PEMANFAATAN EKSTRAK KROKOT (*Portulaca oleracea* L) SEBAGAI ANTIKANKER PADA SEL LINE MCF-7 SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO*

Disusun dan diajukan oleh

SRI WAHYUNINGSIH
H052201009

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

PEMANFAATAN EKSTRAK KROKOT (*Portulaca oleracea* L.) SEBAGAI ANTIKANKER PADA SEL LINE MCF-7 SECARA IN VITRO DAN IN SILICO

Tesis Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai

Gelar Magister Program Studi Biologi Departemen Biologi

Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Hasanuddin

SRI WAHYUNINGSIH

H052202009

DEPARTEMEN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUANALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR

2023

TESIS

Pemanfaatan Ekstrak Krokot (*Portulaca oleracea* L.) Sebagai Antikanker Pada Sel Line MCF-7 Secara *In Vitro* dan *In Silico*

Disusun dan diajukan oleh

SRI WAHYUNINGSIH
H052201009

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal, **Desember 2022**
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat

Ketua	Anggota
Dr. Eva Johannes, M.Si	**Dr. Sulfahri, M.Si.**
NIP: 196102171986012001	**NIP: 198901262014041001**

Ketua Program Studi, Magister Biologi	Dekan Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin,
Dr. Juhriah, M.Si.	**Dr. Eng. Amiruddin, M.Si**
NIP: 196312311988102001	**NIP: 197205151997002 1002**

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama	: Sri Wahyuningsih
NIM	: H052201009
Program Studi	: Biologi
Jenjang	: S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

"Pemanfaatan Ekstrak Krokot (*Portulaca oleracea* L.) Sebagai Antikanker Pada Sel Line MCF-7 Secara *In Vitro* dan *In Silico*"

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain dan bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan isi tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Desember 2022

Yang menyatakan,

METERAI TEMPEL

D7A6AJX781776456

Sri Wahyuningsih

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatu

Puji syukur kita panjatkan atas kehadiran Allah swt. atas segala berkat dan limpahan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul "**PEMANFAATAN EKSTRAK KROKOT (*Portulaca oleracea* L.) SEBAGAI ANTIKANKER PADA SEL LINE MCF-7 SECARA IN VITRO DAN IN SILICO**" dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan tugas akhir (Tesis) di Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Salam serta shalawat semoga tetap tercurah kepangkuan baginda Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat dan pengikutnya.

Penulis juga menyadari bahwa penulisan ini tidak akan mungkin dapat terselesaikan tanpa adanya Doa dan dukungan dari orang-orang terhebat dalam hidup penulis yaitu orangtua tercinta. Ungkapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Ayahanda Kaharuddin, S.Pd dan Ibunda Nurhayati, S.Pd, serta adik dan keluarga atas segala Doa, semangat, dukungan finansial serta pengorbanan. Semoga Kasih Sayang Allah Swt. Selalu tercurah untuk kita semua.

Kepada pembimbing yang telah memberikan arahan, dukungan serta kesabaran dalam memberikan bimbingan kepada penulis, rasanya tiada kata yang pantas diucapkan selain terima kasih yang tak terhingga. Olehnya itu, secara mendalam saya menyampaikan ucapan terima kasih sebesar-besarnya kepada Dr.

Eva Johanness, M.Si dan Dr. Sulfahri, M.Si selaku penasehat pada penyusunan tesis ini, serta memberikan arahan dan motivasi dalam proses penyusunan tesis ini.

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat, terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Eng Amiruddin M.Sc selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta seluruh jajarannya.
2. Dr. Juhriah, M.Si selaku Ketua Prodi Jurusan Biologi Pascasarjana Universitas Hasanuddin, terima kasih atas segala ilmu, arahan serta bimbingan kepada penulis.
3. Dr. A. Masniawati, M.Si, Prof. Dr. Sjafaraenan, M.Si, Dr. Zaraswati DZ, M.Si., selaku penguji.
4. Seluruh dosen Departemen Pascasarjana Biologi yang telah membimbing dan memberikan ilmunya kepada penulis selama perkuliahan.
5. Serta staf pegawai, staf laboratorium *Science Building* Departemen Biologi yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan urusan administrasi dan penelitian ini.
6. Teman-teman Biologi Angkatan 2020 yang tercinta, Rihlaeni Duha S.Pd, M.Si, Lisa Ainayal Fatiha, S.Si, M.Si dan teman sekalian terima kasih atas kerjasama dan motivasinya selama ini.
7. Serta seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan dorongan, doa, semangat, saran dan pemikiran sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Akhir kata penulis ucapkan terima kasih, semoga Tesis ini dapat berguna bagi kita semua, dan memberikan banyak manfaat bagi setiap orang yang membutuhkan ilmu pengetahuan serta bahan-bahan informasi untuk peneliti. Semoga Allah SWT selalu membimbing dan melindungi kita semua, Amin.

Makassar, Januari 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ii
HALAMAN PENGESAHAN iii
KATA PENGANTAR v
DAFAR ISI viii
DAFTAR TABEL viii
DAFTAR GAMBAR ix
ABSTRAK xii
ABSTRACT xiii
BAB I PENDAHULUAN 1
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 3
C. Tujuan Penelitian 3
D. Manfaat Penelitian 4
E. Waktu Dan Tempat Penelitian 4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 6
A. Krokot (*Portulaca Oleracea* L.) 5
B. Sistematika Krokot 8
C. Kandungan Senyawa Tumbuhan Krokot (*Portulaca Oleracea* L.) 8
D. Tinjauan Umum *Artemia Salina* 13
E. Ekstraksi Krokot 15
F. Sel Kanker 18
G. Kanker Payudara MCF-7 20
H. In Silico 23
I. Kerangka Konseptual 26
J. Definisi Operasional 29
BAB III METODE PENELITIAN 30
A. Rancangan Penelitian 30
B. Lokasi Penelitian 30

C. Alat Dan Bahan 30
D. Pengumpulan Data 32
E. Analisis Data 37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 39
A. Pengujian BSLT 39
B. Uji GS-MS 42
C. Uji Antikanker Dengan Metode MTT *Assay*. 50
D. Uji *In Silico*. 54
E. Hasil Analisis Uji Toksisitas 57
Bab V PENUTUP 61
A. Kesimpulan 61
B. Saran 61
DAFTAR PUSTAKA 62
LAMPIRAN 67

DAFTAR TABEL

Nomor **Halaman**

1. Hasil Pengamatan Uji Toksisitas Krokot pada *Artemia salina* Leach……40
2. Komposisi Kimiawi Penyusun Daun Krokot (*Portulaca oleracea* L.) dari Hasil Uji GS-MS…….44
3. Hasil Uji Antiproliferative Ekstrak Daun Krokot Terhadap Sel MCF-7……50
4. Hasil *molecular docking*…….54
5. Hasil Prediksi Toksisitas Senyawa Uji dan Senyawa Pembanding ……...58

DAFTAR GAMBAR

Nomor **Halaman**

1. Gambar Grafik Log Konsentrasi dan Mortalitas Probit Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Portulaca oleracea* terhadapt *Artemia salina*……..40
2. Gambar Kromatogram GC-MS Daun Krokot (*Portulaca oleracea* L.)……..43
3. Gambar Grafik Hubungan Konsentrasi Ekstak *Portulaca oleracea* L dengan Persen Kematian Sel MCF-7……...51
4. Gambar Visualisasi Docking Molekuler…….54

ABSTRAK

Indonesia adalah salah satu negara dengan keanekaragaman hayati tertinggi di dunia termasuk tumbuhan. Tingginya diversitas tumbuhan di Indonesia, tentunya akan memberikan manfaat dari pemanfaatan diversitas tersebut, salah satunya sebagai tumbuhan obat. Daun krokot (*Portulaca oleracea* L.) merupakan jenis tanaman liar yang digunakan sebagai pengobatan herbal. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis potensi sitotoksik dan menganalisis aktivitas ekstrak etanol dari daun Krokot (*Portulaca oleracea* L.) sebagai antikanker sel line MCF-7. Penelitian eksperimental ini menggunakan 300 ekor larva udang (*Artemia salina* Leach) dengan konsentrasi 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm dan 750 ppm yang dianalisis dengan mengetahui nilai LC_{50} sebesar 163.71 ppm. Pada uji GC-Ms didapatkan beberapa senyawa termasuk 9-Octadecanoic acid (Z)- dari ekstrak etanol daun krokot. Uji aktifitas antikanker senyawa tersebut diidentifikasi dengan penghambatan terhadap sel line MCF-7 menggunakan MTT *assay* diperoleh dengan nilai IC_{50} sebesar 254,70 ug/ml. Selanjutnya diuji potensinya dengan *docking* senyawa uji terhadap residu pada reseptor estrogen β (ER-β). Data hasil simulasi berupa nilai energi bebas Gibbs (AG) menunjukkan kestabilan interaksi ligand senyawa uji terhadap residu pada reseptor estrogen β (ER-β). Hasil docking menunjukkan bahwa afinitas antara senyawa 9-Octadecanoic acid (Z)- dan Estrogen β (ER-β) adalah -7,0 kcal/mol.

Kata kunci: Kanker payudara, MCF-7

ABSTRACT

Indonesia is one of the countries with the highest biodiversity in the world, including plants. The high diversity of plants in Indonesia, provides benefits from the use of this diversity, one of which is as a medicinal plant. Purslane leaf (*Portulaca oleracea* L.) is a type of wild plant that is used as herbal medicine. This study aimed to determine the utilization of purslane leaf ethanolic extract and the potential of stigmasterol compounds against the estrogen receptor ER-β as an anticancer. This experimental study used 300 shrimp larvae (*Artemia salina* Leach) with concentrations of 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, and 750 ppm which were analyzed by knowing the LC_{50} value of 163.71 ppm. The 9-Octadecanoic acid (Z)-compound was obtained from purslane leaf ethanol extract from the GC-MS test. The anticancer activity test of these compounds was identified by inhibition of the MCF-7 cell line using an MTT *assay* obtained with an IC_{50} value of 254.70 μg/mL. 9-Octadecanoic acid (Z)- compound was also tested for their potency by docking the test compounds to residues on the estrogen receptor (ER-β). Simulation data in the form of Gibbs free energy value (ΔG) indicates the stability of the ligand interaction of the test compound with residues on the estrogen receptor (ER-β). The docking results showed that the affinity between 9-Octadecanoic acid (Z)-compounds and Estrogen (ER-β) was -7.0 kcal/mol.

Keywords: Breast cancer, MCF-7

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker adalah penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel yang abnormal, tidak dapat dikendalikan, dan dapat merusak serta menyebar ke jaringan lain. Salah satu jenis kanker yang berbahaya yaitu kanker payudara. Kanker payudara merupakan jenis kanker yang paling banyak di derita oleh wanita dan lebih dari satu juta orang meninggal di seluruh dunia setiap tahun (Schneeweiss, 2020). Pada tahun 2020, kasus baru kanker payudara di Indonesia berdasarkan data IARC (*International Agency for Research on Cancer*), berada pada peringkat pertama sebanyak 65.858 kasus dibandingkan dengan kasus kanker paru yang berada pada posisi ketiga sebanyak 34.783 kasus (WHO, 2020). Jumlah kasus dan kematian akibat kanker di Indonesia mencapai 53% dari total kasus (9,6 juta kematian dari sebesar 18,1 juta kasus) dan ini diperkirakan akan terus meningkat hingga lebih dari 13,1 juta pada tahun 2030 (Kemenkes RI, 2019).

Pada saat ini, penderita kanker payudara dapat diobati dengan berbagai metode pengobatan antara lain; terapi biologi, radioterapi, pembedahan serta kemoterapi (Wang et al., 2017). Tentunya, pengobatan dengan kemoterapi memiliki efek samping bagi tubuh. Sel tubuh akan mengalami resistensi terhadap senyawa bahan kemoterapi. Resistensi sel terhadap obat dapat menyebabkan rendahnya peluang keberhasilan pengobatan bagi penderita kanker. Selain itu, konsumsi obat-obatan kimiawi secara rutin dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan normal tubuh yang berdekatan (Febriani, 2019).

Salah satu solusi alternatif yang digunakan saat ini untuk pengobatan berbagai penyakit adalah menggunakan tanaman yang memiliki potensi menyembuhkan penyakit, dan tidak memiliki efek samping serta aman dikonsumsi. Selama ribuan tahun, obat-obatan herbal telah digunakan sebagai sumber utama pengobatan medis dalam sistem pengobatan lama dan dimanfaatkan secara intensif untuk tujuan farmakologis (Zahra et al., 2021).

Salah satu tumbuhan obat yang memiliki efek farmakologis yaitu tumbuhan Krokot (*Portulaca oleracea* L.) yang paling banyak digunakan secara tradisional untuk mengobati berbagai jenis penyakit seperti liver, obesitas, dan dislipidemia (Gheflati et al., 2019) sehingga dimasukkan ke dalam kelompok "*Global Panacea*" (Zhou et al., 2015). Krokot adalah tumbuhan gulma termasuk genus Portulaca dalam famili Portulacaceae, memiliki batang berbentuk bulat berwarna coklat keunguan, berdaun tunggal, permukaan daun berwarna hijau dan permukaan bagian bawahnya berwarna merah tua (Chowdary et al., 2013).

Tanaman Krokot (*Portulaca oleracea* L.) umumnya dikenal karena memiliki senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antimikroba, antiinflamasi dan antikanker (Yue, 2015). Tumbuhan ini kaya akan kandungan fitokimia yang tinggi berupa senyawa seperti alkaloid, katekolamin, asam fenolik, antosianin, lignan, terpenoid, asam lemak, vitamin, protein, mineral, dan berbagai senyawa lainnya (Kumar et al., 2022). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa adanya flavonoid sebagai bioaktif utama dari kandungan krokot (Sicari, 2018).

Untuk mengetahui toksisitas suatu senyawa tumbuhan diperlukan metode yang tepat, cepat dan sederhana. Salah satu metode yang digunakan adalah metode

BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. Pada metode ini, sering digunakan untuk uji pendahuluan terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tumbuhan yang dapat menentukan toksisitas suatu senyawa dan hasilnya representatif dan dapat dipercaya (Kurniawan, 2021). Sedangkan untuk pengujian aktivitas antikanker pada *cell line* biasa digunakan metode MTT (Methylthiazol Tetrazolium) *assay*. Metode MTT *assay* adalah suatu untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa dalam menghambat pertumbuhan sel dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel kanker payudara MCF-7 (Wati, 2016). Pengujian selanjutnya akan dikonfirmasi secara *in silico* melalui metode *docking moleculer* dengan bantuan *database, webserver,* dan *software* untuk memprediksi toksisitas senyawa (Sulfahri et al., 2019).

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti ingin menguji apakah ekstrak daun krokot (*Portulaca oleracea* L.) memiliki potensi sebagai antikanker, khususnya kanker payudara MCF-7.

B. Rumusan Masalah

Apakah krokot (*Portulaca oleracea*) memiliki potensi sebagai antikanker *cell line* MCF-7 secara *in vitro* dan *in silico*?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi ekstrak daun Krokot (*Portulaca oleracea*) sebagai antikanker *cell line* MCF-7 secara *in vitro* dan *in silico.*

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bukti ilmiah tentang aktivitas ekstrak Krokot *Portulaca oleracea* sebagai antikanker pada sel line MCF-7 secara *in vitro* dan *in silico.*

E. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian akan dilakukan pada bulan Agustus 2021 – Oktober 2021. Pengambilan sampel dilakukan di Daerah Kabupaten Mallawa, Maros, Sulawesi Selatan. Pengambilan ekstraksi dilakukan di Laboratorium Botani Departemen Biologi Fakultas MIPA Unhas dan Laboratorium Biokimia Departemen Kimia Fakultas MIPA Unhas. Pengujian MCF-7 dilakukan di Laboratorium Sentral Universitas Padjajaran.

BAB II

TINJAUAN TEORITIS

A. Krokot (*Portulaca oleracea* L.)

Krokot adalah salah satu tumbuhan obat tradisional Cina yang terkenal dan dikonsumsi dengan berbagai cara di seluruh dunia (Kim et al., 2015). Tumbuhan ini sejak lama telah dikenal sebagai bahan baku obat-obatan maupun kosmetik. Di Cina krokot dikenal dengan nama *Ma-Chi-Xian* yang merupakan salah satu tumbuhan penting dalam pengobatan tradisional Cina. WHO (*World Health Organization*) mencatat bahwa krokot sebagai tumbuhan obat yang paling banyak digunakan dan secara tradisional dapat digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit sehingga dimasukkan dalam kelompok "*Global Panacea*" (Zhou, 2015).

Tumbuhan ini lebih sering dinilai sebagai gulma atau tumbuhan liar (Ningsih, 2016). Krokot sendiri menduduki urutan ke-9 sebagai gulma pengganggu pada 45 jenis tumbuhan pertanian di 81 negara, merupakan gulma lahan kering yang tumbuh baik di daerah terbuka maupun di bawah naungan tanaman lainnya, banyak dijumpai di sela-sela tanaman palawijaya seperti kedelai, kacang tanah, ubi jalar, kentang, cabe, tomat, dan tanaman sayuran serta palawijaya lainnya (Sudaryanti et al., 2017).

Krokot (*Portulaca oleracea* L.) merupakan tanaman herba tahunan yang dapat hidup abadi di tanah tropis, dapat dikonsumsi, dan memperoleh banyak manfaat. Krokot dapat tumbuh dengan baik meski terjadi perubahan iklim dan komposisi tanah yang kurang baik. Krokot dalam bidang pengobatan tradisional

bermanfaat dalam mengobat sakit tenggorokan, ruam kulit, dan detoksifikasi. Selain itu, krokot dapat dikonsumsi sebagai sayuran bergizi dan digunakan untuk sifat farmakologisnya (Besong et al., 2011). *Portulaca oleracea* L. merupakan spesies kosmopolitan dan genus Portulaca termasuk dalam famili Portulacaceae, famili kecil dengan 21 genera dan 580 spesies, dan penyebarannya bersifat kosmopolitan, terutama terdapat di Amerika dengan beberapa spesies terdapat di Arabia. Tanaman Krokot adalah tanaman sukulen, herba tahunan, dan tegak atau luruh hingga setinggi 30 cm. Tanaman krokot secara botani dikenal sebagai *Portulaca oleracea* dan juga disebut portulaca. Sebagai habitat, ia tumbuh dengan baik di kebun buah, kebun anggur, ladang tanaman, area lanskap, taman, pinggir jalan, dan situs terganggu lainnya (Chugh et al., 2019).

Ciri khas krokot yaitu memiliki batang berbentuk bulat berwarna coklat keunguan, silindris, panjang sampai 30 cm, diameter 2-3 mm, hijau atau merah, bengkak pada simpul, licin, tidak berbulu terlepas dari ketiak daun, bercabang menyebar, dan panjang ruas 1,5-3,5 cm. Selain itu, *Portulaca oleracea* adalah berdaun tunggal, tumbuh tegak, batang dan daun tebal berdaging berbentuk bulat telur dengan warna permukaan atau daun berwana hijau tua dan permukaan bagian bawahnya berwarna merah tua, bagian ujung daun berbentuk bulat melekuk ke dalam dengan tangkai. Daunnya berbentuk telur sampai spatula, berair, tidak bertangkai atau memiliki tangkai yang sangat pendek, panjangnya sekitar 5-30 mm, dan kadang ujungnya berwarna merah. Daun berwarna hijau atau hijau dengan margin merah pendek (Chowdary et al., 2013).

Kotiledon (daun berbiji) berbentuk telur sampai lonjong, tidak berbulu, berair, panjang sekitar 2-5 mm, dan kadang diwarnai merah. Para inisiat berbunga selama Mei hingga September. Bunga berasal dari satu atau kelompok dua hingga lima di ujung batang. Bunganya kecil berwarna kuning jingga, ungu, atau merah muda putih dengan lima kelopak dan biasanya hanya mekar pada hari-hari yang panas dan cerah dari pagi hingga sore hari. Bunga tumbuh pada ujung batang secara berkelompok dan berwarna kuning. Bijinya berukuran hampir kecil satu milimeter atau kurang yang memiliki permukaan berbutir, berwarna coklat kemerahan bila bentuknya belum matang dan menjadi hitam saat telah matang (Syed et al., 2016).

Buahnya terdiri dari kapsul hampir bulat sampai berbentuk telur, biasanya panjangnya sekitar 4-8 mm yang terbuka di bagian tengah untuk mengeluarkan bijinya. Biji berukuran kecil, diameter kurang dari 1 mm, bundar hingga berbentuk telur, pipih, berwarna coklat kehitaman dengan ujung putih menempel. Banyak biji yang dihasilkan (Uddin et al., 2014).

Gambar. 2.1. Krokot (*Portulaca oleracea* L)

B. Sistematika Krokot

Menurut (Chugh, 2019), Klasifikasi Krokot yaitu:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Caryophyllidae
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Portulacaeae
Genus	: Portulaca
Spesies	: *Portulaca oleracea* L.

C. Kandungan Senyawa Tumbuhan Krokot (*Portulaca olearacea* L.)

Senyawa bioaktif adalah senyawa kimia bahan alam yang mempunyai aktivitas biologis yang dapat dimanfaakan untuk berbagai keperluan. Berdasarkan pengobatan tradisional dapat digunakan untuk pengobatan penyakit kudis, batuk terus menerus, klasing, sebagai antipiretik dan efisien dalam penyembuhan luka bakar, relaksasi otot serta pengobatan kanker (Rahbarian, 2010). Selain itu, terdiri dari bahan enamel, pektin, karbohidrat, protein, asam lemak, khususnya asam lemak tak jenuh Omega-3 dan alkaloid. Selain itu, mengandung mineral seperti besi, tembaga, kalium, selenium, dan vitamin A, E, dan C.

Krokot (*Portulaca oleracea* L.) adalah salah satu obat herbal bernilai yang tumbuh secara liar atau ditanam di berbagai belahan dunia (Azarifar et al., 2018). Tumbuhan ini, kaya akan antioksidan, termasuk tokoferol, asam askorbat, dan

glutathione (Saikia et al., 2010). Sama halnya dengan tanaman lain krokot juga memiliki senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, polisakarida, fenolik, sterols, proteins, omega-3, vitamin, mineral, dan lain sebagainya (Rahimi et al.,, 2019).

Banyaknya aktivitas kandungan kimia yang beragam dari krokot meliputi protein (gluthatine), karbohidrat, mineral seperti kalsium, magnesium, asam oksalat, thiamine, riboflavin, asam nikotinat, dan vitamin; karotin (sebagai vitamin A), vitamin E, asam-asam lemak. Asam lemak yang banyak terkandung dalam krokot adalah asam emak omega-3. Selain itu, juga krokot mengandung tannin, saponin dan beberapa senyawa organik alkaloid, komarin, flavonoid, *cardiac glycosides, anthraquinone glycosides,* fenol, dan alanine (Wasnik, 2014).

Beberapa penelitian menunjukkan adanya flavonoid sebagai bioaktif utama dari kandungan krokot (Sicari, 2018). Senyawa flavonoid ini merupakan antioksidan kuat yang dapat mencegah terbentuknya radikal bebas. Menurut Karlina (2013), mengungkapkan bahwa senyawa metabolit sekunder flavonoid yang terkandung di ekstrak herba krokot bersifat polar. Flavonoid adalah golongan fitokimia yang bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil sehingga bersifat polar dan larut pada pelarut polar seperti etanol, methanol, aseton, air dan lain-lain (Melodita, 2011).

Salah satu unsur aktif krokot yang paling melimpah dan penting yaitu flavonoid. Selain itu, flavonoid merupakan senyawa polifenolik yang ditemukan di sebagian tanaman obat yang terkenal memiliki antioksidan dan senyawa satu turunan yaitu luteolin (George et al., 2017) yang memiliki banyak efek biologis

termasuk anti kanker (Brodowska, 2017). Kaempferol dan apigenin telah diisolasi terutama dari daun dan batang. Juga, Luteolin, mycricetin, quercetin, genistein dan genistin telah diturunkan dari seluruh tumbuhan. Portulacanones A, Portulacanones B, Portulacanones C, Portulacanones D dan 2,2'-Dihydroxy-4',6'-dimentheoxychalcone telah diisolasi dari bagian aerial *Portulaca oleracea* L. Konsentrasi flavonoid di berbagai bagian tanaman berbeda-beda. Jumlah tertinggi ditemukan di akar diikuti batang dan daun. Selain itu, kaempferol, apigenin, luteolin, mycricetin, dan quercetin adalah bagian utama flavonoid pada krokot (Ali, 2014).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa krokot mengandung banyak komponen senyawa aktif. Beberapa senyawa yang telah dilaporkan mencakup omega-3, asam organik (asam oksalat, asam kafein, asam malat, dan asam sitrat), alkaloid, komarin, flavonoid, glikosida jantung, glikosida antrakninon, alanine, katekolamin, saponin, dan tannin (Xin et al., 2011). Hasil penelitian (Wasnik, 2014) menunjukkan portulaca mengandung saponin, glikosida, alkaloid, steroid, flavonoid, senyawa fenol, di dantriterpene, tannin dan protein.

Menurut (Sicari, 2018), jenis flavonoid dalam krokot adalah apigenin, kaempferol, lutcolin, quersetin, isorhamnetin dan kaempferol 3-O-glikosida. Sedangkan senyawa fenol terdiri atas asam kafeat, asam ρ-kumarat, dan asam ferulat. Analisis pada daun menunjukkan adanya protein, karbohidrat, bahan mineral, kalsium, magnesium, asam oksalat, tiamin, riboflavin, asam nikotinat, vitamin C, karoten (sebagai vitamin A, vitamin E, asam lemak, termasuk asam lemak omega 3 (asam linolenat). Daun juga mengandung musilago yang

mengandung residu asam galakturonal, arabinose, galaktosa, dan rhamnosa. Ekstrak biji mengandung asam-asam lemak (asam palmitat, stearate, behenat, oleat, linoleat), sitosterol, protein (1-noradrenaline, dopamine, dopa, catechol), flavonoid liquiritin, beta karoten. Ekstrak ethanol mengandung glikosida monoterpen, portulosida A, sitosterol, allantoin, betanin dan betasianin.

Portulaca oleracea L. kaya dengan senyawa alkaloid, flavonoid, asam fenolik, karbohidrat, yang merupakan dasar untuk menyediakan antibiotik, antioksidan, anti-mutagenik dan anti kanker, sifat-sifat tanpa radikal bebas berbahaya. Banyak penelitian telah dilakukan pada efek terapeutik dan anti kanker *Portulaca oleracea* L memiliki kemampuan untuk menginduksi apoptosis pada sel kanker usus besar manusia. Beberapa alkaloid telah diisolasi dari berbagai bagian *Portulaca oleracea*. Dopamin, noradrenalin, dan DOPA merupakan alkaloid utama yang ditemukan pada batang, daun dan biji Portulaca oleracea. Oleraceins A, oleraceins B, oleraceins C, oleraceins D, oleraceins E, dan adenosine telah diturunkan dari seluruh tumbuhan dan oleraceins I dan oleraceins II terutama ditemukan di batang *Portulaca oleracea* (Zhou et al., 2015).

Beberapa senyawa yang ditemukan di Krokot termasuk asam lemak omega-3 dan khususnya ALA dianggap sebagai penekan tumor. Telah dibuktikan bahwa polisakarida Krokot juga memiliki aktivitas anti-virus dan an-algesik. Krokot telah terbukti memiliki beberapa mineral seperti fosfor, besi, magnase, kalsium, dan magnesium pada daunnya. Polisakarida dari *Portulaca oleracea* menampilkan beberapa aktivitas biologis, seperti anti kanker, anti oksidasi, anti inflamasi, dan peningkat kekebalan. Polisakarida ternyata mengais akumulasi radikal bebas dan

memodulasi fungsi kekebalan tikus yang mengidap kanker ovarium. Turunan tersulfasi dari POP, polisakarida yang larut dalam air yang diisolasi dari *Portulaca oleracea*, memiliki efek penekan pada pertumbuhan sel HeLa dan HepG2 secara in vitro, menunjukkan bahwa sulfasi POP meningkatkan sitotoksisitas dalam sel tumor (Chen et al., 2010).

Dalam beberapa tahun terakhir, aktivitas biologi polisakarida dari Krokot (*Portulaca oleracea* L) telah dipelajari, seperti antibakteri, anti-tumor, anti-virus, dan lain sebagainya (Chen, 2011). Krokot mengandung banyak biokonstituen, termasuk katekolamin, noradrenalin, dan dopamine yang digunakan dalam pengobatan saluran kemih, masalah pencernaan, dan penyakit kardiovaskular. Selain itu, memiliki berbagai aktivitas farmakologis, termasuk analgesic, anti-inflamasi, antimikroba, penyembuhan luka, dan efek hipoglikemik (Yue, 2015).

Selanjutnya berbagai vitamin telah ditemukan pada daun Krokot diantaranya vitamin A, riboflavin, niasin, piridoksin, vitamin C, folat, asam pantotenat dan thiamin (Yang, 2012) serta hesperidin dan α-tokoferol (Sayed, 2011). Telah dilaporkan bahwa polisakarida yang diisolasi dari Krokot menunjukkan aktivitas biologis yang berbeda seperti antikanker (Zhao, 2014).

Menurut (Gai, 2017), menunjukkan bahwa minyak biji krokot (PSO) menunjukkan aktivitas anti-oksidan *in vitro* yang bergantung pada dosis yang signifikan dan menghambat oksidasi lemak minyak kuda selama penyimpanan. Selain itu, tanaman krokot terutama mencegah pertumbuhan sel tumor pada sel HeLa kanker serviks, kanker esofagus Eca-109nyl-1,2-dihydro-1,2,4-triazin3(2H)-one, (3R)-3,5-Bis(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)-2,3-dihydro-2(1H) pyridinone

(Tian, *et al,* 2014), Timin, Urasil, N-cis-Feruloyltyramine, N-trans-Feruloyloctopamine, N-cis-Ferulolyloctopamine (Yan *et al,* 2012), Trollisine, Aurantiamide, Aurantiamide acetate, Cyclo(L-tyrosinyl-L-tyronsinyl), 1,5-Dimenthyl-6-phenyl-1, 6, 3, 4-tetrahydro-1,2,4-2(1H)-triazin dan Scopoletin (Moneim, 2013).

D. Tinjauan Umum *Artemia salina*

Menurut (Wibowo, 2013), *Artemia salina* dilakukan beradasarkan lokasi berkembangnya. Artemia yang berkembang secara alami di suatu lokasi mempunyai karakteristik morfologi dan taksonomi yang berbeda, klasifikasinya adalah sebagai berikut:

Filum	: Arthropoda
Sub Filum	: Branehiata
Kelas	: Crustacea
Sub Kelas	: Branchiopoda
Ordo	: Anostraca
Famili	: Artemiidae
Genus	: Artemia
Spesies	: *Artemia salina*

Artemia diperjualbelikan dalam bentuk telur dorman (istirahat) yang disebut dengan Siste. Siste berbentuk bulatan-bulatan kecil berwarna kelabu kecoklatan dengan diameter berkisar antara 200 - 350 mikron. Satu gram siste Artemia kering rata–rata terdiri dari 200.000 - 300.000 butir siste. Siste yang berkualitas baik akan menetas sekitar 18 - 24 jam apabila diinkubasikan dalam air bersalinitas normal.

Terdapat beberapa tahap (proses) penetasan Artemia, yaitu tahap hidrasi, tahap pecah cangkang, dan tahap payung atau tahap pengeluaran. Pada tahap hidrasi terjadi penyerapan air sehingga siste yang diawetkan dalam bentuk kering tersebut akan menjadi bulat dan aktif melakukan metabolisme.

Gambar 2.3. *Artemia salina*
Sumber: researchgate.net

Tubuh terdiri dari tiga segmen: kepala, dada, dan perut. Spesies ini menampilkan dimorfisme seksual, perbedaan morfologi utama antara jantan dan betina diamati pada jarak maksimum antara mata majemuk, panjang antena pertama, lebar segmen perut ketiga, panjang total, diameter mata majemuk, panjang perut. Jantan dewasa panjangnya mencapai 8-10 mm, dan betina 10-12 mm. Orang dewasa memiliki tiga mata dan 11 pasang kaki. Warna dewasa bervariasi tergantung konsentrasi garam di dalam air dari warna hijau (konsentrasi tinggi berwarna merah).

Darah mereka mengandung pigmen hemoglobin. Kurangnya persaingan di lingkungan yang ekstrim ini memungkinkan mereka untuk mengembangkan populasi yang besar bila kondisinya sesuai untuk reproduksi (panas, sinar matahari, berbagai konsentrasi garam). Organisme ini dapat bertahan dalam periode lama kekeringan dan tahap kista untuk melanjutkan siklus hidup ketika kondisi cocok

untuk perkembangan dan reproduksi. Laki-laki memiliki dua organ reproduksi. Rahim satu betina A. salina bisa berisi hingga 200 telur. Ini adalah spesies ovipar dan ovovivipar (Abatzopolulos, 2010).

Artemia salina L. memiliki sistem fisiologi yang mirip dengan manusia, meliputi sistem syaraf pusat, sistem vascular dan sistem digestivus. Senyawa aktif mudah masuk ke dalam tubuh *Artemia salina* dikarenakan struktur kulitnya sangat tipis dan berpori besar. Sehingga, kematian *Artemia salina* dianalogikan sebagai kematian sel pada organisme (Hanifah, 2015).

Artemia salina merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui adanya bioaktivitas dari suatu sampel. Uji ini berguna untuk menentukan berbagai aktivitas biologis pada tanaman seperti aktivitas sitotoksik, fototoksik, pestisida, inhibisi enzim, dan regulasi ion (Veni, 2014). Dalam penelitian Janakiraman dan Johnson (2016) juga menyatakan bahwa uji BSLT dapat digunakan sebagai dasar untuk uji toksisitas terhadap *sel line*, aktivitas anti-tumor dan anti-kanker. Keuntungan dari uji ini yaitu cepat, mudah, hasilnya dapat diulang, serta tidak membutuhkan biaya yang mahal (Hamidi et al., 2014).

E. Ekstraksi Krokot

Ekstraksi adalah metode pemisahan komponen dari suatu campuran dengan menggunakan pelarut berdasarkan beda kelarutan antara zat satu dengan zat lainnya. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka dan terdifusi masuk ke dalam pelarut. Salah satu fungsi penting ekstraksi adalah untuk

menghasilkan rendemen sebagai indikasi keberhasilan proses ekstraksi (Yang, 2014).

Pelarut organik akan menembus dinding sel dan selanjutnya akan masuk ke dalam rongga sel tumbuhan yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut dalam pelarut organik pada luar sel untuk selanjutnya berdifusi masuk ke dalam pelarut. Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai metode dan cara yang sesuai dengan sifat dan tujuan ekstraksi itu sendiri (Marjoni, 2016). Selain itu, terdapat pula pengembangan dari maserasi, diantaranya kinetik dan digesti. Kinetik merupakan metode ekstraksi seperti maserai yang dilakukan dengan pengadukan, sedangkan digesti adalah cara maserasi yang dilakukan pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar, yakni 40-60°C (Hanani, 2016).

Metabolit sekunder dari krokot (*Portulaca oleracea* L) didapatkan dengan cara ekstraksi. Salah satu metode ekstraksi dengan cara merendam (maserasi) sampel dengan pelarut organik seperti heksana, etil asetat, etanol, dan metanol. Menurut (Edison, 2020), menyatakan bahwa senyawa non polar larut pada non polar seperti eter, kloroform, dan n-heksan. Pelarut heksana, etil asetat, dan metanol berfungsi menarik senyawa aktif berdasarkan polaritas dari non polar, semi polar, hingga polar untuk menektraksi suatu komponen sehingga menghasilkan senyawa yang dikehendaki. Keberhasilan dalam proses ekstraksi ditentukan oleh jenis dan mutu pelarut yang digunakan.

Purifikasi ekstrak diharapkan dapat meningkatkan khasiat ekstrak disamping memperkecil jumlah dosisnya. Selain itu, tujuan purifikasi ekstrak yaitu

untuk menghilangkan senyawa-senyawa pengganggu namun tetap mempertahankan senyawa aktifnya (Warditiani et al., 2014).

Beberapa metode ekstraksi bahan alam menggunakan penyari yang bersifat sangat non polar seperti petroleum eter dan *n*-heksan untuk purfikasi ekstrak. Pada tahapan ini merupakan tahapan untuk menghilangkan senyawa-senyawa yang bersifat sangat non polar seperti lemak pada biji-bijian, klorofil pada daun dan batang atau zat warna pada bunga. Senyawa-senyawa tadi secara umum banyak dikategorikan sebagai senyawa *ballast* (zat pengganggu). Oleh karena itu, untuk memperoleh ekstrak dengan kadar zat aktif yang tinggi, zat *ballast* yang terdapat dalam bahan dihilangkan dulu. Setelah proses tersebut, residu akan diekstraksi dengan etanol sebagaimana proses pada pembuatan ekstrak etanol dengan satu tahap ekstraksi (Pramono, 2015).

Metode ekstraksi dapat digolongkan menjadi :

1) Ekstraksi menggunakan cara dingin, misalnya maserasi dan perkolasi
2) Ekstraksi menggunakan cara panas, misalnya refluks, soxchlet, digesti, infundasi, dekok (Depkes RI, 2019).

Beberapa jenis pelarut yang biasa dipergunakan dalam proses ekstraksi antara lain petroleum ester, benzene, dan alkohol. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah etanol. Etanol disebut juga etil alkohol yang dipasaran dikenal alkohol merupakan senyawa organik dengan rumus kimia C_2H_5OH. Dalam kondisi kamar etanol berwujud cairan yang mudah terbakar dan mudah menguap (Handayani, 2010).

F. Sel Kanker

a. Definisi

Kanker merupakan salah satu penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel-sel baru secara abnormal dan mampu menyebar ke bagian tubuh lainnya. Kanker disebut pula sebagai *malignant* atau tumor ganas. Kanker ini umumnya berkembang dari *benign* atau tumor jinak yang terus berkembang dan mampu mengalami metastasis. Metastasis adalah peristiwa tersebarnya suatu agen patogen dalam kasus ini adalah sel kanker dari lokasi awal menuju lokasi lain dalam tubuh (Hanahan, 2011).

Awal mula kanker terjadi di sel, sel merupakan bagian dasar dari tubuh, proses perubahan sel-sel normal menjadi sel kanker perlu untuk diketahui dan dipahami. Saat sel mengalami penuaan maka terjadi penurunan fungsi, sel akan mati selanjutnya sel digantikan dengan sel-sel yang baru. Awal sel kanker terjadi dikarenakan rusaknya proses kematian sel yang terprogram atau disebut apoptosis. Ketika terjadi gangguan atau mutasi terhadap DNA, sel akan mengalami pertumbuhan yang tidak normal (Nasional Kanker Institut, 2015).

Tumor terbagi menjadi dua, yaitu tumor jinak dan tumor ganas. Tumor jinak memiliki ciri-ciri, yaitu tumbuh secara terbatas, memiliki selubung, tidak menyebar dan bila dioperasi, dapat dikeluarkan secara utuh sehingga dapat sembuh sempurna, sedangkan tumor ganas memiliki ciri- 7 ciri, yaitu dapat menyusup ke jaringan sekitarnya, dan sel kanker dapat ditemukan pada pertumbuhan tumor tersebut (Kemenkes RI, 2015).

Kanker dapat disebabkan oleh beberapa jenis faktor baik eksternal ataupun internal. Radikal bebas merupakan salah satu faktor penting penyebab kanker. Radikal bebas merupakan suatu molekul yang kehilangan satu elektron dari pasangan elektron bebas ataupun pemisahan ikatan kovalen secara homolitik. Radikal bebas ini dapat terbentuk secara eksogen ataupun endogen. Radikal bebas dalam jumlah normal bermanfaat untuk kesehatan, seperti pengendalian tonus otot, peradangan, dan perawanan infeksi bakteri, sedangkan dalam jumlah berlebih mampu menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif ini mampu mempercepat proses penuaan dan timbulnya beragam penyakit seperti kanker. Radikal bebas dapat bertambah secara berlebihan ketika terpapar oleh polusi lingkungan seperti asap kendaran bermotor, asap rokok, dan radiasi ultraviolet (Kurniasih et al., 2015).

Karakteristik dari sel kanker dapat dikumpulkan menjadi 6 gejala utama, yaitu tidak adanya sinyal pertumbuhan dan pembelahan sel yang tepat, pertumbuhan dan pembelahan sel yang terjadi secara terus-menerus meskipun diberikan sinyal yang berlawanan, pengelakan dari peristiwa *programmed cell death,* jumlah pembelahan sel yang tak terbatas, peningkatan vaso konstruksi pembuluh darah, invasi pada jaringan, dan pembentukan *metastases* (Hanahan, 2011).

b. Jenis-jenis Kanker

Menurut (Ariani, 2015), kanker di bagi menjadi beberapa jenis kelompok besar, diantaranya sebagai berikut:

1. Karsinoma : kanker yang berasal dari sel yang melapisi permukaan tubuh atau permukaan saluran tubuh, seperti sel kulit, testis, ovarium, sel melanin, payudara, rectum, lambung, pancreas, esophagus, dan kelenjar mucus. Karsinoma adalah kanker sel epitel yang melindungi permukaan tubuh.
2. Limfoma : kanker yang berasal dari jaringan yang membentuk darah, seperti lacteal, limfa, timus, jaringan limfa, dan sumsum tulang. Lomfoma spesifik yaitu 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 : kanker pada jaringan penunjang yang berada di permukaan tubuh, seperti jaringan ikat, termasuk sel-sel yang ditemukan di otot dan tulang, seperti kanker otot halus yang ditemukan pada dinding organ pencernaan (*lelomycosarcoma*) dan kanker tulang (*osteosarcoma*)
5. Glioma : kanker susunan saraf, misalnya sel-sel glia (jaringan penunjang) di susunan saraf pusat.

G. Kanker Payudara MCF-7

a. Definisi

Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang sering diderita oleh banyak orang. Kasus kanker di dunia pada tahun 2012 mencapai 14.067.894 kasus baru dan 43,1% diantaranya merupakan penderita kanker payudara, sehingga kasus kanker payudara merupakan kasus kanker tertinggi didunia. Jumlah penderita kanker payudara pada tahun 2008 sekitar 12,7 juta jiwa menjadi 14,1 juta jiwa pada tahun 2012. Kematian akibat kanker payudara sendiri

mencapai 7,6 juta kasus pada tahun 2008 berubah menjadi 8,2 juta pada tahun 2012 (Kementerian Kesehatan RI, 2015).

Kanker payudara stadium awal adalah kanker yang terdapat di payudara dan mungkin sudah atau mungkin tidak menyebar ke kelenjar getah bening di payudara atau ketiak. Beberapa sel kanker mungkin telah menyebar ke luar area payudara dan ketiak tetapi tidak dapat dideteksi. Kanker payudara dini dapat berkembang di saluran atau lobulus payudara. Sel kanker menyebar ke luar saluran atau lobulus ke dalam jaringan payudara dan dapat membentuk benjolan. Ini disebut "kanker payudara invasif". Terkadang sel kanker payudara menyebar ke bagian tubuh lain seperti tulang atau hati. Jika ini terjadi, maka kanker tersebut disebut sebagai kanker payudara sekunder, bukan kanker tulang atau kanker hati (Kanker Australia, 2012).

Kanker payudara umumnya diatasi dengan proses pembedahan. Proses pembedahan ini tentu dapat menghilangkan sel kanker dari dalam tubuh. Namun, proses ini tidak hanya menghilangkan sel kanker tetapi juga bagian tubuh lainnya. Proses perawatan kanker dapat pula dengan metode radiasi. Proses radiasi dinilai mampu menghambat pertumbuhan sel kanker serta membunuh sel tersebut, tetapi proses ini dikenal juga memiliki dampak buruk karena mampu membuat sel-sel lain mengalami kematian. Metode kemoterapi merupakan metode lain yang sering digunakan untuk mengatasi kanker payudara seperti menggunakan Doxorubicin. Doxorubicin dinilai mampu memiliki aktivitas anti kanker yang baik, tetapi senyawa ini mampu menimbulkan efek samping seperti kardiotoksisitas dan resistansi karena kematian sel secara nekrosis (Endharti et al., 2018).

Mutasi genetik yang paling banyak terjadi pada kanker payudara adalah gen BRCA 1 dan BRCA 2. Pada sel normal gen ini membantu mencegah terjadinya kanker dengan jalan menghasilkan proten yang dapat mencegah pertumbuhan abnormal. Perempuan dengan mutasi pada gen BRCA 1 dan BRCA 2 mempunyai peluang 80% untuk berkembang menjadi kanker payudara selama hidupnya. Sebelum pubertas kelenjar mammae tidak berkembang dan terutama terdiri dari duktus lakteferus bercabang yang bermuara di papilla mammae (Endharti et al., 2018).

b. Tipe Kanker Payudara

Menurut (Ariani, 2015), berdasarkan jenis-jenis kanker payudara tergolong menjadi beberapa bagian, yaitu:

1. Karsinoma in situ : kanker yang masih berada pada tempatnya dan belum menyebar atau menyusup keluar dari tempat asal tumbuh
2. Karsinoma duktal : kanker yang tumbuh pada saluran yang melapisi menuju ke putting susu
3. Karsinoma lobuler : kanker yang tumbuh di dalam kelenjar susu dan biasanya tumbuh atau diderita oleh perempuan yang telah memasuki masa menopause
4. Kanker invasive : kanker payudara yang telah menyebar dan merusak jaringan lainnya. Kanker ini bisa terbatas pada payudara dan bisa juga menyebar ke bagian tubuh lainnya.

Terapi kanker payudara sendiri terdiri atas tindakan pembedahan, terapi sistemik (kemoterapi), terapi hormonal, terapi target, dan radioterapi. Pada penelitian ini akan berfokus pada pencarian senyawa baru untuk terapi kemoterapi.

Agen kemoterapi yang tersedia saat ini adalah Cyclophospamide, methotrexate, doxorubicin, cisplatin, epirubicin, 5 fluro uracil, dan lain sebagainya (Panigoro et al., 2017). Permasalahan agen kemoterapi ini adalah rendahnya efektivitas, munculnya resistensi, dan efek sampingnya. Efek samping kemoterapi berupa rambut rontok, kuku menghitam, kulit menghitam, mulut kering, hingga kematian pada janin (Oun et al., 2018)

H. In Silico

Pada umumunya, analisis *in silico* adalah suatu metode pendekatan menggunakan simulasi komputer dengan program tertentu yang dapat mengidentifikasi potensi senyawa dan selektivitas yang lebih tinggi (Wang et al., 2015). Uji *in silico* digunakan untuk mengetahui interaksi antara suatu senyawa dengan molekul target, salah satunya yaitu reseptor. Interaksi senyawa dengan reseptor dapat divisualisasikan dengan metode komputasi dan digunakan untuk mengetahui pharmacophore dari suatu senyawa (Ekins, 2014).

Beberapa peraturan perundang-undangan di luar negeri bahkan secara eksplisit mendorong penggunaan dan pengembangan metode alternatif untuk penilaian toksikologi *in vivo*, seperti metode uji *in vitro* dan *in silico.* Metode *in silico* memiliki kelebihan yaitu lebih murah dan lebih cepat untuk menghasilkan hasil. Upaya besar telah difokuskan pada pengembangan pendekatan komputasi untuk penelitian sains seperti prediksi toksisitas (Zhang et al., 2017).

Keunggulan dari *in silico* tersebut dikembangkan dalam berbagai bidang ilmu yang berkenaan dengan penggunaan senyawa kimia seperti ilmu pertanian hingga biomedik dalam upaya menemukan obat baru. Secara sederhana, dalam

upaya pengembangan obat diantaranya adalah mengurangi jumlah hewan coba yang dibutuhkan dalam percobaan, memvisualisasikan mekanisme obat terhadap targetnya serta optimasi bentuk senyawa dari obat tersebut (Noori, 2013).

Studi *in silico* secara garis besar menurut (Suharna, 2012), berdasarkan pengenalan molekuler dan jenis algoritma yang digunakan *in silico* dapat dibagi menjadi 2 bagian bentukan yaitu:

1. *Structure based design,* pemodelan yang menitik beratkan prinsip saling melengkapi antara ligand an makromolekul layaknya gembok dan kunci. Permodelan ini berupaya untuk memberikan gambaran kalkulasi energi interaksi antara liga pada target yang telah diketahui strukturnya. Penggunaan metode ini umumnya digunakan pada protein target dengan data cukup lengkap dan resolusi tinggi (Sliwoski et al., 2014)
2. *Ligand based design,* pemodelan dengan mengasumsikan bahwa ligan yang ditambahkan memiliki aktivitas yang mirip dengan senyawa yang telah dilakukan pengujian secara *in vitro* maupun *in vivo.* Pemodelan ini dikenal dengan istilah homolgi struktur ligan serta *Quantitative Structure Activity Relationship* (QSAR) (Sliwoski et al., 2014)

Uji *in silico* menghasilkan nilai energi ikatan atau *Rerank Score* (RS). Energi ikatan menunjukkan jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dengan reseptor. Semakin kecil energi ikatan berat semakin stabil ikatan tersebut. Semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor maka dapat diprediksikan bahwa aktivitasnya juga semakin besar (Hardjono, 2012).

Prinsip dasar pendekatan metode *in silico* adalah melakukan penambatan ligan atau senyawa obat terhadap target berupa makromolekul untuk mendapatkan sifat fisika maupun kimia mulai dari paling optimal hingga terburuk (Waddod et al., 2013). Penjelasan tersebut serta kaitannya dengan pemanfaatan berbagai aplikasi yang dapat digunakan dalam satu waktu untuk mengurangi hasil kurang memuaskan (Shityako et al., 2013). Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan mengkorelasikan suatu struktur senyawa kimia bahan dengan Aturan 5 Lipinski (*Lipinski's Rule of Five*) terkait karakter senyawa yang perlu dikembangkan lebih lanjut karena memiliki potensi sebagai bahan berkhasiat dalam pengobatan (Muchtaridi et al., 2018).

Aturan tersebut menetapkan bahwa berat molekul suatu senyawa harus <500 g/mol, donor ikatan hydrogen <5 dan akseptor hydrogen <10, nilai Log P <5. Tujuan utama dalam aturan *Lipinski's rule of five* yaitu untuk memprediksi kesamaan sifat fisikokimia senyawa uji dengan obat oral (Nogara et al., 2015). Pada banyak aplikasi penemuan obat, docking dilakukan antara molekul kecil dan makromolekul, misalnya docking protein-ligan. Selain itu, docking diterapkan untuk memprediksi mode pengikatan antara dua makromolekul, misalnya docking protein dengan protein (Fernando, 2018). Saat ini, perangkat lunak PyRx mengandung empat metode docking yang dimana dapat mengelola pekerjaan secara mandiri, menggunakan *work station* tunggal atau kluster yang dikelola oleh PyRx (Aziz et al., 2016).

Docking molekuler digunakan untuk menghasilkan banyak konformasi dan orientasi ligan yang paling tepat dipilih. Ini merupakan kunci dalam biologi

molekuler dan metode desain obat yang menggunakan bantuan komputer karena docking komputer dapat membantu menghasilkan model struktural interaksi protein-RNA (Beauchene et al., 2016).

Terdapat *software* untuk melakukan *docking* molekul kecil atau ligan dengan makromolekul untuk melihat hubungan ikatan pada dua molekul berbeda. *Software* yang dapat digunakan untuk *docking* salah satunya adalah PyRx. Data senyawa molekul yang digunakan untuk aplikasi PyRx adalah data yang diambil dari PDB, *DrugBank*, *PubChem*, *Uniprot* dan lain sebagainya. Namun sebelum data tersebut dimasukkan kedalam PyRx, data tersebut harus diubah dulu dalam format "PDBQT" dengan menggunakan *Autodock Vina*. Melalui *docking*, akan didapatkan nilai *binding affinity* dari ikatan yang terbentuk antara ligan dan makromolekul. Untuk visualisasi kompleks ikatan molekul secara 3 dimensi dapat menggunakan PyMOL maupun *PoseView* (Dallakyan dan Olson, 2015).

I. KERANGKA KONSEPTUAL

Kanker payudara adalah suatu keganasan yang menyerang kelenjar air susu, saluran kelenjar dan jaringan penunjang payudara, namun tidak termasuk kulit payudara. Kanker ini yang paling banyak ditemui pada perempuan serta menjadi salah satu penyebab morbiditas dan mortalitas pada perempuan di seluruh dunia. Lebih dari 80% kasus kanker payudara di Indonesia didiagnosis pada stadium lanjut sehingga angka mortalitas dan morbiditasnya menjadi lebih tinggi (Depkes RI, 2014).

Pengobatan kanker dilakukan dengan empat cara utama yaitu melalui pembedahan, radiasi, kemoterapi, dan terapi biologi. Pengobatan tersebut selain

mahal, terkadang memiliki efek samping. Konsumsi obat-obatan kimiawi secara rutin dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan normal tubuh yang berdekatan. Wang et al., 2017). Krokot (*Portulaca oleracea*) memiliki penghasil senyawa sebagai antikanker, uji sitoksisitas pada daun *Portulaca oleracea* L. dilakukan dalam bentuk ekstrak etanol pada sel kanker payudara MCF-7.

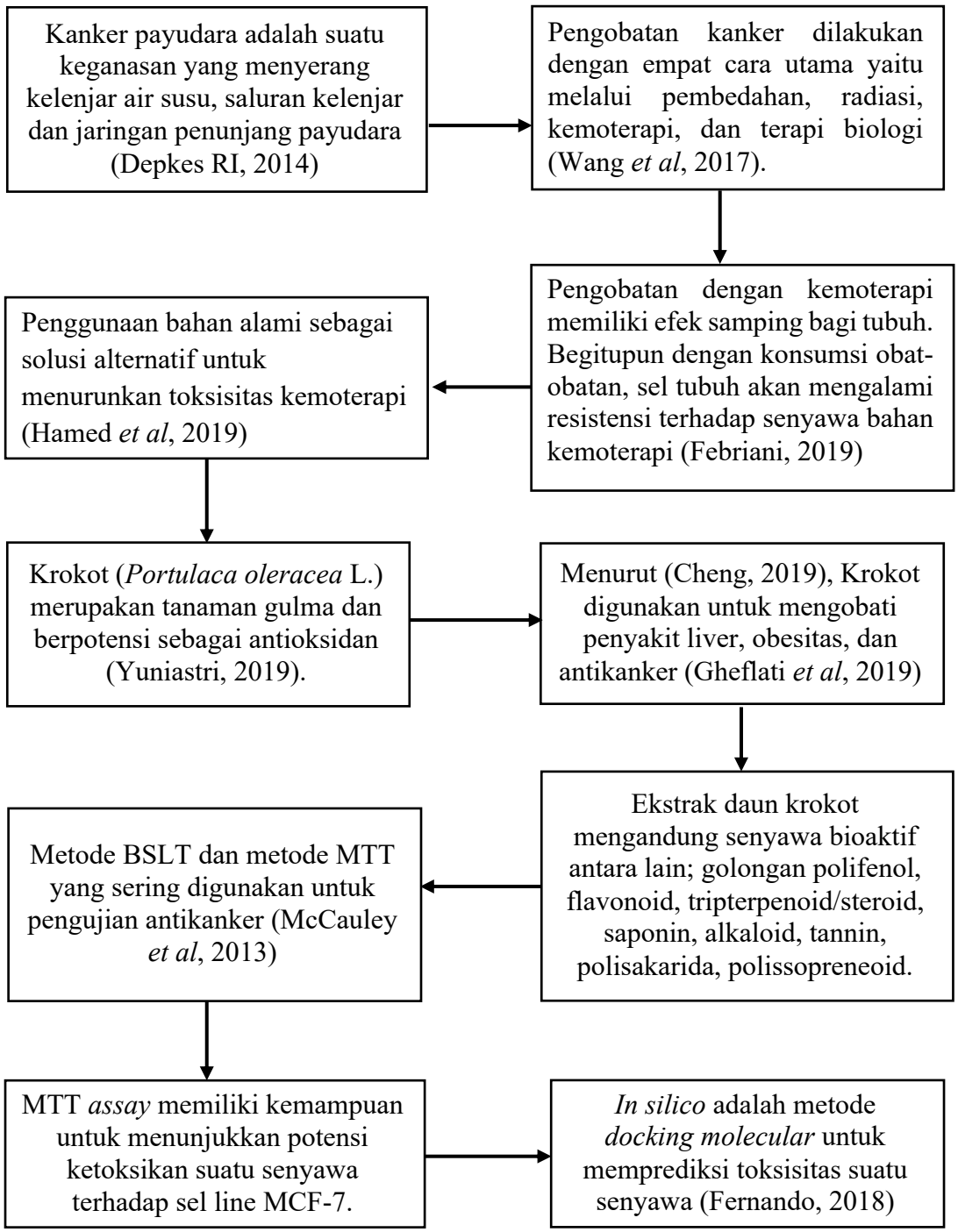
Krokot (*Portulaca oleracea* L.) merupakan tanaman gulma atau tumbuhan liar yang dapat tumbuh subur di tempat manapun, kaya akan nutrisi dan memiliki potensi sebagai antioksidan. Selain itu, dapat dikonsumsi sebagai masakan, obat herbal dan tanaman hias (Yuniastri, 2020).

Ekstrak daun krokot mengandung banyak senyawa seperti; alkaloid, katekolamin, asam lemak, asam fenolik, antosianin, flavonoid, lignan, terpenoid, asam amoni, vitamin (vitamin A, riboflavin, niasin, piridoksin, vitamin C, tiamin, alfa tokoferol, dan asam pantotenat), protein, mineral (magnesium, kalium, kalsium, dan fosfor) dan berbagai senyawa lainnya (Kumar, 2022).

Salah satu metode *in silico* yang banyak digunakan yaitu *molecular docking,* ini merupakan metode komputasi untuk memprediksi interaksi dua molekul menghasilkan model yang mengikat. Pada banyak aplikasi penemuan obat, docking dilakukan antara molekul kecil dan makromolekul, misalnya docking protein dengan ligan (Fernando, 2018).

Berdasarkan hal tersebut, maka akan dilakukan penelitian mengenai pemanfaatan krokot *Portulaca oleracea* adalah sebagai bahan dasar obat anti-kanker yang perlu dibuktikan secara ilmiah melalui uji pengaruh ekstrak daun krokot terhadap kematian larva *Artemia salina* sebagai uji pendahuluan. Pengujian

dengan MTT *assay* sebagai uji sitotoksik dan uji *in silico* untuk melihat potensi senyawa molekul pada daun krokot. Adapun alur penelitian yang nantinya akan dilakukan adalah sebagai berikut:



J. DEFINISI OPERASIONAL

1. Ekstrak daun krokot adalah ekstrak daun yang diperoleh dari metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol.
2. Sel tumor MCF-7 adalah salah satu sel tumor payudara yang paling banyak digunakan untuk menguji efek sitotoksik secara *in vitro.*
3. Larva *Artemia salina* adalah larva udang yang digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah ke uji sitotoksik.
4. LC_{50} adalah jumlah kematian *Artemia salina* selama perlakuan sebesar 50% dari populasi sampel.
5. IC_{50} adalah jumlah kematian Sel line MCF-7 selama perlakuan sebesar 50% dari populasi sampel.
6. *In silico* adalah salah satu metode penelitian yang memanfaatkan bantuan teknologi informatika berupa *database, webserver* dan *software.*