

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kanker dan Kanker Kolon

Kanker adalah suatu penyakit sel dengan ciri gangguan atau kegagalan pengaturan multiplikasi dan fungsi homeostatis lainnya pada organisme multiseluler (Ganiswara dan Nafrialdi, 2005). Kanker merupakan penyakit yang disebabkan oleh ketidakaturan kerja hormon sehingga mengakibatkan jaringan baru yang abnormal dan bersifat ganas (Tjay dan Rahardja, 2002). Kanker kolon (*Carcinoma colecteral*) adalah suatu penyakit yang berasal dari jaringan kolon (bagian terpanjang dari usus besar) dan merupakan 75% kanker yang sering terjadi di usus besar. Secara umum dinyatakan untuk perkembangan kanker kolon merupakan interaksi beberapa faktor yakni faktor lingkungan dan faktor genetik. Faktor lingkungan yang *multiple* bereaksi pada predisposisi genetik atau defek yang didapat sehingga berkembang menjadi kanker kolon (Robbins, 2005). Terdapat 3 kelompok kanker kolektral berdasarkan perkembangannya yaitu : 1) kelompok yang diturunkan (*inherited*) yang mencakup kurang dari 10% dari kasus kanker kolektral; 2) kelompok sporadik, yang mencakup sekitar 70%; 3) kelompok familial, mencakup 20%.

Kelompok yang diturunkan adalah mereka yang dilahirkan sudah dengan mutasi *germline* pada salah satu *allele* dan terjadi mutasi somatik pada *allele* yang lain. Contohnya adalah FAP (*familial adenomatous polyposis*) dan HNPCC (*hereditary non-polyposis colecteral cancer*). HNPCC terdapat pada sekitar 5% dari kanker kolektral. Kelompok sporadik membutuhkan dua mutasi somatik, satu pada masing *allele*-nya (Schwartz, 2000). Terdapat dua model perjalanan perkembangan kanker kolektral (karsinogenesis) yaitu LOH (*loss of heterozygosity*) dan RER

(*replication error*). Model LOH mencakup mutasi tumor gen supresor meliputi gen APC, DCC, dan p53 serta aktivasi onkogen yaitu K-ras. Model ini contohnya adalah perkembangan polip menjadi karsinoma. Sementara model RER karena adanya mutasi gen hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2. Model terakhir ini contohnya adalah perkembangan HNPCC. Pada bentuk sporadik, 80% berkembang lewat model LOH dan 20% berkembang lewat model RER (Robbins, 2005).

B. Ekstraksi dan Maserasi

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewan menurut cara yang cocok, di luar matahari langsung (Anonim, 1979). Metode dasar penyarian adalah maserasi, perlokasi, dan soxhletasi. Pemilihan terhadap ketiga metode tersebut disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik (Anonim, 1989).

Maserasi adalah salah satu metode dari ekstraksi dimana terjadi proses penetrasi pelarut ke dalam sel melalui dinding sel. Pelarut akan melarutkan zat aktif, kemudian membawanya keluar sel berdasarkan perbedaan konsentrasi zat aktif di dalam dan diluar sel. Pelarut yang keluar membawa zat aktif, akan digantikan oleh pelarut baru. Hal tersebut terjadi berulang-ulang hingga tercapai kesetimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel. Untuk mengekstraksi senyawa yang terkandung dalam tanaman diperlukan pelarut yang sesuai.

Metode maserasi digunakan karena senyawa yang diduga merupakan agen kemopreventif termasuk senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan dan akan rusak apabila dilakukan pemanasan. Keuntungan dari metode maserasi apabila dibandingkan dengan metode perkolasi adalah membutuhkan unit alat yang

sederhana, biaya operasional yang relatif rendah, prosesnya relatif hemat penyari dan tanpa pemanasan (Anonim, 1989).

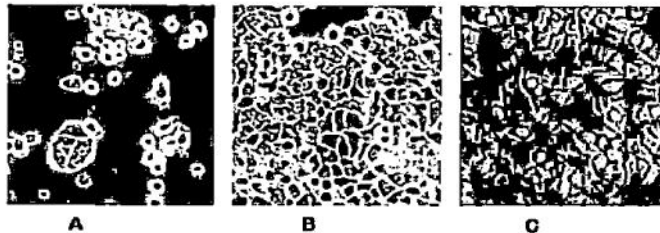
C. Uji Sitotoksik

Dua metode yang umum digunakan dalam uji sitotoksik adalah metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan biru tripan (*trypan blue*) dan metode MTT *assay* (Junedy, 2005). Uji MTT *assay* merupakan salah satu metode yang digunakan dalam uji sitotoksik (Doyle dan Griffith, 2000). Uji sitotoksik dilakukan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan nilai konsentrasi yang dibutuhkan untuk dapat menghambat 50% pertumbuhan sel dan juga merupakan parameter ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai IC_{50} digunakan sebagai acuan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel (Meiyanto, 2002). Semakin tinggi harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Melannisa, 2004). Hasil dari uji sitotoksitas dapat memberikan informasi persen sel yang mampu bertahan hidup, sedangkan pada organ target memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Nurrochmad, 2001).

D. Sel WiDr

Sel WiDr (Gambar 1) merupakan sel kanker kolon manusia yang diisolasi dari kolon seorang wanita berusia 78 tahun. Sel WiDr merupakan turunan sel kanker lain yang yakni sel HT-29 (Chen *et al.*, 1987). Sel WiDr memproduksi antigen karsinoembrionik dan memerlukan rentang waktu sekitar 15 jam untuk dapat menyelesaikan 1 daur sel. Salah satu karakteristik dari sel WiDr ini adalah ekspresi siklooksigenase-2 (COX-2) yang tinggi sehingga dapat memacu proliferasi sel WiDr (Palozza *et al.*, 2005). Pada sel WiDr, terjadi mutasi p53 pada posisi 273 sehingga

terjadi perubahan residu arginin menjadi histidin (Noguchi *et al.*, 1979). Namun, p21 pada sel WiDr yang masih normal memungkinkan terjadinya penghentian daur sel (Liu *et al.*, 2006).



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

WiDr merupakan salah satu sel yang memiliki sensitivitas yang rendah terhadap perlakuan dengan 5-fluorouracil (5-FU). Transfeksi WiDr dengan p53 normal tidak menyebabkan peningkatan ekspresi enzim timidilat sintetase yang merupakan target penghambatan utama dari 5-FU (Sigmond *et al.*, 2006). P-glikoprotein (Pgp) pada sel WiDr tidak diekspresikan tinggi sehingga kemungkinan terdapat mekanisme lain yang memperantarai resistensi WiDr terhadap 5-FU (Jansen, 1997).

E. Deskripsi Tanaman

Klasifikasi :

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledone

AnakKelas : Sympetalae

Bangsa : Rubiales

Suku : Rubiaceae



Gambar 2. Buah mengkudu

Marga / genus : *Morinda*

Jenis / spesies : *Morinda citrifolia* L. (Bangun, 2002).

Morfologi tanaman :

Tinggi antara 4-6 m, batang bengkok-bengkok, kasar, memiliki akar tunggang menancap ke dalam. Bunga tumbuh di ketiak daun, berkelamin ganda. Bunga putih harum. Permukaan buah seperti terbagi dalam sel-sel poligonal (segi banyak) yang berbintik-bintik dan berkulit, banyak mengandung air dan berbau busuk. Habitat hidup di dataran rendah sampai pada ketinggian tanah 1500 m di atas permukaan laut. Kandungan kimia berupa skopoletin, rutin, polisakarida, asam askorbat, β -karoten, 1-arginin, proxeronin, proxeroninase, iridoid, asperolusid, iridoid antraknon, asam lemak, kalsium, alizarin, vitamin B, asam amino, glikosida, dan juga glukosa. Khasiat dan kegunaan untuk meningkatkan daya tahan tubuh, menormalkan tekanan darah, melawan tumor dan kanker, menghilangkan rasa sakit, anti-peradangan dan anti-alergi. Proxeronine dalam *Morinda citrifolia* L. diserap oleh tubuh dan diolah menjadi xeronine dengan menggunakan enzim proxeroninase dan serotonin yang ada di dalam tubuh. Xeronine meningkatkan proses respirasi dari sel, nutrisi yang kita konsumsi akan terserap sempurna dan kotoran dari sel akan dikeluarkan dari dalam tubuh sehingga sel-sel yang sakit akan disehatkan. Damnachantal memiliki efek antitoksik serta antibakteri, sedangkan proxeronine berfungsi untuk meregenerasi sel yang rusak pada organ yang hancur karena kanker sehingga pulih kembali. Senyawa yang diduga memiliki efek antikanker adalah damnachantal, proxeronine dan alizarin (Bangun dan Sarwono, 2002).

F. Toksisitas dan *Brine Shrimp Lethality Test*

Toksisitas adalah kemampuan suatu zat untuk dapat menimbulkan keracunan. Uji toksisitas dibedakan menjadi 2 kelompok, yakni khas dan tak khas. Uji toksisitas khas meliputi potensi teratogenik, mutagenik, dan karsinogenik, sedangkan uji toksisitas tak khas meliputi akut, subkronis dan kronis (Donatus, 1990). Uji toksisitas akut dengan hewan uji *Artemia salina* Leach dapat digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah ke uji sitotoksik, karena ada kaitan antara uji toksisitas akut dengan uji sitotoksik jika nilai LC_{50} dari toksisitas akut $<1000 \mu\text{g/ml}$ untuk ekstrak dan $<30 \mu\text{g/ml}$ untuk senyawa (Mayer *et al.*, 1982).

Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode penelitian pendahuluan untuk mengetahui adanya senyawa sitotoksik pada ekstrak tanaman aktif (Mayer *et al.*, 1982). *Artemia* atau *brine shrimp* adalah sejenis udang-udangan primitif yang termasuk dalam filum *arthropoda*. *Artemia* hidup planktonik di perairan dengan kadar garam yang tinggi (antara 15-300 per mil). Suhu yang dikehendaki antara 26°C - 31°C dan pH berkisar antara 7,3-8,4 (Mayer *et al.*, 1982).

G. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah bentuk kromatografi planar yang menggunakan fase diam seragam pada permukaan bidang datar seperti plat. KLT merupakan metode sederhana untuk menentukan ada tidaknya suatu senyawa secara kualitatif maupun kuantitatif. Pada analisis kualitatif, kegunaan KLT adalah untuk mengidentifikasi senyawa dengan melihat nilai R_f yang dibandingkan dengan senyawa pembanding ataupun tabel. Analisis kuantitatif dapat dilakukan dengan 2 cara, yakni dengan metode densitometri dan spektrofotometri (Rohman, 2007).

H. Docking PLANTS

Molecular docking merupakan suatu metode komputasi yang digunakan untuk menggambarkan interaksi antara suatu molekul sebagai ligan dengan suatu reseptor atau protein. *Molecular docking* sebagai salah satu metodologi dalam *structure-based virtual screening*, dimulai pada awal tahun 1980-an. Tujuan dari studi *docking* adalah membuat pemodelan struktur yang akurat dan prediksi aktivitas yang tepat.

Uji *in silico* dikenal sebagai penapisan virtual. Untuk melakukan penapisan senyawa biologis terhadap milyaran senyawa masih sangat sulit, oleh karena itu pendekatan secara virtual menjadi alternatif (Shoichet, 2004). Proses penapisan virtual digunakan untuk membantu menemukan senyawa-senyawa yang kemungkinan besar berpotensi sebagai obat, dengan membutuhkan waktu yang relatif singkat. Jika target telah diketahui, algoritma *docking* dapat digunakan untuk menempatkan kandidat obat ke dalam sisi aktif dari target seperti enzim atau reseptor. Kemudian interaksi senyawa-senyawa yang telah diikat kemudian diurutkan berdasarkan hasil analisis secara komputasi komponen sterik dan elektrostatisnya (Bissantz, 2000).

I. Kerangka Konsep

Kanker merupakan penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel yang abnormal. Kanker kolon adalah kanker yang terjadi pada jaringan kolon yang dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yakni faktor lingkungan dan faktor genetik. Oksidan merupakan salah satu senyawa karsinogen yang mampu mempercepat pertumbuhan sel kanker.

Sel WiDr mengalami mutasi pada onkogen *supresor* p53 yang menyebabkan terinaktivasinya jalur utama kematian sel terprogram (apoptosis) dan menyebabkan

terpeliharanya ketahanan hidup sel-sel tumor sehingga memiliki kemampuan untuk bertahan terhadap kerusakan DNA yang pada akhirnya sel akan mengalami perubahan keganasan.

Pada penelitian sebelumnya, buah mengkudu telah dibuktikan dapat menghambat ataupun membunuh bakteri melalui senyawa alizarin yang dikandungnya. Dengan adanya daya antibakteri pada buah mengkudu dapat diduga bahwa mengkudu memiliki aktivitas antikanker melalui mekanisme perusakan DNA sel dan membantu terjadinya proses apoptosis sel yang mengalami keganasan.

J. Hipotesis

1. Senyawa yang terkandung dalam buah mengkudu diantaranya adalah senyawa antrakuinon, scopoletin, flavonoid.
2. Buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) memiliki memiliki potensi toksisitas terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach).
3. Buah mengkudu berpotensi sebagai agen kemopreventif melalui uji sitotoksik.
4. Senyawa alizarin memiliki ikatan yang kuat dengan protein Bcl-xl.