

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

1. Sistematika tanaman

Adapun menurut NCBI *Taxonomy*, klasifikasi dari binahong adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Bangsa : Caryophyllales
Suku : Basellaceae
Marga : *Anredera*
Jenis : *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis
Sinonim : *Boussingaultia cordata* Spreng., *Boussingaultia cordata* Ten., *Boussingaultia gracilis* Miers.



(dokumen pribadi)

Gambar 1. Daun binahong.

2. Nama daerah

Daun binahong dikenal memiliki beberapa nama daerah antara lain: bestru, blestru, blustru (Jawa); lopang, oyong (Sunda); blustru (Betawi); ketela manis (Melayu); hurung jawa (Palembang); dodahala (Halmahera) (Hariana, 2013). (Teng san chi (Cina); heartleaf madeira vine, madeira vine (inggris) (Mus 2008).

3. Morfologi

3.1 Daun. Tanaman binahong berdaun tunggal. Sangat pendek tangkainya (subsessile), pertulangan menyirip, tersusun berseling, daun berwarna hijau muda, berbentuk seperti jantung (cordata), memiliki panjang sekitar 5-10 cm dan lebar sekitar 3-7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk (emerginatus), tepi rata atau bergelombang, dan permukaan halus, licin, dan bisa dimakan (Susetya 2012).

3.2 Bunga. Tanaman binahong memiliki bunga majemuk berbentuk majemuk rimpang, bertangkai panjang, muncul di ketiak daun, mahkota berwarna putih sampai krem berjumlah lima helai tidak berlekatan. Panjang helai mahkota sekitar 0,5 – 1 cm dan memiliki bau yang harum (Susetya 2012).

3.3 Akar. Tanaman binahong mempunyai akar tunggang yang berdaging lunak dan berwarna kecoklatan (Susetya 2012).

4. Kandungan kimia

Kandungan kimia dari daun binahong antara lain flavonoid, steroid/triterpenoid, saponin, dan tanin (Surbakti 2018).

4.1 Flavonoid. Flavonoid pada tumbuhan terikat gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang kemungkinan terdapat dalam satu tumbuhan dalam beberapa bentuk kombinasi glikosida (Harborne 1987). Sifat fisika dan kimia senyawa flavonoid antara lain adalah larut dalam air, sedangkan dalam bentuk glikosida yang termetilasi larut dalam eter. Sebagai glikosida maupun aglikon, senyawa flavonoid tidak dapat larut dalam petroleum eter. Dari tumbuhan, glikosida dapat ditarik dengan pelarut organik yang bersifat polar (Heinrich *et al.* 2005).

4.2 Alkaloid. Senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom N, biasanya dalam gabungan sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid biasanya tidak berwarna, kebanyakan berbentuk kristal, hanya sedikit yang berupa cairan. Senyawa alkaloid dapat diidentifikasi dengan pereaksi Dragendorff (Harborne 1987).

4.3 Triterpenoid. Terpenoid adalah kelompok senyawa metabolit sekunder yang terbesar dilihat dari jumlah senyawa maupun variasi kerangka

dasar strukturnya. Terpenoid ditemukan berlimpah dalam tanaman tingkat tinggi, meskipun demikian, dari penelitian diketahui bahwa jamur, organisme laut, dan serangga juga menghasilkan terpenoid. Selain dalam bentuk bebasnya, terpenoid di alam juga dijumpai dalam bentuk glikosida, glikosil ester, dan iridoid. Terpenoid juga merupakan komponen utama penyusun minyak atsiri. Terpenoid adalah senyawa yang mengandung karbon dan hidrogen, atau karbon, hidrogen dan oksigen yang tidak bersifat aromatis. Terpenoid merupakan senyawa-senyawa yang mudah menguap terdiri atas 10 atom C dan penyusun minyak atsiri (Dewi 2009).

4.4 Saponin. Saponin merupakan senyawa yang tersebar luas dalam tanaman, bersifat mirip sabun dan mudah membentuk busa. Saponin memiliki struktur mirip steroid sehingga penggunaan yang berlebihan dapat menyebabkan gejala-gejala serupa akibat penggunaan steroid yang berlebih, seperti hipertensi dan trombosis (Heinrich *et al.* 2005)

5. Khasiat

Daun binahong memiliki khasiat dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Percobaan yang dilakukan terhadap tikus yang disuntik dengan ekstrak daun binahong dapat meningkatkan daya tahan tubuh, peningkatan agresivitas tikus dan tidak mudah terserang penyakit. Beberapa penyakit yang disembuhkan dengan menggunakan daun binahong antara lain: kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, muntah darah, tifus, stroke, wasir, reumatik, pemulihan pasca operasi, pemulihan pasca melahirkan, menyembuhkan segala luka dalam dan khitanan, radang usus, melancarkan dan menormalkan peredaran dan tekanan darah, sembelit, sesak napas, sariawan berat, pusing-pusing, sakit perut, menurunkan panas tinggi, menyuburkan kandungan, maag, asam urat, keputihan, pembengkakan hati, meningkatkan vitalitas dan daya tahan tubuh, dan juga digunakan sebagai antikanker (Manoi 2009). Mengonsumsi ramuan daun binahong 3 x sehari masing – masing sebanyak 200 mL dipercaya berkhasiat meningkatkan daya tahan tubuh penderita kanker. Ramuan dibuat dengan cara merebus 30 gram daun binahong kering dalam 1 L air hingga tersisa 600 mL (Mangan 2009).

6. Perkembangan penelitian daun binahong terkait kanker

Seiring berkembangnya ilmu pengetahuan pengobatan semakin berkembang. Pemanfaatan sumber daya alam untuk pengobatan dipercaya sebagai alternatif dalam mengurangi efek samping dari obat kimia. Salah satunya adalah pengobatan kanker dengan menggunakan sumber daya alam. Penelitian yang dilakukan Rahardhian dan Utami (2018) menyatakan bahwa ekstrak eter daun binahong memiliki potensi sebagai antikanker ditunjukkan dengan nilai IC_{50} sebesar 85,52 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel HeLa. Penelitian lain dari ekstrak etanol daun binahong terhadap sel HeLa didapatkan nilai IC_{50} sebesar 75 $\mu\text{g/mL}$. Kondisi ini menunjukkan kondisi apoptosis pada sel HeLa (Yuliani *et al.* 2015).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia merupakan bahan alamiah yang dipergunakan sebagai bahan obat belum mengalami pengolahan atau mengalami pengolahan secara sederhana serta belum merupakan zat murni kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan (mineral) (Depkes RI 1987).

Simplisia nabati adalah simplisia berupa tumbuhan utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang keluar secara spontan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa zat kimia murni (Depkes RI 1987).

Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia berupa bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat murni (Depkes RI 1987).

Menurut Materia Medika Indonesia simplisia dibedakan menjadi tiga yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati merupakan yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan.

Eksudat tumbuhan ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhan dan belum dalam senyawa kimiawi murni.

2. Pengambilan simplisia

Pengambilan bahan baku merupakan tahapan penting dalam menentukan kualitas bahan baku yang akan digunakan. Dalam tahap ini faktor yang berperan penting adalah waktu panen. Waktu panen simplisia sangat berkaitan dengan senyawa aktif yang terkandung di dalam bagian tanaman yang akan dipanen. Waktu panen yang tepat adalah ketika bagian tanaman yang akan digunakan mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang maksimal (Depkes RI 1985).

3. Pengeringan simplisia

Simplisia yang tidak mudah rusak dan tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri sehingga dapat disimpan lebih lama perlu adanya pengeringan. Tujuan dilakukannya pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatis yang akan mencegah penurunan waktu atau perusakan simplisia. Pengeringan bahan simplisia dapat dilakukan dengan menggunakan suatu alat pengering dan juga dapat dengan pengeringan teduh atau pengeringan di bawah sinar matahari. Pengeringan di tempat teduh pada umumnya digunakan untuk bahan baku simplisia yang kandungan utamanya minyak atsiri atau senyawa lain yang bersifat termolabil. Pengeringan di bawah sinar matahari paling banyak digunakan di Indonesia karena mudah dan murah (Depkes RI 1985).

Pengeringan buatan umumnya menghasilkan simplisia dengan mutu lebih baik, karena hasil pengeringan yang lebih merata, waktu yang diperlukan relatif cepat dan tidak tergantung cuaca, kadar air dalam simplisia dapat ditekan serendah mungkin (Depkes RI 2008).

4. Pembuatan serbuk simplisia

Pembuatan serbuk simplisia merupakan proses awal pembuatan ekstrak. Serbuk simplisia dibuat dari simplisia utuh atau potongan halus simplisia yang sudah dikeringkan melalui proses pembuatan serbuk dengan suatu alat tanpa menyebabkan kerusakan atau kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan dan diayak hingga diperoleh serbuk dengan derajat kehalusan tertentu. Derajat

kehalusan serbuk simplisia terdiri atas serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus dan sangat halus (Depkes RI 2011).

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Mukhriani 2014).

2. Pengertian ekstrak

Ekstrak adalah sediaan padat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani dengan cara menguapkan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku yang ditentukan (Depkes RI 1986).

3. Metode ekstraksi

Metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional salah satunya adalah metode ekstraksi. Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Salah satu metode ekstraksi adalah maserasi. Pembuatan ekstrak dari serbuk kering simplisia dengan cara menggunakan pelarut etanol 70%. Satu bagian serbuk kering simplisia dimasukkan ke dalam maserator, ditambahkan 10 bagian pelarut. Serbuk direndam selama 6 jam pertama sambil sekali – kali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan dengan cara sentrifugasi, dekantasi, atau filtrasi. Proses penyarian diulangi sekurang – kurangnya satu kali dengan jenis pelarut pada penyarian pertama. Maserat yang terkumpul diuapkan dengan vakum atau penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental. Rendemen yang diperoleh yaitu presentase bobot (b/b) antara rendemen dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan dengan penimbangan. Rendemen harus mencapai angka sekurang – kurangnya sebagaimana ditetapkan pada masing – masing monografi ekstrak (Depkes RI 2013).

4. Pelarut

Pemilihan cairan penyari harus dipertimbangkan dari berbagai faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria antara lain yaitu murah, stabil netral, tidak mudah terbakar, selektif, dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes RI 1986).

Etanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, antrakuinon, flavonoid, steroid, dan klorofil. Namun hanya dapat melarutkan tannin dan saponin dalam jumlah kecil (Depkes RI 1986).

Etanol yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 70%. Etanol 70% dapat menyerap senyawa lebih tinggi karena polaritasnya lebih tinggi daripada etanol murni. Etanol 70% lebih mudah menembus membran sel untuk mengekstrak bahan interaseluler dari bahan tumbuhan. Metanol lebih polar dibandingkan dengan etanol namun karena sifatnya yang toksik, sehingga tidak cocok digunakan untuk ekstraksi (Tiwari *et al.* 2011).

D. Kanker Payudara

1. Kanker

Penyakit kanker adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel – sel jaringan tubuh yang tidak normal, berkembang cepat dan terus membelah diri, hingga menjadi penyakit berat (Maharani 2009). Sel – sel tersebut dapat menyerang jaringan biologis, baik dengan pertumbuhan langsung di jaringan yang bersebelahan (*invasi*) atau dengan migrasi sel ke tempat yang jauh (*metastasis*) (Sunaryati 2011).

Sel kanker timbul dari sel normal yang tubuh dan mengalami transformasi atau perubahan menjadi ganas oleh karsinogen atau karena mutasi spontan. Transformasi sejumlah gen yang menyebabkan gen tersebut termutasi disebut neoplasma atau tumor. Neoplasma merupakan jaringan abnormal yang terbentuk akibat aktivitas proliferasi yang tidak terkontrol (neoplasia). Tahap awal, neoplasma berkembang menjadi karsinoma *in situ* di mana sel pada jaringan

tersebut masih terlokalisasi dan mungkin memiliki kesamaan fungsional dengan sel normal (King 2000).

2. Kanker payudara

Kanker payudara merupakan kanker yang menyerang jaringan epitelial payudara, yaitu membran mukosa dan kelenjar sehingga kanker payudara tergolong pada karsinoma. Kanker payudara merupakan kanker yang paling umum diderita oleh wanita selain kanker serviks. Penyebab kanker payudara sangat beragam, antara lain kerusakan pada DNA yang menyebabkan mutasi genetik. Kerusakan ini dapat disebabkan oleh radiasi yang berlebihan. Selanjutnya karena kegagalan *immune surveillance* dalam pencegahan proses malignan pada fase awal, faktor pertumbuhan yang abnormal, dan malfungsi DNA *repairs* seperti BRCA1, BRCA2, dan p53 (Torosian 2002).

Kanker payudara terjadi ketika sel pada payudara tumbuh tidak terkendali dan dapat menginvasi jaringan tubuh yang lain baik yang dekat dengan organ tersebut maupun bermetastasis ke jaringan tubuh yang letaknya berjauhan. Semua tipe jaringan pada payudara dapat berkembang menjadi kanker, namun pada umumnya kanker muncul baik dari saluran (*ducts*) maupun kelenjar (*glands*). Perkembangannya memerlukan waktu berbulan – bulan atau bertahun – tahun sampai tumor tersebut cukup besar untuk dirasakan pada payudara. Deteksi dapat dilakukan dengan mammogram yang kadang-kadang dapat mendeteksi tumor sejak dini (Elwood *et al.* 1993).

3. Faktor resiko kanker payudara

Faktor resiko tumbuhnya kanker dapat bersifat internal dan eksternal. Faktor internal di antaranya yaitu faktor keturunan, dan daya tahan tubuh yang buruk. Faktor eksternal seperti pola hidup tidak sehat di antaranya mengkonsumsi makanan dengan bahan karsinogen, makanan berlemak, minuman beralkohol, kebiasaan merokok, diet salah dalam waktu lama, terpapar sinar ultraviolet dan radioaktif, infeksi menahun, paparan cemaran lingkungan atau polusi udara, konsumsi obat yang mempengaruhi hormon, dan berganti – ganti pasangan (Sunaryati 2011).

4. Pengobatan kanker payudara

Pengobatan secara modern sekarang ini membutuhkan biaya yang tinggi namun pengobatannya tidak spesifik dan menimbulkan efek samping yang cukup besar. Pengobatan penyakit kanker sering dilakukan dengan cara operasi, pembedahan, penyinaran, radiasi dan kemoterapi. Pengobatan ini ditunjukkan untuk membunuh sel – sel kanker sehingga tidak dapat berkembang dan membahayakan bagi tubuh.

1.1. Kemoterapi. Kemoterapi merupakan salah satu pengobatan yang bertujuan mematikan ataupun memperlambat pertumbuhan sel kanker, pemberian obat-obat sitotoksik menimbulkan efek samping yang umum seperti anemia, anoreksia, ansietas, pendarahan, demam, infeksi, insomnia, nyeri, alopecia (rambut rontok). Sehingga penggunaan obat-obat ini seringkali dikombinasi dengan obat-obat lain dengan maksud untuk mengurangi efek samping yang ditimbulkan (Indrawati 2009). Jenis kemoterapi yang ada meliputi penggunaan antagonis hormon reproduksi untuk melawan kanker reproduksi.

1.2. Radioterapi. Efek samping radioterapi berkaitan dengan dosis total (*centingray*), lama pemberian fraksi dari dosis tersebut yaitu dosis harian, luas atau volume bagian tubuh yang diterapi dan bagian yang diradiasi. Sel-sel yang lewat pada daerah yang diradiasi mungkin dapat mengalami perubahan dan mempengaruhi fungsi lain, misal efek samping yaitu sariawan atau faringitis, anoreksia, nyeri dan kulit menjadi terbakar. Efek samping merupakan hal yang paling umum terjadi pada pemberian radioterapi dan akan mereda dalam waktu 2 minggu pengobatan (Indrawati 2009).

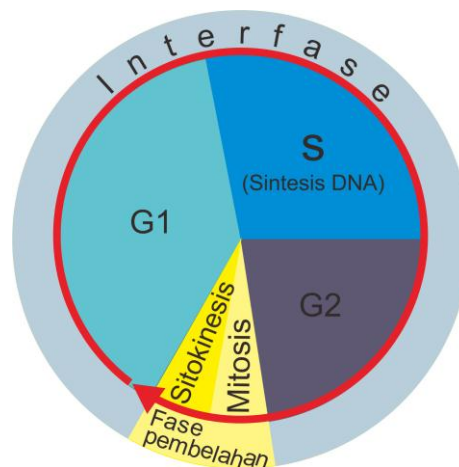
1.3. Pembedahan. Tindakan pembedahan dilakukan untuk mengurangi ukuran tumor, meredakan nyeri, dan mencegah metastasis yang dilakukan sejak dini (Indrawati 2009). Pembedahan juga digunakan untuk mengakses bagian mayor dari tumor yang mengurangi beban tumor dan meningkatkan respon terhadap kemoterapi atau radiasi (Corwin 2009).

1.4. Imunoterapi. Terapi ini bekerja dengan mengaktifkan sistem imun untuk mengenali dan menghancurkan sel tumor secara spesifik, memblok enzim dan faktor pertumbuhan yang diperlukan untuk metastasis. Imunoterapi yang saat

ini sedang dikembangkan yaitu stimulan imun, antibodi berlabel fluoresen, antibodi penyerang terapi gen (Corwin 2009).

E. Siklus Sel

Siklus sel merupakan proses vital dalam kehidupan setiap organisme. Secara normal, siklus sel menghasilkan pembelahan sel. Pembelahan sel terdiri atas 2 proses utama, yaitu replikasi DNA dan pembelahan kromosom yang telah digandakan ke 2 sel anak. Secara umum, pembelahan sel terbagi menjadi 2 tahap, yaitu mitosis (M) (pembelahan 1 sel menjadi 2 sel) dan interfase (proses di antara 2 mitosis). Interfase terdiri atas fase gap 1 (G1), sintesis DNA (S), gap 2 (G2). Gambaran siklus sel dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Siklus sel.

Regulasi sel kanker yang sedang membelah sama dengan siklus sel normal, terdapat dalam 4 fase yaitu :

1. Fase M (fase mitosis)

Pada proses mitosis terjadi pengurangan sintesis protein dan RNA secara tiba-tiba, sel memisah menjadi dua sel anakan dengan sifat dan karakteristik yang sama dengan induknya (Ruddon 2007). Proses mitosis ini dibagi menjadi 4 subfase berdasarkan morfologinya, yaitu profase, metafase, anafase dan telofase. Fase tersebut berlangsung sekitar 30-60 menit (Mulyadi 1997).

2. Fase G1 (*growth phase 1* / pasca mitosis)

Pada fase ini terjadi proses pembelahan sel yang dimulai dengan sintesis asam deoksiribonukleat (DNA) (Mulyadi 1997). Sel anak baru berupa untai tunggal DNA yang terbentuk setelah mitosis akan tumbuh menjadi sel dewasa membentuk protein, enzim dan sebagainya. Sel yang berhenti tumbuh akan masuk fase G0 (Sukardja 2000).

3. Fase S (*synthetic phase* / sintesis)

Pada fase ini terbentuk untai DNA yang baru melalui proses replikasi dengan bantuan enzim DNA-polimerase. Pada pembentukan DNA baru ini akan merubah rantai tunggal DNA menjadi rantai ganda. Selama fase S juga berlangsung perbaikan DNA yang dapat mencegah berkembangnya generasi kanker. Fase ini kira-kira berlangsung selama 6-8 jam (Mulyadi 1997).

4. Fase G2 (*growth phase 2* / pra mitosis)

Pada fase G2 terjadi proses pembentukan RNA, protein, enzim dan sebagainya untuk persiapan fase M. Sel yang telah masuk dalam fase pra mitosis ini memiliki ciri sel berbentuk tetraploid, mengandung dua kali lebih banyak DNA (Ruddon 2007).

F. Sel Kanker Payudara

Sel kanker payudara T47D merupakan sel kanker yang mengekspresikan reseptor estrogen atau yang biasa disebut ER positif serta mengekspresikan p53 yang telah termutasi sehingga resisten terhadap mekanisme apoptosis (Junedi *et al.* 2010). Pada sel ini, p53 mengalami missense mutation pada residu 194 (dalam *zinc-binding* domain L2) sehingga p53 kehilangan fungsinya. Jika p53 tidak dapat mengikat respon pada DNA, maka akan mengurangi atau menghilangkan kemampuannya dalam meregulasi siklus sel dan memacu apoptosis. Sel ini dapat kehilangan estrogen reseptor (ER) apabila kekurangan estrogen pada jangka waktu lama selama percobaan *in vitro*. Oleh karena itu, sel ini digunakan pada model untuk penelitian resistensi obat pada pasien dengan tumor payudara yang memiliki p53 termutasi (Abcam 2007).

Sel T47D sering digunakan dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas atau cepat pertumbuhannya, memiliki homogenitas yang tinggi dan mudah diganti sel baru yang telah dibekukan jika terjadi kontaminasi (Abcam 2007). Sel T47D memiliki mekanisme antiapoptosis dan karsinogenesis lebih kuat daripada sel MCF-7. Beberapa protein yang terlibat dalam stimulasi pertumbuhan sel ini termasuk caspase-3 subunit p12, protein nuklir Hcc-1, G1/S-specific cyclin-D3, cathepsin B, protein CDV3 homolog, N (G), *N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2*, dan prohibitin (Aka *et al.* 2012).

G. Sel Vero

Sel Vero merupakan sel epitel non kanker (sel normal). Sel Vero merupakan sel monolayer berbentuk poligonal dan pipih, immortal, *non tumorigenic fibroblastic cell*. Sel ini melekat erat pada substrat yang berbahan polistirena dengan membentuk ikatan kovalen. Pengujian sel Vero dilakukan untuk mempelajari pertumbuhan sel, diferensiasi sel, sitotoksitas, dan transformasi sel yang diinduksi oleh berbagai senyawa kimia. Sel ini juga direkomendasikan untuk dijadikan sebagai sel model dalam mempelajari karsinogenesis secara *in vitro* dan memudahkan dalam mempelajari perubahan sel (Goncalves *et al.* 2006). Mekanisme pertumbuhan dan penghambatannya sama dengan sel normal. Oleh karena itu, terdapat mekanisme penghentian pertumbuhan. Sel Vero yang terus berkembang semakin lama akan memenuhi luas area media yang digunakan. Kemudian terjadi kontak antar sel yang mengakibatkan sel menerima sinyal untuk menghentikan pertumbuhan (Sheer 1996).

H. Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik merupakan perkembangan untuk mengidentifikasi obat sitotoksik baru atau deteksi obat dengan aktivitas anti tumor. Dasar dari percobaan ini antara lain bahwa sistem penetapan aktivitas biologis seharusnya memberikan kurva dosis respon yang menunjukkan hubungan harus dengan jumlah sel.

Informasi yang diperoleh dari kurva seharusnya berhubungan dengan efek *in vivo* dari obat sitotoksik yang sama (Burger 1970).

Senyawa sitotoksik adalah senyawa yang bersifat toksik pada sel tumor secara *in vitro* dan jika toksitas ini ditransfer menembus sel tumor *in vivo* senyawa tersebut mempunyai aktifitas antitumor (Evans 2002). Uji sitotoksik dapat memberikan informasi konsentrasi obat yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup. Akhir dari uji sitotoksik pada organ target memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Doyle & Griffiths 2000).

Uji sitotoksik digunakan sebagai parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} yang menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak berpotensi mengakibatkan kematian terhadap suatu sel. Uji sitotoksik sebagian besar masih menggunakan hewan percobaan meskipun terdapat kesulitan untuk diekstrapolasikan pada manusia. Metode *in vitro* merupakan alternatif pengganti hewan uji. Uji sitotoksik mempunyai relevansi cukup baik yang bertujuan untuk mendeteksi potensi ketoksikan suatu obat pada manusia (Doyle & Griffiths 2000). Berdasarkan *National Cancer Institute* (NCI) suatu ekstrak dinyatakan aktif memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$, moderat aktif apabila memiliki nilai $30 < IC_{50} \leq 100 \mu\text{g/mL}$, dan dikatakan kurang aktif apabila nilai $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$.

I. Metode MTT

Uji MTT adalah uji yang sensitif, kuantitatif, dan terpercaya. Reaksi MTT merupakan reaksi 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 (Depamade & Rosyidi 2009).

Prinsip dari metode MTT adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT (*3-(4,5dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid*) oleh sistem reduktase. Suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan reagen *stopper* (bersifat detergenik) akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan *ELISA reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup, sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak (CCRC 2009).

Uji MTT 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 terhadap sel. Nilai tersebut merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel. Nilai IC_{50} menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Akhir dari uji tersebut adalah memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Amalina 2008).

J. ELISA Reader

ELISA (*Enzym Linked Immunosorbent Assay*) adalah suatu teknik deteksi dengan metode serologi berdasarkan reaksi spesifik antara antigen dan antibodi yang mempunyai spesifitas yang tinggi dengan menggunakan enzim sebagai indikator. ELISA merupakan suatu teknik biokimia yang digunakan dalam bidang imunologi untuk mendeteksi kehadiran antibodi atau antigen dalam suatu sampel. Prinsip dasar *ELISA reader* adalah analisis interaksi antara antigen dan antibodi yang teradsorpsi secara pasif pada permukaan fase padat dengan menggunakan konjugat antibodi atau antigen yang dilabel enzim. Enzim akan bereaksi dengan substrat dan menghasilkan warna. Warna yang timbul dapat ditentukan secara kuantitatif dengan pembacaan nilai absorbansi pada *ELISA reader* atau kualitatif dengan pandangan mata (Bosterbio).

K. Indeks Selektivitas

Selektivitas sampel dapat diukur dengan menggunakan parameter Indeks Selektivitas (IS). Indeks selektivitas menunjukkan selektivitas sitotoksik dari sampel pada sel kanker terhadap sel normal, dihitung dari rasio IC_{50} sampel pada sel Vero dibandingkan dengan sel kanker. Indeks selektivitas dinyatakan dengan nilai $IS > 3,00$ menunjukkan senyawa memberikan toksisitas selektif terhadap sel kanker. Apabila nilai $IS < 3,00$ menunjukkan senyawa tersebut memberikan toksisitas umum dan menyebabkan sitotoksitas pada sel normal (Prayong *et al.* 2008).

L. Landasan Teori

Kanker adalah segolongan penyakit yang ditandai dengan pembelahan sel yang tidak terkendali dan kemampuan sel – sel tersebut 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 tersebut disebabkan kerusakan DNA, menyebabkan mutasi di gen vital yang mengontrol pembelahan sel. Beberapa mutasi mungkin dibutuhkan untuk mengubah sel normal menjadi sel kanker. Mutasi – mutasi tersebut sering diakibatkan agen kimia maupun fisik yang disebut karsinogen. Mutasi dapat terjadi secara spontan ataupun diwariskan (Nurani 2012).

Dalam perkembangannya, penanganan penyakit kanker dilakukan dengan kemoterapi, radioterapi, dan operasi. Beberapa obat kemoterapi yang paling sering digunakan adalah antimetabolik, senyawa interaktif DNA, senyawa antitubulin, hormon, dan senyawa penarget monoklonal (Nussbaumer *et al.* 2011). Penggunaan obat kemoterapi tersebut menyebabkan efek yang tidak diinginkan seperti: rambut rontok, supresi sumsum tulang, resistensi obat, lesi gastrointestinal, disfungsi neurologi, dan toksisitas jantung (Nussbaumer *et al.* 2011).

Agen kemoterapi yang telah ada saat ini memiliki beberapa keterbatasan, seperti adanya peristiwa resistensi, efek samping, dan daya efikasi. Kemoprevensi adalah salah satu agen yang dapat menghambat perkembangan sel kanker, menekan pertumbuhan sel abnormal menjadi kanker, dan mengembalikan tahap

proses karsinogenesis. Salah satu pendekatan untuk menemukan senyawa kemopreventif adalah melalui eksplorasi bahan alam terutama tumbuhan (Haryanti 2017). Tanaman binahong mengandung fenol, flavonoid, saponin, triterpenoid, steroid dan alkaloid (Astuti 2011). Senyawa – senyawa golongan flavonoid dari tanaman dilaporkan memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan sel kanker. Flavonoid menghambat aktivitas reseptor *tirosin kinase*, karena aktivitas *tirosin kinase* yang meningkat berperan dalam pertumbuhan keganasan sel kanker. Flavonoid juga berfungsi mengurangi resistensi tumor terhadap agen kemoterapi (Elsyana *et al.* 2016).

Beberapa penelitian telah dilakukan terhadap sel HeLa dilakukan oleh Rahardhian dan Utami (2018) dengan menggunakan ekstrak eter daun binahong dan Yuliani *et al.* (2015) menggunakan ekstrak etanol daun binahong masing – masing menghasilkan IC_{50} berturut – turut 85,52 $\mu\text{g/mL}$; 75 $\mu\text{g/mL}$. Pada penelitian tersebut dapat dikategorikan memiliki aktivitas sitotoksik aktif ($IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$) berdasarkan NCI (*National Cancer Institute*). Selektivitas ekstrak dikatakan baik apabila memiliki nilai indeks selektivitas $> 3,00$ (Prayong *et al.* 2008). Nilai indeks selektivitas menunjukkan kemampuan sampel dalam memberikan toksisitas selektif terhadap sel kanker, namun tidak memberikan toksisitas selektif terhadap sel normal. Uji sitotoksik ekstrak etanol daun binahong diharapkan dapat memiliki IC_{50} yang rendah dan memiliki indeks selektivitas yang tinggi, sehingga dapat berpotensi sebagai agen kemopreventif. Agen kemopreventif artinya hanya sel yang diidentifikasi sebagai sel kanker saja yang diserang, sementara sel normal tidak diserang. Mekanisme ini berbeda dengan obat kemoterapi yang menyerang sel kanker dan sel normal. Akibatnya sel normal rusak dan mati yang menimbulkan berbagai macam efek samping yang tidak diinginkan.

Pembuktian efek sitotoksik terhadap sel kanker dilakukan dengan metode MTT untuk mengetahui aktifitas biologi secara langsung dari senyawa kompleks (Kusumaningtyas 2008). Prinsip uji MTT adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT (*3-(4,5dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid*) oleh

sistem reduktase. Suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air.

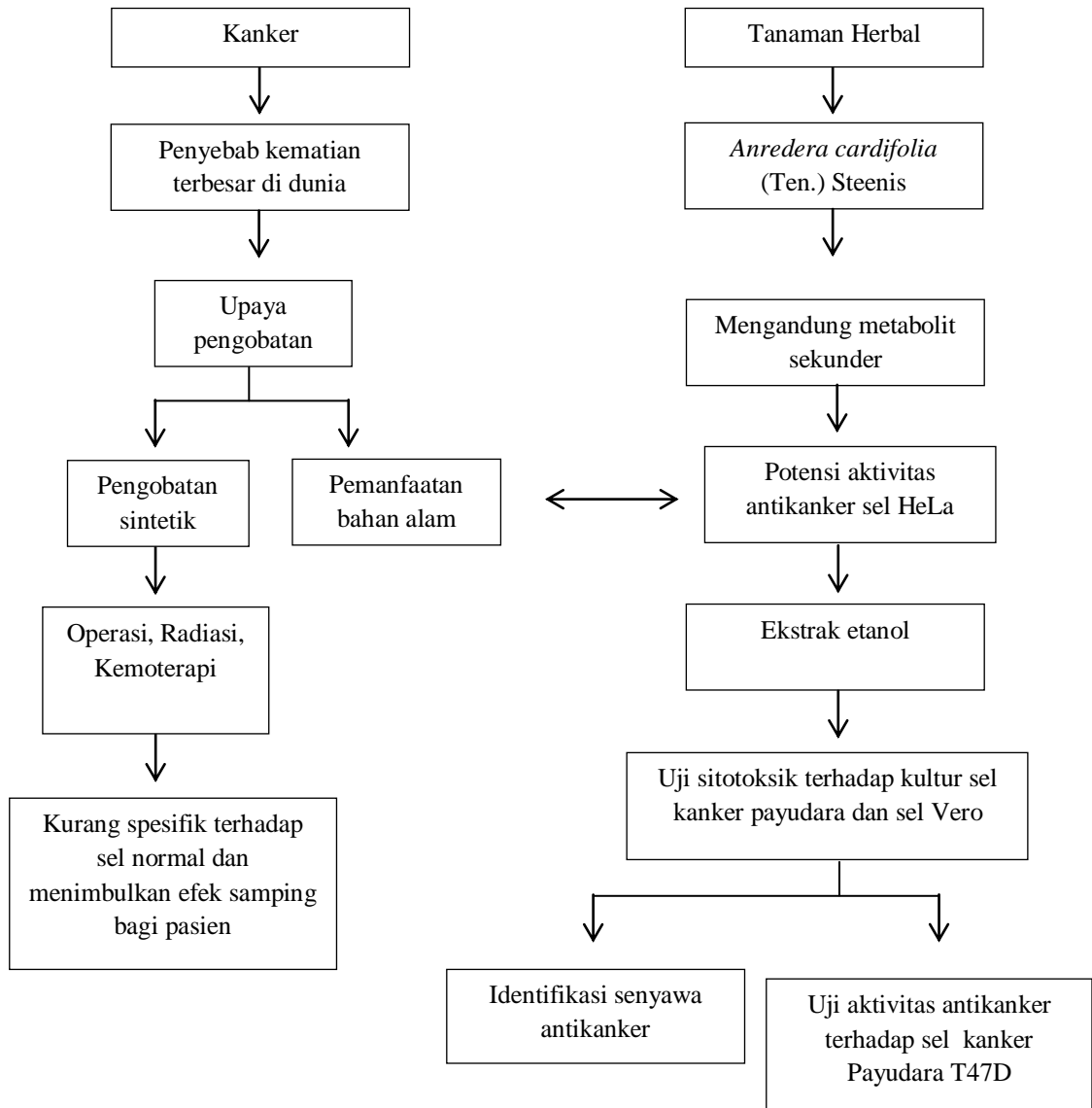
M. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang ada, disusun suatu hipotesa dalam penelitian ini adalah:

Pertama, ekstrak etanol daun binahong memiliki aktivitas sitotoksik terhadap kultur sel kanker payudara T47D dengan $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$.

Kedua, indeks selektivitas ekstrak etanol daun binahong pada sel kanker payudara T47D terhadap sel Vero $> 3,00$.

N. Kerangka Pikir



Gambar 3. Skema kerangka pikir.