

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Jahe Merah**

##### **1. Klasifikasi Tanaman jahe merah**

Klasifikasi jahe merah menurut Hutapea (2001) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Super divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber
Spesies	: <i>Zingiber officinale</i>
Varietas	: <i>Zingiber officinale var Rubrum</i>

##### **2. Nama Daerah**

Tanaman obat tradisional di Indonesia sangat beragam dan setiap tumbuhan memiliki nama daerah yang berbeda. Nama daerah jahe merah diantaranya yaitu halia (Sumatera), jahe (Sunda), jae (Jawa), jahi (Madura), cipakan (Bali), sipadas, hai (Kalimantan), bawo (Sulawesi) (Hutapea 2001).

##### **3. Morfologi Tanaman**

Berdasarkan aroma, warna, bentuk dan ukuran rimpang, jahe dapat dikenal menjadi tiga jenis yaitu jahe gajah atau jahe putih (*Zingiber officinale* var. Roscoe), jahe emprit atau jahe putih kecil (*Zingiber officinale* var. Amarum) dan jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum). Jahe merah memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan kedua jenis jahe lainnya, karakteristik jahe merah berserat kasar, beraroma tajam dan sangat pedas. Jahe emprit berukuran lebih besar dibandingkan jahe merah, namun lebih kecil daripada jahe gajah, jenis jahe ini memiliki karakteristik warna putih atau kuning, berbentuk agak pipih, berserat lembut dan aromanya tidak tajam. Jahe gajah memiliki ukuran yang paling besar, jenis jahe ini memiliki karakteristik warna kuning atau kuning muda,

berserat sedikit lembut, aroma tidak tajam dan rasa tidak terlalu pedas (Suprapti 2007).

Jahe merah (*Zingiber officinale* var *Rubrum*) memiliki rimpang dengan bobot antara 0.5-0.7 kg/rumpun. Struktur rimpang jahe merah kecil berlapis-lapis dan daging rimpangnya berwarna jingga hingga merah. Diameter rimpang dapat mencapai 12.50 cm. Jahe merah memiliki kandungan minyak atsiri yang lebih tinggi dibandingkan jahe kecil. Akar yang keluar dari rimpang berbentuk bulat, berdiameter antara 2,9-5,71 cm dan panjangnya 40 cm, akar yang dikumpulkan dalam satu rumpun jahe merah mencapai 300 gram jauh lebih banyak dibandingkan dari jahe gajah dan jahe emprit. Susunan daun terletak berselang-seling teratur, berbentuk lancet dan berwarna hijau muda hingga hijau tua. Panjang daun dapat mencapai 25 cm dengan lebar antara 27-31 cm. Kandungan dalam rimpang jahe merah antara lain minyak atsiri 2,58-3,90%. Jahe merah tumbuh di daerah yang tropis yang beriklim cukup panas dan curah hujan sedikit. Jika cahaya matahari mencukupi tanaman ini dapat menghasikan rimpang jahe yang lebih besar daripada biasanya (Haspoh 2010).

#### **4. Kandungan kimia.**

Rimpang jahe merah mengandung komponen senyawa kimia yang terdiri dari minyak menguap, minyak tidak menguap dan pati. Jahe merah mempunyai komponen kandungan yang khas, kandungan minyak atsiri jahe merah sekitar 2,58%-2,72% dihitung berdasarkan berat kering. Minyak atsiri umumnya berwarna kuning, sedikit kental, dan merupakan senyawa yang memberikan aroma yang khas pada jahe. Kandungan minyak atsiri yang tidak menguap disebut oleoresin yakni komponen yang memberi rasa pahit dan pedas (Harliansyah 2007). Hasil penelitian Ghufron (2001) rimpang jahe merah mengandung senyawa gingerol, shagaol, zingeron yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Hasil penelitian dari Harliansyah (2007) rimpang jahe merah memiliki kandungan gingerol yang bersifat antioksidan tinggi, antiinflamasi, antimutagenik dan antikarsinogenik. Senyawa aktif yang terbukti memiliki aktivitas sebagai antikanker seperti diterpenoid, triterpenoid, flavonoid, dan alkaloid (Rahman et al. 2011). Hasil penelitian Fadlilah (2013) rimpang jahe merah mengandung

terpenoid, flavonoid memiliki aktivitas sebagai antikanker dengan penghambatan proliferasi dan penghambatan angiogenesis sehingga sel kanker mengalami kematian.

## **5. Penggunaan tanaman**

Jahe merah dapat digunakan sebagai bumbu masak atau pemberi aroma pada makanan dan minuman. Rimpang jahe merah juga dapat digunakan sebagai obat tradisional karena memiliki aktifitas farmakologi seperti pencahar (*laxative*), peluruh masuk angin, anti mabuk (*antiemetik*), sakit encok (*rheumatis*), sakit pinggang (*lumbago*), pencernaan kurang baik, radang tenggorokan, asma, sakit demam, pelega tenggorokan (Haspoh 2010). Rimpang jahe merah telah dapat dapat sebagai antikanker, antikarsinogenik, antimitogenik dan antitumor (Fadlilah 2013)

## **B. Simplisia**

### **1. Pengertian**

Simplisia merupakan bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain, simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi 3 macam yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral. Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa tanaman utuh atau bagian dari tanaman eskudat tanaman atau gabungan antara ketiganya. Simplisia hewani merupakan simplisia yang berupa hewan utuh atau bagian hewan, zat yang berguna dihasilkan dari hewan dan belum berupa zat murni. Simplisia mineral merupakan simplisia yang berupa mineral yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Gunawan *et al.* 2004).

### **2. Proses pembuatan simplisia**

Proses pembuatan simplisia ada beberapa tahap diantaranya sebagai berikut : pengumpulan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering dan penyerbukan.

**2.1 Pengumpulan bahan baku.** Pengumpulan bahan baku adalah tahapan yang penting dalam menentukan kualitas bahan baku yang akan digunakan.

Faktor yang penting dalam tahap ini adalah waktu panen karena waktu panen simplisia sangat berkaitan dengan senyawa aktif yang terkandung di dalam bagian tanamannya. Waktu yang tepat saat pemanenan adalah ketika bagian tanaman yang akan digunakan mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang maksimal atau saat tanaman pada umur tertentu (Gunawan *et al.* 2004).

**2.2 Sortasi basah.** Sortasi basah bertujuan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing serta bagian tanaman lain yang tidak diinginkan dari bahan simplisia. Kotoran dapat berupa tanah, kerikil dan tanaman yang telah rusak atau busuk. Pemisahan bahan simplisia dari kotoran bertujuan untuk menjaga kemurnian dan mengurangi kontaminasi dan mengurangi cemaran mikroba (Prasetyo *et al.* 2013).

**2.3 Pencucian dan penirisan.** Pencucian bahan simplisia bertujuan untuk menghilangkan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan menggunakan air bersih dan air mengalir. Penirisan dilakukan pada rak-rak yang telah diatur, hal ini bertujuan untuk mencegah pembusukan dan bertambahnya kandungan air (Prasetyo *et al.* 2013).

**2.4 Pengeringan simplisia.** Pengeringan simplisia bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Simplisia dapat mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik sehingga akan mencegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Pengeringan simplisia dibedakan menjadi 2 yaitu pengeringan alamiah dan pengeringan buatan. Pengeringan alamiah merupakan pengeringan dengan sinar matahari langsung yakni diangin-anginkan tidak dibawah sinar matahari langsung melainkan diudara yang terbuka. Pengeringan buatan dilakukan dengan menggunakan alat atau mesin pengering sehingga suhu, kelembaban, tekanan, dan aliran udara dapat dikontrol (Prasetyo *et al.* 2013).

**2.5 Sortasi kering.** Sortasi kering adalah pemilihan bahan-bahan setelah mengalami proses pengeringan. Pemilihan dilakukan terhadap bahan-bahan yang terlalu gosong, bahan yang rusak akibat pengotor-pengotor lain yang masih tertinggal pada simplisia kering sehingga dapat menjamin bahwa simplisia tersebut bebas dari benda asing (Gunawan *et al.* 2004).

**2.6 Penyerbukan.** Tahap awal pembuatan ekstrak adalah tahapan pembuatan serbuk kering (penyerbukan). Simplisia dibuat serbuk kering dengan menggunakan peralatan tertentu sampai mencapai derajat kehalusan tertentu. Penyerbukan bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan dari bahan sehingga senyawa kimia yang terdapat dalam tumbuhan dapat ditarik secara optimal. Rimpang jahe merah yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender atau mesin grinding kemudian diayak dengan ayakan ukuran 40 mesh dan dilakukan perhitungan bobot kering terhadap bobot basah rimpang jahe merah (BPOM RI 2012)

### **C. Ekstraksi**

#### **1. Pengertian**

Ekstraksi tanaman obat merupakan pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Faktor yang harus diperhatikan dalam proses ekstraksi adalah simplisia yang akan diekstraksi harus diketahui kebenarannya, simplisia dihaluskan sesuai dengan ukuran derajat kehalusan, perendaman simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai, dan waktu yang digunakan dalam proses penyarian harus diperhatikan (Agoes 2009).

#### **2. Ekstrak**

Ekstrak merupakan sediaan yang diperoleh dengan cara ekstraksi tanaman obat menggunakan ukuran partikel tertentu dan menggunakan medium pengestraksi tertentu pula (Agoes 2009). Ekstrak dapat dikelompokkan atas dasar sifatnya, seperti ekstrak kering yang memiliki konsentrasi kering dan mudah dikeringkan, sehingga ekstrak kering sebaiknya memiliki kandungan lembab tidak kurang dari 5%. Ekstrak kental adalah sediaan kuat dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang, kandungan air sampai 30%. Ekstrak cair merupakan ekstrak yang dibuat sedemikian rupa hingga satu bagian simplisia sesuai dua bagian atau satu bagian ekstrak cair (Voigt 1995).

#### **3. Maserasi**

Maserasi adalah metode yang digunakan untuk simplisia segar, kering atau serbuk yang zat aktifnya tidak tahan terhadap proses pemanasan. Pelarut yang

dipakai adalah pelarut air atau pelarut organik. Keutungan dari metode maserasi adalah pengerjaannya dan peralatan yang mudah dan sederhana, cocok digunakan untuk bahan-bahan yang tidak tahan terhadap pemanasan. Kekurangan dari metode ini adalah waktu yang digunakan untuk proses ekstraksi cukup lama, penyarian kurang sempurna dan pelarut yang digunakan jumlahnya banyak (BPOM RI 2012).

Pembuatan maserasi kecuali dinyatakan lain, adalah sebagai berikut : dimasukkan 1 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok kedalam sebuah bejana, kemudian dituangi dengan 10 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 6 jam, terlindung dari sinar matahari sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan, diserkai, diperas, dan diulangi proses maserasi 2 kali dengan jumlah dan jenis pelarut yang sama, kemudian semua maserat dikumpulkan dan dipekatkan (BPOM RI 2012).

#### **4. Fraksinasi**

Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari kandungan yang lain, sehingga senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut yang polar dan senyawa non polar akan masuk ke pelarut non polar. Fraksinasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair menggunakan corong pisah. Prinsip pemisahan dari fraksinasi adalah didasarkan pada perbedaan tingkat kepolaran dan perbedaan bobot jenis antara dua fraksi yakni fraksi yang memiliki bobot jenis lebih besar akan berada pada fase bawah sedangkan fraksi yang memiliki bobot jenis yang lebih kecil akan berada pada fase atas, metode ini dilakukan dengan cara pengocokkan dan didiamkan sampai terjadi pemisahan sempurna dan terbentuk dua lapisan cair (Widyo *et al.* 2014).

#### **5. Pelarut**

Pelarut dalam ekstraksi dipilih berdasarkan daya larut zat aktif, zat yang tidak aktif zat yang tidak diinginkan dan tipe preparatnya. Pelarut yang ideal adalah pelarut yang menunjukkan selektivitas maksimal, kompatibel dengan sifat bahan yang diekstraksi dan mempunyai kapasitas terbaik yang ditinjau dari koefisien saturasi dalam produk medium (Agoes 2009).

**5.1. Etanol.** Etanol merupakan pelarut pilihan untuk memperoleh ekstrak secara klasik, seperti tinktur, ekstrak kental, cair maupun kering yang masih digunakan dalam formulasi sediaan farmasi (Agoes2009). Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih efektif, netral, kapang dan jamur sulit tumbuh dalam etanol 20%, tidak beracun, absorpsinya baik. Etanol dapat bercampur dengan air dengan segala perbandingan, panas yang digunakan saat pemekatan lebih sedikit. Etanol dapat juga melarutkan alkaloid basa minyak menguap, glikosida, kurkumin, lemak, malam, tanin dan saponin tetapi hanya sedikit larut, sehingga zat pengganggu yang larut hanya terbatas, kerugian dari etanol adalah harganya mahal (Hayatus 2015).

**5.2. *n*-Heksan.** *n*-heksan merupakan pelarut non polar berasal dari hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih berupa cairan jernih tidak berwarna, mudah menguap, selektif, mudah terbakar, mempunyai bau eter lemah. Larut dalam etanol, praktis tidak larut air, mutlak dapat bercampur dengan eter, kloroform, benzene dan dengan sebagian besar minyak lemak serta minyak atsiri. *n*-Heksan dapat melarutkan senyawa non polar seperti lemak, steroid, terpenoid dan keratonoid (Depkes 1979).

**5.3. Etil asetat.** Etil asetat merupakan pelarut semi polar yang dapat melarutkan senyawa semi polar pada dinding sel. Etil asetat adalah cairan yang tidak berwarna, memiliki aroma yang khas, mudah menguap tidak beracun, dan tidak higroskopis (Mayang 2015).

**5.4. Air.** Air sangat polar digunakan untuk menyari senyawa organik polar sehingga cocok untuk pelarut polar dalam proses fraksinasi. Air dapat melarutkan garam alkaloid, tanin, saponin, gula, gom, pati, protein, enzim, zat warna dan asam organik. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan karena zat lain yang tidak diinginkan juga ikut tersari sehingga mengganggu proses penyarian. Air dipertimbangkan sebagai pelarut sebab murah dan mudah diperoleh, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan alami. Air dapat melarutkan enzim yang terlarut sehingga dengan adanya air akan menyebabkan reaksi enzimatik, mengakibatkan penurunan mutu, tetapi adanya air akan mempercepat proses hidrolisis (Depkes 1986).

## **D. Kanker**

### **1. Pengertian kanker**

Kanker merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan pembelahan sel yang tidak terkendali dan kemampuan sel-sel tersebut untuk menyerang jaringan lain baik dengan pertumbuhan langsung di jaringan sekitarnya (invasi) atau dengan migrasi sel lain atau metastasis (Winarno 2011). Kanker merupakan pertumbuhan jaringan yang baru sebagai akibat dari ploriferasi (pertumbuhan yang berlebih) sel secara abnormal dan terus menerus serta memiliki kemampuan menyerang dan merusak jaringan lain (Made 2014).

Timbulnya kanker diawali karena adanya kerusakan DNA yang dapat menyebabkan metastasis sel DNA atau pembelahan sel sehingga beberapa mutasi akan menyebabkan perubahan sel normal menjadi sel kanker (Made 2014). Metastasis merupakan hasil akhir dari proses perubahan sel kanker dimana sel kanker tersebar dan terjadi interaksi yang beragam antara sel tersebut dengan lingkungan mikro. Sel-sel kanker berkembang di jaringan yang baru, sehingga menyebabkan disfungsi organ bahkan kematian (Dzaki 2018).

### **2. Sifat kanker**

Sel kanker adalah sel yang tidak mengetahui sinyal kapan mereka akan berhenti melipat ganda. Sel kanker tidak mampu berinteraksi secara sinkron dengan lingkungan disekitarnya dan membelah tanpa terkendali serta bersaing dengan sel normal dalam memperoleh bahan makanan dan oksigen dari tubuh (Nurhayati 2006).

Sel kanker tidak mengenal program kematian sel atau tidak sensitif terhadap sinyal antiploriferasi. Kanker dapat dikendalikan melalui proses apoptosis yaitu proses kematian sel yang terprogram. Apoptosis memiliki peran penting yaitu membatasi proliferasi sel yang tidak diperlukan yang sekiranya akan menyebabkan kanker, sel-sel kanker program apoptosis telah mengalami gangguan sehingga akan mengalami metastasis. Gen pengendali kanker adalah protein *p53* yang merupakan faktor transkripsi dengan fungsi utama sebagai pengatur siklus sel, perbaikan kerusakan DNA, sistesis DNA dan diferensiasi sel dalam apoptosis sehingga dapat memicu penghancuran sel (Made 2014).

### 3. Siklus kanker

Siklus kanker merupakan suatu tahapan kompleks meliputi penggandaan materi genetik, pengaturan waktu pembelahan sel dan interaksi antara protein dan enzim (Murti 2007). Siklus sel dapat dibedakan secara biokimiawi maka siklus sel menggambarkan jangka waktu antara dua waktu yang berurutan pada pembelahan sel yang terdiri dari empat regulasi (Rahmawati 2014) diantaranya adalah sebagai berikut :

**3.1 Fase pasca mitosis (fase G1).** Fase ini dipersiapkan suatu interval dalam proses pembelahan sel dan dimulai dengan sintesis asam deoksiribonukleat (DNA) . Fase G1, sel anak baru berupa untai tunggal DNA yang terbentuk setelah mitosis akan tumbuh menjadi sel dewasa membentuk protein, enzim dan lain sebagainya (Istindah dan Auerkari 2001).

**3.2 Fase sintesis DNA (fase S).** Fase sintesis ini dibentuk untai DNA yang baru melalui proses replikasi. Replikasi DNA terjadi dengan bantuan enzim *DNA-polimerase* sehingga dengan dibentuknya DNA baru maka rantai tunggal DNA menjadi rantai ganda. Selama fase S ini juga berlangsung perbaikan DNA yang dapat mencegah berkembangnya generasi kanker (Istindah dan Auerkari 2001).

**3.3 Fase pra mitosis (fase G2).** Fase G2 terjadi setelah fase S dan sebelum fase M, pada fase G2 sel siap untuk membelah, proses replikasi DNA dan berbagai protein serta biosintesis disempurnakan (Rahmawati 2014). Sel yang telah mereplikasi kromosom akan menduplikasi keseluruhan komponen lainnya, selain itu terjadi pula sintesis mRNA dan berbagai protein tertentu (Murti *et al.* 2007).

**3.4 Fase Mitosis (fase M).** Saat mitosis berlangsung, sintesis protein dan RNA akan mengalami pengurangan secara tiba-tiba, kemudian berlangsung pemisahan sel menjadi dua sel anakan dengan sifat dan karakteristik yang sama dengan induknya setelah siklus sel selesai, sel mempunyai dua pilihan yaitu : siklus dimulai kembali dengan memasuki G1 atau sek keluar dari siklus menjadi non aktif (Istindah dan Auerkari 2001)

#### 4. Pengobatan kanker

Pengobatan kanker ada beberapa jenis, yaitu meliputi : radioterapi, kemoterapi, pembedahan dan bioterapi/immunoterapi.

**4.1 Radioterapi.** Radioterapi Dapat digunakan sebagai terapi kuratif, paliatif maupun profilaksis, terapi kuratif berbentuk terapi tunggal untuk penyembuhan suatu kanker. Terapi paliatif bertujuan untuk meningkatkan kualitas hidup dengan cara menghilangkan gejala kanker dengan radiasi paliatif. Terapi profilaksis bertujuan untuk mencegah kemungkinan metastasis (Fitria *et al.* 2017).

**4.2 Kemoterapi.** Kemoterapi dilakukan untuk membunuh sel kanker dengan obat anti kanker (sitostatika). Kemoterapi bertujuan untuk menghambat proliferasi sel dan menghancurkan sel kanker sehingga sel kanker akan mati. Pemberian obat-obat sitotoksik seringkali dikombinasi dengan obat-obatan dengan tujuan untuk mengurangi efek samping. Efek samping yang ditimbulkan dalam pengobatan kemoterapi seperti : anemia, anoreksia, ansietas, pendaharahan, rambut rontok, rasa nyeri, insomnia dan demam (Shinta dan Bakti 2016).

**4.3 Pembedahan.** Pembedahan merupakan tindakan yang dapat digunakan untuk mengambil masa kanker, mengurangi ukuran tumor, meredakan nyeri dan mencegah metastasis jika dilakukan sejak dini (Renidayati 2016).

**4.4 Immunoterapi/bioterapi.** Immunoterapi juga disebut sebagai terapi biologis atau bioterapi. Tujuan immunoterapi adalah untuk memperkuat kemampuan alami tubuh dalam membunuh sel kanker dengan meningkatkan efektivitas sistem kekebalan tubuh. Immunoterapi yang saat ini sedang dikembangkan adalah : stimulan imun, antibodi berlabel fluoresen, antibodi penyerang dan terapi gen (Maulidiah 2016).

#### 5. Doxorubicin

Doxorubicin merupakan antibiotik golongan antrasiklin yang banyak digunakan untuk terapi berbagai macam jenis kanker seperti kanker jenis leukimia akut, kanker payudara, kanker ovarium dan berbagai jenis tumor solid, senyawa ini diisolasi dari *Streptomyces peucetius var Caesius* (Thorn *et al.* 2011). Mekanisme doxorubicin yaitu pada penghambatan topoisomerase II dan berinterkalasi dengan DNA sehingga timbul penghambatan RNA dan DNA, selain

itu mekanisme doxorubicin adalah mendukung penghambatan proliferasi sel, yang dapat menyebabkan doxorubicin sebagai agen kemoterapi yang baik. Toksisitas doxorubicin telah banyak diketahui dan dapat menyebabkan kardiotoxicitas pada penggunaan jangka panjang. Efek samping pada pemakaian doxorubicin adalah mual, immunosupresi dan aritmia yang bersifat ireversibel atau dapat dikontrol dengan obat-obat lain, efek samping pada pemakaian kronisnya adalah terbentuknya *cardiomyopathy* yang diikuti dengan gagal jantung (Prawira 2004).

Terjadinya *cardiomyopathy* pada pemakaian doxorubicin disebabkan karena terbentuknya oksigen reaktif, meningkatnya kadar anion superoksida dan pengurangan ATP yang dapat menyebabkan perlukaan jaringan kardiak. Doxorubicin juga mempunyai Efek samping yaitu resistensi obat, mekanisme yang menyebabkan resistensi doxorubicin adalah adanya overekspresi pgP yang menyebabkan doxorubicin dipompa keluar sel dan konsentrasi doxorubicin dalam sel turun. Perubahan biokimiawi lain pada sel resisten doxorubicin antara lain peningkatan aktivitas glutathione peroksidase maupun mutasi topoisomerase II (Bruton *et al.* 2005), sehingga diperlukan agen yang mampu mengatasi masalah resistensi doxorubicin untuk menurunkan efek samping tersebut.

## **6. Kandungan senyawa tanaman sebagai terapi kanker**

Senyawa kimia pada tanaman terdapat dalam metabolit primer dan metabolit sekunder. Rimpang jahe merah mengandung senyawa metabolit sekunder berupa terpenoid dan flavonoid. Senyawa terpenoid dapat menghambat sel kanker dan dapat membantu pemulihan sel tubuh (Fadlilah 2013).

Flavonoid berfungsi sebagai penghambatan proliferasi melalui inhibisi proses oksidatif dapat menyebabkan inisiasi kanker, mekanisme ini diperantai penurunan enzim xanthin oksidase, siklooksigenase (COX), dan lipooksigenase (LOX) yang diperlukan dalam proses pro oksidase sehingga dapat menunda siklus sel. Flavonoid berfungsi sebagai penghambatan angiogenesis yang dapat menyebabkan kematian sel kanker, karena sel kanker tidak mendapat suplai nutrisi dan oksigen (Fadlilah 2013). Mekanisme flavonoid juga dapat memacu apoptosis melalui penghambatan aktivitas DNA topoisomerase I/II, modulasi *signaling*

*pathways*, penurunan ekspresi gen Bcl-2 dan Bcl-XL, peningkatan ekspresi gen Bax dan Bak (Ratna 2008).

## **E. Kanker Hati**

### **1. Definisi kanker hati**

Kanker hati atau yang disebut dengan karsinoma hepatoseluler (hepatoma) merupakan penyakit neoplasma ganas primer hepar yang terdiri dari sel menyerupai hepatosit dengan derajat defirensiasi bervariasi (Alianto 2015). Kanker hati dapat diklasifikasikan menjadi kanker hati primer dan kanker hati metastatik. Kanker hati primer merupakan tumor ganas yang disebabkan oleh sel-sel hati dan dapat dikenal sebagai “Karsinoma Hepatoseluler”. Kanker hati primer disebabkan karena virus hepatitis B yang menyerang sel-sel hati sehingga mengakibatkan sel-sel hati bermutasi dan mengganggu sistem kerja jaringan-jaringan lain didalam hati sedangkan kanker hati metastatik merupakan kanker hati yang disebabkan oleh penyebaran sel-sel kanker dari organ lain yang terbawa oleh darah yang akan disaring dihati dan menyebabkan sel kanker menempel di dalam hati sehingga memicu kanker hati (Ali 2013).

Hepatoseluler merupakan tumor ganas primer pada hati yang berasal dari sel parenkim atau epitel saluran empedu atau metastase dari tumor jaringan lainnya. Hepatoma merupakan salah satu tumor yang paling sering ditemukan didunia, terutama di negara Asia dan Afrika. Karsinoma hepatoseluler lebih sering terjadi pada laki-laki daripada perempuan, biasanya timbul pada hati yang sirotik. Organ hati dapat memperbaiki dirinya sendiri dan masih berfungsi walaupun hanya tersisa sedikit bagian yang normal dari organ hati. Kanker hati pada stadium awal tidak menunjukkan gejala kesehatan yang signifikan, ketika tumor berkembang menjadi besar, maka keluhan yang paling sering terjadi yaitu berkurangnya nafsu makan, penurunan berat badan, nyeri perut bagian kanan, mata nampak kuning, badan lemas, mual, perut membesar karena adanya cairan dalam rongga perut, kaki bengkak dan demam (Neibaho *et al.* 2010).

## 2. Faktor resiko kanker hati

Ada beberapa penyebab kanker hati dan ada beberapa diantaranya masih dalam tahap penelitian, namun faktor memberikan resiko yang lebih tinggi adalah sebagai berikut virus hepatitis, sirosis, hepatitis C, konsumsi minuman alkohol dengan berlebih, konsumsi makanan yang mengandung toksin (senyawa alfaktoksin), paparan terhadap lingkungan yang tidak sehat dan penyakit hati berlemak (Neibaho 2010).

### F. Sel Vero

Sel vero merupakan sel satu lapis (monolayer) yang memiliki bentuk pipih dan poligonal yang disiolasi dari sel ginjal monyet hijau Afrika. Kultur sel vero memiliki sifat semi melekat dan digunakan sebagai model sel untuk mempelajari sinyal transduksi seluler. Sel vero pada penelitian dapat digunakan untuk mempelajari pertumbuhan sel, sitotoksik diferensiasi sel dan transformasi sel yang dapat diinduksi oleh beberapa macam senyawa kimia. Sel vero dapat juga berfungsi untuk mempelajari perubahan sel seperti pertumbuhan dan morfologinya akibat induksi berbagai senyawa kimia serta sel vero dapat direkomendasikan sebagai sel model dalam mempelajari karsinogenesis secara *in vitro* (Goncalves *et al.* 2006).

Sel vero melekat erat pada substrat yang berbahan polistirena dengan membentuk ikatan kovalen, jumlah interferon pada sel vero lebih sedikit dibandingkan dengan sel mamalia normal. Sel ini ketika diinfeksi oleh virus, maka tidak lagi mensekresikan interferon tipe 1 sehingga kekurangan interferon pada sel vero dapat menyebabkan sel ini sangat sensitif bila terinfeksi oleh berbagai macam virus. Sel ini masih memiliki reseptor interferon alfa dan beta walaupun jumlah interferon sangat sedikit, sehingga sel tersebut masih mampu merespon secara normal ketika interferon ditambahkan ke dalam kultur sel (Goncalves *et al.* 2006).

### G. Sel HepG2

Sel HepG2 merupakan garis yang diabadikan terdiri dari sel-sel karsinoma hati manusia, berasal dari jaringan laki-laki yang berusia 15 tahun dengan karsinoma hepatoselular yang terdiferensiasi dengan baik. HepG2 adalah epitel dan mengandung 55 kromosom. Sel HepG2 merupakan sel yang dapat tumbuh dengan baik dan mengeluarkan banyak protein seperti transferin, fibrinogen, plasminogen, dan albumin. Sel HepG2 dapat dirangsang dengan hormon pertumbuhan manusia. Sel HepG2 adalah epitel yang tumbuh sebagai monolayers dalam agregat kecil. Morfologi sel HepG2 Sel ini ditumbuhkan pada media penumbuh DMEM Katalog No. 30-2003 yang ditambahkan 10% FBS, Sel ditumbuhkan pada suhu 37<sup>0</sup>C dengan CO<sub>2</sub> 5% (ATCC 2013).

Sel HepG2 merupakan sistem model *in vitro* yang dapat digunakan untuk mempelajari hepatosit manusia terploarisasi, dengan kondisi kultur yang tepat sel HepG2 dapat menampilkan diferensiasi morfologi dan fungsional yang kuat dengan pembentukan sel yang dapat dikontrol (Haryanti *et al.*2017).

### H. Kultur Sel

Kultur sel adalah proses penghilangan atau perpindahan sel dari manusia, hewan atau tanaman ke dalam media terkontrol yang sesuai untuk menumbuhkan sel tersebut. Sel tersebut dapat diambil secara langsung dari jaringan atau dengan proses enzimatik maupun mekanik, sebelum dikultivasi (dibiakan). Teknik yang digunakan untuk perkembangbiakan sel yang berasal dari *cell line* diluar tubuh (*in vitro*), kultur jaringan adalah kultur tiga dimensi dari jaringan utuh atau dapat juga disebut *in vivo*. Kultur sel ditempatkan dalam wadah khusus yang steril (flask), kebutuhan akan O<sub>2</sub> 95% harus dijaga dan diinkubasi pada inkubaor sel yang mengandung kadar CO<sub>2</sub> 5%. *Cell line* dapat tumbuh pada ph 7,4 sehingga kestabilannya harus dijaga dengan menambahkan buffer ke dalam medium kultur. Sel turunan disimpan dengan temperatur -120 °C sampai -180°C agar sel tersebut tidak berproliferasi (Khumairoh 2016).

Media kultur yang sering dipakai dalam kultur sel HepG2 atau sel kanker hati adalah DMEM (*Dullbeco's modified media Easel*). Media ini merupakan

sebuah variasi dari media MEM yang mengandung sekitar empat kali lebih banyak vitamin dan asam amino hadir dalam MEM dan 2-4 kali lebih banyak glukosa. Media DMEM juga mengandung zat besi. DMEM terbagi berdasarkan kadar glukosa yakni jenis tinggi glukosa (4500g/L glukosa) dan jenis rendah glukosa (1000g/L glukosa). DMEM dengan glukosa tinggi cocok untuk beberapa sel tumor dengan kecepatan pertumbuhan yang lebih cepat dan sulit (Supradi 2017).

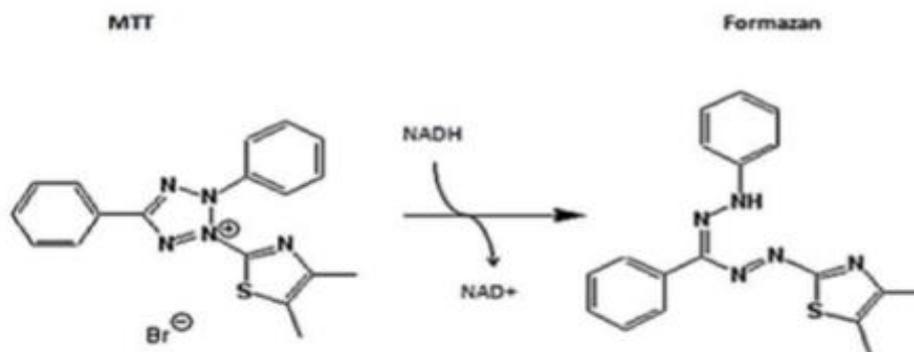
### I. Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik merupakan uji toksisitas secara *in vitro* dengan menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa. Penggunaan uji sitotoksik pada kultur sel merupakan salah satu cara penetapan *in vitro* untuk mendapatkan obat-obat sitotoksik seperti bahan alam yang berpotensi sebagai antikanker. Sistem ini merupakan uji kuantitatif dengan cara menetapkan kematian sel. Parameter yang digunakan untuk uji sitotoksik yaitu 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 nilai  $IC_{50}$  maka semakin senyawa tersebut semakin tidak toksik (Haryoto *et al* 2013).

Uji sitotoksik terdiri dari dua metode secara umum diantaranya metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan biru tripan (*trypan blue*) dan metode MTT (*mikrokultur Tetrazolium Technique*) *essay*. Metode garam tertazolium atau MTT (3-(4,5-dimetilthiazol-2-il)-2,5-diphenil tetrazolium bromid) digunakan untuk mengukur aktivitas metabolit kultur sel *in vitro*. Ujinya cukup cepat, sensitif, semiotomatis, dan tidak menggunakan radioisotop. Uji ini juga dapat digunakan untuk mengukur proliferasi dan sitotoksik terhadap sel. Uji ini berdasarkan kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam tertazolium atau MTT(3-(4,5-dimetilthiazol-2-il)-2,5-dipheniltetrazolium bromid) yang berwarna kuning dan larut menjadi kristal formazon yang berwarna biru-ungu dan tidak

larut. Reduksi garam tetrazolium terjadi di intrasel dan melibatkan enzim di retikulum endoplasma dan mitokondria (Siregar dan Hadijono 2000).

Gamba



**Gambar 1. Reaksi reduksi MTT assay**

Sel yang telah mengalami poliferasi, mitokondria akan menyerap MTT sehingga sel-sel tersebut akan berwarna ungu akibat pembentukan dari kristal tetrazolium, terbentuknya kristal tetrazolium (formazan) disebabkan karena garam tetrazolium atau MTT yang berwarna kuning dimetabolisme oleh enzim *suksinat dihidrogenase* yang terdapat pada mitokondria sel. Kristal formazon bersifat impermeable terhadap membran sel dan tidak dapat larut dengan air, sehingga dapat ditambahkan zat tambahan atau reagen stoper (detergenik). Intesitas warna ungu kristal formazon yang terbentuk proposional dengan jumlah sel hidup, sehingga apabila warna ungu semakin kuat, maka jumlah sel hidup juga semakin banyak (Agung 2013).

## J. Uji Indeks Selektivitas

Uji dalam penelitian ini digunakan sebagai indikasi selektivitas sitototoksik (tingkat keamanan) dari ekstrak dan fraksi jahe merah terhadap sel normal, yakni toksik terhadap sel kanker akan tetapi tidak toksik terhadap sel normal (Furqan 2014). Nilai indeks selektivitas dapat diperoleh dengan menggunakan metode MTT dari nilai IC<sub>50</sub> sel vero dibandingkan dengan IC<sub>50</sub> sel kanker yang diuji, apabila nilai indeks selektivitas lebih tinggi (>3,00) dapat menunjukkan bahwa ekstrak memiliki selektivitas yang tinggi sedangkan pada

senyawa dengan nilai indeks selektivitas ( $<3,00$ ) maka dianggap dapat memberi toksisitas umum dan juga menyebabkan sitotoksik pada sel (Rollando *et al.* 2017), Sebelum dilakukan penelitian mengenai potensi antikanker ekstrak dan fraksi perlu dilakukan terlebih dahulu terhadap aktivitas sitotoksiknya terhadap sel normal. Efek toksik terhadap sel normal dapat menyebabkan efek samping yang dapat menurunkan kualitas hidup pasien (Mutiah 2017).

### **K. Landasan Teori**

Kanker merupakan pertumbuhan jaringan yang baru sebagai akibat dari proliferasi (pertumbuhan yang berlebih) sel secara abnormal dan terus menerus serta memiliki kemampuan menyerang dan merusak jaringan lainnya. Timbulnya kanker diawali karena adanya kerusakan DNA yang dapat menyebabkan metastasis sel DNA atau pembelahan sel sehingga beberapa mutasi akan menyebabkan perubahan sel normal menjadi sel kanker (Made 2014).

Kanker hati atau yang disebut dengan karsinoma hepatoseluler (hepatoma) merupakan penyakit neoplasma ganas primer hepar yang terdiri dari sel menyerupai hepatosit dengan derajat diferensiasi bervariasi (Alianto 2015). Kanker hati primer disebabkan karena virus hepatitis B yang menyerang sel-sel hati sehingga mengakibatkan sel-sel hati bermutasi dan mengganggu sistem kerja jaringan-jaringan lain di dalam hati (Ali 2013).

Pengobatan kanker ada beberapa jenis, yaitu meliputi radioterapi, kemoterapi, pembedahan dan bioterapi/imunoterapi. Pengobatan secara modern membutuhkan biaya yang tinggi, akan tetapi pengobatannya kurang spesifik dan menimbulkan efek samping, salah satunya adalah pengobatan kemoterapi yang menimbulkan efek samping diantaranya anemia, anoreksia, ansietas, pendarahan, rambut rontok, rasa nyeri, insomnia, dan demam (Shinta dan Bakti 2016).

Doxorubicin merupakan antibiotik golongan antrasiklin, senyawa ini diisolasi dari *Streptomyces peucetius var Caesius* (Thorn *et al.* 2011). Mekanisme Doxorubicin yaitu pada penghambatan topoisomerase II dan berinterkalasi dengan DNA sehingga timbul penghambatan RNA dan DNA, selain itu mekanisme doxorubicin adalah penghambatan proliferasi sel (Prawira 2004)

Jahe merah (*Zingiber officinale* var. Roscoe) mengandung minyak atsiri sekitar 2,58%-2,72% (Harliansyah 2007). Rimpang jahe merah mengandung senyawa gingerol, shagaol, dan zingeron yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Ghufroon 2001). Rimpang jahe merah memiliki kandungan gingerol yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang tinggi, antimutagenik dan antikarsinogen, senyawa gingerol mampu menekan proliferasi sel kanker melalui pengaktifan sitokrom C sehingga dapat menginduksi kematian sel (Harliansyah 2007). Rimpang jahe merah mengandung terpenoid, flavonoid, alkaloid memiliki aktivitas sebagai antikanker, flavonoid termasuk senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan yang dapat menghambat proliferasi melalui inhibisi proses oksidatif yang dapat menyebabkan inisiasi kanker (Fadlilah 2013)

Uji sitotoksik merupakan uji toksisitas secara *in vitro* dengan menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa (Haryoto *et al* 2013). Metode garam tertazolium atau MTT (3-(4,5-dimetilthiazol-2-il)-2,5-diphenil tetrazolium bromid) digunakan untuk mengukur aktivitas metabolit kultur sel *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi sitotoksik ekstrak dengan menggunakan pelarut etanol 96 % dan pelarut yang digunakan fraksinasi dengan pelarut etil asetat, *n*-heksan terhadap kultur sel kanker HepG2. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi menggunakan etanol 96%. Penelitian ini juga untuk mengetahui selektivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi jahe merah terhadap sel kanker HepG2 dibandingkan dengan sel vero. Uji selektivitas bertujuan untuk mengetahui tingkat keamanan dari ekstrak dan fraksi jahe merah terhadap sel normal, yakni toksik terhadap sel kanker akan tetapi tidak toksik terhadap sel normal (Furqan 2014).

#### **L. Hipotesis**

Berdasarkan landasan teori di atas, maka dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini yaitu :

1. Ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* Roscoe var. Rubrum) mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker HepG2 dengan nilai  $IC_{50} < 100 \mu\text{g/ml}$ .

2. Fraksi *n*-heksana mempunyai aktivitas yang paling kuat terhadap sitotoksiknya.
3. Nilai indeks selektivitas ekstrak dan fraksi jahe merah dari kultur sel kanker HepG2 terhadap sel Vero lebih besar dari 3,00.