

**POTENSI EKSTRAK DAUN NIPAH (*Nypa fruticans*)  
SEBAGAI ANTIKANKER TERHADAP SEL MCF-7  
DENGAN METODE *IN SILICO* DAN *IN VITRO***

**EVY NOVIANA  
H052191005**



**DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**POTENSI EKSTRAK DAUN NIPAH (*Nypa fruticans*)  
SEBAGAI ANTIKANKER TERHADAP SEL MCF-7  
DENGAN METODE *IN SILICO* DAN *IN VITRO***

*Tesis Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai  
Gelar Magister Program Studi Biologi Departemen Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Hasanuddin*

**EVY NOVIANA  
H052191005**

**DEPARTEMEN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

## TESIS

Potensi Ekstrak Daun Nipah (*Nypa fruticans*)  
Sebagai Antikanker Terhadap Sel MCF-7  
dengan Metode *In Silico* dan *In Vitro*

Disusun dan diajukan oleh

**EVY NOVIANA**  
**H052191005**

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis  
pada tanggal, **10 Februari 2023**  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat

Ketua

**Dr. Eva Johannes, M.Si.**  
**NIP. 19610217 198601 2 001**

Anggota

**Prof. Dr. Siafaraenan, M.Si.**  
**NIP. 19580816 198703 2 001**

Ketua Program Studi  
Magister Biologi,

**Dr. Juhriah, M.Si.**  
**NIP. 19631231 198810 2 001**

Dekan Fakultas MIPA  
Universitas Hasanuddin,

**Dr. Eng. Amiruddin, M.Si.**  
**NIP. 197205151997021002**

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Evy Noviana

NIM : H052191005

Program Studi : S2 Biologi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 14 Februari 2023

Yang menyatakan,



Evy Noviana

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas berkat rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis diberikan kesempatan serta kesanggupan untuk menyelesaikan tugas akhir penulis yang berjudul "Potensi Ekstrak Daun Nipah (*Nypa fruticans*) Sebagai Antikanker Terhadap Sel MCF-7 dengan Metode *In Silico* dan *In Vitro*" sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan tugas akhir (Tesis) di Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Penulis juga tidak lupa mengucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada orang tua penulis; Bapak Jasmin dan Ibu Yahmini; saudara-saudaraku Eko Pratama dan Yunita Pratiwi; yang selalu mendoakan, memberi semangat dan dukungan kepada penulis untuk menyelesaikan studi.

Penulis menyadari sepenuhnya, dalam penyusunan tesis ini tidak terlepas dari hambatan dan tantangan. Namun berkat pertolongan Allah SWT dan kerja keras serta motivasi dari semua pihak baik secara langsung maupun tidak langsung yang memperlancar jalannya penyusunan tesis ini. Oleh karena itu, secara mendalam penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada Ibu Dr. Eva Johannes, M.Si. selaku ketua penasehat yang selalu tanpa kenal lelah memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tesis ini. Terima kasih sebesar-besarnya juga

penulis ucapkan kepada Ibu Prof. Dr. Sjafaraenan, M.Si. selaku anggota penasehat, yang telah memberikan arahan, bimbingan, dan motivasi kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tesis ini.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Eng Amiruddin. M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta seluruh jajarannya yang bekerja dengan baik dalam memberikan pelayanan kepada mahasiswa.
2. Ibu Dr. Juhriah, M.Si. selaku Ketua Prodi Magister Biologi Universitas Hasanuddin. Terima kasih atas segala ilmu, bantuan, serta dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan studi.
3. Ibu Dr. Nurhaedar, M.Si., Ibu Dr. Syahribulan, M.Si., dan Ibu Dr. Irma Andriani, S.Pi., M.Si., selaku tim penguji yang memberi banyak saran untuk perbaikan tugas akhir ini.
4. Seluruh dosen Departemen Biologi yang telah membimbing dan memberikan ilmunya kepada penulis selama perkuliahan, serta staf pegawai Departemen Biologi yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan urusan administrasi.
5. Teman-teman Biologi angkatan 2019, terima kasih atas kerjasama dan motivasinya selama ini, semoga kita semua senantiasa diberikan kemudahan dalam urusan kita.

penulis ucapkan kepada Ibu Prof. Dr. Sjafaraenan, M.Si. selaku anggota penasehat, yang telah memberikan arahan, bimbingan, dan motivasi kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tesis ini.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Eng Amiruddin. M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta seluruh jajarannya yang bekerja dengan baik dalam memberikan pelayanan kepada mahasiswa.
2. Ibu Dr. Juhriah, M.Si. selaku Ketua Prodi Magister Biologi Universitas Hasanuddin. Terima kasih atas segala ilmu, bantuan, serta dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan studi.
3. Ibu Dr. Nurhaedar, M.Si., Ibu Dr. Syahribulan, M.Si., dan Ibu Dr. Irma Andriani, S.Pi., M.Si., selaku tim penguji yang memberi banyak saran untuk perbaikan tugas akhir ini.
4. Seluruh dosen Departemen Biologi yang telah membimbing dan memberikan ilmunya kepada penulis selama perkuliahan, serta staf pegawai Departemen Biologi yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan urusan administrasi.
5. Teman-teman Biologi angkatan 2019, terima kasih atas kerjasama dan motivasinya selama ini, semoga kita semua senantiasa diberikan kemudahan dalam urusan kita.

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	xi
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
ABSTRAK .....	xiv
ABSTRACT .....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	8
C. Tujuan Penelitian .....	9
D. Manfaat Penelitian .....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	11
A. Tinjauan Teori .....	11
1. Tinjauan Tentang Tumbuhan Nipah ( <i>Nypa fruticans</i> ) .....	11
a. Morfologi dan Klasifikasi Nipah ( <i>Nypa fruticans</i> ) .....	11
b. Kandungan Senyawa Nipah ( <i>Nypa fruticans</i> ) .....	13
c. Manfaat Nipah ( <i>Nypa fruticans</i> ) .....	15
2. Tinjauan Tentang Kanker .....	17



a. Definisi Kanker .....	17
b. Tipe-Tipe Kanker .....	19
c. Pengobatan Kanker .....	20
d. Proses Terjadinya Kanker (Karsinogenesis) .....	22
3. Tinjauan Tentang Kanker Payudara .....	23
a. Anatomi Payudara .....	23
b. Etiologi Kanker Payudara .....	24
c. Patofisiologi Kanker Payudara .....	25
d. Tingkatan Perkembangan Kanker Payudara .....	27
e. Sel Kanker Payudara MCF-7 .....	28
f. Obat-Obat Antikanker .....	29
4. Ekstraksi .....	31
5. Uji Aktivitas Secara <i>In Silico</i> .....	33
6. Tinjauan Tentang Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach .....	35
a. Morfologi <i>Artemia salina</i> .....	35
b. Klasifikasi <i>Artemia salina</i> .....	36
c. Lingkungan Hidup <i>Artemia salina</i> .....	36
d. Metode <i>Brine Shrimpt Lethality Test</i> (BSLT) .....	37
7. Uji Aktivitas Secara <i>In Vitro</i> .....	38
B. Kerangka Konseptual .....	39
C. Hipotesis Penelitian .....	41
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	<b>43</b>
A. Rancangan Penelitian .....	43

B. Waktu dan Tempat Penelitian .....	44
C. Variabel Penelitian .....	44
D. Definisi Operasional .....	45
E. Alat dan Bahan .....	45
1. Alat .....	45
2. Bahan .....	46
F. Skema Kerja Penelitian .....	47
G. Prosedur Kerja .....	48
1. Pengambilan dan Preparasi Sampel .....	48
2. Ekstraksi Daun Nipah ( <i>Nypa fruticans</i> ) .....	48
3. Uji Fitokimia Kualitatif .....	49
4. Analisis GC-MS .....	51
5. Uji <i>In Silico</i> .....	52
6. Uji Pendahuluan Metode BSLT .....	53
7. Uji Aktivitas Sitotoksik dengan Metode MTT .....	54
H. Analisis Data .....	56
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>57</b>
A. Uji Fitokimia Kualitatif .....	57
B. Analisis Fitokimia Metode GC-MS .....	59
C. Uji <i>In Silico</i> .....	60
D. Uji <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> (BSLT) .....	63
E. Uji <i>In Vitro</i> dengan Metode MTT ( <i>Microtetrazolium</i> ) .....	65

BAB V PENUTUP .....	70
A. Kesimpulan .....	70
B. Saran .....	71
DAFTAR PUSTAKA .....	72
LAMPIRAN .....	79

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kategori Toksisitas Bahan .....	38
Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Kualitatif Ekstrak Etanol Daun Nipah ( <i>Nypa fruticans</i> Wurmb.) .....	57
Tabel 3. Senyawa fitokimia yang terkandung pada ekstrak etanol <i>Nypa fruticans</i> dengan Metode GC-MS .....	59
Tabel 4. Nilai ikatan afinitas beberapa senyawa bioaktif pada ekstrak etanol daun Nipah .....	60
Tabel 5. Hasil tes <i>drug-likeness</i> berdasarkan Aturan Lipinski .....	63

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tumbuhan Nipah ( <i>Nypa fruticans</i> ) .....	12
Gambar 2. Anatomi Payudara .....	23
Gambar 3. Anatomi Kelenjar Mammae .....	24
Gambar 4. Perkembangan Kanker Payudara .....	28
Gambar 5. Larva Udang <i>Artemia salina</i> .....	36
Gambar 6. Alur Kerangka Konseptual .....	41
Gambar 7. Bagan Skema Kerja Penelitian .....	47
Gambar 8. Kromatogram GC-MS Ekstrak Etanol Daun Nipah .....	59
Gambar 9. Visualisasi Struktur 3 Dimensi Kompleks Ligan dan Protein .....	62
Gambar 10. Grafik Log Konsetrasi dan Nilai Probit Uji Toksisitas Ekstrak Daun <i>Nypa Fruticans</i> Terhadap Larva <i>Artemia salina</i> Leach.....	64

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Alur Penelitian .....
Lampiran 2. Preparasi Sampel .....
Lampiran 3. Ekstraksi Metode Ultrasonik.....
Lampiran 4. Uji Fitokimia Kualitatif .....
Lampiran 5. Uji Fitokimia dengan Metode GC-MS .....
Lampiran 6. Uji Toksisitas dengan Menggunakan Metode BSLT .....
Lampiran 7. Uji Sitotoksik dengan Menggunakan Metode MTT .....

## ABSTRAK

Pengobatan kanker menggunakan obat-obatan kemoterapi dapat menimbulkan efek samping bagi kesehatan. Agen kemoterapi dapat bersifat toksik pada ginjal, hati, merusak sistem saraf, menyebabkan masalah resistensi obat dan efek toksik pada jaringan normal yang mengarah ke immunosupresi dan kardiotoxicitas. Oleh karena itu, diperlukan pencarian sumber obat-obatan antikanker dari bahan alam yang lebih aman sebagai agen kemoterapi. Penelitian ini bertujuan menganalisis potensi ekstrak daun dari tumbuhan Nipah (*Nypa fruticans*) dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7 melalui metode *in silico* dan *in vitro*. Penelitian diawali dengan pengambilan, preparasi sampel, dan ekstraksi ultrasonik menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak dipekatkan dengan rotary evaporator menghasilkan ekstrak kasar. Penelitian menggunakan empat uji yaitu uji fitokimia kualitatif dan analisis GC-MS untuk metode *in silico*. Uji toksisitas akut metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dan uji sitotoksik metode Microtetrazolium (MTT) untuk metode *in vitro*. Parameter yang dianalisis adalah nilai afinitas ikatan ligan-protein, nilai LC50, dan nilai IC50. Hasil uji fitokimia kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak kasar etanol daun Nipah (*Nypa fruticans*) mengandung senyawa flavonoid dan triterpenoid, seperti Phytol,  $\alpha$ -tocopherols,  $\gamma$ -sitosterol, and 9,12,15-Octadecatrienoic acid. Hasil uji dengan metode *in silico* menunjukkan bahwa nilai afinitas ikatan senyawa  $\beta$ -sitosterol terhadap reseptor estrogen alfa (RE- $\alpha$ ) yaitu -8.9. Nilai itu

mendekati nilai afinitas senyawa ligan kontrol yaitu genistein dengan nilai -  
9.2. Hasil metode in vitro menunjukkan bahwa ekstrak kasar etanol daun  
Nipah (*Nypa fruticans*) termasuk kategori toksik dengan nilai LC50 yaitu  
84,26 µg/ml dan kategori sitotoksik moderat atau cukup aktif dengan nilai  
IC50 yaitu 88,77 µg/ml.

Kata Kunci: *Nypa fruticans*, sel MCF-7, antikanker.



## ABSTRACT

Cancer treatment using chemotherapy drugs cause side effects for health. Chemotherapy agents can be toxic to the kidneys, liver, damage the nervous system, causing drug resistance problems and toxic effects on normal tissues leading to immunosuppression and cardiotoxicity. Therefore, it is necessary to find sources of anticancer drugs from natural ingredients that are safer as chemotherapy agents. This study aimed to analyze the potential of leaf extract from Nipah (*Nypa fruticans*) in inhibiting the growth of MCF-7 breast cancer cells through in silico and in vitro methods. The study began with sampling, sample preparation, and ultrasonic extraction using 96% ethanol as solvent. The extract was concentrated with a rotary evaporator to produce a crude extract. The study used four tests, namely qualitative phytochemical tests and GC-MS analysis for the in silico method. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) acute toxicity test and Microtetrazolium (MTT) cytotoxic test method for in vitro methods. The parameters analyzed were the protein-ligand binding affinity value, LC50 value, and IC50 value. The results of qualitative phytochemical tests that in crude ethanol extract of Nipah leaves contains flavonoid and triterpenoid compounds such as Phytol,  $\alpha$ -tocopherols,  $\gamma$ -sitosterol, and 9,12,15-Octadecatrienoic acid. The result of the in silico method showed that the value of the binding affinity of the  $\gamma$ -sitosterol to the estrogen receptor alpha (RE-  $\alpha$ ) was -8.0. It was close to the affinity value of the control ligand compound genistein which -9.2. The results of

the in vitro method showed that the crude ethanol extract of Nipah leaves (*Nypa fruticans*) was in the toxic category with LC50 value of 84.26 µg/ml and a moderate or moderately active cytotoxic category with IC50 value of 88.77 µg/ml.

Keywords: *Nypa fruticans*, MCF-7 cells, anticancer.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Kanker adalah penyakit yang disebabkan oleh adanya sekelompok sel abnormal yang mengalami pertumbuhan dan proliferasi yang tak terkendali diikuti oleh mutasi dan ekspansi selektif yang akan membentuk massa tumor. Penyebab utama munculnya sel abnormal adalah adanya perubahan genetik dan non genetik (Meiliana *et al.*, 2021). Hampir 90% kematian terkait kanker disebabkan oleh penyebaran tumor dalam suatu proses yang disebut metastasis. Hal ini dapat menginvasi jaringan lain dan menyebabkan kerusakan fungsi vital (Campbell *et al.*, 2017). Salah satu jenis kanker yang paling banyak didiagnosis adalah kanker payudara.

Kanker payudara (*Carcinoma mammae*) merupakan salah satu masalah kesehatan yang penting di dunia yang berada pada urutan kedua setelah kanker paru-paru, dalam peringkat lima besar kanker penyebab kematian terbanyak. Sebanyak 2,1 juta kasus per tahun dan diperkirakan sebanyak 627.000 atau sekitar 11,6 % wanita meninggal akibat kanker payudara pada tahun 2018 (WHO, 2018). Kanker payudara juga merupakan penyebab utama kematian pada wanita (15,0%), diikuti oleh kanker paru-paru (13,8 %) dan kanker kolorektal (9,5%) (Globocan, 2018).

Di Indonesia, kejadian penyakit kanker menunjukkan angka 136,2 per 100.000 penduduk dan berada pada urutan ke-8 di Asia Tenggara dan urutan ke-23 di Asia. Angka kejadian kanker untuk perempuan yang tertinggi adalah kanker payudara yaitu sebesar 42,1 per 100.000 penduduk dengan rata-rata kematian 17 per 100.000 penduduk yang diikuti kanker leher rahim sebesar 23,4 per 100.000 penduduk dengan rata-rata kematian 13,9 per 100.000 penduduk (Kemenkes RI, 2019). Salah satu model sel kanker yang sering digunakan pada model penelitian mengenai kanker payudara manusia adalah sel MCF-7 (*Michigan Cancer Foundation-7*). Sel MCF-7 merupakan sel kanker payudara yang diperoleh dari *pleural effusion breast adenocarcinoma* pasien wanita ras Kaukasian berumur 69 tahun. Sel MCF-7 merupakan jenis sel yang tergolong *human breast adenocarcinoma*, yang digambarkan sebagai penyokong dari ciri-ciri epitel kelenjar payudara yang terdiferensiasi (Latifah, 2014).

Berbagai macam bentuk pengobatan kanker telah dilakukan yaitu melalui operasi, radiasi, kemoterapi, dan terapi biologi. Pengobatan kanker menggunakan kemoterapi dapat menyebabkan efek samping berupa kerusakan pada sel yang sehat. Hal itu disebabkan karena obat-obatan tersebut tidak mampu membedakan sel kanker yang berkembang pesat secara abnormal dengan sel sehat yang secara normal juga memiliki perkembangan pesat. Misalnya sel darah, sel kulit, rambut, serta sel-sel yang ada di dalam perut akan mengalami efek negatif akibat kemoterapi (Mardianingsih *et al.*, 2014). Selain itu, agen kemoterapi juga

dapat bersifat toksik pada ginjal, hati, merusak sistem saraf, menyebabkan masalah resistensi obat dan efek toksik pada jaringan normal yang mengarah ke immunosupresi dan kardiotoxicitas (Van Den Boogaard *et al.*, 2022). Karena efek samping yang ditimbulkan, diperlukan pencarian sumber obat-obatan antikanker alami yang lebih aman sebagai agen kemoterapi. Pengembangan pengetahuan tentang potensi bahan alam diharapkan dapat menjadikan alternatif pengobatan kanker. Salah satu usaha untuk menemukannya adalah melalui eksplorasi senyawa bioaktif dari bahan alam.

Pemanfaatan tumbuhan untuk pengobatan berbagai penyakit semakin banyak dilakukan untuk mengurangi tingkat konsumsi obat kimia sintetik. Obat-obatan herbal yang diperoleh dari ekstrak tumbuhan telah digunakan secara tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit dan gangguan klinis. Tumbuhan memiliki peran penting sebagai sumber senyawa antikanker. Namun, pengetahuan ilmiah yang tersedia relatif sedikit mengungkap tentang cara kerjanya, molekul spesifik yang terlibat, dan dosis efektif yang tepat.

Salah satu tumbuhan yang bisa dimanfaatkan adalah mangrove. Mangrove (tanaman bakau) adalah tanaman yang tumbuh subur di kawasan pesisir pantai. Indonesia dengan wilayah perairannya yang sangat luas (2/3 dari luas wilayah) dan beriklim tropis merupakan tempat yang ideal bagi pertumbuhan tanaman mangrove. Luas ekosistem mangrove di Indonesia mencapai 3,63 juta hektare (ha) atau 20,37% dari

total luas dunia. Papua memiliki ekosistem mangrove terluas di Indonesia dengan luas 1,63 juta ha. Sumatra berada di peringkat kedua dengan luas 892.835 ha. Lalu, Kalimantan berada di peringkat ketiga dengan luas ekosistem 630.913 ha. Bali menjadi pulau dengan luas ekosistem mangrove terkecil, yaitu seluas 1.894 ha. 67,69% atau 1.282 ha di antaranya merupakan kawasan konservasi (KLHK, 2021). Dari sekian banyak tanaman mangrove yang tumbuh subur di Indonesia tersebut, Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb), merupakan jenis mangrove yang bisa dimanfaatkan dan berpotensi untuk diteliti kandungan bioaktifnya, salah satunya adalah kandungan antikanker.

Analisis fitokimia pada ekstrak daun mangrove menunjukkan adanya kandungan alkaloid, terpenoid, steroid, saponin, tanin, flavanoid, dan quinon dengan berbagai bioaktivitas seperti antioksidan, antikanker, antimikroba, antifungi, antivirus, dan lainnya (Saranraj dan Sujitha, 2015; Usman, 2017). Beberapa penelitian tentang uji fitokimia daun Nipah menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun Nipah (*Nypa fruticans*) mengandung senyawa golongan polifenol, flavonoid, triterpenoid/ steroid, saponin, alkaloid, tanin, dan glikosida jantung (Edu *et al.*, 2015; Ebana *et al.*, 2015; Lestari *et al.*, 2016; Habibi, 2017; Lovly dan Teressa, 2017; Ubulom *et al.*, 2019; Gazali *et al.*, 2019).

Ekstrak daun Nipah mengandung senyawa yang berperan dalam mengatasi kanker, yakni flavonoid, alkaloid, dan terpenoid, yang mampu menghambat perkembangan sel kanker. Aktivitas antiproliferasi dari

senyawa terpenoid dan alkaloid pada ekstrak kasar ranting *Aspidosperma tomentosum* dilaporkan dapat menghambat beberapa kultur sel, salah satunya sel MCF-7 (Jain *et.al.*, 2016). Ekstrak biji dari *Psoralea corylifolia* memiliki komponen bioaktif seperti psoralidin, meroterpenes, flavonoids, dan coumarins yang dapat menginduksi apoptosis pada sel MCF-7 kanker payudara dengan mekanisme kematian mitokondria (Siddiqui *et al.*, 2022).

Daun Nipah mengandung senyawa bioaktif poliisoprenoid yang diketahui memiliki manfaat sebagai antimikroba, antikanker, dan antivirus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan daun Nipah memperlihatkan aktivitas antikanker pada sel WiDr melalui penghambatan ekspresi Bcl-2 dan Cyclin D1 yang menghasilkan nilai IC<sub>50</sub> yaitu 180,086 µg/ml (Sari *et al.*, 2018). Penelitian serupa oleh Istiqomah *et al.* (2020) melaporkan bahwa senyawa poliisoprenoid dalam ekstrak daun *N. fruticans* bekerja sebagai kemoterapiupetik spesifik pada siklus sel fase G0-G1 untuk mengatur ekspresi gen p53 dan menurunkan ekspresi gen EGFR, PI3K, AKT1, dan mTOR. Studi ini juga mengungkapkan poliisoprenoid (terdiri atas 100% dolichol), berperan menghalangi pertumbuhan dan perkembangan sel kanker usus besar WiDr.

Selain potensi antikanker, daun Nipah juga memiliki potensi sebagai antioksidan. Penelitian yang dilakukan oleh Aziz dan Jack (2015) menunjukkan bahwa daun Nipah mengandung senyawa fenol dengan konsentrasi yang tinggi. Hal ini berkorelasi dengan aktivitas sebagai antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> yaitu 0,32 mg/ml. Hasil penelitian Putri *et al.*

(2012) menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak daun nipah memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 17.72 ppm pada pelarut metanol dimana nilainya mendekati nilai standar antioksidan vitamin C yang merupakan senyawa murni. Tidak jauh berbeda, Lovly dan Teressa (2017) melaporkan bahwa ekstrak metanol daun Nipah menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai  $IC_{50}$  yaitu 6.11  $\mu\text{g/ml}$ . Mendukung hasil penelitian sebelumnya, hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun *N. fruticans* menunjukkan nilai  $IC_{50}$  yaitu 9,31  $\mu\text{g/mL}$  (Gazali *et al.*, 2019).

Aktivitas antikanker ada keterkaitan dengan aktivitas antioksidannya. Salah satu penyebab penyakit kanker adalah radikal bebas yang menyerang sel tubuh manusia. Radikal bebas diduga merupakan penyebab kerusakan sel yang mendasari timbulnya penyakit kanker termasuk kanker payudara (Risky dan Suyatno, 2014). Wing *et al.* (2007), melaporkan bahwa ekstrak air beberapa herbal tradisional China dengan aktivitas antioksidan tinggi juga memiliki efek penghambatan pertumbuhan yang tinggi pada sel A549 dan MCF-7. Senada dengan ini, Burhan *et al.* (2019) melaporkan bahwa ekstrak batang murbei memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  yaitu 83,18  $\mu\text{g/mL}$  dan aktivitas antikanker pada sel WiDr menunjukkan nilai  $IC_{50}$  71,24  $\mu\text{g/ml}$  dan pada sel vero memiliki nilai  $IC_{50}$  154,241  $\mu\text{g/ml}$ . Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol batang murbei (*Morus alba* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan berpotensi sebagai antikanker alami yang bekerja selektif terhadap sel kanker. Selanjutnya, Maningkas *et al.* (2019) melaporkan



hasil pengujian antioksidan dan antikanker ekstrak methanol daun Pasote termasuk kategori kuat dengan nilai  $IC_{50}$  berturut-turut yaitu sebesar 50,131  $\mu\text{g/mL}$  dan 53,37 $\mu\text{g/mL}$ . Namun, dalam penelitian oleh Sammar *et al.* (2019), menyatakan bahwa tidak ada korelasi antara aktivitas antioksidan dan sitotoksisitas. Namun, analisis mendalam dari beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50} \leq 10 \mu\text{g/ml}$  menunjukkan aktivitas sitotoksisitas yang baik.

Penelitian ini bertujuan untuk menyelidiki potensi ekstrak daun Nipah (*Nypa fruticans*) sebagai antikanker yang masih belum banyak dilakukan. Pengujian dilakukan secara *in vitro* dan didukung lebih jauh secara *in silico* melalui metode *docking molecular* untuk memprediksi toksisitas senyawa. Berdasarkan uraian latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai “Potensi Ekstrak Daun Nipah (*Nypa fruticans*) Sebagai Antikanker Terhadap Sel MCF-7 dengan Metode *In Vitro* dan *In Silico*”.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang maka dapat disusun rumusan masalah dalam penelitian ini, yaitu sebagai berikut:

1. Bagaimana nilai afinitas ikatan senyawa yang terkandung dalam ekstrak kasar etanol daun Nipah (*Nypa fruticans*) terhadap reseptor estrogen alfa (RE- $\alpha$ )?

2. Bagaimana aktivitas toksisitas ekstrak kasar etanol daun Nipah (*Nypa fruticans*) pada larva udang *Artemia salina* yang dinyatakan dengan nilai LC<sub>50</sub>?
3. Bagaimana aktivitas sitotoksik ekstrak kasar etanol daun Nipah (*Nypa fruticans*) pada sel kanker payudara MCF-7 yang dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub>?

### **C. Tujuan Penelitian**

Berdasarkan uraian rumusan masalah, maka dapat dijabarkan tujuan pada penelitian ini, yaitu sebagai berikut:

1. Menganalisis nilai afinitas ikatan senyawa yang terkandung dalam ekstrak kasar etanol daun Nipah (*Nypa fruticans*) terhadap reseptor estrogen alfa (RE- $\alpha$ ).
2. Menganalisis aktivitas toksisitas ekstrak kasar etanol daun Nipah (*Nypa fruticans*) pada larva *Artemia salina* yang dinyatakan dengan nilai LC<sub>50</sub>.
3. Menganalisis aktivitas sitotoksik ekstrak kasar etanol daun Nipah (*Nypa fruticans*) pada sel kanker payudara MCF-7 yang dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub>.

### **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan dan memiliki manfaat yaitu:

1. Sebagai studi lebih lanjut mengenai penggalian informasi bahan antikanker sebagai agen kemoterapi yang berasal dari alam.

2. Sebagai pembuktian secara ilmiah tentang potensi daun dari tumbuhan Nipah (*Nypa fruticans*) sebagai antikanker terhadap sel kanker payudara MCF-7 sehingga dapat dikembangkan sebagai agen kemoterapi alami.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Tinjauan Teori

##### 1. Tinjauan Tentang Nipah (*Nypa fruticans*)

Nipah (*Nypa fruticans* Wurmb.) merupakan tumbuhan tropis yang termasuk dalam suku *Arecaceae*. Nipah adalah salah satu jenis tumbuhan mangrove berbentuk palem. Nipah dikelompokkan ke dalam tumbuhan mangrove sebab umumnya tumbuh di lingkungan hutan mangrove di sepanjang sungai yang terpengaruh pasang surut air laut (Subiandono *et al.*, 2011). Nipah mampu beradaptasi dengan baik di lingkungan dengan salinitas moderat, seperti di muara sungai yang tenang dan zona pesisir (Theerawitaya, 2014).

Nipah tumbuh pada daerah dengan suhu minimum 20°C dan maksimum 32-35°C. Jenis ini tumbuh rapat berkelompok, seringkali membentuk komunitas murni yang luas di daerah rawa-rawa atau di sepanjang sungai dekat muara hingga sungai dengan air payau, tetapi di beberapa daerah tumbuh bercampur dengan pohon mangrove lain (Siregar, 2012).

##### a. Morfologi dan Klasifikasi Tumbuhan Nipah (*Nypa fruticans*)

Batang nipah menjalar di tanah membentuk rimpang yang terendam oleh lumpur. Hanya daunnya yang muncul di atas tanah,

sehingga nipah tampak seolah-olah tak berbatang. Akar serabut dapat mencapai panjang 13 m. Dari rimpangnya tumbuh daun majemuk setinggi 9 meter dengan tangkai daun sekitar 1-1,5 m. Panjang anak daun dapat mencapai 100 cm dan lebar daun 4-7 cm. Daun nipah yang masih muda berwarna kuning sedangkan yang tua berwarna hijau. Daunnya seperti susunan daun kelapa. Bunga Nipah majemuk muncul dari ketiak daun dengan bunga betina terkumpul di ujung membentuk bola dan bunga jantan tersusun dalam malai serupa untai merah, jingga atau kuning pada cabang di bawahnya. Panjang tangkai bunga mencapai 100-170 cm. Tandan bunga inilah yang dapat disadap untuk diambil niranya. Buah nipah berbentuk bulat telur dan gepeng, berwarna coklat kemerahan. Panjang buahnya sekitar 13 cm dengan lebar 11 cm. Buah berkelompok membentuk bola berdiameter sekitar 30 cm, dalam satu tandan dapat terdiri antara 30-50 butir buah (Siregar, 2012).



**Gambar 1.** Nipah (*Nypa fruticans*) (Sumber: researchgate.net.)

Sistematika tumbuhan Nipah menurut Tjitrosoepomo (2005), sebagai berikut:

Regnum : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Monocotiledoneae  
Ordo : Arecales  
Famili : Arecaceae  
Genus : *Nypa*  
Spesies : *Nypa fruticans* Wurm.

### **b. Kandungan Senyawa Tumbuhan Nipah (*Nypa fruticans*)**

Berbagai senyawa aktif terkandung dalam daun Nipah. Beberapa penelitian tentang uji fitokimia daun Nipah menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun Nipah (*Nypa fruticans*) mengandung senyawa golongan polifenol, flavonoid, triterpenoid/ steroid, saponin, alkaloid, tanin, dan glikosida jantung (Ebana *et al.*, 2015; Lestari *et al.*, 2016; Habibi, 2017; Lovly dan Teressa, 2017; Ubulom *et al.*, 2019).

#### 1) Alkaloid

Beberapa senyawa kelompok alkaloid; noscapin, kriptolepin, chatacunin, pretazettin,  $\alpha$ -tomatin, telah dilaporkan memiliki aktivitas antikanker melalui mekanisme pemacuan apoptosis melalui penginduksian kerusakan DNA, activator caspase, penghambatan pertumbuhan sel kanker dan menunjukkan efek antiproliferatif, perubahan pada jalur MAPK, penekanan pada jalur NF- $\kappa$ B, dengan nilai IC<sub>50</sub> termasuk kategori kuat sampai sangat kuat (Habli *et al.*, 2017). Penelitian oleh Siddiqui *et al.* (2022), melaporkan beberapa senyawa kelompok alkaloid beserta mekanismenya sebagai antikanker. Senyawa camptothecin

memiliki mekanisme antikanker dengan menghambat topoisomerase 1. Sehingga merusak struktur ganda DNA. Contoh lainnya adalah Vinca alkaloid yang terkandung pada tanaman *Vinca rosea*, sering digunakan dalam pengobatan beberapa jenis kanker.

## 2) Flavonoid

Flavonoid adalah metabolit tumbuhan sekunder yang bertanggung jawab atas warna dan aroma bunga, dan memiliki kemampuan antibakteri, antivirus, antioksidan, antialergi, dan antiradang. Beberapa senyawa kelompok alkaloid; Genistein, golongan isoflavonoid, memiliki efek antiproliferasi pada sel kanker payudara. Kaempferol bekerja dalam mengurangi ekspresi faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) di sel kanker ovarium. Cisplatin menekan regulasi cMyc dalam menginduksi apoptosis sel kanker ovarium. Quercetin bekerja menghambat pertumbuhan sel kanker tiroid terkait dengan penghambatan insulin-modulated-PI3-Kinase Aktivitas AKT kinase (Batra dan Sharma, 2013).

Senyawa flavonoid lainnya terungkap melalui penelitian Abotaleb *et al.* (2018), antara lain: hesperetin menunjukkan aktivitas sebagai antikanker dengan meningkatkan ROS (Reactive Oxygen Species), mengurangi potensial mitokondria, menginduksi fragmentasi DNA, menginduksi ekspresi sitokrom c, APAF-1, caspases-3 dan -9, dan mengurangi rasio Bax ke Bcl-2 pada sel kanker lambung. Catechin bekerja menginduksi apoptosis melalui penghambatan translokasi nuklir

NF- $\kappa$ B /p65. Dalam sel kanker payudara MCF-7, Catechin menghambat fosforilasi ErbB2 dan ErbB3 dan menekan jalur MAPK.

### 3) Triterpenoid

Triterpenoid adalah kelompok besar terpenoid yang memiliki keanekaragaman aktivitas biologis. Triterpenoids merupakan metabolit dari oligomer isopentenil pirofosfat dan mewakili kelompok fitokimia terbesar. Diperkirakan lebih dari 20.000 triterpenoid ada di alam. Aktivitas biologis triterpenoid dalam pencegahan kanker dan kesehatan memiliki banyak mekanisme, termasuk aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi, regulasi siklus sel, serta regulasi epigenetik/epigenomik (Shanyi, 2020). Beberapa senyawa kelompok triterpenoid; Cucurbitacin, asam oleanolenik, asam zhankuic, celastrol, asam betulunik, asam asiatik, asam ursolik, telah dilaporkan memiliki mekanisme penghambatan pertumbuhan sel MCF-7 dan menunjukkan efek antiproliferatif melawan sel Bcap37 dan MCF-7 dengan nilai IC<sub>50</sub> termasuk kategori kuat sampai sangat kuat (Valenzuela *et al.*, 2016).

#### **c. Manfaat Tumbuhan Nipah (*Nypa fruticans*)**

Nipah merupakan tumbuhan mangrove yang telah dimanfaatkan secara luas di kawasan Asia Tenggara. Sebagai sumber makanan, serat dari pelepah dan kulit buah Nipah dapat diolah menjadi nata (Aini, *et al.*, 2020). Getah dari tangkai bunga Nipah yang dikenal dengan nama nira memiliki banyak manfaat. Nira yang telah difermentasi dapat dimanfaatkan untuk membuat sirup, alkohol, cuka, dan tuak yang



dikonsumsi sebagai bir lokal. Endosperma putih dari biji muda yang memiliki rasa manis seperti jelly, dikonsumsi sebagai makanan ringan (Noblick *et.al.*, 2018; Cheablam dan Chanklap, 2020).

Dalam bidang ekonomi, pemanfaatan daun Nipah sebagai bahan jerami untuk dinding dan atap rumah menjadi sumber pendapatan masyarakat. Atap dari daun Nipah dikategorikan sebagai bahan atap ramah lingkungan karena alat kerjanya yang sederhana, bahan berbasis vegetatif, penggunaan tenaga dan proses pengawetan melalui perendaman di air laut (Umar *et al.*, 2017). Tulang daun digunakan untuk membuat sapu lidi, keranjang, tikar, dan topi. Daun muda yang masih menggulung digunakan untuk pembungkus rokok. Pendapatan yang diperoleh dari aktivitas melinting rokok daridaun muda Nipah ini mencapai hingga Rp 2 juta atau US\$ 220 per ha. Daun kering, tangkai daun, kayu batang, dan residu buah, digunakan sebagai bahan bakar (Hossain, 2015).

Dalam bidang kesehatan, tanaman Nipah telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional seperti obat sakit perut, diabetes, dan obat penurun panas. Ekstrak tumbuhan nipah (*Nypa fruticans*) mampu menghambat penyakit tuberkulosis, penyakit hati (liver), sakit tenggorokan, juga berkhasiat sebagai karminatif (dapat membantu pengeluaran angin dari tubuh), penawar racun, serta obat penenang (Rahmatullah *et al.*, 2010). Tulang daun Nipah telah dimanfaatkan secara tradisional dan turun-temurun oleh masyarakat pesisir sebagai obat sakit

gigi dan daun mudanya dimanfaatkan sebagai obat sariawan. Pucuk daun tersebut dimemarkan dan ditumbuk lalu diperas airnya, kemudian air perasan tersebut dicampur dengan madu dan diminum (Rahayu dan Sunarto, 2020). Abu dari daun Nipah digunakan sebagai analgesik terhadap nyeri gigi dan sakit kepala (Hossain, 2015).

## **2. Tinjauan Umum Kanker**

### **a. Definisi Kanker**

Kanker adalah segolongan penyakit yang ditandai dengan pembelahan sel tidak terkendali dan kemampuan sel menyerang jaringan biologis lainnya, baik pertumbuhan langsung di jaringan tetangganya (invasif) maupun migrasi sel ke tempat yang lebih jauh (metastasis). Pertumbuhan yang tidak terkendali tersebut disebabkan kerusakan DNA yang menyebabkan mutasi di gen vital yang mengontrol pembelahan sel. Sel kanker kehilangan fungsi kontrolnya terhadap regulasi daur sel maupun fungsi homeostasis sel pada organisme multiseluler sehingga sel tidak dapat berproliferasi secara normal. Akibatnya, sel akan berproliferasi terus-menerus sehingga menimbulkan pertumbuhan jaringan yang abnormal (Meiliana *et al.*, 2021).

Sel kanker timbul dari sel normal tubuh yang mengalami transformasi atau perubahan menjadi ganas oleh karsinogen atau karena mutasi spontan. Transformasi sejumlah gen yang menyebabkan gen tersebut termutasi disebut neoplasma atau tumor. Neoplasma merupakan jaringan abnormal yang terbentuk akibat aktivitas proliferasi yang tidak

terkontrol (neoplasia). Pada tahap awal, neoplasma berkembang menjadi karsinoma *in situ* di mana sel pada jaringan tersebut masih terlokalisasi dan mungkin memiliki kesamaan fungsional dengan sel normal. Sel neoplasma mengalami perubahan morfologi, fungsi, dan siklus pertumbuhan yang akhirnya menimbulkan disintegrasi dan hilangnya komunikasi antarsel. Tumor diklasifikasikan sebagai benigna, yaitu kejadian neoplasma yang bersifat jinak dan tidak menyebar ke jaringan di sekitarnya. Sebaliknya, maligna disinonimkan sebagai tumor yang melakukan metastasis, yaitu menyebar dan menyerang jaringan lain sehingga maligna sering disebut sebagai kanker (Ariani, 2015).

Siklus sel memiliki empat fase berurutan. Fase yang paling penting adalah fase S, ketika terjadi replikasi DNA, dan fase M ketika sel membelah menjadi dua. *Interfase* terdiri dari fase S, G<sub>1</sub> dan G<sub>2</sub>. G<sub>1</sub> memiliki fungsi yaitu memproduksi enzim yang diperlukan untuk DNA. G<sub>2</sub> adalah fase setelah fase S ketika sel mempersiapkan untuk masuk pada fase mitosis. G<sub>0</sub> adalah fase istirahat, sel pada fase G<sub>0</sub> masih potensial untuk berproliferasi yang disebut sel klonogenik atau sel induk (*stem cell*). Jadi yang dapat menambah jumlah sel kanker adalah sel yang dalam siklus proliferasi dan dalam fase G<sub>0</sub> (Williams and Stoeber, 2012).

Secara umum, penyebab kanker dapat dibagi dalam 3 kategori, yaitu karsinogen fisik (radiasi sinar UV dan radiasi ionisasi), karsinogen kimiawi (asap tembakau dan asbestos), dan karsinogen biologis (virus, bakteri, parasit) (PCC, 2013). Penyebab kanker juga bisa timbul karena

kondisi kejiwaan yang tidak stabil dan faktor keturunan. Orang tua yang mengidap kanker sangat mungkin menurunkan pada anaknya (Magdalena, 2014).

### **b. Tipe-Tipe Kanker**

Menurut Ariani (2015), kanker dibagi menjadi beberapa jenis, diantaranya sebagai berikut :

#### 1) Karsinoma

Karsinoma merupakan jenis kanker yang berasal dari sel yang melapisi permukaan tubuh atau permukaan saluran tubuh, misalnya jaringan seperti sel kulit, testis, ovarium, kelenjar mucus, sel melanin, payudara, leher rahim, kolon, rektum, lambung, pankreas dan esophagus. Karsinoma adalah kanker sel epitel, yaitu sel yang melindungi permukaan tubuh, memproduksi hormon dan membuat kelenjar. Contoh karsinoma adalah kanker kulit, kanker paru-paru, kanker usus kanker payudara, kanker prostat dan kanker kelenjar tiroid.

#### 2) Limfoma

Limfoma adalah jenis kanker yang berasal dari jaringan yang membentuk darah, misalnya jaringan limfe, lacteal, limfa, timus dan sumsum tulang. Limfoma spesifik antara lain adalah penyakit hodgkin (kanker kelenjar limfe dan limfa).

#### 3) Leukaemia

Kanker ini tidak berbentuk massa tumor, tetapi memenuhi pembuluh darah dan mengganggu fungsi sel darah normal.

#### 4) Sarkoma

Sarkoma adalah jenis kanker pada jaringan penunjang yang berada di permukaan tubuh, seperti jaringan ikat, termasuk sel-sel yang ditemukan di otot dan tulang. Sarkoma merupakan kanker sel mesodermal, sel yang membentuk otot-otot dan jaringan penghubung. Contoh sarcoma adalah leiomyosarcoma (kanker otot halus yang ditemukan pada dinding organ pencernaan) dan osteosarcoma (kanker tulang).

#### 5) Glioma

Glioma merupakan kanker susunan saraf, misalnya sel-sel glia (jaringan penunjang) di susunan saraf pusat.

### **c. Pengobatan Kanker**

Menurut Polovich (2014), terdapat beberapa cara pengobatan kanker, yaitu:

- 1) Pembedahan. Merupakan pengobatan lokal yang tepat di mana dapat mengangkat semua atau sebagian tumor primer. Cara ini dapat digunakan dalam pengaturan paliatif untuk mengurangi gejala yang tidak dapat ditoleransi
- 2) Terapi radiasi. Merupakan pengobatan lokal di mana energi tepat diarahkan pada target tertentu dan dapat diikuti dengan cara pembedahan untuk mencegah kambuhnya tumor primer. Cara ini lebih efektif untuk beberapa penyakit daripada yang lain. Kadang-kadang

digunakan setelah kemoterapi karena radiasi dapat merusak sumsum tulang secara permanen.

- 3) Terapi kemoterapi. Merupakan terapi sistemik, bukan pengobatan lokal, karena obat didistribusikan ke seluruh tubuh oleh aliran darah. Dibatasi oleh efek toksik pada jaringan normal karena kemungkinan memiliki efek tumorisidal pada tumor yang sensitif terhadap hormon karena pengurangan atau penyumbatan sumber hormon atau tempat reseptor di mana hormon aktif.
- 4) Bioterapi. Cara ini spesifik untuk menargetkan reseptor tunggal pada permukaan sel tumor atau enzim di dalam sel. Beberapa efek samping dari cara ini ialah dapat menyebabkan toksisitas, meningkatkan regresi tumor, serta dapat merangsang hematopoiesis.
- 5) Terapi Gen. Salah satu penyebab kanker adalah perubahan genetik. Mutasi akan menghasilkan perubahan protein kunci dari jalur pensinyalan tertentu. Di antara perubahan yang paling terkenal dan dipelajari terkait transformasi kanker malignan adalah yang mutasi pada protein Ras dan p53. Protein Ras adalah sakelar yang mengatur beragam fungsi seperti proliferasi, diferensiasi, dan apoptosis sel. Ekspresi protein p53 yang normal adalah kunci untuk menekan proliferasi sel (Isoldi *et al.*, 2005). Oleh karena itu, pemahaman tentang gen terkait kanker beserta mekanismenya dapat menjadi pilihan untuk penyembuhan kanker.

Menurut Gavas *et al.* (2021), terapi pengobatan kanker lainnya selain yang dicantumkan di atas yaitu terapi nanopartikel. Nanopartikel (1-100 nm) dapat digunakan untuk mengobati kanker karena keunggulan spesifiknya seperti biokompatibilitas, pengurangan toksisitas, stabilitas yang lebih baik, peningkatan permeabilitas dan efek retensi, dan penargetan yang tepat. Nanopartikel tidak hanya memecahkan keterbatasan pengobatan kanker konvensional tetapi juga mengatasi resistensi multidrug.

#### **d. Proses Terjadinya Kanker (Karsinogenesis)**

Bidang karsinogenesis telah berkembang pesat, khususnya sejak revolusi biologi molekuler pada tahun 1970-an. Bidang karsinogenesis dimulai dengan temuan bahwa paparan bahan kimia berkorelasi dengan kanker. Karsinogenesis diawali terjadinya mutasi pada gen sehingga sel normal dapat berubah menjadi sel kanker. Penyebabnya dapat berupa paparan bahan kimia dan molekul endogen misalnya spesies oksigen reaktif. Hal ini dapat merusak makromolekul seluler termasuk DNA. Bahan kimia lingkungan dapat mengganggu pensinyalan normal seperti mencegah proliferasi atau menginduksi apoptosis. Selain itu, bahan kimia dapat bertindak sebagai promotor tumor dengan meningkatkan proliferasi sel-sel ini dapat menyebabkan terbentuknya sel pra-kanker (Peters dan Gonzalez, 2018).

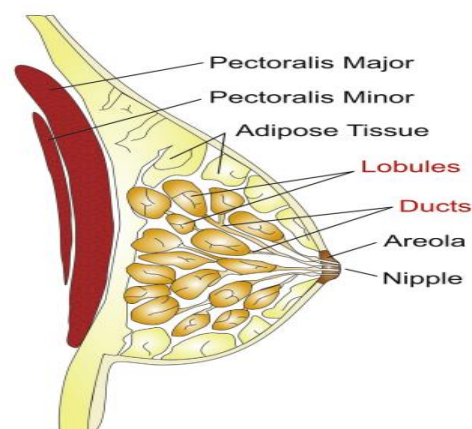
Ketika tumor terus tumbuh, perubahan metabolisme sel terjadi, yang dapat merampas nutrisi di sekitar sel yang normal. Pembuluh darah baru

dapat terbentuk (angiogenesis) karena kondisi anoksik dalam tumor yang menyediakan lebih banyak oksigen untuk dikirim ke tumor. Ketika tumor terus tumbuh dan mendapatkan mutasi yang berbeda, tumor dapat menjadi agresif dan mulai bermigrasi dan menyerang membran sel. Pada akhirnya mengarah metastasis ke jaringan lain. Setelah tumor bermetastasis, prosesnya dapat berlanjut dan pada akhirnya menyebabkan kematian (Patterson *et al.*, 2018).

### 3. Tinjauan Umum Kanker Payudara

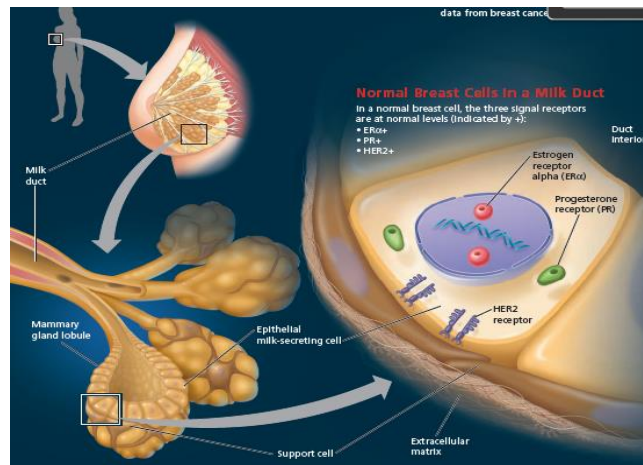
#### a. Anatomi Payudara

Payudara merupakan kelenjar yang memproduksi ASI yang tersusun dari unit yang disebut lobulus. Kelenjar payudara dihubungkan melalui sekumpulan duktus laktiferus yang bergabung membentuk saluran drainase, berakhir di papilla mammae. Papilla mammae dikelilingi jaringan yang hiperpigmentasi disebut areola mammae. Jaringan fibroelastik dan jaringan lemak berfungsi menyokong struktur payudara (Yarsa *et al.*, 2019).



**Gambar 2.** Anatomi Payudara (Sumber: Y. Feng *et al.*, 2018).





**Gambar 3.** Anatomi Kelenjar Mammae (Sumber: Campbell, 2017)

Sebagian besar kanker payudara muncul dari lobulus atau saluran dada. Dalam beberapa kasus, tumor menginfiltrasi kulit atau komponen dinding dada seperti otot pektoralis. Sel tumor juga mampu mengubah lingkungan mikro menjadi keadaan ramah tumor untuk mendorong pertumbuhan dan ekspansi sel tumor (Y. Feng *et al.*, 2018).

### **b. Etiologi Kanker Payudara**

Kanker payudara (*Carcinoma mammae*) adalah suatu keganasan yang menyerang kelenjar air susu, saluran kelenjar dan jaringan penunjang payudara. Kanker payudara berasal dari unit sekretoris payudara, yaitu unit duktus lobulus terminal (Fitryesta, 2016). Kanker payudara memperlihatkan proliferasi keganasan sel epitel yang membatasi duktus atau lobus payudara (Shah *et al.*, 2014).

Ada beberapa faktor risiko terjadinya kanker payudara. Faktor risiko yang erat kaitannya dengan peningkatan insiden kanker payudara antara lain jenis kelamin wanita, usia >50 tahun, riwayat keluarga dan genetik (Pembawa mutasi gen BRCA1, BRCA2, ATM atau TP53 (p53)), riwayat

penyakit payudara sebelumnya (DCIS pada payudara yang sama, LCIS, densitas tinggi pada mamografi), riwayat menstruasi dini (<12 tahun) atau menarche lambat (>55 tahun), riwayat reproduksi (tidak memiliki anak dan tidak menyusui), hormonal, obesitas, konsumsi alkohol, riwayat radiasi dinding dada, faktor lingkungan (KPKN, 2017).

Menurut Ashariati (2019), kanker payudara dapat didiagnosis dengan memperhatikan tanda-tanda awal atau gejala yang kemungkinan akan ditemukan sebagaimana berikut:

1. Perubahan ukuran payudara. Massa payudara cenderung membesar bertahap dan dalam beberapa bulan bertambah besar secara jelas.
2. Terjadinya dimpling (kulit yang tertarik/melekuk ke dalam).
3. Abnormalitas puting (bentuk puting berubah, luka, dan perubahan warna).
4. Discharge pada salah satu puting (keluarnya cairan dari papilla mammae).
5. Perbesaran di daerah aksilla. Ada benjolan yang keras di payudara dengan atau tanpa rasa sakit.

### **c. Patofisiologi Kanker Payudara**

Proses terbentuknya kanker berasal dari perubahan molekular pada tingkat sel. Perubahan ini disertai dengan pertumbuhan dan perkembangan sel yang abnormal. Skrining genomik telah dilakukan dan ditemui sebuah kesimpulan bahwa keberagaman kanker payudara dilihat

dari keberadaan Reseptor Estrogen, Reseptor Progesteron, dan terakhir yang paling menentukan adalah Reseptor HER-2 (Stoepck, 2015).

Kanker payudara terjadi karena hilangnya kontrol sel payudara dan apoptosis sehingga sel payudara berpoliferasi secara terus-menerus. Hilangnya fungsi apoptosis dapat menyebabkan ketidakmampuan dalam mendeteksi kerusakan sel yang disebabkan kerusakan DNA. Jika terjadi mutasi gen p53 maka fungsi dari p53 sebagai pendeteksi kerusakan DNA akan hilang, sehingga sel-sel abnormal akan berpoliferasi secara terus-menerus. Peningkatan jumlah sel abnormal akan membentuk benjolan biasa disebut dengan tumor atau kanker. Pertumbuhan sel kanker membutuhkan waktu sekitar 7 tahun dengan ukuran awal benjolan berdiameter 1 cm. Gejala lain terjadi yaitu adanya cairan yang keluar dari muara duktus satu payudara (Price, 2006).

Pertumbuhan ini berawal dari dalam duktus ataupun kelenjar lobulus atau yang biasa disebut karsinoma noninvasif. Kemudian tumor menerobos ke luar dindingduktus atau kelenjar di daerah lobulus dan invasi ke dalam stroma atau karsinoma invasif. Penyebaran tumor bisa terjadi melalui pembuluh getah bening dan tumbuh di kelenjar getah bening, sehingga dapat menyebabkan kelenjar getah bening aksiler atau supraklavikuler membesar. Kanker payudara menyebar pertama kali ke kelenjar aksila regional. Proses metastasis paling jauh terjadi di tulang, hati, pleura dan otak (Heffner, 2005).

#### **d. Tingkatan Perkembangan Kanker Payudara**

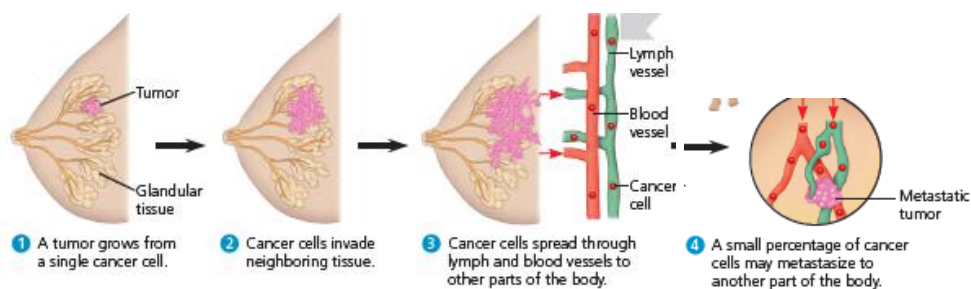
Menurut Y. Feng *et al.* (2018), tingkatan perkembangan kanker payudara adalah:

1. Stadium 0. Pada stadium ini disebut dengan *ductal carcinoma in situ* atau *non-invasive cancer*, dimana kanker tidak menyebar keluar dari pembuluh atau saluran payudara.
2. Stadium I. Pada stadium ini, tumor dengan garis tengah <2 cm dan belum menyebar keluar dari payudara.
3. Stadium IIA. Pada stadium ini, tumor berukuran 2 cm dan belum menyebar ke kelenjar getah bening ketiak, sehingga tidak dapat terdeteksi dari luar. Karena tidak terdeteksi maka akan sulit mengindikasikan orang terjangkit kanker payudara atau tidak.
4. Stadium IIB. Pada stadium ini, benjolan berukuran 2-5 cm serta penyebarannya sudah sampai ke kelenjar susu dan daerah ketiak. Jika sudah diketahui penderita kanker pada stadium 2 maka biasanya dilakukan operasi dengan pengangkatan sel-sel kanker yang ada pada tubuh.
5. Stadium IIIA. Pada tahap ini kanker payudara berukuran lebih dari 5 cm dan telah menyebar ke daerah limfa serta ke titik-titik pada pembuluh getah bening ketiak.
6. Stadium IIIB. Pada tahap ini didiagnosis sebagai *Inflammatory Breast Cancer* (IBC). Tumor telah menyusup keluar payudara (ke dalam kulit payudara atau ke dinding dada dan tulang dada. Menyebabkan

pembengkakan bisa juga luka bernanah di payudara. Jika kondisi pasien sudah pada tahap stadium III B maka hal yang harus dilakukan adalah pengangkatan payudara.

7. Stadium IIIC. Benjolan telah menyebar ke titik-titik pada pembuluh getah bening. Kanker telah menyebar lebih dari 10 titik di saluran getah bening di bawah tulang selangka.

8. Stadium IV. Pada stadium ini kanker sudah begitu parah sudah menjalar ke bagian tubuh lain, seperti paru, tulang, dan hati. Sehingga tidak ada jalan lain selain pengangkatan payudara. Keluhan pada stadium ini adalah sesak nafas karena kanker menekan payudara.



**Gambar 4.** Perkembangan Kanker Payudara (Sumber: Campbell, 2017)

#### **e. Sel Kanker Payudara MCF-7**

MCF-7 adalah singkatan dari Michigan Cancer Foundation, tempat sel ini ditetapkan pada tahun 1973 oleh Dr. Soule dan rekan-rekannya. MCF-7 adalah sebuah sel yang diisolasi pada tahun 1970 dari efusi pleura wanita berusia 69 tahun yang telah memasuki fase metastasis. Pasien itu menjalani mastektomi payudara kanannya untuk tumor jinak selama 7 tahun dan mastektomi radikal berturut-turut pada payudara kirinya untuk adenokarsinoma ganas 4 tahun kemudian. Pengobatan dilakukan selama

3 tahun dengan radioterapi dan terapi hormon. Pada bulan Juni 1970 diambil sampel dari efusi pleura untuk pemeriksaan laboratorium (Comsa *et al.*, 2015).

Sel MCF-7 merupakan sel kanker yang yang diperoleh dari pasien wanita Kaukasian dengan dasar penumbuh media RPMI/ DMEM terformulasi. Sel MCF-7 ditemukan pada tipe kanker payudara yaitu *Invassive Ductal Carcinoma* (IDC), sub-tipe Luminal A. Luminal A didefinisikan sebagai RE (Reseptor Estrogen) dan atau PR (Progesteron Reseptor) positif dan HER2negatif (Dai *et al.*, 2017).

Sel MCF-7 merupakan *cell line* yang populer muncul pada kanker payudara. Popularitas ini dikarenakan sensitivitasnya yang baik terhadap ekspresi reseptor estrogen. Hal ini membuat sel MCF-7 menjadi model yang baik untuk mempelajari respon hormon sehingga sering digunakan dalam penelitian. Sel MCF-7 akan membentuk tumor dengan kehadiran estrogen, dan pertumbuhannya dapat dihambat dengan menggunakan terapi anti- estrogen. Selain itu, sel MCF-7 juga mudah dalam proses kultivasinya dan proses pengangkutan hasilnya (Dai *et al.*, 2017).

#### **f. Obat-Obat Antikanker**

Antikanker adalah senyawa kemoterapeutik yang digunakan untuk pengobatan kanker yang sering disebut obat sitotoksik atau obat neoplastik. Senyawa ini berperan dalam menghambat atau mengganggu pertumbuhan sel tumor ganas (Hardjono, 2016).

Menurut Van den Boogaard (2022), obat-obatan antikanker pada proses kemoterapi dibagi dalam beberapa golongan berdasarkan mekanisme kerjanya, sebagai berikut:

a. Agen Pengalkilasi

Obat alkilator memiliki gugus alkilator yang aktif, dalam kondisi fisiologis dapat membentuk gugus elektrofilik dari ion positif karbon, untuk menyerang lokus kaya elektron dari makromolekul biologis untuk membentuk ikatan kovalen dengan DNA. Salah satu contoh obat golongan agen pengalkilasi yaitu cisplatin. Cisplatin bersifat toksik karena cukup mudah bereaksi dengan DNS dengan cara berikatan silang dengan rantai ganda DNA yang efeknya menyerupai alkylator (Anwar, 2013).

b. Golongan Antimetabolit

Obat golongan ini terutama mengusik metabolisme asam nukleat dengan menghambat sintesis DNA, RNA, dan makromolekul protein. Contoh obat golongan antimetabolit adalah doxorubicin (Anwar, 2013). Antimetabolit (misalnya, metotreksat, pemetrexed, dan gemcitabine) bersifat kompetitif penghambat proses metabolisme dan sebagian besar dieliminasi oleh ginjal, menyebabkan terhadap nefrotoksisitas. Umumnya, penggabungan antimetabolit dalam DNA atau RNA (prekursor) menyebabkan penghambatan sintesis DNA dan RNA, menghentikan pembelahan sel dan memicu sel kematian (Van den Boogaard, 2022).

### c. Golongan Antibiotik

Obat golongan antibiotik ini bekerja dengan menyusup masuk ke pasangan basa didekat rantai gandan DNA, menimbulkan terpisahnya kedua rantai DNA, mengusik transkripsi DNA dan produksi mRNA. Contoh obat golongan antibiotik ini antara lain aktinomisin D, daunorubisin, adriamisin, epirubisin, pirarubisin, idarubisin (Anwar, 2013). Golongan antibiotik ini juga dikenal sebagai topoisomerase II inhibitor, sebagian besar beracun bagi jantung dan nefron, contohnya antrasiklin. Obat ini banyak digunakan untuk melawan kanker payudara, limfoma agresif, tumor padat masa kanak-kanak, dan sarkoma jaringan lunak dan mekanismenya sebagian besar didasarkan pada interkalasi DNA. Akibatnya, DNA dan sintesis RNA diblokir dan terjadi lesi DNA seperti putusnya untai ganda yang menyebabkan sindrom nefrotik, sklerosis glomerulus (Van den Boogaard, 2022).

## **4. Ekstraksi**

Ekstraksi tanaman obat adalah proses memisahkan bahan tanaman aktif atau metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, terpen, saponin, steroid, dan glikosida dari bahan inert atau tidak aktif, menggunakan prosedur ekstraksi pelarut dan standar yang sesuai. Prosedur ekstraksi ditarik oleh pelarut sehingga zat aktif larut dalam pelarut. Metode dasar ekstraksi adalah infudasi, maserasi, perkolasi, soxhletasi. Pemilihan metode tersebut disesuaikan untuk memperoleh sari yang diinginkan (Abubakar dan Haque, 2020).



Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi biomolekul dari tanaman tergantung pada polaritas dari zat terlarut, jenis tanaman, bagian tanaman yang akan diekstraksi, sifat senyawa bioaktif, dan ketersediaan pelarut. Pelarut yang polaritasnya serupa dengan zat terlarut akan membubarkan zat terlarut. Urutan pelarut dari kurang polar hingga sangat polar, yaitu: heksana < kloroform < ethylacetate < aseton < metanol < air. Pelarut polar seperti air, metanol, dan etanol digunakan dalam ekstraksi senyawa polar. Sedangkan pelarut nonpolar seperti heksana dan diklorometana digunakan dalam ekstraksi senyawa nonpolar (Abubakar dan Haque, 2020; Altemimi *et al.*, 2017).

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Maserasi dilakukan dengan merendam bahan tanaman/ bahan obat berupa bubuk kasar di dalam wadah berisi pelarut organik, dalam suhu ruang selama periode waktu tertentu. Pelarut dituangkan di atasnya sampai sepenuhnya menutupi bahan tanaman. Wadah kemudian ditutup dan disimpan selama setidaknya tiga hari. Konten diaduk secara berkala, dan jika ditempatkan di dalam botol itu harus diguncang untuk memastikan ekstraksi lengkap. Pada akhir ekstraksi, surfaktan dipisahkan dari pelarutnya dengan filtrasi atau dekantasi. Selanjutnya, diaupkan dalam oven atau di atas bak air. Metode ini nyaman dan sangat cocok untuk bahan tanaman yang termolabil (Abubakar dan Haque, 2020).

Penekanan utama dalam maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan bahan yang diekstraksi, sehingga

memaksimalkan proses difusi. Dinding dan membran sel akan pecah akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar 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. Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Goyal *et al.*, 2020).

## **5. Uji Aktivitas Secara *In Silico***

Metode *in silico* berguna untuk memberikan pengetahuan awal tentang senyawa obat jenis ikatan sebagai ligan dengan makromolekul tertentu. Hal ini dapat menentukan lebih banyak potensi senyawa sebagai penghambat protein target tanpa menimbulkan efek biologis yang merugikan dan juga untuk mencegah kegagalan penelitian eksperimental dengan memprediksi potensi senyawa sebagai obat. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar untuk melakukan penelitian eksperimental selanjutnya (Sulfahri, 2019). *In silico* merupakan cara identifikasi obat baru yang cepat dan tidak membutuhkan biaya mahal seperti metode lain. Uji *in silico* dilakukan dengan cara *moleculer docking* yang dapat memprediksi aktivitas suatu senyawa dengan sel target (reseptor) (Hardjono, 2016).

*Docking* merupakan upaya untuk menselaraskan antara ligan dan protein dengan memperhatikan sifat keduanya. Ligan sendiri merupakan molekul kecil, sedangkan reseptor sendiri disebut dengan molekul protein

yang besar (Jensen, 2007). Hasil dari uji *in silico* yaitu berupa nilai *Rerank Score* (RS). *Rerank Score* merupakan energi ikatan yang ditunjukkan melalui adanya jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dan reseptor. Semakin kecil nilai energi ikatan yang didapatkan maka ikatan tersebut semakin stabil, dan jika semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor maka bisa dikatakan bahwa aktivitas senyawa tersebut semakin besar (Hardjono, 2016). Doking merupakan suatu tahap identifikasi energi terendah dari proses interaksi ligan dengan reseptor yang sudah diketahui strukturnya (Siswandono, 2016).

Proses *docking* terbagi atas dua jenis, antara lain *blind docking* dan *oriented docking*. Apabila tidak diketahui letak sisi aktif dari reseptor dengan tepat disebut sebagai *blind docking*, sedangkan apabila diketahui sisi aktif dari reseptor dengan tepat disebut sebagai *oriented docking*. Tujuan dari *molecular docking* ini adalah pemodelan struktur dan memprediksi aktivitasnya secara akurat (Syahputra, 2014).

Selanjutnya, dalam metode *in silico* ini, potensi suatu senyawa dapat diprediksi juga berdasarkan aturan Lipinski. Aturan Lipinski adalah suatu aturan untuk memprediksi potensi senyawa bioaktif sebagai ligan untuk memenuhi kesesuaian dengan keserupaan obat di dalam tubuh, dengan mempertimbangkan ADME (Adsorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Ekskresi) (ADME). Ada empat parameter aturan Lipinski: berat molekul kurang dari 500 g/mol, lipofilisitas (Log P) kurang dari 5, tidak lebih dari 5 donor ikatan hidrogen, dan tidak lebih dari 10 akseptor ikatan hidrogen.

Parameter ini terhubung dengan ketersediaan biooral yang baik (Syed *et al.*, 2019).

## **6. Tinjauan Umum Larva Udang *Artemia salina* Leach**

### **a. Morfologi Larva Udang *Artemia salina* Leach**

*Artemia salina* Leach atau *Brine Shrimp* merupakan zooplankton dan tergolong udang primitif. Nama *Artemia* diberikan untuk pertama kali oleh Shlosscer yang menemukannya di suatu danau asin pada tahun 1755. *Artemia* semula diberi nama *Cancer salina* oleh Linnaeus pada tahun 1778 melengkapi jasad renik ini menjadi *Artemia salina* Leach (Kholish, 2010).

Tubuh terbagi atas bagian kepala, dada, dan perut. Pada bagian kepala terdapat 2 tungkai mata, 2 antena, dan 2 antenula. Dada terbagi atas 11 segmen yang masing-masing mempunyai sepasang kaki renang, sedangkan perut terbagi atas 8 segmen. *Artemia salina* dewasa bentuknya telah sempurna. Reproduksi *Artemia salina* dapat dengan bertelur atau dengan melahirkan anak. Pergantian reproduksi ini dimungkinkan oleh jumlah klorofil dalam makanannya dan faktor oksigen dalam lingkungan. Konsentrasi oksigen yang rendah dan klorofil yang tinggi dalam makanannya menyebabkan reproduksi dengan telur, dan sebaliknya akan menyebabkan reproduksi dengan melahirkan anak. Penetasan telur *Artemia salina* L. yang baik perlu memperhatikan beberapa faktor yaitu: hidrasi dari kista-kista, aerasi, penyinaran, suhu,

derajat keasaman (pH), dan kepadatan telur dalam media penetesan (Hendrawati, 2009).



**Gambar 5.** Larva Udang *Artemia salina* (Sumber: researchget.net.)

#### **b. Klasifikasi *Artemia salina***

Klasifikasi *Artemia salina* dalam sistematika hewan adalah sebagai berikut (Wibowo, 2013):

Kingdom	: Animal
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Crustacea
Sub kelas	: Branchiopoda
Ordo	: Anostraca
Famili	: Artemiidae
Marga	: Artemia
Jenis	: <i>Artemia salina</i> Leach

#### **c. Lingkungan Hidup *Artemia salina***

Telur *Artemia salina* L. dapat bertahan dalam kondisi kering dan dapat disimpan cukup lama. Telur ini bila diberi air laut pada suhu 23 °C maka ia akan menetes dalam 1-2 hari dan dapat langsung digunakan dalam uji toksisitas. Uji toksisitas pada hewan uji dimaksudkan untuk ekstrapolasi hasil terhadap manusia untuk mencari dosis yang aman. Parameter yang digunakan dalam uji ini adalah efek toksikan (respon)

terhadap hewan uji. Respon tersebut dapat dilihat hanya berupa immobilisasi ke dalam tiap tabung berisi konsentrasi toksikan yang berbeda dimasukkan 10 ekor hewan uji, disertai dengan tabung kontrol. Immobilisasi ini sudah dianggap sebagai kematian untuk hewan uji seperti *Artemia salina* Leach. Nilai LC<sub>50</sub> diperoleh dengan ekstrapolasi kurva (Soemirat, 2005).

Suatu metode uji hayati yang tepat dan murah untuk skrining dalam menentukan toksisitas suatu ekstrak tanaman aktif yaitu dengan menggunakan hewan uji *Artemia salina* Leach. *Artemia* sebelumnya telah digunakan dalam bermacam-macam uji hayati seperti uji pestisida, polutan, mikotoksin, anestetik, komponen seperti morfin, kekarsinogenikan dan toksikan dalam air laut. Uji dengan organisme ini sesuai untuk aktifitas farmakologi dalam ekstrak tanaman yang bersifat toksik. Penelitian menggunakan *Artemia salina* Leach memiliki beberapa keuntungan antara lain cepat, murah, mudah dan sederhana. Penetasan telur *Artemia salina* Leach yang baik perlu memperhatikan beberapa faktor yaitu: hidrasi dari kista-kista, aerasi, penyinaran, suhu, derajat keasaman (pH), dan kepadatan telur dalam media penetasan (Wibowo. 2013).

#### **d. *Brine Shrimpt Lethality Test (BSLT)***

*Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)* merupakan salah satu metode untuk menguji bahan-bahan yang bersifat toksik dan digunakan sebagai suatu *bioassay* yang pertama untuk penelitian bahan alam. Metode ini menggunakan larva *Artemia salina* Leach sebagai hewan coba. Uji

toksisitas dengan metode BSLT ini merupakan uji toksisitas akut dimana efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat, yaitu rentang waktu selama 24 jam setelah pemberian dosis uji. Prosedurnya dengan menentukan nilai LC<sub>50</sub>. Nilai LC<sub>50</sub> merupakan angka yang menunjukkan konsentrasi suatu bahan penyebab kematian sebesar 50% dari jumlah hewan coba dari aktivitas komponen aktif tanaman terhadap larva *Artemia salina* Leach. Suatu ekstrak dikatakan toksik berdasarkan metode BSLT jika harga LC <1000 µg/ ml (Wibowo, 2013).

Uji BSLT dapat digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah pada uji sitotoksik. Korelasi antara uji BSLT dengan uji sitotoksik adalah jika mortalitas terhadap *Artemia salina* Leach yang ditimbulkan memiliki harga LC<sub>50</sub> <1000 µg/mL. Tingkat toksisitas bahan ditunjukkan pada Tabel 1. (Yulianto, 2017).

**Tabel 1.** Kategori toksisitas bahan

Kategori	LC <sub>50</sub> (ppm)
Toksik Tinggi	<1
Toksik Sedang	>1 – <100
Toksik Rendah	>100

## 7. Uji Aktivitas Secara *In Vitro*

Reduksi garam tetrazolium menjadi produk formazan berwarna oleh sel yang aktif secara metabolik banyak digunakan untuk penilaian viabilitas sel. Di antara senyawa tetrazolium yang paling umum digunakan adalah MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromida] (Benov, 2019).

Prinsip pengujian MTT [3- (4,5-dimetil-2-tiazolil) uji -2,5-difenil-tetrazolium bromida] adalah reduksi garam tetrazolium kuning yang larut dalam air oleh sistem dehidrogenase dari metabolik aktif/ sel hidup menjadi kristal formazan biru/ magenta (MTT) yang tidak larut dalam air. (Karakas *et al.*, 2017). Kuantitas formazan diukur dengan mencatat perubahan absorbansi pada panjang gelombang 570 nm menggunakan spektrofotometer. Sel yang bermetabolisme secara aktif akan mengubah MTT menjadi produk formazan berwarna ungu dan ketika sel mati, mereka kehilangan kemampuan untuk mengubah MTT menjadi formazan (Riss *et al.*, 2016).

Metode MTT mengukur aktivitas metabolik karena sebagian besar didasarkan pada pembelahan cincin tetrazolium di mitokondria aktif. Dengan demikian, reaksi hanya terjadi pada sel-sel hidup. Untuk itu, metode MTT dapat digunakan untuk menentukan proliferasi sel atau sitotoksitas obat. MTT direduksi menjadi formazan oleh berbagai enzim oksidoreduktase intraseluler, terutama NADH reduktase (Luis *et al.*, 2019).

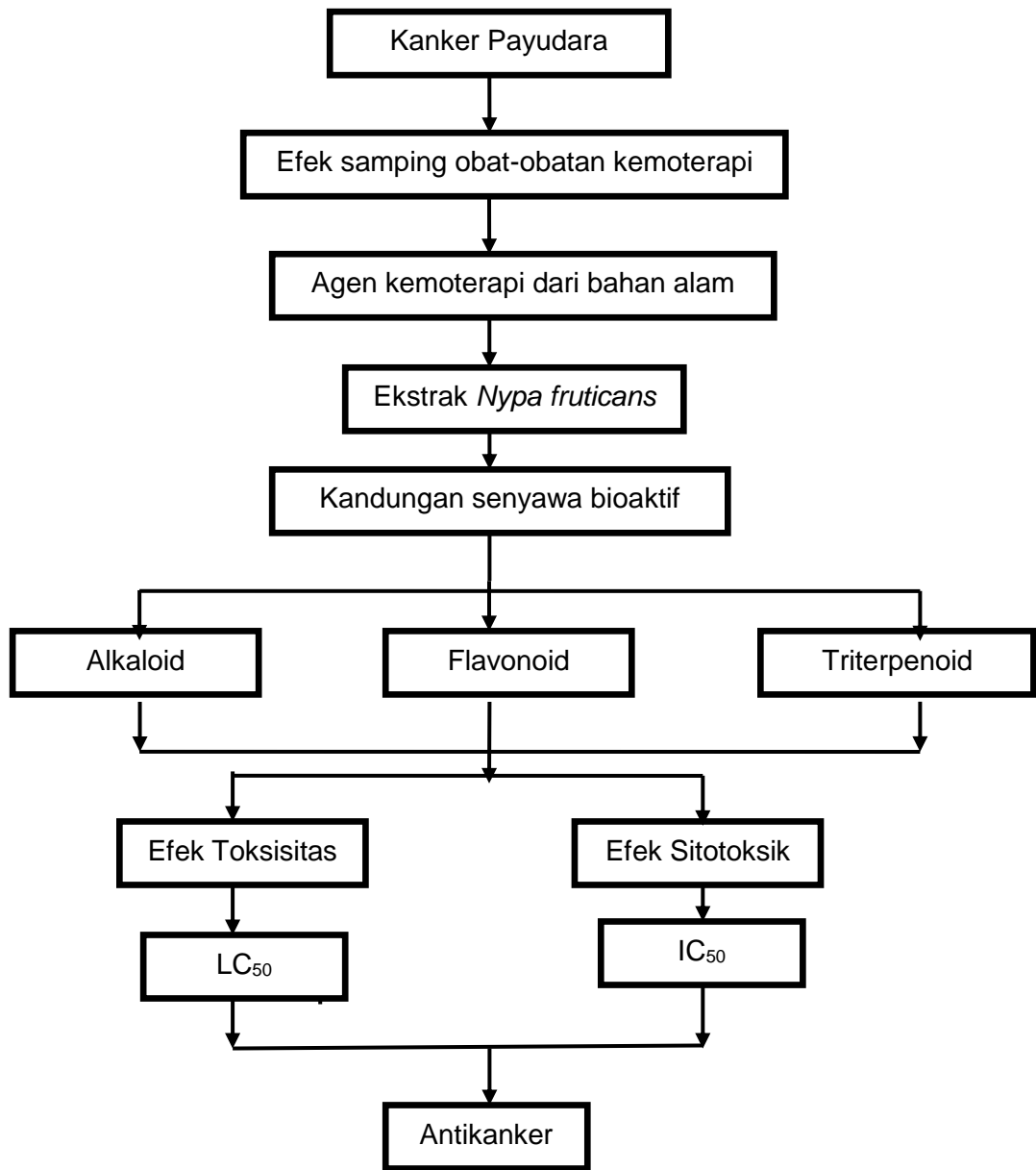
## **B. Kerangka Konseptual**

Penelitian ini dilatarbelakangi oleh usaha untuk menemukan senyawa agen antikanker payudara yang berasal dari bahan alam, khususnya dari tumbuhan pesisir mangrove. Pengobatan kemoterapi melalui obat-obatan sintetik dapat menimbulkan efek samping yang



tidak sedikit karena obat-obatan tersebut tidak memiliki kemampuan membedakan sel kanker yang berkembang pesat secara abnormal dengan sel sehat. Untuk itu pencarian sumber obat-obatan antikanker alami yang lebih aman sangat dibutuhkan sebagai bahan agen kemoterapi. Salah satu usaha untuk menemukannya adalah melalui eksplorasi senyawa bioaktif dari bahan alam. Penemuan senyawa bioaktif baru yang dapat digunakan sebagai *lead compound* dari bahan alam sangat menarik untuk dilakukan.

Salah satu bahan alam yang dapat digunakan sebagai agen antikanker payudara adalah mangrove jenis Nipah (*Nypa fruticans*). Daun Nipah memiliki kandungan senyawa bioaktif yang berdasarkan hasil penelitian memiliki aktivitas antioksidan dan antikanker terhadap sel WiDr.



**Gambar 6.** Alur Kerangka Konseptual

### C. Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini yaitu ekstrak daun Nipah (*Nypa fruticans*) berpengaruh positif terhadap kematian sel kanker payudara MCF-7, dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut :

H0: Tidak ada pengaruh signifikan pada pemberian ekstrak kasar etanol daun Nipah (*Nypa fruticans*) terhadap kematian sel kanker payudara MCF-7.

H1: ada pengaruh signifikan pada pemberian ekstrak kasar etanol daun Nipah (*Nypa fruticans*) terhadap kematian sel kanker payudara MCF-7.