

Bab II Tinjauan Pustaka

Tinjauan pustaka meliputi tinjauan botani, kandungan fitokimia, tinjauan farmakologi, proses ekstraksi, fraksinasi, kanker payudara, metode MTT [3-(4,5-dimetithylhiazol-2-yl)-2,5diphenyl tertrazolium bromide].

II. 1 Tinjauan Botani

Tinjauan botani dari bawang hitam (*Allium sativum* L.) meliputi klasifikasi, sinonim dan nama lain, dan morfologi.

II. 1.1 Klasifikasi

Klasifikasi ilmiah bawang hitam sama seperti bawang putih yaitu sebagai berikut (Butt, *et al*,.2009) :

Kingdom	: Plantae
Sub-Kingdom	: Tracheobionta
Super division	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Liliopsida
Sub-Class	: Liliidae
Order	: Liliales
Family	: Liliaceae
Genus	: <i>Allium</i> L.
Species	: <i>Allium sativum</i> L.



Gambar II.1 Bawang Putih (A), Bawang Hitam (B)

II. 1.2 Sinonim dan Nama Lain

Tanaman ini memiliki beberapa nama lokal. Nama lokal dari bawang putih, yaitu bawang bodas (sunda), dason putih (minangkabau), bawang (jawa tengah), bhabang poote (madura), kasuna (bali), lasuna mawura (minahasa), bawa badudo (ternate) dan bawa fiufer (irian jaya).

II. 1.3 Morfologi

Bawang putih merupakan tanaman herba parenial yang membentuk umbi lapis. Tanaman ini tumbuh secara berumpun dan berdiri tegak sampai setinggi 30 – 75 cm. Batang yang nampak diatas permukaan tanah adalah batang semu yang terdiri dari pelepah – pelepah daun. Sedangkan batang yang sebenarnya berada dalam tanah. Dari pangkal batang tumbuh akar berbentuk serabut kecil yang banyak dengan panjang kurang dari 10 cm. Akar yang tumbuh pada batang pokok bersifat rudimenter, berfungsi sebagai alat penghisap makanan (Santoso, 2000).

Helaian daun bawang putih berbentuk pita, panjang dapat mencapai 30 – 60 cm dan lebar 1 -2,5 cm. Jumlah daun 7 – 10 helai setiap tanaman. Pelepah daun panjang merupakan satu kesatuan yang

membentuk batang semu. Bunga majemuk tersusun membulat membentuk infloresensi payung dengan diameter 4 – 9 cm. Perhiasan bunga berupa tenda bunga dengan 6 tepala berbentuk bulat telur. Stamen berjumlah 6 dengan panjang flamen 4 – mm, bertumpu pada dasar perhiasan bunga. Ovarium superior tersusun atas 3 ruangan. Buah kecil berbentuk kapsul loculicidal (Hermawan, 2003).

II. 2. Kandungan Fitokimia

Senyawa fitokimia yang terdapat dalam bawang hitam antara lain, yaitu fenol, flavonoid, piruvat, *S-allylcysteine* (SAC) dan *S-allylmercaptocysteine* (SAMC). Kandungan tersebut meningkat bila dibandingkan dengan bawang putih. Sedangkan Allicin akan terdekomposisi menjadi komponen lain yaitu, *diallyl sulfide* (DAS), *diallyl disulfide* (DADS), *diallyl trisulfide* (DATS), *dithiins*, dan *ajoene* (Kimura, et al., 2016). Perbandingan kandungan fitokimia antara bawang putih dan bawang hitam dapat dilihat pada tabel berikut (Ryu and Kang, 2017) :

Tabel II. 1 Perbandingan kandungan fitokimia antara bawang putih dan bawang hitam

Komponen	Bawang hitam	Bawang putih	Perubahan	Metode analisa	Pembanding
Allicin (mg/100 g)	- 20	362 ± 1 345	↓ ↓	Kolorimetri HPLC	allicin
Flavonoid (mg/100 g)	0,8 1570 ± 211 195 ± 8	0,1 322 ± 7 125 ± 13	↑ ↑ ↑	Kolorimetri	Quercetin Rutin Rutin
Piruvat (mg/100g)	27,8 ± 0,3 245,7 ± 2,4	18,8 ± 0,3 48,7 ± 1,2	↑ ↑	Kolorimetri	
Tiosulfat (mmol/100g)	9,12 ± 0,05 0,3 0,8	0,65 ± 0,03 10,5 ± 0,4 0,1	↑ ↓ ↑	Kolorimetri	
Total Fenol (mg/100g)	1,6 ± 0,1 4835 ± 114 1000 ± 100 22,3 ± 0,8 1023 ± 19	0,6 ± 0,1 1391 ± 162 367 ± 22 3,7 ± 0,2 255 ± 12	↑ ↑ ↑ ↑ ↑	Kolorimetri	<i>Caffeic acid</i> <i>Garlic acid</i> <i>Garlic acid</i> <i>Garlic acid</i> <i>Garlic acid</i>
SAC (mg/100g)	8,5 ± 0,1 19,4 9,8 ± 0,2 11,4 ± 0,9	2 2,4 2,2 2,3	↑ ↑ ↑ ↑	HPLC-FLD HPLC HPLC-FLD HPLC	

Kandungan lain dari bawang hitam yaitu mempunyai gula bebas. Tinggi gula bebas khususnya fruktosa menyebabkan rasa yang manis pada bawang hitam. Perubahan konsentrasi fruktosa ini sangat tinggi dibandingkan dengan gula bebas lainnya seperti arabinosa, glukosa, sukrosa dan maltosa (Ryu and Kang, 2017).

Bawang hitam juga menunjukkan peningkatan konsentrasi pada asam amino seperti asam aspartat, *threonine*, *serine*, asam glutamat, *proline*, *glycine*, alanin, *methionine*, *isoleucine*, *tyrosine*, dan fenilalanin. Namun belum ada data konsentrasi perbandingan antara bawang hitam dan bawang putih.

II. 3 Tinjauan Farmakologi

Bawang hitam merupakan obat alami yang memiliki berbagai macam efek terapeutik salah satunya seperti antioksidan dan efek anti-kanker. Tingginya kandungan antioksidan pada bawang hitam ini berpotensi besar sebagai agen antikanker. Berikut perbandingan aktivitas antioksidan antara bawang hitam dan bawang putih (Ryu *and* Kang, 2017).

Tabel II. 2 Perbandingan Aktivitas Antioksidan Antara Bawang Hitam Dan Bawang Putih.

Aktivitas Biologi	Penetapan	Bawang Hitam	Bawang Putih	Perubahan
Antioksidan	Radikal DPPH	0,1 mg/mL	0,4 mg/mL	↑
		4,1 mg/mL	114 mg/mL	↑
		7,3 mg/mL	88,5 mg/mL	↑
		97%	10,4%	↑
		$67,4 \pm 0,2\%$	$35,7 \pm 0,6\%$	↑
		1,3 mg/mL	0,7 mg/mL	↓
		$82,5 \pm 0,5\%$	$35,1 \pm 0,7\%$	↑
	Radikal ABTS	0,2 mg/mL	0,3 mg/mL	↑
		1 mg/mL	1,1 mg/mL	↑
	Radikal Hidroksi	$75 \pm 0,7\%$	$60,7 \pm 0,2\%$	↑
	Radikal Nitrit	32,9%	55,2%	↓
		0,1 mg/mL	0,2 mg/mL	↑

Pada pengujian aktivitas anti kanker ekstrak heksana bawang hitam dapat menginduksi apoptosis melalui jalur intrinsik dan ekstrinsik pada sel-sel leukemia U937 (Park et al, 2014). Ekstrak etanolik bawang hitam dapat menghambat pertumbuhan sel kanker kolon HT29 dengan induksi apoptosis dan penghentian siklus sel (Dong *et al.*, 2014). Ekstrak etanolik 70% dan 90% dari bawang hitam memiliki sitotoksitas dalam beberapa sel kanker manusia antara lain: kanker lambung AGS, kanker paru-paru A549, kanker hati HepG2, dan sel kanker payudara MCF-7 (Purev and Chung, 2012).

Selain itu pada penelitian lain terhadap sel kanker payudara T47D menunjukan IC_{50} ekstrak etanol bawang hitam tunggal sebesar $8,67 \times 10^3 \mu\text{g/mL}$ dan fraksi n – heksana sebesar $26,02 \times 10^3 \mu\text{g/mL}$ (Nurafiani, 2017).

II. 4 Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian adalah suatu proses pemisahan zat yang terdapat dalam sel, ditarik oleh cairan penyari (pelarut) sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari. Pada umumnya penyarian akan bertambah bila permukaan sampel yang bersentuhan dengan penyari semakin luas. Metode dasar ekstraksi yaitu infudasi, maserasi, perkolasi, soxhletasi. Pemilihan metode tersebut disesuaikan untuk memperoleh sari yang diinginkan (Baraja, 2008).

Maserasi (*macerace* = mengairi, melunakkan) merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana (Baraja, 2008). Teknik ini dilakukan dengan cara perendaman sampel dalam pelarut. Penekanan utama dalam maserasi adalah tersediannya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi karena memaksimalkan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar dan didalam sel (Voight, 1995).

Metode maserasi mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, tidak memerlukan peralatan yang rumit dan dapat menghindari

kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas (Voight, 1995). Kelemahan metode maserasi adalah pengerjaannya lama, dan penyaringan kurang sempurna, pelarut yang digunakan lebih banyak dan tidak dapat digunakan untuk bahan – bahan yang mempunyai tekstur keras (Meloan, 1999).

Pemilihan pelarut untuk ekstraksi harus mempertimbangkan banyak faktor. Pelarut harus memenuhi syarat – syarat sebagai berikut yaitu, sifat kelarutan zat didasarkan pada teori *like dissolve like*, zat yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan zat yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar (Khopkar, 2003). Pelarut yang digunakan untuk maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Secara umum pelarut – pelarut alkohol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam karena dapat melarutkan seluruh senyawa metabolit sekunder (Lenny, 2006).

Pelarut yang digunakan dalam mengekstrak bawang hitam adalah etanol 70%. Pelarut etanol merupakan pelarut universal golongan alkohol yang mudah melarutkan senyawaan yang sesuai dengan cukup cepat karena sifat kepolarannya yang tinggi. Etanol juga memiliki titik didih yang cukup rendah sehingga dapat mudah diuapkan tanpa menggunakan suhu yang tinggi, bersifat inert, serta memiliki harga yang terjangkau (Guenther, 2006).

II. 5 Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu kuantitas tertentu dari campuran (padat, cair, terlarut, suspensi atau isotop dibagi dalam

jumlah kecil (fraksi) komposisi perubahan menurut kelandaian. Pembagian atau pemisahan ini didasarkan pada bobot tiap fraksi. fraksi yang lebih berat akan berada paling dasar sedangkan fraksi yang lebih ringan akan berada diatas (Adijuwana dan Nur, 1989). Fraksinasi bertingkat umumnya diawali dengan pelarut yang kurang polar dan dilanjutkan dengan pelarut yang lebih polar. Tingkat polaritas dapat ditentukan dari nilai konstanta dielektrik pelarut (Lestari dan Pari, 1990)

Ekstraksi cair – cair merupakan salah satu metode fraksinasi. Tujuan dari ekstraksi ini adalah untuk memperoleh ekstrak yang lebih spesifik sifat kepolarannya. Prinsip ekstraksi cair – cair adalah adanya distribusi komponen target pada dua pelarut yang tidak saling larut. Sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua (Khopkhar, 2008)

II. 6 Kanker Payudara

Kanker payudara (KPD) merupakan keganasan pada jaringan payudara yang dapat berasal dari epitel duktus maupun lobulusnya. Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker terbanyak di Indonesia. Berdasarkan *Pathological Based Registration* di Indonesia, KPD 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

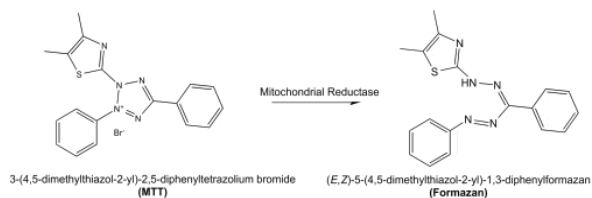
% dari kematian yang dijumpai pada wanita. Penyakit ini juga dapat diderita pada laki - laki dengan frekuensi sekitar 1 %.

Sel MCF-7 merupakan salah satu model sel kanker payudara yang banyak digunakan dalam penelitian. Sel tersebut diambil dari jaringan payudara seorang wanita Kaukasian berumur 69 tahun golongan darah O, dengan Rh positif, berupa sel adherent (melekat) yang dapat ditumbuhkan dalam media penumbuh DMEM atau RPMI yang mengandung *fetal bovine serum* (FBS) 10% dan antibiotik Penicilin-Streptomycin 1% (Anonim, 2007). Sel MCF-7 memiliki karakteristik antara lain resisten agen kemoterapi (Mechetner et al., 1998; Aouali et al., 2003), mengekspresikan reseptor estrogen (ER +), overekspresi Bcl-2 (Butt et al., 2000; Amundson et al., 2000) dan tidak mengekspresikan caspase-3 (Onuki et al., 2003; Prunet et al., 2005). Sel MCF-7 tergolong cell line adherent (ATCC, 2008) yang mengekspresikan reseptor estrogen alfa (ER- α), resisten terhadap doxorubicin (Zampieri dkk., 2002), dan tidak mengekspresikan caspase-3 (Onuki dkk., 2003; Prunet dkk., 2005).

II. 7 Metode MTT

MTT assay merupakan metode yang penggunaannya sudah banyak diaplikasikan dalam berbagai bidang. Metode MTT relatif cepat, sensitif, akurat, digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya bisa untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan. Metode ini berdasarkan pada perubahan garam tetrazolium MTT [3-(4,5-dimetithylthiazol-2-yl)-2,5diphenyl *tertrazolium bromide*] menjadi formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel

hidup. Tetrazolium diabsorpsi kedalam sel hidup dan dipecah melalui reaksi reduksi oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi mitokondria menjadi formazan yang terlarut dalam atau SDS 10% berwarna ungu (Doyle dan Griffiths, 2000). Konsentrasi formazan yang berwarna ungu dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif (Mosmman, 1983). Semakin besar absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel hidup. Reaksi reduksi MTT dapat dilihat pada gambar berikut (Meiyanto, 1999):



Gambar II.2 Reaksi reduksi MTT menjadi formazan.

Uji MTT digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel serta menunjukkan suatu senyawa berpotensi sebagai sitostatol. Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Meiyanto dkk, 2009; Padmi, 2008).