

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)**

##### **1. Sistematika tumbuhan**

Klasifikasi tanaman jambu biji adalah sebagai berikut (Dalimartha 2000):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledone
Subkelas	: Dialypetalae
Ordo	: Myrtales
Family	: Myrtaceae
Genus	: Psidium
Spesies	: <i>Psidium guajava</i> L.

##### **2. Nama daerah**

Tanaman jambu biji sering disebut jambu batu. Beberapa nama daerah untuk tanaman tersebut antara lain glima breuen, glimeu beru, galiman, masiambu, jambu biawas (Sumatra) dan kayawase, kayawusu, lainehatu, lutuhatu, dan gayawa (Maluku) (Wijayakusuma *et al.*1994).

##### **3. Morfologi tanaman**

Jambu biji adalah salah satu tanaman buah jenis perdu dengan ketinggian 3-10 m dibawah permukaan laut. Daun jambu biji berdaun tunggal, bertangkai pendek, letak berhadapan, berambut halus, permukaan atas daun licin. Helaian daun berbentuk bulat telur agak jorong, ujung tumpul, pangkal membulat, tepi rata, pertulangan menyirip, panjang 6-14 cm, lebar 3-6 cm, berwarna hijau (Gotama 1999).

Jambu biji berbunga sepanjang tahun, dan memiliki percabangan banyak. Batangnya berkayu dan keras, permukaan kulit batang halus dan licin, berwarna kekuningan dengan bagian dalam kehijauan. Bunga tunggal, bertangkai, keluar dari ketiak daun, berkumpul 1-3 bunga, berwarna putih. Buahnya buah buni,

berbentuk bulat sampai bulat telur, berwarna hijau sampai hijau kekuningan atau merah jambu. Biji buah banyak mengumpul ditengah, kecil-kecil, keras, berwarna kuning kecoklatan (Yuniarsih 1996).

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

Jambu biji secara kimia dicirikan memiliki kandungan senyawa-senyawa flavonoid, steroid/triterpenoid, alkaloid, tanin dan saponin. Disamping itu, daun jambu biji mengandung senyawa-senyawa sejenis, seperti 2,3 heksahidroksi-difenoil-glukosa, skriktinin, isostrikinin, telimagradin, pendukulagin, kasuakritin, kusuariin, kasuarinin dan stakiurin (Achmad 2010). Daun jambu biji mengandung metabolit sekunder yaitu terdiri dari tanin, polifenol, flavonoid, monoterpenoid, siskuitерpen, alkaloid, kuinon dan saponin, vitamin B1, B2, B3, B6 dan vitamin C. Ekstrak daun jambu biji mengandung beberapa senyawa fenolik, yaitu asam galat, katekin, dan kuersetin (Wu *et al.* 2009).

**4.1 Tanin.** mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit, sehingga dapat digunakan menjadi pertahanan bagi tumbuhan, mempunyai aktifitas antioksidan, dan dapat mendenaturasi protein. Tanin dapat larut air tapi tidak larut dalam pelarut organik (Robinson 1995). Senyawa tanin mempunyai aktifitas sebagai antiproliferasi pada sel kanker yang bekerja pada tingkat sel dengan menghambat fase “S” dari siklus sel (Khanbabaee & Ree 2011).

**4.2 Flavonoid.** Flavonoid berperan dalam inaktivasi karsinogen, antiproliferasi, penghambat siklus sel, induksi apoptosis dan diferensiasi, inhibisi angiogenesis, dan pembalikan resistensi multi-obat atau kombinasi dari mekanisme-mekanisme tersebut (Ren *et al.* 20013). Flavonoid dapat menghambat pertumbuhan proliferasi melalui inhibisi proses oksidatif yang dapat menyebabkan inisiasi kanker (Agoes 2010). Selain itu, senyawa chalcone yang merupakan prekursor flavonoid juga diketahui dapat memberikan efek sitotoksik terhadap sel kanker MCF-7 dengan beberapa mekanisme, yaitu terlihat dalam induksi apoptosis, blokade siklus sel dengan regulasi faktor siklus sel, inisiasi jalur ligan fas, mempengaruhi jalur mitokondria, dan memodulasi golongan protein Bcl-2 (Hsu *et al.* 2006).

**4.3 Steroid.** merupakan metabolit sekunder pada tanaman berpotensi mempercepat pengenalan kanker oleh sistem imun, menghambat pertumbuhan tumor dan memperlambat siklus sel, menginduksi apoptosis, dan menghambat metastasis tumor (Bradford & Awad 2007).

**4.4 Saponin.** adalah senyawa aktif permukaan kuat yang dapat menimbulkan busa jika dikocok dengan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah (Harborne 1987). Hasil dari beberapa penelitian yang dilakukan menyatakan saponin memiliki aktifitas sitotoksik terhadap beberapa jenis sel kanker salah satunya pada sel kanker prostat (Du-145), sel kanker renal (CAKI-1), sel melanoma (M14), sel kanker kolon (HCT-15) dengan cara menginduksi apoptosis dan menghambat proses angiogenesis (Podolak *et al.* 2010).

## **5. Kegunaan tanaman**

Daun jambu biji telah terbukti mempunyai berbagai efek farmakologis, antara lain analgesik, antiinflamasi, antimutagenik, antidiare. Daun jambu biji telah banyak digunakan untuk mengobati diare, mencret dan sakit kembung (Nuryani *et al.* 2017). Daun jambu biji juga mempunyai khasiat sebagai anti inflamasi, anti mutagenik, anti mikroba dan analgesik (Santos & Silveira 1997). Ekstrak air daun jambu biji dapat menghambat diare, antispasmodik, anti mikrobial terhadap *Escherichia coli*. Selain bersifat antimikroba, pada ekstrak air dapat digunakan untuk penyembuhan batuk (Achmad 2010).

## **B. Simplisia**

### **1. Pengertian Simplisia**

Simplisia adalah bahan alam digunakan sebagai obat, belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman, dan eksudat tanaman dengan tingkat kehalusan tertentu. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan, bagian hewan atau zat yang dihasilkan hewan yang masih belum berupa zat kimia murni (Ditjen POM 1979).

## **2. Pengeringan Simplisia**

Pengeringan adalah suatu cara pengawetan atau pengolahan pada bahan dengan cara mengurangi kadar air, sehingga proses pembusukan dapat terhambat. (Depkes RI 1985). Tujuan pengeringan adalah untuk menurunkan konsentrasi air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, dan memudahkan dalam proses pengelolaan selanjutnya (Gunawan & Mulyani 2004). Pengeringan simplisia dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu pengeringan di bawah sinar matahari dan pengeringan teduh (Depkes RI 2008).

Kandungan air pada simplisia yang dikeringkan dapat mencapai 10% atau lebih, namun disyaratkan kandungan kadar air kurang dari 10%. Kandungan air yang tinggi atau kondisi penyimpanan yang basah dapat menyebabkan kerusakan material tumbuhan akibat mikroba (Voigt 1994).

## **3. Pembuatan serbuk**

Pembuatan serbuk dari daun jambu biji bertujuan untuk mempermudah proses ekstraksi. Karena semakin kecil ukurannya maka semakin besar luas permukaannya, sehingga proses penyarian akan semakin efektif.

## **4. Pengemasan dan penyimpanan serbuk**

Simplisia perlu dikemas dan disimpan untuk menjaga bentuk dan kandungannya. Pengemasan simplisia dengan menggunakan wadah yang inert, tidak beracun, melindungi simplisia dari cemaran serta mencegah adanya kerusakan. Untuk penyimpanan sebaiknya ditempat yang kelembabannya rendah, terlindungi dari paparan sinar matahari langsung, dan terlindungi dari gangguan serangga (Depkes RI 1985).

# **C. Penyarian**

## **1. Penyarian**

Penyarian adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut. Sistem penyarian yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan

kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif (Ansel 1989).

Metode penyarian yang akan digunakan tergantung dari wujud dan kandungan bahan yang akan disari. Metode dasar penyarian adalah infundasi, maserasi, perkolasi dan sokletasi. Pemilihan metode penyarian disesuaikan dengan kepentingan untuk memperoleh kandungan kimia yang diinginkan (Harbone 1987).

## **2. Ekstraksi**

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstrak zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI 1995).

Ekstraksi adalah proses perpindahan massa zat aktif yang awalnya berada didalam sel kemudian ditarik keluar oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari (Harborne 1987). Pelarut yang diinginkan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel 1989).

Ekstraksi harus dilakukan dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan kepolaran komponen suatu senyawa, selain itu rasio pelarut dan sampel yang hendak diekstrak, suhu yang digunakan selama proses ekstraksi mempengaruhi hasil yang didapatkan selama proses ekstraksi (Widiati 2012). Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi.

## **3. Maserasi.**

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut beberapa kali pengocokan dan pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip pencapaian konsentrasi pada keseimbangan (Depkes RI 2000).

Prinsip maserasi adalah dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari (pelarut). Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam

rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang diluar sel, maka larutan yang terpekat didesak ke luar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut terjadi secara berulang hingga tercapai keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Hafidloh 2014).

Keuntungan dari metode maserasi adalah sarana pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugiannya adalah pengerjaan lama dan penyariannya kurang sempurna (dapat terjadi kejenuhan cairan penyari sehingga kandungan kimia yang tersari terbatas). Hasil penyarian dengan metode maserasi perlu dibiarkan atau didiamkan selama waktu tertentu untuk mendapatkan zat-zat yang tidak diperlukan tetapi tidak ikut dalam cairan penyari (Depkes 1986).

#### **4. Fraksinasi**

Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan suatu senyawa secara bertingkat berdasarkan kepolarannya, yaitu non polar, semi polar, dan polar. Senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut dalam pelarut non polar, senyawa semi polar akan larut dalam pelarut semi polar, dan senyawa polar akan larut dalam pelarut polar (Harborne 1987).

Ekstraksi cair-cair dengan menggunakan corong pisah merupakan pemisahan komponen kimia diantara dua fase pelarut yang tidak saling bercampur, dimana sebagian komponen akan larut pada fase pertama dan sebagian yang lain larut dalam fase kedua. Pemisahan ini didasarkan pada bobot dari tiap fraksi, fraksi yang lebih berat akan berada paling dasar sedangkan fraksi yang lebih ringan akan berada di atas (Adijuwana & Nur 1989).

#### **5. Pelarut**

Pelarut adalah suatu cairan yang digunakan untuk melarutkan zat farmasi lain atau suatu obat dalam preparat farmasi. Larutan penyari yang digunakan dalam melarutkan zat-zat aktif harus memenuhi beberapa kriteria yaitu pelarut yang digunakan harus murah, mudah didapat, stabil secara kimia maupun fisika, bersifat netral dan selektif (melarutkan zat-zat yang diinginkan), diperbolehkan

peraturan dan tidak berbahaya bila digunakan (Ansel 1989). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini antara lain air, etanol, etil asetat, dan n-heksana.

**5.1 Air.** Pelarut yang polar, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air dapat melarutkan enzim, glikosida dan tanin, gula, gom, pati, protein, enzim, lilin, zat warna dan asam organik (Depkes RI 1986). Air dapat melarutkan zat-zat yang bersifat ionik dan polar saja (Tiwari *et al.* 2011).

**5.2 Etanol.** Etanol adalah pelarut yang stabil secara fisika dan kimia, selektif, tidak beracun, tidak mudah menguap, bereaksi netral, absorpsinya baik, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, tidak mudah terbakar, dapat bercampur dengan air dengan segala perbandingan (Depkes RI 1986). Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, antrakuinon, flavonoid, steroid, tanin, dan saponin. Keuntungan etanol tidak menyebabkan pembekakan membran sel, memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, dapat dihasilkan suatu bahan aktif yang optimal dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil turut dalam cairan pengestraksi dan menghambat kerja enzim (Voight 1994).

**5.3 Etil asetat,** merupakan pelarut semi polar, mudah menguap, dan mudah terbakar, tidak berwarna, bau khas seperti buah. Etil asetat dapat melarutkan senyawa flavonoid, alkaloid, senyawa-senyawa fenolik yaitu fenol, asam fenolat, fenil propanoid, dan antrakuinon dan xanton (Harborne 1987).

**5.4 n-Heksana,** merupakan pelarut non polar, berupa cairan jernih, mudah menguap, dan berbau seperti petroleum. Tidak larut dalam air, larut dalam etanol, dan dapat bercampur dengan eter, kloroform, benzen, dan kloroform (Depkes RI 1986). Senyawa yang dapat larut dalam pelarut n-Hekasana yaitu minyak atsiri, minyak lemak dan asam lemak tinggi, steroid, triterpenoid, karotenoid (Harborne 1987).

#### **D. Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi adalah teknik pemisahan senyawa atas dasar perbedaan kecepatan migrasi analit yang dibawa oleh fase gerak melalui fase diam. Pada

perjalanannya analit ditahan secara selektif oleh fase diam. Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah metode pemisahan fitokimia yang didasarkan atas penjerapan, partisi, atau gabungannya. Kromatografi biasanya digunakan untuk pengecekan yang cepat terhadap komposisi campuran, identifikasi obat, ekstrak tanaman, preparat biokimia, serta mendeteksi kontaminan dan pemalsuan (Harborne 1987).

Hasil yang diperoleh diidentifikasi di bawah lampu UV (254 dan 366 nm) ditandai dengan ada atau tidaknya fluoresensi. Jika tidak tampak dengan cara diatas maka dapat dilakukan dengan cara kimia yaitu penyemprotan dengan pereaksi yang sesuai (Auterhoff 1987). Beberapa senyawa organik berfluoresensi atau bersinar disinari dengan sinar ultraviolet gelombang pendek (254nm) atau gelombang panjang (366nm), atau dapat menggunakan pereaksi semprot jika dengan cara ultraviolet tidak menimbulkan bercak (Gritter et al. 1991; Stahl 1985).

Identifikasi golongan senyawa dilakukan dengan penampak bercak di antaranya yaitu : alkaloid (reagen dragendroff), flavonoid (pereaksi sitroborat), steroid dan terpenoid (reagen Liebermann burchard), tanin (pereaksi  $F_6Cl_3$ ).

## **E. Kanker**

### **1. Definisi Kanker**

Kanker adalah pertumbuhan sel yang tidak terkendali yang cenderung menyerang jaringan di sekitarnya dan menyebar ke organ tubuh lain. Setiap kanker memiliki ciri yang unik, kanker muncul melalui beberapa proses yang sama pada akhirnya bergantung pada perubahan genetik (Corwin 2009).

Sel normal manusia bertumbuh dan membelah ketika tubuh membutuhkan. Saat sel menjadi tua atau mengalami kerusakan, sel akan mati dan digantikan sel lainnya. Proses pada sel normal tersebut tidak terjadi saat sel kanker mulai berkembang. Sel mulai menjadi abnormal, sel yang tua atau rusak tidak mengalami kematian, dan pertumbuhan sel baru tetap berlangsung walaupun tidak diperlukan oleh tubuh (NCI 2015).

Apabila perbaikan DNA karena adanya perubahan DNA tersebut gagal, maka akan terjadi mutasi genom. Adanya mutasi mengakibatkan pengaktifan



onkogen pendorong pertumbuhan, perubahan gen yang mengendalikan pertumbuhan, serta penonaktifan gen supresor kanker. Ketiga hal tersebut mengakibatkan timbulnya neoplasma ganas atau dikenal dengan kanker (Kumar *et al.* 2005).

Beberapa sifat sel kanker antara lain : kontrol pertumbuhan sudah hilang, daya melekat sel satu dengan yang lain berkurang, inhibisi kontak sudah tidak ada, sistem enzimnya lebih sedikit jumlah atau macamnya, misalnya sel kanker tidak mempunyai asparagin sintetase, dan enzim-enzim untuk pertumbuhan lebih besar dibanding sel normal (Mulyadi 1997), tidak sensitif terhadap sinyal-sinyal yang menghambat pertumbuhan, kehilangan kemampuan apoptosis, gangguan perbaikan DNA, kemampuan replikasi tanpa batas (immortal), kemampuan menginvasi dan bermetastatis, kemampuan membentuk pembuluh darah baru (angiogenesis) (Kumar *et al.* 2005).

## 2. Klasifikasi

Pembentukan kanker dimulai dari proses displasia yaitu kelainan diferensiasi sel normal menjadi sel abnormal yang disertai gangguan pengaturan dalam sel. Kanker merupakan suatu neoplasma yang terdiri dari tumor jinak (*benign*) dan tumor ganas (*malignant*) (Kennia 2008).

**2.1 Tumor ganas.** bermetastasis. Pada tumor ganas terdapat pleomorfi yaitu bentuk dan ukuran inti sel yang berbeda-beda, terdapat pada etia yaitu sel yang mempunyai inti lebih dari satu. Pada tumor ganas tidak terdapat anaplasia (dediferensiasi) yang berarti kehilangan kemampuan untuk berdeferensiasi sel (Amalina 2008). Tumor ini dapat menyebar dari organ atau jaringan asal ke bagian tubuh lainnya, tumor ini disebut dengan kanker (Bratawidjaja 2014)

**2.2 Tumor jinak.** tidak bermetastasis. Tumor ini berlangsung lambat dan tidak dapat menyebar ke jaringan tubuh lainnya (Bratawidjaja 2014).

## 3. Faktor-faktor penyebab kanker

**3.1 Senyawa kimia atau zat karsinogenik.** Misalnya “ter” atau jelaga berupa cairan atau gas sebagai hasil pembakaran zat biologi seperti kayu. Didalam senyawa ini banyak mengandung senyawa karsinogen berupa benzena, toluena, fenol, aerosol. Pada biji kacang-kacangan yang ditumbuhi jamur *Aspergillus flavus*

terdapat aflatoksin yang merupakan karsinogen alami dan dapat menyebabkan kanker hati (Sukardja 2004).

**3.2 Hormon.** Penyebab terjadinya kanker dan difat karsinoma payudara, endometrium, dan prostat dipengaruhi oleh hormon-hormon endogen dan eksogen (Velde *et al.* 1996).

**3.3 Virus.** Virus papiloma manusia (HPV) menyebabkan perubahan paraneoplas dan neoplastik di dalam servik uteri. Kanker pada sel hepar yang disebabkan virus hepatitis B (HBV) (Velde *et al.* 1996). *Rous Sarcoma Virus* (RSV) dapat menyebabkan kanker pada ayam, leukimia pada burung dan mamalia, *Mork Disease Virus* (MPV) menyebabkan limphoma pada ayam (Mulyadi 1997).

## F. Kanker Payudara

### 1. Definisi kanker payudara

Kanker payudara adalah tumor ganas yang terjadi pada sel payudara, dapat berkembang dan menginvasi jaringan sekitarnya atau bermetastastasis jauh ke bagian tubuh yang lain. Kanker ini umum terjadi pada wanita tetapi pria dapat terkena juga (ACS 2015).

Kanker payudara terdapat pada sel epitel sehingga dikelompokkan sebagai karsinoma (keganasan tumor epitelial). Kanker payudara umumnya berupa *ductal breast cancer* yang invasif dalam pertumbuhan singkat. Sel kanker payudara dapat tumbuh menjadi benjolan sebesar 1 cm<sup>2</sup> dalam kurung waktu 8-12 tahun (Tambunan 2003). Sebagai besar (70%) ditandai dengan adanya gumpalan yang terasa sakit pada payudara dan juga rasa panas pada jaringan payudara (Lindley & Michaud 2005).

Secara keseluruhan, payudara terdiri dari jaringan lemak, jaringan konektif (penghubung), pembuluh darah, nodus limfa, lobus dan lobules yang berfungsi memproduksi susu serta *ductus lactiferous* yang berfungsi sebagai saluran tempat susu mengalir menuju puting. Kanker payudara dapat muncul di seluruh bagian payudara tanpa terkecuali. Sebagian besar kanker payudara muncul dari sel-sel yang melapisi ductus, sehingga disebut juga dengan kanker ductal. Sebagian

lainnya muncul pada lobus dan lobules, disebut dengan kanker lobular (Ellis 2003).

## **2. Tanda-tanda kanker payudara**

Payudara yang terserang kanker akan mengalami erosi, retraksi, penyusutan atau pembesaran ukuran, timbul kemerahan, rasa gatal dan pembekakan pada puting. Pada kasus yang lebih berat dapat terjadi edema pada kulit dan rasa panas pada jaringan payudara (Lindley & Michaud 2005).

Kanker payudara juga dapat dideteksi melalui ada atau tidaknya benjolan pada area payudara, meskipun tidak semua benjolan pada payudara adalah kanker. Benjolan ini biasanya akan terasa sakit, bertekstur keras, padat, tidak beraturan dan tidak berpindah. Dalam kurun waktu 8-12 tahun, benjolan yang merupakan tumor ganas (kanker) ini dapat tumbuh sebesar 1-2 cm (Tambunan & Lukito 2007).

## **3. Faktor penyebab kanker payudara**

Terdapat faktor-faktor yang menyebabkan terjadinya kanker payudara :

**3.1 Faktor genetik.** Faktor genetik berpengaruh dalam peningkatan terjadinya kanker. Ada faktor turunan pada suatu keluarga yang terkena kanker payudara. Kelainan ini terdapat di lokus kecil di kromosom 17q21 pada kanker payudara yang timbul saat usia muda (Depkes 2009).

**3.2 Estrogen.** Dapat menyebabkan kanker dengan 2 cara yaitu efek genotoksik metabolit estrogen melalui generasi radikal (inisiasi) dan menginduksi proliferasi sel (promotor). Kerja estrogen dalam menyebabkan kanker dipengaruhi oleh ER (reseptor estrogen). Estrogen akan mengikat ER saat masuk ke dalam sel. Kompleks ini akan berpindah ke nukleus dan mempengaruhi produksi protein transkripsi yang memicu perubahan dalam sel (Yager & Davidson 2006).

**3.3 Hormon.** Kelebihan atau ketidakseimbangan hormon estrogen endogen terlihat pada kanker payudara. Faktor resikonya antara lain masa reproduksi yang lama dan melahirkan anak diusia tua akan meningkatkan estrogen pada siklus menstruasi. Hal tersebut lebih berperan sebagai promotor daripada inisiator. Resiko yang berhubungan dengan obesitas dan kemampuan sel lemak

mensintesis estrogen atau perubahan kadar hormon seks yang mengikat protein (Depkes 2009).

**3.4 Faktor lingkungan dan gaya hidup.** Lingkungan dapat menyebabkan kanker payudara diantaranya yaitu konsumsi alkohol, diet tinggi lemak dan infeksi virus. Hal tersebut dapat mempengaruhi onkogen dan gen supresi tumor dari kanker payudara (Depkes 2009).

#### **4. Tipe-tipe kanker payudara**

Kanker payudara dapat dibagi ke dalam kelompok yang berbeda berdasarkan penampakannya di bawah mikroskop.

**4.1 *Invasive ductal carcinoma (IDC)*.** Bermula dari ductus payudara, menjalar keluar dari dinding duktus, dan berkembang sampai ke jaringan lemak payudara. Kanker ini dapat bermetastasis ke bagian tubuh lain melalui sistem limfatik atau pembuluh darah. Jenis kanker ini banyak diderita oleh pasien kanker payudara (ACS 2015).

**4.2 *Invasive lobular carcinoma (ILC)*.** Bermula dari kelenjar susu atau lobus dan dapat bermetastasis ke bagian tubuh lainnya sehingga sulit untuk dideteksi daripada *invasive ductal carcinoma* (ACS 2015).

**4.3 *Ductal carcinoma in situ (DCIS)*.** Dikenal dengan karsinoma intraduktal adalah non invasif dan pra-invasif kanker payudara. Kanker ini tidak menyebar ke jaringan di luar payudara. Jenis kanker ini dapat berkembang menjadi kanker invasif (ACS 2015).

**4.4 *Inflammatory breast cancer (IBC)*.** IBC merupakan tipe yang jarang ditemui dari kanker invasif. Pada penderita IBC, tidak ditemui benjolan tunggal atau tumor. Akan tetapi kulit payudara terlihat merah, lebih tebal dan terasa hangat (ACS 2015).

### **G. Obat Antikanker**

Penyakit kanker memiliki bermacam-macam metode terapi, seperti operasi, radioterapi, kemoterapi, hormonoterapi, imunoterapi, bioterapi, dan terapi lain-lain (Sukardja 2000). Klasifikasi obat antikanker umumnya didasarkan atas

cara kerja obat di dalam siklus pertumbuhan sel. Berikut klasifikasi obat antikanker yaitu :

### **1. Alkilasi.**

Senyawa yang mempunyai mekanisme menunjukkan terjadinya alkilasi. Obat-obat tersebut adalah prokarzabin, dekarzabin, altretamin (heksametilmelamin), dan cisplatin (Katzung 1997). Senyawa ini memiliki efek samping yaitu efek toksik serius pada ginjal, sumsum tulang dan telinga (Martindale 2009).

### **2. Antimetabolit.**

Penggunaannya sebagai obat kanker didasarkan atas kenyataan bahwa metabolisme purin dan pirimidin lebih tinggi pada sel kanker daripada sel normal (Nafrialdi & Gan 2012). Penggunaan obat ini dapat mengakibatkan efek samping berupa depresi sumsum tulang dapat terjadi tiba-tiba, dan leukopenia, trombositopenia dan anemia (Martindale 2009).

### **3. Produk alamiah.**

Berbagai obat yang berasal dari alam (tumbuhan dan hewan) digunakan sebagai antikanker, antara lain alkaloid vinka, taksan, epipodofilotoksin, dan kamptotesin (Nafrialdi & Gan 2012). Efek samping obat ini adalah cedera tendon dalam, gangguan fungsi motoric pada pergelangan tangan juga kaki, ataksia dan kelainan gaya berjalan (Martindale 2009).

### **4. Antibiotik.**

Obat antibiotik yang ada sekarang merupakan hasil dari berbagai jamur tanah *Streptomyces*, termasuk diantaranya antrasiklin, aktinomisin, bleomisin, mitomisin, dan plikamisin (Katzung 1997). Obat ini memiliki efek samping yaitu neutropenia diikuti oleh septicemia dan dapat mengakibatkan kelahiran premature pada ibu hamil (Martindale 2009).

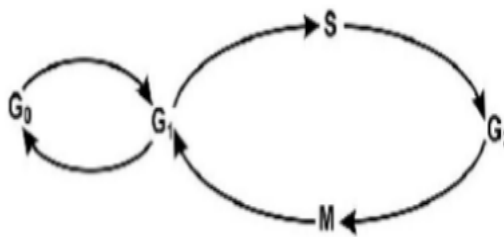
### **5. Hormon dan antagonis.**

Berbagai hormone steroid digunakan pada pengobatan kanker, antara lain kortikosteroid (prednisone), hormone progestin (hidroksi progesterone kaproat), estrogen (megestrol asetat), dan androgen (testosterone propionate). Hormone-hormon tersebut biasanya digunakan untuk tumor endometrium, payudara,

prostat, dan limfoma (Nafrialdi & Gan 2012). Efek samping pengobatan ini diantaranya gangguan gastrointestinal seperti mual atau muntah, sakit kepala, nyeri payudara, dan perubahan libido. Ketidakteraturan menstruasi seperti bercak, perdarahan dapat terjadi selama pengobatan (Martindale 2009).

## H. Siklus Sel

Siklus sel merupakan proses vital dalam kehidupan setiap organisme. Secara normal, siklus sel menghasilkan pembelahan sel. Secara umum, pembelahan sel terbagi menjadi 2 tahap, yaitu mitosis (M) (pembelahan 1 sel menjadi 2 sel) dan interfase (proses di antara 2 mitosis). Regulasi sel kanker yang sedang membelah sama dengan siklus sel normal, terdapat dalam 4 fase yaitu :



Gambar 1. Siklus Sel (Nafrialdi & Gan 1995).

### 1. Fase-G1 (*growth phase-1/ Pasca Mitosis*).

fase ini merupakan interval antara akhir dari fase-M dan permulaan replikasi DNA. Pada fase ini dipersiapkan suatu interval dalam proses pembelahan sel dan dimulai dengan sintesis asam deoksiribonukleat (DNA) (Mulyadi 1997). Pada fase G1 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 ke fase G0 (Sukardja 2000).

### 2. Fase-S.

Fase ini merupakan saat terjadinya replikasi asam desoksiribonukleat (DNA) dengan bantuan enzim DNA-polimerase, dengan dibentuknya DNA baru maka rantai tunggal DNA menjadi rantai ganda. Selama fase S juga berlangsung perbaikan DNA yang dapat mencegah berkembangnya generasi kanker. Fase ini dapat berlangsung sekitar 6-8 jam (Mulyadi 1997).

### 3. Fase-G2 (*Growth phase-2/Pra Mitosis*).

Fase-G2 merupakan fase pertumbuhan pasca sintesis. 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. Disini kromosom sudah ada dalam bentuk kromatida (Nafriadi & Gan 2007).

### 4. Fase M (*Mitotic phase/Mitosis*).

Proses mitosis terjadi pengurangan sintesis dan RNA secara tiba-tiba, berlangsung pemisahan sel menjadi dua sel anakan dengan sifat dan karakteristik yang sama dengan sel induknya (Nafriadi & Gan 2007). Berdasarkan morfologinya proses ini dapat dibagi menjadi 4 subfase, yaitu profase, metafase, anafase dan telofase. Fase ini berlangsung sekitar 30-60 menit (Mulyadi 1997).

## I. Sel MCF-7

Sel MCF-7 menggunakan media kultur DMEM, sifatnya resisten terhadap doxorubicin, mengekspresikan *Bcl-2* berlebih akan tetapi tidak mengekspresikan *caspase 3* (Adjo *et al.* 2012).

Sel *Michigan Cancer Foundation-7* (MCF-7) merupakan salah satu model sel kanker payudara yang banyak digunakan dalam penelitian. Sel ini diisolasi pertama kali pada tahun 1970 diambil dari jaringan payudara *malignant adenocarcinoma* seorang wanita Kaukasian berumur 69 tahun golongan darah O dengan Rh positif. Sel MCF-7 merupakan sel yang menyerupai sel epitel yang tumbuh secara *monolayer* dan diambil dari tempat efusi pleural metastasis kanker payudara pada penelitian kanker payudara. Biakan sel MCF-7 memiliki beberapa karakteristik pada epitel mamalia yang berbeda termasuk dalam kemampuannya untuk memproduksi estradiol via reseptor sitoplasma dan kesanggupannya untuk membentuk *dome*. Sel MCF-7 adalah sel yang umum digunakan untuk menguji efek kanker payudara *in vitro* karena bentuknya terbaik dari semua jenis sel kanker payudara manusia (Widowati & Mudahar 2009).

Sel MCF-7 ditumbuhkan dalam media penumbuh DMEM yang mengandung *fetal bovine serum* (FBS) 10% dan antibiotik Penicilin-Streptomycin

1% (Meiyanto *et al.* 2008). Media DMEM adalah penumbuh sel MCF-7. Sel MCF-7 merupakan sel kanker payudara yang mempunyai karakteristik yang mirip dengan Hep G2, dimana sel kanker ini mengekspresikan wild type p53 (Fitria *et al.* 2011).

Sel MCF-7 memiliki karakteristik antara lain resisten terhadap doxorubicin, tidak mengekspresikan *caspase-3*, sel MCF-7 dapat mengalami apoptosis melalui aktivitas berurutan caspases-9, -7, dan -6, mengekspresikan reseptor estrogen (ER +), over ekspresi Bcl-2, sel MCF-7 ekspresi rendah terhadap P55 (TNFRI). Sel MCF-7 menginduksi apoptosis melalui TNF $\alpha$ , mengekspresikan reseptor estrogen alfa (ER- $\alpha$ ) (Simstein *et al.* 2013).

## J. Sel Vero

Sel vero berasal dari ginjal normal adult *African green monkey* (*Cercopithecus aethiops*). Monyet ini merupakan salah satu jenis mamalia yang digunakan dalam penelitian biologi molekuler dan mikrobiologi. Sel vero juga digunakan untuk mengetahui pengaruh suatu zat, toksin maupun bahan kimia terhadap sel mamalia secara molekuler. Penggunaan sel vero salah satunya untuk pembuatan vaksin dan virus seperti virus Rabies, Reovirus, dan *Japanese encephalitis virus*. Kultur sel vero umumnya menggunakan media M199 dan diinkubasi pada suhu 37 °C pada incubator CO<sub>2</sub> 5% (Ammerman *et al.* 2008).

Sel vero memiliki jumlah interferon yang lebih sedikit dibandingkan dengan sel mammalia normal. Sel ini saat diinfeksi oleh virus, tidak lagi mensekresi interferon tipe 1. Kekurangan interferon pada sel vero membuat sel ini sangat sensitif jika terinfeksi oleh berbagai jenis virus. Walaupun jumlah interferon sangat sedikit, sel ini masih memiliki reseptor interferon alfa dan beta sehingga mereka masih mampu merespon secara normal ketika interferon dari sumber lain ditambahkan ke dalam kultur sel (Goncalves *et al.* 2006).

Sel vero pada penelitian dapat digunakan untuk mempelajari pertumbuhan sel, diferensiasi sel, sitotoksitas dan transformasi sel yang diinduksi oleh berbagai senyawa kimia. Adanya sel vero memudahkan dalam mempelajari perubahan sel yang meliputi pertumbuhan dan morfologinya akibat induksi



berbagai senyawa kimia dan sel vero biasa direkomendasikan sebagai sel model dalam mempelajari karsinogenesis secara *in vitro* (Goncalves *et al.* 2006).

### K. Uji Sitotoksik

Sitotoksik merupakan kematian sel oleh komponen-komponen kimia atau mediator sel. Sitotoksik biasa digunakan sebagai pedoman di dalam laboratorium untuk mendeteksi kematian sel, tanpa melihat mekanismenya. Aktivitas sitotoksik merupakan proses penting dalam membunuh sel-sel kanker (Wyllie 2010). Sitotoksik merupakan sifat toksik suatu agen kimia terhadap sel kanker yang diuji secara *in vitro*. Sifat toksik ini jika diujikan terhadap sel kanker secara *in vitro* maka agen kimia tersebut dikatakan memiliki aktivitas antitumor. Sementara itu, istilah antikanker digunakan untuk material yang memiliki sifat toksik terhadap sel kanker yang di uji secara klinis terhadap manusia (Itharat 2007).

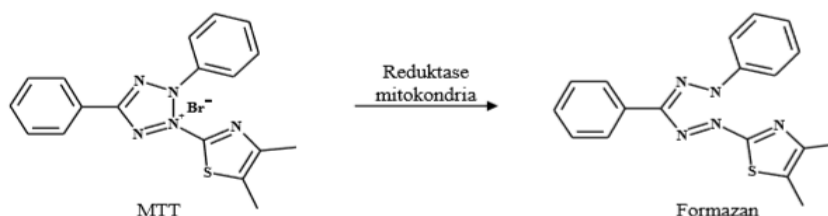
Uji sitotoksik adalah kemampuan sel untuk bertahan hidup karena adanya senyawa toksik. Kemampuan sel untuk bertahan hidup dapat diartikan sebagai adanya metabolit atau proliferasi yang dapat diukur dari bertambahnya jumlah sel, naiknya jumlah protein atau DNA yang di sintesis (Wilson 2000). Dua metode umum yang digunakan untuk uji sitotoksik adalah metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan biru trepan (*trypan blue*) dan metode MTT (*Microculture Tetrazolium Technique*).

Uji sitotoksik digunakan untuk menentukan parameter nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel (Meiyanto *et al.* 2003). Nilai  $IC_{50}$  dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar nilai  $IC_{50}$  senyawa tersebut semakin tidak toksik (Levrero *et al.* 2000). Ekstrak yang memiliki nilai  $IC_{50}$  dibawah 100  $\mu\text{g/ml}$  memiliki efek sitotoksik yang poten (Ueda *et al.* 2002) dan suatu zat dikatakan tidak toksik bila nilai  $IC_{50} > 1.000\mu\text{g/ml}$  (Omoregie *et al.* 2012). Akhir dari uji sitotoksik dapat memberikan informasi berupa persen sel yang mampu bertahan hidup, sedangkan

pada organ target memberikan informasi langsung tentang pertumbuhan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Doyle & Griffiths 2000).

## L. Metode MTT

Antikanker dapat dilakukan dengan uji MTT yang merupakan salah satu metode yang digunakan dalam uji sitotoksik. Metode MTT (*Microculture Tetrazolium*) merupakan metode kalorimetri, reagen MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolim bromide) ialah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium yang diadsorbsi dan dipecah menjadi kristal formazan oleh sistem suksinat tetrazolium reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria yang aktif pada sel yang masih hidup. Kristal formazan ini memberikan warna ungu yang dapat dibaca absorbansinya (Pamilih 2009).



**Gambar 2. Reduksi MTT menjadi Formazen (Wijaya et al. 2013)**

Absorbansi larutan berwarna ini kemudian dapat diukur menggunakan *Enzym-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) *reader* pada panjang gelombang antara 500 nm dan 600 nm, yang mana semakin besar absorbansinya maka menunjukkan semakin banyak jumlah sel yang hidup (Meiyanto *et al.* 1999).

Uji sitotoksik ini digunakan untuk menentukan nilai  $IC_{50}$  (*Inhibitory Concentration*). Kemampuan antikanker suatu ekstrak dan fraksi tanaman dapat dilihat dari nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menyatakan besar konsentrasi suatu ekstrak atau perlakuan yang diperlukan untuk menghambat viabilitas sel sebesar 50% dari jumlah keseluruhan sel yang di beri perlakuan. Nilai  $IC_{50}$  berbanding terbalik dengan kemampuan antikanker dari suatu senyawa. Jika nilai  $IC_{50}$  semakin rendah, maka kemampuan suatu senyawa sebagai zat antikanker semakin tinggi (Prayong *et al.* 2008).

Hal-hal yang dapat mempengaruhi data hasil uji sitotoksik menggunakan metode MTT, antara lain yaitu : waktu inkubasi, konsentrasi MTT, jumlah sel

yang hidup (kemampuan metabolisme sel) (Basmal *et al.* 2009). Sitotoksik suatu bahan berdasarkan nilai  $IC_{50}$  dapat digolongkan menjadi 3, yaitu : sitotoksik potensial ( $IC_{50} < 100\mu g/mL$ ), sitotoksik moderat ( $100\mu g/mL < IC_{50} < 1000\mu g/mL$ ) dan tidak toksik ( $IC_{50} > 1000\mu g/mL$ ) (Prayong *et al.* 2008).

Metode MTT memiliki keuntungan yaitu lebih sensitif, cepat dan akurat dibandingkan dengan metode perhitungan langsung serta tidak menggunakan isotop radioaktif. Metode MTT juga memiliki kekurangan yaitu dipengaruhi oleh keadaan fisiologi sel dan variasi aktivitas dehidrogenase mitokondria dalam tipe sel yang berbeda (Doyle & Griffiths 2000).

### **M. Uji Indeks Selektivitas**

Uji pada penelitian ini digunakan sebagai indeks selektivitas sitotoksik (tingkat keamanan) dari ekstrak dan fraksi terhadap sel normal, yakni toksik terhadap sel kanker maupun tidak toksik terhadap sel normal (Furqan 2014).

Nilai indeks selektivitas diperoleh dengan menggunakan metode MTT dari rasio  $IC_{50}$  sel vero dibandingkan dengan  $IC_{50}$  sel kanker yang diuji. Apabila indeks selektivitas lebih tinggi dari 3 ( $>3$ ) menunjukkan bahwa obat atau ekstrak memiliki selektivitas yang tinggi dan kurang dari 3 ( $<3$ ) dianggap dapat memberi toksisitas umum dan juga menyebabkan sitotoksitas pada sel normal (Sutejo *et al.* 2016).

### **N. Landasan Teori**

Kanker payudara adalah suatu penyakit dimana terjadi pertumbuhan berlebihan atau perkembangan tidak terkontrol dari sel-sel jaringan payudara. Kanker payudara merupakan jenis kanker yang sering ditemui pada wanita di dunia, meliputi 16% dari semua jenis kanker yang diderita oleh wanita (Budiman *et al.* 2013). Tingkat kejadian kanker payudara meningkat pesat di negara-negara berkembang. Ada beberapa macam terapi digunakan untuk pengobatan kanker, yaitu pemberian kemoterapi atau obat anti kanker diantaranya yaitu golongan alkilator, antimetabolit, antibiotik, hormon dan isotop radioaktif (Siswandono & Soekardjo 2000). Namun terapi tersebut dapat menimbulkan efek samping yang

besar. Salah satu alternatif pengobatan kanker payudara yaitu dengan penggunaan tanaman obat.

Daun jambu biji memiliki khasiat yang beragam sebagai antioksidan, antidiare, anti inflamasi, anti mutagenik, anti mikroba dan analgesik. Daun jambu biji merupakan salah satu tanaman yang telah diteliti mempunyai efek sitotoksik dan mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Aktivitas antikanker suatu tanaman dapat dievaluasi dari efek sitotoksiknya secara *in vitro* pada sel kanker. Hasil penelitian Correa *et al.* 2016 menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu biji mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, terpenoid, karbohidrat, polifenol, glikosida, steroid, dan triterpenoid. Steroid telah banyak diuji aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan sel kanker. Steroid dapat bekerja pada penghambatan ekspresi protein Bcl-2, yang merupakan protein anti apoptosis sehingga proses apoptosis dapat terjadi pada sel kanker payudara (Fitri *et al.* 2011). Pada penelitian Fitri *et al.* (2011) ekstrak etanol herba ciplukan terhadap sel MCF-7 mengandung steroid melalui penghambatan Bcl-2 serta peningkatan ekspresi p53. Pada penelitian Putram *et al.* (2017) fraksi teraktif teripang terhadap sel MCF-7 yaitu fraksi n-heksana mengandung steroid melalui menghambat mekanisme pembelahan dan memicu apoptosis.

Uji sitotoksik merupakan suatu uji *in vitro* menggunakan kultur sel untuk mengetahui apakah senyawa atau ekstrak berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antikanker dengan efek samping yang rendah. Sitotoksik suatu bahan berdasarkan nilai  $IC_{50}$  dapat digolongkan menjadi 3, yaitu : sitotoksik potensial ( $IC_{50} < 100\mu g/mL$ ), sitotoksik moderat ( $100\mu g/mL < IC_{50} < 1000\mu g/mL$ ) dan tidak toksik ( $IC_{50} > 1000\mu g/mL$ ) (Prayong *et al.* 2008).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air daun jambu biji terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan metode MTT. Digunakan metode MTT pada kultur sel kanker payudara MCF-7 yang ditunjukkan dengan parameter  $IC_{50}$ , indeks selektivitas sel vero, golongan senyawa kimia yang diduga berperan dalam aktivitas sitotoksik serta fraksi teraktif.

### **O. Hipotesa**

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

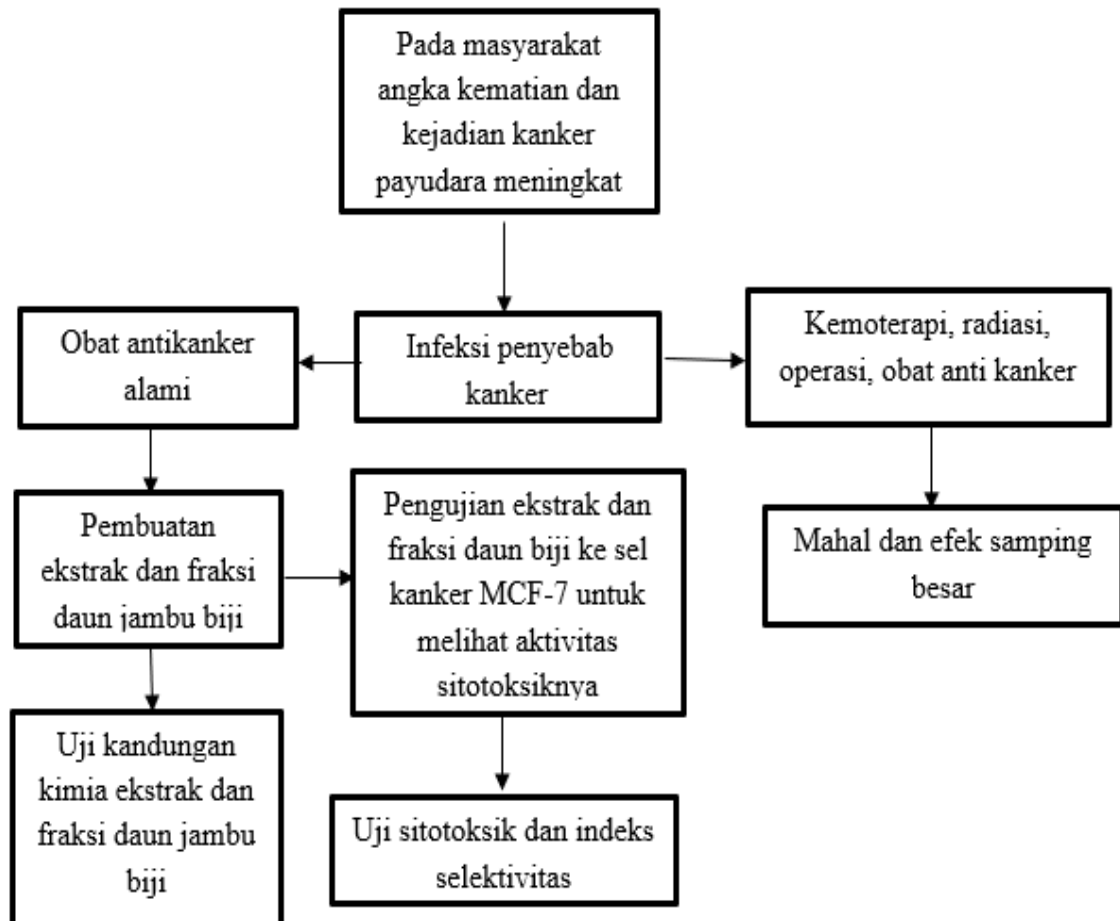
Pertama, ekstrak dan fraksi-fraksi daun jambu biji memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai  $IC_{50} < 100 \mu\text{g/ml}$ .

Kedua, nilai indeks selektivitas ekstrak dan fraksi-fraksi daun jambu biji terhadap sel Vero lebih besar dari 3.

Ketiga, golongan senyawa kimia dalam daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang diduga berperan dalam aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 yaitu steroid.

Keempat, fraksi teraktif dari daun jambu biji yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 yaitu fraksi n-heksana.

## P. Kerangka Pikir Penelitian



Gambar 3. Kerangka Pikir Penelitian