

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni*)

1. Sistematika tanaman

Klasifikasi tanaman kayu manis (*Cinnamomum burmanni* (Nees & T. Ness.) Bl.) yaitu :

Kerajaan : Plantae

Divisio : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Laurales

Suku : Lauraceae

Marga : *Cinnamomum*

Spesies : *Cinnamomum burmanni* (Nees & T. Ness.) Bl.

Pohon kayu manis merupakan tumbuhan asli Asia Selatan, Asia Tenggara dan daratan Cina, Indonesia termasuk di dalamnya. Tumbuhan ini memiliki nilai ekonomi dan merupakan tanaman tahunan yang memerlukan waktu lama untuk diambil hasilnya. Hasil utama kayu manis adalah kulit batang dan dahan, sedangkan hasil samping adalah ranting dan daun. Komoditas ini selain digunakan sebagai rempah, hasil olahannya seperti minyak atsiri dan oleoresin banyak dimanfaatkan dalam industri-industri farmasi, kosmetik, makanan, minuman, rokok, dan lain-lain (Heyne 1987).

2. Morfologi tanaman

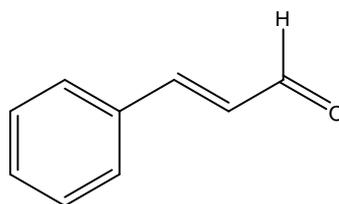
Tinggi tanaman kayu manis berkisar antara 5 – 15 m, kulit pohon berwarna abu-abu tua berbau khas, kayunya berwarna merah coklat muda. Daun tunggal, kaku seperti kulit, letak berseling, panjang tangkai daun 0,5 – 1,5 cm, dengan 3 buah tulang daun yang tumbuh melengkung. Bentuk daun elips memanjang, panjang 4,00 – 14,00 cm, lebar 1,50 – 6,00 cm, ujung runcing, tepi rata, permukaan atas licin warnanya hijau, permukaan bawah bertepung warnanya keabu-abuan. Daun muda berwarna merah pucat. Bunganya berkelamin dua atau bunga sempurna dengan warna kuning. Ukurannya kecil. Kelopak bunga berjumlah 6 helai dalam dua rangkaian. Bunga ini tidak bertajuk bunga. Benang sarinya berjumlah 12 helai yang terangkai dalam empat kelompok, kotak sarinya beruang empat. Persarian berlangsung dengan bantuan serangga. Buahnya buah buni berbiji satu dan berdaging. Bentuknya bulat memanjang. Warna buah muda hijau tua dan buah tua ungu tua. Panjang buah sekitar 1,30 – 1,60 cm, dan diameter 0,35 – 0,75 cm. Panjang biji 0,84 – 1,32 cm dan diameter 0,59 - 0,68 cm.

Ketinggian tempat penanaman kayu manis dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman serta kualitas kulit seperti ketebalan dan aroma. Kayu manis dapat tumbuh pada ketinggian hingga 2.000 m dpl. Kayu manis akan berproduksi baik bila ditanam di daerah dengan ketinggian 500 – 1.500 m dpl. Kayu manis menghendaki hujan yang merata sepanjang tahun dengan jumlah cukup, sekitar 2.000 – 2.500 mm/tahun. Curah hujan yang terlalu tinggi akan mengakibatkan hasil panen rendemennya terlalu rendah. Daerah penanaman sebaiknya bersuhu rata-rata 25°C dengan batas maksimum 27°C dan minimum

18°C. Kelembaban yang diinginkan 70 – 90 %, semakin tinggi kelembabannya maka semakin baik pertumbuhannya. Sinar matahari yang dibutuhkan tanaman 40 – 70%. Kayu manis akan tumbuh baik pada tanah lempung berpasir, banyak humus, remah, kaya bahan organik dan berdrainase baik. pH tanah yang sesuai 5,0 – 6,5 (Heyne 1987).

3. Kandungan tanaman

Tanaman kayu manis mengandung minyak esensial, senyawa resin, asam sinamat, sinamaldehyd dan sinamat. Kandungan dari kulit kayu manis adalah minyak atsiri, safrole, sinamaldehyd, eugenol, tanin, damar, kalsium oksalat, zat penyamak, flavonoid, saponin serta kandungan gizi lainnya seperti gula, protein, lemak kasar dan pektin (Gunawan & Mulyani 2004). Kandungan minyak atsirinya seperti *trans-cinnamaldehyde*, oksida *caryophyllene*, *L-borneol*, *L-bornyl asetat*, *eugenol*, *b-caryophyllene*, *E-nerolidol*, dan *cinnamyl asetat* (Tung *et al.* 2008). Konstituen lain di antaranya *terpinolene*, *α-cubebene*, dan *α-thujene*. Rasa pedas dan aromanya berasal dari sinamaldehyd dan dengan penyerapan oksigen karena usia (Singh *et al.* 2007).



Gambar 1. Senyawa sinamaldehyd (Wikipedia.org)

Sinamaldehyd adalah salah satu dari *aldehyde* aromatis dan diduga merupakan senyawa aktif yang bertanggung jawab terhadap warna dan bau minyak kayu manis. Sebagian besar *aldehyde* alifatis dan aromatis beserta

derivatnya menunjukkan khasiat sitotoksik terhadap sel *lines* tumor (Piantadosi *et al.* 1964). Beberapa dari *aldehyde* ini dan derivatnya juga digunakan secara klinik sebagai obat antitumor (Goldin *et al.* 1996).

Efek antikanker beberapa zat aktif yang diisolasi dari *Cinnamomum cassia* terhadap sel tumor pada manusia seperti A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498 dan HCT -15 telah dilakukan. Sel HCT-15 dan sel SK-MEL-2 sangat peka terhadap derivatnya sinamaldehyd yang ditunjukkan nilai ED₅₀ 0,63-8,1 ug/ml (Kwon *et al.* 1997). Sinamaldehyd yang diisolasi dari *Cinnamomum cassia* juga telah terbukti memiliki efek sebagai antiangiogenesis (menghambat pertumbuhan pembuluh darah baru) yang mampu menghambat pertumbuhan sel-sel tumor (Kwon *et al.* 1998).

Ekstrak kulit batang kayu manis memiliki kandungan kadar *trans-sinamaldehyd* yang cukup tinggi (68,65%). Dalam penelitian Fang *et al.* (2004) menunjukkan bahwa senyawa *trans-sinamaldehyd* memiliki toksisitas yang selektif pada konsentrasi rendah yaitu 1 µM terhadap sel tumor. Sehingga secara *in vivo* senyawa *trans-sinamaldehyd* dapat diberikan pada dosis yang tinggi tanpa efek samping yang parah. Efek antikanker dari *trans-sinamaldehyd* adalah kombinasi dari efek dalam menghambat pertumbuhan sel tumor dan menginduksi apoptosis sel tumor.

Ekstrak etanol kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) mempunyai efek *imunostimulator* yang ditandai dari kenaikan jumlah sel T CD 4 dan T CD 8 (Hasan *et al.* 2013). Limfosit T-*helper* dan T-sitotoksik sama-sama berperan dalam mengeliminasi antigen tumor. Sel yang mengandung antigen tumor akan

mengekspresikan antigennya bersama molekul MHC kelas I yang kemudian membentuk kompleks melalui *T-cell Reseptor* (TCR) dari sel T sitotoksik (CD 8), mengaktifkan sel T sitotoksik untuk menghancurkan sel tumor tersebut. Sebagian kecil sel tumor juga mengekspresikan antigen tumor bersama molekul MHC kelas II, sehingga dapat dikenali dan membentuk kompleks dengan limfosit *T-helper* (sel T CD 4) dan mengaktifasi sel *T-helper* terutama Th1 untuk mensekresi *limfokin* IFN γ dan TNF α dimana keduanya akan merangsang sel tumor untuk lebih banyak lagi mengekspresikan molekul MHC kelas I, sehingga akan lebih mengoptimalkan sitotoksitas dari sel T-sitotoksik (CD 8) (Elemkov & Chrousos 1999).

Etanol sangat cocok digunakan untuk mengekstraksi kayu manis karena etanol mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak komponen dalam kayu manis lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik yang lain, mempunyai titik didih yang rendah dan aman. Penggunaan etanol sebagai pelarut menghasilkan rendemen dan kadar sinamaldehyd yang lebih besar dibandingkan dengan pelarut heksan yang bersifat non polar, metanol dan air (Jayahudin *et al.* 2009).

B. Kanker Payudara

Kanker adalah suatu kondisi dimana sel telah kehilangan pengendalian dan mekanisme normalnya, sehingga mengalami pertumbuhan yang tidak normal, cepat dan tidak terkendali. Kanker adalah kelompok penyakit, dimana sel tubuh berkembang, berubah, dan menduplikasi diri diluar kendali. Biasanya, nama

kanker diberikan berdasar bagian tubuh dimana kanker pertama kali tumbuh. Jadi, kanker payudara merujuk pada pertumbuhan serta perkembangbiakan sel abnormal yang muncul pada jaringan payudara (Shadine 2012).

Satu kelompok sel akan membelah secara cepat dan membentuk benjolan atau massa jaringan ekstra. Massa ini disebut tumor. Tumor dapat bersifat ganas (*malignant, cancerous*) atau jinak (*benign, non-cancerous*). Tumor yang bersifat ganas akan menyusup dan menghancurkan jaringan tubuh yang sehat. Satu kelompok sel dalam sebuah tumor juga dapat pecah dan menyebar kebagian tubuh lainnya. Sel yang menyebar dari satu bagian tubuh ke bagian tubuh yang lain disebut metastases (Shadine 2012).

Kanker payudara memperlihatkan proliferasi keganasan sel epitel yang membatasi *duktus* atau *lobus* payudara. Pada awalnya hanya terdapat *hiperplasia* sel dengan perkembangan sel-sel yang atipikal. Sel-sel ini kemudian berlanjut menjadi karsinoma *in situ* dan menginvasi stroma. Kanker membutuhkan waktu 7 tahun untuk tumbuh dari satu sel menjadi massa yang cukup besar untuk dapat dipalpasi (kira-kira berdiameter 1 cm). Pada ukuran itu, sekitar 25% kanker payudara sudah mengalami metastasis (Prince dan Wilson 2003).

1. Etiologi dan patogenesis

Ada 3 faktor utama terjadinya kanker payudara:

1.1. Faktor genetik. Faktor genetik berpengaruh dalam peningkatan terjadinya kanker payudara. Pada percobaan tikus dengan galur sensitif kanker, melalui persilangan genetik didapatkan tikus yang terkena kanker. Ada faktor turunan pada suatu keluarga yang terkena kanker payudara. Kelainan ini diketahui

terletak dilokus kecil di kromosom 17q21 pada kanker payudara yang timbul saat usia muda (Depkes 2009).

1.2. Hormon. Kelebihan hormon estrogen endogen atau terjadi ketidakseimbangan hormon terlihat pada kanker payudara. Faktor resikonya antara lain masa reproduksi yang lama, nulipara, dan melahirkan anak pertama diusia tua akan meningkatkan estrogen pada siklus menstruasi. Hal tersebut lebih berperan sebagai promotor daripada inisiator. Aktifitas estrogen tampak penting, dengan pemberian estrogen dan kekurangan progesteron merupakan faktor yang bermakna. Menarche awal dan mundurnya menopause akan menyebabkan banyaknya jumlah siklus haid dan penutupan estrogen yang berulang-ulang mempunyai efek rangsangan terhadap epitel mammae. Pengaruh yang menguntungkan dari kehamilan aterm yang pertama kali mungkin diakibatkan kadar progesteron yang meningkat atau prolaktin yang melindungi epitel mammae terhadap pengaruh estrogen yang kurun waktu lama. Resiko yang berhubungan dengan obesitas berhubungan dengan kemampuan sel lemak mensintesis estrogen atau perubahan kadar hormon seks yang mengikat protein (Depkes 2009).

1.3. Faktor lingkungan dan gaya hidup. Pengaruh lingkungan diduga karena berbagai faktor antara lain: alkohol, diet tinggi lemak, dan infeksi virus. Hal tersebut mungkin mempengaruhi onkogen dan gen supresi tumor dari kanker payudara (Depkes 2009).

2. Tanda dan gejala

Menurut Gleadle (2007) tanda dan gejala kanker payudara adalah:

2.1. Benjolan yang tidak nyeri. Benjolan tersebut mula-mula kecil, makin lama makin besar, lalu melekat pada kulit dan menimbulkan perubahan pada kulit payudara atau pada puting susu.

2.2. Erosi atau eksema puting susu. Kulit atau puting susu tadi menjadi tertarik ke dalam (retraksi), berwarna merah muda atau kecoklat-coklatan sampai menjadi edema hingga kulit kelihatan seperti kulit jeruk (peau d'orange), mengkerut atau timbul borok (ulkus) pada payudara. Borok itu makin lama makin besar dan mendalam sehingga dapat menghancurkan seluruh payudara, sering berbau busuk, dan mudah berdarah.

2.3. Pendarahan. Pendarahan terjadi kalau sudah ada metastase ke tulang.

2.4. Timbul pembesaran kelenjar getah bening di ketiak. Berupa bengkak (edema) pada lengan, dan penyebaran kanker ke seluruh tubuh.

2.5. Payudara nyeri saat menstruasi

3. Penilaian TNM pada kanker payudara.

Menurut WHO (2006) penilaian TNM pada kanker payudara sebagai berikut:

3.1. T (Tumor size) ukuran tumor. T0: Tidak ditemukan tumor primer, T1: Ukuran tumor diameter 2 cm atau kurang, T2: Ukuran tumor antara 2-5 cm, T3: Ukuran tumor > 5 cm, T4: Ukuran berapa saja, tetapi sudah ada penyebaran ke kulit atau dinding dada atau pada keduanya, dapat berupa borok, edema atau bengkak, kulit payudara kemerahan atau kecil di kulit di luar tumor utama.

3.2. N (Node), kelenjar getah bening regional (kgb). N0: Tidak ada metastasis pada kgb regional di ketiak atau aksila, N1: Ada metastasis ke kgb aksilla yang masih dapat digerakkan, N2: Ada metastasis ke kgb aksilla yang sulit digerakkan, N3: Ada metastasis kgb di antara tulang selangka (*supralavicular*) atau pada kgb *mammary* internal di dekat tulang sterum.

3.3. M (Metastase) penyebaran jauh. MX: Metastasis belum dapat dinilai, M0: Tidak dapat metastasis jauh, M1: Terdapat metastasis jauh.

Setelah masing-masing faktor T.N.M didapatkan, ketiga faktor tersebut kemudian digabungkan dan didapatkan stadium kanker sebagai berikut: Stadium 0: T0 N0 M0, Stadium I: T1 N0 M0, Stadium IIA: T0 N1 M0/ T1 N1 M0/ T2 N0 M0, Stadium IIB: T2 N1 M0/ T3 N0 M0, Stadium IIIA: T0 N2 M0/ T1 N2 M0/ T2 N2 M0/ T3 N1 M0/ T3 N2 M0, Stadium IIIB: T4 N0 M0/ T4 N1 M0/ T4 N2 M0, Stadium IIIC: Tiap T1 N3 M0, Stadium IV: Tiap-tiap T- tiap N- M1

4. Penyebaran kanker payudara

Penyebaran kanker payudara dapat melalui berbagai cara yaitu:

4.1. Penyebaran langsung. Infiltrasi lokal ke otot dan kulit yang menutupnya secara klinis dapat dideteksi.

4.2. Limfogen. Infiltrasi keseluruhan limfatik kulit menyebabkan timbulnya tanda-tanda klinis berupa *peau d'orange*. Kelenjar limfe aksilaris merupakan tempat awal penyebaran limfogen yang paling sering.

4.3. Hematogen. Metastase hematogen paling sering pulmo dan tulang selain itu hepar, adrenal, dan otak yang sering terkena. Pleura pada sisi yang sama dengan tempat kanker payudara dapat merupakan tempat metastasis dan

menyebabkan terjadinya efusi yaitu proses masuknya cairan dalam pleura. Infiltrasi estensif ke sumsum tulang dapat menyebabkan anemi leukoritroblastik. Dekstruksi tulang menyebabkan hiperkalsemia disertai komplikasi ginjal.

5. Klasifikasi

Berdasarkan gambaran histologis, WHO (2006) membuat klasifikasi kanker payudara sebagai berikut.

5.1. Kanker payudara non invasif. Kanker jenis ini terbagi menjadi 2 yaitu: (1) karsinoma intraduktus non invasif adalah karsinoma yang mengenai duktus disertai infiltrasi jaringan stroma sekitar. Terdapat 5 subtype dari karsinoma intraduktus, yaitu komedokarsinoma, solid, kribriiformis, papiler, dan mikropapiler; (2) karsinoma lobular insitu adalah karsinoma yang ditandai dengan pelebaran satu atau lebih duktus terminal dan atau tubulus, tanpa disertai infiltrasi ke dalam stroma. Sel-sel berukuran lebih besar dari normal, inti bulat kecil dan jarang disertai mitosis.

5.2. Kanker payudara invasif. Kanker jenis ini terbagi menjadi 8 yaitu: (1) karsinoma duktus invasif adalah karsinoma yang memiliki bentuk paling umum dari kanker payudara. Secara histologis, jaringan ikat padat berbentuk sarang, sel berbentuk bulat sampai poligonal, bentuk inti kecil dengan sedikit gambaran mitosis. Pada tepi tumor, tampak sel kanker mengadakan infiltrasi ke jaringan sekitar seperti sarang, kawat atau seperti kelenjar. Jenis ini disebut juga sebagai *infiltrating ductus carcinoma not otherrwiser spercifierd (nos)*, *scirrhou carcinoma*, *infiltrating carcinoma*, atau *carcinoma simplex*; (2) karsinoma lobular invasif adalah jenis karsinoma infiltratif yang tersusun atas sel-sel berukuran kecil

dan seragam dengan sedikit pleimorfisme. Karsinoma lobular invasif biasanya memiliki tingkat mitosis rendah. Sel infiltratif biasanya tersusun konsentris disekitar duktus berbentuk seperti target. Sel tumor dapat berbentuk *segnet-ring*, *tubuloalveolar*, atau *solid*; (3) karsinoma musinosum adalah karsinoma yang di dalamnya terdapat sejumlah besar mucus intra dan ekstraseluler yang dapat dilihat secara makroskopos maupun mikroskopis. Secara histologis terdapat 3 bentuk sel kanker. Bentuk pertama, sel tampak seperti pulau-pulau kecil yang mengambang dalam cairan musin. Bentuk kedua, sel tumbuh dalam susunan kelenjar berbatas jelas dan lumennya mengandung musin. Bentuk ketiga terdiri dari susunan jaringan yang tidak teratur berisi sel tumor tanpa diferensiasi, sebagian besar sel berbentuk *signet-ring*; (4) karsinoma meduler adalah sel berukuran besar berbentuk polygonal/lonjong dengan batas sitoplasma tidak jelas. Diferensiasi dari jenis ini buruk, tetapi memiliki prognosis lebih baik daripada karsinoma duktus infiltratif. Biasanya terdapat infiltrasi limfosit yang nyata dalam jumlah sedang diantara sel kanker, terutama dibagian tepi jaringan kanker; (5) karsinoma papiler invasif adalah karsinoma yang komponen invasifnya berbentuk kapiler; (6) karsinoma tubuler adalah karsinoma yang memiliki bentuk sel teratur dan tersusun secara tubuler selapis, dikelilingi oleh stroma fibrous. Jenis ini merupakan karsinoma dengan diferensiasi tinggi; (7) karsinoma adenokistik adalah karsinoma invasif dengan karakteristik sel yang berbentuk kribriiformis. Sangat jarang ditemukan pada payudara; (8) karsinoma ini didominasi dengan sel yang memiliki sitoplasma *eosinofilik*, sehingga menyerupai sel apokrin yang mengalami metaplasia. Bentuk karsinoma apokrin dapat ditemukan juga pada jenis karsinoma payudara yang lain.

6. Sel line T47D

Sel kanker payudara T47D merupakan *continous cell lines* yang morfologinya seperti sel epitel yang diambil dari jaringan payudara seorang wanita berumur 54 tahun yang terkena *ductal carcinoma*. Sel ini dapat ditumbuhkan dengan media dasar penumbuh RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) 1640. Media RPMI mengandung nutrisi yang dibutuhkan sel seperti asam amino, vitamin, garam-garam anorganik, dan glukosa. Serum mengandung hormon pertumbuhan sel, albumin merupakan protein transport, lipid diperlukan untuk pertumbuhan sel, dan mineral merupakan kofaktor enzim. Seluruh komponen dalam media RPMI tersebut berguna untuk memberikan nutrisi yang cukup pada sel untuk tetap bertahan hidup dan memperbanyak diri (Amalina 2008). Untuk memperoleh media kompleks, maka ditambahkan 0,2 U/ml *bovine insulin* dan *Foetal Bovine Serum* (FBS) hingga konsentrasi akhir FBS dalam media menjadi 10%. Sel ditumbuhkan pada suhu 37°C dengan kadar CO₂ 5%. Sel ini termasuk *cell line adherent* (ATCC 2008) yang mengekspresikan ER-β (Zampieri *et al.* 2002) dibuktikan dengan adanya respon peningkatan proliferasi sebagai akibat pemaparan 17β-estradiol (Verma *et al.* 1998). Sel ini memiliki *doubling time* 32 jam dan diklasifikasikan sebagai sel yang mudah mengalami diferensiasi karena memiliki reseptor estrogen +. Sel ini sensitif terhadap doxorubicin (Zampieri *et al.* 2002) dan mengalami *missense mutation* pada residu 194 (dalam *zinc binding domain L2*) gen *p53*. Loop L2 ini berperan penting pada pengikatan DNA dan stabilisasi protein. Jika p53 tidak dapat berikatan dengan *response element* pada DNA, kemampuannya untuk regulasi *cell cycle* dapat

berkurang atau hilang (Schafer *et al.* 2000). Pada sel tumor dengan mutasi p53, diketahui terjadi pengurangan respons terhadap agen-agen yang menginduksi apoptosis dan tumor-tumor tersebut kemungkinan menjadi resisten terhadap obat antineoplastik yang memiliki target pengrusakan DNA.

7. Immunosurveillance kanker

Mekanisme yang digunakan oleh tubuh untuk bereaksi melawan setiap antigen yang diekspresikan oleh neoplasma disebut Immunosurveillance kanker. Fungsi primer dari sistem imun adalah untuk mengenal dan mendegradasi antigen asing (*nonself*) yang timbul dalam tubuh. Dalam *immunosurveillance cancer*, sel mutan dianggap akan mengekspresikan satu atau lebih antigen yang dapat dikenal sebagai *nonself*. Sel mutan dianggap sering timbul dalam tubuh manusia dan tetapi secara cepat dihancurkan oleh mekanisme imunologis. Pada tikus yang kehilangan imunitas seluler dan terpapar agen onkogenik akan lebih cepat timbul tumor. Ini dianggap merupakan bukti mekanisme *Immunosurveillance cancer*. Sel NK, CTL dan makrofag ternyata paling berperan dalam *Immunosurveillance kanker* tumor, setelah mengenal sel kanker sebagai sel asing, ketiga sel imun tersebut akan menghancurkan sel kanker. Sel CTL dan sel NK melakukan cara sitotoksitas yang sama yaitu dengan mengeluarkan perforin, sedangkan makrofag menggunakan cara fagositosis.

7.1.1. Respon imunologik terhadap sel kanker. Sel kanker dikenal oleh tubuh sebagai benda asing, sehingga mekanisme imunologi tubuh akan bereaksi secara humoral maupun seluler. Tubuh mempunyai kemampuan *immunosurveillance* terhadap semua sel kanker maupun sel yang bermutasi untuk

mencegah perkembangan sel kanker tersebut, namun terkadang terjadi *immunological escape* yaitu sel kanker luput dari pengawasan sistem imun, sehingga terjadilah kanker. Penderita kanker sendiri juga mengalami supresi imun dan modalitas terapi kanker juga mempengaruhi sistem imun itu sendiri. Respon sistem imun terhadap sel kanker dapat dibagi dua yaitu humoral dan seluler.

7.2. Peranan sistem imun seluler terhadap sel kanker. Pada pemeriksaan patologi-anatomi tumor, sering ditemukan infiltrat sel-sel yang terdiri atas sel fagosit *mononuklear*, limfosit, sedikit sel plasma dan sel mastosit. Meskipun pada beberapa neoplasma, infiltrasi sel mononuclear merupakan indikator untuk prognosis yang baik, pada umumnya tidak ada hubungan antara infiltrasi sel dengan prognosis. Sistem imun yang nonspesifik dapat langsung menghancurkan sel tumor tanpa sensitisasi *polimorfonuklear*, sel NK. Aktivasi sel T melibatkan sel Th dan CTL. SEL Th penting pada pengerahan dan aktivasi makrofag dan sel NK.

C. Tinjauan Umum Biologi Molekuler Kanker

1. Mekanisme siklus sel

Siklus sel adalah proses sel membelah diri secara periodik, meliputi dua tahap yaitu : tahap mitosis dan interfase. Lama berlangsungnya siklus ini untuk setiap jenis sel kini sudah dapat diperhitungkan berdasarkan pengamatan. Siklus paling pendek lamanya 8 jam (pada sel epitel usus) sampai 100 hari atau lebih (pada sel hepar dewasa).

Tahap interfase pada siklus sel (Gambar 2), merupakan tahap persiapan menuju pembelahan. Tahap ini dibagi atas tiga fase yaitu (1) fase G_1 / Gap 1,

adalah fase persiapan sel untuk melakukan replikasi DNA, pada fase ini terjadi pembentukan berbagai RNA dan protein yang berperan dan yang diperlukan dalam proses replikasi, durasi waktu fase ini bervariasi tergantung dari tipe sel. Fase G1 berlangsung sekitar 12 jam pada kebanyakan sel mamalia. Pada fase G1 ditemukan suatu faktor yang menginduksi fase G1 untuk masuk fase S yang disebut *S phase Promoting Factor* (SPF). Pada fase ini terjadi kegiatan biosintesis yang sangat meningkat.

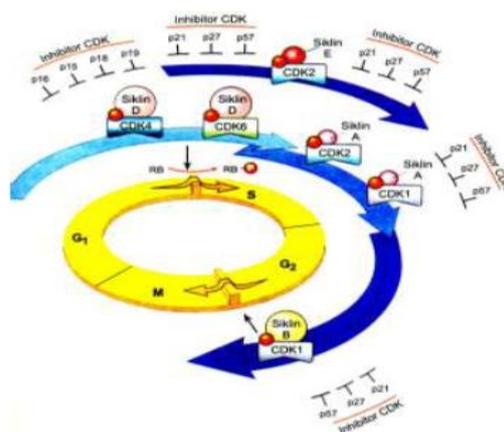
(2) fase S/ Sintesa, merupakan fase sintesa DNA. Permulaan replikasi DNA terjadi pada peralihan fase G1 dan awal fase S. Replikasi DNA terjadi selama fase S, jumlah DNA keseluruhan akan bertambah dari *diploid* ($2n$) hingga replikasi komplet menjadi *tetraploid* ($4n$). Fase ini berlangsung selama 10-20 jam.

(3) fase G2/ Gap 2, yaitu waktu antara akhir fase S sampai terjadi mitosis atau pembelahan, sel mempersiapkan diri untuk membelah dan mempersiapkan 2 set kromosom. Akhir dari fase G2 untuk masuk ke fase M yang disebut *M phase promoting factor* (MPF). Fase G2 berlangsung selama 1-12 jam. Fase terakhir dari proses proliferasi adalah fase M (mitosis) yang merupakan fase tersingkat karena hanya berlangsung selama 30-60 menit. Pada fase M terjadi pemecahan DNA yang telah terduplikasi secara komplet. Proses ini akan menghasilkan 2 sel anak kromosom *diploid* ($2n$). Sel akan mempunyai 2 pilihan pada akhir siklus sel yaitu melanjutkan siklus sel kedalam fase G1 bila sel masih aktif berproliferasi atau memasuki fase G0 bila sel tidak aktif. Fase G0 adalah fase dalam keadaan istirahat atau tidak aktif melakukan proses proliferasi (Fuller & Shields 1998).

Siklus sel dimulai pada fase G1 dimana terjadi penentuan apakah sel meneruskan proses atau keluar dari siklus (G0/ istirahat/ terminal). Adanya

stimuli dari *platelet derived growth factors* (PDGF), *epidermal growth factor* (EGF), atau *insulin like growth factors* (IGF 1 & IGF 2) menyebabkan aktifnya siklus sel di G1. Apabila replikasi sel telah dimulai pada akhir G1 sel tidak dapat berespon terhadap stimuli faktor pertumbuhan, tetapi berespon terhadap penghambat faktor pertumbuhan, proses ini diatur oleh *cyclin dependent kinase inhibitor* (CDKi).

Ada dua mekanisme yang mengontrol jalannya siklus sel yaitu: *Cyclins* dan *Checkpoints*. *Cyclin* mengatur proses tiap fase dari siklus sel seperti *Cyclin B/CDKi* berfungsi mengontrol transisi dari fase G2 ke fase M, sedangkan *Checkpoints* bertugas mengawasi ada tidaknya penyimpangan pada DNA. Apabila mekanisme ini terganggu dan terjadi penyimpangan maka dapat menyebabkan timbulnya kanker (Budiani 2009).



Gambar 2. Skema siklus sel dan peran siklin, kinase, dependen-siklin (CKD), dan inhibitor kinase dependen-siklin (CKDI) dalam mengendalikan siklus pembelahan sel. (Robbins & Cotran 2007).

2. Biologi sel kanker

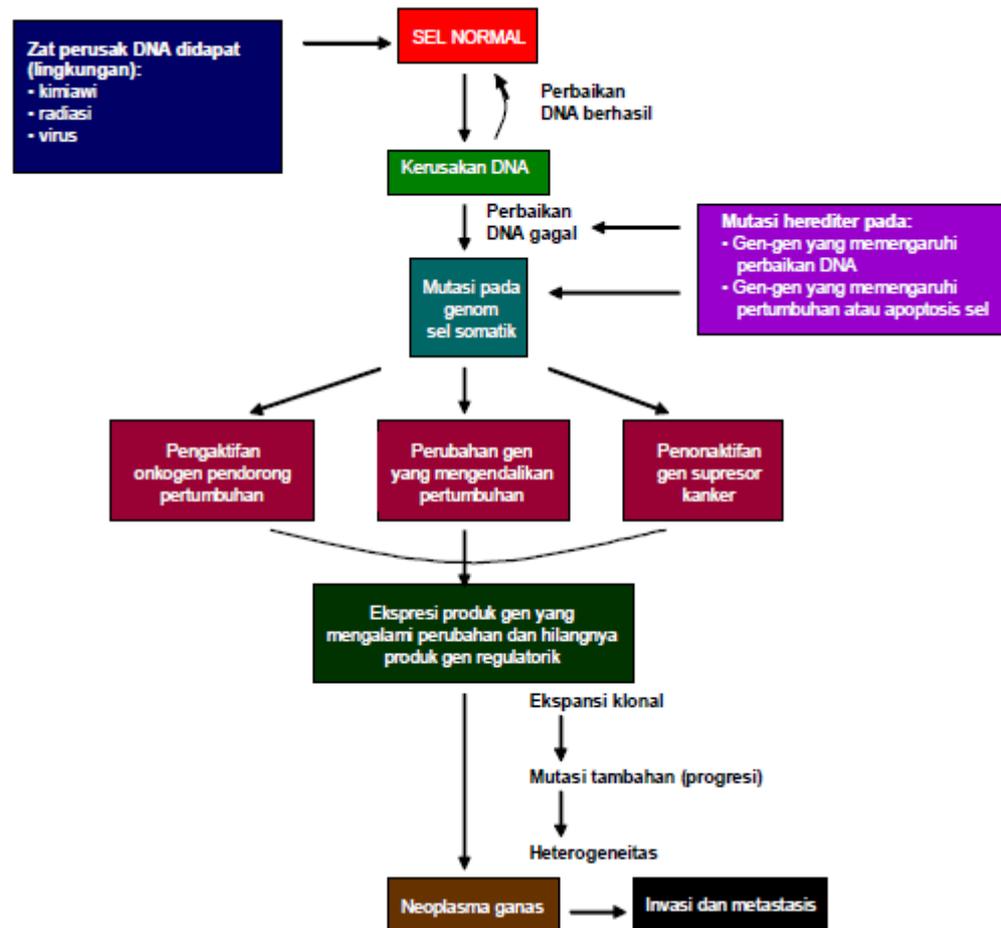
Kanker adalah penyakit yang ditandai dengan pembelahan sel yang tidak terkendali. Sel kanker memiliki kemampuan untuk menyerang jaringan biologis

lainnya, baik dengan pertumbuhan langsung di jaringan yang bersebelahan (invasi) atau dengan migrasi sel ke tempat yang jauh (metastasis). Pertumbuhan yang tidak terkendali disebabkan adanya kerusakan DNA, menyebabkan mutasi di gen vital yang mengontrol pembelahan sel. Beberapa buah mutasi dibutuhkan untuk mengubah sel normal menjadi sel kanker. Mutasi tersebut dapat diakibatkan oleh agen kimia maupun agen fisik yang disebut karsinogen. Mutasi dapat terjadi secara spontan (diperoleh) ataupun diwariskan (mutasi *germline*) (Kumar *et al.* 2005).

Kanker disebabkan adanya genom abnormal, terjadi karena adanya kerusakan gen yang mengatur pertumbuhan diferensiasi sel. Gen yang mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel disebut *protooncogen* dan *tumor suppressor genes*, dan terdapat pada semua kromosom dengan jumlah yang banyak. *Protooncogen* yang telah mengalami perubahan hingga dapat menimbulkan kanker disebut *oncogen* (Kumar *et al.* 2005).

Suatu pertumbuhan normal diatur oleh sekelompok gen, yaitu *growth promoting protooncogenes*, *growth inhibiting cancer supresor genes (antioncogenes)* dan gen yang berperan pada kematian sel terprogram (apoptosis). Selain ketiga kelompok gen tersebut, terdapat juga kelompok gen yang berperan pada DNA *repair* yang berpengaruh pada proliferasi sel. Ketidakmampuan dalam memperbaiki DNA yang rusak menyebabkan terjadinya mutasi pada *genom* dan menyebabkan keganasan. Proses karsinogenesis merupakan suatu proses multistap dan terjadi baik secara *fenotip* dan *genotip*. Pada tingkat molekuler,

suatu progresi merupakan hasil dari sekumpulan lesi genetik (Hanahan & Weinberg 2000).



Gambar 3. Skema dasar molekuler penyakit kanker.

The six hallmark of cancer (6 karakter sel kanker) adalah konteks enam perubahan mendasar dalam fisiologi sel yang secara bersama-sama menentukan *fenotip* keganasan (Sugerman & Savage 1999) (Gambar 4).

2.1 Growth signal autonomy. Sel normal memerlukan sinyal eksternal untuk pertumbuhan dan pembelahannya, sedangkan sel kanker mampu memproduksi *growth factors* dan *growth factor receptors* sendiri. Dalam proliferasinya sel kanker tidak tergantung pada sinyal pertumbuhan normal.

Mutasi yang dimilikinya memungkinkan sel kanker untuk memperpendek *growth factor pathways*.

2.2 Evasion growth inhibitory signal. Sel normal merespon sinyal penghambatan pertumbuhan untuk mencapai *homeostasis*. Jadi ada waktu tertentu bagi sel normal untuk proliferasi dan istirahat. Sel kanker tidak mengenal dan merespon sinyal penghambatan pertumbuhan, keadaan ini banyak disebabkan adanya mutasi pada beberapa gen (*protooncogen*) pada sel kanker.

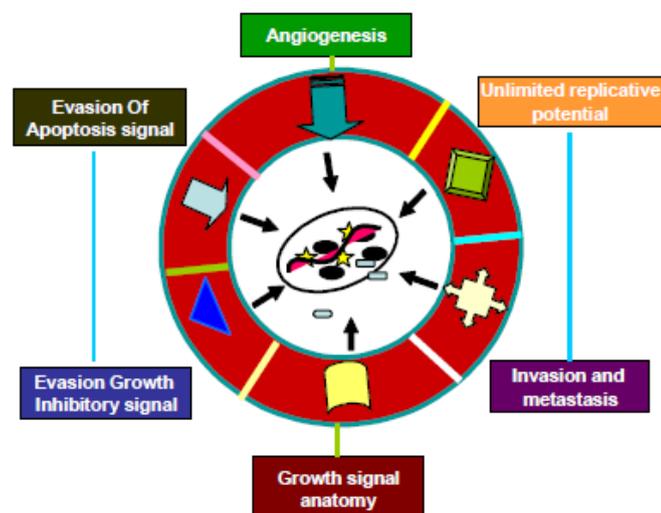
2.3 Evasion of apoptosis signal. Pada sel normal kerusakan DNA akan dikurangi jumlahnya dengan mekanisme apoptosis, bila ada kerusakan DNA yang tidak bisa lagi diperbaiki. Sel kanker tidak memiliki kepekaan terhadap sinyal apoptosis. Kegagalan sel kanker dalam merespon sinyal apoptosis lebih disebabkan karena mutasinya gen-gen regulator apoptosis dan gen-gen sinyal apoptosis.

2.4 Unlimited replicative potential. Sel normal mengenal dan mampu menghentikan pembelahan selnya bila sudah mencapai jumlah tertentu dan mencapai pendewasaan. Penghitungan jumlah sel ini ditentukan oleh pemendekan *telomere* pada kromosom yang akan berlangsung setiap ada replikasi DNA. Sel kanker memiliki mekanisme tertentu untuk tetap menjaga *telomere* yang panjang, hingga memungkinkan untuk tetap membelah diri. Kecacatan dalam regulasi pemendekan *telomere* inilah yang memungkinkan sel kanker memiliki *unlimited replicative potential*.

2.5 Angiogenesis (formation of blood vessel). Sel normal memiliki ketergantungan terhadap pembuluh darah untuk mendapatkan *suplay* oksigen dan

nutrient yang diperlukan untuk hidup. Namun bentuk dan karakter pembuluh darah sel normal lebih sederhana atau konstan sampai dengan sel dewasa. Sel kanker mampu menginduksi angiogenesis, yaitu pertumbuhan pembuluh darah baru di sekitar jaringan kanker. Pembentukan pembuluh darah itu baru diperlukan untuk survival sel kanker dan ekspansi kebagian lain dari tubuh (metastase). Kecacatan pada pengaturan keseimbangan *induser angiogenik* dan inhibitorynya dapat mengaktifkan *angiogenic switch*.

2.6 Invasion and metastasis. Sel normal memiliki kepatuhan untuk berpindah ke lokasi lain di dalam tubuh. Perpindahan sel kanker dari lokasi primernya ke lokasi sekunder atau tertiernya merupakan faktor utama adanya kematian yang disebabkan karena kanker. Mutasi memungkinkan peningkatan aktivitas enzim-enzim yang terlibat invasi sel kanker (MMPs). Mutasi juga memungkinkan berkurangnya atau hilangnya adhesi antar sel oleh molekul-molekul adhesi sel, meningkatnya *attachment*, degradasi membran basal, serta migrasi sel kanker.



Gambar 4. Enam tanda utama kanker (Robbins & Cotran 2007).

3. Karsinogenesis

Kanker terjadi karena adanya kerusakan atau transformasi *protoonkogen* dan gen penghambat tumor sehingga terjadi perubahan dalam cetakan protein dari yang telah diprogramkan semula yang mengakibatkan timbulnya sel kanker. Karena itu terjadi kekeliruan *transkripsi* dan *translasi* gen sehingga terbentuk protein abnormal yang terlepas dari kendali normal pengaturan dan koordinasi pertumbuhan dan diferensiasi sel. Pengaturan sifat individu dilakukan oleh gen (DNA) dengan pembentukan protein melalui proses *transkripsi* dan *translasi* (Robbins & Cotran 2007).

Karsinogen merupakan suatu proses dengan 3 tahapan, yaitu inisiasi, promosi dan progresi (Scully 1992).

3.1. Inisiasi (*initiation*). Tahap pertama ialah permulaan atau inisiasi, dimana sel normal berubah menjadi *pre-maligna*. Karsinogen harus merupakan mutagen yaitu zat yang dapat menimbulkan mutasi gen. Pada tahap inisiasi karsinogen bereaksi dengan DNA, menyebabkan amplifikasi gen dan produksi *copy multiple gen*.

3.2. Promosi (*promotion*). Promoter adalah zat *non mutagen* tetapi dapat meningkatkan reaksi karsinogen dan tidak menimbulkan amplifikasi gen. Sifat-sifat promoter ialah: mengikuti kerja *inisiator*, perlu paparan berkali-kali, keadaan dapat *reversible*, dapat mengubah ekspresi gen seperti: hiperplasia, induksi enzim, induksi diferensiasi.

3.3. Progresi (*progression*). Pada progresi ini terjadi aktivasi, mutasi atau hilangnya gen. Pada progresi ini timbul perubahan benigna menjadi *pre-maligna*.

Dalam karsinogenesis ada 3 mekanisme yang terlibat yaitu *onkogen* yang dapat menginduksi timbulnya kanker, *antionkogen* atau *gen suppressor* yang dapat mencegah timbulnya kanker, dan *gen modulator* yang dapat mempengaruhi *eksperimen* karakteristik gen yang mempengaruhi penyebaran kanker (Scully 1992).

Bila ada kerusakan gen, tubuh berusaha mereparasi atau memperbaiki *transkripsi* gen yang rusak (*DNA repair*). Kerusakan transkripsi ini mungkin dapat dan mungkin pula tidak dapat diperbaiki lagi. Bila *transkripsi* gen itu dapat diperbaiki dengan sempurna, maka pada replikasi sel berikutnya terbentuklah sel baru yang normal. Tetapi bila tidak dapat diperbaiki dengan sempurna akan terbentuk sel baru yang *defektif*. Walaupun sel itu *defektif* masih tetap ada usaha mereparasi kerusakan *transkripsi*. Bila berhasil akan terbentuk sel yang normal dan bila gagal akan terbentuk sel yang abnormal, yaitu sel yang mengalami mutasi, atau *transformasi*, yang pada akhirnya dapat menjadi sel kanker (Scully 1992).

Teori karsinogenesis untuk menerangkan bagaimana kanker itu terjadi didasarkan atas (Scully 1992):

1. Mutasi somatik, yaitu perubahan urutan letak *nukleotida* dalam asam amino rantai DNA, yang menyebabkan perubahan kode genetik. Menghasilkan produksi protein yang *abnormal*, sehingga regulasi pertumbuhan dan diferensiasi sel terganggu, sel menjadi otonom dan lepas dari regulasi normal dan sel dapat tumbuh tanpa batas.

2. Penyimpangan diferensiasi sel (teori epigenetik), terjadinya gangguan sistem atau mekanisme regulasi gen seperti *represif*, *depresi* serta *ekspresi*

regulasi, sehingga timbul gangguan pertumbuhan dan *diferensiasi* sel. *Defek* yang terjadi karena mekanisme regulasi gen yang mengatur pertumbuhan, dan bukan pada struktur gen itu sendiri, maka teori ini disebut teori *epigenetik*.

3. Aktivasi virus. Virus masuk ke dalam inti sel dan berintegrasi dengan DNA penderita serta mengubah *fenotip* sel dengan menyisipkan (*insersi*) informasi baru atau mengubah *transkripsi* dan *translasi* gen. Virus DNA dapat secara langsung berintegrasi dengan DNA inang dan ditularkan secara vertikal kepada anak-anak sel inang, sedangkan virus RNA dengan bantuan enzim *reverse transkriptase*. Menurut teori ini kanker terjadi karena ada infeksi virus yang menyisipkan gennya ke dalam DNA inang yang dapat mengaktifkan *protoonkogen* menjadi *onkogen*.

4. Seleksi sel. Pada sel tubuh manusia diperkirakan terdapat lebih dari 50.000 gen dan masing-masing gen mempunyai fungsi tersendiri. Di dalam tubuh setiap saat ada sel yang mati dan ada pula sel baru yang terbentuk melalui proses *mitosis*. Karena adanya mutasi maka timbul sel yang *defektif* dan akan mati atau tidak dapat mengadakan *mitosis* lebih lanjut. Hanya sel-sel yang baik dan memenuhi syarat tertentu yang akan dapat tetap bertahan hidup. Dalam menyeleksi sel mana yang boleh terus hidup dan berkembang, terjadi kekeliruan. Disini ada sel yang mengalami mutasi atau transformasi yang lepas dari seleksi dan terus berkembang menjadi sel kanker.

D. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Zat terlarut akan tersebar pada fase pelarut sehingga

nisbah konsentrasinya pada suhu tertentu merupakan suatu tetapan kesetimbangan (konstanta distribusi/Kd). Secara sederhana ekstraksi merupakan istilah yang digunakan untuk setiap proses yang di dalamnya komponen-komponen pembentuk suatu bahan berpindah dari bahan ke cairan (pelarut). Metode sederhana ekstraksi adalah dengan mencampurkan seluruh bahan dengan pelarut, lalu memisahkan larutan dengan padatan tidak terlarut (Umar 2008).

Perlakuan pendahuluan sebelum ekstraksi bergantung pada sifat senyawa dalam bahan yang akan diekstraksi (Robinson 1995). Perlakuan pendahuluan untuk bahan padat dapat dilakukan dengan beberapa cara di antaranya dengan pengeringan bahan baku sampai kadar air tertentu dan penggilingan untuk mempermudah proses ekstraksi dengan memperbesar kontak antara bahan dan pelarut (Harborne 1996).

Faktor penting dalam ekstraksi adalah pemilihan pelarut. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dapat menarik komponen aktif dalam campuran. Hal-hal penting yang harus diperhatikan dalam pemilihan pelarut adalah selektivitas, sifat pelarut, kemampuan untuk mengekstraksi, tidak bersifat racun, kemudahan untuk diuapkan, dan harganya yang relatif murah (Gamse 2002).

Etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena bersifat netral, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air dalam segala perbandingan, selektif dalam menghasilkan jumlah senyawa aktif yang optimal, serta panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Voigt 1994). Etanol merupakan pelarut universal yang baik untuk mengekstraksi semua golongan senyawa metabolit

sekunder (Kristanti *et al.* 2008). Etanol sangat cocok digunakan untuk mengekstraksi kayu manis karena etanol mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak komponen dalam kayu manis lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik yang lain. Menurut penelitian Jayahudin (2009), terbukti bahwa penggunaan etanol sebagai pelarut menghasilkan rendemen dan kadar sinamaldehyd dalam minyak kayu manis lebih besar dibandingkan dengan pelarut heksan yang bersifat non polar, metanol dan air. Hal ini ditegaskan kembali oleh Perry (2007) bahwa pelarut polar merupakan pelarut yang baik dalam proses ekstraksi.

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Depkes 2000). Keuntungan maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan, kerugian maserasi adalah pengerjaannya lama dan tidak sempurna. Maserasi dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan ke dalam bejana kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama lima hari terlindung dari cahaya sambil berulang-ulang diaduk, ampas diperas, kemudian ampas dicuci dengan cairan penyari sebanyak 25 bagian (Voigt 1995).

E. Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik merupakan salah satu metode uji antikanker yang sering digunakan untuk mendeteksi tingkat ketoksikan suatu senyawa dan merupakan uji

kualitatif dengan menetapkan kematian sel. Dasar dari percobaan tersebut antara lain bahwa sistem penetapan aktivitas biologis seharusnya memberikan kurva dosis respon yang menunjukkan hubungan linier dengan jumlah sel (Anggraini 2008). Prinsip metode uji sitotoksik adalah mengetahui kemampuan mematikan sel dari senyawa uji. Uji sitotoksik digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel (Meiyanto *et al.* 2006). Nilai IC_{50} dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Senyawa sitotoksik adalah senyawa yang bersifat toksik pada sel. Uji sitotoksik dapat memberikan informasi konsentrasi obat yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup. Akhir dari uji sitotoksik adalah memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Amalina 2008). Akhir dari uji sitotoksitas dapat memberikan informasi % sel yang mampu bertahan hidup, sedangkan pada organ target memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Amalina 2008). Dua metode umum yang digunakan untuk uji sitotoksik adalah metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan biru tripan (*trypan blue*) dan metode MTT *assay* (Palozza *et al.* 2005).

Suatu ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas inhibisi apabila memiliki nilai $IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/ml}$ (Mans *et al.* 2000). Rentang nilai IC_{50} bila $< 10 \mu\text{g/mL}$ sangat aktif, $10\text{-}20 \mu\text{g/mL}$ aktif dan $> 20 \mu\text{g/mL}$ dinyatakan kurang aktif, namun nilai IC_{50} $50\text{-}100 \mu\text{g/mL}$ tetap memiliki kompensasi kepada sel kanker (Freshney 2000).

F. Metode Uji Sitotoksik MTT

Uji MTT adalah uji yang sensitif, kuantitatif dan terpercaya. Reaksi MTT merupakan reaksi reduksi selular yang didasarkan pada pemecahan garam tetrazolium MTT berwarna kuning menjadi kristal formazan berwarna biru keunguan (Basmal *et al.* 2009). Metode perubahan warna tersebut digunakan untuk mendeteksi adanya proliferasi sel. Sel yang mengalami proliferasi, mitokondria akan menyerap MTT sehingga sel-sel tersebut akan berwarna ungu akibat terbentuknya kristal tetrazolium (formazan) (Depamede & Rosyidi 2009).

Prinsip uji MTT adalah mengukur aktivitas selular berdasarkan kemampuan enzim mitokondria reduktase pada mitokondria dalam mereduksi garam methylthiazol tetrazolium (MTT). Ketika bermetabolisme, sel-sel hidup akan menghasilkan enzim mitokondria reduktase. Enzim ini bereaksi dengan MTT dan membentuk kristal formazan berwarna ungu. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup, sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka jumlah sel hidup semakin banyak (Junedi 2000). Kristal formazan bersifat impermeabel pada membran sel dan tidak larut dalam air. Perlu suatu zat tambahan sebagai pelarut seperti isopropanol, Dimethyl Sulfoxide (DMSO) atau larutan detergen Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) yang diencerkan dalam asam hidroklorida (HCl) untuk melarutkan kristal formazan ungu (Berata 2000).

Uji sitotoksik MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] merupakan metode kolorimetri dimana pereaksi MTT ini merupakan garam tetrazolium yang dapat dipecah menjadi kristal formazan oleh sistem

suksinat tetrazolium reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria yang aktif pada sel yang masih hidup. Kristal formazan ini memberi warna ungu yang dapat dibaca absorbansinya dengan menggunakan *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) Reader (Pamilih 2009). Penetapan jumlah sel yang bertahan hidup pada uji sitotoksik dapat dilakukan berdasarkan dengan adanya kerusakan membran meliputi perhitungan sel yang mengambil (*up take*) atau dengan bahan pewarna seperti biru tripan. Sedangkan perubahan morfologi diketahui dengan mikroskop elektron.

Uji sitotoksik digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai IC_{50} dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik. Akhir dari uji sitotoksik dapat memberikan informasi % sel yang mampu bertahan hidup, sedangkan pada organ target memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik.

G. Landasan Teori

Kayu manis sudah banyak digunakan dalam dunia obat-obatan, di antaranya bisa digunakan untuk obat sariawan, obat batuk, sesak napas, nyeri lambung, perut kembung, diare, rematik, menghangatkan lambung dan antikanker.

Tanaman kayu manis mengandung minyak esensial, senyawa resin, asam sinamat, sinamaldehyd dan sinamat. Kandungan minyak atsirinya seperti *trans-*

cinnamaldehyde, oksida *caryophyllene*, *L-borneol*, *L-bornyl asetat*, *eugenol*, *b-caryophyllene*, *E-nerolidol*, dan *cinnamyl asetat* (Tung *et al.* 2008). Konstituen lain di antaranya *terpinolene*, α -*cubebene*, dan α -*thujene*. Rasa pedas dan aromanya berasal dari sinamaldehyd dan dengan penyerapan oksigen karena usia (Singh *et al.* 2007).

Penelitian pendahuluan efek antikanker beberapa zat aktif yang diisolasi dari *Cinnamomum cassia* terhadap sel tumor pada manusia seperti A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498 dan HCT -15 telah dilakukan. Sel HCT-15 dan sel SK-MEL-2 sangat peka terhadap derivat sinamaldehyd yang ditunjukkan nilai ED₅₀ 0,63-8,1 μ g/ml (Kwon *et al.* 1997). Sinamaldehyd yang diisolasi dari *Cinnamomum cassia* juga telah terbukti memiliki efek sebagai antiangiogenesis (menghambat pertumbuhan pembuluh darah baru) yang mampu menghambat pertumbuhan sel-sel tumor (Kwon *et al.* 1998). Penelitian Fang *et al.* (2004) menunjukkan bahwa efek antikanker dari trans-sinamaldehyd adalah kombinasi dari efek dalam menghambat pertumbuhan sel tumor dan menginduksi apoptosis sel tumor. Lean-Teik Ng dan Shu-Jing Wu (2009) juga melaporkan bahwa potensi antiproliferatif sinamaldehyd yang diisolasi dari *Cinnamomum cassia* dengan IC₅₀ $9,76 \pm 0,67$ M sebaik dengan obat antikanker 5-fluorouracil dengan IC₅₀ $9,57 \pm 0,61$ M. *Cinnamomum cassia* adalah tanaman yang satu genus dengan (*Cinnamomum burmanni* (Nees & T. Ness.) Bl.) yang diharapkan memiliki kandungan sinamaldehyd yang sama, sehingga memiliki potensi antiproliferatif yang sama. Anjarsari (2013) melaporkan bahwa destilat kayu manis *Cinnamomum burmanni* mempunyai efek sitotoksik pada sel T47D dengan nilai IC₅₀ sebesar 75

$\mu\text{g/ml}$, kombinasi sinergisnya dengan doxorubicin yakni $37,5 \mu\text{g/ml}$ - $1,25 \mu\text{M}$ dengan nilai *combination index* (CI) 0,37.

Etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena bersifat netral, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air dalam segala perbandingan, selektif dalam menghasilkan jumlah senyawa aktif yang optimal, serta panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Voigt 1994). Etanol merupakan pelarut universal yang baik untuk mengekstraksi semua golongan senyawa metabolit sekunder (Kristanti *et al.* 2008). Etanol sangat cocok digunakan untuk mengekstraksi kayu manis karena etanol mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak komponen dalam kayu manis lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik yang lain.

Suatu ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas inhibisi apabila memiliki nilai $\text{IC}_{50} \leq 50 \mu\text{g/ml}$ (Mans *et al.* 2000). Rentang nilai IC_{50} bila $< 10 \mu\text{g/mL}$ sangat aktif, 10 - $20 \mu\text{g/mL}$ aktif dan $> 20 \mu\text{g/mL}$ dinyatakan kurang aktif, namun nilai IC_{50} 50 - $100 \mu\text{g/mL}$ tetap memiliki kompensasi kepada sel kanker (Freshney 2000).

H. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori dan penelitian sebelumnya, maka dapat disusun hipotesis sebagai berikut:

Pertama, pemberian ekstrak etanol kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanni*) dapat memberikan efek sitotoksik pada sel kanker payudara T47D.

Kedua, pemberian ekstrak etanol kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanni*) efektif membunuh sel kanker payudara dengan IC_{50} kurang dari 100.