Biologi Universitas Nasional yang telah membimbing penulis selama perkuliahan.

5. Bapak Dr. Tatang Mitra Setia, M.Si selaku Dekan Fakultas Biologi Universitas Nasional Jakarta yang telah mendukung dan memfasilitasi penulis dan mahasiswa lainnya selama perkuliahan.
6. Dosen-dosen Fakultas Biologi Universitas Nasional Jakarta yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat, bimbingan, dukungan, dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan ini.
7. Teman-teman seperjuanganku dari D III TLM (Poyo, Selly, Rapli) yang sudah bersama-sama melewati suka dan duka selama melanjutkan perkuliahan di UNAS. Terima kasih atas semua bantuan kalian selama ini. Semoga Allah memberkahi rencana kalian selanjutnya.
8. Partner penelitianku (Kak Annisa), terima kasih sudah menawarkan aku untuk penelitian bersama. Padahal tadinya enggak kenal sama sekali, akhirnya kenal dan dekat gara-gara penelitian ini. Terima kasih atas suka dan duka yang sudah kita lalui bersama, dari mengupas buah pandan setiap hari selama 2 minggu, lalu dilanjutkan dengan proses memecahkan biji pandan dengan menyewa bulldoser, dan akhirnya pergi ke Malang selama 6 bulan buat penelitian kultur sel.
9. Kak Adi yang sudah meluangkan waktu untuk membantu kita berdua mengupas biji pandan setiap hari selama 2 minggu, dari pagi sampai Ashar. Terima kasih juga sudah membantu kita dari buah pandan sampai di laboratorium sampai selesai maserasi. Terima kasih sudah selalu membantu kita berdua kalau butuh apapun itu.
10. Petugas-petugas kebersihan laboratorium UNAS Bambu Kuning yang sudah membantu kita berdua buat mengupas buah pandan. Terima kasih karena atas bantuan kalian proses mengupas buah pandan jadi lebih cepat.
11. Mbak Unil, Mbak Yuslinda, Mbak Helly dari LSIH Universitas Brawijaya yang sudah banyak membantu kita berdua dari memberi saran, masukkan, dukungan, motivasi, dan pastinya ilmu baru tentang kultur sel. Terima kasih mbak-mbak semua, atas ilmu yang bermanfaat dan bimbingannya sehingga Clarissa bisa menyelesaikan skripsi ini.
12. Pihak Lab Biofarmaka Bogor dan LIPI yang telah membantu dalam pemeriksaan sampel terkait penelitian.

13. Keluarga Fabiona dan seluruh pihak terkait yang tidak dapat penulis ucapkan satu per satu yang telah berjasa secara langsung maupun tidak dalam memberikan bantuan dan saran selama proses penyelesaian skripsi ini.

Penulis sadar sepenuhnya bahwa skripsi ini belum sempurna maka penulis berharap adanya saran yang membangun dari berbagai pihak sehingga dapat menyempurnakan skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Jakarta, 15 Agustus 2022

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II METODE PENELITIAN	5
A. Waktu dan tempat penelitian.....	5
B. Instrumen penelitian.....	5
C. Cara kerja	7
D. Analisis data	20
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN	21
A. Hasil penelitian	21
B. Pembahasan.....	29
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
A. Kesimpulan	39
B. Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	41
Lampiran I Gambar Lampiran	53
Lampiran II Tabel Lampiran	59
Lampiran III.....	62

DAFTAR GAMBAR

Naskah

Gambar 1. Buah dan biji pandan samak yang digunakan dalam penelitian ini.....	5
Gambar 2. Alur uji aktivitas antiosteoporosis	19
Gambar 3. Ekstrak kental biji pandan samak	21
Gambar 4. Kromatogram LC-MS/MS ekstrak metanol biji pandan samak	24
Gambar 5. Kondisi sel setelah diberi ekstrak metanol biji pandan samak dengan konsentrasi 0 ppm (a); 3,125 ppm (b); 6,25 ppm (c); 12,5 ppm (d); 25 ppm (e); 50 ppm (f) dan ditambahkan reagen MTT. Sel yang masih hidup akan membentuk kristal formazan berwarna ungu.	25
Gambar 6. Hubungan log konsentrasi dengan % sel hidup.....	26
Gambar 7. Aktivitas ALP rata-rata kultur sel yang diberi perlakuan ekstrak metanol biji pandan samak (PS) berbagai konsentrasi (6,25 ppm; 12,5 ppm; 25 ppm). Huruf yang berbeda ^a , ^b , ^c , dan ^d menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara satu sama lain.....	27
Gambar 8. Fluoresensi ALP pada sel MC3T3-E1 setelah diberi ekstrak metanol biji pandan samak dengan konsentrasi (a) kontrol; (b) 6,25 ppm; (c) 12,5 ppm; dan (d) 25 ppm.	28

Lampiran

Gambar Lampiran 1. Biji pandan samak yang telah dikeringkan	53
Gambar Lampiran 2. Biji pandan samak yang telah hancurkan.....	53
Gambar Lampiran 3. Penimbangan simplisia biji pandan samak	53
Gambar Lampiran 4. Maserasi simplisia (a) dan penyaringan maserasi simplisia (b)	54
Gambar Lampiran 5. Ekstrak kental metanol biji pandan samak.....	54
Gambar Lampiran 6. Pembuatan media <i>complete</i> (a); Penggantian media sel (b).....	54

Gambar Lampiran 7. Keadaan sel setelah di <i>thawing</i>	55
Gambar Lampiran 8. Keadaan sel setelah di subkultur	55
Gambar Lampiran 9. Sel preosteblas MC3T3-E1 pada perbesaran 40x	55
Gambar Lampiran 10. Sel preosteblas MC3T3-E1 pada perbesaran 100x	56
Gambar Lampiran 11. Sel preosteblas MC3T3-E1 pada perbesaran 200x	56
Gambar Lampiran 12. Pembuatan konsentrasi ekstrak untuk perlakuan	56
Gambar Lampiran 13. Pemberian konsentrasi ekstrak pada sel saat MTT	57
Gambar Lampiran 14. Analisis aktivitas ALP menggunakan CLSM	57
Gambar Lampiran 15. Kurva regresi aktivitas antioksidan: (a) ekstrak metanol biji pandan samak; (b) asam askorbat (larutan pembanding)	57
Gambar Lampiran 16. Kurva regresi uji sitotoksisitas	58
Gambar Lampiran 17. Perhitungan IC ₅₀ uji sitotoksisitas	58

DAFTAR TABEL

Naskah

Tabel 1. Definisi Operasional Variabel (DOV).....	7
Tabel 2. Kadar air, fenol total, dan flavonoid total ekstrak metanol biji pandan samak	22
Tabel 3. Persentase inhibisi ekstrak metanol biji pandan samak.....	22
Tabel 4. Persentase inhibisi asam askorbat	23
Tabel 5. Nilai IC ₅₀ daya antioksidan ekstrak metanol biji pandan samak dan asam askorbat	23
Tabel 6. Hasil analisis flavonoid ekstrak metanol biji pandan samak dengan HPLC	23
Tabel 7. Hasil analisis LC-MS/MS ekstrak metanol biji pandan samak	24
Tabel 8. Hasil uji sitotoksisitas ekstrak metanol biji pandan samak terhadap sel preosteoblas	26
Tabel 9. Rata-rata aktivitas ALP pada kultur sel preosteoblas MC3T3-E1 yang diberi perlakuan ekstrak metanol biji pandan samak	27

Lampiran

Tabel Lampiran 1. Nilai absorbansi dan % inhibisi ekstrak metanol biji pandan samak.....	59
Tabel Lampiran 2. Nilai absorbansi dan % inhibisi asam askorbat.....	59
Tabel Lampiran 3. Nilai absorbansi tiap konsentrasi ekstrak metanol biji pandan samak pada uji sitotoksisitas metode MTT	60
Tabel Lampiran 4. Persentase sel hidup tiap konsentrasi ekstrak metanol biji pandan samak pada uji sitotoksisitas metode MTT	60
Tabel Lampiran 5. Hasil uji aktivitas ALP.....	60
Tabel Lampiran 6. Hasil uji normalitas aktivitas ALP.....	61
Tabel Lampiran 7. Hasil uji homogenitas aktivitas ALP	61
Tabel Lampiran 8. Analisis varians satu arah aktivitas ALP	61
Tabel Lampiran 9. Uji Tukey aktivitas ALP	61