

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit kanker merupakan masalah utama dibidang kedokteran dan menjadi salah satu dari 10 penyebab kematian di dunia. Berdasarkan riset WHO (World Health Organization) pada tahun 2012, sebanyak 32,6 juta manusia hidup dengan penyakit kanker dengan 14,1 juta kasus baru. Kanker payudara merupakan penyakit kanker terbanyak yang menyerang wanita dengan angka kejadian sebesar 43,3% dari total penderita kanker dan angka kematian mencapai 12,9% (IARC, 2012). Kanker payudara merupakan manifestasi dari keganasan yang terjadi pada jaringan payudara yang dapat berasal dari epitel duktus hingga lobusnya. Kanker payudara tidak hanya terjadi pada wanita, tetapi juga ditemukan pada laki-laki dengan frekuensi sekitar 1% (Kemenkes RI, 2015).

Pengobatan kanker pada umumnya dilakukan dengan beberapa cara diantaranya operasi, pengobatan dengan zat kimia (kemoterapi), dan penyinaran (radioterapi). Pengobatan-pengobatan tersebut masih menimbulkan berbagai efek samping. Pengobatan yang dilakukan dengan operasi, dapat berisiko tumbuhnya kembali sel kanker serta penyebaran kanker hingga mencapai kelenjar getah bening. Pengobatan kanker dengan kemoterapi dapat menimbulkan kebotakan atau kerontokan rambut pada bagian tubuh. Pengobatan kanker dengan radiasi dapat mengganggu sel normal yang ada (Kurnijasanti *et al.*, 2008). Pengembangan terapi komprehensif diperlukan untuk mengatasi kanker demi mengurangi angka kematian. Salah satu terapi kanker yang perlu dikembangkan yaitu kombinasi agen kemoterapi dengan suatu senyawa kemopreventif. Pendekatan yang dilakukan untuk menemukan senyawa kemopreventif salah satunya dengan melakukan eksplorasi bahan alam. Penggunaan bahan alam dimaksudkan untuk mengurangi terjadinya resistensi dan meminimalkan efek samping penggunaan obat. Salah satu tumbuhan yang bisa dikembangkan sebagai agen kemopreventif yaitu kemangi (*Ocimum sanctum* L.)

(Haryanti and Katno, 2011). Berdasarkan hasil penelitian, tanaman kemangi memiliki efek farmakologi yaitu immunomodulator, antistress, hepatoprotektif, kemopreventif dan antiinflamasi. Senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman kemangi diantaranya flavonoid, orientin, visenin, eugenol dan asam ursolat (Niture *et al.*, 2006).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji kemangi memiliki aktivitas sitotoksik yang tinggi terhadap beberapa sel kanker manusia, seperti sel neuroblastoma (IMR-32), sel kolon (HT-15 dan HT-29) dan sel paru-paru (A-549) (Sundaram *et al.*, 2011). Penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak etanol akar kemangi terbukti menghambat kelangsungan hidup sel karsinoma paru (NCI-H460). Perlakuan yang diberikan menyebabkan hilangnya potensial membran mitokondria yang merupakan tahap awal apoptosis sel (Sridevi *et al.*, 2016). Hasil penelitian lain membuktikan bahwa ekstrak etanol herba kemangi memiliki efek sitotoksik pada sel kanker kolon (WiDr) dengan nilai IC_{50} 85 μ g/mL dan fraksi kloroform dengan nilai IC_{50} 25 μ g/mL (Haryanti and Katno, 2011). Setiap sel kanker memiliki karakteristik dan mekanisme yang berbeda-beda. Sel kanker T47D mengalami mutasi protein *p53* pada residu 194 (dalam *zinc-binding domain* L2). Hal ini menyebabkan *p53* kehilangan kemampuan untuk regulasi siklus sel karena *p53* tidak dapat berikatan dengan respon elemen pada DNA (Schafer *et al.*, 2000). Berdasarkan fakta-fakta tersebut, serta belum adanya percobaan terhadap sel T47D, maka diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas sitotoksik herba kemangi terhadap sel T47D.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah ekstrak etanol, fraksi polar, semipolar dan nonpolar herba kemangi memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D?
2. Golongan senyawa apakah yang terkandung dalam ekstrak etanol herba kemangi dan fraksi dengan aktivitas sitotoksik paling baik?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol, fraksi polar, semipolar dan nonpolar herba kemangi terhadap sel T47D.
2. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol herba kemangi dan fraksi dengan aktivitas sitotoksik paling baik.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman Kemangi (*Ocimum sanctum* L.)

a. Sistematika Tanaman Kemangi (*Ocimum sanctum* L.)

Ocimum sanctum L. pada umumnya disebut sebagai kemangi atau lampes, memiliki taksonomi :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Lamiales
Suku	: Lamiaceae (Labiatae)
Marga	: <i>Ocimum</i>
Jenis	: <i>Ocimum sanctum</i> L. (BPOM RI, 2008).

b. Kandungan Kimia

Kandungan utama yang terdapat dalam tanaman kemangi yaitu tanin 4,6%, flavonoid, steroid/triterpenoid dan minyak atsiri 2% yang terdiri atas metil kavikol, sineol, linalool, ozimen, kariofilen, eugenol, karvakrol, dan eugenol metil eter (Depkes RI, 1995). Senyawa aktif yang terkandung dalam kemangi diantaranya yaitu orietin, visenin dan asam ursolat (Niture *et al.*, 2006). Senyawa β -sitosterol, asam rosmarinik, apigenin, luteolin dan asam karnosik juga dilaporkan terkandung dalam tanaman kemangi (Baliga *et al.*, 2013).

c. Aktivitas Farmakologi

Kemangi bersifat sebagai adaptogen, memiliki beberapa efek farmakologis diantaranya yaitu antistress, hepatoprotektif, antiinflamasi, immunomodulator, dan kemopreventif (Niture *et al.*, 2006). Selain itu, tanaman kemangi berkhasiat sebagai antidiabetes, antifungi, antimikroba, kardioprotektif, antiemetik, antispasmodik, analgesik dan antikanker (Prakash and Gupta, 2005). Kemangi juga dilaporkan memiliki aktivitas radioprotektif, antipiretik, dan antikoagulan (Kalyan *et al.*, 2012). Bunga, buah, daun, batang, dan akar tanaman kemangi seluruhnya dapat bermanfaat antara lain sebagai ekspektoran, antiasma, antimuntah, hipotensi dan hipolipidemik (Singh, 2010). Penelitian lain menyebutkan bahwa kemangi memiliki aktivitas antidepresan, antioksidan, antifertilitas, antiulser, antikatarak dan antikoagulan (Pandey and Madhuri, 2010).

Penelitian menunjukkan bahwa kemangi memiliki khasiat sebagai antikanker pada sel kanker paru (A549) (Magesh *et al.*, 2009), sel kanker paru (NCI-H460) (Sridevi *et al.*, 2016), sel neuroblastoma (IMR-32), sel kanker kolon (HT-15 dan HT-29) (Sundaram *et al.*, 2011) dan sel kanker kolon (WiDr) (Haryanti and Katno, 2011). Penelitian lain menyatakan bahwa biji kemangi memiliki aktivitas antibakteri terhadap dua bakteri Gram negatif (*Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*). Hasil yang baik juga terlihat pada uji aktivitas antibakteri pada Gram positif (*Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*). Penelitian ini juga mengukur aktivitas antioksidan pada tanaman kemangi. Hasil menunjukkan potensi antioksidan dari yang tertinggi yaitu ekstrak metanol, ekstrak aseton, ekstrak etil asetat, dan ekstrak kloroform (Nurchayanti *et al.*, 2011).

2. Kanker

Kanker merupakan penyakit sel yang memiliki ciri-ciri, pertumbuhan berlebihan yang biasanya membentuk tumor, gangguan diferensiasi sel, bersifat invasif (mampu tumbuh dan berkembang pada jaringan sekitarnya), metastatik (mampu menyebar ke tempat lain yang dapat menyebabkan pertumbuhan yang baru) dan memiliki hereditas bawaan, yang artinya turunan sel kanker kemungkinan dapat menyebabkan suatu kanker. Sel kanker biasanya mengganggu

sel normal dan menyebabkan desakan akibat tumbuhnya tumor, penghancuran jaringan tempat tumor bermetastasis, serta gangguan sistemik lain yang merupakan akibat sekunder dari pertumbuhan sel kanker (Nafrialdi and Gan, 2007).

a. Kanker Payudara

Kanker payudara merupakan pertumbuhan tumor yang diiringi dengan adanya reaksi radang dan pembentukan jaringan ikat padat. Pembentukan jaringan ini dimulai pada duktus dan meluas pada jaringan stroma. Kanker payudara memiliki frekuensi terbesar di negara maju dengan rasio 5:1. Di Indonesia, kanker payudara menempati urutan kedua setelah kanker serviks (Tambunan, 1995).

b. Gejala Kanker Payudara

Gejala kanker payudara biasanya berupa benjolan padat, nyeri pada payudara (awal pertumbuhan kanker tidak terjadi), perubahan warna kulit payudara, adanya kelainan kulit di atas tempat tumbuh tumor, perubahan warna pada payudara (berwarna kemerahan), edema pada lengan dan disertai benjolan pada payudara atau ipsilateral. Keluhan adanya kanker payudara dapat berupa nyeri tulang yang semakin berat dan terus-menerus, nyeri di daerah ulu hati, sesak napas dan batuk yang kronis, muntah, sakit kepala hebat serta gangguan sensorium (Manuaba, 2010).

c. Faktor Risiko Kanker Payudara

Penyebab kanker payudara sejauh ini belum diketahui. Faktor hormon estrogen merupakan faktor endogen yang diduga mempunyai peranan dalam proses kejadian tumor. Keterlambatan saat hamil pertama merupakan predisposisi menderita karsinoma payudara. Selain faktor endogen, terdapat faktor estrogen yaitu angka kejadian kanker payudara pada wanita gemuk lebih banyak, penyebabnya dapat berasal dari faktor makanan (Tambunan, 1995).

Wanita berusia di atas 40 tahun berisiko terkena kanker payudara dan risiko tersebut akan mengalami peningkatan pada keadaan: orang tua (ibu) pernah menderita kanker payudara pada usia muda, anggota keluarga (kakak atau adik) menderita kanker payudara, pernah memiliki riwayat karsinoma disalah satu

payudara, penderita tumor jinak pada payudara, dan kehamilan pertama diatas umur 35 tahun (Tambunan, 1995). Faktor risiko lain terjadinya kanker payudara adalah pemakaian obat-obat hormonal yang digunakan jangka panjang, riwayat operasi kanker ovarium pada usia muda dan riwayat radiasi di daerah payudara pada usia muda (Manuaba, 2010).

3. Sel T47D

Sel T47D adalah *continous cell line* yang diisolasi dari suatu jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. *Continous cell line* sering digunakan karena memiliki beberapa kelebihan yaitu kemampuan replikasinya tidak terbatas, mudah dalam penanganan, memiliki homogenitas yang tinggi serta apabila terjadi kontaminasi mudah diganti dengan *frozen stock* (Burdall *et al.*, 2003).

Sel T47D merupakan sel yang mengalami mutasi pada protein *p53* pada residu 194 (dalam *zinc-binding domain* L2). Hal ini menyebabkan kemampuan *p53* dalam meregulasi siklus sel dan apoptosis berkurang atau hilang. Protein *p53* tidak dapat berikatan dengan *response element* pada DNA, sehingga *p53* kehilangan fungsinya dalam regulasi siklus sel (Schafer *et al.*, 2000).

4. Uji Sitotoksik dengan Metode MTT assay

Uji sitotoksitas merupakan suatu evaluasi yang telah terstandarisasi untuk menentukan suatu material mengandung zat berbahaya (toksik) secara biologis. Syarat yang harus dipenuhi untuk uji ini yaitu sistem pengujian harus menghasilkan kurva dosis-respon dengan variabilitas yang rendah dan reproduibel. Metode yang umum digunakan untuk menetapkan jumlah sel adalah metode kolorimetri MTT *assay*. Prinsip metode ini adalah reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) oleh suatu sistem reduktase. Suksinat tetrazolium termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel hidup, membentuk suatu kristal formazan ungu yang tidak larut dalam air. Penambahan SDS 10% dalam 0,01 N HCl sebagai *reagen stopper* (detergenik) yang akan melarutkan kristal formazan. Absorbansi sel diukur dengan ELISA *reader*. Intensitas pembentukan warna ungu proporsional dengan

jumlah sel yang hidup. Tingkat ketoksikan dapat ditentukan dari nilai absorbansi. Intensitas warna ungu yang semakin besar menandakan jumlah sel yang hidup semakin banyak (Fitriasari *et al.*, 2009).

E. Landasan Teori

Hasil penelitian menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun kemangi dapat digunakan sebagai calon kemopreventif karena dapat menginduksi apoptosis sel kanker paru (A549) melalui *caspase* mitokondria dan dapat menekan pertumbuhan sel kanker paru Lewis (Magesh *et al.*, 2009). Penelitian lain menunjukkan bahwa biji kemangi memiliki aktivitas sitotoksik yang tinggi terhadap beberapa sel kanker manusia, seperti sel neuroblastoma (IMR-32), sel kanker kolon (HT-15 dan HT-29) dan sel kanker paru (A-549) (Sundaram *et al.*, 2011). Ekstrak etanol akar kemangi juga dapat menghambat kelangsungan hidup sel karsinoma paru (NCI-H460). Perlakuan menggunakan ekstrak etanol tersebut menyebabkan hilangnya potensial membran mitokondria yang merupakan tahap awal dari apoptosis sel (Sridevi *et al.*, 2016). Hasil penelitian lain juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol herba kemangi memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan dan dapat menginduksi kematian sel kanker kolon (WiDr) sehingga potensial untuk dikembangkan sebagai agen kemopreventif. Ekstrak etanol memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel WiDr dengan nilai IC_{50} 85 $\mu\text{g/mL}$. Fraksi kloroform herba kemangi merupakan fraksi yang paling aktif dengan nilai IC_{50} 25 $\mu\text{g/mL}$. Fraksi kloroform pada profil KLT menunjukkan adanya deteksi asam ursolat yang merupakan senyawa golongan terpenoid. Senyawa asam ursolat adalah senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas sitotoksik pada tanaman kemangi (Haryanti and Katno, 2011).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa tanaman kemangi mengandung golongan senyawa alkaloid dan saponin pada bagian batang dan daun (Pattanayak *et al.*, 2010). Senyawa golongan flavonoid dilaporkan terdapat pada bagian daun (Vidhani *et al.*, 2016), serta fenolik (eugenol) dan terpenoid (asam ursolat) terdapat dalam ekstrak etanol herba kemangi (Niture *et al.*, 2006).

F. Hipotesis

Ekstrak etanol, fraksi polar, semipolar, dan nonpolar herba kemangi (*Ocimum sanctum* L.) memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D. Golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol herba kemangi yaitu alkaloid, saponin, flavonoid, fenolik, dan terpenoid. Golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi kloroform herba kemangi adalah terpenoid.