

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker adalah istilah umum untuk pertumbuhan sel tidak normal, (yaitu tumbuh sangat cepat, tidak terkontrol, dan tidak berirama) yang dapat menyusup ke jaringan tubuh normal dan menekan jaringan tubuh normal sehingga mempengaruhi fungsi tubuh (Rama, 2007). Kanker terjadi karena ada kerusakan atau transformasi proton gen dan supresor gen sehingga terjadi perubahan dalam cetakan protein dari yang telah diprogramkan semula yang mengakibatkan timbulnya sel kanker (Sukardja,2004).

Kanker dapat menyebabkan banyak gejala yang berbeda, bergantung pada lokasinya dan karakter dari keganasan dan ada tidaknya metastasis. Penyakit kanker ditandai dengan pertumbuhan abnormal sel pada jaringan tubuh secara terus-menerus dan tidak terkendali. Ada tiga ciri utama yang menandai keberadaan kanker, yakni kontrol pertumbuhan yang menurun atau tidak terbatas, invasi pada jaringan setempat, dan metastasis (penyebaran) ke bagian tubuh lain (Murray *et al.*. 2003).

Pada pengobatan kanker biasanya menggunakan obat-obat golongan sitostatik yang dapat mengakibatkan kematian sel. Sitotoksitas merupakan kematian sel oleh komponen-komponen kimia atau mediator sel (sel T sitotoksik). Sitotoksitas biasa digunakan sebagai pedoman di dalam laboratorium untuk mendeteksi kematian sel, tanpa melihat mekanismenya. Aktivitas sitotoksik merupakan proses penting dalam membunuh sel-sel kanker (Wyllie, 2008).

Ada dua kemungkinan mekanisme sitotoksik yang terjadi pada *cell-mediated cytotoxicity*. Pertama adalah mekanisme apoptosis yang mengakibatkan sel memicu autolitik *cascade* di dalam sel target dan fragmen DNA sebelum sel lisis. Mekanisme yang kedua adalah mekanisme lisis yang mengakibatkan terjadinya lisis molekul, khususnya perforin. Molekul ini disekresikan oleh efektor sel ke bagian intraseluler sel dan berpolimerasi membentuk pori di dalam membran sel target yang memicu terjadinya lisis. Kedua mekanisme ini saling

melengkapi dan sangat mungkin terjadi (Wyllie, 2010). Pada mekanisme pencegahan sitotoksik dapat digunakan obat alami dari tumbuhan yang memiliki kandungan kimia tertentu.

Produk alami dengan antitumor dapat dikelompokkan menjadi 13 kelompok kimia yang berbeda seperti alkaloid, penilpropanoid, terpenoid, aldehida, glikosida, lignin, lipid, asam nukleat, polisakarida, protein, dan senyawa tak dikenal (Katzung & Bertam, 2004). Golongan mangrove dan tumbuhan bakau dapat digunakan sebagai antivirus, antibakteri, dan antijamur dengan kandungan saponin, tannin, flavonoid, dan polifenol (Bandaranayake, 1998). Hal tersebut dapat dibuktikan dengan berbagai penelitian pada tumbuhan.

Penelitian sebelumnya menggunakan bagian daun tumbuhan menunjukkan adanya aktivitas antikanker dengan nilai IC_{50} sebesar 0,41 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel T47D, 6,37 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel WiDr, dan 1,92 $\mu\text{g/mL}$ terhadap sel HeLa (Haryoto *et al.*, 2013) sejauh ini belum ada penelitian potensi ketoksikan terhadap sel normal. Sel Vero biasa digunakan untuk mempelajari pertumbuhan sel, diferensiasi sel, sitotoksitas, dan transformasi sel yang diinduksi oleh berbagai senyawa kimia, sel ini juga direkomendasikan untuk dijadikan sebagai sel model dalam mempelajari karsinogenesis secara *in vitro* (Goncalves *et al.* 2006). Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah senyawa yang terkandung didalam daun tumbuhan sala memiliki potensi toksik terhadap sel Vero dan mengetahui lebih spesifik kandungan kimia yang berperan dalam aktivitas sitotoksik dengan pengujian ke fraksi-fraksinya.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah dapat disusun rumusan masalah sebagai berikut :

1. Apakah fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak etanol daun tumbuhan sala mempunyai efek antikanker terhadap sel Vero?
2. Kandungan senyawa kimia apakah yang terdapat dalam fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak etanol daun tumbuhan sala dilihat dari profil kromatografi lapis tipis?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah, maka penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui efek antikanker dari fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak daun tumbuhan sala terhadap sel Vero.
2. Mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam fraksi nonpolar, semipolar, dan polar ekstrak etanol daun tumbuhan sala dengan Kromatografi Lapis Tipis.

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman *Cynometra ramiflora* Linn.

a. Klasifikasi

Hasil determinasi tumbuhan yang telah dilakukan oleh pusat penelitian biologi-LIPI dengan nomor 495/IPH.1.02/If.8/IV/2010, daun tumbuhan Sala termasuk ke dalam famili Fabaceae. Kedudukan tumbuhan sala dalam sistem tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisio : Magnoliophyta
 Subdivision : Spermatophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Fabales
 Familia : Fabaceae
 Genus : *Cynometra*
 Spesies : *Cynometra ramiflora* Linn.(LIPI, 2010).

b. Nama Daerah dan Nama Asing

Di berbagai belahan dunia terdapat beberapa nama lain untuk tumbuhan sala antara lain : *balitbitan* (Filipina), *nam-nam* (Indonesia), *nam-nam* (Jawa, Sunda), *cynometre ramiflore* (Perancis), *nam-nam* (Inggris) (Ramadanil, 2008).

c. Kandungan Kimia

Pada tumbuhan jenis mangrove ditemukan senyawa fenolik, polifenol, flavonoid dan katekin, sedangkan tumbuhan sala termasuk jenis mangrove sehingga diduga juga mengandung senyawa tersebut (Park, 2004).

d. Khasiat tanaman

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa tumbuhan sala dari berbagai negara dapat berpotensi sebagai antibakteri (Khan *et al.*, 2006), antidiabetes (Tiwari *et al.*, 2008), dan aktif terhadap beberapa sel uji kanker, seperti lambung, kolon, payudara, dan sel kultur (Uddin *et al.*, 2009).

2. Fraksinasi

Pada percobaan kali ini dilakukan proses fraksinasi yang diharapkan dapat menghasilkan hasil yang lebih spesifik di banding dengan ekstraknya. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hamper semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Depkes RI, 1995).

Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu zat dari suatu campuran (ekstrak), teknik pemisahan tersebut dilakukan dengan bermacam-macam cara, seperti kromatografi dan ekstraksi cair-cair. Kromatografi adalah teknik pemisahan zat yang menggunakan fase diam dan fase gerak.

3. Kanker

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). Berbagai faktor penyebab kanker antara lain zat-zat karsinogenik, virus-virus onkogenik, faktor herediter, faktor lingkungan, faktor sosio-ekonomi (Pasaribu, 2006).

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).

Obat-obat antikanker yang ideal paling tidak bisa memberantas sel-sel kanker tanpa merusak jaringan-jaringan normal. Agen-agen yang ada sekarang ini belum memenuhi kriteria tersebut, dan penggunaan klinis obat-obat ini

menyangkut pertimbangan manfaat-manfaatnya terhadap toksisitas dalam upaya mencari indeks terapeutik yang menguntungkan (Katzung, 2004).

4. Sel Vero

Sel Vero merupakan sel monolayer berbentuk poligonal dan pipih yang diisolasi dari sel ginjal monyet hijau Afrika oleh Yasumura dan Kawakita di universitas Chiba, Jepang. Sel ini merupakan tipe sel *immortal, non tumorigenic fibroblastic cell* (Goncalves *et al.* 2006).

Sel Vero memiliki jumlah interferon yang lebih sedikit dibandingkan dengan sel mamalia normal. Sel ini tidak memiliki kemampuan untuk mensekresikan interferon tipe 1 ketika diinfeksi oleh virus. Kekurangan interferon pada sel vero mengakibatkan sel ini sangat sensitif jika terinfeksi oleh berbagai jenis virus (Goncalves *et al.* 2006).

Sel Vero biasa digunakan untuk mempelajari pertumbuhan sel, diferensiasi sel, sitotoksitas, dan transformasi sel yang diinduksi oleh berbagai senyawa kimia. Sel ini juga direkomendasikan untuk dijadikan sebagai sel model dalam mempelajari karsinogenesis secara *in vitro*. Adanya sel Vero memudahkan dalam mempelajari perubahan sel yang meliputi pertumbuhan dan morfologinya akibat induksi berbagai senyawa kimia (Goncalves *et al.* 2006).

5. Uji sitotoksik

Uji sitotoksik digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel (Meiyanto, 2003). Akhir dari uji sitotoksitas dapat memberikan informasi % sel yang mampu bertahan hidup, sedangkan pada organ target memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Doyle & Griffith, 2000).

Metode MTT assay adalah metode yang sensitif, cepat, dan akurat yang dapat digunakan dalam pengukuran sampel dalam jumlah banyak (Doyle & Griffith, 2000).

E. Landasan Teori

Hasil penelitian oleh Subarnas *et al.*, (2012) menyatakan bahwa aktivitas antiproliferasi ekstrak daun sala terhadap sel MCF-7 menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 317 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini dapat disimpulkan bahwa efek sitotoksiknya sangat lemah. Nilai IC_{50} apabila lebih dari 100 $\mu\text{g/mL}$ maka dapat dianggap sitotoksitasnya sangat lemah.

Menurut Hutapea (1993) *Cynometra cauliflora* Linn. mengandung senyawa kimia flavonoid. Tumbuhan *Cynometra ramiflora* Linn. dengan *Cynometra cauliflora* Linn. masih termasuk satu genus jadi kemungkinan kemiripan memiliki senyawa flavonoidnya relatif besar. Sebagian besar golongan flavonoid tidak memiliki potensi ketoksikan terhadap sel normal (Ren *et al.*, 2003).

Penelitian yang dilakukan oleh Haryoto *et al.*, (2013) membuktikan bahwa ekstrak etanol daun tumbuhan Sala memiliki aktivitas antikanker dengan sel T47D, WiDr dan HeLa yang mempunyai nilai IC_{50} berturut turut sebesar 0,41 $\mu\text{g/mL}$, 6,37 $\mu\text{g/mL}$, dan 1,92 $\mu\text{g/mL}$.

F. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori diatas, dapat diambil hipotesis bahwa senyawa flavonoid cenderung polar sehingga pada fraksi polar ekstrak daun tumbuhan Sala mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker namun tidak bersifat toksik pada sel Vero. Fraksi nonpolar dan semipolar kemungkinan tidak mengandung flavonoid sehingga tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker dan sel Vero.