

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hasil penelitian terdahulu

Terdapat penelitian yang pernah melakukan uji aktivitas antioksidan minyak atsiri dan oleoresin dari lada putih yang dibandingkan dengan antioksidan sintetik seperti BHA (*butylated hydroxyanisole*) dan BHT (*butylated hidroxytoluene*) dengan menggunakan *1,1-difenil-2-pikrilhidra-zil* (DPPH). DPPH adalah suatu radikal bebas stabil menerima sebuah elektron atau hidrogen radikal untuk diubah menjadi molekul diamagnetik stabil. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan minyak atsiri lada putih memiliki aktivitas antioksidan (92,45%) yang lebih baik dari oleoresin, BHT (41,2-73,4%), BHA (75,0-92,1%) (Singh *et al.*, 2013).

Terdapat penelitian lain yang juga menguji aktivitas antioksidan minyak atsiri lada putih yang dibandingkan dengan minyak atsiri lada hitam menggunakan 2 metode yang berbeda yaitu DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picryl Hidrazil*) dan ABTS (*2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6-sulfonic acid*). Berdasarkan hasil penelitian tersebut menyebutkan bahwa aktivitas antioksidan minyak atsiri lada putih lebih tinggi dari minyak atsiri lada hitam pada kedua metode tersebut, untuk metode DPPH minyak atsiri lada putih memiliki nilai IC_{50} 10.9 mg/ml sedangkan pada minyak atsiri lada hitam memiliki IC_{50} 1335.8 mg/ml dan pada metode ABTS minyak atsiri lada putih memiliki nilai IC_{50} 28.9 mg/ml dan minyak atsiri lada hitam memiliki IC_{50} 223.8 mg/ml (Zhang *and* Xu, 2015).

Untuk penelitian yang menguji aktivitas antikanker juga pernah dilakukan, peneliti tersebut menguji aktivitas minyak atsiri dan oleoresin lada hitam terhadap beberapa jenis sel kanker. Minyak atsiri dan oleoresin diuji aktivitasnya terhadap sel HepG2 (sel kanker hati), HeLa (sel kanker serviks), MCF-7 (sel kanker payudara), PC-3 (sel kanker prostat), dan HEP-2 (sel kanker laring) dengan menggunakan metode MTT assay. Teknik ini digunakan untuk menguji sifat anti proliferasi minyak atsiri lada hitam dan oleoresin pada konsentrasi yang berbeda dan dibandingkan dengan obat kemoterapi yaitu vinblastine. Hasil yang diperoleh

menunjukkan oleoresin memiliki aktivitas antikanker yang tinggi terhadap beberapa sel kanker yaitu pada sel kanker HepG-2, HeLa, PC-3, dan HEP-2 dengan nilai IC_{50} berturut-turut (5,17; 9,38 ; 5,57 dan 5,31 $\mu\text{g/ml}$). Namun minyak atsiri memiliki efek sitotoksitas kuat dibanding oleoresin terhadap sel kanker payudara yaitu sel MCF-7 dengan nilai IC_{50} 4,69 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan pada oleoresin memiliki nilai IC_{50} 5,23 $\mu\text{g/ml}$. (Morsy *and* Abd El-Salam, 2017).

2.2 Landasan Teori

2.2.1 Lada

Morfologi dari tanaman lada hitam antara lain merupakan tanaman semak belukar, herba, berbatang kecil menjalar jenis bunganya majemuk berbentuk bulir dan menggantung. Tanaman ini memiliki karakter kimia mengandung asam amida atau disebut juga piperine yang umumnya dimiliki oleh beberapa spesies dalam famili piperaceae, dan mengandung minyak atsiri (Heinrich, 2003).



Gambar 2. 1 Tanaman Lada (<https://bibitonline.com>).

Kedudukan Tanaman Lada Hitam dalam Taksonomi

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub division	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Sub Kelas	: Monochlamidae (Apetalae)
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae
Genus	: Piper
Spesies	: <i>Piper nigrum</i> L. Sumber: (Tjitrosoepomo, 2004)

Tanaman lada berasal dari marga piper dan suku piperaceae. Buah lada merupakan salah satu hasil rempah penting dari segi ekonomi yang berupa lada hitam (black pepper) maupun lada putih. Lada secara morfologi merupakan jenis tumbuhan memanjat, batang berkayu. Buah lada berwarna hijau saat muda dan berwarna merah ketika matang, memiliki diameter 4-6 mm, dalam satu malai terdapat 60-80 buah (Evizal, 2013). Lada putih dihasilkan dari buah lada yang telah masak kemudian dipisahkan dari kulitnya dan diambil bijinya, sedangkan lada hitam diperoleh dari buah yang masih mentah lalu dikeringkan (Singh dan Duggal, 2009)

Buah lada mengandung sumber vitamin B-komplek seperti piridoksin, riboflavin, tiamin dan niasin. Di dalam buah lada terdapat beberapa kandungan vitamin yang memiliki khasiat sebagai antioksidan seperti vitamin C dan vitamin A, serta polifenol flavonoid antioksidan seperti: alfa tokoferol, gamma tokoferol, karoten, criptoksantin, zeaksantin, dan likopen (USDA National data base, 2019). Senyawa tersebut dapat membantu tubuh untuk melawan dan menghilangkan radikal bebas berbahaya dan melindungi tubuh dari kanker dan penyakit (Singletary. 2010). Minyak dan oleoresin lada menunjukkan aktivitas

antioksidan yang kuat dibandingkan BHA, BHT, dan PG (Singh *et al.* 2013).

2.2.2. Minyak atsiri

Minyak atsiri dikenal dengan minyak terbang, minyak eteris, minyak menguap (*essential oil* atau *volatile oil*). Minyak atsiri dapat dihasilkan dari semua bagian tanaman, seperti akar, batang, ranting, daun, bunga, atau buah dan merupakan campuran dari senyawa-senyawa volatil yang dapat diperoleh dengan cara distilasi, pengepresan atau ekstraksi (Nurhaen *et al.*, 2016).

Minyak atsiri merupakan salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman tingkat tinggi dan memiliki peranan yang penting bagi tanaman itu sendiri maupun bagi kehidupan manusia. Kebutuhan minyak atsiri dunia setiap tahun semakin meningkat jumlahnya seiring dengan meningkatnya perkembangan industri modern seperti industri parfum, kosmetik, makanan, aroma terapi, dan obat-obatan (Feriyanto, 2013).

Minyak atsiri banyak digunakan sebagai obat-obatan. Untuk memenuhi kebutuhan tersebut, sebagian besar minyak atsiri diambil dari berbagai jenis tanaman penghasil minyak atsiri (Rumondang, 2004). Minyak atsiri tanaman diperoleh dari tanaman beraroma yang tersebar di seluruh dunia (Kardinan, 2005). Minyak atsiri yang terkandung didalam lada putih antara lain β -Caryophyllene (16%), sabinene (12,6%), limonene (11,9%), torreyol (9,3%), β -Bisabolene (7,4%) dan β -Pinene (7,3%) yang telah diuji dan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Singh *et al.*, 2013).

2.2.3. Pengolahan lada putih

Pengolahan lada putih di tingkat petani masih banyak dilakukan secara tradisional, umumnya belum memperhatikan efisiensi pengolahan, segi kebersihan, dan konsistensi mutu. Perontokan buah lada dilakukan dengan cara diinjak-injak serta cara penjemuran yang masih sangat sederhana yang mungkin menyebabkan terjadinya kontaminasi oleh debu, kotoran binatang peliharaan, maupun mikroorganisme (Nurdjannah, 1999).

Proses pengolahan lada putih dilakukan di tingkat petani, prosesnya meliputi perendaman, pencucian, pemisahan kulit, pengeringan, sortasi, dan pengemasan. Untuk memproduksi lada putih, pemetikan buah dilakukan 8–9 bulan setelah bunga muncul dengan ditandai sebagian buah pada pangkal tandan sudah berwarna kuning kemerahan. Setelah dipetik, buah lada dimasukkan ke dalam karung goni atau plastik siap untuk direndam.

Perendaman biasanya dilakukan di sungai-sungai kecil yang mengalir, di Bangka biasa dilakukan di dalam kolong (cekungan yang terbentuk akibat penggalian timah) yang memakan waktu 14-21 hari. Lamanya perendaman lada tergantung dari kemasakan buah dan keadaan lingkungan seperti banyaknya air, dan lain-lain. Semakin matang buah lada, semakin pendek waktu perendaman. Pada perendaman buah lada tersebut, terjadi pembusukan kulit luar oleh bakteri sehingga kulit tersebut mudah dipisahkan dari bijinya. Perendaman yang lama menyebabkan timbulnya bau busuk yang biasanya masih terbawa pada lada putih kering, terutama bila perendaman tersebut dilakukan dalam air yang tidak mengalir (Nurdjannah, 2006).

2.2.4. Fermentasi

Fermentasi merupakan suatu proses pemecahan senyawa organik menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan melibatkan mikroorganisme. Fermentasi adalah suatu proses perubahan kimiawi dari

senyawa-senyawa organik (karbohidrat, lemak, protein, dan bahan organik lain) baik dalam keadaan aerob maupun anaerob, melalui kerja enzim yang dihasilkan oleh mikroba (Ganjar, 1983)

Manfaat fermentasi antara lain dapat mengubah bahan organik kompleks seperti protein, karbohidrat, dan lemak menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana dan mudah dicerna, mengubah rasa dan aroma yang tidak disukai menjadi disukai, dan mensintesis protein. Manfaat lain dari fermentasi adalah bahan makanan lebih tahan disimpan dan dapat mengurangi senyawa racun yang dikandungnya, sehingga nilai ekonomis bahan dasarnya menjadi jauh lebih baik. Penggunaan metode fermentasi dalam pengolahan lada putih adalah untuk mengelupaskan kulit dari bijinya serta untuk menjaga kandungan yang terdapat di dalam lada putih (Winarno *et al.* 1980).

2.2.5. Destilasi

Destilasi merupakan salah satu metode yang digunakan untuk ekstraksi minyak atsiri, metode destilasi yang digunakan adalah destilasi air yaitu proses penyulingan dengan cara sampel ditambahkan dengan air kemudian dipanaskan, air akan menguap dan uap air akan naik ke atas mengenai sampel sekaligus mengikat minyak atsiri yang ada pada sampel tersebut, uap air tersebut akan masuk ke kondensor dan berubah fase menjadi cairan, sehingga terdapat cairan minyak yang bercampur dengan air yang jatuh ke erlemeyer. Cairan minyak dan air yang bercampur kemudian dipisahkan dengan cara ditambahkan natrium sulfat anhidrat. (Handayani *et al.*, 2015).

2.2.5. GC-MS (*Gas Chromatography Mass Spectrometry*)

GC-MS merupakan metode yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dalam suatu campuran yang mengandung senyawa yang mudah menguap seperti pada minyak atsiri dan tiap komponen dapat dibuat spektrum massa dengan ketelitian yang tinggi. Hasil pemisahan dengan kromatografi gas berupa kromatogram, sedangkan hasil

pemeriksaan spektrometri massa masing-masing senyawa disebut spektrum (Nurhaen *et al.*, 2016).

2.2.7. Kanker

Kanker atau tumor ganas merupakan salah satu penyakit yang sampai saat ini masih belum dapat ditangani secara tuntas meskipun berbagai metode pengobatannya telah dikembangkan oleh pakar ilmu kedokteran. Kurang lebih 120 jenis kanker sudah diketahui dan dikelompokkan dalam 12 bagian besar berdasarkan organ atau jaringan tubuh manusia yang diserang (Nurrani, 2014).

Kanker adalah penyakit yang disebabkan oleh sel abnormal jaringan tubuh yang tumbuh dan berkembang secara cepat dan tidak terkendali. Tahun 2012 jenis kanker yang paling banyak dijumpai pada wanita adalah kanker payudara (43,3%) dan kanker serviks (14%) (WHO, 2012). Kanker payudara adalah sekelompok sel tidak normal pada payudara yang terus tumbuh berlipat ganda. Pada akhirnya sel-sel ini menjadi bentuk benjolan di payudara (Ramli *et al.*, 2005).

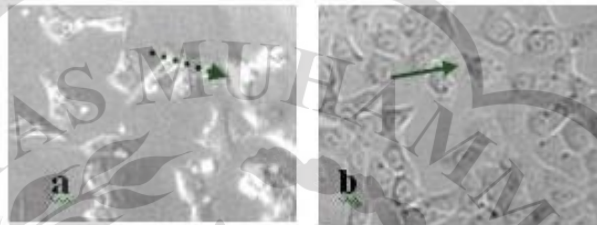
2.2.8. Kanker payudara

Payudara terdiri dari jaringan kelenjar yaitu kelenjar susu, lemak, dan jaringan ikat. Selama kehamilan, kelenjar susu akan memproduksi dan mengeluarkan susu sebagai makanan untuk bayi. Namun, jika sel-sel di dalam kelenjar susu membelah diri dan berkembang secara tidak terkendali, sel-sel ini bisa berkembang menjadi tumor jinak ataupun ganas. Kanker payudara merupakan tumor ganas yang berkembang di dalam payudara. Sel kanker payudara yang sering digunakan dalam penelitian secara *in vitro* adalah sel T47D dan sel MCF-7. (Adjo and Lin, 2012)

2.2.9. Sel kanker payudara T47D

Sel T47D merupakan *continous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. *Continous cell line* sering dipakai dalam penelitian kanker secara *In vitro*

karena memiliki banyak keunggulan yaitu mudah penangannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall *et al.*, 2003). Sel T47D merupakan reseptor pembawa bagi steroid dan kalsitonin, bekerja dengan menekan protein p53, dalam kondisi normal secara konstitutif mengekspresikan reseptor progesteron dan responsif terhadap estrogen (Abcam, 2007).



Gambar 2. 2. Morfologi sel T47D sel yang diberi senyawa sitotoksik (a) kontrol sel (b). (ccrc.farmasi.ugm)

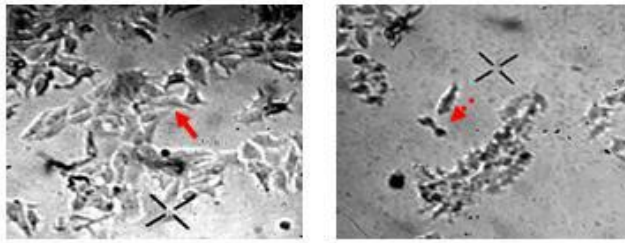
Keterangan :

- > **Sel hidup**
- > **Sel yang telah berubah morfologi**

Sel kanker payudara T47D mengekspresikan protein p53 yang termutasi. *Missence mutation* terjadi pada residu 194 (dalam *zinc-binding domain*, L2), sehingga p53 tidak dapat berikatan dengan respon elemen pada DNA. Hal ini mengakibatkan berkurang bahkan hilangnya kemampuan p53 untuk regulasi *cell cycle*. Sel T47D merupakan sel kanker payudara ER/PR positif (Schafer *et al.*, 2000).

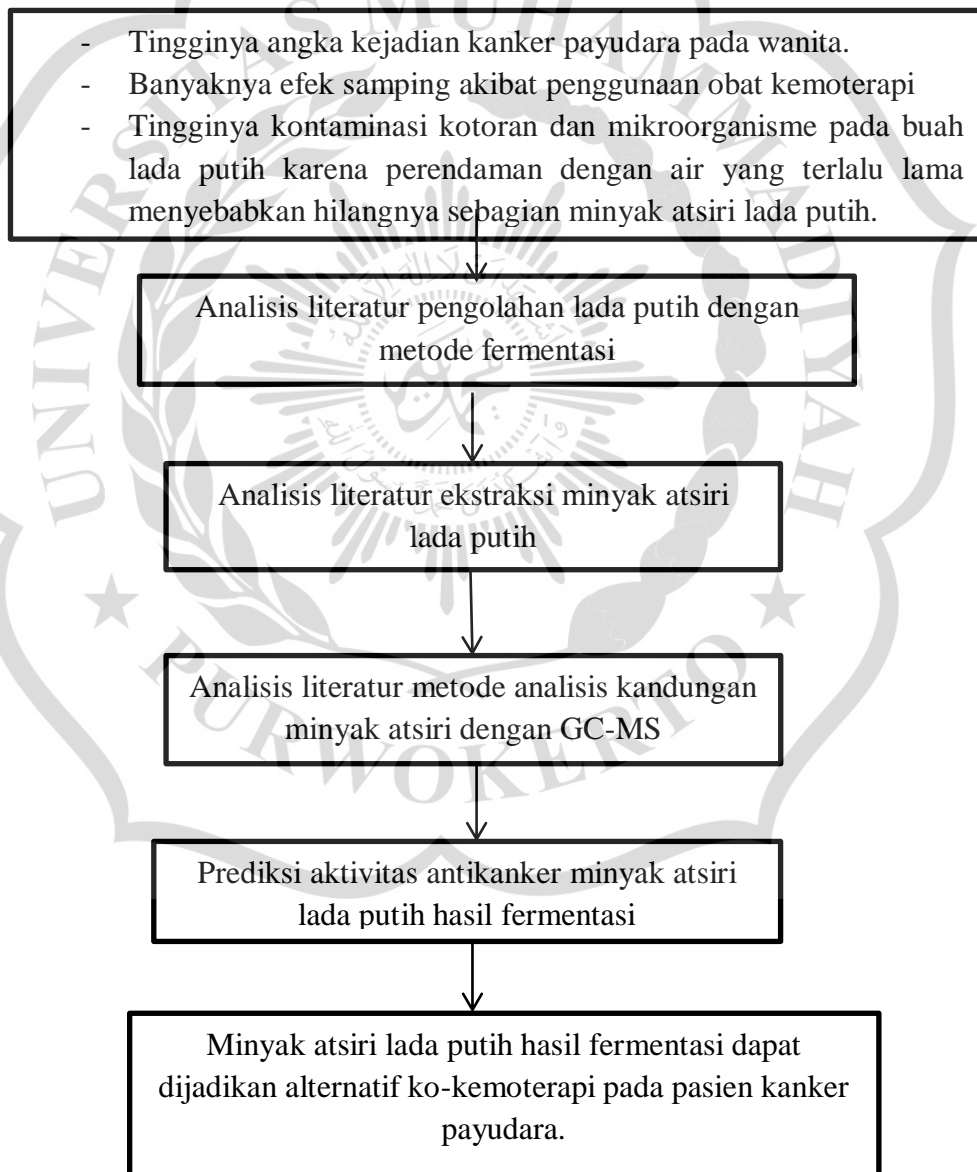
2.2.10 Sel kanker payudara MCF-7

Sel MCF-7 merupakan salah satu jenis sel kanker payudara yang banyak digunakan dalam penelitian. Sel tersebut diambil dari jaringan payudara seorang wanita Kaukasian berumur 69 tahun golongan darah O, dengan Rh positif, berupa sel adherent (melekat) yang dapat ditumbuhkan dalam media penumbuh DMEM atau RPMI. Sel MCF-7 memiliki karakteristik resisten terhadap agen kemoterapi (Aouli *et al.*, 2003)



Gambar 2. 3 Morfologi sel kanker payudara MCF-7 kontrol sel (a), sel ysng diberi senyawa sitotoksik (b). (ccrc.farmasi.ugm)

2.3 Kerangka konsep



2.4 Hipotesis

Berdasarkan kerangka konsep maka didapatkan hipotesis

- 2.4.1. Lada putih yang dihasilkan dari fermentasi menggunakan ragi tempe diprediksi memiliki kualitas lada putih yang lebih baik.
- 2.4.2. Minyak atsiri lada putih diprediksi memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara.
- 2.4.3. Kombinasi minyak atsiri lada putih dengan diprediksi memiliki efek yang sinergis.

