

**EFEK SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*OCIMUM
SANCTUM*) TERHADAP SEL HELA (SEL KANKER SERVIKS)**

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh:

Hanni Naila Husna

30101900091

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2023**

SKRIPSI
EFEK SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*OCIMUM SANCTUM*)
TERHADAP SEL HELA (SEL KANKER SERVIKS)

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Hanni Naila Husna

30101900091

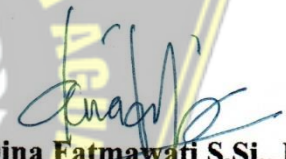
Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal 10 Februari 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji:

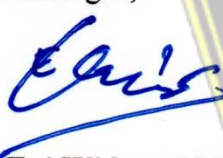
Pembimbing I,


Dr.dr. Chodidjah M.Kes

Anggota Tim Penguji


Dina Fatmawati S.Si., M.Sc

Pembimbing II,


Dra. Eni Widayati M.Si.


dr. Masyhudi AM M.Kes

Semarang, 10 Februari 2023
Fakultas kedokteran Universitas Islam Sultan Agung
Dekan,




Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hanni Naila Husna

NIM : 30101900091

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul:

**EFEK SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*OCIMUM
SANCTUM*) TERHADAP SEL HELA (SEL KANKER SERVIKS)**

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebut sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi-sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 27 Januari 2023
Yang menyatakan,



Hanni Naila Husna

PRAKATA

Assalamuálaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah rabbilalamin, segala puji syukur kepada Allah SWT atas limpahan kerahmatan dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul “Efek Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum*) Terhadap Sel Hela (Sel Kanker Serviks)”. Shalawat serta salam penulis haturkan pada junjungan Nabi Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat, dan para pengikutnya yang senantiasa ikut membantu menegakkan sunnahnya.

Tujuan dari penyusunan Skripsi ini adalah untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh serta menyelesaikan program Pendidikan sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung dan sebagai referensi dalam bidang kesehatan.

Penulis menyadari bahwa proses penelitian dan penegrjaan skripsi ini tidak akan lancer tanpa bantuan banyak pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr.dr. Chodidjah M.Kes., selaku dosen pembimbing I dan ibu Dra. Eni Widayati M.Si., selaku dosen pembimbing II yang dengan sabar selalu memberi pengarahan dan bimbingan kepada penulis dalam proses pembuatan Skripsi.

3. Dina Fatmawati S.Si., M.Sc., dan dr. Masyhudi AM M.Kes., selaku dosen penguji Skripsi ini yang telah berkenan memberikan pengarahan dan bimbingan berharga kepada penulis dalam penyelesaian Skripsi
4. Suprihatin SE., MBA selaku teknisi Laboratorium parasitologi fakultas kedokteran UGM, Bagian LPPT UGM Yogyakarta, Laboratorium Kimia IBL FK UNISSULA yang telah membantu penulis.
5. Semua pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung dalam penelitian ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu, guru dan rekan sejawat.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Besar harapan saya skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat, civitas akademika Fakultas Kedokteran Islam Sultan Agung Semarang, dan menjadi salah satu sumbangan untuk pengembangan ilmu pengetahuan di masa mendatang.

Wassalaálikum warrahmatullahi Wabarakatuh

Semarang, 3 Februari 2023

Hanni Naila Husna

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
DAFTAR SINGKATAN.....	xi
INTISARI.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1. Tujuan Umum.....	5
1.3.2. Tujuan khusus.....	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2. Manfaat Praktis.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Kanker.....	6
2.1.1. Definisi Kanker.....	6
2.1.2. Sepuluh Tanda Khas Sel Kanker.....	8
2.1.3. Mekanisme Pembentukan Kanker.....	10
2.1.4. Kanker Serviks.....	11
2.2. Sitotoksik.....	12
2.3. Mekanisme Apoptosis.....	14
2.4. Daun Kemangi.....	21
2.4.1. Klasifikasi Kemangi.....	21

2.4.2. Morfologi dan habitat.....	22
2.4.3. Kandungan senyawa kemangi	22
2.5. Doxorubicin.....	23
2.6. Efek Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemangi Terhadap Sel Hela ...	25
2.7. Efek Sitotoksik Doxorubicin terhadap Sel Hela	27
2.8. Kerangka Teori.....	29
2.9. Kerangka Konsep	30
2.10. Hipotesis	30
BAB III METODE PENELITIAN.....	31
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	31
3.2. Variabel dan Definisi Operasional	31
3.2.1. Variabel	31
3.2.2. Definisi operasional.....	31
3.3. Populasi dan Sampel	33
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian.....	33
3.4.1. Alat	33
3.4.2. Bahan.....	34
3.4.3. Cara Penelitian	34
3.5. Tempat dan Waktu	39
3.6. Alur Penelitian.....	40
3.7. Analisis Hasil	41
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	42
4.1. Hasil Penelitian	42
4.2. Pembahasan.....	45
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	49
5.1. Kesimpulan.....	49
5.2. Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN.....	54

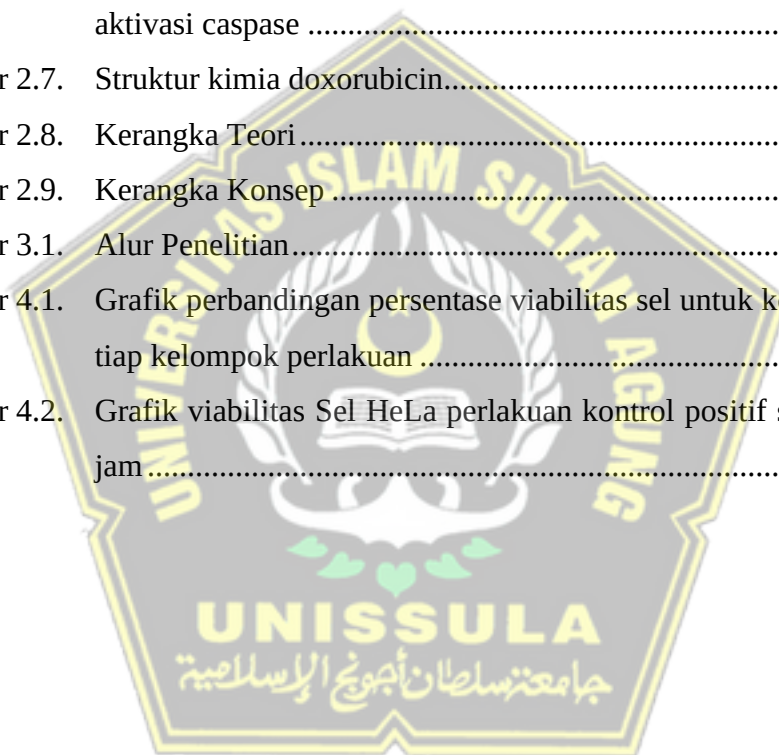
DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Hasil uji MTT Sel HeLa perlakuan Ekstrak Etanol Daun Kemangi dan Doxorubicin selama 24 jam.....	43
---	----



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	10 Hallmarks of Cancer.....	8
Gambar 2.2.	Mekanisme pembentukan sel kanker.....	10
Gambar 2.3.	Tahapan respon sel terhadap stimulus.....	15
Gambar 2.4.	Gambaran sel yang mengalami nekrosis (A) dan apoptosis (B)	16
Gambar 2.5.	Perbedaan nekrosis dan apoptosis	17
Gambar 2.6.	Mekanisme apoptosis. Jalur ekstrinsik dan intrinsik dengan aktivasi caspase	20
Gambar 2.7.	Struktur kimia doxorubicin.....	24
Gambar 2.8.	Kerangka Teori.....	29
Gambar 2.9.	Kerangka Konsep.....	30
Gambar 3.1.	Alur Penelitian.....	40
Gambar 4.1.	Grafik perbandingan persentase viabilitas sel untuk konsentrasi tiap kelompok perlakuan	44
Gambar 4.2.	Grafik viabilitas Sel HeLa perlakuan kontrol positif selama 24 jam.....	45



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil Pengujian Sitotoksik	54
Lampiran 2.	Perhitungan IC_{50} daun kemangi dengan analisis probit	56
Lampiran 3.	Surat keterangan bebas pinjam laboratorium	59
Lampiran 4.	<i>Ethical clearance</i>	60
Lampiran 5.	Surat Keterangan Telah selesai Penelitian	61
Lampiran 6.	Surat Undangan Ujian Hasil Skripsi.....	63



DAFTAR SINGKATAN

C	: Celcius
DMSO	: Dimetil Sulfoxida
DNA	: deoxyribose Nucleic acid
EDTA	: Ethylene Diamine Tetra Acid
ELISA	: The Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FBS	: Fetal Bovine Serum
HCL	: asam klorida
Hela	: Henrietta Lacks
HPV	: Human Papilloma Virus
IC ₅₀	: Inhibition Concentration 50%
PBS	: Phospat Buffer Saline
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute [medium]



INTISARI

Tubuh kita tersusun dari sel-sel yang memiliki kemampuan untuk tumbuh dan membelah sesuai kebutuhan. Sel yang abnormal atau mengalami penuaan, secara fisiologis akan mati. Sel yang terus menerus tumbuh akan berkembang menjadi kanker. Sejauh ini, terapi untuk kanker serviks menggunakan tindakan bedah, terapi radiasi, kemoterapi dengan doxorubicin menimbulkan banyak efek samping dan resistensi sehingga mendorong pengembangan alternatif dari bahan alam sebagai terapi antikanker. Kandungan daun kemangi seperti eugenol, *urosolic acid*, carvacrol, linalool, *caryphyllene*, estragol, *rosmarinic acid*, apigenin, cirsimartin, dan flavonoid mampu menghambat proliferasi sel kanker, menginduksi apoptosis, dan nekrosis. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak etanol daun kemangi terhadap sel Hela dengan metode MTT-assay (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) berdasarkan nilai IC_{50} .

Penelitian eksperimental dengan rancangan *Posttest-Only Control Group Design* ini menggunakan sel Hela yang diberi perlakuan pemberian ekstrak etanol daun kemangi dengan berbagai dosis perlakuan, yaitu 3,125 $\mu\text{g/mL}$, 6,25 $\mu\text{g/mL}$, 12,5 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$. Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT assay. Sebagai kontrol positif digunakan doxorubisin dengan seri kadar sebagai berikut: 20 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$, 2,5 $\mu\text{g/mL}$, 1,25 $\mu\text{g/mL}$, 0,625 $\mu\text{g/mL}$, dan 0,3125 $\mu\text{g/mL}$. Aktivitas sel kanker dapat dilihat dari persentase sel hidup yang kemudian dijadikan dasar analisis probit untuk menentukan nilai IC_{50} .

Hasil penelitian didapatkan sitotoksik ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum Sancum*) terhadap sel hela (sel kanker serviks) IC_{50} sebesar 52,94 $\mu\text{g/mL}$. Nilai tersebut sangat tinggi bila dibandingkan dengan nilai IC_{50} doxorubisin sebagai pembanding sebesar 1,917 $\mu\text{g/mL}$.

Berdasarkan nilai IC_{50} yang didapatkan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum Sancum*) memiliki efek sitotoksik yang lemah terhadap sel hela dengan nilai IC_{50} sebesar 52,94 $\mu\text{g/mL}$ dan doxorubicin yang memiliki IC_{50} sebesar 1,917 $\mu\text{g/mL}$ (sangat aktif).

Kata kunci: Sitotoksik, Ekstrak Etanol Daun Kemangi, Sel Hela

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tubuh kita tersusun dari sel-sel yang memiliki kemampuan untuk tumbuh dan membelah sesuai kebutuhan. Sel yang abnormal atau mengalami penuaan, secara fisiologis akan mati (Braithwaite, 2022). Penyakit kanker tergolong penyakit tidak menular yang ditandai dengan adanya pertumbuhan sel yang abnormal yang secara terus-menerus berkembang di luar kendali. Kanker merupakan penyakit paling mematikan di dunia, dan berdasarkan *The Global Cancer Observatory* (2020) tercatat jumlah kasus baru sebesar 49,3% di Asia. Diketahui lebih dari 20% disebabkan oleh agen infeksi. Insidensi kanker tertinggi di Indonesia diakibatkan oleh infeksi virus, misalnya pada infeksi Human Papilloma Virus (HPV) menimbulkan kanker serviks (Artanti *et al.*, 2016). Terapi untuk kanker serviks menggunakan tindakan bedah, terapi radiasi, kemoterapi tetapi pengobatan kanker yang telah digunakan menimbulkan banyak efek samping dan menyebabkan resistensi sehingga mendorong pengembangan alternatif dari bahan alam sebagai terapi antikanker (Artanti *et al.*, 2016). Doxorubicin merupakan obat kemoterapi yang banyak digunakan untuk terapi berbagai macam jenis kanker seperti leukemia akut,

kanker payudara, kanker tulang dan ovarium. Namun doxorubicin memiliki efek kardiotoxik yang cukup berbahaya (Sebayang, 2019).

Prevalensi kanker di Indonesia berdasarkan hasil Risesdas disebutkan bahwa kelompok perempuan lebih besar dibandingkan laki-laki (Kemenkes RI, 2019). Survei GLOBOCAN (2020) mendapatkan bahwa kanker serviks telah menjadi penyebab keganasan urutan kedua di Indonesia setelah kanker payudara. Kanker serviks merupakan kanker leher rahim yang tumbuh pada sepertiga bagian bawah uterus yang berhubungan dengan vagina melalui ostium uteri externum serta berbentuk silindris menonjol (Kementrian Kesehatan RI, 2020). Hasil survei Departemen Kesehatan RI menyebutkan bahwa angka kesakitan kanker serviks di Indonesia pada tahun 2010 sekitar 90- 100 kasus per 100.000 penduduk dengan setiap tahunnya sebanyak 40.000 kasus (Kementrian Kesehatan RI, 2020). Diperkirakan terus mengalami peningkatan pada tahun 2030 kedepan sekitar lebih dari 13,1 juta serta menjadi pemicu utama kematian di seluruh dunia (Kemenkes RI, 2019).

Penelitian yang dilakukan terhadap senyawa alami sebagai agen antikanker, misalnya pada penelitian Artanti *et al.*, (2016) didapatkan bahwa efek sitotoksik n-heksana dari *Annona muricata L.* pada sel hela mempunyai IC_{50} sebesar 169,2 $\mu g / mL$. Pada penelitian lain oleh (Roni *et al.*, 2021) n-heksana batang tanaman gandaria (*Bouea macrophylla Griff*) menunjukkan efek sitotoksik pada sel Hela menghasilkan IC_{50} 292,044 $\mu g / mL$, yang

diduga berasal dari flavonoid yang terkandung didalamnya. Pada (Amalia, 2016) menyebutkan bahwa material murni yang berasal dari ekstrak etanol daun kemangi dapat memberikan efek lebih rendah dan dengan efek sitotoksik yang lebih poten pada sel MCF-7 nilai IC_{50} 6,95 $\mu\text{g/mL}$. Oleh karena itu, perlu penelitian lanjutan untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak etanol daun kemangi terhadap sel Hela.

Daun kemangi menjadi salah satu bahan alami sebagai antikanker yang mengandung minyak atsiri, flavonoid, dan terpenoid (Siwi & Zuhrotun, 2019). Kandungan ekstrak *Ocimum Sanctum* berpotensi memberikan proteksi sebagai antioksidan terhadap karsinogenesis kimia dan berperan sebagai anti-angiogenik, induksi apoptosis, anti-tumorigenesis, anti-inflamasi, inhibisi siklooksigenase serta mengurangi pertumbuhan sel kanker sekaligus melindungi DNA dari paparan yang berbahaya (Mariadi *et al.*, 2021). Dari penelitian (Yang *et al.*, 2018) menyebutkan bahwa kandungan flavonoid vicenin-2 yang berasal dari *Ocimum Sanctum* dapat menurunkan viabilitas sel kanker kolon. Di tahun yang sama, Baruah *et al.*, (2018) juga melakukan penelitian bahwa kandungan vicenin-2 pada daun kemangi memiliki efek sitotoksik terhadap sel adenokarsinoma paru NCI-H23.

Etanol merupakan pelarut semipolar yang membentuk ikatan hidrogen antara molekul-molekulnya untuk melarutkan kandungan senyawa kimia yang memiliki efek sitotoksik seperti flavonoid, steroid dan saponin

(Sa'adah & Nurhasnawati, 2017). Semua zat (polar, semipolar, nonpolar) dapat dilarutkan oleh etanol. Sifat etanol dapat mengendapkan protein dan menghambat kerja enzim sehingga dapat terhindarkan dari proses hidrolisis maupun oksidasi (Erviana *et al.*, 2016). Pelarut etanol dapat menarik senyawa golongan fenol lebih besar dibandingkan pelarut lainnya (Kumalasari & Andiarna, 2020). Senyawa yang termasuk golongan fenol adalah asam fenolat, flavonoid, tanin, dan stilbene (Singh *et al.*, 2016). Sebelumnya telah dilakukan penelitian Arifianti *et al.*, (2014) yang menggunakan ekstrak etanol biji sirsak kaya akan kandungan senyawa sebagai antikanker (flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan polifenol) yang hampir sama dengan kandungan kemangi menunjukkan efek sitotoksik pada sel Hela nilai IC_{50} $8,906 \pm 4,497 \mu\text{g/mL}$.

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak etanol daun kemangi terhadap sel Hela. Pengukuran efek sitotoksik digunakan dengan metode MTT-assay (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) terhadap kultur sel Hela menggunakan parameter IC_{50} .

1.2. Perumusan Masalah

Bagaimana tingkat sitotoksik ekstrak etanol daun kemangi terhadap sel Hela?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui tingkat sitotoksik ekstrak etanol daun kemangi terhadap sel Hela.

1.3.2. Tujuan khusus

1.3.2.1. Mengetahui nilai IC_{50} ekstrak etanol daun kemangi terhadap sel Hela.

1.3.2.2. Membedakan nilai IC_{50} ekstrak etanol daun kemangi dengan doxorubicin.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah untuk penelitian lebih lanjut terkait efek sitotoksik ekstrak etanol daun kemangi sebagai antikanker.

1.4.2. Manfaat Praktis

Diharapkan hasil penelitian ini dapat menjadi dasar ilmiah pengembangan pemanfaatan daun kemangi sebagai antikanker.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kanker

2.1.1. Definisi Kanker

Penyakit kanker tergolong penyakit tidak menular yang ditandai dengan adanya pertumbuhan sel yang abnormal yang secara terus-menerus berkembang di luar kendali. Sel kanker mempunyai karakteristik mampu menyerang dan bermetastasis ke sel maupun jaringan tubuh. Berdasarkan pusdatin kemenkes RI, pada tahun 2012 kanker telah menyumbang 8,2 juta kematian di seluruh dunia (Kementrian Kesehatan RI, 2015). Prevalensi kanker di Indonesia berdasarkan hasil Riskesdas menyebutkan kelompok perempuan lebih besar dibandingkan laki laki (Kemenkes RI, 2019).

Saat ini, kanker merupakan penyebab keganasan yang signifikan bukan hanya di negara industri juga di negara berkembang. Lebih dari seratus jenis dan subtype kanker dapat ditemukan di organ tertentu. Sebagian besar jumlah sel yang diproduksi oleh tubuh maupun yang mati dipertahankan dalam keseimbangan yang baik. Sel yang berada didalam tubuh memiliki rentang hidup tertentu. Pertumbuhan sel yang tidak terkendali menyebabkan sel berkembang dan menjadi kanker. Kanker yang

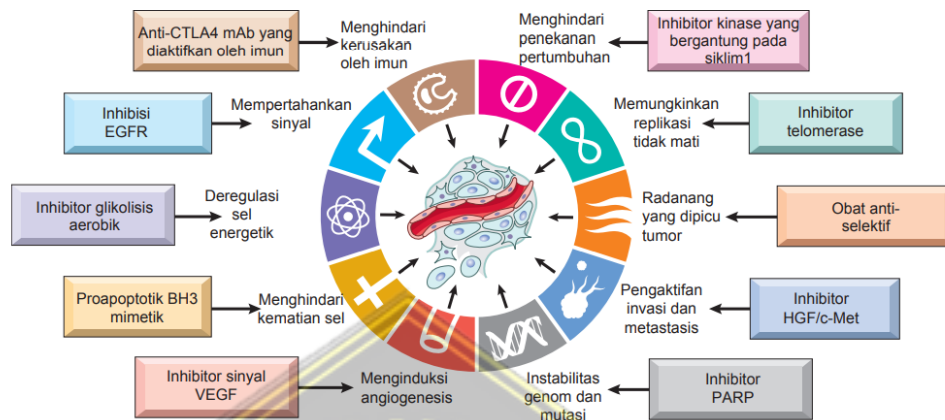
tidak tumbuh terus menerus dan tidak menginvasi jaringan normal di sekitarnya secara luas disebut non-ganas (jinak). Sedangkan kanker yang terus tumbuh dan menjadi semakin invasif disebut ganas. Kanker ganas cenderung berproliferasi, menginvasi jaringan, dan bermetastasis. (Marliana & Widhyasih, 2018).

Menurut infodatin Kementerian Kesehatan RI (2015) menyebutkan beberapa faktor resiko yang dapat menimbulkan kanker, yaitu:

1. IMT tinggi
2. Asupan buah dan sayuran rendah
3. Rendahnya aktivitas fisik
4. Rokok
5. Alkohol

Adapun faktor risiko terjadinya kanker serviks, antara lain: berhubungan sex dini dan multipartner, memiliki anak lebih dari 2, penggunaan pil KB dengan HPV (-) atau (+), penyakit menular seksual, dan kelainan sistem imun (Kementerian Kesehatan RI, 2020).

2.1.2. Sepuluh Tanda Khas Sel Kanker



Gambar 2.1. 10 Hallmarks of Cancer

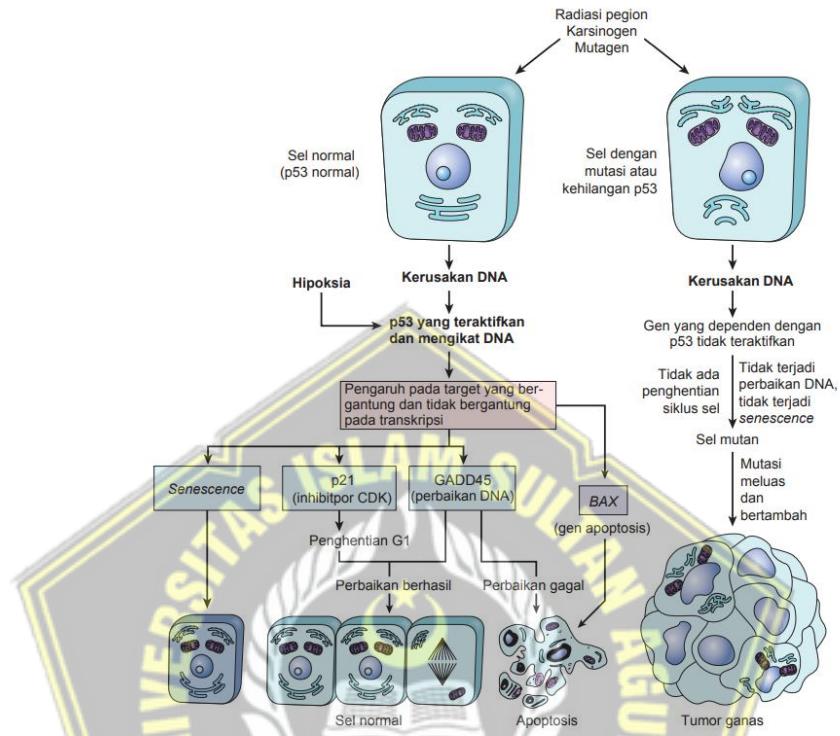
Kumar *et al.*, (2016) menyebutkan bahwa kanker memiliki ciri khas sebagai berikut:

- Kemampuan mempertahankan sinyal. Proliferasi sel normal bergantung pada siklus sel untuk mempertahankan homeostasis. Siklus sel kanker tidak berjalan sebagaimana mestinya, sel kanker mampu melepaskan faktor pertumbuhan dan menghambat faktor pertumbuhan EGFR.
- Kemampuan menghindari penekanan pertumbuhan. Sel kanker mendorong autofagi untuk meningkatkan pertumbuhan dan menghindari kematian sel dengan apoptosis. Target utama pada jalur apoptosis adalah BCL-2 dan caspase.
- Kemampuan menginduksi angiogenesis. Angiogenesis memungkinkan sel kanker untuk mengalami pertumbuhan

jaringan pembuluh darah yang berperan penting dalam metastasis sehingga sel tersebut mendapat pasokan nutrisi dan oksigen yang cukup. Angiogenesis dalam sel kanker dipengaruhi oleh inhibitor sinyal VEGF.

- Pengaktifan invasi dan metastasis. Invasi sel kanker memungkinkan untuk berkembang di jaringan sekitarnya. Metastasis merupakan proses migrasi dari lokasi primer ke lokasi baru yang kemudian terjadi pembentukan tumor sekunder.
- Deregeluasi sel energetik. Semua sel membutuhkan energi dan nutrisi. Seperti halnya kanker, pemenuhan kebutuhan tersebut didukung metabolisme seluler. Inhibitor glikolisis aerobik menyebabkan peralihan metabolisme piruvat sel kanker menjadi produksi laktat dalam keadaan dengan oksigen.

2.1.3. Mekanisme Pembentukan Kanker



Gambar 2.2. Mekanisme pembentukan sel kanker

Sel kanker mengekspresikan berbagai jenis antigen tumor.

Antigen tumor secara umum dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

1. Produk dari berbagai gen yang bermutasi

Protein diri yang bermutasi atau disebut “mutasi penumpang” (*passenger mutations*) dapat merangsang respons imun adaptif terhadap tumor, misalnya yang dipicu oleh karsinogen atau radiasi.

2. Produk dari onkogen yang bermutasi atau gen penekan tumor

Mutase produk onkogen atau gen penekan tumor dapat mengkode protein yang dapat bertindak sebagai antigen tumor. Produk onkogen meliputi Ras, protein fusi, Bcr, dan Abl. Sementara, produk dari gen penekan tumor adalah P53 yang mengalami mutasi.

3. Protein diekspresikan secara tidak normal.

4. Antigen virus

Antigen tumor dapat berupa produk virus misalnya protein E6 dan E7 pada virus papilloma dan Ca. serviks (Marliana & Widhyasih, 2018).

2.1.4. Kanker Serviks

Kanker serviks merupakan kanker leher rahim yang tumbuh pada sepertiga bagian bawah uterus yang berhubungan dengan vagina melalui ostium uteri externum serta berbentuk silindris menonjol. Survei GLOBOCAN (2020) mendapatkan bahwa kanker serviks mendapatkan bahwa kanker serviks telah menjadi penyebab keganasan urutan kedua di Indonesia setelah kanker payudara. Sel kanker mengalami pembelahan sel yang berlebihan dan menyerang jaringan sel lainnya. Pembelahan yang berlebihan jika tidak dihambat atau dihentikan, dapat membunuh suatu organisme. Sel

kanker terjadi melalui siklus sel abnormal yang dilakukan melalui sistem kontrol. Perbedaan antara sel normal dan sel kanker yaitu pada sel kanker mengalami pembelahan terus menerus meskipun telah terhenti pada proses siklus selnya (Rahmadina & Febriani, 2017). Kultur Sel Hela

Hela adalah *continuous-cell-line* derivat *cervix adenocarcinoma*. Hela secara *in vitro* telah banyak digunakan untuk ekspresi protein rekombinan karena mudah dibudidayakan (National & Pillars, 1998). Karakteristik sel tersebut mengalami pembelahan terus-menerus tidak seperti sel normal umumnya. Hal ini dapat membahayakan bagi tubuh karena mengalami transformasi sel normal menjadi sel kanker (Rahmadina & Febriani, 2017).

2.2. Sitotoksik

Uji sitotoksik merupakan uji aktivitas biologis untuk mendeteksi potensi antitumor dari bahan alami dengan menggunakan kultur sel. Uji sitotoksik dilakukan dengan menginkubasi sel kanker dengan fraksi uji. Pengukuran potensi sitotoksik dilakukan menggunakan parameter nilai IC_{50} (Artanti, 2019).

MTT Assay adalah uji sitotoksik menggunakan metode colorimetric yang sensitif untuk mengukur viabilitas, proliferasi, dan aktivasi sel. Sistem bromide enzim suksinat dehydrogenase mitokondria dalam sel hidup

mengubah MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) menjadi formazan berwarna ungu dan dibaca absorbansinya dengan elisa. Jumlah formazan yang terbentuk ekuivalen dengan jumlah sel hidup (National & Pillars, 1998).

Nilai IC_{50} menyatakan nilai konsentrasi yang dapat menghambat proliferasi sel sebesar 50% dan memberikan gambaran potensi toksisitas suatu senyawa terhadap sel tertentu. Semakin tinggi IC_{50} , semakin rendah tingkat toksisitas senyawa tersebut, atau tidak toksik sama sekali (Haryoto *et al.*, 2013). Kriteria tingkat toksisitas suatu senyawa adalah sebagai berikut:

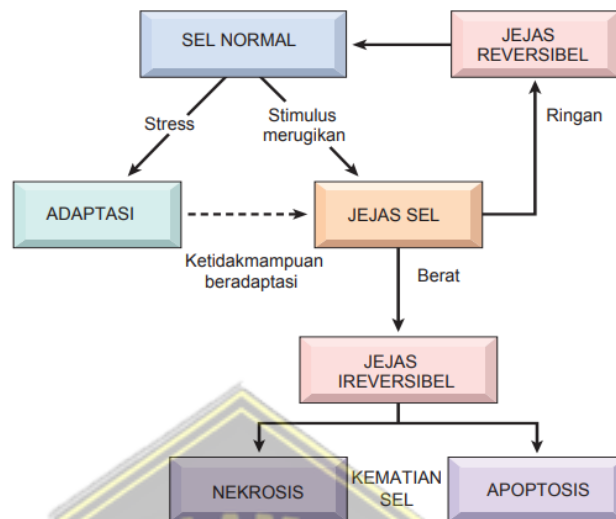
Sangat aktif : $IC_{50} \leq 5\mu\text{g/mL}$
 Aktif : $5\mu\text{g/mL} < IC_{50} < 10\mu\text{g/mL}$
 Sedang : $11\mu\text{g/mL} < IC_{50} < 30\mu\text{g/mL}$
 Lemah : $IC_{50} \geq 30\mu\text{g/mL}$

Berdasarkan Yang *et al.*, (2018) menyebutkann bahwa kandungan flavonoid vicenin-2 yang berasal dari daun kemangi dapat menurunkan viabilitas sel kanker kolon. Di tahun yang sama, Baruah *et al.*, (2018) juga melakukan penelitian bahwa kandungan vicenin-2 pada *Ocimum Sanctum* memiliki efek sitotoksik terhadap sel adenokarsinoma paru NCI-H23. Selain flavonoid, ekstrak dari *Ocimum Sanctum* memiliki kandungan lain seperti eugenoll, *rosmarrinic acid*, apigenin, luteolin, β sitosterol, dan *carnosic acid* dapat mencegah kanker(kanker kulit, kanker hepar, kanker mulut, dan juga kanker paru-paru) dengan meningkatkan aktivitas anti oksidan,

mengubah ekspresi gen, menginduksi apoptosis, dan menghambat angiogenesis dan metastasis (Sridevi *et al.*, 2016). Menurut (Sridevi *et al.*, 2016) ekstrak *Ocimum Sanctum* menunjukkan efek sitotoksik berdasarkan sifat prooksidan yang dapat mengganggu aktivitas dehidrogenase mitokondria. Pada Amalia (2016) menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun kemangi menunjukkan efek sitotoksik yang aktif terhadap sel MCF-7 dengan IC_{50} sebesar 6,95 $\mu\text{g/mL}$ sehingga berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut terhadap sel kanker lainnya. Menurut (Haryoto *et al.*, 2013), IC_{50} 5-10 $\mu\text{g/mL}$ termasuk senyawa yang memiliki tingkat toksisitas aktif.

2.3. Mekanisme Apoptosis

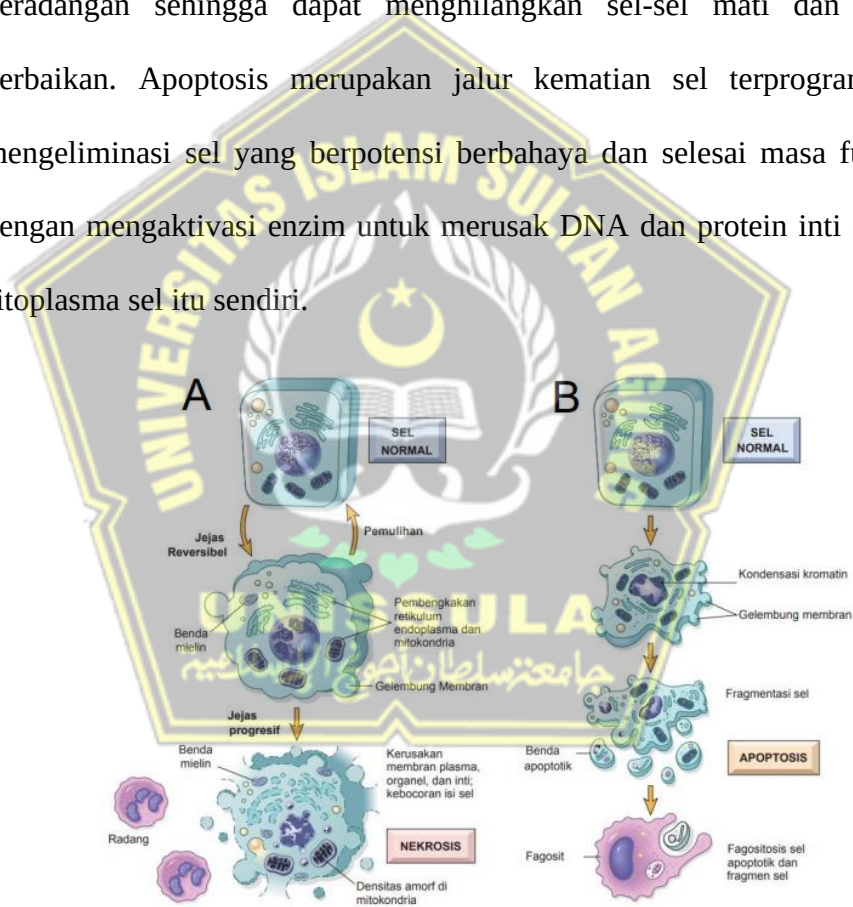
Sel adalah unit terkecil dari organisme hidup yang susunan struktural dan fungsionalnya sangat mempengaruhi kepribadian dan perilaku setiap makhluk hidup. Sel normal memiliki kemampuan mempertahankan fungsi dan strukturnya sesuai dengan metabolisme, diferensiasi, dan spesifikasinya untuk tetap dalam kondisi homeostasis. Jika mengalami stres akibat rangsangan fisiologis atau patologis, maka akan terjadi perubahan pada kondisi homeostatisnya. Sel akan berusaha mempertahankan hidupnya dengan proses adaptasi (Kumar *et al.*, 2016).



Gambar 2.3. Tahapan respon sel terhadap stimulus

Jenis adaptasi sel terhadap stres melalui 2 cara, yakni fisiologis dan patologis. Adaptasi fisiologis adalah respons sel terhadap rangsangan normal baik oleh hormon ataupun mediator kimia endogen. Adaptasi patologis adalah respon terhadap stres yang memungkinkan sel mempertahankan hidupnya agar terhindar dari jejas. Respon adaptif tersebut dapat terjadi dalam bentuk hipertrofi, hiperplasia, atrofi, dan metaplasia. Kapasitas adaptif yang berlebihan akan menimbulkan jejas sel. Jejas sel mempunyai dua sifat yakni reversibel dan ireversibel. Jejas reversibel memungkinkan sel dapat kembali normal, bila perubahan selulernya segera teratasi. Jejas ireversibel terjadi ketika stressor melampaui *point of no return* untuk beradaptasi dan mengalami perubahan patologis permanen yang menyebabkan kematian sel (Kumar *et al.*, 2016).

Proses terjadinya kematian sel dapat melalui nekrosis dan apoptosis. Berdasarkan Kumar *et al.*, (2016) nekrosis adalah kematian sel yang berhubungan dengan hilangnya integritas membran dan kebocoran isi sel yang mengakibatkan sel rusak, terutama akibat pengaruh enzim yang merusak sel yang mengalami jejas. Kebocoran isi sel tersebut memicu peradangan sehingga dapat menghilangkan sel-sel mati dan memicu perbaikan. Apoptosis merupakan jalur kematian sel terprogram untuk mengeliminasi sel yang berpotensi berbahaya dan selesai masa fungsinya dengan mengaktifasi enzim untuk merusak DNA dan protein inti sel, serta sitoplasma sel itu sendiri.



Gambar 2.4. Gambaran sel yang mengalami nekrosis (A) dan apoptosis (B)

Gambaran	Nekrosis	Apoptosis
Besar sel	Membesar (bengkak)	Mengecil (melisut)
Inti	Piknosis → karioreksis → kariolisis	Fragmentasi menjadi fragmen sebesar nukleosom
Membran plasma	Rusak	Utuh; struktur berubah, terutama orientasi lemak
Isi sel	Pencernaan enzimatik bisa menghilangkan sel	Utuh; mungkin ditampilkan pada badan-badan apoptotik
Radang sekitarnya	Sering	Tidak
Peran fisiologis atau patologis	Patologi (diakhiri jejas sel ireversibel)	Sering fisiologis; upaya untuk mengeliminasi sel yang tidak diinginkan; bisa patologis setelah berbagai cedera sel, khususnya kerusakan DNA dan kerusakan protein

DNA, asam deoksiribonukleat.

Gambar 2.5. Perbedaan nekrosis dan apoptosis

Apoptosis dapat diklasifikasikan menurut penyebabnya sebagai berikut:

1. Apoptosis dalam kondisi fisiologis

Apoptosis dalam kondisi fisiologis merupakan situasi kematian sel yang bersifat normal dengan mempertahankan jumlah sel yang tetap di berbagai jaringan dan mengeliminasi sel-sel yang tidak dibutuhkan. Beberapa kondisi berikut memerlukan apoptosis dalam kondisi fisiologis, seperti:

- Destruksi atau penghancuran sel terprogram selama embryogenesis.
- Hilangnya sel dalam populasi sel yang berproliferasi untuk menjaga jumlah sel tetap sama.
- Involusi jaringan terkait kekurangan hormon misal pada peluruhan endometrium selama menstruasi.
- Kematian sel yang diperantarai limfosit T sitotoksik sebagai mekanisme pertahanan melawan neoplasia dan infeksi virus.

- e. Mengeliminasi sel-sel yang sudah menyelesaikan tugasnya seperti neutrofil pada peradangan akut serta mengeliminasi limfosit reaktif yang memiliki potensi merugikan diri sendiri baik sebelum maupun setelah masa maturasi untuk mencegah reaksi autoimun (Kumar *et al.*, 2016).

2. Apoptosis dalam kondisi patologis

Apoptosis dalam kondisi patologis akan mengeliminasi sel-sel yang memiliki kelainan genetik atau kerusakannya tidak bisa diperbaiki, tanpa menyebabkan reaksi yang berlebihan, sehingga kerusakannya dapat dibatasi serendah-rendahnya. Apoptosis dalam kondisi patologis, meliputi:

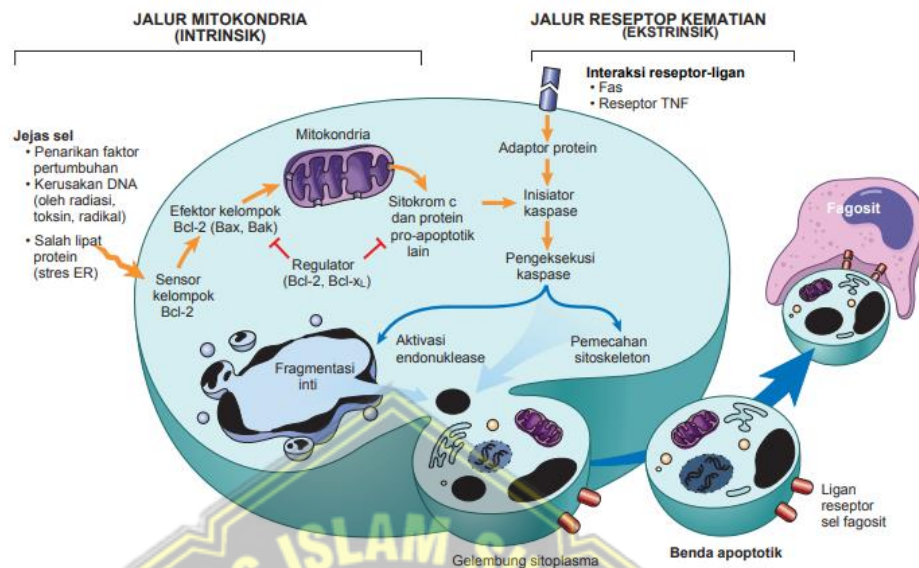
- a. Kerusakan DNA dapat terjadi akibat radiasi, obat sitotoksik, suhu ekstrim, dan hipoksia. Stimulus yang merugikan dari kerusakan ringan dapat memicu apoptosis, sedangkan jika dosis stimulus tersebut lebih tinggi akan memicu nekrosis. Sel yang tidak dieliminasi baik melalui apoptosis maupun nekrosis, sel akan bermutasi pada DNA yang rusak sehingga bertransformasi menjadi keganasan. Metode kerusakan DNA inilah yang diharapkan pada sistem kerja obat kemoterapi melalui induksi apoptosis. Menurut Susanto *et al.*, (2018) hasil pengobatan kemoterapi masih belum optimal dan seringkali menimbulkan efek samping yang bermakna.

Sehingga dibutuhkan alternatif lain untuk memberikan efek merusak DNA sel kanker yaitu dengan obat sitotoksik antikanker.

- b. Akumulasi protein salah bentuk dalam retikulum endoplasma yang dapat menyebabkan stress dan akhirnya mengalami apoptosis.
- c. Jejas sel akibat infeksi, terutama infeksi virus (contoh adenovirus) atau sebagai respon imun terhadap virus (contoh virus Hepatitis).

Berdasarkan mekanisme selulernya, Kumar *et al.*, (2016) menjelaskan bahwa apoptosis dibagi menjadi 2 jalur, yakni intrinsik dan ekstrinsik. Jalur-jalur tersebut akan bergabung mengaktifkan caspase dan mereka dikendalikan oleh keseimbangan protein proapoptosis dan antiapoptosis. Perbedaan antara kedua jalur aktivasi apoptosis ini terletak pada kondisi yang menginduksi, molekul yang berperan, dan fungsinya.





Gambar 2.6. Mekanisme apoptosis. Jalur ekstrinsik dan intrinsik dengan aktivasi caspase

1. Apoptosis melalui jalur intrinsik (mitokondria)

Keputusan hidup dan mati sel bergantung pada permeabilitas membran mitokondria yang diatur oleh keseimbangan antara molekul pro-apoptosis (BAX, BAK) dan molekul anti-apoptosis (BCL₂, BCL-X_L). Apabila terjadi kerusakan sel, maka mengaktifasi Bax dan Bak. Protein pro-apoptosis akan membentuk pori di MOM (*Mitochondrial outer membrane*) dan menyebabkan sitokrom C lepas ke sitosol. Hal ini, mengakibatkan inhibisi molekul anti-apoptosis (BCL₂, BCL-X_L) dan sitokrom C yang berada dalam sitosol akan berinteraksi dengan APAF-1 dan mengaktifasi caspase 9. Kemudian caspase 9 mengaktifasi caspase eksekutor (caspase 3, 6,7) (Kumar *et al.*, 2016).

2. Apoptosis melalui jalur ekstrinsik (*Death Receptor*)

Jalur reseptor kematian yang dimulai ketika aktivasi *tumor necrosis factor receptor* (TNF-R), yang meliputi TNF-R tipe 1, Fas (CD95) beserta ligannya FasL. Reseptor ini memiliki domain kematian di sitoplasmanya. Ikatan silang Fas-FasL akan mengikat protein *death adapter* FADD sehingga menyebabkan akumulasi dan mengaktifkan caspase inisiator (caspase 8). Caspase 8 akan mengaktifkan jalur caspase eksekutor (3,6,7) sehingga mengakibatkan kematian sel (Kumar *et al.*, 2016).

2.4. Daun Kemangi

2.4.1. Klasifikasi Kemangi

Kemangi adalah tumbuhan berkhasiat anggota family Lamiaceae yang sering ditemui di Indonesia. Klasifikasi kemangi Menurut Ariani *et al.*, (2020) sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Spermatophyta*

Sub Divisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledoneae*

Subkelas : *Asteridae*

Ordo : *Lamiales*

Famili : *Lamiaceae*

Genus : *Ocimum*

Spesies : *Ocimum Sanctum L.*

2.4.2. Morfologi dan habitat

Tumbuhan kemangi memiliki morfologi dengan perawakan semak, tajuk bulat, banyak cabang, dan tinggi 0,3 m hingga 1,5 m. Batangnya yang berkayu, cabang, berbulu, serta berwarna hijau sering keunguan. Kemangi memiliki daun berwarna hijau, tunggal, berhadapan, tulang daun menyirip, tangkai daunnya 0,25 - 3 cm, dan setiap helai berbentuk elips memanjang, ujungnya runcing atau tumpul, berbintik kelenjar rapat 0,75-7,5 x 0,5-2,75 cm, tepi daun; gerigi dengan gelombang rata. Bunga yang majemuk berbentuk tandan dan biji yang berukuran kecil, keras, berwarna coklat tua (Hendrawati, 2009). Kemangi cocok tumbuh di daerah sejuk dan kelembaban tinggi (Putri, 2021).

2.4.3. Kandungan senyawa kemangi

Mariadi *et al.*, (2021) menyatakan bahwa daun kemangi memiliki berbagai kandungan zat yang berkhasiat bagi tubuh. Kandungan daun kemangi mengandung eugenol, urosolic acid, carvacrol, linalool, caryophyllene, estragol, rosmarinic acid, apigenin, cirsimartin, dan flavonoid (vicenin dan orientin). Kandungan ekstrak daun kemangi berpotensi memberikan proteksi sebagai antioksidan

terhadap karsinogenesis kimia dan sebagai anti-angiogenik, induksi apoptosis, anti-tumorigenesis, anti-inflamasi, inhibisi siklooksigenase serta mengurangi pertumbuhan sel kanker sekaligus melindungi DNA dari paparan berbahaya. Flavonoid vicenin-2 dalam kemangi berkemampuan hambat proliferasi sel kanker dengan menahan siklus sel melalui akumulasi sel di fase G2/M akibat *cell cycle arrest* pada fase tersebut. Daun kemangi mampu menginduksi apoptosis dengan peningkatan ekspresi *cytochrome C*, Bax, dan caspase-3.

2.5. Doxorubicin

Doxorubicin tergolong obat golongan antrasiklin yang paling banyak digunakan dalam pengobatan kanker. Doxorubicin dapat berinteraksi dengan DNA, secara langsung akan memengaruhi transkripsi dan replikasi dengan cara mengikat DNA sel kanker dan memblokir enzim yang penting seperti topoisomerase II. Hal ini, membuat DNA menjadi kecil dan sel kanker tidak dapat berkembang (Sebayang, 2019). Katzung *et al.*, (2013) menyatakan bahwa secara umum doxorubicin diberikan dalam kombinasi dengan obat antikanker lain seperti siklofosfamid, sisplatin, dan 5-FU. Mekanisme kerja sitotoksik doxorubicin melalui empat mekanisme utama:

1. Menginhibisi topoisomerase II.
2. Pengikatan DNA melalui interkalasi, sehingga menghambat sintesis DNA dan RNA, serta terputusnya untai DNA.
3. Pembentukan radikal bebas semikuinon dan radikal bebas oksigen melalui proses-proses reduksi dependen-besi dan enzim; dan
4. Pengikatan ke membran sel untuk mengubah aliran dan transpor ion.



Gambar 2.7. Struktur kimia doxorubicin

Kemoterapi kanker serviks dengan *doxorubicin* masih memiliki efek samping yang tinggi. Efek samping yang sering timbul akibat penggunaan doxorubicin adalah kardiotoxik. Disfungsi miokard yang diakibatkan oleh doxorubicin kemungkinan disebabkan oleh radikal bebas yang terbentuk, gangguan fungsi adrenergik, terbentuknya peroksida lipid, gangguan transportasi Ca dalam sarcollemma, lepas $\text{TNF}\alpha$ dan interleukin-2 serta sitokin terbebas dari jaringan tumor (Sebayang, 2019).

2.6. Efek Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemangi Terhadap Sel Hela

Sel Hela adalah *continuous-cell-line* yang terinfeksi oleh Human Papiloma Virus (HPV) dengan gen p53 dan pRb dalam bentuk *wild-type*. Gen tersebut sebagai gen pengatur pertumbuhan aktif bagi sel Hela. Sel Hela mampu berproliferasi cepat dan mempunyai telomerase aktif selama pembelahan sel. Namun, aktivitasnya dihambat oleh keberadaan onkogen E6 dan E7 dari sel Hela yang diinfeksi HPV (Febrina *et al.*, 2018). Protein E6 dan E7 memodulasi protein seluler yang mengatur siklus sel. E6 mengikat p53 terfosforilasi dan menjadi tidak aktif sementara E7 mengikat protein pRb. Protein p53 merupakan faktor transkripsi yang mengaktifkan transkripsi berbagai gen seperti p21. P53 memediasi penghentian siklus sel ketika DNA rusak. Apabila DNA yang rusak tak bisa diperbaiki, p53 akan menginduksi apoptosis dengan mengaktifkan protein pro-apoptosis (BAX, BAK). Pengikatan E7 pada pRb akan menyebabkan pRb terfosforilasi dan menyebabkan pelepasan E2F yang menginduksi sejumlah gen yang esensial untuk sintesis dan mitosis, sehingga sel memasuki proses siklus sel (DeFilippis *et al.*, 2003).

Daun kemangi memiliki berbagai kandungan zat yang berkhasiat bagi tubuh. Daun kemangi mengandung eugenol, *urosolic acid*, carvacrol, linalool, *caryphyllene*, estragol, *rosmarinic acid*, apigenin, cirsimartin, dan flavonoid (vicenin dan orientin). Kandungan ekstrak *Ocimum Sanctum* berpotensi memberikan proteksi sebagai antioksidan terhadap

karsinogenesis kimia dan sebagai anti-angiogenik, induksi apoptosis, anti-tumorigenesis, anti-inflamasi, inhibisi siklooksigenase serta mengurangi pertumbuhan sel kanker sekaligus melindungi DNA dari paparan berbahaya. Flavonoid vicenin-2 dalam kemangi berkemampuan hambat proliferasi sel kanker dengan menahan siklus sel melalui akumulasi sel di fase G2/M akibat *cell cycle arrest* pada fase tersebut. Selain itu, menginduksi apoptosis dengan peningkatan ekspresi *cytochrome C*, Bax, dan caspase-3 (Mariadi *et al.*, 2021). Berdasarkan penelitian Baruah *et al.*, (2018) kandungan flavonoid vicenin-2 dapat meningkatkan aktivitas caspase-3 pada jalur apoptosis yaitu jalur ekstrinsik dan intrinsik. Selain itu, vicenin-2 juga menginduksi pengurangan sel kanker yang masih hidup dan memodulasi pengurangan p21. Peranan p21 sebagai inhibitor CDK sangat penting dalam memfasilitasi kemampuan p53 untuk penghentian G1-S pada siklus sel sehingga mencegah fosforilasi Rb.

Etanol merupakan pelarut yang membentuk ikatan hidrogen antara molekul-molekulnya untuk melarutkan kandungan senyawa kimia yang memiliki efek sitotoksik seperti flavonoid, steroid dan saponin (Sa'adah & Nurhasnawati, 2017). Hampir semua zat (polar, semipolar, nonpolar) dapat dilarutkan oleh etanol. Sifat etanol dapat mengendapkan protein dan hambat kerja enzim sehingga dapat terhindarkan dari proses hidrolisis maupunpun oksidasi (Erviana *et al.*, 2016). Pelarut etanol dapat menarik senyawa golongan fenol lebih besar dibandingkan pelarut lainnya (Kumalasari &

Andiarna, 2020). Senyawa yang termasuk golongan fenol adalah asam fenolat, flavonoid, tanin, dan stilbene (Singh *et al.*, 2016). Suatu senyawa dapat larut dalam pelarut dengan kepolaran sama, seperti halnya flavonoid yang polar akan larut dalam pelarut yang polar (Kemit *et al.*, 2016).

Kumar *et al.*, (2016) menyatakan bahwa Apoptosis yang diinduksi oleh stimulus patologis dapat berkembang menjadi nekrosis, yakni kerusakan DNA yang terjadi akibat radiasi, obat sitotoksik, suhu ekstrim, dan hipoksia. Stimulus yang merugikan dari kerusakan ringan dapat memicu apoptosis, sementara jika dosis stimulus tersebut lebih tinggi akan memicu nekrosis. Jika kerusakan membran serius, enzim keluar lisosom dan masuk ke sitoplasma sampai mencerna sel hingga menimbulkan nekrosis. Isi sel dikeluarkan dari membran plasma yang rusak, masuk ke rongga ekstrasel, dan memicu peradangan.

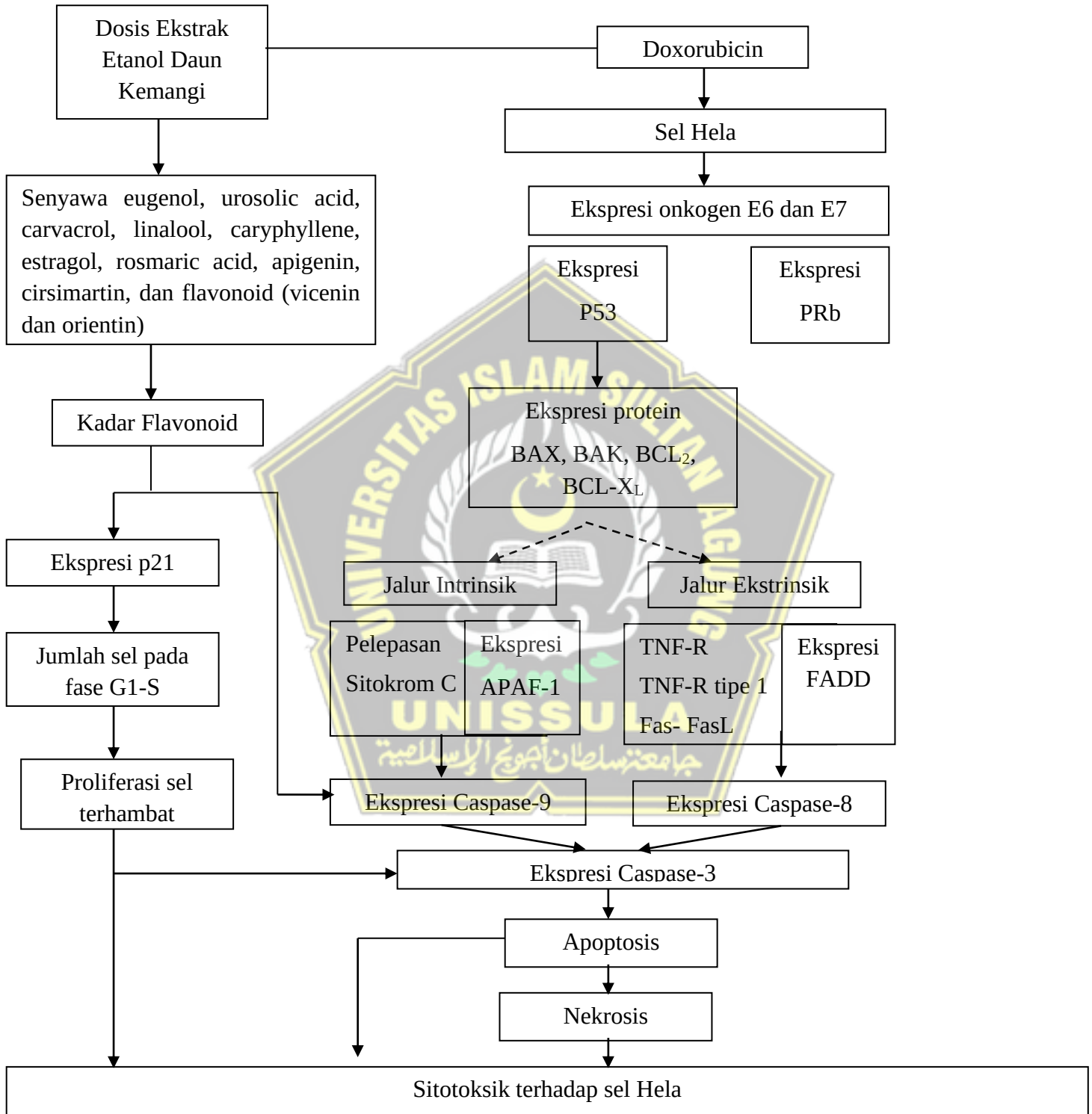
2.7. Efek Sitotoksik Doxorubicin terhadap Sel Hela

Doxorubicin merupakan obat golongan antrasiklin yang paling banyak digunakan dalam pengobatan kanker. Doxorubicin bekerja dengan cara mengikat DNA sel kanker dan memblokir enzim yang penting seperti topoisomerase II. Hal ini, membuat DNA menjadi kecil dan sel kanker tidak dapat berkembang (Sebayang, 2019). Kemoterapi kanker serviks dengan doxorubicin masih memiliki efek samping yang tinggi. Efek samping yang sering timbul akibat penggunaan doxorubicin adalah

kardiotoksik. Disfungsi miokard yang diakibatkan oleh doxorubicin kemungkinan disebabkan oleh radikal bebas yang terbentuk, gangguan fungsi adrenergik, terbentuknya peroksida lipid, gangguan transportasi Ca dalam sarcollemma, lepas $\text{TNF}\alpha$ dan interleukin-2 serta sitokin terbebas dari jaringan tumor (Sebayang, 2019).

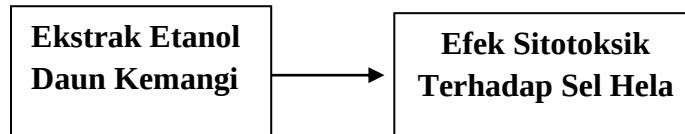


2.8. Kerangka Teori



Gambar 2.8. Kerangka Teori

2.9. Kerangka Konsep



Gambar 2.9. Kerangka Konsep

2.10. Hipotesis

Ekstrak etanol daun kemangi (*ocimum sanctum*) memiliki efek sitotoksik aktif terhadap sel Hela.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Merupakan jenis penelitian eksperimental analisis dengan rancangan penelitian *Posttest-Only Control Group Design* terhadap sel Hela. Perlakuan yang diberikan yakni pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum Sanctum*) terhadap sel Hela.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel

3.2.1.1. Variabel bebas

Dosis ekstrak etanol daun kemangi

3.2.1.2. Variabel tergantung

Sitotoksik terhadap sel Hela

3.2.2. Definisi operasional

3.2.2.1. Ekstrak Etanol Daun Kemangi

Ekstrak etanol daun kemangi merupakan ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi daun kemangi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pemberian ekstrak dilakukan dengan berbagai dosis yaitu 3,125

$\mu\text{g/mL}$, 6,25 $\mu\text{g/mL}$, 12,5 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$
100 $\mu\text{g/mL}$. Skala yang digunakan adalah rasio.

3.2.2.2. Efek Sitotoksik

Sitotoksik merupakan kemampuan ekstrak etanol daun kemangi untuk membunuh atau menyebabkan kematian pada sel Hela. Efek sitotoksik terhadap sel Hela ditentukan dengan perhitungan jumlah sel hela yang masih hidup setelah diinkubasi dengan ekstrak etanol daun kemangi. Sel hidup dideteksi dengan MTT assay lalu dibaca dengan ELISA reader sehingga didapatkan data absorbansi. Dari data absorbansi selanjutnya dibuat kurva hubungan log konsentrasi *versus* nilai % sel hidup. Untuk menentukan efek sitotoksik, selanjutnya dihitung nilai IC_{50} dalam satuan $\mu\text{g/mL}$ dengan kriteria:

Sangat aktif : $\text{IC}_{50} \leq 5 \mu\text{g/mL}$

Aktif : $5 \mu\text{g/mL} < \text{IC}_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$

Sedang : $11 \mu\text{g/mL} < \text{IC}_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$

Lemah : $\text{IC}_{50} \geq 30 \mu\text{g/mL}$

Skala yang digunakan adalah rasio.

3.3. Populasi dan Sampel

Populasi dan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kultur sel Hela yang diperoleh dari tempat penyimpanan kultur di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat, dan Keperawatan UGM dengan kerapatan 1×10^4 sel/sumuran.

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

Instrument penelitian ini terdiri dari;

3.4.1. Alat

Alat ekstraksi yang digunakan adalah gelas, kertas saring, kain kasa, pengaduk, *Rotary Evaporator*, corong porselin, penyaring, dan flakon. Alat uji in vitro digunakan adalah *Autoclave* (Hirayama), *inverted microscope* (Zeiss MC 80), mikropipet (Gilson), inkubator CO₂ (Heraeus), *inverted microscope* (Zeiss MC 80), mikroskop cahaya, *hemocytometer*, neraca analitik (Sartorius), kamera digital (Canon, Japan), *centrifuge* (Sorvall), *ELISA reader* (SLT 240 ATC),), *Laminar Air Flow Hood* (Labconco), *eppendorf* steril (plasti brand), *Tissue culture flask* (nunclon), *conical tube* (Nunclon), penangas air, 24-well plate (Nunc), penangas air, *cover slip*, *yellow* dan *blue tip*, *shaker*, 96- well plate (Nunc), (MRK-RETAC), *vortex* (Ismiyati & Nurhaeni, 2016).

3.4.2. Bahan

Bahan utama yaitu daun kemangi dan larutan etanol 96 % (Merck). Bahan uji sitotoksik menggunakan MTT {3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyl tetrazolium bromide} adalah sel Hela (sel kanker serviks), DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), Fungison 0,5% (Gibco), Serum (FBS) 10% (Gibco), Fetal Bovine media penumbuh sel (media kultur), dan penisilin-streptomisin 1% (Gibco). Sel dipanen dari tissue culture disk dengan tripsin-EDTA 0,025%. larutan pencuci: PBS (phospat buffer saline), Pelarut sampel: DMSO (dimetil sulfoxida), larutan stopper: SDS (sodium dodesil sulfat) 10% dalam HCl 0,1N, (Ismiyati & Nurhaeni, 2016).

3.4.3. Cara Penelitian

1. Pengkulturan sel Hela

Sel ditumbuhkan dalam media DMEM dengan suplementasi Fetal Bovine Serum 10%, MEM NEAA 1%, Penicillin-Streptomycin 2%, dan Fungizone 0,5%. Sel diinkubasi di dalam Inkubator CO₂ dengan kadar CO₂ sebesar 5% dan temperatur 37 °C.

2. Pembuatan serbuk kemangi dan pembuatan ekstrak etanol

kemangi

- a. Daun kemangi yang sudah dipanen dicuci bersih dengan air mengalir
- b. Setelah itu, dilakukan sortasi (pemilihan daun yang bagus).
Lalu dikeringkan dalam oven dengan suhu 40°C.
- c. Daun kering dihaluskan lalu diayak dengan mesh 40, ditimbang sebanyak 123 gr. Dimaserasi menggunakan 500 ml etanol 96% diaduk dan didiamkan 3x24 jam pada suhu kamar. Lalu filtrat disaring dan dikumpulkan (filtrat I)
- d. Kemudian supernatant dilakukan remaserasi menggunakan etanol 96% 500 ml selama 3x24 jam dengan sesekali diaduk, lalu ditampung kembali filtratnya (filtrat II).
- e. Filtrat I dan filtrat II dikumpulkan, lalu diuapkan menggunakan rotatory evapor sehingga mendapatkan ekstrak kental daun kemangi.
- f. Bobot ekstrak kental yang didapatkan sebanyak 9,9 gram.
- g. $\text{Randemen \%} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100 \%$

$$= \frac{9,9 \text{ gram}}{123 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 8,05 \%$$

(Husna, 2018)

3. Uji Sitotoksik dengan MTT

a. Panen Sel

- 1) Mengamati keadaan sel dengan mikroskop inverted. Sel siap dipanen apabila dalam kondisi konfluen 80%.
- 2) Buang media pada flask.
- 3) Tuang 5 ml PBS ke dalam flask, tutup flask lalu goyang-goyangkan untuk mencuci sel dari sisa-sisa media, kemudian buang PBS. Ulangi 2x sampai bebas sisa-sisa media komplit.
- 4) Menambahkan Tripsin EDTA 0,1% sebanyak 2 ml, kemudian inkubasi 3-5 menit di dalam inkubator CO₂ 37 °C.
- 5) Mengeluarkan flask dari inkubator, goyang-goyangkan untuk melepaskan sel dari matriks artifisial flask.
- 6) Memindahkan Tripsin EDTA ke dalam conical 15 ml.
- 7) Menambahkan 2 ml media komplit dan PBS sampai 10 ml.
- 8) Sentrifus dengan kecepatan 1200 rpm selama 10 menit.
- 9) Membuang supernatan.
- 10) Menambahkan 1-3 ml media komplit pada pelet, resuspensi hingga homogeny dan suspensi sel siap dihitung.

11) Ambil 10 μl suspensi sel, pipetkan ke hemositometer, lalu amati dengan mikroskop.

12) Lakukan perhitungan sel dengan menggunakan counter.

b. Penanaman Sel di 96-well plate

1) Persiapkan plate 96-well.

2) Pada tiap well, masukkan 100 μl suspensi sel dengan jumlah sel 1×10^4 untuk masing-masing well, inkubasi 24 jam.

c. Perlakuan Sampel

1) Timbang sampel 5-10 mg, ditambah 100-200 μl DMSO.

2) Vortex sampai larut.

3) Membuat pengenceran yang diinginkan dalam media komplit, dosis sampel ekstrak etanol daun kemangi yaitu 6,25 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$, 3,125 $\mu\text{g/mL}$, 12,5 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$. Doxorubicin, yang dipakai sebagai kontrol positif, dibuat konsentrasi 20 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 5 $\mu\text{g/ml}$, 2,5 $\mu\text{g/ml}$, 1,25 $\mu\text{g/ml}$, 0,625 $\mu\text{g/ml}$, dan 0,3125 $\mu\text{g/ml}$.

4) Memasukkan 100 μl pengenceran sampel yang sudah disiapkan.

5) Beri kontrol media (tanpa sel).

6) Inkubasikan 24 jam

d. MTT Assay

- 1) Buang media pada tiap well.
- 2) Persiapkan 1 ml reagen MTT ditambah 9 ml medium komplit dan vortex hingga homogen.
- 3) Masukkan 100 µl MTT 0,5 mg/ml ke dalam masing-masing well.
- 4) Inkubasi selama 4 jam.
- 5) Stop dengan SDS 100 ul/well.
- 6) Tutup dan simpan pada suhu kamar selama overnight.
- 7) Baca absorbansi menggunakan Elisa Reade pada panjang gelombang 595 nm.
- 8) Perhitungan % sel hidup melalui data absorbansi sel menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Viabilitas (\%)} = \frac{\text{OD Perlakuan} - \text{OD Kontrol Media}}{\text{OD Kontrol Sel} - \text{OD Kontrol Media}} \times 100\%$$

Keterangan:

OD: optical density(absorbansi)

OD perlakuan: media kultur RPMI 1640 dan sel Hela yang diberi ekstrak

OD kontrol media: media kultur RPMI 1640

OD kontrol sel: media kultur RPMI 1640 dan sel Hela yang tidak diberi ekstrak

- 9) Kemudian dibuat kurva hubungan log konsentrasi *versus* nilai % sel hidup dan dihitung nilai IC_{50} .

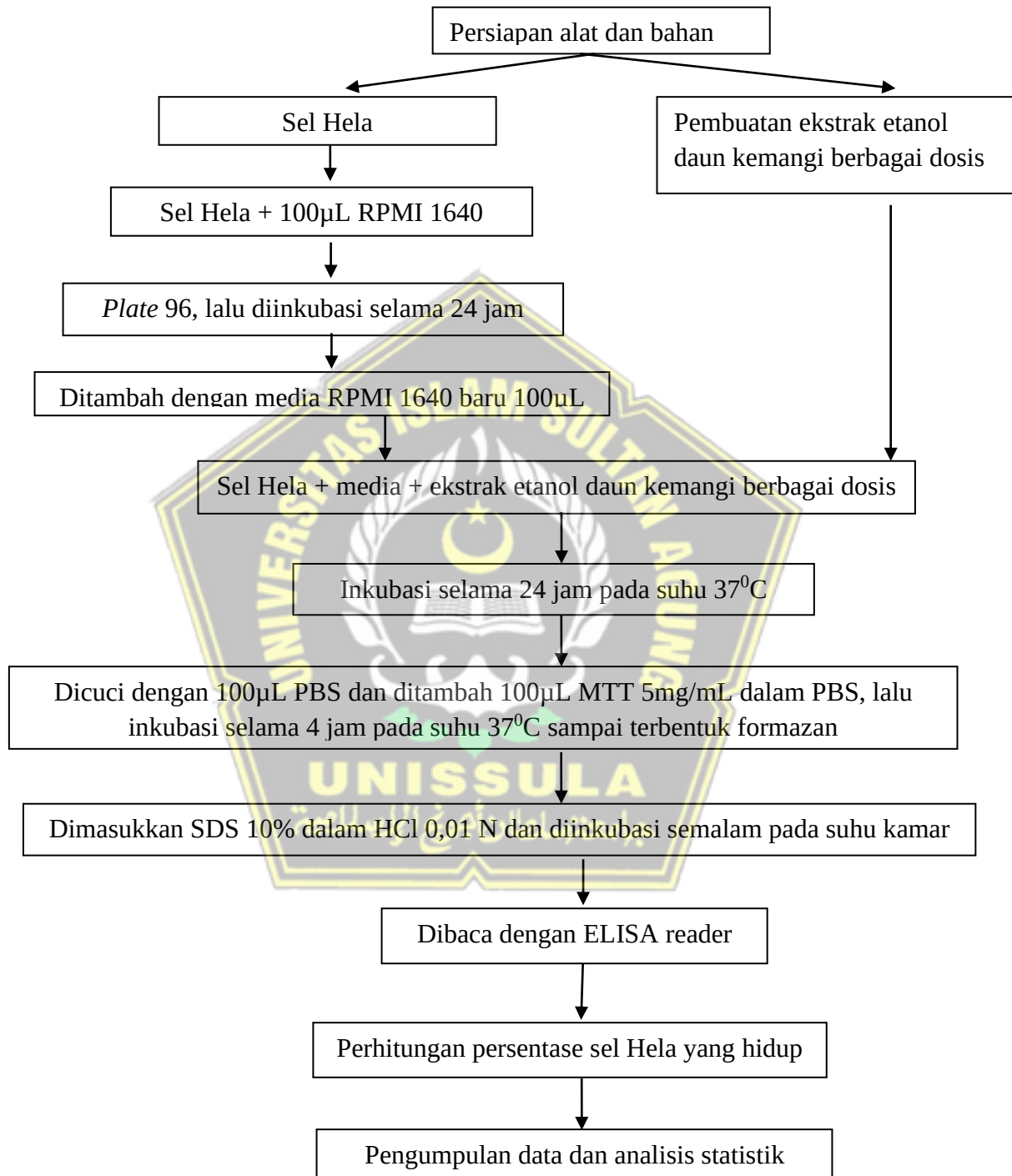
(Haryoto *et al.*, 2013)

3.5. Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia FK Unissula dan Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM Yogyakarta pada bulan Oktober sampai dengan Februari 2023.



3.6. Alur Penelitian



Gambar 3.1. Alur Penelitian

3.7. Analisis Hasil

Hasil data ditabulasikan dan dilanjutkan dengan uji statistik secara komputerisasi menggunakan aplikasi SPSS versi 23 *for* Windows. Data uji sitotoksik yang diperoleh berupa data absorbansi untuk memperoleh perhitungan persentase sel hidup, rumus yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$\text{Viabilitas (\%)} = \frac{\text{OD Perlakuan} - \text{OD Kontrol Media}}{\text{OD Kontrol Sel} - \text{OD Kontrol Media}} \times 100\%$$

Hasil persentase sel hidup kemudian dianalisis dengan analisis probit untuk menentukan hubungan antara persentase sel hidup dengan log konsentrasi sehingga diperoleh persamaan regresi $Y = BX + A$, perhitungan nilai IC_{50} dihitung dengan cara mensubstitusikan nilai 50 pada Y sehingga memperoleh nilai X dan nilai IC_{50} merupakan anti log x (Nurfiana *et al.*, 2021).

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Pada proses ekstraksi, setelah dilakukan maserasi terhadap 123 gram simplisia halus daun kemangi dengan 500 ml etanol 96% didapatkan ekstrak kental sebanyak 9.9 gram , dengan rendemen sebesar 8.05%.

Hasil uji sitoksoksik ekstrak etanol daun kemangi dan doxorubicin terhadap sel hela diperlihatkan pada tabel 4.1. Pada absorbansi yang disajikan tabel 4.1 menunjukkan hasil uji MTT assay yang dilakukan terhadap sel hela yang telah dikultur dengan penambahan dosis ekstrak etanol daun kemangi dengan konsentrasi berbeda, mengakibatkan viabilitas sel hela lebih sedikit bila dibandingkan dengan kontrol. Sementara itu, aktivitas sitotoksik sel hela dengan doxorubicin (kontrol positif) juga menunjukkan daya hambat terhadap viabilitas sel hela.

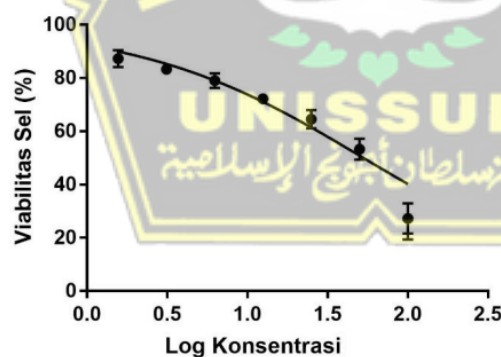
Tabel 4. 1. Hasil uji MTT Sel HeLa perlakuan Ekstrak Etanol Daun Kemangi dan Doxorubicin selama 24 jam

Perlakuan	Konsentrasi (µg/ml)	Absorbansi	Persentase viabilitas (%)	IC ₅₀ (µg/mL)
Ekstrak etanol daun kemangi	3,125	0,7270	83,2579	52,94
	6,25	0,6965	79,0115	
	12,5	0,6475	72,1893	
	25	0,5925	64,5318	
	50	0,5118	53,2892	
	100	0,3250	27,2885	
Kontrol Positif (Doxorubicin)	0,3125	0,7275	83,327	1,917
	0,625	0,6913	78,2805	
	1,25	0,5760	62,2346	
	2,5	0,5030	52,0710	
	5	0,2445	16,0808	
	10	0,2050	10,5813	
	20	0,1828	7,4835	
KM (Kontrol Media)		0,1290		
KS (Kontrol sel)			100,0000	

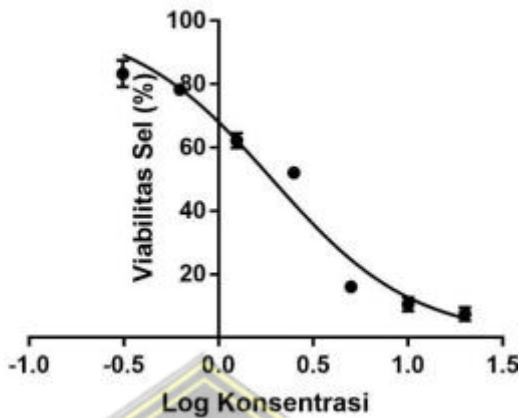
Data sitotoksik menunjukkan bahwa setiap ekstrak kemangi pada berbagai konsentrasi memiliki kemampuan menghambat sel hela yang berbeda-beda yang tampak pada rerata viabilitas sel Hela. Perhitungan sel dengan cara menghitung jumlah sel yang hidup serta jumlah sel yang mati setelah diberi ekstrak etanol daun kemangi, kemudian dibandingkan dengan jumlah sel.

Berdasarkan hasil perhitungan persentase viabilitas sel didapatkan penurunan rerata persentase viabilitas sel pada tiap dosis yang diuji MTT-assay artinya semakin sedikit sel yang hidup. Hal ini, dikarenakan semakin

tinggi dosis konsentrasi uji maka semakin rendah viabilitas sel hela seperti yang tampak pada dosis yang paling rendah yaitu 3,125 $\mu\text{g/ml}$ didapatkan viabilitas sel tinggi, berbeda dengan viabilitas pada dosis tertinggi sebesar 100 $\mu\text{g/ml}$ memiliki viabilitas sel yang rendah. Hasil persentase viabilitas sel kemudian dijadikan dasar analisis probit untuk memperoleh nilai IC_{50} (konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan sel sebanyak 50%). Grafik perbandingan persentase viabilitas sel pada Gambar 4.1 digunakan untuk menentukan hubungan antara log konsentrasi dengan persentase sel hidup sehingga diperoleh nilai IC_{50} sebesar 52,94 $\mu\text{g/ml}$ pada lampiran 2, yang artinya ekstrak etanol daun kemangi mampu menghambat pertumbuhan sel sebanyak 50% dari populasi sel hela dengan daya toksisitas lemah. Hal ini, dikarenakan nilai $\text{IC}_{50} \geq 30 \mu\text{g/mL}$.



Gambar 4.1. Grafik perbandingan persentase viabilitas sel untuk konsentrasi tiap kelompok perlakuan



Gambar 4.2. Grafik viabilitas Sel HeLa perlakuan kontrol positif selama 24 jam

Grafik perbandingan antara persentase viabilitas sel dengan kontrol positif pada Gambar 4.2 digunakan untuk menentukan hubungan antara log konsentrasi dengan persentase sel hidup sehingga diperoleh nilai IC_{50} sebesar 1,917 $\mu\text{g/ml}$ pada lampiran 2, yang artinya doxorubicin memiliki daya toksisitas yang sangat aktif. Hal ini, dikarenakan nilai $IC_{50} \leq 5 \mu\text{g/mL}$.

4.2. Pembahasan

Daun kemangi (*Ocimum Sanctum*) merupakan salah satu bahan alam sebagai antikanker yang mengandung eugenol, urosolic acid, carvacrol, linalool, caryphyllene, estragol, rosmarinic acid, apigenin, cirsimartin, dan flavonoid (vicenin dan orientin). Hasil penelitian terhadap sel hela ditemukan bahwa ekstrak etanol daun kemangi memiliki aktivitas sitotoksik. Kandungan kemangi mampu menghambat proliferasi sel kanker, induksi apoptosis, dan nekrosis. Penggunaan pelarut etanol pada proses ekstraksi

daun kemangi dapat menarik senyawa golongan fenol dan melarutkan kandungan senyawa kimia yang memiliki efek sitotoksik seperti flavonoid, steroid, saponin dengan cara membentuk ikatan hidrogen antara molekul-molekulnya (Sa'adah & Nurhasnawati, 2017).

Seiring peningkatan dosis dari ekstrak etanol daun kemangi, terjadi penurunan rerata persentase viabilitas sel pada tiap dosis yang diuji MTT-assay. Pada pemberian dosis tertinggi (100 µg/ml) menunjukkan persentase viabilitas terendah (27,28%). Penurunan persentase viabilitas sel hela disebabkan karena efek kandungan flavonoid pada daun kemangi. Hal ini sejalan dengan penelitian (Yang *et al.*, 2018) bahwa kandungan flavonoid daun kemangi mampu menurunkan viabilitas sel kanker kolon. Melihat potensi sitotoksik daun kemangi, maka kedepannya perlu diteliti kembali toksisitas dan selektivitasnya pada sel kanker lain.

Hasil perhitungan didapatkan nilai IC_{50} sebesar 52,94 µg/ml. Tingkat sitotoksik senyawa dinyatakan dengan nilai IC_{50} , jika ekstrak etanol daun kemangi memiliki $IC_{50} \geq 30 \mu\text{g/mL}$ tergolong tingkat sitotoksik yang lemah. Kriteria tingkat toksisitas dinyatakan lemah jika $IC_{50} \geq 30 \mu\text{g/mL}$, toksisitas sedang jika IC_{50} 11-30 µg/mL, toksisitas aktif jika 5-10 µg/mL, dan toksisitas sangat aktif jika $IC_{50} \leq 5 \mu\text{g/mL}$ (Haryoto *et al.*, 2013). Hal ini, dikarenakan kandungan urosolic acid kemangi yang menghambat siklus sel pada fase G0-G1 dan S seperti pada penelitian (Yunita, 2021) dengan $IC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$ terhadap sel MCF-7. Meskipun memiliki efek sitotoksik yang

lemah, tetapi mampu menurunkan viabilitas sel pada tiap dosis seperti pada penelitian (Ismiyati & Nurhaeni, 2016) dengan nilai IC_{50} 209 $\mu\text{g/mL}$ kandungan flavonoid daun kemangi menginduksi apoptosis dengan pelepasan ikatan antara E6 dan P53 sehingga P53 aktif kembali. Mariadi *et al.*, (2021) menyatakan bahwa flavonoid kemangi menginduksi apoptosis dengan peningkatan ekspresi *cytochrome C*, Bax, dan caspase-3. Apoptosis yang diinduksi oleh stimulus patologis dapat berkembang menjadi nekrosis, yakni kerusakan DNA yang terjadi akibat radiasi, obat sitotoksik, suhu ekstrim, dan hipoksia. Stimulus yang merugikan dari kerusakan ringan dapat memicu apoptosis, sementara jika dosis stimulus tersebut lebih tinggi akan memicu nekrosis. Kumar *et al.*, (2016) menyebutkan bahwa overekspresi BCL-2 dapat menghambat sinyal apoptosis, yang artinya mekanisme apoptosis dapat dilihat dari ekspresi BCL-2, namun perlu penelitian lanjutan untuk membuktikan mekanisme tersebut.

Sebagai kontrol positif, doxorubicin merupakan obat kemoterapi yang banyak digunakan untuk terapi berbagai macam jenis kanker (Sebayang, 2019). Dari hasil pengujian doxorubicin sebagai kontrol positif diperoleh nilai IC_{50} pada inkubasi 24 jam sebesar 1,917 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan nilai IC_{50} ekstrak etanol daun kemangi pada inkubasi 24 jam sebesar 52,94 $\mu\text{g/mL}$. Dari hasil perhitungan IC_{50} dapat dilihat bahwa nilai IC_{50} doxorubicin jauh lebih kecil dibandingkan nilai IC_{50} pada sampel uji yaitu ekstrak etanol daun kemangi, yang artinya bahwa doxorubicin memiliki aktivitas sitotoksik

terhadap sel hela yang lebih besar dibandingkan aktivitas sitotoksik ekstrak daun kemangi. Hal ini terjadi karena doxorubicin merupakan senyawa tunggal golongan antrasiklin yang dihasilkan oleh spesies *Streptomyces* dan berperan unggul dalam pengobatan kanker sedangkan ekstrak daun kemangi masih terdiri dari berbagai senyawa yang khasiatnya berbeda beda (Sebayang, 2019). Oleh karena itu, penelitian selanjutnya dapat menambahkan analisis senyawa kandungan daun kemangi.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun kemangi memiliki efek sitotoksik yang lemah terhadap sel hela
2. Nilai IC_{50} dari ekstrak etanol daun kemangi terhadap sel hela sebesar 52,94 $\mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} doxorubicin terhadap sel hela sebesar 1,917 $\mu\text{g/ml}$.
3. Ekstrak etanol daun kemangi mempunyai IC_{50} yang lebih rendah daripada doxorubicin.

5.2. Saran

1. Penelitian selanjutnya dapat menambahkan efek sitotoksik ekstrak etanol daun kemangi terhadap mekanisme apoptosis pada sel hela.
2. Penelitian selanjutnya dapat menambahkan analisis senyawa kandungan daun kemangi.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, P. K. (2016). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Keladi Tikus (*Thyponium flagelliforme* L), Kemangi (*Ocimum sanctum* L.), dan Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Sel MCF-7. *Skripsi*, 1–15.
- Ariani, N., Febrianti, D. R., & Niah, R. (2020). Uji Aktivitas Ekstrak Etanolik Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara In Vitro. *Jurnal Pharmascience*, 7(1), 107. <https://doi.org/10.20527/jps.v7i1.8080>
- Arifianti, L., Sukardiman, Studiawan, H., Rakhmawati, & Megawati, L. (2014). Uji Aktivitas Ekstrak Biji Sirsak (. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 1(2), 63–66.
- Artanti, A. N., Astirin, O. P., & Prayitno, A. (2016). Cytotoxic Activity Of Non Polar Fraction From *Annona Muricata* L. Leaves On Hela And Raji Cell Line. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 1(2), 112. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v1i2.1944>
- Artanti, N. (2019). *Peran Uji Bioaktivitas untuk Penelitian Herbal dan Bahan Aktif untuk Obat Berbasis Keanekaragaman Hayati Indonesia*. 59.
- Baruah, T. J., Sharan, R. N., & Kma, L. (2018). Vicenin-2: a potential radiosensitizer of non-small cell lung cancer cells. *Molecular Biology Reports*, 45(5), 1219–1225. <https://doi.org/10.1007/s11033-018-4275-8>
- Braithwaite, J. (2022). What Is Cancer? *The Lancet*, 131(3383), 1287–1289. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)16666-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)16666-9)
- DeFilippis, R. A., Goodwin, E. C., Wu, L., & DiMaio, D. (2003). Endogenous Human Papillomavirus E6 and E7 Proteins Differentially Regulate Proliferation, Senescence, and Apoptosis in HeLa Cervical Carcinoma Cells. *Journal of Virology*, 77(2), 1551–1563. <https://doi.org/10.1128/jvi.77.2.1551-1563.2003>
- Erviana, L., Malik, A., & Najib, A. (2016). Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2), 164–168. <https://doi.org/10.33096/jffi.v3i2.217>
- Febrina, I., Maryono, S., & Purwanto, B. (2018). Pengaruh Ekstrak Propolis Terhadap Ekspresi Cyclin D1 Dan Bax Pada Sel Hela. *Biomedika*, 10(1),

51–58. <https://doi.org/10.23917/biomedika.v10i1.5855>

- Haryoto, Muhtadi, Indrayudha, P., Azizah, T., Suhendi, A., & Haryoto, Muhtadi, Peni Indrayudha, Tanti Azizah, A. S. (2013). Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn) Terhadap Sel HeLa, T47D dan WiDR. *Jurnal Penelitian Saintek*, 18(Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn) Terhadap Sel HeLa, T47D dan WiDR), 21–28.
- Hendrawati, A. R. E. (2009). *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum sanctum Linn.) Terhadap Larva Artemia salina Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)*. 1, 12–42.
- Husna, T. (2018). Pengaruh Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) Terhadap Sel MCF-7 dan Sel T47D. *Publikasi Ilmiah*, 1(18), 14–18. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Ismiyati, N., & Nurhaeni, F. (2016). Efek Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) Sebagai Agen Kemopreventif Pada Sel Kanker Leher Rahim Hela Melalui Aktivitas Sitotoksik Dan Induksi Apoptosis. *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*, 13(1), 35. <https://doi.org/10.12928/mf.v13i1.5741>
- Katzung, B. G., Masters, S. B., & Trevor, A. J. (2013). Farmakologi Dasar & Klinik Edisi 12. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9).
- Kemenkes RI. (2019). Pusat Data dan Informasi Kemeterian Kesehatan RI 2019. *Pusat Data Dan Informasi Kemeterian Kesehatan RI*, 1–16.
- Kementrian Kesehatan RI. (2015). Situasi Penyakit Kanker Indonesia. *Pusat Data Dan Informasi Kemenkes RI*, 2, 31–33.
- Kementrian Kesehatan RI. (2020). *Panduan Penatalaksanaan Kanker Serviks*. 44. <http://kanker.kemkes.go.id/guidelines/PPKServiks.pdf>
- Kemit, N., Widarta, I. W. R., & Nocianitri, K. A. (2016). Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Maserasi Terhadap Kandungan Senyawa Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill). *Jurnal Ilmu Teknologi Pangan*, 5(2), 130–141.
- Kumalasari, M. L. F., & Andiarna, F. (2020). Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L). *Indonesian Journal for Health Sciences*, 4(1), 39. <https://doi.org/10.24269/ijhs.v4i1.2279>

- Kumar, V., Abbas, A. k., & Aster, J. C. (2016). Robbins Basic Phatology. In Elsevier.
- Mariadi, I. K., Ocimum, L., & Linn, C. (2021). *Potensi Ekstrak Daun Kemangi (OCIMUM SANCTUM L .) Dan Kunyit (CURCUMA LONGA L .) Terhadap Terapi Kanker Kolorektal Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Departemen Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universi*. 10(8), 1–7.
- Marliana, N., & Widhyasih, R. M. (2018). *Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik (TLM) Imunoserologi*.
- National, G., & Pillars, H. (1998). *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures in Biotechnology*.
- Nurfiana, G., Sari, F., Rahayu, M. P., Khairunnisa, H., & Ratna, D. (2021). *Efek Sitotoksik Ekstrak Dan Fraksi Herba Kemangi (O cimum basilicum L .) Pada Sel Kanker Serviks Hela*. 5(2), 128–134.
- PUTRI, W. A. D. (2021). Formulasi Sediaan Facial Wash Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum basilicum L). In *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan* (Vol. 4, Issue 1). Ahttps://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103237
- Rahmadina, & Febriani, H. (2017). Biologi Sel Unit Terkecil Penyusun Tubuh Makhluk Hidup. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Roni, A., Maruf, A., & Marliani, L. (2021). Uji Sitotoksik Ekstrak Tanaman Gandaria (Bouea macrophylla Griff) Terhadap Sel HeLa. *Jurnal Kimia Riset*, 6(1), 39. https://doi.org/10.20473/jkr.v6i1.24254
- Sa'adah, H., & Nurhasnawati, H. (2017). Perbandingan pelarrut etanol dan airr pada pembuatan ekstrak umbi bawang Tiwai. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), 149.
- Sebayang, A. N. O. (2019). Efek Kardiotoksik Obat Kemoterapi Doxorubicin. *Bimfi*, 7(2), 1–7.
- Singh, J. P., Kaur, A., Singh, N., Nim, L., Shevkani, K., Kaur, H., & Arora, D. S. (2016). In vitro antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (Syzygium cumini) fruit polyphenols. *Lwt*, 65, 1025–1030. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.038

- Siwi, L. H., & Zuhrotun, A. (2019). Artikel Tinjauan : Tanaman Indonesia Yang Berpotensi Sebagai Antikanker. *Farmaka*, 4, 1–15.
- Sridevi, M., Bright, J., & Yamini, K. (2016). Anti-cancer effect of ocimum-sanctum ethanolic extract in non-small cell lung carcinoma cell line. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 8(4), 242–246.
- Susanto, T. H., Maryono, S., & Purwanto, B. (2018). Pengaruh Ekstrak Propolis Terhadap Ekspresi Protein Bcl2, p21, Dan Induksi Apoptosis Pada Sel Hela. *Biomedika*, 9(2). <https://doi.org/10.23917/biomedika.v9i2.5837>
- The Global Cancer Observatory. (2020a). Cancer Incident in Indonesia. *International Agency for Research on Cancer*, 858, 1–2. <https://gco.iarc.fr/>
- The Global Cancer Observatory. (2020b). Estimated number of new cases in 2020, Mexico, both sexes, all ages. *World Health Organization*, 291, 1. <http://gco.iarc.fr/today>
- Yang, D., Zhang, X., Zhang, W., & Rengarajan, T. (2018). Vicenin-2 inhibits Wnt / β -catenin signaling and induces apoptosis in HT-29 human colon cancer cell line. 1303–1310.
- Yunita, S. (2021). Uji Sitotoksik Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) dan Biji Melinjo (*Gnetum gnemon*) terhadap Sel Kanker MCF-7.