

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Kanker adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal. Sel-sel kanker akan berkembang dengan pesat, tidak terkendali dan akan terus membelah diri, selanjutnya menyusup ke jaringan sekitarnya (*invasive*) dan terus menyebar melalui jaringan ikatan, darah dan menyerang organ-organ penting serta saraf tulang belakang (Mangan, 2003).

Penyakit kanker masih menjadi masalah kesehatan di dunia. Dalam laporan Badan Kesehatan Dunia (WHO) disebutkan bahwa 12% dari kematian yang terjadi atas 50 juta kematian dalam tahun 1997 disebabkan oleh kanker, dan duapertiga di antaranya berada di negara berkembang. Sekitar 1500 orang setiap hari meninggal karena kanker, di Amerika satu di antara lima kematian disebabkan oleh karena kanker (Sonlimar dkk., 2002).

Kanker bisa menyerang jaringan dalam berbagai organ tubuh, termasuk organ reproduksi wanita. Salah satu di antaranya adalah mulut rahim atau sering disebut dengan kanker serviks (Mardiana, 2004). Kanker serviks telah menjadi penyebab kematian kedua setelah kanker payudara (Longo, 1998).

Dewasa ini penyebab penyakit kanker belum diketahui secara pasti. Beberapa faktor yang diduga menyebabkan penyakit kanker antara lain : keturunan, sinar radiasi/ultraviolet, infeksi menahun, konsumsi obat-obatan yang mengandung hormon, dan pencemaran lingkungan. Gaya hidup modern dewasa

ini juga meningkatkan resiko pertumbuhan kanker, misalnya : kebiasaan merokok, konsumsi minuman keras, banyak makan-makanan berlemak, dan berganti-ganti pasangan seksual (Dalimartha, 2002).

Berbagai cara penyembuhan telah dilakukan untuk melawan kanker seperti pembedahan, penyinaran, kemoterapi, dan imunoterapi. Namun demikian masing-masing cara tersebut mempunyai kelemahan sehingga pengobatan kanker belum memuaskan hingga saat ini (Hoffman, 1999). Penggunaan kemoterapi antikanker belum memberikan hasil optimal karena obat tersebut bekerja tidak spesifik. Masalah lain dalam kemoterapi adalah timbulnya resistensi dari sel kanker terhadap antikanker yang membuat antikanker tersebut tidak sensitif lagi terhadap sel kanker. Dengan demikian usaha menemukan antikanker yang lebih spesifik dan sensitif sangat diperlukan, di antaranya melalui eksplorasi tanaman obat yang diduga berkhasiat sebagai antikanker. Tanaman obat telah lama terbukti merupakan sumber obat baru dengan struktur molekul baru (Sonlimar dkk., 2002).

Berbagai usaha penelitian tanaman obat khususnya tanaman obat yang dapat digunakan sebagai obat antikanker telah dilakukan karena pengobatan kanker dan obat-obatan modern yang umumnya senyawa kimia hasilnya masih jauh dari memuaskan, sehingga banyak orang kembali ke alam (*back to nature*) dengan menggunakan tumbuhan obat untuk mengobati kanker, meskipun tumbuhan tersebut belum diteliti secara laboratorium. Hal tersebut mendorong banyak ahli untuk melakukan penelitian tentang kandungan maupun aktivitas biologis tumbuhan obat untuk kanker tersebut (Mulyadi dkk., 1996).

Senyawa aktif antikanker sangat tersebar luas pada tanaman tingkat tinggi, serta meliputi berbagai golongan senyawa seperti tanin, terpen, flavonoid, alkaloid, saponin, iridoid, lignan, glikosida, kuasinoid dan protein. Kenyataan tersebut mengisyaratkan bahwa masih banyak jenis tanaman yang belum diteliti kandungan senyawa aktif antikankernya (Dwiatmaka, 2000). Salah satu tumbuhan yang dilaporkan berkhasiat sebagai sitotoksik adalah kluwih (Syah, 2005).

Kluwih adalah tumbuhan yang termasuk ke dalam jenis nangka-nangkaan, berupa pohon relatif besar, dengan tinggi pohon bisa mencapai 30 m. Kluwih relatif dikenal luas oleh masyarakat di seluruh kawasan Indonesia, karena menghasilkan buah yang memiliki nilai ekonomi cukup penting, selain nangka dan cempedak. Kluwih termasuk dalam spesies tumbuhan yang berbiji. Secara fitokimia, kluwih adalah penghasil senyawa-senyawa flavonoid, stilben dan 2-arilbenzofuran terprenilasi atau tergeranilasi. Hasil fitokimia yang telah dilakukan, meliputi terhadap bagian daun dan pucuk daun, kayu batang, kulit dan kayu akar, serta ranting (Syah, 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik senyawa yang terkandung dalam kulit batang kluwih (*Artocarpus altilis* Park) terhadap sel HeLa. Dalam jangka panjang diharapkan penelitian ini dapat memberikan informasi yang menunjang penggunaan kulit batang kluwih (*Artocarpus altilis* Park) sebagai obat antikanker.

## **B. Perumusan Masalah**

Perumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Apakah ekstrak metanol kulit batang kluwih (*Artocarpus altilis* Park) mempunyai efek sitotoksik terhadap sel HeLa?
2. Berapakah harga  $IC_{50}$  dari ekstrak metanol kulit batang kluwih (*Artocarpus altilis* Park) terhadap sel HeLa?
3. Apa saja kandungan senyawa dalam ekstrak metanol kulit batang kluwih (*Artocarpus altilis* Park)?

## **C. Tujuan**

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk :

1. Mengetahui efek sitotoksik ekstrak metanol kulit batang kluwih (*Artocarpus altilis* Park) terhadap sel HeLa.
2. Mengetahui harga  $IC_{50}$  ekstrak metanol kulit batang kluwih (*Artocarpus altilis* Park) terhadap sel HeLa.
3. Mengetahui kandungan senyawa dalam ekstrak metanol kulit batang kluwih (*Artocarpus altilis* Park) berdasarkan analisis KLT.

## D. Tinjauan Pustaka

### 1. Tanaman Kluwih (*Artocarpus altilis* Park)

#### a. Sistematika Tanaman.

Kedudukan dari tanaman kluwih (*Artocarpus altilis* Park) dalam taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut :

Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Subclassis	: Monoclamydea /Apetalae
Ordo	: Urticales
Famili	: Moraceae
Genus	: Artocarpus
Spesies	: <i>Artocarpus altilis</i> Park

(Hutapea, 2000).

#### b. Nama Daerah

Sumatera	: <i>Gomu</i> (Melayu), <i>Kulu</i> (Aceh), <i>Kulur</i> (Batak), <i>Kalawi</i> (Minangkabau), <i>Keluwih</i> (Lampung).
Jawa/Madura	: <i>Kelewih</i> (Sunda), <i>Kaluwih</i> (Jawa), <i>Kolor</i> (Madura).
Bali	: <i>Kalewih</i> (Bali).
Nusa Tenggara	: <i>Kolo</i> (Bima), <i>Lakuf</i> (Timor).
Sulawesi	: <i>Gamasi</i> (Makassar), <i>Kuloro</i> (Selayar), <i>Ulo</i> (Bugis).
Maluku	: <i>Limes</i> , <i>Umasi</i> (Seram), <i>Dolai</i> (Halmahera).

(Hutapea, 2000).

c. Morfologi Tumbuhan

Tanaman kluwih (*Artocarpus altilis* Park) termasuk tanaman tingkat tinggi, mempunyai pohon dengan tinggi 10-25 m. Batang tegak, bulat, percabangan simpodial, bergetah, permukaan kasar, berwarna coklat. Daun tunggal, berseling, lonjong, ujung runcing, pangkal meruncing, tepi bertoreh, panjang 50-70 cm, lebar 25-50 cm, pertulangan menyirip, tebal, permukaan kasar hijau. Bunga tunggal, berumah satu di ketiak daun, bunga jantan silindris, panjang 10-20 cm, berwarna kuning, bunga betina bulat, garis tengah 2-5 cm, berwarna hijau. Buah semu majemuk, bulat, diameter 10-20 cm, berduri lunak, berwarna hijau. Biji bentuk ginjal, panjang 3-5 cm, berwarna hitam. Akar tunggang berwarna coklat (Hutapea, 2000).

d. Khasiat

Bunga jantan *Artocarpus altilis* berkhasiat sebagai obat sakit gigi dan daunnya untuk obat sakit kulit.

Untuk obat sakit gigi dipakai 1 buah bunga jantan *Artocarpus altilis* dibakar sampai menjadi arang lalu ditumbuk sampai halus. Hasil tumbukan dioleskan pada gusi yang sakit (Hutapea, 2000).

e. Kandungan Kimia

Bunga dan daun *Artocarpus altilis* mengandung saponin, polifenol dan tanin, sedang kulit batangnya mengandung flavonoid (Hutapea, 2000).

Secara fitokimia, kluwih adalah penghasil senyawa-senyawa flavonoid, stilben, dan 2-arilbenzofuran terprenilasi atau tergeranilasi (Syah, 2005).

## 2. Metode Penyarian

Proses ekstraksi merupakan proses penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut (Ansel,1989). Ekstrak adalah sediaan ken tal yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Anonim, 2000).

Ekstrak merupakan sediaan poten, biasanya potensinya 2 sampai 6 kali berat bahan mentah obat yang dipakai sebagai bahan pada permulaan pembuatan. Kandungannya terutama dari bahan mentah obat, dengan bagian terbesar adalah zat yang tidak aktif dan komponen yang menyusun bahan mentah obat dihilangkan. Fungsinya untuk menyediakan sejumlah kecil dan dalam kesesuaian bagi bentuk fisik yang mantap, aktivitas obat dan sifat dari bahan baku tumbuh-tumbuhan yang ditunjukkan oleh ekstrak. Dengan demikian ekstrak berguna dalam campuran resep atau pembuatan produk (Ansel, 1989).

Ekstraksi atau penyarian merupakan peristiwa perpindahan massa zat aktif yang semula berada di dalam sel ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari. Pada umumnya penyarian akan bertambah baik bila serbuk simplisia yang bersentuhan dengan penyari semakin banyak

(Anonim, 1986). Cairan penyari yang biasa digunakan yaitu air, eter, atau campuran etanol dan air (Anonim, 1979).

Penggunaan air sebagai penyari kurang menguntungkan, karena disamping zat aktif juga zat lain yang tidak diperlukan ikut tersari. Air merupakan tempat tumbuh bagi kuman dan kapang, serta dapat melarutkan enzim. Enzim yang terlarut dengan adanya air akan menyebabkan reaksi enzimatik, yang mengakibatkan penurunan mutu, di samping itu juga akan mempercepat proses hidrolisa. Sedangkan metanol sebagai penyari dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar, dan klorofil. Lemak, malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut. Dengan demikian zat pengganggu yang larut hanya terbatas (Anonim, 1986).

Cara penyarian ekstrak yang umum digunakan antara lain adalah maserasi, perkolasi, dan soxhletasi. Dari ketiga cara tersebut sering dilakukan modifikasi untuk memperoleh hasil yang lebih baik, sedangkan pada penelitian ini digunakan cara maserasi.

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan/kamar (Anonim, 2000). Maserasi merupakan proses paling tepat dimana obat yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam pelarut sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut (Ansel, 1989).



Cara penyarian dengan maserasi mempunyai kelebihan yaitu cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan, sedangkan kekurangannya ialah cara pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Anonim,1986).

### **3. Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi Lapis Tipis adalah metode pemisahan fisika-kimia. Lapisan yang memisahkan, yang terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Metode ini hanya memerlukan investasi yang kecil untuk perlengkapan, menggunakan waktu yang singkat untuk menyelesaikan analisis, memerlukan jumlah cuplikan yang sedikit, dan penanganannya sederhana (Stahl, 1985).

Campuran yang akan dipisah berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita (awal). Setelah pelat atau lapisan ditaruh di dalam bejana tertutup rapat yang berisi partikel pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Selanjutnya, senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi). Deteksi dengan menggunakan sinar ultraviolet 254 atau 366 nm. Jika dengan kedua cara tersebut tidak dapat terdeteksi harus dicoba dengan reaksi kimia (Stahl, 1985).

Parameter kromatografi untuk perhitungan kualitatif mau pun kuantitatif dalam menguji sampel dengan KLT adalah waktu retensi. Retensi waktu (Rf) merupakan perbandingan jarak tempuh solut dibanding jarak tempuh fase gerak (Stahl, 1985).

Rumus :

$$Rf = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak batas pengembangan dihentikan}} \quad (1)$$

Angka Rf berkisar antara 0,00 sampai 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal dan hRf adalah angka Rf dikalikan faktor 100 menghasilkan nilai berjangka 1 sampai 100 (Stahl, 1985).

#### 4. Kanker

##### a. Tinjauan umum

Kanker adalah suatu penyakit yang timbul apabila sebuah sel atau sekelompok sel lepas dari kontrol normal yang mengatur pertumbuhan sel dan mulai berkembang biak dan menyebar. Sel-sel kanker akan terus membelah diri, terlepas dari pengendalian pertumbuhan, dan tidak lagi menuruti hukum-hukum pembiakan. Bila pertumbuhan ini tidak cepat dihentikan dan diobati maka sel kanker akan berkembang terus. Sel kanker akan tumbuh menyusup ke jaringan sekitarnya (*invasif*), lalu membuat anak sebar (*metastatis*) ke tempat yang lebih jauh melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening. Selanjutnya akan tumbuh kanker baru di tempat lain sampai akhirnya menyebabkan kematian penderitanya (Dalimartha, 2002).

Sel normal akan membelah diri bila tubuh membutuhkannya seperti mengganti sel-sel yang rusak atau mati. Sebaliknya, sel kanker akan

membelah diri meskipun tidak dibutuhkan sehingga terjadi kelebihan sel-sel (Tjay dan Rahardja, 2002).

Tumor adalah istilah umum yang digunakan untuk segala pembengkakan atau benjolan yang disebabkan oleh apapun, baik oleh pertumbuhan jaringan baru maupun adanya pengumpulan cairan seperti kista atau benjolan yang berisi darah benturan. Namun istilah tumor umumnya digunakan menyatakan adanya benjolan yang disebabkan oleh pertumbuhan jaringan baru tetapi bukan radang. Oleh karena itu, dikenal istilah tumor jinak (*benigna, benign*) dan tumor ganas (*maligna, malignant*) yang berarti kanker. Tumor jinak tumbuhnya lambat, setempat (lokal) dan tidak menyebar ke bagian lain dari tubuh serta jarang mengganggu kesehatan, sedangkan tumor ganas (kanker) tumbuhnya cepat, mengalami *invasi* dan *metastatis* (Dalimartha, 2002).

b. Sifat-sifat fisiologis sel kanker

Sel kanker mempunyai keadaan fisiologis yang berbeda dibanding sel normal, karena sel kanker telah mengalami perubahan genetik. Sel kanker menunjukkan beberapa sifat atau tanda morfologi yang spesifik. Inti kebanyakan besar dan menunjukkan banyak perbedaan dalam bentuk dan besarnya (poli atau pleomorfi) umumnya kadar asam nukleat dalam inti tinggi, yang menyebabkan meningkatnya daya pewarna zat pewarna basis (Tjay dan Rahardja, 2002).

Secara umum ciri-ciri dari sel kanker adalah :

- 1) Kemampuan sel dalam menyediakan signal pertumbuhan (*growth signal*) yang cukup

Sel normal memerlukan signal pertumbuhan mitogenik (*mitogenic growth signals*) sebelum mereka berpindah dari fase istirahat ( $G_0$ ) menuju fase aktif proliferasi. Beberapa gen dalam sel kanker dapat mengalami mutasi menjadi protoonkogen, sehingga dapat menginstruksikan sel untuk terus membelah pada keadaan yang tidak seharusnya membelah (Hanahan dan Weinberg, 2000).

Ketergantungan pada signal pertumbuhan ini tampak ketika sel normal mengalami proporsi dalam kultur dimana proliferasi terjadi ketika ditambah dengan faktor mitogenesis yang cukup dan terintegrasi di dalam sel. Terjadi pembelahan yang cukup kontras pada sel kanker, sel kanker melakukan regenerasi tergantung pada signal pertumbuhannya sendiri. Sel yang tidak tergantung pada signal yang berasal dari luar ini dapat merusak mekanisme homeostatis yang penting yang secara normal digunakan untuk menjamin perilaku sel agar sesuai dengan sel normal (Hanahan dan Weinberg, 2000).

- 2) Hilangnya sensitivitas sel terhadap signal antipertumbuhan (*antigrowth signals*)

Terdapat berbagai macam signal antiproliferasi dalam jaringan normal yang bekerja mengatur masa istirahat sel dan homeostatis jaringan. Signal antipertumbuhan dapat menghentikan proliferasi sel

dengan dua mekanisme tertentu. Sel dipaksa keluar dari jalur aktif proliferasi menuju fase istirahat (*G<sub>0</sub>*) yang dapat aktif kembali apabila terdapat signal ekstraseluler. Mekanisme lainnya adalah sel diinduksi untuk menghilangkan potensial proliferasi secara permanen menuju fase akhir pembelahan (*post mitosis*) yang biasanya dihubungkan dengan terjadinya diferensiasi spesifik.

Sel kanker harus dapat menghindari signal antipertumbuhan ini jika ingin terus tumbuh. Signal antipertumbuhan ini sebagian besar berperan pada *G<sub>1</sub> phase* yang menyebabkan sel berhenti berproliferasi (dengan memasuki fase istirahat atau *post mitosis*). Signal antiproliferatif ini diatur oleh protein retinoblastoma (pRB), p107, dan p130. Bentuk aktif pRB dapat bertindak sebagai penghambat replikasi DNA. Di dalam 40% kanker manusia, mutasi pada gen RB menyebabkan setiap proteinnya menjadi tidak aktif, sehingga sel memiliki kemampuan untuk membelah secara non-stop. Atau dengan kata lain inaktivasi pRB akan membebaskan E2F sehingga proliferasi dapat terus berjalan yang mengakibatkan sel menjadi tidak sensitif terhadap faktor antipertumbuhan (Hanahan dan Weinberg, 2000).

### 3) Kemampuan sel untuk mencegah apoptosis

Apoptosis adalah program kematian sel (program bunuh diri sel). Membran sel dirusak, sitoplasma dan skeleton mengalami degradasi, hingga akhirnya sel tersebut ditelan sel tetangga dan hilang (Hanahan dan Weinberg, 2000).

Sel kanker mempunyai kemampuan dalam hal mencegah terjadinya kematian sel. Resistensi terhadap apoptosis ini diperoleh sel kanker melalui beberapa cara. Cara yang paling umum dan paling sering digunakan adalah dengan cara menghilangkan regulator proapoptosis melalui sebuah mutasi yang melibatkan tumor suppressor gen p53. Protein ini mencegah replikasi dari DNA yang rusak pada sel normal dan mendorong penghancuran sendiri dari sel yang mengandung DNA tidak normal (Sofyan, 2000). Molekul p53 yang abnormal akan membiarkan sel mengandung DNA yang rusak untuk tetap bertahan padahal seharusnya mati atau melakukan replikasi padahal seharusnya berhenti (Hanahan dan Weinberg, 2000).

#### 4) Kemampuan sel melakukan replikasi potensial secara tak terbatas

Kemampuan sel dalam melakukan replikasi potensial merupakan sebuah fenotip yang secara *in vivo* diperlukan selama masa progresi dari kanker dan sangat penting untuk perkembangannya menjadi sel *malignant* (Hanahan dan Weinberg, 2000).

#### 5) Kemampuan sel dalam menopang angiogenesis

Sel kanker (seperti halnya jaringan lain) mempunyai substansi yang dapat mempromosi terbentuknya pembuluh darah baru, yang prosesnya dinamakan *angiogenesis*. Pembuluh darah tersebut akan berfungsi untuk mensuplai kebutuhan nutrisi dan pembuangan zat-zat yang tidak bermanfaat sehingga sel kanker dapat terus bertahan hidup (Anonim, 2001). Oksigen dan nutrisi yang disuplai oleh pembuluh darah sangat

penting artinya bagi kelangsungan hidup sel. Karena ketergantungan sel yang terus membelah diri cukup tinggi terhadap pembuluh darah kapiler terdekat untuk mensuplai kedua kebutuhan di atas, maka sel-sel ini kemudian membentuk pembuluh darah baru. Hal inilah yang dilakukan oleh sel neoplasma (kanker) untuk memperbesar ukurannya agar dapat melakukan ekspansi ke jaringan lain, sel ini terus mengembangkan kemampuan angiogenesisnya (Hanahan dan Weinberg, 2000).

6) Kemampuan sel melakukan *metastatis* dan *invasi*

Cepat atau lambat perkembangan kanker primer dapat melahirkan sel-sel sekunder yang dapat berpindah tempat ke jaringan lain, menginvasi jaringan perbatasan, kemudian berjalan mengikuti aliran darah dan berhenti pada tempat-tempat tertentu dalam jaringan tubuh yang lemah untuk tumbuh dan berkembang membentuk koloni baru (Hanahan dan Weinberg, 2000).

Operasi mungkin dapat mengangkat tumor primer dengan mudah, tetapi kanker yang telah mengalami metastatis berada di banyak tempat di dalam tubuh, sehingga penyembuhan dengan operasi saja hampir tidak mungkin lagi (Rouslahti, 1996).

Beberapa protein terlibat pada proses perlekatan sel dalam jaringan dalam proses invasi dan metastatis, diantaranya *Cell-cell Adhesion Molecules (CAMs)* diantaranya E-cadherin, dan integrin yang menghubungkan sel dengan matriks ekstraseluler. Kebanyakan *CAMs* telah hilang pada sel kanker sehingga terjadi proses invasi dan metastase.

### c. Pertumbuhan sel kanker

Pertumbuhan kanker biasanya mempunyai keseimbangan khas yang positif (dibuat sel-sel lebih banyak daripada sel-sel yang rusak). Tetapi kecepatan pertumbuhan ini biasanya lebih rendah dari jaringan normal, sehingga waktu yang dibutuhkan suatu kanker untuk melipatkan volumenya, bergantung pada tipe kanker dan keadaannya, dapat bervariasi dari minggu sampai tahun. Tambahan volume ini bergantung kepada waktu yang berlangsung antara 2 pembelahan sel sendiri banyak muatan konstan setelah fase  $G_0$  sel dengan stimulus yang adekuat dapat kembali ke dalam fase  $G_1$ . Sel post mitotik tidak dapat kembali ke fase  $G_1$ , fase berubah ke dalam fase  $S$ , dalam fase ini sel mensintesis DNA untuk melipatgandakan material genetiknya sebagai persiapan untuk membelah. Sebelum sel membelah diri terdapat fase  $G_2$  yang dalam hal ini inti berisi DNA dua kali lipat. Lamanya fase  $S$  dan  $G_2$  umumnya konstan. Variabilitas yang besar, juga untuk sel-sel kanker terdapat dalam fase  $G_0$  dan  $G_1$  terdapat sel yang bertahun-tahun atau selamanya berada dalam fase  $G_0$ , yaitu sel yang telah berdiferensiasi dengan satu fungsi spesifik.

### d. Daur sel

Daur sel terdiri dari :

#### 1) *Gap 1 (G1) Phase*

Gap 1 merupakan interval antara mitosis dan permulaan replikasi DNA. Kromosom melakukan pertumbuhan dan persiapan untuk bereplikasi. Lamanya fase ini bervariasi, tergantung dari tipe selnya.



Sebagian besar sel mamalia *G<sub>1</sub> phase* berlangsung selama lebih kurang 12 jam (King, 2000).

#### 2) *S Phase (Synthetic Phase)*

Selama periode ini DNA disintesis dan direplikasi untuk persiapan mitosis. Selama *S phase* berlangsung, *strand* DNA terbuka dan basa dari DNA berada di luar dan sangat sensitif terhadap agen eksternal semacam obat-obatan dan mutagen. Hal tersebut merupakan tahap yang memungkinkan terjadinya kanker. Selama *S phase* juga berlangsung perbaikan DNA yang dapat untuk mencegah berkembangnya generasi kanker (King, 2000).

#### 3) *Gap 2 (G<sub>2</sub>) Phase*

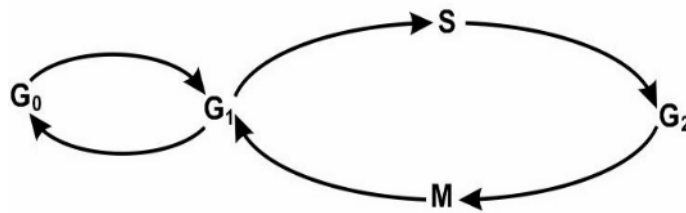
Selama *G<sub>2</sub>*, replikasi DNA dimonitor untuk memastikan bahwa DNA telah digandakan. Periode ini juga merupakan periode pertumbuhan sel dan finalisasi komponen sel sebelum diproses ke dalam *M phase*. Mitosis dapat dihentikan jika masih terdapat DNA yang belum direplikasi maupun adanya kerusakan DNA yang belum diperbaiki pada saat *S phase*. Proses tersebut dinamakan *G<sub>2</sub> checkpoint* yang dimonitor oleh p53. Proses ini juga membutuhkan keterlibatan sistem *cyclin/Cdk/CKI* (King, 2000).

#### 4) *M Phase*

Tahap mitosis berlangsung sekitar 30-60 menit. Terjadi pemisahan sel menjadi dua sel anakan dengan sifat dan karakteristik yang sama dengan sel induknya (Fuller dan Shields, 1992).

*Cell cycle* bersifat progresif. Saat sel memasuki tahap  $G_1$ , suatu seri peristiwa molekuler menginstruksikan untuk memasuki  $S$  phase. Apabila peristiwa biokimia tersebut tidak terjadi, sel tidak melakukan replikasi dan tetap berada pada tahap  $G_1$ .

Saat perkembangan sel pada  $G_1$  melambat, sel dapat mengekspresikan protein yang bukan merupakan molekul yang dibutuhkan untuk pembelahan sel. Adanya peristiwa tersebut,  $G_1$  menjadi lebih panjang. Perpanjangan  $G_1$  phase disebut sebagai  $G_0$  phase, dan  $G_0$  phase tersebut merupakan kondisi khusus pada daur sel (Fuller dan Shields, 1992).



Gambar 1. Skema Pembelahan Sel Kanker (Ganiswara dan Nafrialdi, 1995).

## 5. Sel HeLa

Sel HeLa atau HeLa *cell lines* merupakan *continous cell lines* yang tumbuh sebagai sel yang semi melekat. Sel HeLa diturunkan dari sel epitel kanker leher rahim (*cerviks*) manusia. Sel ini diisolasi sejak tahun 1951 dari rahim seorang wanita penderita kanker leher rahim, berasal dari Baltimore

Amerika Serikat yang bernama Henrieta Lacks (31 tahun). HeLa merupakan singkatan dari namanya (Julia, 2001).

Sel HeLa dapat digunakan untuk tes tumor, transformasi, uji tumorigenesis, biologi sel dan invasi bakteri. Sel ini secara morfologi merupakan sel epitelial dan dimasuki oleh *Human Papiloma Virus* (HPV) tipe 18. Sel ini bersifat *immortal* dan sangat agresif sehingga mudah untuk dikultivasi tetapi sel ini mudah menginvasi kultur sel lain (Doyle dan Griffiths, 2000).

Tidak seperti kanker payudara, kanker mulut rahim atau leher rahim adalah kanker yang tidak menimbulkan adanya benjolan. Namun, kanker ini bisa dirasakan keberadaannya oleh penderitanya. Kemungkinan terserang kanker leher rahim atau mulut rahim dapat dipelajari dari gejala-gejala sebagai berikut:

- a. Keluar cairan encer dari vagina atau biasa disebut keputihan. Bahkan pada stadium lanjut cairan tersebut berwarna kuning kemerahan dengan bau sangat menyengat.
- b. Sering timbul rasa gatal yang berlebihan di bagian dalam vagina. Bahkan terkadang timbul koreng di bagian dalam vagina.
- c. Sering timbul rasa nyeri di bagian bawah perut.
- d. Sering terjadi pendarahan setelah melakukan hubungan seksual.
- e. Sering timbul pendarahan setelah memasuki masa menopause.

(Mardiana, 2004).

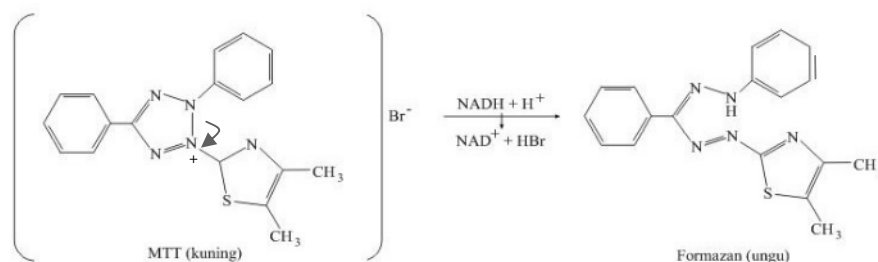
## 6. Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik adalah uji yang telah terstandarisasi, sensitif dan relatif cepat, untuk menentukan apakah suatu material mempunyai efek toksik secara biologis. Uji sitotoksik obat baru dilakukan melalui serangkaian uji farmakologi dan toksikologi baik yang dilakukan pada hewan uji (pra-klinik) maupun uji secara klinik. Uji tersebut sebagian besar masih menggunakan hewan percobaan meskipun terdapat kesulitan untuk diekstrapolasikan ke manusia. Pengembangan metode *in vitro* sebagai alternatif pengganti pengujian menggunakan hewan uji mempunyai relevansi yang cukup baik yang bertujuan untuk mendeteksi potensi ketoksikan suatu obat pada manusia (Doyle dan Griffith, 2000). Uji sitotoksik dilakukan secara *in vitro* menggunakan kultur sel dan hasilnya dapat dimanfaatkan dalam evaluasi keamanan obat, zat tambahan makanan, pestisida, dan dapat pula untuk mendeteksi aktivitas neoplastik dari senyawa. Uji sitotoksik untuk aktivitas neoplastik (spesifik) lebih efektif pada populasi sel yang membelah daripada populasi sel yang tidak membelah. Sedangkan uji sitotoksik nonspesifik (contohnya uji sitotoksik untuk kepentingan evaluasi keamanan suatu senyawa) mempunyai keaktifan yang sama pada populasi sel membelah maupun tidak membelah. Uji ini mempunyai sensitivitas yang tinggi karena digunakan sel uji yang terisolasi dalam kultur sehingga tidak ada mekanisme protektif tubuh yang dapat mempengaruhi sel uji maupun bahan uji (Freshney, 1986).

Dalam uji sitotoksik terdapat beberapa tingkatan dosis obat yang diselidiki diberikan pada beberapa kelompok binatang dan masing-masing

kelompok diberi tingkatan dosis tertentu dicatat dan probit respon kuantal ini digambarkan dalam hubungannya dengan log dosis selanjutnya ditarik garis lurus yang paling baik melalui titik-titik yang ada dan dosis pada garis ini yang menyatakan 50% kematian dalam suatu kelompok (jadi probit 5) ditentukan (Mursyidi,1985).

MTT *assay* merupakan salah satu metode yang digunakan dalam uji sitotoksik. Metode ini merupakan metode kolorimetrik, dimana pereaksi MTT ini merupakan garam tetrazolium yang dapat dipecah menjadi kristal formazan oleh sistem *succinate tetrazolium reductase* yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria yang aktif pada sel yang masih hidup. Kristal formazan memberi warna ungu yang dapat dibaca absorbansinya dengan menggunakan ELIZA *reader* (Doyle dan Griffith, 2000). Dalam hal ini *stop solution* berfungsi untuk mendenaturasi protein (berstruktur kuartener) menjadi unit melalui rantai polipeptida dan membentuk kompleks SDS -polipeptida dan untuk melarutkan garam formazan (Burgess, 1995).



**Gambar 2. Reaksi Reduksi MTT menjadi Formazan**

(Mossman, 1983).

## **E. Landasan Teori**

Menurut penelitian yang dilakukan Syah (2005), pada tanaman kluwih (*Artocarpus altilis* Park) terhadap bagian daun dan pucuk daun, kayu batang, kulit dan kayu akar, serta ranting telah berhasil diisolasi tiga belas senyawa flavonoid dan telah diuji sifat sitotoksiknya terhadap beberapa sel tumor. Tiga belas senyawa tersebut adalah artocarpin, artonin E, siklokomunol, siklokomunin, sikloartokarpin, kudraflavon A, caplasin, artonindonesianin B, artobiloksanton, sikloartobiloksanton, artonin F, artonol B dan artonol A. Sementara sel tumor yang digunakan meliputi empat belas jenis, yaitu : A549 (*human lung carcinoma*), MCF-7 dan MDA-MB-231 (*breast adenocarcinoma*), IA9 (*ovarian carcinoma*), HCT-8 (*ileocecal carcinoma*), CAKI-1 (*kidney carcinoma*), SK-MEL-2 (*melanoma*), U-87-MG (*glioblastoma*), PC-3 (*prostate cancer*), KB (*epidermoid carcinoma dari nasopharynx*), KB-VIN (*subclone dari KB*), P-388 (*leukemia*), Hep 3B (*hepatomacellular carcinoma*), dan HT-29 (*human colorectal adenocarcinoma*). Artokarpin dan artonin E menunjukkan sifat sitotoksik kuat terhadap hampir semua jenis sel tumor yang diujikan.

## **F. Hipotesis**

Berdasarkan penelitian sebelumnya, maka dapat dibuat hipotesis bahwa ekstrak metanol kulit batang kluwih (*Artocarpus altilis* Park) mempunyai efek sitotoksik terhadap sel HeLa.