

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kanker

Kanker merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan adanya pembelahan sel yang tidak normal, cepat, dan tidak terkendali. Pertumbuhan sel kanker yang tidak terkendali akibat adanya kerusakan DNA dari sel normal. Adanya kerusakan DNA mengakibatkan mutasi di gen vital yang mengontrol pembelahan sel (Depkes RI, 2007). Sel normal dapat menjadi sel kanker jika ada mutasi pada DNA, seperti mutasi gen supresor tumor p53. Pada keadaan normal protein dari gen p53 akan menghambat proliferasi sel yang mengalami kerusakan DNA, mutasi pada gen p53 menyebabkan sel yang mengalami kerusakan DNA akan melakukan replikasi yang menghasilkan sel-sel dengan kerusakan DNA yang lebih banyak. Replikasi sel-sel kehilangan sejumlah segmen pada kromosom yang berisi beberapa alele, sehingga dapat menyebabkan kehilangan gen supresor tumor lain. Hal tersebut merupakan transformasi akhir menuju keganasan (Yuniarto, 2016). Mutasi dapat terjadi dengan cara spontan (diperoleh) ataupun diwariskan (mutasi germline). Penyebab mutasi antara lain agen fisik maupun agen kimia yang disebut karsinogen. Karsinogen terdiri atas *onkogen kemikan*, *onkogen radiasi*, *onkogen viral*, *onkogen hormonal*, dan *onkogen genetik* (Kumar & Robbins, 2003).

Berdasarkan Hanahan dan Weinberg tahun 2000, Sel kanker memiliki berbagai karakteristik, yaitu:

1. *Growth signal autonomy* : Sel kanker memiliki kemampuan untuk mencukupi kebutuhan sinyal pertumbuhannya sendiri yang diperlukan agar sel tersebut dapat terus membelah (proliferasi).
2. *Evasion growth inhibitory signal* : Sel kanker merupakan sel yang tidak sensitif terhadap sinyal penghambatan pertumbuhan karena adanya mutasi pada beberapa gen (protoonkogen) pada sel kanker.
3. *Evasion of apoptosis signal* : Sel kanker memiliki kemampuan untuk menghindari dari mekanisme apoptosis dengan cara menghambat jalur terjadinya apoptosis di dalam sel.
4. *Unlimited replicative potential* : Sel kanker memiliki kemampuan tidak terbatas untuk mengadakan replikasi yang disebabkan adanya kecacatan dalam regulasi pemendekan telomere.
5. *Angiogenesis (formation of blood vessel)* : sel kanker memiliki kemampuan menginduksi angiogenesis, yaitu pertumbuhan pembuluh darah baru disekitar jaringan kanker. Pembentukan pembuluh darah baru ini diperlukan untuk survival sel kanker dan ekspansi ke bagian lain dari tubuh (metastasis).
6. *Invasion and metastasis* : Sel kanker memiliki kemampuan untuk menginvasi jaringan di sekitarnya dan membentuk anak sebar.

Metastasis pada kanker dapat terjadi melalui berbagai cara yaitu, dimulai dari invasi ke dalam jaringan sekitarnya, sel-sel akan melepaskan diri dari induknya atau bermigrasi dan menginvasi pembuluh darah atau pembuluh limfe terdekat (intravasasi), pembuluh darah atau pembuluh limfe membawa sel tumor ke tempat yang jauh dari asalnya, kemudian sel-sel

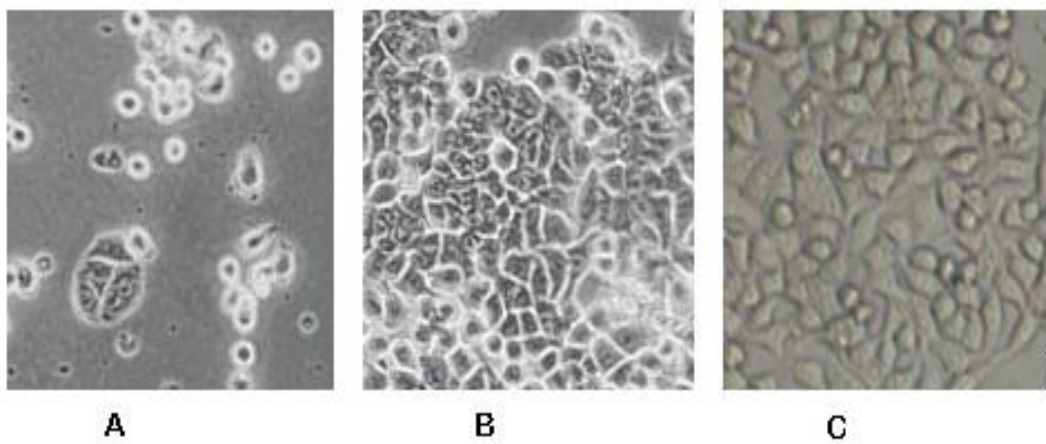
tumor akan keluar dari pembuluh (ekstravasasi) dan akan membentuk koloni sehingga akan membentuk tumor sekunder atau disebut kanker.

B. Kanker Kolon WiDr

Kanker kolon merupakan salah satu jenis kanker yang mempunyai prevalensi yang cukup tinggi. Pada umumnya kanker kolon bermula dari sel epitel kelenjar di lapisan dalam usus yang dapat menyebar ke dalam dinding kolon dan berpotensi untuk metasasis ke kelenjar getah bening (KGB), sehingga kebanyakan kanker kolon dikelompokkan sebagai adenokarsinoma (Kumar & Robbins, 2007). Kanker kolon jarang di temukan sebelum umur 40 tahun kecuali pada orang yang memiliki riwayat kolitis ulseratif atau polipopsi familial. Berdasarkan perkembangannya kanker kolon dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu Kelompok sporadik sebesar 70%, kelompok familial sebesar 20%, kelompok yang diturunkan (inherediter) kurang dari 10% kasus kanker kolon (Price & Wilson, 2005).

Salah satu model sel kanker kolon yang banyak digunakan dalam penelitian adalah sel kanker kolon WiDr. Sel WiDr berasal dari sel kanker kolon manusia yang diisolasi dari kolon wanita umur 78 tahun dan merupakan turunan dari sel kanker kolon yang lain yaitu sel HT-29 (Chen, *et al.*, 1987). Sel WiDr memproduksi antigen karsinoembrionik dan membutuhkan rentang waktu sekitar 15 jam untuk menyelesaikan 1 daur sel. Adanya ekspresi siklooksigenase-2 (COX-2) yang tinggi merupakan karakteristik dari sel WiDr. Ekspresi siklooksigenase-2 (COX-2) yang tinggi dapat memicu proliferasi sel WiDr (Palozza, *et al.*, 2005). Pada sel WiDr, terjadi mutasi p53

pada posisi 273 yang mengakibatkan terjadinya perubahan residu arginin menjadi histidin (Noghuci , *et al.*, 1979) sedangkan p21 pada sel WiDr yang masih normal memungkinkan untuk terjadinya penghentian daur sel (Liu, *et al.*, 2006). Apoptosis pada sel WiDr dapat terjadi melalui jalur independent p53, diantaranya melalui aktivasi p73 (Levrero, *et al.*, 2000).



Gambar 1. Sel WiDr setelah thawing (A) dan setelah mencapai konfluen (B dan C) (Jansen, *et al.*, 1997).

Sel WiDr memiliki sensitivitas yang rendah terhadap perlakuan dengan 5-fluorouracil (5-FU), agen kemoterapi golongan antimetabolit. Transfeksi pada sel WiDr dengan p53 normal tidak menyebabkan peningkatan sensitivitasnya terhadap 5-FU (Giovannetti, *et al.*, 2007). Resistensi sel WiDr terhadap 5-FU terjadi melalui peningkatan ekspresi enzim timidilat sintetase yang merupakan target penghambatan utama dari 5-FU (Sigmond, *et al.*, 2003). Pada sel WiDr, P-glikoprotein tidak diekspresikan tinggi sehingga kemungkinan terdapat mekanisme lain yang memperantarai resistensi sel WiDr terhadap 5-FU (Jansen, *et al.*, 1997).

C. Sirsak (*Annona muricata* L.)

1. Klasifikasi sirsak

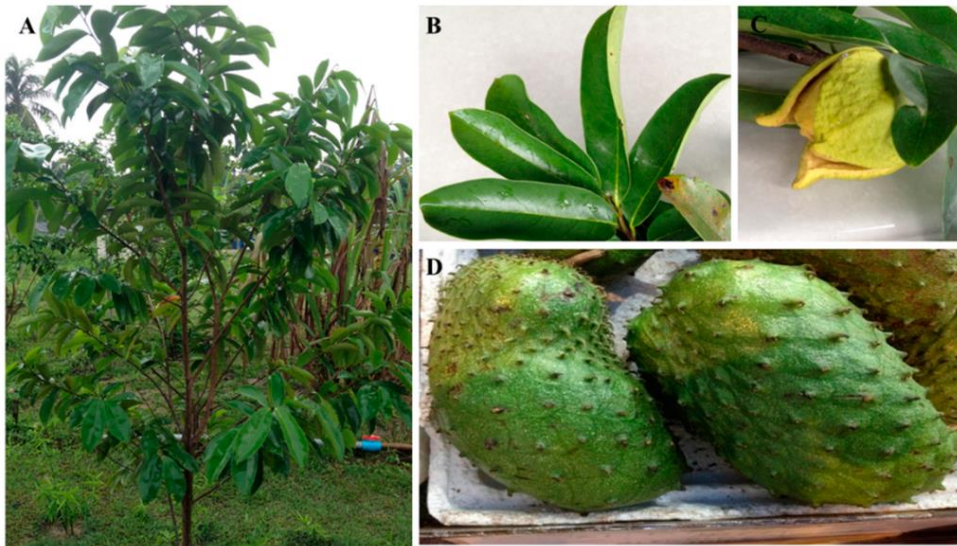
Berdasarkan Syafira dan Apriliana tahun 2016, klasifikasi tumbuhan sirsak (*Annona muricata* L.) yaitu :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Ranales
Famili	: <u>Annonaceae</u>
Genus	: <u>Annona</u>
Spesies	: <i>Annona muricata</i> L.

2. Deskripsi Tanaman

Annona muricata di kenal sebagai sirsak, graviola, dan ganabana yang merupakan famili dari *Annonaceae* yang terdiri dari sekitar 130 genus dan 2.300 spesies (Mishra, 2013). *Annona muricata* adalah pohon dengan tinggi antara 5-8 meter, memiliki daun berwarna hijau tua gelap memiliki bunga berwarna kuning keputih-putihan yang terletak pada batang atau ranting, memiliki buah berbentuk jantung yang diameternya bervariasi antara 15 – 20 cm (De Souza, 2009). *Annona muricata* merupakan tanaman buah yang berasal dari Karibia, Amerika Tengah, dan Amerika Selatan (Patel & Patel, 2016). *Annona muricata* sebagian besar hidup di daerah tropis dan subtropis di belahan dunia. Sebagian besar masyarakat di Afrika dan Amerika memanfaatkan bagian *Annona muricata* sebagai pengobatan tradisional mereka (Adewole & Caxton, 2006). Di Indonesia

tanaman *Annona muricata* tumbuh pada daerah dengan ketinggian kurang dari 1000 meter di atas permukaan air laut. Sirsak dapat tumbuh pada semua jenis tanah dengan derajat keasaman (pH) 5-7 (Sunarjono , 2005).



Gambar 2 (A) *Annona muricata* L.; (B) Daun; (C) Bunga; (D) Buah (Moghadamtousi , et al., 2015)

3. Kandungan Kimia dan manfaat

Sejumlah penelitian telah membuktikan bahwa *Annona muricata* memiliki manfaat sebagai antikanker, antikonvulsan, antijamur, antirematik, antibakteri, antimalaria dan antiparasit (Pieme, et al., 2014). Daun sirsak (*Annona muricata* L.) juga telah terbukti memiliki aktivitas sitotoksik dalam melawan kanker prostat PC-3, kanker paru A-549, kanker pankreas PACA-2, kanker kolon HT-29, dan karsinoma MCF-7 (Patel & Patel, 2016). Pada pemeriksaan fitokimia di dalam daun *Annona muricata* menunjukkan adanya berbagai senyawa antara lain alkaloid, minyak essensial dan *acetogenins*. Alkaloid memiliki kandungan *retikulin E*, *coclaurine*, *coreximine*, *atherosperminine*, *stepharine*, *anomuricine*,

anomurine dan *acetogenins* memiliki kandungan zat anti kanker yang dapat membunuh sel-sel kanker tanpa mengganggu sel-sel sehat dalam tubuh. Pada pemeriksaan fitokimia *annonaceous acetogenin* mengandung poliketida. *Acetogenin* merupakan derivat rantai panjang asam lemak (C32 atau C34) dan asam carboxylic terminal dikombinasikan dengan 2 unit propanolol pada posisi C2. *Annonaceous acetogenin* terdiri dari berbagai senyawa antara lain *annomonicin*, *annohexocin*, *annomuricatin A & B*, *annomuricin A thru E*, *annocatalin*, *annonacin*, *annonacinone*, *muricatocin A thru C*, *murihexocin A thru C*, *gigantetrocin*, *muracin A thru G*, *muricin I*, *murisolin*, *robustocin*, *solamin* (Pieme, et al., 2014).

Berdasarkan *Nasional Institute of Health* (NIH) bahwa *annonaceous acetogenins* dapat secara selektif menghambat pertumbuhan sel kanker yang resisten terhadap kemoterapi (Putra, 2012). *Acetogenins* memiliki beberapa mekanisme antikanker, yaitu

- a. *Oksidase* dari NADH di *membrane plasma* pada sel kanker di hambat oleh *acetogenins*.
- b. Menghambat produksi ATP dengan mengganggu komple I dalam system *transport* electron di mitokondria sehingga menghambat pertumbuhan sel kanker.
- c. Sel kanker yang *multidrug resistant* akan dihambat oleh *acetogenins*.

D. Migrasi Sel

Migrasi sel adalah perpindahan sel dalam substrat seperti membran basal atau serat matrik ekstraseluler. Migrasi sel berperan penting dalam berbagai

jenis fenomena biologis. Pada tumor, sel – sel mudah bergerak dari masa tumor primernya dan mampu membentuk koloni baru ditempat lain dalam tubuh karena kemampuan invasi dan metastasis yang dimilikinya. Migrasi sel diawali dengan penonjolan membran sel membentuk lamellipodia. Sel kanker dapat bergerak secara perlahan melalui seratmatriks ekstraselular (ECM) ke pembuluh darah pada tumor primer menggunakan lamellipodia. Terdapat banyak jalur yang memerantai migrasi sel. Jalur mitogen – activated protein kinase (MAPK) signaling merupakan salah satu jalur yang mempengaruhi regulasi migrasi sel (Hasanah, 2018)

E. Ekstraksi dan Maserasi

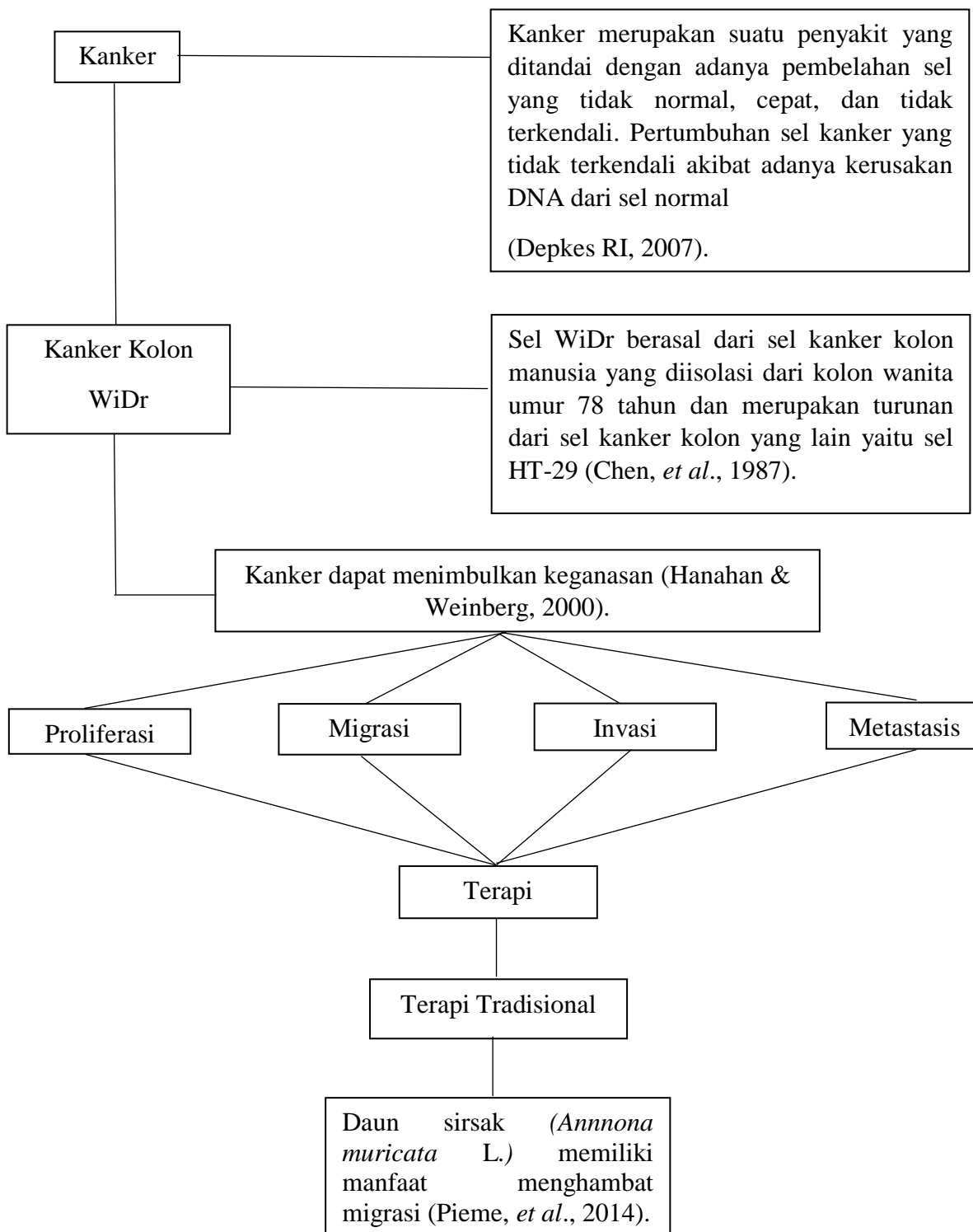
Ekstraksi adalah suatu metode pemisahan zat terlarut dengan pelarutnya berdasarkan titik didih pelarut (Damanik, *et al.*, 2014) dan bertujuan untuk mengambil senyawa tertentu pada tumbuhan yang sudah diberi pelarut. Berdasarkan *Cancer Chemoprevention Research Center* tahun 2014, proses ekstraksi didahului dengan pemilihan bahan simplisia dilanjutkan dengan proses preparasi tanaman berupa pencucian, pengeringan, pemotongan dan penyerbukan dari bahan simplisia. Pemilihan pelarut pada proses ekstraksi harus sesuai dengan tingkat kepolaran golongan senyawa yang ingin diambil dan pelarut yang digunakan tidak toksik apabila penelitian yang dilakukan bertujuan untuk pengobatan. Pelarut yang sering digunakan adalah air, etanol, atau campuran air-etanol. Pemilihan metode ekstraksi terbagi atas 3 cara, yaitu perkolasi, soxhletasi, maserasi. Berdasarkan Farmakope Indonesia tahun 1995, Maserasi adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi bahan

simplisia dengan merendam menggunakan pelarut bukan air (pelarut nonpolar) misalnya etanol selama periode waktu tertentu.

F. Uji *Scratch Wound Healing*

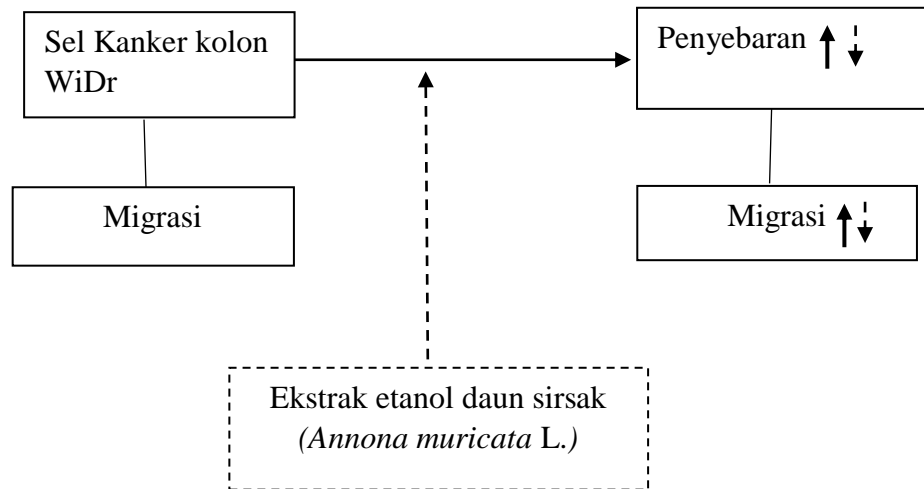
Scratch Assay merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mempelajari kemampuan sel untuk bermigrasi secara *in vitro*. Pengujian migrasi menggunakan metode *scratch assay* biasanya dilakukan dengan cara menggores sel monolayer menggunakan *yellow tip steril* hingga terbentuk goresan dengan ukuran tertentu, kemudian mengamati sel dengan mengambil gambar secara berkala selama proses migrasi sel berlangsung. Langkah selanjutnya adalah membandingkan gambar untuk mengukur tingkat migrasi sel. Prinsip *in vitro scratch assay* diadopsi dari proses migrasi sel selama penyembuhan luka secara *in vivo*. Waktu yang diperlukan untuk pengamatan sel dalam *in vitro scratch assay* biasanya selama beberapa jam sampai satu malam. Keuntungan menggunakan metode *in vitro scratch assay* biaya yang dikeluarkan murah dan mudah untuk dilakukan (Liang, *et al.*, 2007).

G. Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

H. Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

Keterangan :

—— Tidak diterapi

----- Diterapi

I. Hipotesis

H₀ : Tidak ada pengaruh ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dalam menghambat migrasi sel kanker kolon WiDr.

H₁ : Ada pengaruh ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dalam menghambat migrasi sel kanker kolon WiDr.