

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Jahe Merah

1. Klasifikasi

Kedudukan tanaman jahe merah dalam sistem tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae (tanaman)
Divisi	: Angiospermae (menghasilkan biji)
Kelas	: Monocotyledoneae (berkeping tunggal / monokotil)
Bangsa/ordo	: Zingiberales
Suku/famili	: Zingiberaceae (suku tumbuhan berbunga)
Marga/genus	: Zingiber
Jenis	: <i>Zingiber officinale</i> var <i>rubrum</i> Theilade

(Herbie 2015)

2. Nama daerah dan sinonim

Tanaman jahe merah mempunyai nama yang berbeda-beda di masing-masing daerah diantaranya: Lahia (Nias); Sipadeh (Minangkabau); Jahi (Lampung); Jahe (Sunda); Jae (Jawa Tengah); Jhai (Madura); Cipakan (Bali); Sipados (Kutai); Hai (Dayak); Aloj (Sumba); Siwe (Ambon); Gara (Tidore); Lala (Aru); Haliha (Aceh); Bening (Gayo); Bahing (Batak); Bawo (Sangir); Melito (Gorontalo); Yuyo (Buol); Kuni (Baree); Lala (Makasar); Lea (Flores); Lailae (Kupang); Illii (Tanimbar); Siwei (Buru) Galaka (Ternate); Gara (Tidore), Siwe (Ambon) (Herbie 2015).

3. Morfologi tanaman

Tanaman jahe biasanya mencapai tinggi 30 cm sampai 1 m yang berbatang semu. Tanaman jahe mempunyai banyak spesies dan memiliki jenis yang beragam seperti jahe putih besar, jahe putih kecil dan jahe merah. Semua tanaman jahe memiliki ciri yang sedikit berbeda yaitu ukuran, ruas dan warna rimpang (Depkes RI 1978).

Tanaman jahe merah merupakan herba semusim, tegak dengan tinggi 40-50 cm. Batangnya merupakan batang semu, berwarna hijau, beralur dan membentuk rimpang. Daun berupa daun tunggal, berwarna hijau tua, berbentuk lanset dengan tepi rata. Ujung daun runcing dan pangkalnya tumpul. Perbungaan berwarna hijau merah, kelopak berbentuk tabung dan bergigi tiga. Rimpang jahe merah kecil-kecil, berwarna merah, seratnya lebih tinggi dan selalu dipanen saat tua (Herbie 2015). Perbedaan jahe merah dengan jahe putih adalah rimpangnya berwarna merah dan lebih kecil daripada rimpang jahe putih kecil (Depkes RI 1978).

4. Kandungan kimia

Senyawa kimia yang terkandung dalam jahe merah diantaranya adalah alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, minyak atsiri, dan 5-8% oleoresin (25% gingerol, zingiberin, dan shagaol) (Harliansyah 2007; Revindran dan Babu 2005). Rimpang jahe merah mengandung minyak menguap (*volatile oil*), minyak tidak menguap (*nonvolatile oil*), dan pati (52,9%). Kandungan minyak atsiri jahe merah sekitar 2,58-2,72%. Minyak atsiri termasuk jenis minyak menguap dan merupakan suatu komponen yang memberi bau yang khas. Kandungan minyak tidak menguap disebut oleoresin, yaitu suatu komponen yang memberikan rasa pahit dan pedas (Herlina 2009). Gingerol dan derivatnya (6-shagaol, 8-gingerol, dan 10-gingerol) dan 6-shagaol merupakan komponen nonvolatil (Rahman *et al.* 2011). Berdasarkan penelitian Kaban dkk (2016) kandungan senyawa metabolit sekunder pada fraksi *n*-heksan dan etil asetat dari ekstrak jahe merah mengandung 3 senyawa penting yaitu: triterpenoid, alkaloid dan flavonoid.

5. Manfaat tanaman

Rimpang jahe merah dimanfaatkan untuk antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, antikarsinogenik, antimutagenik, antitumor, pencahar, penguat lambung, membunuh cacing penyebab penyakit, sakit encok, sakit pinggang, pencernaan kurang baik, radang, asma, muntah-muntah, demam, kurang darah, kusta, nyeri otot dan kurang daya penglihatan (Herlina 2009; Fadlilah 2013).

B. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan sari pekat tumbuh-tumbuhan atau hewan yang diperoleh dengan cara melepaskan zat aktif dari masing-masing bahan obat, menggunakan pelarut yang cocok, uapkan semua atau hampir semua pelarutnya dan sisa endapan atau serbuk diatur untuk ditetapkan standarnya (Ansel 2011).

Ekstrak dapat dikelompokkan atas dasar sifatnya, yaitu: ekstrak kering, ekstrak tanaman yang diperoleh secara pemekatan dan pengeringan ekstrak cair di bawah kondisi lemah (suhu dan tekanan rendah). Lalu ekstrak cair yang merupakan sediaan cair yang dibuat dari simplisia tanaman obat dengan penyari berbagai konsentrasi. Kemudian ekstrak kental, sediaan dengan massa kental yang mengandung konsentrasi sisa kelembapan dan kekuatan bahan yang berkhasiat (Agoes 2009). Menurut Voigt (1995) kandungan air ekstrak kental berjumlah sampai 30%. ekstraksi pelarut pada sampel kering dapat melibatkan dua proses, yaitu : kontak sampel dengan pelarut sehingga terjadi pembengkakan dan hidrasi serta transfer massa komponen terlarut dari sampel ke pelarut (Widyawati *et al.* 2010).

1. Pembuatan serbuk simplisia

1.1 Pengumpulan simplisia. Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang jahe merah. Pemanenan rimpang dilakukan pada musim kering dengan tanda-tanda mengeringnya bagian atas tanaman. Waktu panen berpengaruh terhadap stabilitas kimiawi dan fisik senyawa aktif dalam simplisia (Depkes RI 1986).

1.2 Sortasi basah. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing dari bahan simplisia. Tanah mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi, oleh karena itu pembersihan simplisia dari tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal (Depkes RI 1986).

1.3 Pencucian. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotoran lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih (Depkes RI 1986).

1.4 Perajangan. Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan, semakin cepat penguapan air. Irisan terlalu tipis dapat menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap. Bahan simplisia seperti temulawak, temu giring, jahe, kencur dan bahan sejenis lainnya dihindari perajangan terlalu tipis untuk mencegah berkurangnya kadar minyak atsiri (Depkes RI 1986).

1.5 Pengeringan simplisia. Simplisia perlu dilakukan pengeringan dengan tujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak dengan cara mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu merupakan media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Enzim tertentu dalam sel dapat menguraikan senyawa aktif sesaat setelah sel mati dan selama bahan simplisia masih mengandung kadar air tertentu. Reaksi enzimatik tidak berlangsung bila kadar air dalam simplisia kurang dari 10%. Hal-hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu, kelembapan udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan (Depkes RI 1986).

2. Metode ekstraksi

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut terdapat 2 cara, yaitu : cara dingin dan panas. Metode ekstraksi dengan cara dingin adalah maserasi dan perkolasi, sedangkan cara panas adalah refuks, sokletasi dan destilasi uap (Depkes RI 2000).

2.1 Maserasi. Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Depkes RI 2000). Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari dan tidak mengandung benzoin, stinak dan lain-lain (Depkes RI 1986). Proses maserasi ini dilakukan dengan cara merendam sampel dalam menggunakan pelarut tertentu pada suhu kamar dan terlindung dari

cahaya (Voigt 1995). Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena selama perendaman terjadi peristiwa plasmolisis yang menyebabkan terjadi pemecahan dinding sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel, sehingga senyawa yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan proses ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang diinginkan. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut (Nurdiansyah dan Abdi R 2011).

Keuntungan cara ini mudah dan tidak perlu pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai. Pengerjaan metode maserasi yang lama dan keadaan diam selama maserasi memungkinkan banyak senyawa yang akan terekstraksi (Susanty dan Fairus B 2016).

2.2 Perkolasi. Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penguapan ekstrak), terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI 2000). Perkolasi dilakukan dengan cara mengalirkan cairan penyari sehingga menyebabkan adanya pergantian larutan dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah dan kecepatan pelarut cukup untuk mengurangi lapisan batas sehingga dapat meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi (Depkes 1986).

2.3 Refluks. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI 2000). Keuntungan refluks dibandingkan sokletasi yakni pelarut yang digunakan lebih sedikit dan bila dibandingkan dengan maserasi dibutuhkan waktu ekstraksi yang lebih singkat (Bawa P *et al.* 2014).

2.4 Sokletasi. Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik

(Depkes RI 2000). Keuntungan sokletasi yaitu memerlukan bahan pelarut dalam jumlah kecil. Kerugian sokletasi membutuhkan waktu cukup lama sehingga kebutuhan energi tinggi (Voigt 1995).

2.5 Digesti. Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50⁰ (Depkes RI 2000).

2.6 Infus. Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98⁰C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI 2000). Setelah didinginkan pada suhu kira-kira 30⁰C, jika perlu simplisia dituangi dengan air dingin (Voigt 1995).

2.7 Dekok. Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ($\geq 30^0$ C) dan temperatur sampai titik didih air (Depkes RI 2000). Perbedaan dengan infus, rebusan disari panas-panas (Voigt 1995).

3. Pemurnian

Tujuan dari tahapan ini adalah menghilangkan (memisahkan) senyawa yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa berpengaruh pada senyawa kandungan yang dikehendaki, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni. Proses-proses dari tahapan ini adalah pengendapan, pemisahan dua cairan tak campur, sentrifugasi, dekantasi, filtrasi serta proses adsorpsi dan penukar ion (Depkes RI 2000).

3.1 Pemekatan/penguapan (vaporasi dan evaporasi). Pemekatan berarti peningkatan jumlah partikel solute (senyawa terlarut) secara penguapan pelarut tanpa sampai menjadi kondisi kering, ekstrak hanya menjadi kental/pekat (Depkes RI 2000).

3.2 Pengeringan ekstrak. Pengeringan berarti menghilangkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan serbuk, massa kering-rapuh, tergantung proses dan peralatan yang digunakan (Depkes RI 2000). Pengeringan harus memperhatikan sifat-sifat zat aktif, cara pemanasan, tinggi suhu dan lamanya pemanasan. Pengeringan yang baik dapat menghasilkan produk yang mudah

dihaluskan, mudah larut dan warna serbuk yang dihasilkan tidak terlalu gelap (Depkes RI 1986)

C. Fraksinasi

Tujuan fraksinasi adalah untuk memisahkan ekstrak-ekstrak yang non polar, semi polar dan polar (Tengo *et al.* 2013). Fraksinasi dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan senyawa yang diinginkan dalam jumlah besar dan dengan kemurnian yang lebih tinggi (Afiyati *et al.* 2013). Proses fraksinasi dilakukan dengan pelarut yang berbeda tingkat kepolaran. Fraksinasi dengan pelarut organik yang berbeda tingkat kepolaran akan mempengaruhi jenis dan kadar senyawa bioaktif. Fraksi etil asetat terkandung senyawa seperti asam-asam lemak dan fitosterol dan ekstrak air berisi senyawa karbohidrat (glukosa dan sukrosa) (Widyawati *et al.* 2010). Fraksi *n*-heksana terkandung senyawa seperti minyak atsiri, minyak lemak dan asam lemak, steroid, saponin, triterpenoid dan steroid, karotenoid dan fraksi air terkandung senyawa tanin dan fenolik (Harbone 1987).

D. Pelarut

Pelarut yang sering digunakan sebagai cairan pengekstraksi adalah campuran bahan pelarut yang berlainan, khususnya campuran etanol-air sangat efektif dalam menghasilkan bahan aktif yang optimal (Voigt 1995). Hidroalkohol merupakan gabungan pelarut air dan alkohol, karena keduanya mudah bercampur memungkinkan kombinasi yang fleksibel dari kedua bahan tersebut membentuk campuran pelarut yang paling sesuai untuk mengekstraksi bahan aktif (Ansel 2005).

Pemilihan pelarut pada proses penyarian dilakukan dengan alasan karena pelarut mampu melarutkan senyawa yang akan diekstrak, mudah dipisahkan (menguap) dan dimurnikan kembali. Pelarut organik digunakan didasarkan pada sifat kepolaran, kelarutan dan transfer massa dari senyawa yang diekstrak. Kelarutan senyawa sangat ditentukan oleh kepolaran, momen dipol, polarisabilitas dan ikatan hidrogen (Widyawati *et al.* 2010).

Etanol tidak dapat menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut dan menghambat kerja enzim (Voigt 1995). Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, antrakuinon, flavonoid, dan steroid. Tanin dan saponin hanya sedikit larut. Pertimbangan pemilihan pelarut etanol adalah karena etanol tidak beracun, kapang dan kuman sulit tumbuh pada etanol 20% keatas, absorpsinya etanol baik serta netral (Depkes RI 1986).

Pelarut *n*-heksana adalah hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih terdiri atas campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna atau pucat, transparan, bersifat volatil, mudah terbakar, bau karakteristik, tidak dapat larut dengan air, dapat larut dengan alkohol, benzen, kloroform, eter (Martindale 1993). Pelarut *n*-heksana dapat melarutkan senyawa seperti minyak atsiri, minyak lemak dan asam lemak, steroid, saponin, triterpenoid dan steroid, karotenoid (Harbone 1987).

Pelarut etil asetat merupakan pelarut semi polar sehingga dapat menarik senyawa bersifat polar dan non polar. Etil asetat mempunyai indek kepolaritas 4,4. Pelarut etil asetat dapat melarutkan senyawa saponin, flavonoid, tanin, minyak atsiri, dan glikosida (Artini *et al.* 2013).

Pelarut 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 (Depkes 1986).

E. Kanker

1. Pengertian kanker

Kanker disebut juga neoplasma, adalah suatu penyakit pertumbuhan sel di dalam organ tubuh timbul dan berkembang biak sel-sel baru yang tumbuh abnormal, cepat, dan tidak terkendali dengan bentuk, sifat, dan gerakan yang berbeda dari sel asalnya, serta merusak bentuk dan fungsi organ asalnya

(Dalimartha 2004). Pertumbuhan sel kanker yang tidak terkendali tersebut disebabkan kerusakan DNA yang menyebabkan mutasi pada untai DNA. Mekanisme endogen kerusakan DNA tersebut adalah fenomena deaminasi 5-metilsitosin. Metilasi DNA merupakan mekanisme epigenetik yang melibatkan pengaturan ekspresi suatu gen. Beberapa mutasi tersebut menyebabkan sel normal menjadi sel kanker (Nurhayati 2006).

Penyakit kanker berhubungan dengan lingkungan, hal ini berarti semua yang berinteraksi dengan manusia yaitu bahan-bahan yang dimakan, diminum, diisap dan dihirup, juga radiasi, obat-obatan serta aspek-aspek kelakuan seksual. Penyelidikan epidemiologis dan laboratoris didapatkan bahwa diet (misalnya banyak lemak, kurang serat dalam makanan) mempunyai peranan sebesar 35-50% untuk timbulnya kanker pada saluran pencernaan, payudara, endometrium dan ovarium. Bahan yang diminum, diisap dan dihirup (misalnya alkohol, tembakau, debu asbes) berperan (22-30%) untuk timbulnya kanker pada paru, orofarings dan esofagus. Demikian pula radiasi, faktor genetik dan lain substansi yang belum diketahui. Faktor psikogenik berperan untuk timbulnya kanker karena mempunyai hubungan dengan imunitas tubuh (Kartawiguna 2001).

Kanker merupakan suatu tumor atau neoplasma atau neoplastoma yang terdiri dari tumor jinak (benign, benigna) dan tumor ganas (malignant, maligna, kanker). Kanker dibedakan menjadi dua yaitu sarkoma dan karsinoma. Sarkoma bersifat luas/mensensial misalnya fibrosarkoma, limposarkoma, osteosarkoma. Karsinoma bersifat epitelial sebagai contoh kanker payudara, kanker lambung, kanker uterus, dan kanker kulit (Haryoto *et al.* 2013).

Sel kanker akan menyusup (invasif) ke jaringan sekitarnya, lalu membuat anak sebar (metastasis) ke tempat yang lebih jauh melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening. Pertumbuhan tersebut menyebabkan gen yang bertugas menghambat sel tumor dihambat/diinaktifkan sehingga sel tidak berfungsi dengan normal, hal tersebut menyebabkan replikasi DNA yang mengontrol siklus sel tidak bekerja. Proses terbentuknya sel kemungkinan karena proses penuaan dan pengaruh lingkungan (Darmono, 2012). Penyakit kanker diakibatkan oleh

pengaruh eksternal (zat-zat karsinogen, virus, dan radiasi) dan internal (mutasi gen, hormon, dan kekebalan tubuh yang lemah) (Dewi 2009).

2. Sifat kanker

Sel kanker berbeda dari sel normal pada sifat biologi molekulernya yang khas. Sifat ini seperti kelainan/anomali sistem transduksi sinyal seluler yang berhubungan dengan kontrol perkembangbiakan sel seperti reseptor dari faktor pertumbuhan atau penghambatan kontak antar sel, transmisi sinyal intraseluler, dan transfer signal pada gen pengontrol pertumbuhan sel (Nurhayati 2006). Menurut Hanahan dan Weinberg (2000), sel kanker memiliki karakteristik sebagai berikut: sel kanker mampu mencukupi kebutuhan sinyal pertumbuhannya sendiri. Sinyal pertumbuhan diperlukan agar sel dapat terus membelah. Sel kanker juga tidak sensitif terhadap sinyal antipertumbuhan dengan cara tidak merespon sinyal tersebut. Perlakuan ini dapat memicu sel kanker akan terus membelah. Sel kanker berbeda dari sel normal, sel kanker dapat tetap dan terus tumbuh.

Sel kanker mampu menghindari dari mekanisme apoptosis. Apoptosis merupakan program bunuh diri sel ketika sel tersebut mengalami kerusakan, baik struktural maupun fungsional, yang tidak dapat ditolerir lagi. Apoptosis sangat dibutuhkan untuk mengatur berapa jumlah sel yang dibutuhkan oleh tubuh. Namun sel kanker dapat menghindari dari kematian dengan mengemblok jalur terjadinya apoptosis dalam sel. Gen *p53* yang mengalami mutasi tidak dapat menginduksi apoptosis. Gen *p53* berperan memicu faktor transkripsi p21 dan memicu aktivasi protein *Bax* (protooncogene yang bersifat pro-apoptosis), menekan protein *Bcl-2* (protooncogene yang bersifat inhibitor apoptosis) (Hanahan dan Weinberg 2000 ; Hernawati *et al.* 2013).

Sel kanker mampu menginduksi angiogenesis untuk mencukupi kebutuhannya akan oksigen dan nutrisi. Proses ini terjadi pada saat tahap perkembangan tumor yang hiperproliferatif, sel-sel tumor akan mengekspresikan protein proangiogenik sehingga akan terbentuk cabang baru pada pembuluh darah yang menuju sel kanker kemudian akan mensuplai kebutuhan nutrisi dan oksigen dari sel kanker.

Sel kanker mampu menginvasi jaringan di sekitarnya dan membentuk anak sebar (metastasis). Semakin besar jangkauan metastasis tumor, kanker semakin sulit untuk disembuhkan. Kanker pada stadium metastasis merupakan penyebab 90% kematian penderita kanker.

Sel kanker memiliki potensi tak terbatas untuk mengadakan replikasi. Ketika sel bereplikasi, maka sel anak (*daughter cell*) akan menerima satu set gen yang lengkap sehingga sel anak hasil pembelahan tersebut memiliki kode genetik yang sama persis dengan sel inangnya. Beberapa unit gen bila ada yang hilang, maka sel tersebut akan mengalami gangguan fungsi dan bahkan bisa sampai mati (Purwaningsih 2010).

3. Siklus sel

Siklus sel merupakan proses pertumbuhan dan perkembangbiakan dalam kehidupan setiap organisme. Siklus sel menghasilkan pembelahan sel. Pembelahan sel terdiri dari 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) dan interfase (I). Interfase terdiri dari fase gap 1 (G1), sintesis DNA (S), gap 2 (G2). Tahap M terdiri dari mitosis dan sitokinesis. Tahap M sel difokuskan pada aktifitas yang diperlukan untuk pembelahan, sebaliknya tahap interfase saat sel tumbuh dan terjadi fungsi-fungsi metabolik aktif, seperti oksidase glukosa, transkripsi, translasi, dan replikasi. Setiap tahap siklus sel dikontrol oleh *cyclin*, *Cyclin-dependent kinases* (Cdk) dan *Cyclin-dependent kinase inhibitor* (CKI) (Istindiah dan Auerkari, 2001; Vermeulen *et al.*, 2003).

3.1 Fase G1 (*First gap/ Growth phase-1/ Pasca mitosis*). Sel yang telah menyelesaikan pembelahan pada tahap M akan masuk ke dalam tahap G1 untuk kembali melakukan pembelahan. Sel yang berhenti tumbuh masuk dalam tahap G0 untuk beristirahat/diam (Murti *et al.* 2007). Tahap ini terjadi sintesis DNA (sebelum S) yang mengikuti tahap mitosis (M), kemudian sel akan tumbuh dan memproduksi semua protein untuk sintesis protein (Istindiah dan Auerkari, 2001).

3.2 Fase S (*Synthetic phase/ Sintesis*). Sel melakukan replikasi DNA sehingga memiliki dua untai DNA. Replikasi DNA dilakukan agar sel nantinya

dapat membelah menjadi dua sel anak, dimana setiap sel memiliki satu kopi lengkap DNA. Replikasi DNA dan duplikasi kromosom selesai, sel memasuki fase G2 (Istindiah dan Auerkari, 2001).

3.3 Fase G2 (*second gap/ Growth phase-2/ Pra mitosis*). Tahap ini merupakan tahap akhir dari sintesis DNA dan mempersiapkan sel memasuki tahap M. Tahap G2, sel mengalami pertumbuhan dan sintesis protein yang cukup untuk dua sel, kemudian sel menyiapkan diri untuk membelah, setelah selesai dan melalui *checkpoint*, sel memasuki tahap terakhir dari siklus sel yaitu tahap M (Istindiah dan Auerkari, 2001).

3.4 Tahap M (*Mitotic phase/ Mitosis*). Sel membelah menjadi dua sel anak yang mempunyai karakteristik sama dengan induknya. Tahap ini sel dapat memulai kembali dengan memasuki G1 atau sel keluar dari siklus menjadi non aktif dengan memasuki G0. Proses ini biasanya terjadi antara 30 menit sampai satu jam (Istindiah dan Auerkari, 2001). Tahap M meliputi profase, metafase, anafase dan telofase) (Murti *et al.*2007).

4. Apoptosis

Apoptosis adalah kematian sel terprogram (*programed cell death*) yang bertujuan untuk mempertahankan kestabilan populasi sel. Apoptosis terjadi kalau DNA sel rusak atau sel berkembang menjadi tumor. Proses ini dapat terjadi baik dalam kondisi fisiologis maupun patologis (Corvianindya dan Joelijanto 2003). Apoptosis secara normal pada tubuh berfungsi untuk perkembangan sistem saraf, aktifitas sistem imun, dan morfogenesis tangan dan kaki (Wulandari 2011).

Sel-sel yang mati akan memberikan sinyal yang diperantarai oleh *caspase* saat proses apoptosis. Gen *caspase* ini merupakan bagian dari *cysteine protease* yang akan aktif pada perkembangan sel maupun pada destruksi atau kerusakan sel. Apoptosis juga berkaitan dengan pemendekan telomer, suatu replikasi nukleotida di ujung kromosom saat pembelahan diri. Telomer ini mempunyai fungsi utama yaitu untuk melindungi DNA dari kerusakan dan juga berperan penting pada replikasi DNA sehingga telomer berperan dalam mempertahankan kestabilan kromosom dan mencegah kromosom supaya tidak bergandengan. Telomer dipelihara keutuhannya oleh enzim telomerase. Sel normal, telomer akan

memendek saat pembelahan diri. Jika telomer telah memendek sampai batas tertentu (level kritis), maka sel akan berhenti membelah. Selanjutnya sel akan mengalami apoptosis fisiologis. Sel kanker terjadi pemendekan telomer tidak pada level kritis, peningkatan aktivitas telomerase dan peningkatan stres oksidatif. Pembentukan telomer dapat dibentuk secara terus menerus dan ukuran telomer pada ujung kromosom dapat dipertahankan (Purwaningsih 2014).

Apoptosis patologis adalah membatasi proliferasi sel yang tidak diperlukan termasuk sel ganas. Sel ganas mengalami gangguan kontrol maupun hambatan apoptosis (Hernawati *et al.* 2013). Kontrol apoptosis umumnya dikaitkan dengan gen yang mengatur berlangsungnya siklus sel, di antaranya melibatkan gen *p53*, *Rb*, *Myc* dan keluarga *Bcl2* (Purwaningsih 2014). Aktivitas gen *p53* berperan dalam pengrusakan DNA dengan cara menginduksi apoptosis. Gen *p53* merupakan tumor supresor gen yang akan mengaktifasi pembentukan *p21*. Peningkatan *p21* akan menekan semua *cyclin dependent protein kinase* (CDK). Terjadinya siklus pembelahan sel sangat tergantung pada ikatan kompleks antara CDK dengan *cyclin*. Penekanan CDK menyebabkan siklus sel akan berhenti. Saat berhenti, *p53* akan memicu aktivitas protein Bax, dimana protein Bax akan menekan gen Bcl-2 (protein yang berperan sebagai anti apoptosis) pada membrane mitokondria, sehingga terjadi perubahan permeabilitas membrane mitokondria, kemudian terjadi pelepasan *cytokrom-c kesitosol* yang akan mengaktifasi DNA-se sehingga terjadi apoptosis (Hernawati *et al.* 2013).

5. Pengobatan kanker

Pengobatan kanker yang umum dilakukan saat ini adalah melalui operasi, radiasi, dan kemoterapi (pengobatan secara kimiawi). Pengobatan tersebut membutuhkan biaya tinggi, namun pengobatan tidak spesifik dan menimbulkan efek samping yang cukup besar. Pengobatan ini ditujukan untuk membunuh sel-sel kanker sehingga tidak berkembang dan membahayakan bagi tubuh (Dewi 2009).

5.1 Kemoterapi. Efek samping dari kemoterapi timbul karena obat-obatan kemoterapi sangat kuat dan tidak hanya membunuh sel-sel kanker, tetapi juga menyerang sel-sel sehat. Efek samping kemoterapi yaitu supresi sumsum

tulang, gejala gastrointestinal seperti mual, muntah, kehilangan berat badan, perubahan rasa, konstipasi, diare dan gejala lainnya alopesia, fatigue, perubahan emosi, dan perubahan pada sistem saraf (Setiawan 2015). Sehingga penggunaan obat-obatan ini seringkali dikombinasi dengan obat-obat lain dengan maksud untuk mengurangi efek samping. Contoh agen obat kemoterapi adalah *cyclopropamid plus doxorubicin* atau dikenal dengan CA yang dapat merusak DNA dari sel kanker. Penambahan obat taxan biasanya ditambahkan sehingga disebut CAT, dimana taxan menyerang kanker di daerah microtubulus (Darmono 2012).

5.2 Pembedahan. Pembedahan dilakukan untuk mengambil massa kanker dan memperbaiki komplikasi yang mungkin terjadi. Menjalani pembedahan akan menimbulkan stress pada pasien baik secara psikologis maupun secara fisiologis (Renidayati 2016).

5.3 Radioterapi. Radioterapi adalah pengobatan kanker dengan menggunakan sinar radiasi berenergi tinggi yang difokuskan pada jaringan kanker. Radiasi dapat mempengaruhi kulit, mulut, otak dan paru-paru. Luasnya area yang terpengaruh dikarenakan radiasi diberikan secara lokal atau diarahkan pada daerah yang sakit. Oleh karena itu, efek samping biasanya terjadi pada area sasaran. Kulit yang disubyekkan pada radiasi dapat menjadi gelap dan kemudian mengeras (Nurhayati 2006).

5.4 Imunoterapi/bioterapi. Imunoterapi kanker adalah suatu metode pengobatan yang bertujuan untuk menghambat metastatis kanker dan meningkatkan kualitas hidup pasien penderita kanker. Imunoterapi dilakukan dengan mengaktifkan sel pertahanan tubuh agar mampu melawan kanker (Dewi 2009).

F. Kanker Payudara

Kanker payudara juga disebut *malignant breast neoplasm* adalah kanker pada jaringan susu/payudara. Kanker payudara juga disebut kanker sel epitel atau karsinoma berdasarkan kanker tumbuh pada jaringan asalnya. Bagian terbesar

kanker payudara terletak pada kwadran lateral (pinggir) atas dengan penjarannya ke arah ketiak (Darmono 2012).

Beberapa faktor yang telah diketahui terlibat dalam perkembangan kanker payudara diantaranya faktor genetik, faktor lingkungan, olah raga, diet, obesitas, faktor hormonal. Faktor genetik yang dimaksud disini ialah mutasi pada gen BRCA 1, BRCA 2, dan TP53 (Cahyawati 2018).

Sel kanker masuk dalam sistem limfatik dalam kulit daerah payudara, maka timbul benjolan yang menyerupai inflamasi yang disebut *inflammatory breast cancer* (IBC). Gejala yang timbul pada kondisi ini adalah pembengkakan, teraba panas dan kemerahan. Gejala lain adalah terjadi luka eksem pada payudara, ada sedikit flek pada puting susu, kondisi ini dinamakan *Paget's disease*, bila hal tersebut terus berlanjut, maka akan terlihat adanya fibroadenoma (benjolan keras yang bergerak) yang disebut tumor *phylloides*. Tumor *phylloides* terbentuk dalam jaringan stroma dan merupakan benigna terbatas (Darmono 2012).

Kanker payudara biasanya didiagnosis dengan adanya benjolan kecil berukuran kurang dari 2 cm. Benjolan tumor yang ganas bersifat *soliter*, *unilateral*, *solid*, keras dan tidak beraturan. Tanda yang kurang umum adalah adanya abnormalitas pada puting dan retraksi. Kasus yang lebih berat dapat terjadi edema kulit, kemerahan dan rasa panas pada jaringan payudara (Dipiro *et al.* 2005).

Beberapa jenis sel kanker payudara yang bisa dikultur ialah BT20, MDA-MB-321, MDA-MB-435, MDA-MB 468, MCF-7, SkBr3, T47D, dan ZR75.1wt. Banyaknya jenis sel payudara layak dipertimbangkan sebagai alat penelitian yang akan memberikan hasil yang berbeda pada masing-masing selnya. Perbedaan hasil ini akan memberikan ketertarikan studi dalam hal morfologi, analisis imunohistokimia, reseptor estrogen dan progesteron, HER2, dan p53 untuk menyelidiki perkembangan yang terjadi (Burdall 2002).

G. Sel Vero

Sel vero berasal dari ginjal kera hijau afrika (*Cercopithecus aethiops*). Sel ini homolog dengan sel tubuh manusia dan mudah dibiakkan. Sel vero yang sehat

berbentuk triangular dan akan berubah menjadi bentuk “round-off” jika berinteraksi dengan senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik. Medium yang digunakan untuk mengkultur sel vero adalah media M199, media ini berguna untuk memberikan nutrisi yang dibutuhkan sel, supaya sel dapat bertahan hidup dan dapat memperbanyak diri dengan penambahan bovine serum konsentrasi akhir hingga 10% (Bawon *et al* 2016). Kondisi untuk menumbuhkan sel vero yaitu suhu 37⁰C dan kadar CO₂ 5% (ATCC 2012). Sel vero mempunyai tingkat pertumbuhan atau pembelahannya cepat dengan waktu replikasinya adalah 12-24 jam (Khumairoh 2016).

H. Sel T47D

Sel T47D merupakan sel kanker yang mengekspresikan reseptor estrogen atau yang biasa disebut ER positif dan mengekspresikan AR (*Androgen Receptor*) serta mengekspresikan protein p53 yang termutasi. Sel T47D mampu kehilangan reseptor estrogen (ER) selama kehilangan estrogen jangka panjang secara *in vitro*. Oleh karena itu, digunakan sebagai model untuk studi resistensi obat untuk tamoxifen pada pasien dengan tumor payudara p53 mutan (Abcam 2007). Ekspresi p53 mengalami *missense mutation* pada residu 194 (dalam *zinc-binding domain* L2) sehingga p53 kehilangan fungsinya. Jika p53 tidak dapat mengikat *response element* pada DNA, maka akan mengurangi atau menghilangkan kemampuannya dalam meregulasi siklus sel dan memacu apoptosis (Schafer *et al.* 2000).

Sel T47D mempunyai morfologi sama seperti sel epitel yang diisolasi dari jaringan payudara seorang wanita berusia 54 tahun yang menderita *ductal carcinoma*. Sel ini ditumbuhkan pada media penumbuh RPMI 1640 yang ditambahkan bovine insulin 0,2 U/mL dan Foetal Bovine Serum (FBS) hingga konsentrasi akhir 10%. Sel ditumbuhkan pada suhu 37⁰C dengan CO₂ 5% (ATCC 2012). RPMI adalah medium yang baik untuk menumbuhkan sel kanker dalam jangka waktu yang pendek. FBS (*Fetal Bovine Serum*) ditambahkan kedalam medium sebagai growth factor. FBS adalah suplemen peningkat pertumbuhan yang sering digunakan karena kompleks dan mengandung banyak faktor

pertumbuhan, melindungi sel dan memberi nutrisi. Kandungan tersebut dibagi menjadi beberapa polipeptida spesifik yang memacu pertumbuhan sel, protein transport, protection agent, faktor pelekat dan nutrisi. Medium RPMI juga ditambahkan penisilin-streptomisin yang bertujuan untuk menghindari terjadinya kontaminasi bakteri. Penisilin-Streptomisin adalah antibiotik yang tidak bersifat toksik, memiliki spektrum antimikroba luas dan ekonomis (Zairisman 2006).

I. Kultur Sel

Kultur sel merupakan proses yang digunakan untuk perkembangbiakan sel yang berasal dari tubuh. Sel-sel tersebut dapat diambil secara langsung dari jaringan atau dengan proses enzimatik maupun mekanik, sebelum kemudian dikultivasi (dibiakkan). Sel-sel tersebut juga dapat diperoleh dari *cell line* maupun *cell strain* yang telah ada (Khumairoh 2016).

Kelebihan dari metode kultur sel adalah kebebasan peneliti untuk mengatur kondisi lingkungan tempat hidup pada keadaan konstan. Kekurangan dari metode ini adalah adanya kemungkinan mutasi pada sel yang dikultur. Upaya untuk meminimalisir hal tersebut, kondisi lingkungan kultur harus dibuat semirip mungkin dengan lingkungan awal di dalam tubuh supaya sel tumbuh dengan baik (Zairisman 2006).

Kultur sel ditempatkan dalam substrat dari kaca atau plastik. Substrat harus memungkinkan terjadinya adhesi dan proliferasi sel dengan baik. Kebutuhan akan oksigen harus dijaga, berguna untuk sel yang membutuhkan untuk respirasi *in vivo*, walaupun beberapa sel bisa anaerobik. *Cell line* tumbuh pada pH antara 7,0 dan 7,4 sehingga kestabilan harus dijaga dengan penambahan buffer dalam media. Sel turunan disimpan pada suhu -120 sampai 180⁰C agar sel tersebut tidak berproliferasi (Freshney 2008).

Macam sel atau jaringan yang dikembangkan sebagai kultur, antara lain: fibroblast, Jaringan rangka (tulang dan tulang rawan), otot jantung dan mulut, jaringan epitel (hati, paru-paru, dada, kulit, ginjal), sel saraf, sel endokrin (adrenal, pituitari), melanosit, dan beberapa tipe sel tumor. Pemilihan tipe sel tergantung dari tujuan penelitian, tetapi pada umumnya untuk maksud penapisan aktivitas

sitotoksik berbagai sampel selalu dipilih sel yang cepat tumbuh dan penanganannya mudah (Syahidah dan Yuni 2017).

Media yang dibutuhkan untuk sel bervariasi tergantung pada sel yang akan dikulturnya. Macam media yang umum digunakan antara lain: EMEM (*Eagle's Minimum Essential Medium*) digunakan untuk kultur sel fibroblast paru-paru dan hati, DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle's Medium*) cocok digunakan untuk sel tumor dengan kecepatan pertumbuhan yang cepat (sel hati, sel line kanker pankreas, sel epitel alveolar dan beberapa sel lainnya). RPMI-1640 (*Roswell Park Memorial Institute*) digunakan untuk menumbuhkan sel kanker payudara dan sel adenokarsinoma paru-paru, DMEM/F12 digunakan pada sel line epitel, dan Ham's F12-K digunakan untuk mengkultur makrofag (Syahidah dan Yuni 2017).

J. Doxorubicin

Doxorubicin adalah obat *anthracycline* yang pertama kali diekstrak dari *Streptomyces peucetius* var. *caesius* pada tahun 1970-an dan secara rutin digunakan dalam pengobatan beberapa kanker termasuk payudara, paru-paru, lambung, ovarium, tiroid, limfoma non-Hodgkin dan Hodgkin, multiple myeloma, sarkoma, dan kanker pediatrik (Thorn *et al.* 2011).

Doxorubicin agen kemoterapi yang umum dipakai untuk terapi kanker payudara, namun efektivitas penggunaan agen kemoterapi ini menjadi terbatas karena munculnya masalah resistensi sel kanker dan adanya efek toksik pada jaringan normal tubuh (Smith *et al.* 2006). Mekanisme yang menyebabkan terjadinya resistensi doxorubicin adalah adanya overekspresi *PgP* yang menyebabkan doxorubicin dipompa keluar sel dan konsentrasi doxorubicin dalam sel turun. Perubahan biokimiawi lain pada sel yang resisten doxorubicin antara lain peningkatan aktivitas *glutathione peroxidase*, peningkatan aktivitas maupun mutasi topoisomerase II, serta peningkatan kemampuan sel untuk memperbaiki DNA yang rusak (Bruton *et al.* 2005).

Mekanisme aksi doxorubicin dioksidasi menjadi semiquinone, metabolit yang tidak stabil, yang diubah kembali menjadi doxorubicin dengan melepaskan spesies oksigen reaktif. Spesies oksigen reaktif dapat menyebabkan peroksidasi

lipid dan kerusakan membran, kerusakan DNA, stres oksidatif, dan memicu jalur apoptosis kematian sel serta doxorubicin dapat memasuki nukleus dan meracuni topoisomerase-II (Thorn *et al.* 2011). Enzim topoisomerase merupakan target yang penting pada pemakaian obat ini. Enzim ini mempertahankan struktur 3 dimensi dari DNA dan penting pada proses replikasi, transkripsi, repair dan rekombinasi DNA. Topoisomerase bekerja melalui pemotongan dan penyambungan rantai DNA serta mengganggu penyambungan rantai DNA (Siahaan 2007).

Doksorubisin mempunyai efek toksik yang sering dilaporkan, diantaranya alopecia, depresi sumsum tulang belakang, demam, mual, dan flebitis. Efek toksik yang dianggap lebih serius, karena dapat membatasi pemakaian obat jangka panjang, yaitu efek kardiotoxicitas dan mengalami kerusakan otot jantung atau kardiomiopati (Kamelia 2017).

K. Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik adalah uji toksisitas secara *in vitro* menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa. Penggunaan uji pada kultur sel merupakan salah satu cara penetapan *in vitro* untuk mendapatkan obat-obat sitotoksik. Kelemahan uji *in vitro* yaitu kegagalan dalam meniru kondisi seluler yang tidak sesuai dengan keadaan organisme hidup. Sistem ini merupakan uji kuantitatif dengan cara menetapkan kematian sel (Haryoto *et al.* 2013).

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 ini digunakan sebagai acuan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel. Nilai IC_{50} dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Haryoto *et al.* 2013). Ekstrak yang memiliki nilai IC_{50} di bawah 100 $\mu\text{g/ml}$ memiliki efek sitotoksik yang poten (Ueda *et al.* 2002).

L. Metode Pengujian Sitotoksik (MTT Assay)

Uji sitotoksitas merupakan metode untuk menilai sitotoksitas suatu bahan dengan menggunakan pereaksi 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT assay). Dasar uji enzimatik MTT adalah mengukur kemampuan sel hidup berdasarkan aktivitas mitokondria dari kultur sel. Uji ini banyak digunakan untuk mengukur proliferasi seluler secara kuantitatif atau untuk mengukur jumlah sel yang hidup (Meizarini *et al.* 2005).

MTT assay didasarkan pada kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam MTT yang berwarna kuning dan larut menjadi formazan yang berwarna biru-ungu dan tidak larut (Siregar dan Hadijono 2000). Prinsip assay ini adalah pemecahan cincin tetrazolium MTT oleh adanya dehidrogenase pada mitokondria yang aktif, menghasilkan produk formazan biru keunguan yang tidak larut, mengendap pada sel. Mekanismenya adalah garam tetrazolium berwarna kuning tersebut akan direduksi di dalam sel yang mempunyai aktifitas metabolik (Meizarini *et al.* 2005). Konsentrasi formazan yang berwarna biru keunguan dilarutkan dalam pelarut dan intensitas warna diukur dengan spektrofotometer (Siregar dan Hadijono 2000).

M. Uji Indeks Selektivitas

Nilai selektivitas suatu senyawa bertujuan untuk mengetahui tingkat keamanan suatu senyawa antikanker terhadap sel normal (Rollando 2017).

Ekstrak atau fraksi sebelum dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensinya sebagai antikanker perlu dipastikan terlebih dahulu efek sitotoksiknya terhadap sel normal. Efek toksik pada sel normal menjadi permasalahan besar pada terapi kanker, berupa efek samping yang dapat menurunkan kualitas hidup pasien (Mutiah 2017).

Indeks selektivitas diperoleh dengan menggunakan metode MTT dari rasio IC_{50} sel vero dibandingkan dengan IC_{50} sel kanker yang diuji. Nilai indeks selektivitas yang disyaratkan adalah > 3 , yang menandakan bahwa ekstrak atau fraksi mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker dengan pengaruh

minimal pada sel normal, dan dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai agen kemopreventif. (Prayong *et al.* 2008).

N. Landasan Teori

Kanker disebut juga neoplasma, adalah suatu penyakit pertumbuhan sel di dalam organ tubuh timbul dan berkembang biak sel-sel baru yang tumbuh abnormal, cepat, dan tidak terkendali dengan bentuk, sifat, dan gerakan yang berbeda dari sel asalnya, serta merusak bentuk dan fungsi organ asalnya (Dalimartha 2004).

Kanker payudara merupakan jenis kanker sel epitel atau karsinoma berdasarkan kanker tumbuh pada jaringan asalnya. Timbulnya jenis kanker dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang meliputi keadaan geografis dan rasial, berkaitan dengan gaya hidup, serta pola makan yang berbeda (Kartawiguna 2001). Penyebab kanker payudara disebabkan adanya kerusakan DNA yang menyebabkan mutasi pada genetik (Nurhayati 2006).

Pengobatan kanker yang umum dilakukan saat ini adalah melalui operasi, radiasi, dan kemoterapi (pengobatan secara kimiawi). Pengobatan tersebut membutuhkan biaya tinggi, namun pengobatan tidak spesifik dan menimbulkan efek samping yang cukup besar. Pengobatan ini ditujukan untuk membunuh sel-sel kanker sehingga tidak berkembang dan membahayakan bagi tubuh (Dewi 2009).

Rimpang jahe merah mengandung minyak menguap (*volatile oil*), minyak tidak menguap (*nonvolatile oil*), dan pati (Herlina 2009). Senyawa kimia yang terkandung dalam jahe merah diantaranya adalah alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid, minyak atsiri, dan 5-8% oleoresin (25% gingerol, zingiberin, dan shagaol) (Harliansyah 2007; Ravindran dan Babu 2005). Penelitian Maya Fadlilah (2013), telah menemukan senyawa terpenoid pada fraksi *n*-heksana dan senyawa flavonoid pada fraksi etil asetat jahe merah dengan aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,750 µg/ml dan 27.754 µg/ml. Zat-zat terpenoid membantu tubuh dalam proses sintesa organik dan pemulihan sel-sel tubuh serta bersifat sebagai antimikroba. Senyawa terpenoid dapat memblok

siklus sel pada fase G2 dengan menstabilkan benang-benang spindle pada fase mitosis sehingga menyebabkan proses mitosis terhambat (Puspitasari *et al.* 2015). Senyawa flavonoid dapat menghambat proliferasi melalui inhibisi proses oksidatif yang dapat menyebabkan inisiasi kanker, mekanisme ini diperantarai penurunan enzim xanthin oksidase, *siklo oksigenase* (COX) dan *lipo oksigenase* (LOX) yang diperlukan dalam proses pro-oksidase sehingga menunda siklus sel (Fadlilah 2013). Penelitian Ratna Budi (2008) senyawa flavonoid dapat memacu apoptosis melalui beberapa mekanisme antara lain penghambatan aktivitas DNA topoisomerase I/II, modulasi *signalling pathways*, penurunan ekspresi gen Bcl-2 dan Bcl-XL, peningkatan ekspresi gen Bax dan Bak serta aktivasi endonuklease.

Uji sitotoksik adalah uji toksisitas secara *in vitro* menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa. Parameter yang digunakan untuk uji sitotoksik yaitu nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel (Haryoto *et al.* 2013). Ekstrak yang memiliki nilai IC₅₀ di bawah 100 µg/ml memiliki efek sitotoksik yang poten (Ueda *et al.* 2002). Tingkat keamanan suatu senyawa antikanker terhadap sel normal dinyatakan dengan nilai selektivitas (Rollando 2017). Nilai *selectivity index* yang disyaratkan adalah >3, yang menandakan bahwa ekstrak atau fraksi mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker dengan pengaruh minimal pada sel normal (Prayong *et al.* 2008). Ekstrak rimpang jahe merah mempunyai nilai indeks selektivitas sebesar 12,6 terhadap sel kanker HepG2 (sel kanker hati) (Mahavorasirikul *et al.* 2010).

Uji aktivitas sitotoksik yang dilakukan oleh Wasito dkk (2011), menunjukkan bahwa ekstrak etanol jahe merah terhadap sel payudara T47D dengan metode MTT didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 55.912 g/mL. Penelitian lain yang dilakukan Maya Fadilah (2013) isolasi senyawa terpenoid dan flavonoid dalam jahe merah memiliki aktifitas sitotoksik terhadap sel HeLa dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,750 µg/ml dan 27.754 µg/ml.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana dan fraksi etil asetat dari jahe merah terhadap sel kanker payudara T47D

dan untuk mengetahui indeks selektivitas aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi terhadap sel kanker payudara T47D dibandingkan dengan sel vero. Pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi rimpang jahe merah adalah etanol 96% kemudian difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana dan etil asetat diharapkan dapat dengan maksimal menyari senyawa non polar dan semi polar yang aktif dalam rimpang jahe merah. Uji MTT dalam penelitian ini dipilih sebagai metode uji sitotoksik dengan parameter yang diukur adalah (%) kehidupan sel dan pembentukan kristal formazan.

O. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini yaitu :

1. Ekstrak dan fraksi rimpang jahe merah memiliki aktivitas sitotoksik terhadap kultur sel kanker payudara T47D dan nilai IC_{50} dari ekstrak dan fraksi rimpang jahe merah $<100 \mu\text{g/mL}$
2. Nilai indeks selektivitas ekstrak dan fraksi rimpang jahe merah dari sel kanker payudara T47D terhadap sel vero lebih besar dari 3,00.
3. Fraksi *n*-heksana yang paling kuat dalam aktivitas sitotoksiknya.