

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker masih menjadi masalah besar di bidang kesehatan karena penyembuhannya yang sulit dan merupakan penyakit yang menempati peringkat kedua sebagai penyebab kematian bagi penderitanya (Dalimartha, 2004). Kasus baru kanker ganas di Amerika Serikat, setiap tahunnya dijumpai 1.000.000 kasus dengan mortalitas sebesar 22% (Pasaribu, 2006). Kanker merupakan penyakit yang menempati peringkat ke enam di Indonesia dari seluruh penyakit yang ada, dan sekitar 80% penderita merupakan penderita stadium lanjut (Dalimartha, 2004).

Berbagai cara penyembuhan telah dilakukan untuk melawan kanker seperti pembedahan, penyinaran, kemoterapi dan imunoterapi namun demikian masing-masing cara mempunyai kelemahan sendiri sehingga pengobatan kanker belum memuaskan hingga saat ini. Penggunaan kemoterapi antikanker belum memberikan hasil optimal karena obat tersebut bekerja tidak spesifik. Masalah lain dalam kemoterapi adalah timbulnya sel kanker yang resisten terhadap antikanker tersebut yang membuat antikanker tersebut tidak sensitif lagi. Usaha untuk menemukan antikanker yang lebih spesifik dan sensitif sangat diperlukan (Martini, dkk., 2005). Penelitian ilmiah yang berhasil mengungkapkan khasiat, manfaat pengobatan, dan terapi kanker, mendorong munculnya paradigma baru dalam dunia pengobatan modern, yaitu *back to nature* atau kembali ke alam (Mangan, 2003).

Tanaman srikaya telah diteliti khasiatnya sebagai obat antikanker. Djajanegara dan Wahyudi (2009) menyatakan bahwa daun srikaya (*Annona squamosa* Linn) mempunyai potensi sebagai bahan alami antikanker, hasil penelitian terhadap ekstrak etanol 70% dan fraksi kloroform daun srikaya memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dengan nilai LC₅₀ berturut-turut sebesar 7,6948 µg/mL dan 4,5467 µg/mL. Biji srikaya (*Annona squamosa* L.) mempunyai potensi sebagai bahan alami antitumor, hasil penelitian terhadap

ekstrak air dan ekstrak organik biji srikaya secara signifikan menyebabkan kematian apoptosis sel tumor dengan meningkatkan aktivitas caspase-3, menurunkan regulasi dari antiapoptosis gen Bcl-2 dan Bcl_{xL}, dan meningkatkan generasi ROS intraseluler (Pardhasaradi, *et al.*, 2004).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi dari kulit batang srikaya sebagai agen penghambat dari sel kanker dan golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi polar. Fraksinasi dilakukan untuk mengelompokkan senyawa yang bersifat polar hingga non polar. Fraksi polar ekstrak etanol kulit batang srikaya dipilih karena pada penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa ekstrak air biji srikaya secara signifikan mampu menghambat pertumbuhan sel kanker.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah fraksi polar ekstrak etanol kulit batang srikaya (*Annona squamosa* L.) mempunyai efek sitotoksik terhadap sel T47D?
2. Golongan senyawa kimia apakah yang terkandung dalam fraksi polar ekstrak etanol kulit batang srikaya (*Annona squamosa* L.) tersebut?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui aktivitas sitotoksik fraksi polar ekstrak etanol kulit batang srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap sel T47D dengan menentukan IC₅₀-nya.
2. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi polar ekstrak etanol kulit batang srikaya (*Annona squamosa* L.) melalui KLT.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tumbuhan Srikaya (*Annona squamosa* L.)

a. Sistematika Tumbuhan

Klasifikasi tanaman srikaya dalam sistematika tumbuhan sebagai berikut :

| | |
|-------------|-------------------------------|
| Divisio | : Spermatophyta |
| Subdivision | : Angiospermae |
| Kelas | : Dicotyledoneae |
| Ordo | : Ranales |
| Familia | : Annonaceae |
| Genus | : <i>Annona</i> |
| Spesies | : <i>Annona squamosa</i> Linn |

(Cronquist, 1981; Backer, *et al.*, 1965)

b. Nama Daerah dan Nama Asing

Tanaman srikaya mempunyai bermacam-macam sebutan. Masyarakat Aceh menyebut srikaya adalah delima bintang atau serba bintang, orang Melayu menyebutnya delima srikaya, dan seraikaya bagi masyarakat di daerah Lampung. Sarikaya adalah sebutan untuk tanaman srikaya di daerah Sunda, dan orang Jawa menyebutnya serkaya atau surikaya. Masyarakat Madura, Gorontalo, dan Buru menyebutnya sarkaya, serekaya, dan sirikaya, ata bagi masyarakat Timor, sirkaya bagi masyarakat Bali, srikaya kebo bagi masyarakat Sumbawa, nagametawata bagi orang-orang Sumba, dan garoso bagi masyarakat Bima. Masyarakat Sulawesi Utara, Ternate, dan Tidore menyebutnya atis, sedangkan masyarakat halmahera menyebutnya atisi atau hirikaya (Achmad, dkk., 2007).

c. Morfologi

Pohon atau perdu, tinggi 2-7m. Daun elliptis memanjang sampai bentuk lanset tumpul, 6-17 kali 2,5-7,5cm, tepi rata. Bunga 1-2 berhadapan atau di samping daun. Daun kelopak segitiga, waktu kuncup bersambung secara katup (klepsgewijs), kecil. Daun mahkota yang terluar berdaging tebal, panjang 2-2,5cm, dari putih kuning, dengan pangkal yang berongga akhirnya ungu. Daun mahkota yang terdalam sangat kecil atau tidak ada. Dasar bunga dipertinggi. Benang sari banyak, putih. Penghubung ruang sari di atas ruang diperpanjang dan

melebar, dan menutup ruangnya. Bakal buah banyak, ungu tua. Kepala putik duduk, rekat menjadi satu, mudah rontok. Buah majemuk lengkung bentuk bola, garis tengah 5-10 cm, berlilin. Anak buah khususnya dengan ujung yang melengkung, pada waktu masak sedikit atau banyak melepaskan diri satu dengan yang lain. Biji masak mengkilat. Daging buah putih. Pohon buah-buahan dari Hindia Barat, banyak ditanam (Steenis, 2005).

d. Kandungan Kimia

Hegnaur (1986) menyebutkan bahwa daun srikaya mengandung senyawa alkaloid (Annonain, Retikulin), mirisil alkohol senyawa polifenol, flavonoid, leukosianidin, asam kafeat, asam kumarat, sedangkan pada buahnya mengandung protein, kalsium, fosfor, gula, vitamin A, vitamin C, asam amino, dan tannin pada daun buah muda. Biji srikaya mengandung selulosa, amilum, lemak, protein, gula, resin, minyak lemak, bahan beracun, asetogenin (*Annonacin-A*, *Skuamosten-A*, *Neoannonin*, *Squamocin-I*, *Squamocin-K*, *Squamocin-N*, *Squamocin-E*, *Squamocin*, *Annonin-III* (metrilin), *Squamocin-B*, *Squamocin-D* (*asiminacin*), *Squamocin-F*, *Squamostatine-A* (almuneguin), *Squamostatine-D*, *Squamostatine-E*). Akar dan kulit batang srikaya mengandung senyawa borneol, kamper, terpen, alkaloid annonain, asetogenin, (*squamone*, 2,4 *cis* dan *trans bullatacinone*).

e. Khasiat Tanaman

Berbagai bagian tumbuhan srikaya di Indonesia, seperti daun, akar, buah, kulit batang, dan biji, digunakan dalam pengobatan tradisional untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Misalnya, daun tumbuhan ini digunakan untuk mengatasi encok, batuk, salesma, demam, rematik, gangguan saluran pencernaan seperti diare, disentri, dan penyakit kulit, seperti borok, luka, bisul, kudis, ekzema, dan menurunkan kadar asam urat yang tinggi dalam darah. Adapun biji *A.squamosa* digunakan untuk pengobatan gangguan pencernaan dan cacingan, sedangkan buah tumbuhan ini digunakan pula untuk gangguan pencernaan seperti diare, dan disentri. Akar dan kulit batang digunakan untuk mengatasi gangguan saluran pencernaan seperti sembelit, diare, dan disentri. Dilaporkan pula bahwa buah *A.squamosa*, kecuali sebagai bahan minuman dan

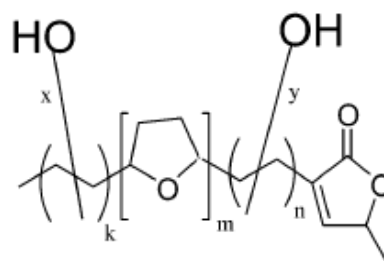
makanan, digunakan pula sebagai sari rapet, sedangkan biji digunakan sebagai insektisida (Achmad, dkk., 2007).

f. Penelitian Sebelumnya tentang Srikaya

Isolasi hasil pemurnian ekstrak biji, daun, dan ranting dari tanaman *annonaceae* menghasilkan senyawa aktif asetogenin (Spurr & Brown, 2010). Senyawa aktif asetogenin (Gambar 1) ini juga dapat diperoleh dari ekstrak etanol biji srikaya yang difraksinasi menggunakan petroleum eter, kloroform, dan butanol (Yang *et al.*, 2008). Selain dalam biji, asetogenin juga terkandung dalam kulit batang srikaya. Senyawa kimia asetogenin yang terdapat dalam kulit batang srikaya yaitu *squamone, 2,4,cis* dan *trans bullatacinone* (Hegnaur, 1986).

Senyawa aktif asetogenin mempunyai aktivitas sitotoksik dengan mekanisme kerja menghambat produksi ATP dengan mengganggu kompleks I mitokondria dan menghambat NADH oksidase dari membran plasma pada sel tumor (Yang *et al.*, 2008). Shidiqqi dkk (2008) juga telah meneliti bahwa *Annonaceous* asetogenin bekerja dengan menghambat produksi ATP dengan mengganggu kompleks I mitokondria.

Bulatasin mempunyai aktivitas antitumor secara *in vitro*. Asetogenin dari *Annonaceae* yang diisolasi dari biji *Annona atemoya* menunjukkan sitotoksisitas pada sel kanker HepG2, KB, CCM2, dan CEM. *Squamocin*, derivat asetogenin yang lain menunjukkan efek antiproliferatif pada sel kanker HL-60 dengan mengaktifasi caspase-3 (Pardasaradhi, *et al.*, 2005).



Gambar 1. Struktur umum senyawa asetogenin

2. Kanker

Kanker disebut juga neoplasma, adalah suatu penyakit pertumbuhan sel karena di dalam organ tubuh timbul dan berkembang biak sel-sel baru yang

tumbuh abnormal, cepat, dan tidak terkendali dengan bentuk, sifat, dan gerakan yang berbeda dari sel asalnya, serta merusak bentuk dan fungsi organ asalnya (Dalimartha, 2004). Sel kanker mempunyai karakteristik diantaranya mampu mencukupi kebutuhan sinyal pertumbuhannya sendiri, tidak sensitif terhadap sinyal antipertumbuhan, mampu menghindari apoptosis, memiliki kemampuan tak terbatas untuk bereplikasi, mampu menginduksi angiogenesis untuk mencukupi kebutuhan oksigen dan nutrisi, mampu menginvasi jaringan di sekitarnya (Hanahan & Weinberg, 2000). Jenis-jenis kanker yang dikenal banyak sekali dan hampir semua organ dapat dihindangi penyakit ganas ini, termasuk limfe, darah, sumsum dan otak (Tjay & Raharja, 2007).

Invasi kanker merupakan suatu proses Bergeraknya sel tumor primer dan berjalan menuju jaringan di sekitarnya. Keadaan ini memungkinkan sel bergerak menuju pembuluh darah dan ditransportasikan ke bagian tubuh yang lain, sehingga menyebabkan terjadinya tumor sekunder pada bagian tubuh yang lain (Lumongga, 2008). Penyebab primer untuk terjadinya kanker pada manusia belum diketahui. Tahun 1775 Persival Pott, seorang ahli bedah dari Inggris menemukan bahwa kanker *scrotum* banyak dijumpai pada orang yang bekerja di pabrik yang memakai cerobong asap. Setelah dipelajari, ternyata hidrokarbon yang berhasil diisolasi dari batubara merupakan *carcinogenic agent*. Sejak saat itu zat kimia yang menyebabkan kanker pada hewan percobaan disebut karsinogen. Berbagai faktor penyebab kanker antara lain zat-zat karsinogenik, virus-virus onkogenik, faktor herediter, faktor lingkungan, faktor sosio-ekonomi (Pasaribu, 2006).

Upaya utama untuk mengembangkan obat antikanker baik melalui penapisan empiris maupun rancangan senyawa baru yang rasional hingga sekarang berjalan lebih dari 3 dekade (Katzung, 2004). Sitostatika adalah zat-zat yang dapat menghentikan pertumbuhan pesat dari sel-sel ganas, tetapi karena sel-sel kanker sangat menyerupai sel-sel normal dan kebanyakan sitostatika tidak bekerja selektif, obat-obat ini dapat menimbulkan efek samping yang serius (Tjay & Raharja, 2007).

3. Sel T47D

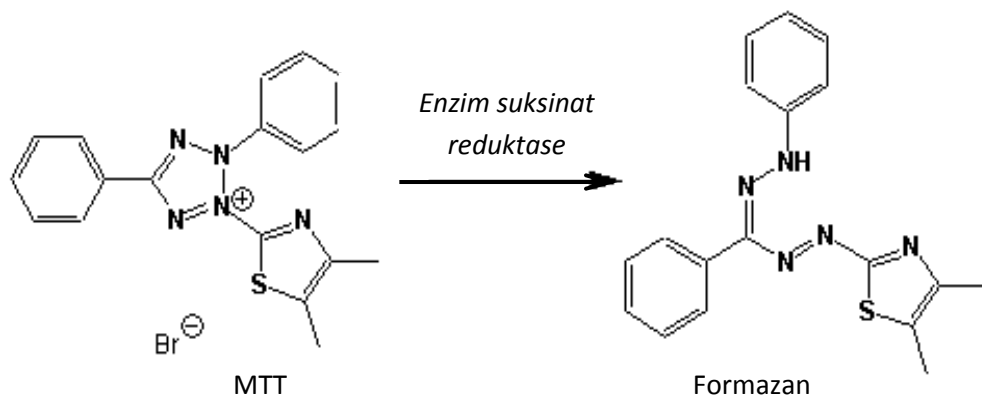
Kanker payudara adalah kanker yang berasal dari kelenjar, saluran, dan jaringan penunjang payudara tetapi tidak termasuk kulit payudara. Kanker payudara merupakan kanker nomor dua terbanyak yang menyerang wanita Indonesia dan menjadi pembunuh nomor satu wanita di dunia (Mangan, 2003). Sebagian besar kanker payudara mulai tumbuh di dalam garis duktus susu (saluran kelenjar susu). Adanya peningkatan sel dalam duktus disebut hiperplasia. Sel-sel tersebut kemudian menjadi “terlihat aneh” dan disebut hiperplasia atipikal. Sel-sel tersebut lama kelamaan akan menyerupai sel-sel kanker payudara, namun hanya terbatas di dalam duktus. Ini disebut karsinoma duktus *in situ* (kanker yang terbatas di dalam duktus), atau DCIS (*ductal carcinoma in situ*). Sel-sel kanker tersebut kemudian akan berinvasi keluar dari duktus dan masuk ke jaringan lemak di sekitarnya dan menjadi kanker duktus yang invasif (Ornish, *et al.*, 2007). Pertumbuhan karsinoma payudara juga dirangsang oleh hormon pertumbuhan dan prolaktin (Ganong, 2003).

Sel kanker payudara T47D merupakan *continuous cell lines* yang morfologinya seperti sel epitel yang diambil dari jaringan payudara seorang wanita berumur 54 tahun yang terkena *ductal carcinoma* (Burdall, *et al.*, 2003 cit Anonim, 2012). Sel ini dapat ditumbuhkan dengan media dasar penumbuh RPMI 1640, 100 U/mL penisilin, 100 ng/mL streptomisin dan *Fetal Bovine Serum* (FBS) ditambahkan sebanyak 0,2 U/mL hingga konsentrasi akhir FBS dalam media menjadi 10% untuk memperoleh media komplet. Sel ditumbuhkan pada suhu 37°C dengan kadar CO₂ 5% (H.M., Abdolmohammadi, *et al.*, 2008). Sel T47D mengekspresikan mutan p53, dan klon turunannya yang sangat peka terhadap efek stimulasi estradiol (Schafer, *et al.*, 2000).

4. Uji Sitotoksik dengan Metode MTT *assay*

Metode uji yang sering digunakan untuk uji sitotoksik adalah MTT *assay*. Metode MTT merupakan metode perhitungan secara kuantitatif, relatif mudah pengerjaannya dan memiliki nilai akurasi yang tinggi. MTT (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida) adalah suatu garam tetrazolium yang larut dalam air dengan menghasilkan larutan berwarna kuning.

Garam tersebut dapat dipecah menjadi formazan oleh sistem *succinate tetrazolium reductase* yang terdapat pada jalur respirasi sel pada mitokondria yang aktif pada sel hidup (Gambar 2). Enzim mitokondria pada sel aktif tersebut yang memetabolisme garam tetrazolium, sehingga terjadi pemutusan cincin tetrazolium oleh enzim dehidrogenase yang menyebabkan tetrazolium berubah menjadi formazan yang tidak larut air dan berwarna ungu. Warna ungu ini selanjutnya dideteksi serapannya dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 500-600 nm (Mostmann, 1983 *cit* Yuniasri, R., 2010).



Gambar 2. Reaksi reduksi MTT menjadi formazan oleh enzim reduktase

Uji sitotoksitas digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan pertumbuhan sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel (Da'i, M., 2007).

E. Landasan Teori

Ekstrak etanol biji srikaya yang difraksinasi menggunakan petroleum eter, kloroform, dan butanol terbukti mempunyai aktivitas sitotoksik, yang di dalamnya terkandung senyawa aktif asetogenin. Asetogenin telah dibuktikan mempunyai aktivitas sitotoksik dengan mekanisme kerja menghambat produksi ATP dengan mengganggu kompleks I mitokondria dan menghambat NADH oksidase dari membran plasma pada sel tumor (Yang, *et al.*, 2008).

Hasil penelitian lainnya menyebutkan bahwa asetogenin dari *annonaceae* menunjukkan aktivitas sitotoksik dan penghambat sel pertumbuhan. Bulatasin

yang merupakan salah satu derivat dari asetogenin mempunyai aktivitas antitumor secara *in vitro*. Asetogenin dari Annonaceae yang diisolasi dari biji *Annona atemoya* menunjukkan sitotoksitas pada sel kanker HepG2, KB, CCM2, dan CEM. *Squamocin*, derivat asetogenin yang lain menunjukkan efek antiproliferatif pada sel kanker HL-60 dengan mengaktivasi caspase-3 (Phardasaradhi, *et al.*, 2005). Selain terkandung dalam biji srikaya, senyawa kimia asetogenin, skuamon, 2,4 *cis* dan *trans* bullatasinon juga terkandung dalam kulit batang srikaya (*Annona squamosa* L.) (Hegnaur, 1986). Spurr dan Brown (2010) juga menyatakan bahwa asetogenin dapat diisolasi dari hasil pemurnian ekstrak biji, daun, dan ranting tanaman annonaceae.

Golongan senyawa lain dalam srikaya yang mempunyai aktivitas sebagai antikanker adalah alkaloid dan flavonoid. Rahayu, dkk (1993) menyatakan bahwa golongan alkaloid dari tanaman srikaya mengandung senyawa benzil-tetrahidroisokuinolon, salah satunya liriodenin yang bersifat sebagai antitumor. Himesh *et al.*, (2011) mengisolasi flavonoid dari ekstrak metanol tanaman srikaya. Flavonoid mampu menghambat pertumbuhan dan menginduksi apoptosis dari sel B16 melanoma 4A5 (Iwashita, *et al.*, 2000). Kulit batang srikaya diharapkan mempunyai aktivitas antikanker karena dimungkinkan memiliki kandungan kimia yang sama dengan bagian lain dari tanaman srikaya.

F. Hipotesis

Fraksi polar ekstrak etanol kulit batang srikaya (*Annona squamosa* Linn) memiliki aktivitas antikanker terhadap sel T47D dan mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid dan asetogenin.