

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kanker Hepar

1. Pengertian

Kanker digambarkan dengan pembelahan sel yang tidak terkendali. Hal tersebut disebabkan oleh kerusakan DNA sehingga terjadi mutasi gen vital yang mengontrol pembelahan sel. Diferensiasi dan pertumbuhan sel diatur oleh protoonkogen dan tumor supresor gen yang terdapat pada semua kromosom dalam jumlah banyak. Protoonkogen yang telah mengalami perubahan dan menimbulkan kanker disebut onkogen (Kumar, 2005).

Hepatocellular carcinoma (HCC) merupakan salah satu keganasan terbanyak pada dewasa yang berhubungan dengan infeksi hepatitis B dan hepatitis C (Hamilton, 2013). HCC memiliki sifat asimtomatik, gejala mulai muncul saat stadium lanjut (Satir, 2007). Keluhan berupa rasa tidak nyaman pada abdomen dan distensi abdomen. Gejala lain dapat berupa penurunan berat badan, pendarahan gastrointestinal, hilangnya nafsu makan dan *jaundice*/ kulit berwarna kuning (Hamilton *et al.*, 2013).

Deteksi dini kanker hepar ganas dapat melalui radiologi, laboratorium, dan patologi. Radiologi dapat berupa ultrasonografi (USG), CT scan, *Magnetic Resonance Imaging* (MRI), angiografi, *Positron Emission Topography* (PET), serta skintigrafi (Richard *et al.*, 2001). Pemeriksaan laboratorium dilakukan dengan pemeriksaan *tumor marker* yaitu AFP (*Alphafetoprotein*),

sedangkan patologi dapat dilakukan asumsi biopsi jarum halus (Soresi *et al.*, 2003).

2. Epidemiologi

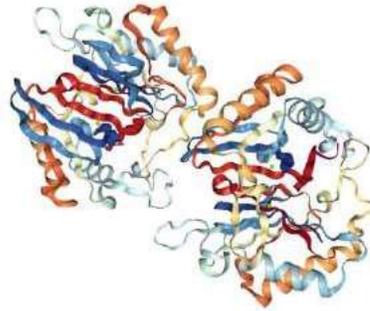
Hepatocellular carcinoma (HCC) adalah tumor primer utama hepar yang mewakili sekitar 85% -90% dari keganasan hepar primer, menduduki peringkat sebagai kanker yang paling umum kelima dan ketujuh pada laki-laki dan perempuan dan merupakan penyebab ketiga utama kematian terkait neoplasma di seluruh dunia (Lafaro *et al.*, 2015). Kanker jenis ini menjadi penyebab kematian paling umum kedua akibat kanker di seluruh dunia, diperkirakan bertanggung jawab pada 746.000 kematian di tahun 2012 (9,1% dari total) (IARC, 2012).

3. Etiologi

Kejadian HCC paling banyak berhubungan dengan infeksi HBV dan HCV. Infeksi tersebut menyebabkan aktivasi mutasi gen supresor tumor dan menginisiasi hepatokarsinogenesis (Hamilton, 2013). Mutasi Ras dapat menaikkan jumlah Myc sebagai bentuk abnormalitas genetik (Peters *et al.*, 1997). Insidensi hepatoseluler yang berkaitan dengan aflatoksin berhubungan dengan mutasi tumor supresor gen yaitu p53 (King, 2000).

B. c-MYC

c-MYC merupakan faktor transkripsi pleiotropik yang dikenal untuk mengontrol siklus perkembangan sel, proliferasi, pertumbuhan, adhesi, diferensiasi, apoptosis dan metabolisme (Whitfield, 2012; Meyer, 2008; Miller, 2012).



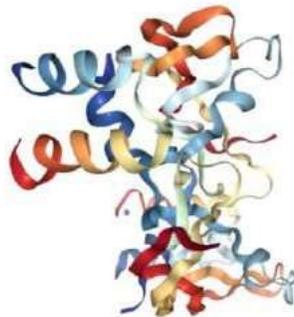
Gambar 1. Struktur 3D Protein c-Myc

Faktor transkripsi c-Myc berhubungan erat dengan proliferasi hepatosit yang terjadi selama regenerasi hepar. Selama proses ini, hepatosit diam serentak memasuki siklus sel dan menjalani satu, dua atau lebih putaran replikasi untuk memulihkan massa hepar. Sebagai gen awal, c-Myc dianggap sebagai faktor kunci dalam respon transkripsi yang mengarah pada transisi hepatosit dari G0 / G1 ke fase S. c-Myc juga terlokalisasi dalam nukleus pada hepatosit janin yang berkembangbiak. Bukti ini menunjukkan bahwa lokalisasi c-Myc diubah dalam proliferasi sel, sementara penyerapan dalam nukleolus mencegah aktivasi atau represi aktivasi c-Myc dari target gen penting yang terlibat dalam proliferasi dan pertumbuhan sel hepar (Sanders, 2005).

C. VEGF

VEGF merupakan sel spesifik peptida mitogenik endotel yang memainkan peran kunci dalam vaskulogenesis, angiogenesis dan juga merangsang permeabilitas pembuluh darah yang menyebabkan peradangan (Lee *et al.*, 2008). Selain perannya dalam mengatur proliferasi endotel sel, migrasi, dan kelangsungan hidup sel,

reseptor VEGF juga terletak pada banyak sel yang berbeda dan mengatur kelangsungan hidup sel dan fungsi (Sasahira *et al.*, 2013). VEGFRs reseptor khas tirosine kinase (TKRs) membawa domain ekstraseluler untuk ikatan ligan, domain transmembran, domain sitoplasmik dan domain tirosine kinase (Shibuya, 1995).



Gambar 2. Struktur 3D Protein VEGF

D. Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

1. Klasifikasi

Bandotan merupakan tanaman herbal tahunan yang termasuk suku *Eupatoriae*. Tanaman ini berasal dari Amerika, menyebar ke berbagai bagian tropis dan subtropis di dunia (Nasrin, 2013).

Berikut merupakan klasifikasi bandotan (Janarthanam, 2016):

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Asterales</i>
Famili	: <i>Asteraceae</i>

Genus : *Ageratum*

Spesies : *Ageratum conyzoides* (L.)



Gambar 3. Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Bandotan merupakan tanaman perkebunan dan tanaman liar yang digembalakan. Tanaman ini merupakan tanaman tahunan yang dapat ditemukan di daerah tropis dan subtropis sistem lahan kering tadah hujan atau irigasi (Holm *et al.*, 1977).

2. Morfologi

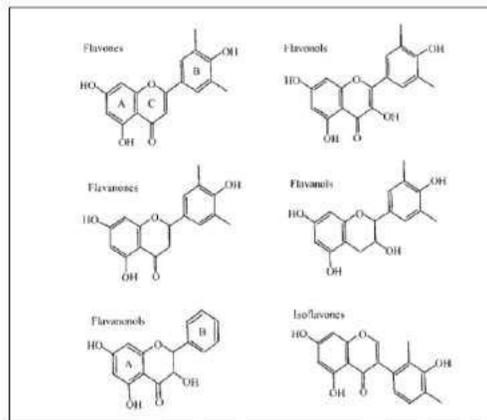
Ageratum conyzoides L., adalah tanaman tropis yang sangat umum di Afrika Barat dan beberapa bagian Asia dan Amerika Selatan. Bandotan dapat mencapai ketinggian 1 m. Batang dan daun ditutupi dengan rambut putih halus, daun bulat telur dan panjangnya mencapai 7,5 cm. Bunga dapat berwarna ungu hingga putih dengan ukuran 6 mm dan merupakan bunga majemuk (*inflorescences*). Buah dari tanaman ini memiliki tipe *achene* yang artinya memiliki biji terpisah dengan kulit buah dan dinding buah, misalnya seperti bunga matahari (Marks, 1986).

3. Manfaat

Ekstrak dan metabolit dari tanaman ini banyak digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai pencahar, analgesik dan sebagai tonik jantung (Tandon *et al.*, 1994). Obat herbal dari daun bandotan telah digunakan dalam pengobatan tekanan darah tinggi, demam, diabetes, radang paru-paru dan berbagai penyakit menular (Xuan *et al.*, 2004).

4. Kandungan Kimia

Herba bandotan dilaporkan mengandung alkaloid, resin, saponin, tanin, glikosida dan flavonoid (Kamboj *et al.*, 2008). Flavonoid merupakan metabolit sekunder senyawa polifenol dengan struktur *phenylbenzopyrone* (C₆C₃C₆) yang dikategorikan berdasarkan tingkat kejenuhannya yaitu flavon, flavanol, flavanon, isoflavon dan flavanolol (Ren, 2003). Flavonoid menunjukkan beberapa efek biologis seperti antiinflamasi, antitumor dan pelindung sistem saraf (Meiyanto, 2012).



Gambar 4. Macam- macam Flavonoid (Ren, 2003)

E. Ekstraksi dan Fraksinasi

1. Ekstraksi

Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh melalui ekstraksi senyawa aktif simplisia nabati maupun hewani menggunakan pelarut yang sesuai. Prinsip ekstraksi adalah perpindahan senyawa dari simplisia ke dalam pelarut melalui tekanan antarmuka sehingga pelarut berdifusi masuk ke dalam simplisia (Depkes RI, 2000).

Maserasi adalah proses pengambilan ekstrak simplisia dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar. Pengadukan dilakukan secara kontinyu. Remaserasi merupakan tahap lanjutan maserasi, dilakukan penambahan pelarut setelah penyaringan pertama (Depkes RI, 2000).

2. Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan sebagai tahap pemisahan hasil ekstraksi menjadi beberapa fraksi berdasarkan kemiripan kepolaran maupun ukuran molekul senyawanya. Metode fraksinasi dapat dilakukan dengan pemisahan dua fase yaitu ekstraksi cair-cair, kromatografi kolom, kromatografi vakum cair, *size-exclusion chromatography* (SEC) dan *solid-phase extraction* (SPE) (Sarker *et al.*, 2005).

F. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dikembangkan oleh Izmailoff dan Schraiber pada tahun 1983. Prinsip KLT adalah elusi, yaitu perpindahan analit pada fase diam akibat pengaruh fase gerak. Semakin kecil ukuran partikel fase diam, maka efisiensi

dan resolusinya akan semakin baik (Gritter, 1991). Metode ini menggunakan adsorben yang disalutkan pada suatu lempeng kaca (fase diam) dan pengembangan kromatogram ketika fase gerak melewati adsorben. Kelebihan metode KLT adalah murah, tidak memerlukan waktu lama untuk analisis dan memerlukan jumlah totalan yang sedikit (Stahl, 1985)

Bercak pemisahan KLT seringkali tidak berwarna sehingga perlu dilakukan penyemprotan, pencacahan radioaktif dan fluoresensi sinar ultraviolet agar bercak dapat terlihat dengan jelas (Rohman, 2007). Pada metode KLT, penentuan bercak-bercak noda dapat diinterpretasikan dengan nilai Rf (*Retention Factor*).

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa terlarut (cm)}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut (cm)}}$$

Nilai Rf dapat dipengaruhi oleh struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan, sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya, tebal lapisan penyerap, pelarut, derajat kemurnian fase gerak, derajat kejenuhan dari uap dalam bejana, suhu dan kesetimbangan. Rf berkisar antara berkisar antara 0,1 – 0,99 (Depkes RI, 1979).

G. Uji *In Vivo*

1. Immunohistochemistry

Immunohistochemistry (IHC) adalah metode tambahan yang penting bagi patologis karena secara khusus memvisualisasikan distribusi dan jumlah molekul tertentu dalam jaringan menggunakan reaksi antigen-antibodi spesifik. Aplikasi IHC baru-baru ini diperluas secara eksplosif karena semakin banyak molekul yang terlibat dalam patogenesis, diagnosis, dan pengobatan penyakit

yang ditemukan (Schacht, 2015). IHC telah menjadi alat yang sangat diperlukan untuk penelitian dasar dalam menjelaskan patofisiologi penyakit. Sehubungan dengan ini, IHC juga berfungsi sebagai untuk validasi dalam penemuan biomarker (Yaziji, 2006).

Prosedur imunohistokimia termasuk penanganan yang tepat dari spesimen, fiksasi yang tepat, persiapan blok parafin, pengambilan antigen, seleksi dan persiapan antibodi dan reagen, inkubasi, mencuci, dan *counterstaining/* cat penutup (O'Hurley *et al.*, 2014). Pewarnaan memberikan hasil kontras pada kromogen untuk membedakan sinyal target. Selain itu, ia memiliki peran yang lebih penting terutama bagi ahli patologi, karena memungkinkan peneliti untuk mengidentifikasi jenis sel dan lokalisasi yang tepat dari imunopositif. *Haematoxylin* adalah counterstain yang paling sering digunakan, meskipun berbagai warna sekarang digunakan sebagai teknik kemajuan IHC multipleks (Stevanovic *et al.*, 2013).

2. *Haematoxylin-Eosin*

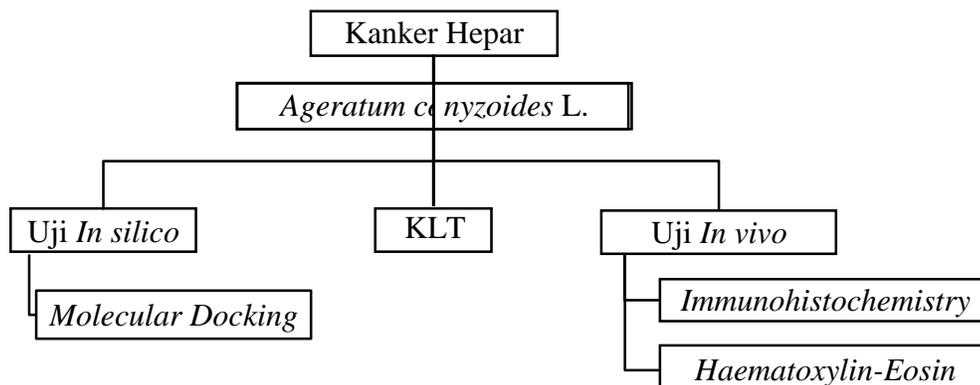
Hematoksilin merupakan teknik pewarnaan pada laboratorium histopatologi dan *histochemistry*. Teknik *Haematoxylin-Erlich* sering digunakan untuk mendemonstrasikan struktur jaringan umum dengan pewarnaan biru, merah muda dan merah sehingga dapat membedakan sel-sel ganas dan non ganas untuk dijadikan pertimbangan mudah dalam penegakan diagnosis. *Haematoxylin* diperoleh dari kayu log *Haematoxylon campechianum*. *Haematoxylin* memiliki sifat pewarnaan apabila teroksidasi

melalui proses pematangan untuk menghasilkan *haematein*. *Haematein* kemudian dikombinasikan dengan bahan kimia yang disebut mordan (Avwioro, 2010). Proses oksidasi *haematoxylin* menjadi *haematein* merupakan pewarnaan aktif alami dan artifisial (Culling, 1974).

H. Molecular Docking

Molecular docking merupakan metode komputasi dengan model penambatan protein, enzim, maupun reseptor secara kompetitif menggunakan *cavity* pada sisi aktif protein. *Pose* memiliki fungsi untuk menentukan interaksi antara ligan dengan protein target, sedangkan skor *docking* menentukan afinitas interaksi ligan terhadap protein (Claverie dan Notradame, 2006). Interaksi ligan dan protein didasarkan pada kecocokan (*fit*) bentuk dan volume molekul ligan dan sisi aktif protein. Kecocokan molekul ligan dan sisi aktif dapat digambarkan dengan kecocokan lubang kunci dengan anak kunci (Motiejunas dan Wade, 2006).

I. Kerangka Konsep



Gambar 5. Skema Kerangka Konsep

J. Hipotesis

1. Herba bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) mengandung senyawa golongan flavonoid.
2. Senyawa nobiletin pada fraksi kloroform herba bandotan dan 5-Fluorourasil berpotensi menghambat ekspresi protein VEGF berdasarkan *molecular docking*.
3. Pemberian fraksi kloroform herba bandotan memiliki aktivitas kemopreventif lebih baik terhadap ekspresi protein VEGF pada tikus galur *Sprague dawley* terinduksi DMBA.
4. Ekspresi protein VEGF ditunjukkan dengan warna coklat pada preparat jaringan hepar tikus *Sprague dawley* terinduksi DMBA.