

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kanker Payudara

Kanker adalah sel yang mengalami pertumbuhan yang cepat dan tidak terkendali karena mekanisme normalnya sudah tidak berfungsi kembali (Hawari *et al.*, 2004). Kanker merupakan akibat dari ketidakaturan kerja hormon yang menyebabkan sel terus tumbuh dan membuat jaringan baru yang bersifat ganas (Tjay dan Rahardja, 2002). Pertumbuhan yang terus menerus tak terkendali diakibatkan oleh kerusakan DNA akibat mutasi gen pada bagian yang mengontrol pembelahan sel. Beberapa mutasi dapat mengubah sel normal menjadi sel kanker yang sering disebut dengan senyawa karsinogen. Bila sudah tahap akhir senyawa karsinogenik dapat bermetastasis yaitu berkembang ke jaringan lain dan tumbuh di jaringan tersebut (Murray *et al.*, 2003).

Beberapa fase dari kanker

a. Fase inisiasi

Merupakan tahap awal dimana sel normal berubah menjadi premaligna. Pada tahap ini zat karsinogen yang merupakan zat yang menyebabkan mutasi gen bereaksi dengan DNA sehingga terjadi amplifikasi gen dan produksi salinan gen.

b. Fase promosi

Pada fase promosi, zat non mutagen berperan aktif sebagai promotor dalam menaikkan reaksi karsinogen hingga menyebabkan amplifikasi gen. Sifat dari zat promotor adalah mengikuti kerja inisiator, perlu beberapa kali paparan, reversibel, dan mengubah ekspresi gen. Salah satu contoh promotor ialah ester phorbol yang terdiri dari TPA (*tetradeconyl phorbol acetat*) dan RPA (*12-retinoyl phorbol acetat*) pada minyak kroton.

c. Fase progresi

Pada tahap ini terjadi perubahan benigna menjadi premaligna dan maligna karena sudah terjadi peristiwa aktifasi, mutasi, dan delesi gen.

Sedangkan kanker payudara (*Carcinoma mammae*) adalah tumor yang tumbuh pada jaringan payudara yang berasal dari jaringan *mammae parenchyma*. Kanker payudara dapat terjadi karena adanya faktor hereditas yang diturunkan dari orang tua (Brewer *et al.*, 2017).

B. Tanaman

1. Daun Teh

Berdasarkan taksonominya, daun teh diklasifikasikan sebagai berikut menurut Tjitrosoepomo (1994)

Kingdom : *Plantae*

Divisio : *Spermatophyta*

Sub divisio	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Sub Kelas	: <i>Dialypetalae</i>
Ordo	: <i>Guttiferales</i>
Familia	: <i>Camelliaceae</i>
Genus	: <i>Camellia</i>
Spesies	: <i>Camellia sinensis</i>
Varietas	: <i>Assamica</i>



Gambar 1. Daun teh (*Camellia sinensis*)

Daun teh merupakan daun tunggal. Helai daun berbentuk lanset dengan ujung meruncing dan bertulang menyirip. Tepi daun lancip atau bergerigi. Daun tua licin dikedua permukaannya, namun pada daun muda pada bagian bawahnya terdapat bulu halus (Mughtar, 1988).

Kandungan yang terdapat pada daun teh antara lain tanin dan beberapa polifenol seperti *epigallocatechin gallate* (EGCG), *epigallocatechin* (EGC), *epicatechin gallate* (ECG), *gallocatechin* (GC), *epicatechin* (EC), dan katekin. Konsentrasi dari senyawa EGCG merupakan yang paling besar dan mempunyai peran utama dalam aktifitas antioksidan. Selain sebagai antioksidan, daun teh memiliki manfaat sebagai antiinflamasi, anti efek melanogenesis, dan hepatoprotektor (Thitimuta *et al.*, 2017).

2. Jeruk mandarin

Berdasarkan taksonominya, jeruk mandarin diklasifikasikan sebagai berikut (Backer dan Bakhuizen, 1965):

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Sapindales</i>
Famili	: <i>Rutaceae</i>
Genus	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus reticulata</i>



Gambar 2. Jeruk mandarin (*Citrus reticulata*) (wikipedia.org)

Tumbuhan ini merupakan jenis pohon dengan tinggi 2-8 meter. Tangkai daun bersayap sangat sempit sampai boleh dikatakan tidak bersayap, panjang 0,5-1,5 cm. Helaihan daun berbentuk bulat telur memanjang, elliptis atau berbentuk lanset dengan ujung tumpul, melekok ke dalam sedikit, tepinya bergerigi sangat lemah dengan panjang 3,5-8 cm. Bunganya mempunyai diameter 1,5-2,5 cm, berkelamin dua daun mahkotanya putih. Buahnya berbentuk bola tertekan dengan panjang 5-8 cm, tebal kulitnya 0,2-0,3 cm dan daging buahnya berwarna oranye. Rantingnya tidak berduri dan tangkai daunnya selebar 1-1,5 mm (Van Steenis, 1975).

Kandungan yang memiliki efek antikanker dari kulit *Citrus reticulata* yaitu flavonoid tangeretin dan nobiletin (Murakami *et al.*, 2000). Pada senyawa tangeretin dengan mekanisme induksi pada peristiwa *cell-cycle G₁ arrest* (Middleton and Kandaswami, 1993, Nelson, 1934, dan Pan, *et al.*, 2003).

C. Ekstraksi Maserasi

Menurut Ansel (1989) maserasi adalah salah satu teknik dalam ekstraksi yang dilakukan dengan perendaman serbuk dalam air atau pelarut organik yang sesuai secara berulang yang berfungsi agar susunan sel dalam serbuk tersebut melunak, sehingga zat-zat yang terkandung akan terlarut sepenuhnya.

D. Uji Kromatografi Lapis Tipis

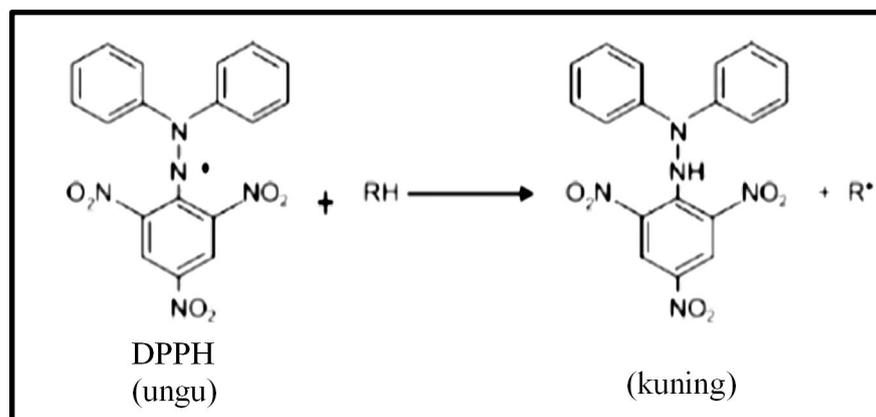
Menurut Day dan Underwood (1997), Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode untuk mengidentifikasi suatu senyawa murni dari substansi campuran. Kelebihan menggunakan metode KLT adalah pengerjaannya yang mudah dan hanya menggunakan sedikit sampel. Dalam uji KLT terdapat dua fase yaitu fase gerak dan fase diam. Pelarut bertindak sebagai fase gerak disesuaikan dengan sifat kelarutan senyawa yang dianalisis. Sedangkan untuk fase diam menggunakan bahan lapisan tipis yang disebut silika gel. Silika gel termasuk senyawa yang tidak bereaksi dengan pereaksi yang bersifat reaktif seperti asam sulfat. Beberapa

senyawa dapat ditambahkan pereaksi tertentu sebelum diamati dengan sinar UV (Wulandari, 2016).

Data yang didapatkan dari uji KLT adalah nilai Rf (*retardation factor*). Nilai Rf yaitu jarak yang ditempuh suatu sampel senyawa dari titik awal dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik awal. Nilai Rf dapat digunakan untuk identifikasi suatu senyawa dengan cara dibandingkan dengan nilai Rf senyawa standarnya.

E. Uji Antioksidan DPPH

Metode DPPH merupakan salah satu metode uji antioksidan yang paling sering digunakan. Cara kerjanya sederhana dan tidak memerlukan biaya yang tinggi sehingga metode ini sangat diminati. Metode ini menggunakan radikal bebas *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) yang berikatan dengan suatu senyawa berperan sebagai *free radical scavengers* yang dapat mendonorkan atom hidrogen berguna untuk pengujian aktivitas antioksidan komponen tertentu dalam suatu ekstrak. Serapan maksimum DPPH pada 517 nm menimbulkan warna ungu. Seiring bertambahnya konsentrasi antioksidan yaitu saat elektron tunggal pada DPPH berpasangan dengan atom hidrogen dari antioksidan menyebabkan penurunan absorbansi secara stokiometri, maka warna yang semula ungu berubah menjadi kuning (Dehpour *et al.*, 2009). Hasil dekolerasi oleh antioksidan setara dengan jumlah elektron yang tertangkap. Mekanisme dapat ditunjukkan melalui reaksi pada gambar 3.



Gambar 3. Reaksi penangkap radikal DPPH oleh antioksidan (Dehpour *et al.*, 2009)

F. Uji Sitotoksik MTT Assay

Metode uji yang digunakan untuk menilai sitotoksisitas senyawa adalah MTT Assay yang menggunakan pereaksi 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT Assay) (Siregar and Hadijono, 2000). Prinsip kerja metode ini adalah sel hidup yang sudah dikultur direaksikan dengan pereaksi MTT kemudian dihitung jumlah sel yang masih bertahan hidup setelah diberi perlakuan. Reagen MTT hanya bereaksi dengan sel yang masih hidup kemudian dipecah melalui reaksi reduksi oleh sistem reduktase suksinat tetrazolium membentuk formazan (Doyle and Griffiths, 2000).

Menurut Rubianto (1998) patokan biokompatibilitas yang baik adalah jumlah sel hidup antara 92,3% - 100%. Sedangkan menurut Telli *et al* (1999) parameter toksisitas dapat berdasar dari IC₅₀ yaitu kadar minimal yang digunakan untuk menghambat 50% kehidupan sel (viabilitas).

G. Molecular Docking

Molecular docking atau penambatan molekuler adalah suatu metode rekayasa obat melalui suatu aplikasi pada komputer untuk memprediksi adanya ikatan antara kompleks ligan kecil dengan protein yang diinginkan. Tujuan penambatan molekuler adalah untuk menemukan konformasi energi ligan rendah pada pengikatan protein yang sesuai dengan minimum penilaian fungsi global yang ditunjukkan dengan *score docking*. Dalam kasus penambatan molekuler protein-ligan, sebuah koloni semut buatan digunakan untuk menemukan konfirmasi energi minimum ligan pada *binding site*.

Autodock Vina adalah program aplikasi molekuler docking gratis yang diketahui memiliki kualitas seperti GOLD® (aplikasi penambatan molekuler yang berbayar). Namun, *Autodock Vina* tidak menyediakan fungsi preparasi protein, ligan, maupun visualisasi (Purnomo, 2011).

H. Sediaan Tablet Effervescent

Effervescent didefinisikan sebagai bentuk sediaan yang menghasilkan gelembung gas sebagai hasil reaksi kimia dengan larutan. Molekul gas yang dihasilkan dalam reaksi tersebut adalah karbon dioksida yang memberikan sensasi seperti air soda (efek *sparkling*) (Lieberman, dkk., 1992).

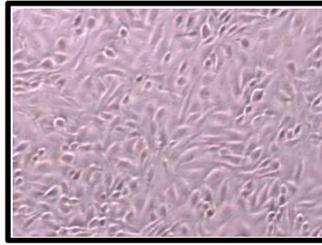
Tablet *effervescent* merupakan salah satu bentuk sediaan tablet yang terdiri dari bahan-bahan aktif campuran asam-asam organik, seperti

asam sitrat atau asam tartrat dan natrium bikarbonat. Apabila tablet direaksikan menggunakan suatu larutan contohnya air, kemudian terjadi reaksi kimia yang cukup cepat (satu menit atau kurang) antara asam dan natrium bikarbonat sehingga terbentuk garam natrium dari asam dan menghasilkan gas karbondioksida serta air. Selain menghasilkan larutan yang jernih, rasanya pun enak karena terdapat bahan tambahan seperti karbonat yang berfungsi memperbaiki rasa obat-obat tertentu (Banker dan Anderson, 1986).

I. Sel T47D

Sel kanker payudara T47D merupakan *continous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. Sel T47D memiliki morfologi seperti sel epitel. Sel ini dikulturkan dalam media DMEM, 10% FBS, dan 2 mM L-Glutamin, diinkubasi dalam CO₂ inkubator 5% dan suhu 37⁰C (Abcam, 2007).

Sel kanker payudara T47D dapat mengekspresikan reseptor estrogen atau yang biasa disebut ER positif, dan juga dapat mengekspresikan gen p53 yang telah termutasi. Pada sel ini p53 mengalami *missense mutation* pada residu 194 (dalam *zinc-binding domain* L2) sehingga p53 kehilangan fungsinya. Jika p53 tidak dapat mengikat elemen respon pada DNA, maka akan mengurangi atau menghilangkan kemampuannya dalam meregulasi siklus sel dan memacu apoptosis (Schafer *et al.*, 2000).

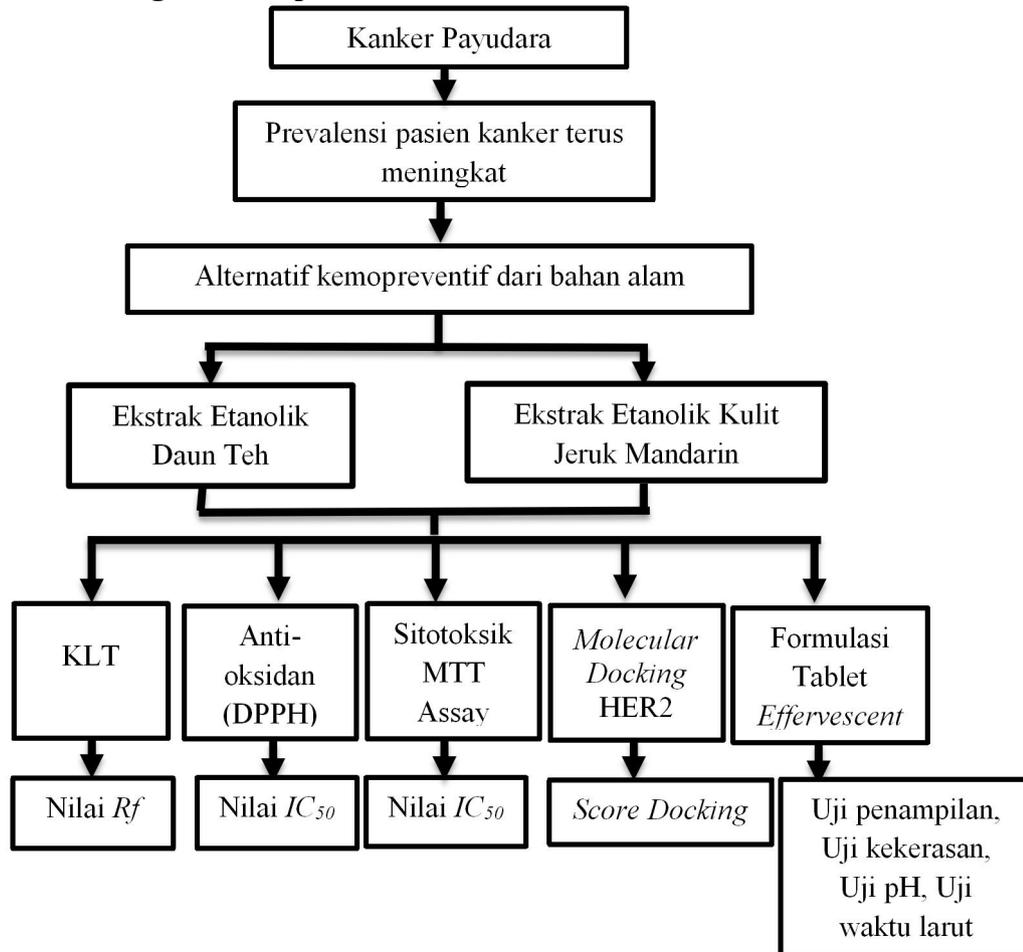


Gambar 4. Sel T47D

J. Protein HER2

Protein HER2 atau neu merupakan homolog v-erbB (avian erythroblastosis virus) yang berfungsi juga sebagai reseptor faktor pertumbuhan epidermal (EGFR) (Moasser, 2007). Pada pasien kanker payudara protein HER2 mengalami aktifitas yang tidak terkendali melalui amplikasi gen atau deregulasi transkripsional seperti yang terlihat pada 25-30% kanker payudara (Slamon *et al.*, 1989). Kanker payudara bisa memiliki 25-50 salinan protein HER2 yang meningkatkan ekspresi protein HER2 hingga 40-100 kali lipat (Kallioniemi *et al.*, 1992; Piccart, 2001; Venter dkk., 1987).

K. Kerangka Konsep



L. Hipotesis

1. Kombinasi ekstrak etanolik daun *Camellia sinensis* dan kulit *Citrus reticulata* mempunyai kandungan senyawa flavonoid tangeretin dan polifenol *epigallocatechin gallate* (EGCG).
2. Kombinasi ekstrak etanolik daun *Camellia sinensis* dan kulit *Citrus reticulata* mempunyai efek antioksidan.

3. Kombinasi ekstrak etanolik daun *Camellia sinensis* dan kulit *Citrus reticulata* mempunyai efek sitotoksik pada sel T47D.
4. Senyawa flavonoid tangeretin dan *epigallocatechin gallate* (EGCG) dapat berikatan dengan protein HER2.
5. Tablet *effervescent* dapat dibuat dengan bahan dasar kombinasi daun *Camellia sinensis* dan kulit *Citrus reticulata*.