

## UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK KOMBINASI DOKSORUBISIN DAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI (*Ocimum sanctum L.*) TERHADAP SEL MCF-7

### CYTOTOXIC ACTIVITY OF DOXORUBICIN COMBINED WITH ETHANOLIC EXTRACT OF KEMANGI (*Ocimum sanctum L.*) AGAINST MCF7 CELL

Zulfa Nur Hanifah<sup>1</sup>, Muhammad Da'i<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl A Yani No 157, Sukoharjo, Indonesia

\*E-mail: [m.dai@ums.ac.id](mailto:m.dai@ums.ac.id)

#### Abstrak

Doksorubisin merupakan antibiotik antrasiklin yang dianggap efektif sebagai salah satu agen kemoterapi antikanker dan banyak digunakan. Penggunaan doksorubisin sebagai agen kemoterapi dapat digunakan baik sebagai agen tunggal maupun kombinasi. Namun, penggunaan doksorubisin pada terapi kanker ternyata memberikan beberapa efek samping. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) mempunyai efek sitotoksik terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 176,37 µg/mL. Kombinasi antara doksorubisin dan ekstrak tanaman telah terbukti memiliki potensi dalam meningkatkan efektivitas ekstrak dan sensitivitasnya terhadap sel MCF-7. Metode yang digunakan pada uji sitotoksitas dan uji kombinasi adalah metode MTT-assay. Pada penelitian ini didapatkan nilai IC<sub>50</sub> doksorubisin dan ekstrak etanol daun kemangi secara berturut-turut sebesar 3,58 µg/mL dan 721,36 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kemangi dalam penelitian ini tidak memiliki aktivitas sitotoksik. Kombinasi ekstrak etanol daun kemangi dan doksorubisin menunjukkan efek sinergisme kuat terhadap sel MCF-7 dengan nilai indeks kombinasi sebesar 0,121 pada konsentrasi optimal ekstrak-doksorubisin 360 µg/mL – 1 µg/mL (1/2 IC<sub>50</sub> – 1/4 IC<sub>50</sub>) dan memiliki indeks kombinasi tertinggi 0,663 pada konsentrasi ekstrak-doksorubisin 90 µg/mL – 1 µg/mL (1/8 IC<sub>50</sub> – 1/4 IC<sub>50</sub>). Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi doksorubisin dan ekstrak etanol daun kemangi memiliki potensi untuk dijadikan agen kokemoterapi.

**Kata Kunci:** doksorubisin, daun kemangi, indeks kombinasi, sinergisme.

#### Abstract

Doxorubicin is an anthracycline antibiotic that is considered effective as an anticancer chemotherapy agent and is widely used. The use of doxorubicin as a chemotherapeutic agent can be used either as a single agent or in combination. However, the use of doxorubicin in cancer therapy has several side effects. Previous research has shown that the ethanolic extract of basil leaves (*Ocimum sanctum L.*) has a cytotoxic effect on MCF-7 cells with an IC<sub>50</sub> value of 176.37 µg/mL. The combination of doxorubicin and plant extracts has been shown to have the potential to increase the extract's effectiveness and sensitivity to MCF-7 cells. The method used in the cytotoxicity test and the combination test is the MTT-assay method. In this study, the IC<sub>50</sub> values of doxorubicin and basil leaf ethanol extract were 3.58 µg/mL and 721.36 µg/mL, respectively. This indicates that the ethanolic extract of basil leaves in this study did not have cytotoxic activity. The combination of basil leaf ethanol extract and doxorubicin showed a strong synergistic effect on MCF-7 cells with a combination index value of 0.121 at the optimal concentration of doxorubicin-extract 360 µg/mL – 1 µg/mL (1/2 IC<sub>50</sub> – 1/4 IC<sub>50</sub>) and had the highest combination index was 0.663 at a concentration of extract-doxorubicin 90 µg/mL – 1 µg/mL (1/8 IC<sub>50</sub> – 1/4 IC<sub>50</sub>). This shows that the combination of doxorubicin and ethanolic extract of basil leaves has the potential to be used as a cochemotherapy agent.

**Keywords:** doxorubicin, basil leaves, combination index, synergistic

## PENDAHULUAN

Penyakit kanker merupakan salah satu penyakit tidak menular yang menjadi beban kesehatan di seluruh dunia. Kanker merupakan penyakit yang ditandai dengan adanya sel yang abnormal yang bisa berkembang tanpa terkendali dan memiliki kemampuan untuk menyerang dan berpindah antar seldan jaringan tubuh. Data dari Global Burden of Cancer (GLOBOCAN) yang dirilis oleh Badan Kesehatan Dunia (WHO) menyebutkan bahwa jumlah kasus dan kematian akibat kanker sampai dengan tahun 2018 sebesar 18,1 juta kasus dan 9,6 juta kematian di tahun 2018 (Sung *et al.*, 2021). Kematian akibat kanker diperkirakan akan terus meningkat hingga lebih dari 13,1 juta pada tahun 2030. Data yang bersumber dari Rumah Sakit Kanker Dharmas pada tahun 2018 menunjukkan bahwa kasus kanker terbanyak adalah kanker payudara sebesar 19,18%, kanker serviks sebesar 10,69%, dan kanker paru-paru sebesar 9,89% (Pangribo, 2019).

Doksorubisin merupakan antibiotik antrasiklin yang dianggap efektif sebagai salah satu agen kemoterapi antikanker dan banyak digunakan. Penggunaan doksorubisin sebagai agen kemoterapi dapat digunakan baik sebagai agen tunggal maupun kombinasi. Namun, penggunaan doksorubisin pada terapi kanker ternyata memberikan beberapa efek samping antara lain mempengaruhi sistem imun, rambut rontok, radang tenggorokan, hepatotoksik, dan kardiotoxik yang bersifat irreversibel. Penggunaan doksorubisin jangka panjang dapat menyebabkan resistensi karena ekspresi berlebih dari P-glikoprotein (Pgp), yakni protein yang berperan pada pengeluaran obat dari sel, sehingga potensi sitotoksik pada sel kanker akan berkurang (Imai *et al.*, 2005). Timbulnya resistensi tersebut dapat menjadi kendala utama dalam proses kemoterapi karena dapat menurunkan sensitivitas sel kanker terhadap agen kemoterapi. Oleh karena itu, perlu dilakukan terapi kombinasi dengan menggunakan agen kemopreventif untuk meningkatkan sensitivitas sel kanker payudara terhadap agen kemoterapi dan meminimalkan efek samping, yang biasa disebut dengan kokemoterapi. Kombinasi kemoterapi bertujuan untuk meningkatkan efektivitas pengobatan dan menurunkan efek samping agen kemoterapi. Biasanya obat yang dikombinasi memiliki efek sinergis melawan sel kanker namun toksisitasnya dapat ditoleransi sehingga secara klinik akan lebih efisien dibandingkan dengan agen tunggal. Oleh karena itu desain kombinasi yang tepat diperlukan untuk memperoleh manfaat yang lebih optimal. (CCRC, 2010)

Salah satu tanaman yang diketahui berpotensi sebagai antikanker adalah kemangi (*Ocimum sanctum L.*) yang biasa dikenal sebagai *holy basil*. Seluruh bagian tanaman *Ocimum sanctum* seperti daun, bunga, batang, biji bahkan tanaman utuh nya dapat digunakan untuk pengobatan tradisional. Daun *Ocimum sanctum L.* diketahui memiliki pengaruh terhadap imunomodulator, antiulcer, anti inflamasi serta anti karsinogenik (Manikandan *et al.*, 2008). Daun kemangi memiliki kandungan senyawa flavonoid, eugenol, arginin, anetol, boron, dan minyak atsiri. Flavonoid dan eugenol berperan sebagai antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas, menetralkan kolesterol, dan bersifat antikanker (Hanan, 2014). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) mempunyai efek sitotoksik terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 176,37 (Husna, 2018). Telah dilakukan penelitian sebelumnya oleh Failasufi (2017), tentang kombinasi ekstrak etanol biji sirsak dengan doksorubisin terhadap sel MCF-7 menghasilkan efek sinergis kuat terhadap sel MCF-7 dengan nilai indeks kombinasi 0,102 pada konsentrasi optimal ekstrak doksorubisin 17,5 µg/mL – 4 Nm ( $\frac{1}{8}$  IC<sub>50</sub> –  $\frac{1}{2}$  IC<sub>50</sub>). Dengan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol biji sirsak yaitu 142,74 µg/mL dan doksorubisin 7,41 nM. Hutagaol (2012) mengatakan bahwa,

kombinasi ekstrak etil asetat daun kelor dengan doksorubisin pada sel MCF-7 memberikan efek sinergis sangat kuat dengan konsentrasi optimal ekstrak etil asetat daun kelor dan doksorubisin yaitu 18,66 µg/mL – 1,45 µg/mL.

Kombinasi antara doksorubisin dan ekstrak tanaman telah terbukti memiliki potensi dalam meningkatkan efektivitas ekstrak dan sensitivitasnya terhadap sel MCF-7. Dari latar belakang tersebut peneliti ingin melakukan uji aktivitas sitotoksitas kombinasi antara doksorubisin dan ekstrak etanoldaun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) terhadap sel MCF-7.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini bersifat eksperimental. Metode yang digunakan pada uji sitotoksitas dan uji kombinasi adalah metode MTT-assay. Data hasil uji sitotoksitas dianalisis menggunakan persamaan regresi linier. Sedangkan uji kombinasi dianalisis dengan menghitung indeks kombinasi.

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan: Inkubator CO<sub>2</sub> (Binder), rotary evaporator (Heidolph), mikropipet (Socorex), corong, kulkas, *beaker glass*, vortex, mikropipet, vacum, botol duran 1000 ml, *Waterbath* (mamaers), *hemocytometer* (Neubauer), pipet pasteur, LAF (ESCO), ELISA reader (Biotech), Vortex (Maxi Mix II), Mikroskop (Olympus), neraca analitik (Ohaus).

Bahan yang digunakan: daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*), DMSO, 96-well plate (Iwaki), 24-well plate, buffer fosfat salin (PBS), *conical tube*, *yellow tip*, *blue tip*, *white tip*, media kultur DMEM, etanol 96%, SDS, larutan MTT, tripsin 0,025%, *aluminium foil*, *cover slip*.

### **Ekstraksi daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*)**

Ditimbang serbuk daun kemangi sebanyak 200 gram. Selanjutnya dilakukan maserasi menggunakan pelarut etanol 95% sebanyak 2 L kemudian didiamkan selama 72 jam dan diaduk secara berkala. Larutan disaring menggunakan bantuan vacum lalu diuapkan dalam rotary evaporator. Ekstrak diletakkan diatas penangas air hingga menghasilkan ekstrak kental.

### **Kultur dan panen Sel**

Sel MCF dikultur dalam media DMEM yang mengandung FBS (Fetal Bovine Serum) 10% dan 1% Penisilin-Streptomisin. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan CO<sub>2</sub> 5% (CCRC, 2013).

Panen sel dilakukan saat sel sudah 80% konfluen. Sel yang akan dipanen diambil dari inkubator dan diamati dengan mikroskop. Media disedot menggunakan vacum dan pipet Pasteur. Kemudian sel dicuci dengan PBS 5 mL dan diratakan pada permukaan sel. Setelah proses pencucian selesai, sel dilepaskan dari matriks dengan menambahkan 450 µL tripsin-EDTA (tripsin 0,25%) pada permukaan sel secara merata dan diinkubasi selama 4 menit pada suhu 37°C. Ditambahkan 5 mL media untuk menginaktifkan tripsin. Sel diresuspensi menggunakan mikropipet sampai sel terlepas satu persatu, diamati dibawah mikroskop untuk memastikan sel tidak menggerombol. Sel dipindahkan ke conical tube steril dan dihitung di bawah mikroskop menggunakan counter dengan meneteskan 10 µL sel yang telah dipanen pada hemacytometer (CCRC, 2009a).

### **Pembuatan Larutan Uji**

Ditimbang ekstrak etanol daun kemangi sebanyak 10 mg dan dimasukkan ke dalam polytube. Ekstrak yang telah ditimbang dilarutkan dalam dimetilsulfoksida (DMSO) sebanyak 100 µL kemudian divortex selama 10 menit agar ekstrak larut dengan sempurna. (CCRC, 2009). Dibuat seri konsentrasi ekstrak etanol daun kemangi 750 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, dan 25 µg/mL dalam media DMEM dan seri konsentrasi doksorubisin

100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5µg/mL, dan 6,25 µg/mL untuk uji sitotoksik. Pada uji kombinasi dibuat seri konsentrasi 360 µg/mL, 270 µg/mL, 180 µg/mL, dan 90 µg/mL ekstrak etanol daun kemangi dan seri konsentrasi doksorubisin 2 µg/mL, 1 µg/mL, 0,5 µg/mL, dan 0,25 µg/mL pada ekstrak tunggal dan kombinasinya.

### Uji Sitotoksik

Sel dikultur pada 96-well plate dengan volume 100 µL pada setiap sumuran dengan jumlah sel terhitung  $10 \times 10^4$  per mL dan disisakan 15 sumuran sebagai kontrol media, kontrol sel, dan kontrol pelarut. Diamati kondisi sel dibawah mikroskop kemudian plate diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Media dibuang dengan cara membalikkan plate dan ditiriskan sisa cairan media menggunakan tisu. Kemudian ditambahkan ekstrak etanol daun kemangi dengan konsentrasi 750 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL, 50 µg/mL, dan 25 µg/mL ke dalam plate sebanyak 100 µL pada masing- masing sumuran dan diinkubasi selama 24 jam. Dilakukan langkah yang sama pada uji kombinasi dengan seri konsentrasi 360 µg/mL, 270 µg/mL, 180 µg/mL, dan 90 µg/mL ekstrak etanol daun kemangi dan seri konsentrasi doksorubisin 2 µg/mL, 1 µg/mL, 0,5 µg/mL, dan 0,25 µg/mL pada ekstrak tunggal, doksorubisin dan kombinasinya (CCRC, 2013).

### Uji MTT

Setelah 24 jam, dibuang larutan sampel pada 96 well-plate kemudian ditambah dengan 100 µL larutan MTT pada tiap sumuran dan diinkubasi selama 2 jam di dalam inkubator pada suhu 37°C. Diamati terbentuknya kristal formazan dibawah mikroskop kemudian ditambahkan reagen stopper 100 µL SDS 10% dalam 0,1 N HCl. Dibungkus plate dengan aluminium foil dan diinkubasi di tempat gelap pada suhu ruang selama semalam. Dibaca absorbansi dengan menggunakan ELISA reader dengan panjang gelombang 595 nm (CCRC, 2013).

### Analisis Uji

#### Uji Sitotoksik

Hasil uji sitotoksik diperoleh dengan menghitung persentase sel hidup berdasarkan absorbansi yang didapatkan dari pembacaan hasil ELISA reader dan dihitung nilai IC50. Rumus perhitungan % sel hidup (CCRC, 2013).

Jika absorbansi kontrol pelarut sama dengan absorbansi kontrol sel maka perhitungan persentase sel hidup dengan rumus berikut :

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{\text{Absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi media}}{\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media}} \times 100\% \quad (1)$$

Jika absorbansi kontrol pelarut lebih kecil daripada kontrol sel, maka perhitungan persentase sel hidup dengan rumus berikut:

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{\text{Absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi media}}{\text{Absorbansi kontrol pelarut} - \text{absorbansi kontrol media}} \times 100\% \quad (2)$$

#### Uji Kombinasi

Dihitung nilai indeks kombinasi (CI) menggunakan aplikasi Compusyn, dengan hasil data berupa Combination Index pada seluruh perlakuan. Interpretasi nilai indeks kombinasi dapat dilihat pada

**Tabel 1. Interpretasi Nilai Indeks Kombinasi**

Nilai CI	Interpretasi
< 0,1	efek sinergis sangat kuat
0,1 – 0,3	efek sinergis kuat
0,3 – 0,7	efek sinergis
0,7 – 0,9	efek sinergis ringan – sedang
0,9 – 1,1	mendekati efek aditif
1,1 – 1,45	efek antagonis ringan – sedang
1,45 – 3,3	efek antagonis
> 3,3	efek antagonis kuat – sangat kuat

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi

Metode maserasi dipilih karena merupakan cara ekstraksi yang paling mudah dengan rendemen ekstraksi tinggi. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 96% karena merupakan pelarut pilihan utama untuk mengekstraksi metabolit sekunder dengan daya ekstraksi yang luas (Saifudin, 2014). Hasil rendemen yang diperoleh dari 200 g serbuk daun kemangi adalah 1,765%. Secara organoleptis ekstrak yang diperoleh berwarna hijau gelap, rasa pahit, dan berbau khas.

### Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT-assay. Prinsip dari metode MTT adalah kemampuan sel hidup mereduksi garam MTT (3-(4,5-dimetiltazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida) menjadi kristal formazan. Sel hidup akan direduksi menjadi formazan oleh enzim reduktase menjadi senyawasuksinat tetrazolium dan masuk ke dalam mitokondria sel sehingga membentuk kristal formazan yang larut dalam SDS 10% (Doyle & Griffiths, 2000) dan tidak larut air (Chapdelaine, 2011). Penambahan SDS berfungsi sebagai reagen stopper yang akan melarutkan kristal formazan berwarna ungu. Intensitas warna yang terbentuk dibaca absorbansinya dengan ELISA (*Enzim-linked Immunosorbent Assay*) reader. Intensitas warna yang terbentuk berbanding lurus dengan banyaknya sel yang hidup (CCRC, 2013).

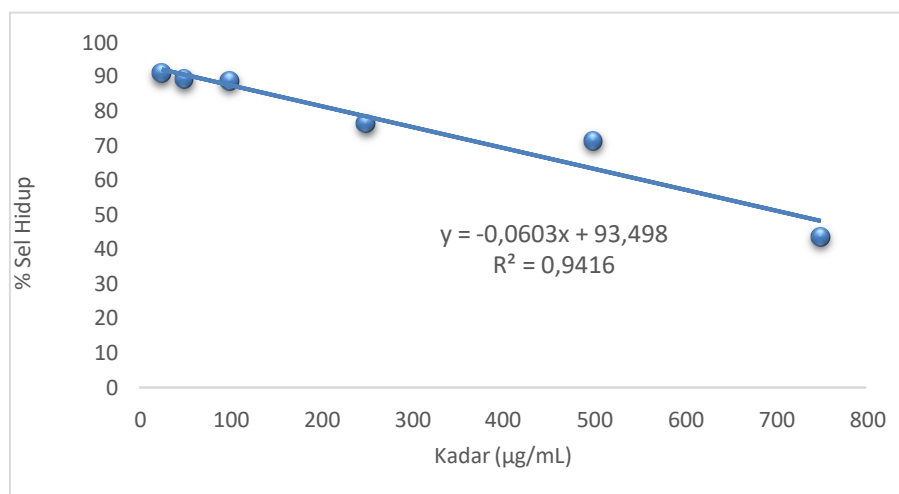
Pada pembuatan larutan uji, digunakan DMSO 0,5% sebagai pelarut karena merupakan pelarut yang cepat menyerap ke dalam ekstrak tanpa merusak ekstrak (Alfath *et al.*, 2013). Pada uji sitotoksik, nilai IC<sub>50</sub> digunakan untuk menunjukkan konsentrasi yang menghasilkan proliferasi sel sebesar 50% serta menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Semakin tinggi nilai IC<sub>50</sub> suatu senyawa maka semakin lemah ketoksikannya. Sebaliknya, semakin rendah nilai IC<sub>50</sub> maka potensi ketoksikannya semakin tinggi (Doyle & Griffiths, 2000). Menurut penelitian sebelumnya, ekstrak etanol daun kemangi memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 176,37 µg/mL (Husna, 2018). Pada penelitian ini didapatkan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak sebesar 721,36 µg/mL. Suatu ekstrak dikategorikan sangat aktif apabila memiliki nilai IC<sub>50</sub> < 10 µg/mL, kategori aktif 10 – 50 µg/mL, kategori moderat 50 – 100 µg/mL, dan kategori lemah 100 – 500 µg/mL (Indrayanto *et al.*, 2021). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kemangi dalam penelitian ini memiliki aktivitas sitotoksik yang sangat lemah. Beberapa hal seperti kondisi geografis, asal, dan jenis tanaman dapat mempengaruhi kandungan senyawa pada simplisia (Putri, 2016).



Gambar 1. Kristal Formazan yang terbentuk dari hasil percobaan

Tabel 2. Perlakuan ekstrak etanol daun kemangi terhadap sel MCF-7

Kadar (µg/mL)	Absorbansi			% Sel Hidup			Rerata % Sel Hidup	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
	R1	R2	R3	R1	R2	R3		
750	0,611	0,508	0,411	55,185	43,343	32,191	43,573	
500	0,774	0,729	0,752	73,925	68,751	71,395	71,357	
250	0,853	0,766	0,766	83,007	73,005	73,005	76,339	721,36
100	0,912	0,892	0,902	89,790	87,491	88,641	88,641	
50	0,894	0,917	0,909	87,721	90,365	89,445	89,1775	
25	0,947	0,931	0,886	93,814	91,975	86,801	90,863	

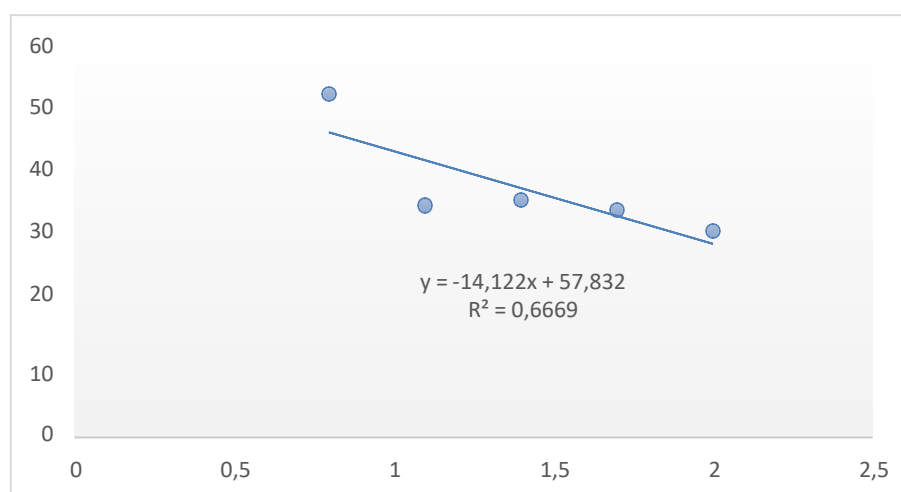


Gambar 2. Grafik pengaruh perlakuan ekstrak etanol daun kemangi terhadap sel MCF-7

Pada kontrol positif doksorubisin didapatkan hasil IC<sub>50</sub> yaitu 3,58 µg/mL pada konsentrasi 100 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 12,5 µg/mL, dan 6,25 µg/mL dengan persamaan regresi linier  $y = -14,122x + 57,832$ . Hal ini menunjukkan bahwa doksorubisin memiliki aktivitas sitotoksik yang sangat poten untuk membunuh 50% populasi sel hidup.

Tabel 3. Pengaruh perlakuan doksorubisin terhadap sel MCF-7

Kadar ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbansi			% Sel Hidup			Rerata % Sel Hidup	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
	R1	R2	R3	R1	R2	R3		
100	0,246	0,255	0,272	28,593	30,870	35,172	31,545	
50	0,265	0,268	0,278	33,400	34,159	36,690	34,750	
25	0,264	0,271	0,294	33,147	34,919	40,738	36,268	3,58
12,5	0,283	0,262	0,274	37,955	32,641	35,678	35,425	
6,25	0,357	0,342	0,322	56,680	52,884	47,823	52,462	



Gambar 3. Grafik Pengaruh perlakuan Doksorubisin terhadap sel MCF-7

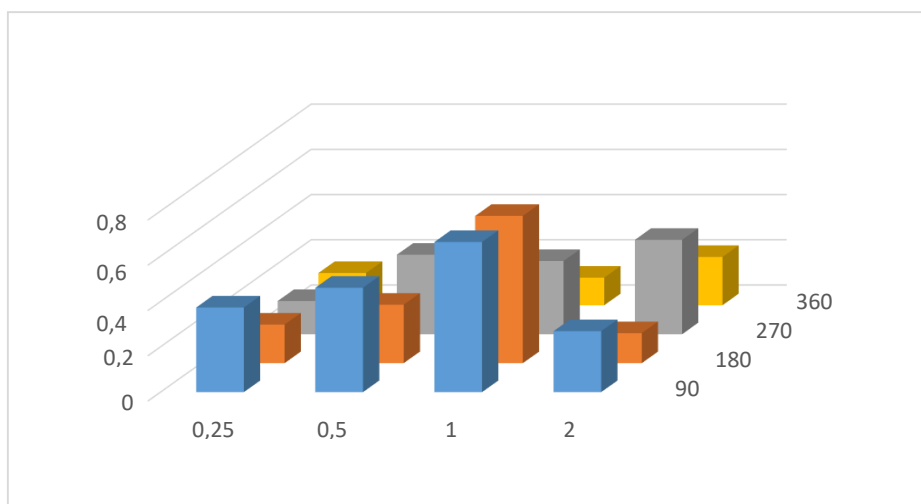
### Uji Kombinasi

Uji kombinasi dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun kemangi dan doksorubisin sebagai agen ko-kemoterapi. Hasil IC<sub>50</sub> pada uji sitotoksik digunakan untuk menentukan konsentrasi pada uji ini. Berbagai penelitian yang mengkombinasikan doksorubisin dengan agen kemopreventif menyebutkan bahwa efek kombinasi lebih efektif dibandingkan dengan terapi tunggal baik doksorubisin maupun terapi tunggal agen kemopreventif, hal ini disebabkan karena efek doksorubisindan senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan seperti flavonoid cenderung bekerja secara sinergis (Rusmiati & Tri Endarti, 2021). Menurut penelitian sebelumnya, kombinasi doksorubisin dan ekstrak etanol biji sirsak memiliki efek sinergisme kuat terhadap sel MCF-7 dengan nilai indeks kombinasi sebesar 0,102 pada konsentrasi optimal ekstrak-doksorubisin 17,5  $\mu\text{g/mL}$  – 4 nM (1/8 IC<sub>50</sub> – 1/2 IC<sub>50</sub>) (Failasufi, 2017). Pada penelitian ini, kombinasi ekstrak etanol daun kemangi dan doksorubisin menunjukkan efek sinergisme kuat terhadap sel MCF-7 dengan nilai indeks kombinasi sebesar 0,121 pada konsentrasi optimal ekstrak-doksorubisin 360  $\mu\text{g/mL}$  – 1  $\mu\text{g/mL}$  (1/2 IC<sub>50</sub> – 1/4 IC<sub>50</sub>) dan memiliki indeks kombinasi tertinggi 0,663 pada konsentrasi ekstrak-doksorubisin 90  $\mu\text{g/mL}$  – 1  $\mu\text{g/mL}$  (1/8 IC<sub>50</sub> – 1/4 IC<sub>50</sub>). Aktivitas sinergisme kombinasi ekstrak etanol daun kemangi dan doksorubisin kemungkinan dihasilkan dari dua mekanisme yang berbeda dari kedua senyawa dalam memacu sitotoksik sel MCF-7. Doksorubisin merupakan antrasiklin terutama inhibitor topoisomerase II memutus DNA untai ganda. Antrasiklin mengalami reduksi elektron ke senyawa reaktif yang dapat merusak DNA dan membran sel. Radikal bebas yang terbentuk

dari pengurangan antrasiklin pertamamenyumbangkan elektron ke oksigen untuk membuat superoksida, yang dapat bereaksi dengan sendirinya untuk membuat hidrogen peroksida. Pembelahan hidrogen peroksida menghasilkan radikal hidroksil yang sangat reaktif dan destruktif. Mekanisme ini membutuhkan zat besi sementara antrasiklin merupakan pengikat besi yang ampuh. Kompleks besi antrasiklin dapat berikatan dengan DNA dan bereaksi cepat dengan hidrogen peroksida untuk menghasilkan radikal hidroksil yang dapat memotong DNA (Dipiro *et al.*, 2020). Sedangkan ekstrak etanol daun kemangi diketahui mengandung senyawa flavonoid dan eugenol yang berperan menetralkan radikal bebas dan bersifat antikanker (Hanan, 2014). Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi doksorubisin dan ekstrak etanol daun kemangi memiliki potensi untuk dijadikan agen kokoterapi yang dapat dilihat dari nilai indeks kombinasinya.

**Tabel 4. Indeks Kombinasi Doksorubisin dan Ekstrak Etanol Daun Kemangi**

Konsentrasi		CI	Efek
Ekstrak (µg/mL)	Doksorubisin (µg/mL)		
360	2,00	0,21327	Sinergis kuat
360	1,00	0,12177	Sinergis kuat
360	0,50	0,26330	Sinergis kuat
360	0,25	0,14227	Sinergis kuat
270	2,00	0,41698	Sinergis
270	1,00	0,32325	Sinergis
270	0,50	0,35091	Sinergis
270	0,25	0,14672	Sinergis kuat
180	2,00	0,13252	Sinergis kuat
180	1,00	0,65069	Sinergis
180	0,50	0,25821	Sinergis kuat
180	0,25	0,17024	Sinergis kuat
90	2,00	0,26905	Sinergis kuat
90	1,00	0,66315	Sinergis
90	0,50	0,46081	Sinergis
90	0,25	0,37378	Sinergis



**Gambar 4. Indeks Kombinasi Dokсорubisin dan Ekstrak Etanol Daun Kemangi**



## KESIMPULAN

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kemangi tidak memiliki efektivitas sitotoksik yang ditunjukkan dengan nilai IC<sub>50</sub> yang sangat tinggi yaitu 721,36 µg/mL. Pada uji kombinasi doksorubisin dan ekstrak etanol daun kemangi menunjukkan indeks kombinasi dengan efek sinergisme yang kuat yaitu 0,121 pada konsentrasi optimal ekstrak-doksorubisin 360 µg/mL – 1 µg/mL (1/2 IC<sub>50</sub> – 1/4 IC<sub>50</sub>). Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi doksorubisin dan ekstrak etanol daun kemangi memiliki potensi untuk dijadikan agen kokemoterapi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alfath, C. R., Yulina, V., & Sunnati, . (2013). Antibacterial Effect of Granati fructus Cortex Extracton Streptococcus mutans In Vitro. *Journal of Dentistry Indonesia*, 20(1), 5–8. <https://doi.org/10.14693/jdi.v20i1.126>
- CCRC. (2009a). *Prosedur Tetap Panen Sel*. Cancer Chemoprevention Research Center Fakultas Farmasi UGM, 1–3.
- CCRC. (2009b). *Prosedur Tetap Preparasi Sampel*. Fakultas Farmasi UGM, 1–3.
- CCRC. (2010). *Prosedur Tetap Uji Kombinasi dengan Agen Kemoterapi*. Cancer Chemoprevention Research Center Fakultas Farmasi UGM, 6–9.
- CCRC. (2013). *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik MTT*. Uji Sitotoksik MTT, 6–9.
- Chapdelaine, J. M. (2011). MTT reduction - a tetrazolium-based colorimetric assay for cell survival and proliferation. *Molecular Devices*, 1–6.
- Dipiro, J., Yee, G., Haines, M., & Nolin, T. (2020). *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*. [www.mhprofessional.com](http://www.mhprofessional.com).
- Doyle, A., & Griffiths, J. B. (2000). *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. <https://www.wiley.com/en-sg/Cell+and+Tissue+Culture+for+Medical+Research-p-9780471852131>
- Failasufi, H. (2017). Aktivitas Sitotoksik Kombinasi Ekstrak Etanol Biji Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Doksorubisin terhadap Sel Kanker MCF-7. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Hanan, A. (2014). *Rahasia Kemangi*. 5–9. [poltekkes-malang.ac.id/index.php/EN/cetak/310](http://poltekkes-malang.ac.id/index.php/EN/cetak/310)
- Husna, T. (2018). Pengaruh Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum*) terhadap Sel MCF-7 dan Sel T47D. *Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah, Surakarta*, 1(18), 14–18. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Hutagaol, S. (2012). Efek Kombinasi Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Dengan Doksorubisin Terhadap Penekanan Ekspresi Siklin D1 Dan Bcl-2 Pada Sel Kanker Payudara. *Thesis*. Universitas Sumatera Utara
- Imai, Y., Ishikawa, E., Asada, S., & Sugimoto, Y. (2005). Estrogen-mediated post transcriptional down-regulation of breast cancer resistance protein/ABCG2. *Cancer Research*, 65(2), 596–604.
- Indrayanto, G., Putra, G. S., & Suhud, F. (2021). Validation of in-vitro bioassay methods: Application in herbal drug research. In *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology* (1st ed., Vol. 46). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.podrm.2020.07.005>

- Manikandan, P., Vidjaya Letchoumy, P., Prathiba, D., & Nagini, S. (2008). Combinatorial chemopreventive effect of *Azadirachta indica* and *Ocimum sanctum* on oxidant-antioxidant status, cell proliferation, apoptosis and angiogenesis in a rat forestomach carcinogenesis model. *Singapore Medical Journal*, 49 (10), 814–822.
- Pangribowo, S. (2019). Beban Kanker di Indonesia. *Pusat Data Dan Informasi Kesehatan Kementerian Kesehatan RI*, 1–16.
- Putri, A. (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.
- Rusmiati, & Tri Endarti, A. (2021). Pengaruh Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Pisang Merah (*Musa acuminata* Colla) dan Doxorubicin terhadap Ekspresi Superoksida Dismutase (SOD) dan Metastasis Sel Kanker Payudara. *Repository*. <http://repository.ub.ac.id/id/eprint/185523/>
- Saifudin, A. (2014). Senyawa Alam Metabolit Sekunder. In *Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents* (Vol. 7, Issue 2).
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>