

**EFEK SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI
(*Ocimum sanctum linn*) TERHADAP SEL LINE MCF7.
Studi Eksperimental *In Vitro* pada Kanker Payudara**

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Disusun Oleh:

Annisa Maulida Sifa

NIM.30101800022

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

SKRIPSI
EFEK SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL KEMANGI (*Ocimum sanctum* linn)
TERHADAP SEL LINE MCF7 .

Studi eksperimental invitro pada kanker payudara

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Annisa Maulida Sifa

30101800022

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal 24 Maret 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes

Pembimbing II

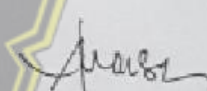


Dra. Eni Widayati, M.Si

Anggota Tim Penguji



Dr. dr. Chodidjah, M.Kes



dr. Nur Anna C Sa'dyah, Sp.PD., KEMD.FINASIM

Semarang, 28 Maret 2023

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung



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

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Annisa Maulida Sifa

NIM : 30101800022

Dengan ini menyatakan bahwa Skripsi yang berjudul:

**“EFEK SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI
(*Ocimum sanctum linn*) TERHADAP SEL LINE MCF7 (Studi
eksperimental invitro pada kanker payudara)”**

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

Semarang, 21 Maret 2023
Yang menyatakan,



Annisa Maulida Sifa

PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas berkah, rahmat, dan nikmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul **“EFEK SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum sanctum linn*) TERHADAP SEL LINE MCF7. (Studi Eksperimental *In Vitro* pada Kanker Payudara)”**.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Dengan ini, saya selaku penulis ingin menyampaikan banyak terima kasih kepada:

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr.Ir.Titiek Sumarawati,M.Kes, Dra.Eni Widayati M.Si., selaku dosen pembimbing I dan II yang telah meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis dalam menyusun skripsi ini.
3. Dr.dr.Chodijah,M.Kes, dr. Nur Anna Chalimah Sadyah, Sp.PD.,K-EMD. selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis dalam menyusun skripsi ini.
4. Terimakasih ke pada bu eva yang telah membantu saya dalam proses penelitian saya
5. Teman seperjuangan selama menyelesaikan skripsi, yaitu assyfa, gholi,fika, dan lain sebagainya. Terimakasih kepada sahabat saya cahya, dika,rizka,sintia. Dan terimakasih kepada myfav human, yang telah

mendukung penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, maka dari itu saya selaku penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca agar penulis dapat memperbaiki diri. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan wawasan bagi pembaca.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Semarang, 23 Januari 2023

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
SURAT PERNYATAAN.....	Error! Bookmark not defined.
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR SINGKATAN	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan 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. Mcf7 <i>Cell Line</i>	6
2.1.1. Deskripsi	6
2.1.2. Sifat MCF7.....	7
2.2. Kanker Payudara.....	8
2.2.1. Definisi dan Epidemiologi	8
2.2.2. Faktor Risiko	9
2.2.3. Patogenesis.....	13
2.3. Kemangi (<i>Ocimum sanctum linn</i>).....	14
2.3.1. Klasifikasi dan Deskripsi	14

2.3.2. Profil Fitokimia	15
2.3.3. Aktivitas Farmakologi	17
2.3.4. Kandungan Senyawa Daun Kemangi	20
2.4. Uji Toksisitas	21
2.5. Kandungan Kemangi (<i>Ocimum sanctum linn</i>) Terhadap Toksisitas MCF7	22
2.6. Kerangka Teori	25
2.7. Kerangka Konsep	26
2.8. Hipotesis	26
BAB III METODE PENELITIAN	27
3.1. Jenis Rancangan Penelitian	27
3.2. Variabel dan Definisi Operasional	27
3.2.1. Variabel	27
3.2.2. Definisi Operasional	27
3.3. Subjek Uji	28
3.4. Alat dan Bahan Penelitian	28
3.4.1. Alat	28
3.4.2. Bahan	29
3.5. Cara Penelitian	29
3.5.1. Pengkulturan Sel MCF7	29
3.5.2. Pembuatan Ekstrak Kemangi	30
3.5.3. Uji Sitotoksik	31
3.6. Tempat dan Waktu Penelitian	33
3.7. Alur Penelitian	34
3.8. Analisis Data	35
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	36
4.1. Hasil Penelitian	36
4.2. Pembahasan	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	43
5.1. Kesimpulan	43
5.2. Saran	43

DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	50



DAFTAR SINGKATAN

BRCA	: <i>Breast Cancer</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
ER	: <i>Estrogen Receptor</i>
Kemenkes	: <i>Kementerian Kesehatan</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Sel Line MCF7	7
Gambar 2.2. Tanaman Kemangi.....	14
Gambar 2.3. Kerangka Teori.....	25
Gambar 2.4. Kerangka Konsep	26
Gambar 3.1. Alur Penelitian.....	34
Gambar 4.1. Grafik rata-rata sel line MCF7 yang hidup	37



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Hasil uji MTT sel line MCF7 perlakuan ekstrak etanol daun kemangi.....	37
---	----



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Penelitian.....	50
Lampiran 2. Surat Izin Penelitian	51
Lampiran 3. <i>Ethical Clearence</i>	52
Lampiran 4. Bebas Laboratorium	53
Lampiran 5. Dokumentasi	54
Lampiran 6. Surat Undangan Ujian Hasil Skripsi	56



INTISARI

Kanker payudara ialah suatu benjolan abnormal akibat pertumbuhan sel yang terus-menerus terjadi dan dapat menyebabkan kematian. Ekstrak daun kemangi mengandung fenolik dan terpenoid sehingga berpotensi untuk mencegah timbulnya kanker payudara. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui Mengetahui efek sitotoksik etanol kemangi (*Ocimum sanctum linn*) terhadap sel line MCF7.

Penelitian ini menggunakan metode eskperimental dengan *post test control group design* terhadap sel line MCF7. Pemberian perlakuan selama bulan Februari 2023. Analisis data menggunakan regresi linear untuk menentukan nilai IC_{50} . Selanjutnya dibuat kurva jumlah sel hidup vs waktu inkubasi untuk menentukan persamaan garis dan menentukan nilai IC_{50} dihitung dengan persamaan $Y = B.X + A$, dengan Y adalah persen kematian sel dan X adalah konsentrasi.

Pada penelitian ini didapatkan konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi secara berturut turut pada adalah sebagai berikut 250µg/ml, 500 µg/ml, dan 100 µg/ml, serta % viabilitas sel line MCF7 didapatkan 100%, 97,95%, 77,91%. Hasil uji Regresi Linier menunjukkan bahwa nilai R^2 sebesar 0,9388, karena nilai R^2 mendekati 1 maka dinyatakan bahwa memiliki linieritas yang baik. Nilai IC_{50} yang didapat melalui persamaan regresi linear adalah 1920,7 µl pada konsentrasi ekstrak daun kemangi.

Kesimpulan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kemangi tidak toksik terhadap sel line MCF7.

Kata Kunci: Ekstrak daun kemangi, MCF7, sitotoksik.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit kanker ialah salah satu penyakit mematikan pada manusia. Prevalensi kejadian kanker terjadi peningkatan setiap tahunnya apabila terjadi pertambahan jumlah penduduk. Kanker payudara ialah suatu penyakit dimana mempunyai peringkat kejadian paling tinggi di seluruh dunia, tersebar di negara-negara maju ataupun negara-negara berkembang, juga penyebab utama terjadinya kematian wanita di seluruh dunia (Syarief, 2021).

Kanker payudara menjadi peringkat kanker paling tinggi no. 2 di seluruh dunia hingga 2098 juta jiwa (11,6%), dimana 627.000 jiwa sebagai (6,6%) penyebab kematian (Kemenkes RI, 2019). Diketahui insidennya ialah 130/ 100.000 penduduk di seluruh dunia serta prevalensi kematian yakni 30/100.000 penduduk setiap tahunnya (Vogel, 2017). Dikethui kurang lebih 70% daripada seluruh kasus kanker payudara sering ditemukan di negara yang berkembang, seperti Indonesia (Tao *et al.*, 2015). Prevalensi daripada kanker payudara yang terdapat di Indonesia berdasarkan data Globocan tahun 2020, jumlah dari pembaruan kasus kanker payudara memperoleh 68.858 kasus (16,6%) dimana sekitar 396.914 kasus kanker terdapat di Indonesia (Kemenkes RI, 2019). Selain itu, jumlah dari kematian diperoleh >22 ribu jiwa atau sekitar 17,9% (Kemenkes RI, 2019). Hasil ini menjadikan kanker payudara ditempatkan di posisi no.1 dengan kanker

terbanyak pada wanita di Indonesia, dengan kekalahan kanker serviks pada urutan no.2. Penyakit ini dapat terjadi pada pria dengan prevalensi <1% (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

Kanker payudara ialah terjadinya pertumbuhan pada sel di payudara tidak terkontrol dikarenakan abnormalitas gen yang mengatur pertumbuhan sel (Sari, 2021). Normalnya, sel-sel payudara yang sudah tua mengalami kematian, lalu ditukar dengan sel-sel baru yang lebih baik, proses regenerasi sel disini berfungsi agar fungsi payudara dapat bertahan. Risiko kanker payudara wanita, yakni usia *menarche*, usia kehamilan pertama, usia *menopause*, kontrasepsi hormonal, lama menyusui, riwayat merokok, tingkat stress, aktivitas fisik, obesitas, serta pola makan (Marfianti, 2021).

Kemoterapi, radioterapi serta pembedahan ialah jenis metode yang dilakukan dalam mengobati kanker payudara. Operasi kanker ini kebanyakan tidak dilakukan pengangkatan seluruh tumor (Kementerian Kesehatan RI, 2018). Dari bervariasinya jenis efek samping yang dapat muncul karena pengobatan medis tersebut, peneliti jadi terdorong dalam melakukan penelitian dalam pencarian pengobatan lainnya supaya bisa menghambat kecepatan pertumbuhan dari sel kanker. Pengobatan kombinasi obat kemoterapi seperti cisplatin dan doksorubisin dengan kemoterapi dapat menyebabkan kerontokan rambut hingga kebotakan (Nurasih *et al.*, 2021). Contoh dari pengobatan alternatif ialah menggunakan daun kemangi (Tatiana & Ria, 2020).

Ocimum sanctum (kemangi) umumnya dikenal *holy basil* dapat sebagai penggunaan berbagai macam obat-obatan. Seluruh tanaman *Ocimum sanctum* yakni bunga, biji, daun, batang, maupun tanaman utuh dapat dipergunakan sebagai pengobatan tradisional. Daun jenis *Ocimum sanctum* didapati mempunyai pengaruh terhadap antiulcer, immuno modulator, anti inflamasi, maupun antikarsinogen (Lee, J. & Scagel, 2019). Dari kandungan beberapa senyawa kimia tumbuhan kemangi yakni *tanin* (4,6%), *steroid* atau *triterpenoid*, *flavonoid*, minyak atsiri (2%), juga asam ursolat. Kandungan senyawa aktif paling besar di kemangi ialah *eugenol* (70-80%) (Torres *et al.*, 2018). Penerapan terapi komplementer kanker payudara dalam pengobatan kanker yang selektif dan aman dengan menggunakan bahan dari alam salah satunya dengan menggunakan daun kemangi (Erviana *et al.*, 2016a).

Berdasarkan penelitian dari Husna (2018) mengemukakan bahwasanya ekstrak pada daun kemangi membuktikan terdapat senyawa golongan alkaloid, flavonoid, serta terpenoid. Hasil dari pengujian sitotoksik mendapatkan bahwa ekstrak etanol dari daun kemangi mempunyai IC_{50} 176,37 $\mu\text{g/mL}$ dengan sel MCF7 serta konsentrasi 500 ppm menggunakan % sel hidup terkecil terhadap sel T47D yakni sekitar 58,582%. Penelitian lain dari Puspitaningrum (2016) mengemukakan bahwasanya terdapat aktifitas dari antikanker kepada sel T47D dengan hasil nilai ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi kloroform, fraksi etil asetat mempunyai nilai IC_{50} secara berturut ialah $>250\mu\text{g/mL}$, $>250\mu\text{g/mL}$,

36,98 μ g/mL,serta >250 μ g/mL. Penelitian sejenis sebelumnya, mendapatkan ekstrak etanol dari daun kemangi (*Ocimum sanctum*) punya efek sitotoksik pada sel MCF7 pada nilai IC₅₀ sekitar 6,95 μ g/mL (Amalia, 2016). Penelitian lainnya mendapatkan juga potensi sitotoksik pada ekstrak etanol dari daun kemangi (*Ocimum sanctum*) kepada sel MCF7 memiliki IC₅₀ sekitar $\pm$ 15 μ g/mL (Saxena *et al.*, 2013).

Berdasarkan hasil uraian, diketahui kanker payudara ialah suatu jenis masalah dalam kesehatan dimana penting untuk diamati dikarenakan mempunyai prevalensi pada morbiditas serta mortalitas paling tinggi pada seluruh dunia, termasuk Indonesia. Hal ini menunjukkan pentingnya penelitian-penelitian yang menginvestigasi berbagai pilihan terapi, termasuk terapi komplementer bagi kanker payudara. Salah satunya dari tumbuhan yang diduga memiliki manfaat bagi kanker payudara ialah kemangi varian *Ocimum sanctum linn*, tetapi dugaan ini belum banyak dibuktikan sebelumnya dalam suatu penelitian uji toksisitas pada sel MCF7. Hal inilah yang membuat peneliti menjadi tertarik dapat melakukan penelitian ini, juga menjadikan sesuatu yang penting dapat dilakukan.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis menetapkan rumusan masalah penelitian sebagai berikut: “Apakah ekstrak etanol kemangi (*Ocimum sanctum linn*) memberikan efek sitotoksik yang efektif untuk menghambat aktivitas sel line MCF7?”.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui efek sitotoksik etanol kemangi (*Ocimum sanctum linn*) terhadap sel line MCF7.

1.3.2. Tujuan Khusus

Menentukan nilai IC50 untuk mengetahui keaktifan ekstrak etanol kemangi (*Ocimum sanctum linn*) terhadap sel line MCF7.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini dapat memberikan kontribusi keilmuan, terutama dalam bidang fitofarmaka, serta dapat menjadi landasan penelitian lebih lanjut tentang pengembangan potensi dari tanaman kemangi (*Ocimum sanctum linn*) sebagai obat anti kanker payudara.

1.4.2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini dapat dijadikan dasar ilmiah pemanfaatan tanaman kemangi (*Ocimum Sanctum linn*) sebagai obat anti kanker payudara.

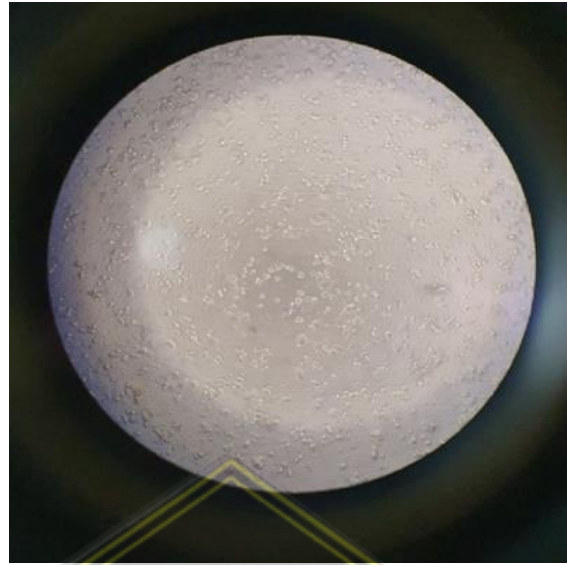
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Mcf7 Cell Line*

2.1.1. Deskripsi

Sejarah pembuatan *MCF7 Cell Line* berasal dari suster Catherine Frances Mallon (Helen Marion) yang menjalani mastektomi secara radikal untuk adenokarsinoma di bagian payudara sebelah kiri pada tahun 1967. Tiga tahun kemudian, Helen Marion mengalami metastasis ke pleura dan dinding dada. Herbert D. Soule dari Michigan Cancer Foundation kemudian melakukan usaha dalam memperbesar *Cell Line* dari eksisi nodul pada dinding bagian thoraks serta pada efusi pleura. Pada saat itu, banyak laboratorium telah melaporkan kesulitan teknis dalam menghasilkan kultur *Cell Line* kanker yang stabil secara berkelanjutan. *Cell Line* yang dihasilkan disebut MCF7, dinamai dari Michigan Cancer Foundation yang menjadi wakil usaha ke-7 Soule dalam menciptakan *Cell Line* kanker. Sampai sekarang, terdapat kurang lebih 25.000 laporan diterbitkan memanfaatkan *Cell Line* ini. Popularitas *MCF7 Cell Line* disebabkan *Cell Line* ini sangat cocok dengan kondisi klinis perempuan pascamenopause yang mengalami kanker payudara tipe reseptor hormon positif (Lee, A. V. *et al.*, 2015).



Gambar 2.1. Sel Line MCF7

2.1.2. Sifat MCF7

Salah satu kontribusi terpenting dari MCF7 *Cell Line* untuk penelitian kanker payudara adalah kegunaannya untuk studi reseptor estrogen (ER) alfa karena *Cell Line* ini adalah salah satu *Cell Line* yang mampu mengekspresikan ER yang substansial, sehingga menjadi model yang cocok bagi kanker payudara manusia invasif yang juga mengekspresikan ER. Beberapa penelitian kemudian melaporkan status ER dan fungsi biologis dari MCF7 yang menunjukkan pentingnya *Cell Line* ini bagi penelitian kanker payudara. Hal ini dibuktikan dengan penelitian pada masa awal ditemukannya *Cell Line* ini yang mendapati bahwa pemberian anti-estrogen menyebabkan blok G0/G1 dan menghambat pertumbuhan sel MCF7 (Sutherland *et al.*, 1983).

Di sisi lain, sel MCF7 tidak memiliki amplifikasi onkogen HER2, tetapi karena kurangnya model untuk studi HER2 dan potensi *cross-talk* antara ER dan HER2, dibuatlah sel Mcf-7 yang mengekspresikan HER2 (Benz *et al.*, 1992). Sel-sel ini telah menjadi model yang sangat baik untuk mempelajari bagaimana penghambat anti-HER2 memblokir pertumbuhan dan telah mengkonfirmasi aktivitas beberapa terapi anti-HER2. Selain itu, banyak laboratorium telah mengembangkan lini sel MCF7 yang resisten terhadap terapi anti-HER2, dan yang menarik salah satu mekanismenya adalah melalui reaktivasi ER (Lee, A. V. *et al.*, 2015).

2.2. Kanker Payudara

2.2.1. Definisi dan Epidemiologi

Kanker pada payudara merupakan suatu benjolan abnormal diakibatkan terjadinya pertumbuhan pada sel yang terus-menerus terjadi (Tanto, 2014). Pada setting klinis, pengertian dari tumor digunakan bagi semua bentuk tonjolan serta memiliki arti yakni pembengkakan dimana disebabkan oleh neoplasma, perdarahan, ataupun suatu radang. Berdasarkan dari sifat invasif pada sel yang menyusunnya, tumor payudara dikelompokkan menjadi 2, yakni tumor jinak serta tumor ganas (Kumar, 2017).

Penyakit ini pada wanita yang melewati fase menopause terjadi peningkatan. Diketahui insiden dari penyakit jenis ini yaitu

sekitar 130/ 100.000 penduduk dunia serta prevalensi pada mortalitas sekitar 30/100.000 penduduk setiap tahunnya (Vogel, 2017). Dikethui kurang lebih 70% daripada seluruh kasus kanker payudara sering ditemukan di negara yang berkembang, seperti Indonesia (Tao *et al.*, 2015). Prevalensi daripada kanker payudara di seluruh Indonesia tahun 2018 yakni terdapat 62.685 kasus. Kejadian mortalitas kanker payudara di seluruh Indonesia ialah 27/100.000 penduduk, kurang lebih 17,9%. Dari hasil ini menjadikan kanker payudara posisi no.1 kanker terbanyak dialami pada wanita Indonesia, serta kanker serviks urutan ke-2. Jenis penyakit seperti ini ditemukan juga pada pria sekitar <1% (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

2.2.2. Faktor Risiko

Beberapa daripada faktor resiko dari kanker payudara, yakni:

1. Usia menarche. Setiap berhenti 1 tahun pada fase usia menarche memiliki hubungan terhadap penurunan faktor resiko sebesar 5-10%. Usia menarche yang terlalu awal berkaitan terpaparnya lamanya hormon endogen serta peningkatan kadar estrogen selama usia reproduktif (Zahmatkesh, 2017)
2. Paritas. Seorang wanita dimana pernah mengalami melahirkan mempunyai penurunan resiko dibandingkan yang belum pernah.

Persalinan yang selanjutnya kejadian resiko kanker payudara semakin turun (Malik, 2015)

3. Usia kehamilan aterm pertama. Pasien dengan kehamilan aterm pertama kali dengan usia >35 tahun mempunyai kenaikan resiko sekitar 40-60% (Malik, 2015)
4. Menyusui. Ibu yang sedang menyusui dalam waktu lama akan menurunkan kejadian resiko relatif kanker payudara sebanyak 4,3% setiap 12 bulan (Zhou, 2015)
5. Usia menopause. Prevalensi terjadinya kanker payudara akan berkurang saat fase menopause (Oeffinger, 2015)
6. Hormon eksogen. Umumnya, didapatkan hubungan yang positif namun lemah, antara pemakaian kontrasepsi oral terhadap resiko pada karsinoma payudara. Terapi atau supplement hormon estrogen serta progesteron dikonsumsi ke bermacam-macam kondisi, serta terjadi 2 keadaan yang umumnya terjadi ialah kontrasepsi kepada perempuan pramenopause serta terapi pengganti hormone pada perempuan postmenopause (Schrijver, 2017)
7. Berat badan. Pada BB berlebih menjadi salah satu faktor resiko. Produksi estrogen endogen yang meningkat dari hasil konversi androgen oleh enzim aromatase kepada lemak-lemak di jaringan adiposa (Neuhouser, 2015)

Secara umum, faktor resiko tersebut dikelompokkan 2 kategori, yakni faktor resiko dapat dimodifikasi (dapat diubah orang itu sendiri, yakni konsumsi alkohol), serta faktor resiko tidak dapat diubah (yakni usia serta jenis kelamin). Paling utama faktor resiko pada kanker payudara ialah perempuan serta usia lebih tua. Faktor resiko potensial lain yakni genetik, kurang menyusui, peningkatan kadar hormon tertentu, pola makanan tertentu, serta pada obesitas (Labrèche *et al.*, 2020).

Gaya hidup seperti terjadinya obesitas dan minum minuman beralkohol adalah salah satu faktor resiko dapat diubah yang paling umum. Jenis makanan yang mampu meningkatkan risiko termasuk diet tinggi lemak dan kadar kolesterol tinggi terkait obesitas. Studi menunjukkan bahwa mereka yang berat badannya naik dengan cepat di masa dewasa berisiko lebih tinggi daripada mereka dengan berat badan berlebih dari masa kanak-kanak. Demikian juga kelebihan lemak di bagian tengah tubuh tampaknya menyebabkan risiko yang lebih tinggi daripada kelebihan berat badan yang dibawa di tubuh bagian bawah. Ini menyiratkan bahwa makanan yang dimakan seseorang lebih penting daripada BMI seseorang (Wang *et al.*, 2021).

Minum minuman beralkohol meningkatkan risiko kanker payudara, bahkan pada tingkat yang relatif rendah (satu hingga tiga gelas per minggu) dan tingkat sedang. Risikonya paling tinggi di

antara peminum berat. Kekurangan yodium makanan juga mungkin berperan. Merokok tembakau tampaknya meningkatkan risiko kanker payudara, dengan banyaknya rokok dihisap serta kehidupan merokok yang dini, maka risikonya meningkat. Pada perokok jangka panjang, terdapat peningkatan resiko dari 35%-50%. Kurangnya aktivitas fisik telah dikaitkan dengan sekitar 10% kasus. Pada seseorang dimana terdapat mutasi gen kerentanan kanker payudara BRCA1 ataupun BRCA2, atau yang mempunyai riwayat keluarga kanker payudara, penggunaan kontrasepsi oral modern tampaknya tidak mempengaruhi risiko kanker payudara (Lambertini *et al.*, 2018).

Faktor risiko lain termasuk radiasi dan gangguan sirkadian terkait dengan kerja shift dan rutin makan larut malam. Sejumlah bahan kimia juga telah dikaitkan, termasuk bifenil poliklorinasi, hidrokarbon aromatik polisiklik, dan pelarut organik. Meskipun radiasi dari mamografi adalah dosis rendah, diperkirakan bahwa pemeriksaan tahunan dari usia 40 hingga 80 tahun akan menyebabkan sekitar 225 kasus kanker payudara fatal per satu juta perempuan yang diskriminasi (Fernández *et al.*, 2021).

Perubahan yang dialami payudara, yakni hiperplasia duktal atipikal serta karsinoma lobular in situ, ditemukan pada keadaan payudara yang jinak, yakni payudara fibrokistik yang berubah, berasosiasi dengan resiko kanker payudara yang meningkat. Penderita

diabetes melitus juga mampu dalam peningkatan resiko pada kanker payudara. Penyakit autoimun, yakni lupus erythematosus tampaknya juga meningkatkan risiko terkena kanker payudara. Terapi hormon untuk mengatasi menopause juga dikaitkan dengan peningkatan risiko kanker payudara (Fernández *et al.*, 2021).

2.2.3. Patogenesis

Sama seperti kanker yang lain, kanker payudara terjadi akibat adanya mutasi pada proto-oncogen dan tumor supresor gen di sel epitel. Beberapa komponen genetik yang berubah antara lain:

1. Ekspresi proto-oncogen HER2/NEU yang berlebihan. Mutasi gen ini dapat ditemukan pada 30% kasus kanker payudara
2. Inaktivasi estrogen receptor (ER) genes
3. Amplifikasi gen RAS dan MY
4. Mutasi pada RB dan TP53 yang merupakan tumor suppressor genes
5. Mutasi pada BRCA1 dan BRCA2

Mutasi gen di atas dapat terjadi bersamaan ataupun beberapa saja. Hal ini kemudian menjadi dasar pengelompokkan kanker payudara yang nantinya penting sebagai dasar penentuan terapi yang sesuai. Berdasarkan mutasi gennya, kanker payudara dibagi menjadi 4, yaitu:

1. Luminal A, yaitu ER (+) dan HER2/NEU (-)

2. Luminal B, yaitu ER (+) dan HER2/NEU (+)
3. HER2/NEU positive, yaitu ER (-) dan HER2/NEU (+)
4. Basal-like, yaitu ER (-) dan HER2/NEU (-)

2.3. Kemangi (*Ocimum sanctum linn*)

2.3.1. Klasifikasi dan Deskripsi



Gambar 2.2. Tanaman Kemangi
(wikimedia.org, 2022)

Klasifikasi kemangi (Kew Science, 2022):

Kingdom : *Plantae*
 Phylum : *Tracheophytes*
 Class : *Angiosperms*
 Order : *Lamiales*
 Family : *Lamiaceae*

Genus : *Ocimum*

Species : *O. sanctum linn*

Jenis *Ocimum sanctum linn* ialah spesies tanaman dimana dipergunakan sebagai ramuan tahunan dalam yang berasal dari famili *Lamiaceae*. Terlepas dari nama yang menyesatkan, tanaman ini sebenarnya mempunyai asal dari daerah bagian tropis di Asia serta dekat dengan kepulauan bagian Pasifik. Awalnya ditemui serta diolah di India. Sekarang, tumbuhan ini telah tersebar secara luas di bagian Asia, Amerika Tengah, juga Selatan. Secara komersial tanaman ini dikembangkan di negara Eropa bagian Selatan, Maroko, Mesir, Indonesia, serta California (Kurniasih, 2013). Di Indonesia sendiri, kemangi sering ditemukan pada daerah Sumatera, Jawa, serta Maluku, namun, lebih banyak dibudidayakan di Jawa Barat berguna mencari kandungan pada minyak atsiri (Kurniasih, 2013). Tanaman ini memiliki bulu pada batangnya, dapat tumbuh hingga 40 cm, daun bergigi, dan bunga kecil berwarna putih atau ungu. Tanaman ini memiliki akar tunggang panjang yang menjulur jauh ke dalam tanah. Seluruh bagian tanaman sangat aromatik, dengan bau yang sebanding dengan jeruk (Kew Science, 2022).

2.3.2. Profil Fitokimia

Ocimum terkenal karena aromanya yang khas. Aroma dalam genus ini disebabkan oleh terdapat kandungan minyak atsiri rata-rata

antara 0,3-3,6% berat kering. Komponen minor dalam genus ini, yang sebagian besar adalah seskuiterpen, ditemukan bervariasi antar spesies (Sestili *et al.*, 2018). Komposisi kimia minyak atsiri *Ocimum* telah dipelajari di berbagai belahan dunia. Banyak penulis mengisolasi minyak esensial dari *Ocimum* melaporkan berbagai konstituen yang mudah menguap. Kandungan utamanya antara lain linalool, 1,8-cineol, eugenol, methyl eugenol, methyl cinnamate, camphor, methyl chavicol, -ocimene, -elemene, camphene, -cadinol, carvacrol, -bergamotene, serta geranial (Sundararajan *et al.*, 2018).

Tanaman ini memiliki keunikan karena perbedaan lokasi geografis akan memberikan sifat kemotipe yang berbeda. Kemotipe Eropa Rumania, Mesir, dan Afrika Selatan memiliki linalool dan metil chavicol sebagai komponen utama, kemotipe India, Pakistan dan Guatemala kaya akan metil sinamat, kemotipe Thailand, Madagaskar, dan Vietnam kaya akan metil chavico, serta kemotipe Afrika Utara dan Rusia yang kaya eugenol (Sestili *et al.*, 2018). Baru-baru ini, ekstrak hidroalkohol *Ocimum* yang dipanen dari Rumania telah menunjukkan adanya asam sinamat, asam caffeic, asam ferulat, asam siringat, katekin, dan asam klorogenat yang merupakan senyawa antioksidan dan memberikan potensi terapeutik yang sangat besar (Antonescu *et al.*, 2021).

2.3.3. Aktivitas Farmakologi

Beberapa aktivitas farmakologi yang berhasil diidentifikasi antara lain:

1. Kemampuan antioksidan

Ocimum diketahui mengandung banyak senyawa antioksidan yang berkontribusi pada aktivitas antiradikalnya yang intens dan dapat memiliki potensi manfaat kesehatan manusia. Ekstrak *Ocimum* memiliki kandungan asam fenolik total yang lebih tinggi dan aktivitas antioksidan yang lebih besar. Karena kapasitas antioksidan yang kuat, kemangi bekerja sebagai pelindung agar dapat menjadi pencegahan penyakit jantung, mengurangi terjadinya peradangan, kejadian kanker mengalami penurunan, dan juga diabetes. Kemampuan antioksidannya ini diperankan oleh asam rosmarinic yang merupakan senyawa fenolik utama dalam daun dan batang kemangi (Lee, J. & Scagel, 2019).

2. Aktivitas antimikroba, antivirus, dan antijamur

Minyak atsiri yang ada di sebagian besar spesies *Ocimum* bertanggung jawab atas sifat antijamur, antibakteri, dan antivirusnya. Minyak atsiri dari berbagai spesies *Ocimum* telah terbukti, secara invitro, mempunyai aktivitas terhadap antibakteri pada *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Proteus vulgaris*,

Pseudomonas aeruginosa, *Bacillus subtilis*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei*, serta *Salmonella paratyphi* (Reis *et al.*, 2019). Minyak *Ocimum* juga diuji terhadap jamur patogen seperti *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium italicum*, serta *Rhizopus stolonifera* (Al-Maskri *et al.*, 2011). Penelitian juga telah menunjukkan *Ocimum* bertindak sebagai agen antivirus yang kuat terhadap virus DNA (virus herpes simpleks, adenovirus dan virus hepatitis B) serta terhadap virus RNA (coxsackievirus dan enterovirus) (Chiang *et al.*, 2005)

3. Aktivitas antiinflamasi

Hingga saat ini, ekstrak kemangi telah diujicobakan pada tikus untuk mengurangi peradangan akut. Ekstrak etanol kemangi telah terbukti memiliki sedikit efek pada sintesis nitrogen oksida, tetapi telah mengurangi jumlah leukosit dan monosit, serta fagosit sirkulasi secara signifikan. Minyak dari spesies yang berbeda dari *Ocimum* (*Ocimum sanctum*, *Ocimum americanum*), menunjukkan respon yang berbeda terhadap edema. Minyak atsiri dapat menghambat peningkatan permeabilitas pembuluh darah dan migrasi leukosit, sebagaimana dibuktikan oleh stimulus inflamasi. Pada studi lain diselidiki efek imunomodulator minyak biji *Ocimum* yang menunjukkan bahwa minyak ini memodulasi reaksi imun

humoral, serta efek imunomodulator ini dapat dimediasi oleh jalur GABA-ergic (Okoye *et al.*, 2019)

4. Aktivitas estrogen dan antikanker

Secara umum, penelitian tentang sifat estrogenik kemangi baru-baru ini diperluas dengan pemeriksaan yang lebih rinci tentang peran farmakologis dari masing-masing isoflavon. Telah ditunjukkan dalam studi *in vivo* bahwa daidzein dan genistein adalah senyawa isoflavonoid utama yang ada dalam plasma darah setelah pemberian ekstrak kemangi (Maul & Kulling, 2010). Selain itu, kandungan irilone mungkin merupakan isoflavon kedua terbanyak dalam plasma manusia, bersama dengan daidzein. Keduanya telah terbukti secara signifikan meningkatkan aktivitas alkaline phosphatase, reseptor progesteron, dan mRNA reseptor androgen. Eksperimen yang dilakukan pada sel menunjukkan bahwa irilone secara signifikan menginduksi proliferasi (Lutter *et al.*, 2014). Kondisi ini dikaitkan dengan sifat antikanker payudara. Aktivitas antikanker juga ditunjukkan melalui kemampuan ekstrak untuk mengatur regenerasi sel (Chauhan, 2018). Bahan aktif ekstrak etil alkohol 95% secara signifikan menghambat metabolisme sel kanker dan menurunkan tingkat pengikatan benzopyrene ke DNA sebesar 30-40% [80]. Biochanin A juga telah terbukti menjadi isoflavon

terisolasi dan diidentifikasi sebagai senyawa aktif utama (Finley, 2005).

2.3.4. Kandungan Senyawa Daun Kemangi

Ocimum terkenal karena aromanya yang khas. Aroma dalam genus ini disebabkan oleh kandungan minyak atsiri sekitar 0,3-3,6% berat kering (Puspita *et al.*, 2020). Berdasarkan pada penelitian sebelumnya bahwa daun kemangi terdapat kandungan senyawa *alkaloid*, *tanin*, *flavonoid*, *triterpenoid*, serta minyak atsirinya (Safitri, 2018). Beragam bahan kimia lainnya terkandung di daun kemangi antaranya yakni 1,8 *sineol*, *apigenin*, *anthol*, *stigmasterol*, *triptofan*, *tanin*, *boron* dan *sterol*. Sementara itu pada daun penelitian fitokimia terbukti terdapat senyawa *flavonoid*, *alkaloid*, *saponin*, *terpenoid* atau *steroid* dan juga *tanin* (Husna, 2018a). Kandungan senyawa daun kemangi berdasarkan polaritasnya berbeda-beda, seperti *flavonoid* bersifat polar, *alkaloid* bersifat semi polar dan *saponin* bersifat non polar (Tatiana & Ria, 2020). Pada daun di kemangi juga banyak akan mineral makro seperti kalsium, magnesium, fosfor, vitamin c, dan betakaroten. Pada senyawa di metabolik sekunder ialah jenis senyawa dimana tidak esensial untuk pertumbuhan daripada organisme serta didapatkan dalam bentuk yang unik, juga berbeda antar satu spesies dengan lainnya (Tatiana & Ria, 2020). Fungi daripada metabolit sekunder sendiri ialah agar

dapat mempertahankan diri pada keadaan lingkungan dimana kurang dalam menguntungkan, seperti pemberantasan hama maupun penyakit, mencabut polinator menjadi suatu molekul sinyal (Tatiana & Ria, 2020).

2.4. Uji Toksisitas

Toksisitas ialah jenis kerusakan dimana timbul akibat suatu bentuk dari aksi kimia dimana memiliki suatu bentuk serta variasi yang besar. Asam kuat ataupun alkalis dimana langsung terkena kontak dengan organ-organ seperti mata, kulit, maupun saluran cerna, mengakibatkan terjadinya kerusakan di jaringan terlebih membuat kematian sel-sel. Toksisitas sendiri ialah suatu ukuran derajat keracunan yang relatif antara 1 bahan kimia kepada bahan kimia lainnya dimana memiliki kesamaan kemampuan pada racun (molekul) tiap organisme agar timbulnya kerusakan bila masuk dalam tubuh serta kedalam organ yang rawan terhadapnya (Lestari *et al.*, 2019). Salah satu kadar pada racun zat kimia dapat dikatakan sebagai *Lethal Concentration-50* (LC₅₀). LC₅₀ ialah suatu kadar ataupun konsentrasi zat, dimana dikatakan dalam mg bahan kimia per-meter kubiknya, dimanamedia uji dapat menjadi penyebab 50% kematian terhadap binatang uji coba dari sesuatu kelompok spesies setelah dipaparkan dalam beberapa waktu tertentu (Gad, 2014).

Uji ini menggunakan parameter nilai IC₅₀ yang merupakan parameter konsentrasi yang menunjukan suatu penghambatan pertumbuhan pada sel

sebanyak 50% dari jumlah populasi sel juga dapat memberikan potensi sitotoksinya kepada sel tertentu. Apabila nilai IC_{50} semakin membesar, akhirnya tingkat toksisitas senyawa disebutkan semakin kecil atau bahkan tidak terdapat toksik sama sekali. Suatu senyawa dikatakan memiliki pengaruh sitotoksik apabila (Noveri Rahmawati, *et al.*, 2008):

1. Sangat aktif : $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/ml}$
2. Cukup aktif : $20 \mu\text{g/ml} < IC_{50} < 100 \mu\text{g/ml}$
3. Tidak aktif : $IC_{50} \geq 100 \mu\text{g/ml}$

2.5. Kandungan Kemangi (*Ocimum sanctum linn*) Terhadap Toksisitas MCF7

Genus *Ocimum* L. telah digunakan secara tradisional untuk mengatasi banyak kondisi patologis di seluruh dunia (Bower *et al.*, 2016). Ekstrak kemangi didapatkan kaya akan senyawa fenolik, suatu zat yang memiliki sifat anti-proliferasi. Senyawa fenolik utama yang diidentifikasi dalam ekstrak daunnya adalah asam caffeic, caftaric, chicoric, dan rosmarinic. Sejumlah besar penelitian telah menunjukkan sifat anti-proliferatif, sitotoksik dan sitostatik dari asam caffeic, serta sifat yang sama dengan asam rosmarinic. Selain itu, asam chicoric juga mampu menyebabkan hipoglikemik pada sel kanker, sehingga menyebabkan disregulasi metabolisme energik dan akhirnya mengganggu fungsi biologis sel kanker payudara (Casanova *et al.*, 2016).

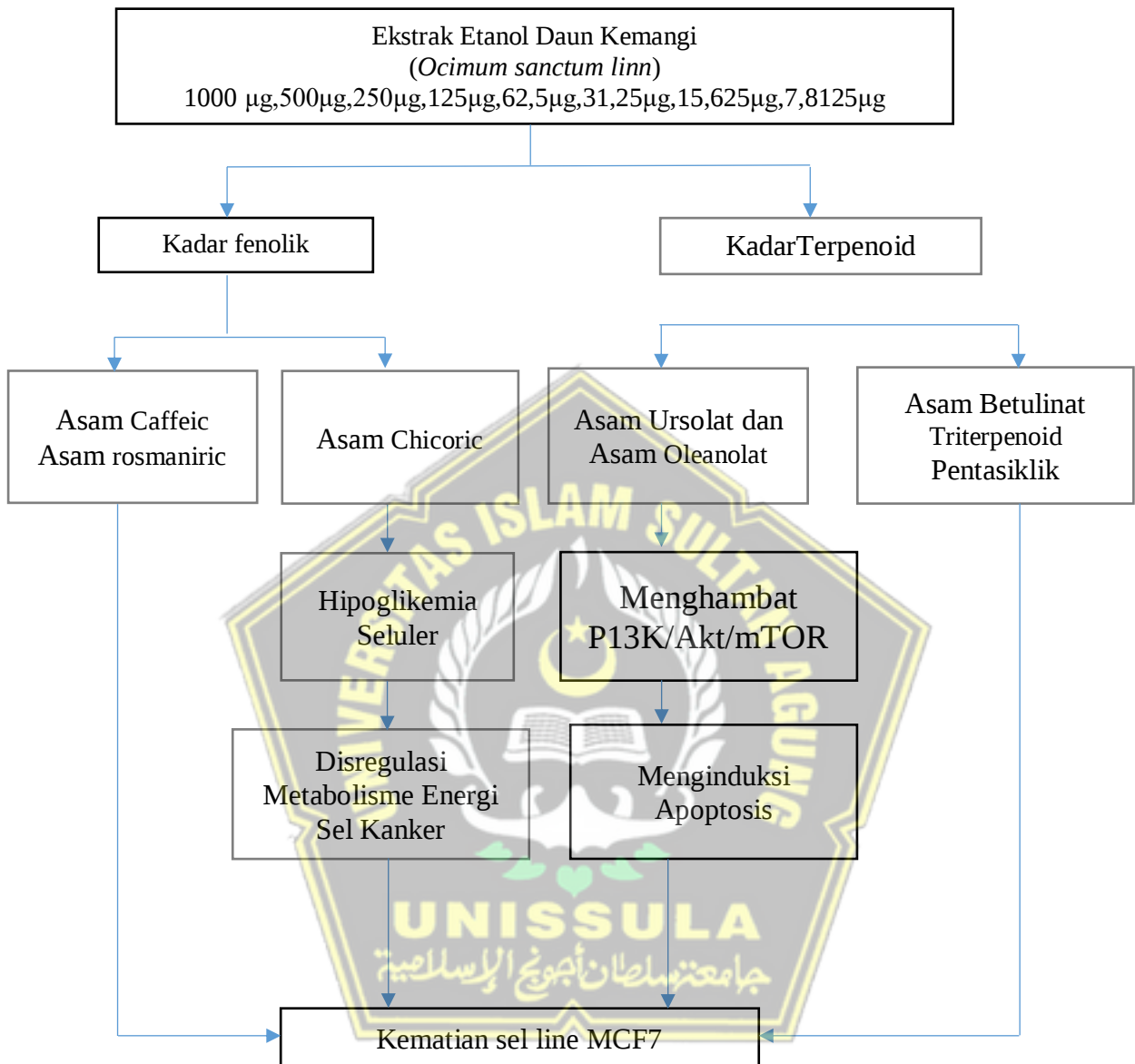
Senyawa fenolat dan kuersetin dari ekstrak pada daun kemangi terbukti juga memiliki sifat sitotoksik (dapat membunuh sel kanker). Ini dibuktikan dengan hasil penelitian dari Linda, Abdul dan Najib yang menghasilkan ekstrak etanol dari daun kemangi (*Ocimum sanctum linn*) mempunyai aktivitas yang sedang dilihat dari nilainya IC_{50} 52,68 μ g/mL, sementara itu kuersetin sendiri mempunyai aktivitas yang sangat kuat dilihat dari nilainya IC_{50} 1,8 μ g/mL (Erviana *et al.*, 2016b). Suatu senyawa dapat dijelaskan yaitu antiradikal bebas sangat kuat, bila nilai IC_{50} <10 μ g/mL, drajat kuat semisal nilai IC_{50} berkisar 10-50 μ g/mL, sedang bila nilai IC_{50} berkisar 50-100 μ g/mL, lemah semisal nilai IC_{50} berkisar 100-250 μ g/mL, serta dikatakan tidak aktif semisal IC_{50} >250 μ g/mL (Kew Science, 2022). Senyawa eugenol dapat memberikan hambatan pada pertumbuhan maupun proliferasi kepada sel kanker payudara, serta menjadikan apoptosis, eugenol sangat bergantung terhadap waktu serta dosis yang diberikan. Eugenol mempunyai fungsi menjadi suatu agen kemopreventif (Onyebuchi & Kavaz, 2020). Kelas lain dari metabolit *terpenoid* juga dapat memberikan potensi sebagai antikanker. Metabolit ini mampu memproduksi asam betulinat dan triterpenoid pentasiklik yang memiliki sifat antikanker (Pandey *et al.*, 2020). Kemangi ialah suatu tumbuhan dimana terdapat kandungan asam ursolat yang punya aktivitas sebagai antisitotoksik. asam ursolat merupakan golongan senyawa *terpenoid* (*triterpen*). Ekstrak etanol dari daun kemangi (*Ocimum sanctum linn*) punya efek sitotoksik terhadap sel MCF7 dimana

nilai dari IC_{50} sebanyak 6,95 μ g/mL dan $\pm 15\mu$ g/mL (Amalia, Putri Khilda & Dr. Haryoto, 2017).

Penelitian lebih lanjut juga melaporkan bahwa kandungan asam ursolat dan asam oleanolat mampu melakukan induksi apoptosis pada sel kanker menggunakan hambatan jalur PI3K/Akt/mTOR (Meng *et al.*, 2015). Mekanisme ini sangat penting mengingat disregulasi Akt, mTOR, dan AMPK pada kanker payudara telah dilaporkan dan disarankan sebagai target potensial untuk intervensi terapi (Davis *et al.*, 2014).

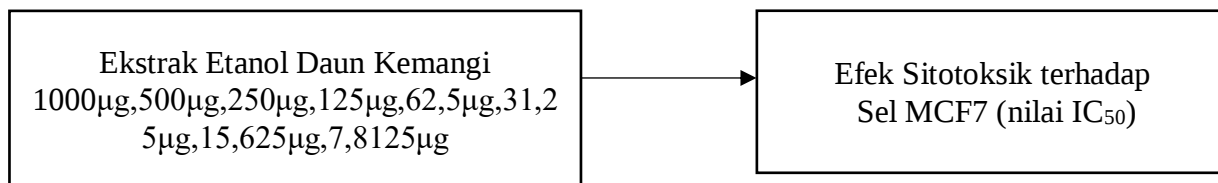


2.6. Kerangka Teori



Gambar 2.3. Kerangka Teori

2.7. Kerangka Konsep



Gambar 2.4. Kerangka Konsep

2.8. Hipotesis

Ekstrak etanol kemangi (*Ocimum sanctum linn*) dapat memberikan efek sitotoksik yang efektif terhadap sel line MCF7.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Rancangan Penelitian

Jenis penelitian menggunakan metode eksperimen dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design* terdiri dari kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel

3.2.1.1. Variabel Independen (Kontrol)

Ekstrak etanol kemangi (*Ocimum sanctum linn*)

3.2.1.2. Variabel Dependen (Terikat)

Sel line MCF7

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum linn*)

Ekstrak etanol daun kemangi dibuat di Laboratorium Kimia Fakultas Kedokteran UNISSULA. Pembuatan ekstrak daun kemangi dilakukan secara maserasi yaitu dengan menimbang serbuk daun kemangi kemudian ditambahkan pelarut etanol dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:6. Perbedaan dengan penelitian sebelumnya yakni terletak pada dosis yang digunakan. Untuk peneliti sebelumnya menggunakan dosis 31,25 µg/mL, 62,5 µg/mL,

125 $\mu\text{g/mL}$, 250 $\mu\text{g/mL}$, (Husna, 2018) dan 500 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan peneliti terbaru menggunakan dosis 8 varian yaitu: 1000 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$, 250 $\mu\text{g/mL}$, 125 $\mu\text{g/mL}$, 62.5 $\mu\text{g/mL}$, 31,25 $\mu\text{g/mL}$, 15,625 $\mu\text{g/mL}$, dan 7,825 $\mu\text{g/mL}$.

3.2.2.2. Efek Sitotoksik Terhadap Sel MCF7

Efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara diukur dengan menentukan banyaknya sel yang hidup yang selanjutnya dibaca dengan ELISA reader, berupa absorbansi yang selanjutnya dihitung dengan % viabilitas untuk mengukur IC50.

3.3. Subjek Uji

Subjek uji ini adalah sel MCF7 yang diperoleh dari tempat penyimpanan kultur di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM.

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1. Alat

Inkubator, flask kultur, *conical tube*, *Laminar Air Flow* (LAF), *centrifuge*, oven, penggiling, timbangan, pengaduk, evaporator, 96-*well-plate*, mikropipet, tissue, dan ELISA reader.

3.4.2. Bahan

Sel MCF7, daun kemangi 1.000 gr, DMSO, FBS (*Fetal Bovine Serum*), RPMI-1640 (*Rosewell Park Memorial Institute*), PBS, tripsin-EDTA 0,025%, 1% fungizone, 1% penicillin-streptomycin, dan reagen stopper SDS.

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Pengkulturan Sel MCF7

Kultur sel MCF7 disimpan dalam *freezing* medium pada flash dengan kandungan campuran DMSO dan PBS menggunakan perbandingan 9:1. Kultur dan sub kultur sel MCF7 dilakukan dalam medium pertumbuhan RPMI 1640 (*Roswell Park Memorial Institute 1640*) dan diinkubasi selama 24 – 48 jam dengan suhu 37°C dengan 5% CO₂ didalam inkubator.

Subkultur dilakukan dengan cara hasil sel MCF7 yang telah diinkubasi selama 24 jam dibasuh menggunakan PBS sebanyak 2 kali ditambah dengan larutan Tripsin-EDTA 0.025% (0,1 ml/cm²) didalam flashkultur dan diinkubasikan selama 2 menit dalam inkubator dengan suhu 37°C dan 5% CO₂. Setelah Sel MCF7 diinkubasi taruh dalam *conical tube* dengan ditambah 4 ml medium pertumbuhan RPMI 1640, lalu diambil 2 ml ditaruh di dalam flask kultur ditambahkan 2 ml medium pertumbuhan RPMI 1640 dengan kandungan 5% *Fetal Bovine Serum*, 1% fungizon dan 1% penicilin-

streptomycin. Kemudian diinkubasi selama 24 - 48 jam dalam inkubator dengan suhu 37°C ditambah 5% CO₂.

Sel MCF7 yang konfluen 80% dicuci dengan PBS 2 kali pencucian dan ditambahkan larutan Tripsin-EDTA 0.025% (0,1 ml/cm²) selanjutnya ditambahkan RPMI 1640 sebagai medium pertumbuhan sebanyak 4ml. Semua kerja pengkulturan dan pengsubkulturan dilakukan didalam *laminar air flow* (LAF) secara steril, Sel MCF7 yang ditumbuhkan dalam media RPMI 1640 yang telah konfluen 80% diganti dan hari berikutnya dipanen, dilakukan pengkulturan dengan tube steril, dan disentrifuge 1500 rpm selama 10 menit. Setelah itu buang supernatan dan pellet diresuspensi dengan media penumbuh 2 ml, selanjutnya dihitung kerapatan sel mencapai 1×10^4 sel/100µl.

3.5.2. Pembuatan Ekstrak Kemangi

Bahan baku daun kemangi 1.000 gr dicuci lalu dipotong dan dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C setelah bahan kering kemudian digiling dengan ukuran partikel 50 mesh. Pembuatan ekstrak daun kemangi dilakukan secara maserasi yaitu dengan menimbang serbuk daun kemangi kemudian ditambahkan pelarut n- etanol dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:6 (0,5 kg serbuk ditambah 3L pelarut). proses maserasi dibantu dengan pengadukan. Setelah proses pengadukan lalu didiamkan selama satu malam

kemudian dilakukan penyaringan. filtrate yang dihasilkan diuapkan pelarutnya menggunakan evaporator dengan pengurangan tekanan sampai dihasilkan ekstrak kental.

Ekstrak kental kemangi ditimbang kemudian dilarutkan dengan etanol dan dimasukkan ke dalam corong pisah. Lalu ditambahkan pelarut etanol dengan konsentrasi 80%. Lalu corong dikocok secara terus menerus kemudian didiamkan. Bila larutan sudah terpisah menjadi 2 lapisan, maka lapisan organiknya dipisahkan kemudian pelarutnya diuapkan dengan evaporator.

3.5.3. Uji Sitotoksik

Suspensi sel MCF7 sebanyak 100 μL dengan kepadatan 1×10^4 sel/100 μL media didistribusikan ke dalam sumuran-sumuran pada 96-well-plate dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi, dalam sumuran dimasukkan 100 μL larutan uji dengan berbagai konsentrasi. Sebagai control media ditambahkan 100 μL medium kultur, kemudian 100 μL doksorubisin pada berbagai konsentrasi kedalam sumuran yang telah berisi 100 μL suspense sel. Sebagai kontrol sel ditambahkan 100 μL medium kultur kedalam sumuran berisi 100 μL suspense sel. Kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam incubator dengan aliran 5% CO_2 dan 95% O_2 .

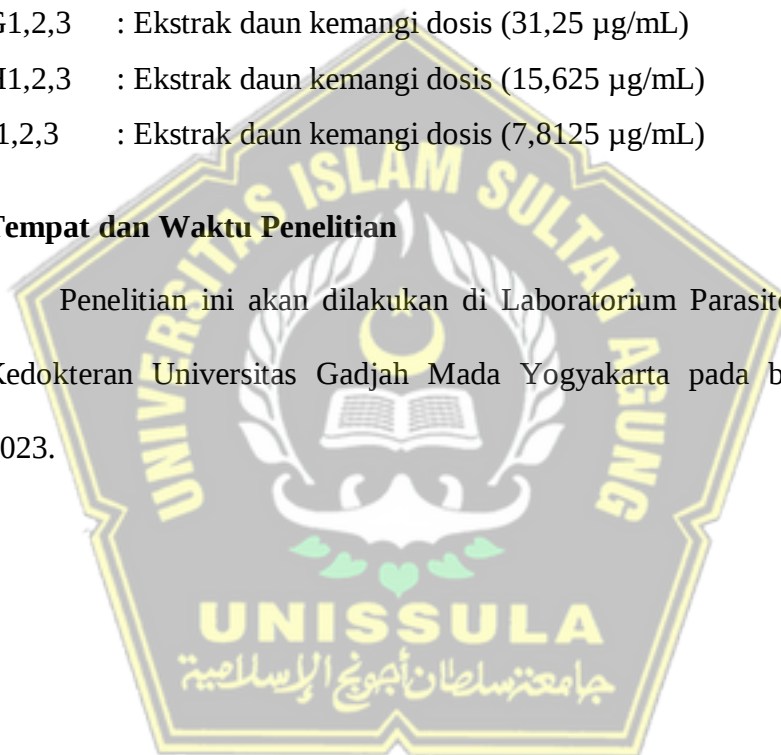
Pada akhir inkubasi, medium kultur dibuang lalu ditambahkan 10 μL larutan MTT (5mg/mL PBS), dan medium diganti dengan 190

Keterangan:

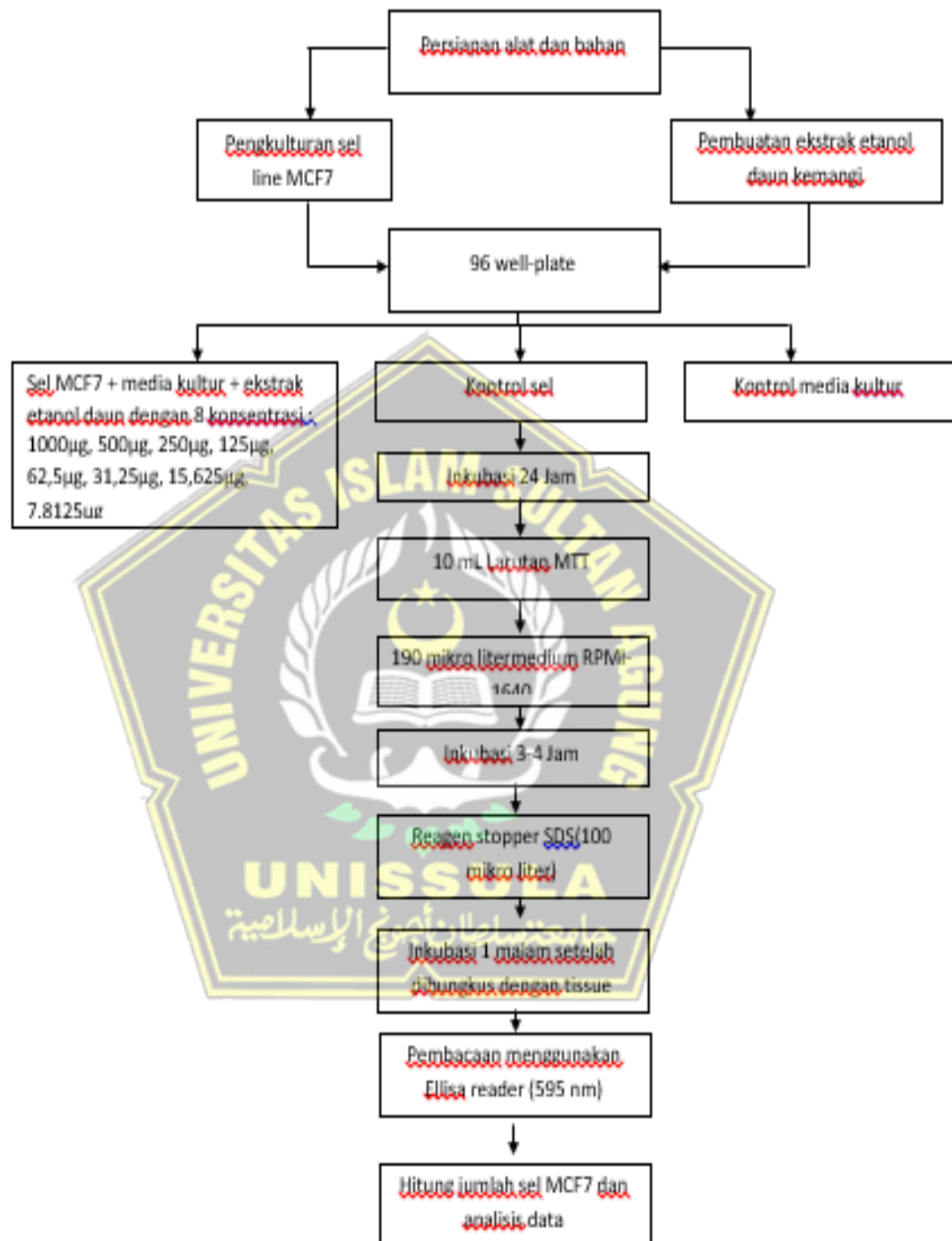
- A1, : Kontrol Sel Mcf-7
A2 : Kontrol media kultur
B 3 4 : Ekstrak daun kemangi dosis (1000 $\mu\text{g/mL}$)
C1,2,3 : Ekstrak daun kemangi dosis (500 $\mu\text{g/mL}$)
D1,2,3 : Ekstrak daun kemangi dosis (250 $\mu\text{g/mL}$)
E1,2,3 : Ekstrak daun kemangi dosis (125 $\mu\text{g/mL}$)
F1,2,3 : Ekstrak daun kemangi dosis (62,5 $\mu\text{g/mL}$)
G1,2,3 : Ekstrak daun kemangi dosis (31,25 $\mu\text{g/mL}$)
H1,2,3 : Ekstrak daun kemangi dosis (15,625 $\mu\text{g/mL}$)
I1,2,3 : Ekstrak daun kemangi dosis (7,8125 $\mu\text{g/mL}$)

3.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta pada bulan Februari 2023.



3.7. Alur Penelitian



Gambar 3.1. Alur Penelitian

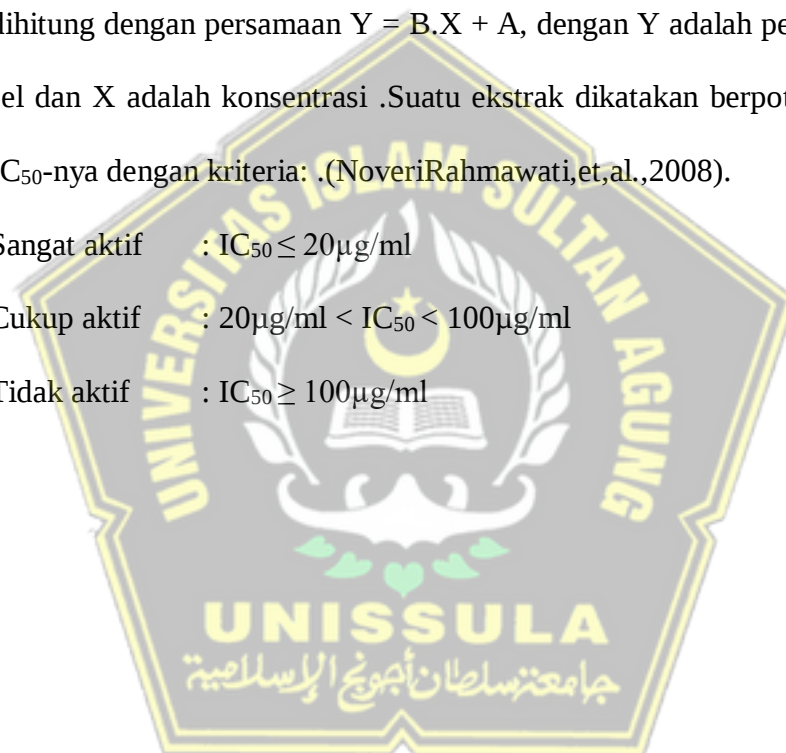
3.8. Analisis Data

Untuk mengetahui efek sitatoksik ekstrak daun kemangi dilakukan dengan menggunakan regresi linear untuk menentukan nilai IC_{50} . Selanjutnya dibuat kurva jumlah sel hidup vs waktu inkubasi untuk menentukan persamaan garis dan menentukan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan kadar yang menyebabkan kemat 50% populasi sel Mcf-7. IC_{50} dihitung dengan persamaan $Y = B.X + A$, dengan Y adalah persen viabilitas sel dan X adalah konsentrasi .Suatu ekstrak dikatakan berpotensi bila nilai IC_{50} -nya dengan kriteria: .(NoveriRahmawati,et,al.,2008).

Sangat aktif : $IC_{50} \leq 20\mu\text{g/ml}$

Cukup aktif : $20\mu\text{g/ml} < IC_{50} < 100\mu\text{g/ml}$

Tidak aktif : $IC_{50} \geq 100\mu\text{g/ml}$



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

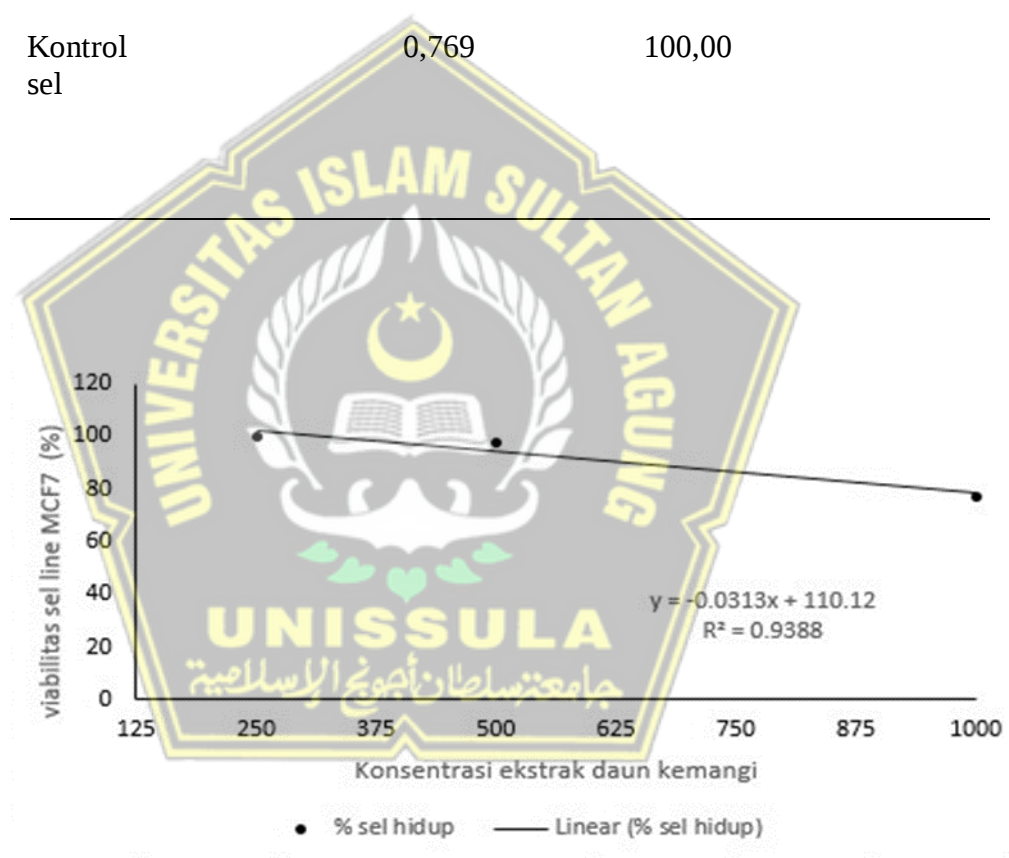
Penelitian tentang efek sitotoksik ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum* Linn) terhadap sel line MCF7 ini telah dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta pada bulan Februari 2023. Pengujian efek sitotoksik dilakukan dengan metode MTT menggunakan ekstrak daun kemangi secara serial dari mulai konsentrasi 7,8125 µL sampai dengan 1000 µL. Sel line MCF-7 dikultur masing-masing dalam 5 kali ulangan untuk tiap konsentrasi, yang berikutnya dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang 595 nm dalam bentuk nilai absorbansi yang berikutnya dikonversi ke persentase sel hidup atau viabilitas menggunakan rumus:

$$\% \text{ viabilitas} = \frac{(\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media})}{(\text{absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media})} \times 100\%$$

Perhitungan viabilitas sel line MCF7 yang sudah didapat kemudian dirata-rata untuk tiap konsentrasi ekstrak daun kemangi dan dideskripsikan sebagaimana pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil uji MTT sel line MCF7 perlakuan ekstrak etanol daun kemangi

Perlakuan	Konsentrasi	Absorbansi	% viabilitas sel line MCF7
Ekstrak etanol daun kemangi	250	0,878	100,00
	500	0,782	97,95
	1000	0,618	77,71
Kontrol media		0,094	
Kontrol sel		0,769	100,00



Gambar 4.1. Grafik rata-rata sel line MCF7 yang hidup

Berdasarkan Gambar 4.1 diketahui bahwa viabilitas sel line MCF7 relatif menurun dari mulai konsentrasi ekstrak daun kemangi terendah (250 µl) hingga konsentrasi 500 µl dengan rata-rata viabilitas 97,95% hingga 100,0%. Penurunan viabilitas terlihat pada ekstrak etanol daun kemangi

konsentrasi 1000 μ l yaitu sebesar 77,71%. Konsentrasi 1000 μ l tersebut sekaligus menunjukkan daya hambat tertinggi pada pertumbuhan sel line MCF7, dan jika dibandingkan dengan kontrol sel konsentrasi ini menghasilkan viabilitas sel line MCF7 yang lebih rendah.

Berdasarkan diagram sebar di atas didapatkan persamaan regresi $y = -0,0313x + 110,12$ dengan nilai R^2 sebesar 0,9388, karena nilai R^2 mendekati 1 maka dinyatakan bahwa diagram sebar di atas memiliki linieritas yang baik. Nilai IC_{50} yang didapat dari persamaan regresi pada grafik di atas adalah:

$$\begin{aligned} y &= -0,0313x + 110,12 \\ 50 &= -0,0313x + 110,12 \\ x &= (50 - 110,12) : -0,0313 \\ &= 1920,7 \end{aligned}$$

Nilai IC_{50} yang didapat melalui persamaan regresi linear adalah pada konsentrasi ekstrak daun kemangi 1920,7 μ l.

4.2. Pembahasan

Hasil penghitungan rata-rata persentase viabilitas sel line MCF7 sebesar 100,00% pada konsentrasi ekstrak daun kemangi 250 μ l; dan berikutnya mulai dari konsentrasi 500 μ l menunjukkan persentase viabilitas viabilitas sel line MCF7 adalah sebesar 97,95% dan menurun menjadi 77,71% pada konsentrasi 1000 μ l. Hasil ini memperlihatkan bahwa ekstrak daun kemangi dapat menurunkan viabilitas sel line MCF7 mulai pada

konsentrasi 1000 μ l karena tampak lebih rendah jika dibandingkan dengan viabilitas sel line MCF7 pada kelompok kontrol sel (100,00%).

Efek penurunan viabilitas sel line MCF7 dari ekstrak daun kemangi tersebut disebabkan karena daun kemangi memiliki sifat antikarsinogenik atau antikanker (Lee & Scagel, 2019). Penurunan viabilitas sel line MCF7 juga terjadi karena ekstrak daun kemangi memiliki aktivitas antiproliferatif terhadap sel line MCF7 karena mengandung senyawa seperti alkalod, flavonoid, steroid, tannin dan terpenoid di dalamnya. Penurunan viabilitas sel line MCF7 juga disebabkan karena apoptosis yang terlihat dari pengamatan morfologi menunjukkan perluasan *blebbing* dan vakuolasi (Pradhan *et al.*, 2018). Penelitian lain juga menyatakan hal serupa bahwa ekstrak etanol daun kemangi menghambat pertumbuhan sel line MCF7 melalui penghambatan proliferasi dan perlekatan sel. Pengamatan morfologi sel line MCF7 *Scanning Electron Microscopy* (SEM) juga memperlihatkan kecenderungan sel untuk mengalami apoptosis yang dicirikan dengan sel berubah menjadi lebih kasar, berpasir, dan memperlihatkan tonjolan-tonjolan tidak beraturan (*blebbing*). Mekanisme-mekanisme yang mendasari penurunan viabilitas sel line MCF7 tersebut disebabkan karena kandungan senyawa seperti apigenin, asam cafeat, asam galat, dan asam rosmarinik yang berinteraksi dengan caspase-3 dan caspase-9 (Wihadmadyatami *et al.*, 2023).

Apigenin merupakan bioflavonoid alami yang berperan menginduksi apoptosis melalui jalur ekstrinsik yang terkait dengan caspase karena

apigenin dapat menginduksi ROS intraseluler pada sel line MCF7 sehingga mengaktivasi p53 yang menjadi jalur aktivasi dari caspase. Induksi ROS intraseluler tersebut juga dapat menstimuli aktivasi p21 untuk menginduksi terminasi sel G2/M dengan mempromosikan Cdc25C dan cyclin D-kinase (CDK). Apigenin juga bersifat antiproliferatif melalui pensinyalan reseptor estrogen dan Akt/FOXO3a/FOXO1 (Wihadmadyatami *et al.*, 2023). Asam kafeat ini memiliki toksisitas rendah terhadap sel normal namun dapat menghambat pertumbuhan kanker. Asam kafeat menghambat proliferasi sel kanker dengan menurunkan aktivitas antiestrogen dan mengatur regulator pertumbuhan reseptor estrogen atau cyclin D1 dan *insulin-like growth factor I receptor* (IGF-IR)/pAkt, sehingga mengembangkan siklus kerusakan sel dan menurunkan proliferasi, menurunkan interleukin-1 (IL-2) serta mengaktivasi nuclear factor-kappa beta (NF- κ B) (Chen *et al.*, 2018) dan menstimuli apoptosis secara intrinsik melalui jalur mitokondria (Wihadmadyatami *et al.*, 2023).

Asam galat merupakan senyawa fenolik alami dengan efek antikanker yang dapat disinergikan dengan paclitaxel dan carboplatin untuk menurunkan proliferasi. Efek tersebut dimediasi oleh penghambatan siklus mitotik, peningkatan apoptosis dan overekspresi dari P53, Bax dan caspase-3. Asam kafeat merupakan antioksidan pada sel-sel normal dan prooksidan bagi sel-sel tumor (Wihadmadyatami *et al.*, 2023). Asam rosmarinik sebagai antikanker juga memiliki sifat bioaktif fenol. Senyawa ini menghambat proliferasi sel dan menginduksi apoptosis, serta antiangiogenesis sehingga

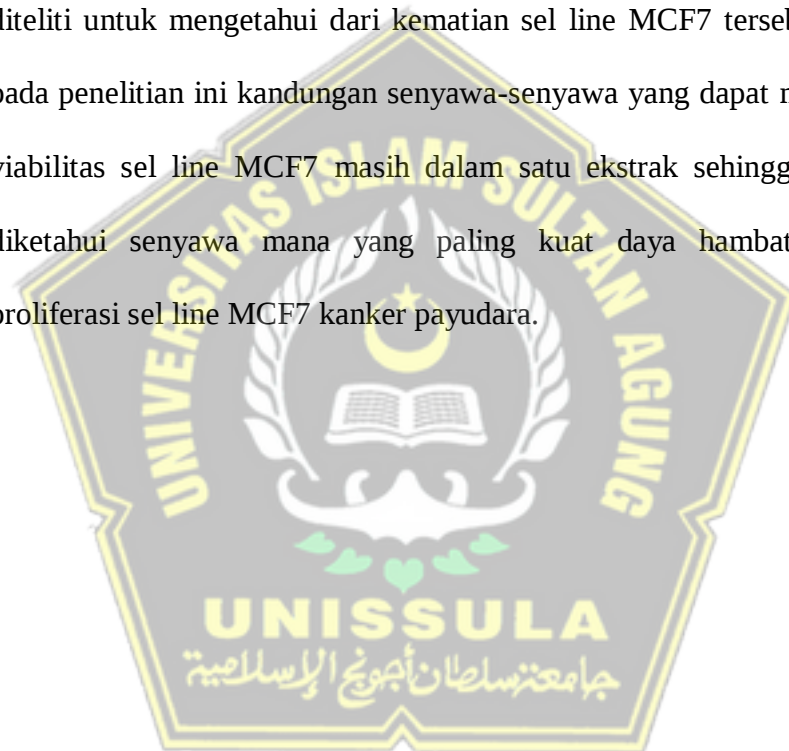
dapat mencegah perkembangan sel dan metastasis (Nadeem *et al.*, 2019). Cara kerja asam rosmarinik adalah dengan cara menghambat *microtubule regulatory kinase* (MAK4) pada pengendalian pertumbuhan sel dan menginduksi apoptosis (Anwar *et al.*, 2020).

Nilai IC_{50} yang didapatkan dari ekstrak etanol daun kemangi terhadap sel line MCF7 pada konsentrasi 1920,7 μ l. Hasil serupa juga ditunjukkan oleh Sonya *et al.* (2021) bahwa ekstrak etanol daun kemangi memiliki nilai $IC_{50} > 500$ μ g/ml dan dinyatakan tidak memiliki efek antikanker terhadap sel line MCF7. Hasil berbeda ditunjukkan oleh Hidayati *et al.* (2019) bahwa ekstrak etanol daun kemangi memiliki IC_{50} pada konsentrasi 399,86 μ g/mL pada sel line MCF-7, sedangkan pada penelitian Husna (2018) konsentrasi 176,37 μ g/mL. Penelitian Amalia *et al.* (2017) juga menunjukkan temuan berbeda dengan penelitian ini dimana ekstrak etanol daun kemangi memiliki IC_{50} yang jauh lebih rendah yaitu pada konsentrasi 6,95 μ g/ml. Perbedaan temuan nilai IC_{50} dapat disebabkan karena perbedaan asal daun kemangi sehingga kandungan senyawanya bervariasi dan mempengaruhi potensi sifat antikankernya. Selain karena perbedaan asal daun kemangi, perbedaan nilai IC_{50} juga dapat disebabkan karena perbedaan umur daun kemangi serta lama maserasi pembuatan ekstrak yang digunakan.

Penelitian Husna (2018) menggunakan daun kemangi dari Pasar Kleco Surakarta dibuat ekstrak etanol dengan lama maserasi 72 jam dengan hasil skrining fitokimia ditemukan keberadaan terpenoid, flavonoid dan alkaloid. Penelitian Hidayati *et al.* (2019) menggunakan daun kemangi dari

daerah Bandungan Jawa Tengah dengan kondisi bebas hama dibuat ekstrak etanol melalui maserasi 5 hari dan menemukan keberadaan senyawa flavonoid.

Keterbatasan penelitian ini adalah belum diketahuinya kematian sel line MCF7 apakah karena apoptosis melalui jalur intrinsik atau ekstrinsik, ataukah melalui penghambatan proliferasi, sehingga perlu ke depan perlu diteliti untuk mengetahui dari kematian sel line MCF7 tersebut. Selain itu pada penelitian ini kandungan senyawa-senyawa yang dapat mempengaruhi viabilitas sel line MCF7 masih dalam satu ekstrak sehingga tidak dapat diketahui senyawa mana yang paling kuat daya hambatnya terhadap proliferasi sel line MCF7 kanker payudara.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh maka diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol kemangi (*Ocimum sanctum linn*) terhadap sel line MCF7 mempunyai nilai IC50 sebesar 1920,7 μ l yang menunjukkan efek tidak toksik atau tidak aktif.

5.2. Saran

Terkait dengan keterbatasan penelitian ini maka saran untuk penelitian mendatang adalah melakukan uji fitokimia kandungan ekstrak etanol daun kemangi sehingga diketahui senyawa apa yang paling dominan dan dapat mengetahui mekanisme penghambatan viabilitas sel line MCF7 lebih kuat pada jalur yang mana, apakah melalui penghambatan proliferasi atau apoptosis (apakah melalui jalur intrinsik atau ekstrinsik).

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Maskri, A. Y., Hanif, M. A., Al-Maskari, M. Y., Abraham, A. S., Al-sabahi, J. N., & Al-Mantheri, O. (2011). Essential oil from *Ocimum basilicum* (Omani basil): A desert crop. *Natural Product Communications*, 6(10). <https://doi.org/10.1177/1934578x1100601020>
- Amalia, Putri Khilda and, & Dr. Haryoto, M. S. (2017). Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Keladi Tikus (*Typonium flagelliforme* L.), Kemangi (*Ocimum sanctum* L.), Dan Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Sel MCF-7, 2016. Diambil dari <http://eprints.ums.ac.id/id/eprint/48462>
- Antonescu, A. I., Miere, F., Fritea, L., Ganea, M., Zdrinca, M., Dobjanschi, L., ... Cavalu, S. (2021). Perspectives on the combined effects of *ocimum basilicum* and *trifolium pratense* extracts in terms of phytochemical profile and pharmacological effects. *Plants*, 10(7). <https://doi.org/10.3390/PLANTS10071390/S1>
- Benz, C. C., Scott, G. K., Sarup, J. C., Johnson, R. M., Tripathy, D., Coronado, E., ... Osborne, C. K. (1992). Estrogen-dependent, tamoxifen-resistant tumorigenic growth of MCF-7 cells transfected with HER2/neu. *Breast Cancer Research and Treatment*, 24(2). <https://doi.org/10.1007/BF01961241>
- Bower, A., Marquez, S., & de Mejia, E. G. (2016). The Health Benefits of Selected Culinary Herbs and Spices Found in the Traditional Mediterranean Diet. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(16). <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.805713>
- Casanova, L. M., Espíndola-Netto, J. M., Tinoco, L. W., Sola-Penna, M., & Costa, S. S. (2016). The Use of NMR Metabolite Profiling and in vivo Hypoglycemic Assay for Comparison of Unfractionated Aqueous Leaf Extracts of Two *Ocimum* Species. *Chemistry and Biodiversity*. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201500180>
- Chauhan, P. (2018). Skin cancer and role of herbal medicines. *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4(4). <https://doi.org/10.31024/ajpp.2018.4.4.5>
- Chiang, L. C., Ng, L. T., Cheng, P. W., Chiang, W., & Lin, C. C. (2005). Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum*. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*, 32(10), 811–816. <https://doi.org/10.1111/J.1440-1681.2005.04270.X>
- Davis, N. M., Sokolosky, M., Stadelman, K., Abrams, S. L., Libra, M., Candido,

- S., ... McCubrey, J. A. (2014). Deregulation of the EGFR/PI3K/PTEN/Akt/mTORC1 pathway in breast cancer: Possibilities for therapeutic intervention. *Oncotarget*, 5(13). <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2209>
- Erviana, L., Malik, A., & Najib, A. (2016a). Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Dengan Menggunakan Metode DPPH. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 3(2). <https://doi.org/10.33096/jffi.v3i2.217>
- Erviana, L., Malik, A., & Najib, A. (2016b). 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>
- Fernández, J. Á., Ozores, P. P., López, V. C., Mosquera, A. C., & López, R. L. (2021). Breast cancer. *Medicine (Spain)*, 13(27). <https://doi.org/10.1016/j.med.2021.03.002>
- Finley, J. W. (2005). Proposed criteria for assessing the efficacy of cancer reduction by plant foods enriched in carotenoids, glucosinolates, polyphenols and selenocompounds. *Annals of Botany*. <https://doi.org/10.1093/aob/mci123>
- Gad, S. C. (2014). LD50/LC50 (Lethal Dosage 50/Lethal Concentration 50). In *Encyclopedia of Toxicology: Third Edition*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00867-8>
- Husna, T. (2018a). Pengaruh Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) terhadap Sel MCF-7 dan Sel T47D. *Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah, Surakarta*.
- Jovankić, J. V., Cvetković, D. M., Milutinović, M. G., Nikodijević, D. D., Nikezić, A. G., Grbović, F. J., ... Marković, S. D. (2022). The impact of medicinal plant *Ocimum minimum* L. on fatty acid synthesis process in breast cancer cells. *Biologia*, 77(2), 489–501. <https://doi.org/10.1007/S11756-021-00939-Y/FIGURES/5>
- Kemenkes RI. (2019). Kasus Kanker Payudara Paling Banyak Terjadi di Indonesia. *Databoks*.
- Kementerian Kesehatan RI. (2018). *Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018*.
- Kew Science. (2022). *Ocimum americanum* L.
- Kumar, V. (2017). *Robbins Basic Pathology (8th ed.)*. Saunders Elsevier.

- Labrèche, F., Goldberg, M. S., Hashim, D., & Weiderpass, E. (2020). Breast cancer. In *Occupational Cancers*. https://doi.org/10.1007/978-3-030-30766-0_24
- Lambertini, M., Aftimos, P., Gombos, A., Awada, A., & Piccart, M. (2018). Breast cancer. In *Side Effects of Medical Cancer Therapy: Prevention and Treatment: Second Edition*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-70253-7_2
- Lee, J., & Scagel, C. F. (2019). Chicoric acid levels in commercial basil (*Ocimum basilicum*) and *Echinacea purpurea* products. *Journal of Functional Foods*, 2(1). <https://doi.org/10.1016/j.jff.2009.11.004>
- Lee, A. V., Oesterreich, S., & Davidson, N. E. (2015). MCF-7 Cells - Changing the Course of Breast Cancer Research and Care for 45 Years. *Journal of the National Cancer Institute*. <https://doi.org/10.1093/jnci/djv073>
- Lestari, D., Kartika, R., & Marlina, E. (2019). Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) UMBI BAWANG TIWAI (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) DAN Uji TOKSISITAS AKUT FRAKSI AKTIF. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. <https://doi.org/10.33759/jrki.v1i1.43>
- Lutter, S., Schmalbach, K., Esch, H. L., & Lehmann, L. (2014). The isoflavone irilone contributes to the estrogenic potential of dietary supplements containing red clover. *Archives of Toxicology*, 88(2). <https://doi.org/10.1007/s00204-013-1114-5>
- Mardiana, A., & Kurniasari, L. (2021). Hubungan Pengetahuan Pemeriksaan Payudara Sendiri (SADARI) dengan Kejadian Kanker Payudara di Kalimantan Timur. *Borneo Student Research*, 2(2).
- Marfianti, E. (2021). Peningkatan Pengetahuan Kanker Payudara dan Ketrampilan Periksa Payudara Sendiri (SADARI) untuk Deteksi Dini Kanker Payudara di Semutan Jatimulyo Dlingo. *Jurnal Abdimas Madani dan Lestari (JAMALI)*, 3(1). <https://doi.org/10.20885/jamali.vol3.iss1.art4>
- Maul, R., & Kulling, S. E. (2010). Absorption of red clover isoflavones in human subjects: Results from a pilot study. *British Journal of Nutrition*, 103(11). <https://doi.org/10.1017/S0007114509993564>
- Meng, Y., Lin, Z. M., Ge, N., Zhang, D. L., Huang, J., & Kong, F. (2015). Ursolic Acid Induces Apoptosis of Prostate Cancer Cells via the PI3K/Akt/mTOR Pathway. *American Journal of Chinese Medicine*, 43(7). <https://doi.org/10.1142/S0192415X15500834>
- Noveri Rahmawati; Dian Handayani; Nofri Mulyanti. (2008). Skrining aktivitas

sitotoksik ekstrak dan fraksi beberapa jenis spon laut asal pulau mandeh sumatera barat 1. *Skrining aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi beberapa jenis spon laut asal pulau mandeh sumatera barat*, 58–63.

- Nurasih, A. D., Sulistiyawati, I., & Falah, M. (2021). Profil Ekspresi MikroRNA Kanker Payudara di Purwokerto. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 9(4). <https://doi.org/10.25077/jka.v9i4.1553>
- Okoye, F. B. C., Obonga, W. O., Onyegbule, F. A., Ndu, O. O., & Ihekwereme, C. P. (2019). CHEMICAL COMPOSITION AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS FROM THE LEAVES OF OCIMUM BASILICUM L. AND OCIMUM GRATISSIMUM L. (LAMIACEAE). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research IJPSR*, 5(6). [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5\(6\).2174-80](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.5(6).2174-80)
- Onyebuchi, C., & Kavaz, D. (2020). Effect of extraction temperature and solvent type on the bioactive potential of Ocimum gratissimum L. extracts. *Scientific Reports* 2020 10:1, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78847-5>
- Pandey, S. N., Pratap, V., Pratap, S., & Kumar, N. (2020). PHYTOCHEMICALS AND PHARMACOLOGICAL STUDIES OF CATHARANTHUS ROSEUS LINN-A COMPREHENSIVE REVIEW. *Surya et al. World Journal of Pharmaceutical Research*, 9(7), 1415. <https://doi.org/10.20959/wjpr20207-17993>
- Puspita, D., Rahardjo, M., Wulandari, T. S., & ... (2020). 4. Analisis Aktivitas Antioksidan pada Daun Kemangi Imbo (Pycnarrhena cauliflora). *Semin. Dies Natalis*
- Reis, A., Boutet-Mercey, S., Massot, S., Ratet, P., & Zuanazzi, J. A. S. (2019). Isoflavone production in hairy root cultures and plantlets of Trifolium pratense. *Biotechnology Letters*, 41(3). <https://doi.org/10.1007/s10529-018-02640-8>
- Ryan Rahardhian, M. dan D. U. (2018). UJI SITOTOKSIK DAN ANTIPROLIFERASI EKSTRAK ETER DAUN BINAHONG (A ndredera cordifolia (Tenore) Steen .) TERHADAP SEL HeLa. *UJI SITOTOKSIK DAN ANTIPROLIFERASI EKSTRAK ETER DAUN BINAHONG (A ndredera cordifolia (Tenore) Steen .) TERHADAP SEL HeLa*, 13 No 1(April).
- Safitri, A. D. (2018). Uji Aktivitas Sitotoksik Kombinasi Ekstrak Etanol Kemangi (Ocimum Sanctum L.) Dan Daun Pepaya (Carica Papaya L.) Terhadap Sel Mcf-7. *Thesis*.

- Sari, N. (2021). Karakteristik Penyebab Kanker Payudara. *Jurnal Ilmiah PANNMED (Pharmacist, Analyst, Nurse, Nutrition, Midwifery, Environment, Dentist)*, 16(1). <https://doi.org/10.36911/pannmed.v16i1.1002>
- Sestili, P., Ismail, T., Calcabrini, C., Guescini, M., Catanzaro, E., Turrini, E., ... Fimognari, C. (2018). The potential effects of *Ocimum basilicum* on health: a review of pharmacological and toxicological studies. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 14(7), 679–692. <https://doi.org/10.1080/17425255.2018.1484450>
- Sundararajan, B., Moola, A. K., Vivek, K., & Kumari, B. D. R. (2018). Formulation of nanoemulsion from leaves essential oil of *Ocimum basilicum* L. and its antibacterial, antioxidant and larvicidal activities (*Culex quinquefasciatus*). *Microbial pathogenesis*, 125, 475–485. <https://doi.org/10.1016/J.MICPATH.2018.10.017>
- Sutherland, R. L., Green, M. D., Hall, R. E., Reddel, R. R., & Taylor, I. W. (1983). Tamoxifen induces accumulation of MCF 7 human mammary carcinoma cells in the G0/G1 phase of the cell cycle. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*, 19(5). [https://doi.org/10.1016/0277-5379\(83\)90177-3](https://doi.org/10.1016/0277-5379(83)90177-3)
- Syarief, S. (2021). 19,3 Juta Orang di Dunia Menderita Kanker, Paling Banyak Kanker Payudara.
- Tanto, C. (2014). *Kapita Selekta Kedokteran* (4 ed.). Jakarta: Media Aesculapius.
- Tao, Z. Q., Shi, A., Lu, C., Song, T., Zhang, Z., & Zhao, J. (2015). Breast Cancer: Epidemiology and Etiology. *Cell Biochemistry and Biophysics*. <https://doi.org/10.1007/s12013-014-0459-6>
- Tatiana, W. S., & Ria, S. (2020). Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Uji Sitotoksik Terhadap Sel Kanker Payudara T47D pada Ekstrak Daun Kemangi. *Jurnal Farmasetis*, 9(1), 51–64.
- Torres, R. G., Casanova, L., Carvalho, J., Marcondes, M. C., Costa, S. S., Sola-Penna, M., & Zancan, P. (2018). *Ocimum basilicum* but not *Ocimum gratissimum* present cytotoxic effects on human breast cancer Cell Line MCF-7, inducing apoptosis and triggering mTOR/Akt/p70S6K pathway. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 50(2), 93–105. <https://doi.org/10.1007/S10863-018-9750-3/FIGURES/8>
- Vogel, V. G. (2017). Epidemiology of breast cancer. In *The Breast: Comprehensive Management of Benign and Malignant Diseases*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-35955-9.00015-5>

- Wang, L., Zhang, S., & Wang, X. (2021). The Metabolic Mechanisms of Breast Cancer Metastasis. *Frontiers in Oncology*. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.602416>
- WHO. (2017). WHO | Breast cancer. *Who*.
- wikimedia.org. (2022). *Ocimum_americanum_001*.
- Anwar, S., Shamsi, A., Shahbaaz, M. (2020) Rosmarinic Acid Exhibits Anticancer Effect via MARK4 Inhibition. *Sci. Rep.*, 10: 10300.
- Chen, D., Zhao, J., Cong, W. (2018) Chinese Herbal Medicines Facilitate the Control of Chemotherapy-Induced Side Effects in Colorectal Cancer: Progress and Perspective. *Front. Pharmacol.* 9: 9.
- Hidayati, D. N., Arifin, I., Zahroh, F., Wahyuni, L. (2019) Efek Sitotoksik Ekstrak Etanolik *Ocimum basilicum*, L. Pada Sel Kanker Payudara, *Jurnal Pharmascienc.* 6(2): 74-79.
- Nadeem, M., Imran, M., Gondal, T.A. (2019) Therapeutic Potential of Rosmarinic Acid; A Comprehensive Review. *Appl. Sci. (Switzerland)*, 9: 9.
- Pradhan, S., Pradhan, D., Behera, B. (2018) Antiproliferation Activity of *Ocimum Gratissimum* Aqueous Extract On Human Breast Cancer MCF-7 *Cell Line*. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 7(9): 421-428.
- Wihadmadyatami, H., Karnati, S., Ergun, S., Kustiati, U., Tirtosari, D.W., Kusindarta, D.L., Tjahjono, Y. (2023) *Ocimum sanctum* Linn. Ethanolic extract promotes an antiproliferative and apoptosis activity in MCF-7 and T47D breast cancer *Cell Lines* mediated by upregulation of ROS/RNS, Caspase 9, and Caspase 3: an in silico and in vitro study. *F1000 Research*, 12: 136.
- Yunita, S., Yurina, V., Lyrawati, D. (2021) Uji Sitotoksik Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) dan Biji Melinjo (*Gnetum gnemon*) terhadap Sel Kanker MCF-7. Sarjana thesis, Universitas Brawijaya.