

sebagai agen pendamping kemoterapi. Tujuannya adalah untuk meningkatkan sensitifitas sel kanker serta mengurangi efek yang ditimbulkan oleh agen kemoterapi. Hal tersebut mendorong dilakukannya berbagai penelitian untuk menemukan bahan aktif baru yang alami dan lebih aman (efek samping minimum) (Miranti dkk, 2014).

Tanaman gaharu adalah salah satu jenis tanaman yang sering dimanfaatkan sebagai dupa untuk upacara keagamaan, parfum, hiasan dan komponen pengobatan tradisional (Shoebm *et al.*, 2010). Berdasarkan pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa Ekstrak etanol daun gaharu (*Aquilaria malacensis* Lam) dilaporkan mengandung antioksidan dengan IC_{50} sebesar 25,71 $\mu\text{g/ml}$. (Ridwanti, 2017).

Pada penelitian yang dilakukan Reza dkk (2015) hasil pemeriksaan aktivitas antioksidan diperoleh hasil ekstrak etanol daun gaharu memiliki IC_{50} sebesar 27,83 $\mu\text{g/ml}$. Aktivitas antioksidan merupakan salah satu parameter awal yang menunjukkan kemungkinan tanaman dapat dieksplorasi potensinya sebagai antibiotik baik untuk anti kanker (Wil *et al.*, 2014).

Pada penelitian yang dilakukan Mega dan Swastini (2010), ekstrak metanol daun gaharu (*Gyrinops versteegii*) mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan senyawa fenolik. Senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas sebagai antikanker. Menurut Dewi (2013), ekstrak metanol daun gaharu jenis *Aquilaria microcarpa* Papua dan Gorontalo memiliki nilai

konsentrasi mematikan 50% (LC_{50}) $<30 \mu\text{g/mL}$. Suatu bahan atau ekstrak memiliki aktivitas sangat toksik apabila nilai LC_{50} -nya $<20 \mu\text{g/mL}$ (National Cancer Institute, 2001) Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan menentukan aktivitas sitotoksik pada ekstrak daun gaharu.

I.2 Rumusan Masalah

Apakah pada ekstrak etanol, fraksi methanol-air, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun gaharu (*Aquilaria malacensis*) mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara (MCF-7)

I.3 Batasan Masalah

Pada penelitian ini dibatasi hanya pada aktivitas sitotoksik daun gaharu (*Aquilaria malacensis*) Terhadap sel kanker payudara (MCF-7) dengan metode MTT assay.

I.4 Tujuan Penelitian

Mengetahui aktivitas sitotoksik daun gaharu (*Aquilaria malacensis*) terhadap sel kanker payudara (MCF-7) dan Menentukan kadar IC_{50} yang terkandung pada ekstrak etanol, fraksi methanol-air, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun gaharu (*Aquilaria malacensis*).

I.1 Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi informasi gambaran mengenai potensi aktivitas sitotoksitas yang diperoleh dari metabolit sekunder yang terdapat dalam daun gaharu (*Aquilaria malacensis*). sehingga dapat dikembangkan menjadi obat anti kanker kedepannya.

I.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari – Mei 2019 di laboratorium mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung JL. Soekarno Hatta No. 754 Bandung dan di laboratorium Rumah Sakit Pendidikan Universitas Padjadjaran JL. Professor Eyckman No. 38 Bandung.

Bab II Tinjauan Pustaka

II.1 Daun Gaharu

Tanaman Gaharu (*Aquilaria malaccensis*)

Tanaman gaharu (*Aquilaria malacensis*) memiliki nama lain seperti agarwood, eaglewood atau aleowood merupakan tanaman yang terkenal akan resin aromatiknya. Tanaman ini tersebar secara alami di beberapa negara seperti Cina (Hongkong, Hainan), Pakistan, Iran, India, Nepal, Bhutan, Bangladesh, Sri-Lanka, Kamboja, Vietnam, Laos, Thailand, Indonesia, Myanmar, Malaysia, Singapura dan Filipina (Kamonwannasit, 2013). Menurut Khalil dkk. (2013), spesies *Aquilaria* telah beradaptasi untuk hidup di berbagai habitat seperti habitat yang berbatu, berpasir atau berkapur, lereng kering, pegunungan dan tanah yang berada di dekat rawa. Spesies ini biasanya tumbuh pada ketinggian 0-850 meter dengan rata-rata suhu harian 20-22 °C.

Tanaman ini merupakan tanaman yang dapat tumbuh tinggi hingga 15-30 meter dengan diameter batang 1,5-2,5 meter dan memiliki bunga yang berwarna putih. Daun dari tanaman ini memiliki panjang 5-11 cm dan lebar 2-4 cm. Menurut Sitepu dkk. (2011), bunga dari tanaman gaharu (*Aquilaria malacensis*) bersifat hermaphrodit dengan panjang hingga 5 mm, memiliki aroma yang harum dan warna hijau kekuningan atau putih. Buah gaharu memiliki warna hijau, bentuk bulat telur dan permukaan yang kasar dengan bulu-bulu halus, panjang 3-4 cm dan lebar 2-2,5 cm.

Taksonomi gaharu (*Aquilaria malaccensis*) menurut Susetya (2014) adalah sebagai berikut:



Gambar II.1 Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lam.)
(MPBD, 2014)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Sub Kelas	: Dialypetalae
Ordo	: Myrtales
Famili	: Thymeleaceae
Genus	: <i>Aquilaria</i>
Species	: <i>A. malaccensis</i> Lam.

II.1.1 Kandungan fitokimia

Beberapa senyawa bioaktif pada daun gaharu seperti alkaloid, triterpenoid, flavonoid, saponin, dan tanin. Menurut khalil dkk. (2013)

1. Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang paling banyak ditemukan di alam. Hampir semua senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas pada berbagai jenis tumbuhan (Lenny, 2006). Menurut Widodo (2007), sebagian alkaloid banyak terdapat pada tumbuhan dikotil sedangkan sebagian lainnya terdapat pada tumbuhan monokotil dan pteridofita. Menurut Hartati (2010), kebanyakan senyawa alkaloid berupa padatan kristal dengan titik lebur pada kisaran 87-238 °C atau mempunyai kisaran dekomposisi, namun alkaloid dapat juga berbentuk cair dan tidak memiliki warna. Pada umumnya senyawa alkaloid hanya larut dalam pelarut organik dan umumnya bersifat basa. Oleh karena kebiasaan pada alkaloid menyebabkan senyawa ini mudah mengalami dekomposisi terutama oleh panas dan sinar dengan adanya oksigen. Menurut Saifudin (2014), alkaloid memiliki sifat fisiko-kimia yang bersifat semi-polar.

Beberapa alkaloid dilaporkan memiliki sifat beracun, namun ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan. Beberapa alkaloid dapat digunakan sebagai antimalaria, analgesik, dan bakterisida (Lenny, 2006, Khalil dkk., 2013). Menurut Rijayanti (2014), mekanisme kerja alkaloid sebagai antibakteri yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada sel tersebut.

2. Flavonoid

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang banyak tersebar pada tumbuh-tumbuhan di alam. Senyawa ini merupakan zat yang berwarna merah, ungu, biru dan kuning (Lenny, 2006). Flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Pelarut polar seperti etanol, metanol, etilasetat atau campuran dari larutan tersebut dapat digunakan untuk mengesktrak flavonoid dari jaringan tumbuhan (Rijke, 2005).

Menurut Parubak (2013), senyawa flavonoid berpotensi sebagai senyawa antibiotik, antibakteri, dan antikanker. Senyawa flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan. Oleh karena itu, senyawa ini efektif sebagai senyawa antimikroba terhadap sejumlah mikroorganisme. Menurut Rijayanti (2014), mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi.

3. Saponin

Menurut Harborne (1987) dan Simaremare (2014), saponin adalah glikosida triterpen dan sterol yang telah terdeteksi dalam lebih dari 90 suku tumbuhan. Adanya ikatan glikosida pada saponin menyebabkan senyawa ini cenderung bersifat polar. Menurut Rustaman dkk. (2000), saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang dapat menurunkan tegangan permukaan dan bersifat seperti sabun, serta dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis sel darah. Turunnya tegangan permukaan pada dinding sel bakteri akan menyebabkan rusaknya permeabilitas membran sehingga akan

mengganggu kelangsungan hidup bakteri. Menurut Prihatman (2001), saponin merupakan salah satu metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologi diantaranya bersifat sebagai antimikroba. Menurut Irwan dkk. (2007), senyawa saponin terdiri dari gugus gula (polar) dan aglikon (nonpolar).

4. Tanin

Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman. Tanin tergolong dalam senyawa polifenol yang karakteristiknya dapat membentuk senyawa kompleks dengan makromolekul lainnya. Tanin dapat terbagi menjadi dua kelompok yaitu tanin yang mudah terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin yang mudah terhidrolisis adalah polimer gallic atau ellagic acid yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi adalah polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon (Jayanegara dan Sofyan, 2008).

Menurut Septiana dan Asnani (2012), senyawa tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang cenderung bersifat polar. Menurut penelitian Ngajow dkk. (2013), didapatkan bahwa senyawa tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme kerja menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Selain itu, tanin juga mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini akan menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati.

II.2 Ekstraksi

Menurut Harborne (1987), ekstraksi adalah proses penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman, hewan serta beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Tujuan dari ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik kandungan komponen kimia yang terkandung dalam bahan alam. Proses ekstraksi dilakukan berdasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut. Perpindahan mulai terjadi pada lapisan antarmuka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut.

Menurut Mukhriani (2014), salah satu metode yang digunakan untuk penemuan obat tradisional adalah metode ekstraksi. Metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Terdapat beberapa metode ekstraksi yang sering dilakukan yaitu ekstraksi secara panas (metode refluks dan penyulingan uap air) dan ekstraksi secara dingin (metode maserasi, perkolasi dan alat soxhlet) . Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi.

Menurut Mukhriani (2014), maserasi adalah cara ekstraksi sederhana untuk mengekstrak simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan pelarut. Prinsip dari metode maserasi adalah mengekstraksi komponen yang terkandung di dalam simplisia dan dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan pelarut yang sesuai pada suhu kamar (20-25°C) dan terlindungi dari cahaya matahari. Ketika cairan pelarut masuk ke dalam sel, isi sel akan larut ke dalam pelarut, keadaan tersebut dapat terjadi karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel.

Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan pelarut dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa ini berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

Metode maserasi memiliki beberapa kelebihan seperti, metodenya sederhana, alatnya sederhana, relatif murah dan kerusakan pada komponen kimia dapat dihindari karena tidak menggunakan panas pada prosesnya. Namun, metode maserasi juga memiliki beberapa kekurangan seperti, membutuhkan waktu yang relatif lebih lama dibandingkan metode ekstraksi lain, penggunaan pelarut yang relatif banyak dan proses ekstraksi yang kurang sempurna (Meloan, 1999).

II.3 Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan dan pemurnian untuk mendapatkan kandungan senyawa tertentu (Depkes, 2000). Fraksinasi dapat dilakukan dengan beberapa cara diantaranya dengan metode (ECC) ekstraksi cair-cair, (KCV) kromatografi cair vakum, (KK) kromatografi kolom (Atun 2014).

Ekstraksi cair-cair (ECC)

Ekstraksi cair-cair merupakan suatu pemisahan komponen kimia diantara dua fase pelarut yang tidak dapat saling bercampur dimana sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagiannya lagi larut pada fase kedua. Kedua fase yang mengandung zat terdispersi dikocok, lalu didiamkan sampai terjadi pemisahan sempurna dan terbentuk dua lapisan fase zat cair. Komponen kimia akan terpisah ke

dalam dua fasa tersebut sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap (Sudjadi, 1986).

II.4 Kanker

Kanker adalah penyakit yang timbul akibat pertumbuhan tidak normal sel jaringan tubuh yang berubah menjadi sel kanker, sedangkan tumor adalah kondisi dimana pertumbuhan sel tidak normal sehingga membentuk suatu lesi atau dalam banyak kasus, benjolan di tubuh (KemenKes RI, 2015).

Berdasarkan *Pathological Based Registration* di Indonesia, Kanker payudara menempati urutan pertama dengan frekuensi relatif sebesar 18,6%. (Data Kanker di Indonesia Tahun 2010, menurut data Histopatologik ; Badan Registrasi Kanker Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Indonesia (IAPI) dan Yayasan Kanker Indonesia (YKI)). Diperkirakan angka kejadiannya di Indonesia adalah 12/100.000 wanita, sedangkan di Amerika adalah sekitar 92/100.000 wanita dengan mortalitas yang cukup tinggi yaitu 27/100.000 atau 18 % dari kematian yang dijumpai pada wanita. Penyakit ini juga dapat diderita pada laki - laki dengan frekuensi sekitar 1%. Di Indonesia, lebih dari 80% kasus ditemukan berada pada stadium yang lanjut, dimana upaya pengobatan sulit dilakukan. Oleh karena itu perlu pemahaman tentang upaya pencegahan, diagnosis dini, pengobatan kuratif maupun paliatif serta upaya rehabilitasi yang baik, agar pelayanan pada penderita dapat dilakukan secara optimal. (Komite Nasional Penanggulangan Kanker, 2015).

II.5 MTT Assay

MTT [3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide] merupakan salah satu metode untuk menilai sitotoksitas suatu bahan. Dasar uji enzimatik MTT adalah mengukur kemampuan sel hidup berdasarkan aktivitas mitokondria dari kultur sel (Meizarini dkk, 2005).

MTT adalah molekul larut berwarna kuning, yang dapat digunakan untuk menilai aktifitas enzimatik selular, didasarkan pada kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam MTT. Adapun prinsip metode MTT adalah reaksi redoks yang terjadi di dalam sel. Garam tetrazolium berwarna kuning akan direduksi di dalam sel yang mempunyai aktifitas metabolik. Mitokondria dari sel hidup yang berperan penting dalam hal ini, adalah yang menghasilkan enzim suksinat dehidrogenase. Bila enzim suksinat dehidrogenase tidak aktif karena efek sitotoksik, maka formazan tidak akan terbentuk. Jumlah formazan yang terbentuk (berwarna ungu) , proporsional dengan aktifitas enzimatik (Kasugai dkk, 1991). Jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak (viabilitas sel tinggi) (CCRC, 2013)