

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Kanker Payudara**

##### **1. Pengertian**

Kanker payudara merupakan salah satu kanker yang menyebabkan kematian terbesar di seluruh dunia (WHO, 2015). Kanker payudara dapat menyerang baik wanita maupun pria, namun lebih banyak ditemui pada wanita. Kanker payudara adalah keganasan yang terjadi karena pertumbuhan sel-sel payudara yang tidak terkendali, dan dapat bermetastatis atau menyebar ke jaringan maupun organ di sekitar payudara dan bagian tubuh lainnya (Kemenkes, 2016).

##### **2. Epidemiologi**

Kanker payudara merupakan kanker dengan persentase kasus baru tertinggi setiap tahunnya. Berdasarkan data IARC tahun 2012, persentase kasus baru kanker payudara sebesar 43,3% dengan persentase kematian sebesar 12,9%. Setiap tahun, terdapat lebih dari 250.000 kasus baru kanker payudara di Eropa dan kurang lebih 175.000 kasus baru terdiagnosa di Amerika Serikat (NCI, 2013). Kanker payudara merupakan kanker dengan prevalensi tertinggi di Indonesia. Provinsi D.I. Yogyakarta memiliki prevalensi kanker payudara sebesar 2,4% atau sebanyak 4.325 wanita terdiagnosis kanker payudara, dan merupakan provinsi dengan prevalensi tertinggi kanker payudara di Indonesia (Depkes RI, 2013).

### 3. Etiologi

Penyebab kanker payudara sampai saat ini belum diketahui secara pasti. Terdapat beberapa faktor yang kemungkinan berperan dalam terjadinya kanker payudara, seperti faktor genetik, hormonal, lingkungan, obesitas, penggunaan kontrasepsi oral, alkohol, dan merokok (Angahar, 2017)

#### B. Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn)

Klasifikasi Rosella menurut Dasuki (1991) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Malvales
Family	: Malvaceae
Genus	: Hibiscus
Spesies	: <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.



**Gambar 1.** Bunga Rosella (Sumber: Lawren, 2014).

#### 1. Morfologi Tanaman

Rosella yang memiliki nama ilmiah *Hibiscus sabdariffa* Linn. merupakan tanaman yang tersebar luas di berbagai negara. Rosella memiliki

batang bulat berkayu, berwarna merah dan dapat tumbuh setinggi 0,5-3 meter. Menurut Maryani dan Kristiani (2008) daun dari tanaman rosella berbentuk bulat telur, berujung tumpul, dan memiliki tulang daun menjari dengan panjang daun 6-15 cm serta lebar 5-8 cm, sedangkan bunga rosella merupakan bunga tunggal yang memiliki panjang sekitar 1-2 cm, dengan daun kelopak terbagi 5 berbentuk lanset, berdaging tebal, berwarna merah tua atau kuning muda.

## 2. Kandungan Kimia

Kelopak bunga rosella mengandung tiamin, protein, karbohidrat, riboflavin dan flavonoid (Mahadevan, 2008). Flavonoid merupakan salah satu agen antioksidan. Antioksidan diperlukan oleh tubuh untuk mengatasi dan mencegah stress oksidatif yang berperan penting dalam patofisiologi kanker (Asri, 2014). Senyawa flavonoid yang terkandung dalam kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terdiri dari flavonol dan antosianin. Senyawa flavonol pada kelopak bunga rosella yaitu *gossypetin*, *hibiscetin*, dan *quercetin*, sedangkan senyawa antosianin berada dalam bentuk *cyanidin-3-sambubioside*, *delphinidin-3-glucoside*, dan *delphinidin-3-sambubroside* (Gebi *et al*, 2011).

## C. Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair, yang kemudian menghasilkan cairan kental yang disebut ekstrak. Senyawa aktif yang telah diketahui dari suatu simplisia mempengaruhi dalam pemilihan

pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Salah satu cara ekstraksi yaitu maserasi. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan yang dilakukan pada suhu kamar (Ditjen POM, 2000). Maserasi juga disebut metode perendaman, yaitu serbuk simplisia dilarutkan dalam sejumlah pelarut yang kemudian direndam selama beberapa hari untuk menyediakan waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang diekstraksi (Sumantri, 2014).

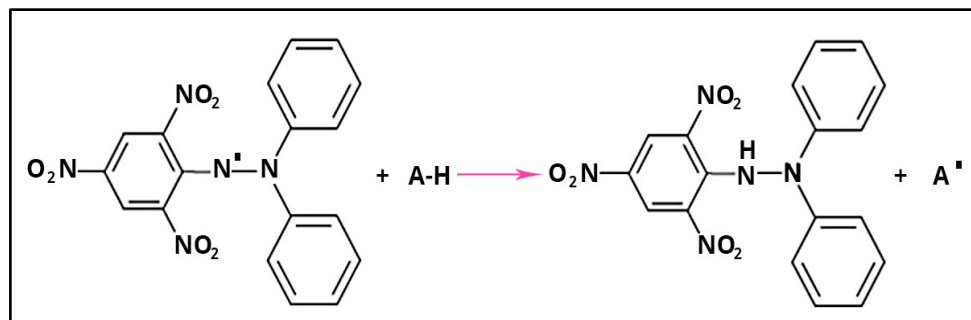
Fraksinasi adalah salah satu cara untuk menarik senyawa yang terkandung dalam tanaman berdasarkan sifat polaritasnya (Min, 2010). Prinsip pemisahan pada proses fraksinasi adalah didasarkan pada perbedaan tingkat kepolaran dan perbedaan bobot jenis antara dua fraksi, yaitu fraksi yang memiliki bobot jenis lebih besar akan berada pada fase bawah, sedangkan fraksi yang memiliki bobot jenis lebih kecil akan berada pada fase atas (Widyono, 2014).

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

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan fisikokimia yang terdiri dari fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa lapisan yang seragam pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium maupun pelat plastik. Sedangkan fase gerak merupakan medium angkut dan terdiri dari 1 atau lebih pelarut yang bergerak pada fase diam (Gandjar, 2007). Prinsip kerja dari KLT ini adalah memisahkan komponen berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi

(Harbone, 1987). Fase diam, ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan, ditotolkan berupa bercak pada garis awal di fase diam. Setelah pelat atau lapisan diletakkan dalam bejana tertutup rapat yang telah berisi larutan (fase gerak) yang cocok, pemisahan terjadi selama perambatan kapiler. Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna dideteksi dibawah sinar UV (Stahl, 1985). Penggunaan KLT pada umumnya untuk menentukan banyaknya komponen dalam campuran, identifikasi senyawa, memantau berjalannya suatu reaksi, menentukan efektifitas pemurnian, menentukan kondisi yang sesuai untuk kromatografi kolom, serta melakukan *screening* sampel untuk obat (Gandjar, 2007).

#### E. Uji Antioksidan Metode DPPH

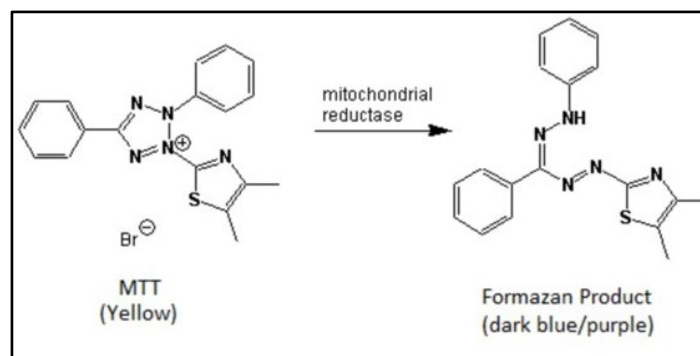


**Gambar 2.** Struktur Reaksi DPPH dengan Antioksidan

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk uji aktivitas antioksidan adalah metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Metode DPPH digunakan untuk menguji kemampuan suatu komponen sebagai penangkap radikal bebas dalam suatu bahan atau ekstrak. Prinsip kerja dari metode DPPH adalah berdasarkan kemampuan DPPH untuk menerima atom hidrogen yang didonorkan oleh antioksidan. Setelah mendapatkan

atom hidrogen kemampuan absorpsi DPPH menjadi berkurang dan merubah warna DPPH yang semula ungu menjadi kuning pucat yang selanjutnya dianalisis dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Kai, 2007). Kelebihan dari metode DPPH yaitu dapat dikerjakan secara cepat dan sederhana (Pamarti, 2005).

#### F. Uji Sitotoksik Metode MTT assay



**Gambar 3.** Struktur Reaksi Reagen MTT

Uji sitotoksik adalah uji dengan menggunakan kultur jaringan sel secara *in vitro* dan merupakan indikator penting untuk evaluasi toksisitas suatu bahan atau suatu senyawa (Li *et al.*, 2015). Salah satu metode uji sitotoksitas adalah MTT assay. Prinsip dari metode MTT assay adalah dengan mengukur kristal formazan yang terbentuk. Kristal formazan merupakan krista ungu yang tidak larut air. Pembentukan kristal formazan terjadi dari hasil reaksi antara garam MTT dengan sistem reduktase suksinat tetrazolium yang terdapat dalam mitokondria sel hidup (Doyle, 2000). MTT selanjutnya dilarutkan dalam PBS, jumlah sel yang aktif dan melakukan metabolisme berbanding lurus dengan warna ungu yang terbentuk (Zakaria, 2011). Sel kanker yang hidup mampu membentuk

kristal formazan yang lebih banyak daripada sel kanker yang sudah mati (Haryoto *et al*, 2013).

### **G. Molecular Docking**

*Molecular docking* merupakan suatu metode untuk memberi gambaran atau prediksi dari ikatan ligan dan struktur reseptor kompleks, menggunakan metode komputerasi. *Molecular docking* umumnya digunakan untuk menggambarkan interaksi antara molekul dan protein dalam skala atomik, yang juga dapat menunjukkan sifat-sifat dari molekul yang berikatan dengan protein target sehingga dapat menjelaskan proses dasar biokimia. Proses *docking* meliputi 2 langkah dasar, yaitu memprediksi bentuk ligan serta posisi dan orientasinya pada tautan reseptor, dan penilaian afinitas ikatan. Manfaat dari penggunaan *docking* molecular ini dapat memahami interaksi biomolekuler obat untuk desain dan penemuan obat yang rasional, serta dalam studi mekanistik dengan menempatkan molekul (ligan) ke target spesifik dari DNA/protein atau yang sering disebut reseptor (Xuan, 2011).

### **H. Uji Siklus Sel Metode Flowsitometri**

Flowsitometri adalah suatu teknik untuk menganalisis jenis-jenis sel yang terdapat pada suatu populasi sel. Prinsip dari metode ini yaitu sel yang memiliki panjang gelombang yang tepat dan yang sesuai dengan cahaya laser dapat dipancarkan kembali sebagai fluoresensi jika sel mengandung zat alami *fluorescent* satu atau lebih *fluorochrome*-label antibodi yang melekat pada permukaan sel maupun pada struktur internal sel. Sel kanker

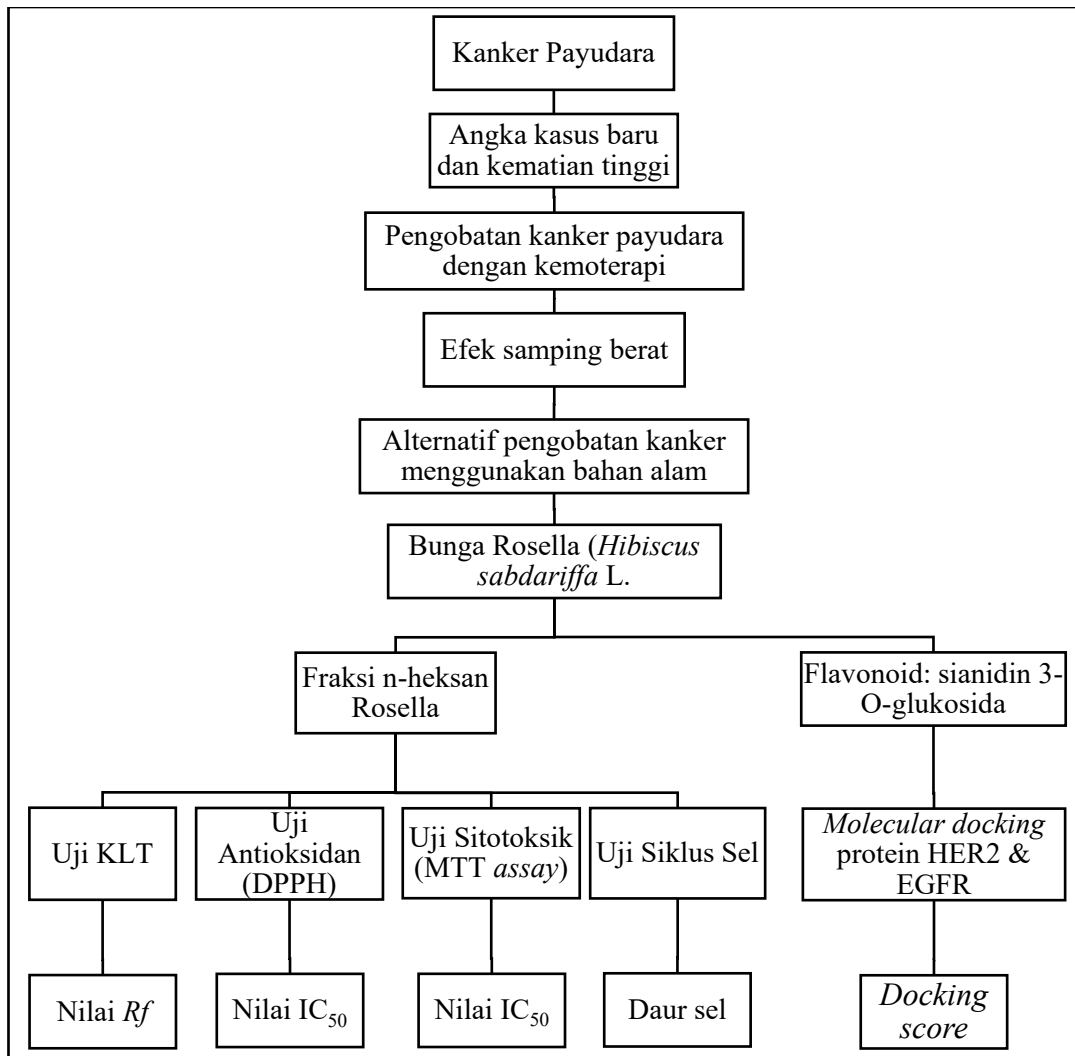
yang diberi perlakuan senyawa sitostatika dapat dianalisis fase-fase daur sel, sel apoptosis, serta sel yang mengalami poliploidi. Setiap jenis sel tersebut memiliki perbedaan pada jumlah set kromosom. Semakin banyak jumlah set kromosom, intensitas sinyal optik yang dihasilkan semakin kuat (Masria, 2017). Adapun penghambatan daur sel dapat diketahui dengan terjadinya akumulasi sel, dimana akumulasi sel pada satu fase menunjukkan terjadinya penghambatan siklus sel terjadi pada fase tersebut.

## **I. Kerangka Konsep**

Kanker payudara merupakan salah satu penyebab kematian terbesar akibat kanker di seluruh dunia, dan diperkirakan angkanya akan terus meningkat setiap tahunnya. Metode pengobatan kanker yang banyak dilakukan saat ini yaitu menggunakan agen kemoterapi, namun pengobatan dengan kemoterapi memiliki beberapa efek samping yang berdampak besar pada tubuh. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan pengobatan kanker dengan menggunakan bahan-bahan alami sebagai agen khemopreventif. Salah satu bahan alam yang dapat dimanfaatkan yaitu bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn). Bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia dan secara empiris berkhasiat sebagai antikolesterol dan antihipertensi. Rosella mengandung beberapa senyawa diantaranya flavonoid, antosianin, flavonol glikosida, gossypitrin, quersetin, alkaloid, dan sterol (Shahnaz, 2011). Pada penelitian ini bunga rosella diekstraksi dengan pelarut etanol 70% dan difraksinasi dengan pelarut n-heksan, yang kemudian akan diuji dan dianalisis



menggunakan metode KLT untuk menelusuri kandungan senyawa flavonoid, uji antioksidan dengan metode DPPH, uji sitotoksik dengan *MTT assay*, *molecular docking*, dan uji siklus sel dengan flowsitometri untuk mengetahui fase sel yang terhambat setelah diberi perlakuan FNR.



**Gambar 4.** Kerangka Konsep

## J. Hipotesis

1. Fraksi n-heksan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) mengandung senyawa golongan flavonoid.

2. Fraksi n-heksan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki aktivitas antioksidan.
3. Fraksi n-heksan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) mempunyai efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D.
4. Senyawa sianidin-3-glukosida dari golongan flavonoid pada kelopak bunga (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki afinitas ikatan yang tinggi dalam berikatan dengan protein HER2 dan EGFR berdasarkan metode *molecular docking*.
5. Terdapat penghambatan daur sel kanker payudara T47D yang diberi perlakuan fraksi n-heksan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.).