

**UJI SITOTOKSIK MINYAK ATSIRI KULIT BATANG KAYU MANIS
(*Cinnamomum burmanii* Nees ex Bl) PADA SEL KANKER KOLON WiDr**



SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S.Farm.)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Zahra Imama
16103011 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2014**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI SITOTOKSIK MINYAK ATSIRI KULIT BATANG KAYU MANIS
(*Cinnamomum burmanii* Nees ex Bl) PADA SEL KANKER KOLON WiDr**

Oleh :
Zahra Imama
16103011 A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 20 Juni 2014

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekas



Prof. Dr. R. A. Octari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama,

Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Reslely Harjanti, M.Sc., Apt.

Penguji :

1. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt.
2. Nuraini Harmastuti, S.Si., M.Si.
3. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt.
4. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt.

HALAMAN PERSEMBAHAN

"Tidak pantas bagi orang bodoh mendiamkan kebodohnya. Juga tidak pantas bagi orang berilmu untuk mendiamkan ilmunya."

(HR, Thabrani)

"Barangsiapa mencari ilmu bertujuan untuk membanggakan diri di hadapan para ulama, atau mendebat orang-orang bodoh, atau mencari perhatian manusia, maka kelak dia berada di neraka"

(HR, Tirmidzi)

"Tidak ada batasan ruang dan waktu dalam menuntut ilmu. Terkadang kehidupan yang keras dan kurang ramah akan mengasah kegigihan seseorang untuk lebih terpacu serta bersungguh-sungguh dalam mengais pengetahuan demi sedikit merubah dunia. Bagian tersulit adalah menjaga lurus nya niat, apakah ilmu itu hanya sebagai permadani di dunia atau kelak akan menjadi penolongnya di akhirat. Semoga Allah SWT senantiasa menjaga niat baik hamba."

(Zahra Imama)

Dengan segala kerendahan hati kupersembahkan karya ini untuk Tuhanku Allah SWT, Nabi-ku Muhammad SAW, agamaku, ibu abahku tercinta beserta keluarga besarku, para pendidik dan pengajarku, almamaterku Universitas Setia Budi tercinta, serta bangsa dan negaraku Indonesia.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 20 Juni

2014

Zahra Imama

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“UJI SITOTOKSIK MINYAK ATSIRI KULIT BATANG KAYU MANIS (*Cinnamomum burmanii* Nees ex. Bl.) PADA SEL KANKER KOLON WiDr”**.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini telah mendapat banyak bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Winarso Soeryolegowo, S.H., M.Pd., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada penulis.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt. selaku Pembimbing Utama yang telah berkenan meluangkan waktu guna memberikan bimbingan, pengarahan, motivasi dalam penyusunan skripsi ini, serta atas pendanaan penelitian ini.
4. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt. selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dalam penyusunan skripsi ini.
5. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt. dan Nuraini Harmastuti, S.Si., M.Si., selaku dosen penguji yang telah memberikan koreksi, masukan dan nasehat kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini.

6. Segenap dosen, karyawan, dan staff Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu demi kelancaran penyusunan skripsi ini.
7. Segenap karyawan Bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang telah memberikan fasilitas dan bimbingan selama penelitian.
8. Ibuku Dra. Dewi Ghofiroh, S.Pd., Abahku H. Achmad Slamet, kakakku sekeluarga Nur Lathifah-Dhany Setiawan serta keponakanku Zalfany Shakiela, adik-adikku Zakiyah Azmi dan Muhammad Izzat Abdi, kakek nenekku atas inspirasi hidupnya, Muhammad Eka Rahman, M.SEi sekeluarga dan segenap keluarga besarku atas seluruh kasih sayang, dukungan dan doanya selama ini.
9. Teman-temanku (Eza, Nesia, Dany, Pandu, Depok, Amalia) dan kelas teori FKK 1, 2, 3, teman-teman seangkatan 2010, teman-teman Kos An-Nur Mojosongo, rekan-rekan CCRC UGM (Yonika, Prisnu dan Yudhi) terima kasih atas bantuan, kebersamaan dan dukungannya.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan dan kesempurnaan skripsi ini.

Surakarta, 20 Juni 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
A. Tanaman kayu manis.....	7
1. Sistematika tanaman.....	7
2. Nama daerah.....	7
3. Morfologi tanaman	8
4. Kandungan kimia	9
5. Kegunaan tanaman	10
B. Minyak Atsiri	10
1. Pengertian	10
2. Sifat Minyak Atsiri	11
3. Destilasi Minyak Atsiri	11
C. Simplisia	13
D. Standarisasi minyak kayu manis	13

E. Penyakit Kanker	15
1. Definisi kanker	15
2. Sifat Kanker	16
3. Karakter sel kanker	16
3.1. Sustaining proliferative signaling	16
3.2. Evading growth suppressors	17
3.3. Activating invasion and metastasis	17
3.4. Inducing angiogenesis	17
3.5. Enabling replicative immortality	18
3.6. Resisting cell death	18
4. Pengobatan kanker	19
4.1. Kemoterapi.....	19
4.2. Radioterapi	20
4.3. Pembedahan	20
4.4. Imunoterapi/bioterapi.....	20
F. Siklus Sel.....	20
1. Fase pasca mitosis (G1).....	21
2. Fase sintesis DNA (S)	21
3. Fase pra mitosis (G2).....	22
4. Fase mitosis (M).....	22
G. Kanker kolon.....	22
H. Sel WiDr.....	24
I. Doksorubisin	24
J. Uji sitotoksisitas	26
K. Metode uji aktivitas antikanker.....	26
L. Landasan teori	27
M. Hipotesis.....	29
BAB III METODE PENELITIAN.....	30
A. Populasi dan Sampel	30
B. Variabel Penelitian	30
1. Identifikasi variabel utama	30
2. Klasifikasi variabel utama	30
3. Definisi operasional variabel utama	31
C. Alat dan Bahan	31

1. Alat	31
2. Bahan	32
2.1. Bahan sampel	32
2.2. Bahan untuk uji sitotoksik	32
2.3. Sel WiDr	32
D. Jalannya Penelitian	33
1. Identifikasi minyak dengan KLT	33
2. Uji aktivitas sitotoksik minyak atsiri	34
2.1. Sterilisasi LAF	34
2.2. Sterilisasi alat	34
2.3. Pembuatan médium RPMI	35
2.4. Pengaktifan sel	35
2.5. Panen dan perhitungan sel	35
2.6. Pembuatan larutan uji	37
2.7. Uji sitotoksik	37
E. Analisis Data	38
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	42
A. Hasil penelitian	42
1. Hasil determinasi tanaman	42
2. Hasil identifikasi KLT	43
3. Aktivitas sitotoksik minyak atsiri kulit batang kayu manis terhadap sel WiDr	44
B. Pembahasan	49
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	58

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Perbandingan relative panjang telomere pada sel normal, sel kanker, <i>germ cell</i> dan <i>stem cell</i>	18
Gambar 2. Ilustrasi Hallmarks of cancer	19
Gambar 3. Fase siklus sel	22
Gambar 4. Skema bilik hitung dalam <i>haemocytometer</i>	36
Gambar 5. Skema uji sitotoksisitas minyak atsiri	39
Gambar 6. Profil KLT sinamaldehyd	45
Gambar 7. Morfologi sel WiDr dengan pemberian minyak atsiri kulit batang kayu manis sebelum dan sesudah perlakuan	49
Gambar 8. Perbedaan degradasi warna secara visual mikroplate.....	50
Gambar 9. Diagram perbedaan nilai IC ₅₀ minyak atisri kulit batang kayu manis dengan doksorubisin.....	51
Gambar 10. Perbandingan regresi linear minyak atsiri kulit batang kayu manis dan doksorubisin	51

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil pemeriksaan kadar minyak atsiri kulit batang kayu manis	41
Tabel 2. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri.....	42
Tabel 3. Hasil identifikasi minyak atsiri kulit batang kayu manis	43
Tabel 4. Hasil pemeriksaan indeks bias	43
Tabel 5. Hasil penetapan bobot jenis minyak	44
Tabel 6. Hasil penetapan kadar sinamaldehyd	44
Tabel 7. Hasil persamaan garis dan perhitungan IC ₅₀ minyak atsiri kulit batang kayu manis dengan doksorubisin	51
Tabel 8. Interpretasi harga koefisien nilai r	52

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi kayu manis (<i>Cinnamomum burmanii</i> Nees ex Bl.)	65
Lampiran 2. Tanaman kayu manis, kulit batang kayu manis, destilasi ...	68
Lampiran 3. Identifikasi minyak atsiri kulit batang kayu manis	69
Lampiran 4. Hasil identifikasi sinamaldehyd dengan KLT	70
Lampiran 5. Hasil perhitungan kadar minyak atsiri	71
Lampiran 6. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri	72
Lampiran 7. Hasil perhitungan bobot jenis minyak atsiri	73
Lampiran 8. Alat, bahan, dan proses dalam penelitian sitotoksik	75
Lampiran 9. Pola mikroplate uji sitotoksik	78
Lampiran 10. Perhitungan volume panen sel yang diperlukan	79
Lampiran 11. Perhitungan pembuatan larutan	80
Lampiran 12. Perhitungan IC ₅₀ minyak atsiri kulit batang kayu manis ...	85
Lampiran 13. Perhitungan IC ₅₀ dengan perlakuan Doksorubisin	89
Lampiran 14. Hasil statistika sitotoksitas Doksorubisin terhadap persen viabilitas sel WiDr	93

DAFTAR SINGKATAN

ACS	: <i>American Cancer Society</i>
Bcl-2	: <i>B-cell lymphoma 2</i>
Bcl-x1	: <i>B-cell lymphoma-extra large</i>
CCRC	: <i>Cancer Chemoprevention Research Center</i>
CI	: <i>combination index</i>
COX-2	: <i>Cyclooxygenase-2</i>
c-PARP	: <i>cleaved Poly (ADP-ribose) Polymerase</i>
DMEM	: <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DMSO	: <i>Dimetil sulfoksida</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
HEPES	: <i>(4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid)</i>
IC ₅₀	: <i>Inhibitory Concentration 50%</i>
KLT/TLC	: <i>Kromatografi Lapis Tipis / Thin Layer Chromatography</i>
MTT	: <i>Microculture tetrazolium technique</i>
NFκB	: <i>Nuclear Factor kappa B</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
Rf	: <i>Retention factor</i>
RPMI	: <i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SDS	: <i>Sodium Dodecyl Sulphate</i>
UV	: <i>Ultra Violet</i>

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kanker adalah penyakit yang ditandai dengan pergeseran mekanisme kontrol yang mengatur kelangsungan hidup, proliferasi dan diferensiasi sel (Katzung 2002). Kanker terjadi karena proliferasi sel tak terkontrol yang terjadi tanpa batas dan tanpa tujuan. Meskipun setiap kanker memiliki ciri unik, kanker muncul melalui beberapa proses yang sama yang pada akhirnya bergantung pada perubahan genetik secara krusial. Agar sel menjadi kanker, perubahan genetik harus mendorong pertumbuhan sel, menginaktivasi gen yang normalnya tumbuh lambat, membiarkan sel tetap membelah sehingga sel bersifat immortal (tidak mati) dan membiarkan sel tetap berada dalam kondisi abnormal yang dalam kondisi lain menyebabkan kematian sel (Corwin 2009).

Nama *carcinomas* atau *carcinoma* atau kanker pertama kali diperkenalkan oleh Hipocrates, seorang dokter Yunani pada 400 tahun SM (Sukardja 2000). Di dunia, kanker kolorektal menduduki peringkat ketiga pada tingkat insidensi dan peringkat kedua pada tingkat mortalitas (*National Cancer Institute* 2009).

Penyakit kanker menempati peringkat kedua setelah kardiovaskuler dalam menimbulkan kematian di Inggris dan Amerika Serikat (DiPiro *et al.* 2008). Kanker kolorektal atau kanker kolon adalah kanker yang menyerang kolon sampai ke rektum (Bynre 2008). Patofisiologi kanker kolorektal terjadi karena beberapa

penyebab, seperti berubahnya sel-sel epitel kolon yang normal secara histopatologi melalui kejadian molekuler. Penyebab lain yakni polip adenomatosa yang berkembang menjadi kanker kolorektal karena proses karsinogenesis (Mayer 2008). Sebagian besar kanker kolorektal berasal dari adenokarsinoma (*American Cancer Society* 2012).

Kanker kolorektal merupakan bentuk keganasan saluran cerna kedua terbanyak setelah keganasan hepatoseluler di Indonesia (Howlader 2011). *Indonesian Cancer* mencatat, pada tahun 2002 ditemukan sebanyak 3.572 kasus baru kanker kolorektal. Menurut data statistik kanker di Rumah Sakit Dharmais Pusat Kanker Nasional, kanker kolorektal termasuk dalam 10 kanker tersering rawat jalan pada tahun 2007 dengan lebih rinci 60 kasus baru kanker kolon dan 56 kasus baru kanker rektal (RS DPKN 2009).

Pengobatan penyakit kanker sering dilakukan dengan berbagai cara antara lain pembedahan, penyinaran, kemoterapi, hormon terapi, imunoterapi dan hipertermi. Kemoterapi dan sitostatika dapat menyembuhkan hanya sejumlah kecil jenis kanker (Tan 2002). Kemajuan teknologi serta penemuan-penemuan obat baru yang bersifat toksik terhadap sel kanker telah banyak dikembangkan. Sayangnya, penemuan obat-obat paten kanker ini tidak diiringi juga dengan semakin minimnya efek samping. Sitostatika selain toksik terhadap sel kanker, juga toksik terhadap sel normal. Kemoterapi merupakan pengobatan kanker dengan menggunakan suatu obat yang merusak sel kanker. Obat antikanker dapat

dibedakan menjadi dua yaitu obat konvensional dan obat dengan target molekular yang spesifik. Obat konvensional yang dimaksud adalah obat-obat sitostatika seperti taxol, bleomycin, 5-fluorourasil, klorambusil, tiotepa, alkaloid indol seperti vinblastin dan vinkristin. Obat sitostatika bekerja dengan mempengaruhi metabolisme asam nukleat terutama DNA atau biosintesis protein, hal inilah yang menyebabkan obat sitostatika bekerja tidak selektif (Siswandono *et al.* 2000). Karena alasan tersebut, akhirnya banyak orang yang masih mempertahankan pengobatan tradisional untuk kanker dengan menggunakan bahan-bahan dari alam (Dalimartha 2007). Masyarakat modern banyak yang beralih menggunakan obat-obat dari bahan alam atau obat herbal karena mereka beranggapan bahwa obat-obat ini memiliki efek samping jangka panjang yang lebih minimal, selain itu juga harganya lebih terjangkau, dan sumber obatnya banyak tersedia di Indonesia.

Kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Nees ex Bl.) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang telah diteliti kegunaannya sejak lama. Kayu manis bisa digunakan untuk obat sariawan, obat batuk, sesak napas, nyeri lambung, perut kembung, diare, rematik, menghangatkan lambung dan sebagai antikanker. Diduga senyawa aktif yang bertanggungjawab terhadap aktivitas antikanker dalam kayu manis adalah kandungan zat aktif sinamaldehyd (Kwon *et al.* 1997).

Ditinjau dari sifat keatsirian minyak sinamonnya maka kayu manis dikenal dengan empat tipe yaitu : kayu manis asal Sri Lanka (*Cinnamomum zeylanicum*, *Cinnamomum verum*) atau disebut juga *the true cinnamon*, kayu manis asal

Vietnam (*Cinnamomum loureirii*, *Saigon cinnamon*), kayu manis asal Cina (*Cinnamomum cassia*, *Cinnamomum aromaticum*), dan kayu manis yang dikembangkan di Indonesia *Cinnamomum burmanii* Nees ex BI yang banyak ditemukan di daerah Sumatera (Vangalapati *et al* 2012).

Penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa sinamaldehyd mampu menghambat proliferasi, invasi, dan pertumbuhan tumor. Minyak atsiri kulit kayu manis memiliki khasiat sitotoksik yang sangat kuat yaitu LC_{50} sebesar $0,03 \mu\text{g/ml}$ (Sharififar *et al.* 2009). Aktivitas antiproliferatif dari *Cinnamomum cassia* juga telah dibuktikan terhadap sel kanker hati dengan nilai IC_{50} sebesar $9,76 \pm 0,67 \mu\text{M}$ (Ng & Wu 2009).

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa destilat kayu manis *Cinnamomum burmanii* mempunyai efek sitotoksik pada sel T47D dengan nilai IC_{50} sebesar $75 \mu\text{g/ml}$, kombinasi sinergisnya dengan doxorubicin yakni $37,5 \mu\text{g/ml}$ - $1,25 \mu\text{M}$ dengan nilai CI 0,37 (Anjarsari 2013). Destilat kayu manis *Cinnamomum burmanii* juga terbukti memberikan efek sitotoksik terhadap kultur sel HeLa dengan nilai IC_{50} sebesar $250 \mu\text{g/ml}$ (Larasati 2013).

Penelitian-penelitian untuk menghasilkan fitofarmaka antikanker yang efektif sekaligus aman perlu terus dikembangkan agar dapat menjadi pilihan terapi alternatif pengobatan kanker dengan menggunakan bahan alam bagi masyarakat khususnya dan berguna bagi kemajuan ilmu pengetahuan pada umumnya.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka dapat disusun perumusan masalah :

1. Apakah minyak atsiri kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Nees ex Bl.) mempunyai efek sitotoksik terhadap kultur sel kanker kolon WiDr dan berapa IC_{50} nya?
2. Apakah nilai IC_{50} minyak atsiri kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Nees ex Bl.) sama dengan IC_{50} kontrol doksorubisin dalam menghambat pertumbuhan sel kanker kolon WiDr?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk :

1. Mengetahui efek sitotoksik minyak atsiri kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Nees ex Bl.) terhadap kultur sel kanker kolon WiDr dan nilai IC_{50} nya.
2. Untuk mengetahui apakah nilai IC_{50} minyak atsiri kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Nees ex Bl.) sama dengan nilai IC_{50} kontrol doksorubisin dalam menghambat pertumbuhan sel kanker kolon WiDr.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat :

1. Memberikan informasi efek sitotoksik minyak atsiri kulit batang kayu manis terhadap sel kanker kolon WiDr.
2. Memberikan informasi tentang efekstifitas minyak atsiri kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Nees ex Bl.) dalam menghambat sel kanker kolon WiDr jika dibandingkan dengan doksorubisin.
3. Memberikan dasar bagi penelitian lebih lanjut untuk mengkaji kemungkinan mekanisme kerja tanaman yang terbukti berkhasiat sebagai antikanker.
4. Menemukan bukti ilmiah yang dapat dipertanggungjawabkan tentang khasiat tanaman obat yang diteliti sebagai antikanker.
5. Memberi manfaat bagi masyarakat yang menginginkan terapi alternatif pengobatan kanker yaitu mendorong terciptanya fitofarmaka yang efektif dan aman.