

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Kanker dan Kanker Serviks

Normalnya sel tubuh akan membelah dan hidup pada jangka waktu tertentu untuk melakukan fungsinya (bisa hidup selama beberapa menit hingga hitungan tahun tergantung jenis sel tersebut). Sel yang telah melewati masa hidup akan mulai menurun fungsinya dan terjadilah proses apoptosis karena telah digantikan oleh sel muda yang akan menjalankan fungsi organ tersebut. Gen yang termasuk kelompok protoonkogen dan *tumor suppressor* gen dan gen lain yang mengatur pemendekan telomer pada ujung kromosom dan berperan pada siklus pembelahan sel. Gen-gen tersebut mengalami kecacatan/mutasi sehingga muncul berbagai protein yang abnormal. Adanya protein yang abnormal tersebut memicu perubahan perilaku sel sehingga kemampuan proliferasi dan diferensiasi sel meningkat dan akhirnya muncul sel kanker. Protoonkogen yang mengalami mutasi disebut onkogen, dimana protein yang dikelola oleh onkogen akan bersifat overaktif. Pada kanker terjadi ekspresi berlebihan onkogen yang berperan sebagai antiapoptosis sehingga sel menjadi *immortal* (Sudiana, 2011).

Faktor penyebab kanker (Kementrian Kesehatan RI, 2015):

1. Faktor genetik
2. Faktor perilaku/gaya hidup, misalnya merokok, pola makan yang tidak sehat, konsumsi alkohol dan kurangnya aktivitas fisik

3. Paparan karsinogen, radiasi, obat-obatan yang menginduksi kanker zat kimia berbahaya dan Infeksi.

Penyebab kanker serviks salah satunya adalah *Human Papilloma Virus* (HPV). Sekitar 95% kasus kanker serviks ditemukan virus HPV walaupun tidak semua pasien yang terinfeksi HPV akan menderita kanker serviks. Hal ini didukung dengan adanya data dari *ICO Information Centre on HPV and Cancer* yang melakukan penelitian tentang prevalensi penyakit kanker serviks di Indonesia yang disebabkan oleh HPV. ICO menyebutkan bahwa dari seluruh responden yang terinfeksi HPV, 87,7% pasien terdiagnosa kanker serviks. Di Indonesia, populasi wanita yang berumur di atas 15 tahun adalah 93,15 juta wanita dan berisiko untuk terinfeksi HPV (Bruni, *et al.*, 2015).

HPV adalah virus yang penyebarannya melalui hubungan seksual. Faktor resiko utama menyebarnya HPV adalah hubungan seksual diusia yang masih muda, memiliki beberapa pasangan seksual dan pasangan seksual yang berisiko tinggi, serta adanya riwayat penyakit menular seksual (Stern, *et al.*, 2004).

Deteksi dini kanker serviks dapat dilakukan dengan cara *pap's smear* dan IVA (Inspeksi Visual dengan Asam asetat) secara rutin (Kementerian Kesehatan RI, 2015). Stadium kanker serviks dibagi menjadi 4 tingkatan berdasarkan ukuran tumor, lokasi tumor, metastasnya ke kelenjar limpa, metastasnya ke organ lain dan kedalaman invasi tumor (KPKN, 2015).

Stern, *et al* (2004) menyebutkan bahwa perkembangan dan penyebaran sel kanker dapat dihambat melalui beberapa cara:

1. Massa kanker dihilangkan dengan operasi
2. Kemoterapi atau terapi spesifik lainnya (misalnya terapi hormon)
3. Terapi dengan radiasi
4. Massa kanker menyusut dan kemudian hilang dengan sendirinya.

#### **B. *Ageratum conyzoides* L. (Herba Bandotan)**

Berikut tingkatan takson dari herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Bangsa	: <i>Asterales</i>
Suku	: <i>Asteraceae</i>
Marga	: <i>Ageratum</i>
Jenis	: <i>Ageratum conyzoides</i> L.
Nama umum	: Bandotan (jawa), Babandotan (sunda).



**Gambar 1.** Tanaman Bandotan

Deskripsi tanaman: *Ageratum conyzoides* L. adalah tumbuhan terna semusim yang tegak dan tingginya sekitar 30-90 cm. Daunnya bulat dengan ujung yang meruncing dan bertangkai serta serat daunnya saling berhadapan. Batangnya berbulu tebal dan berbentuk bulat. Bunga majemuk berkumpul 3 atau lebih dan biasanya berwarna biru hingga hijau, buah berwarna hitam, berbentuk bulat dan ukurannya kecil (Direktorat Obat Asli Indonesia, 2010).

*Ageratum conyzoides* L. (herba bandotan) adalah salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai alternatif agen ko-kemoterapi karena mengandung bahan aktif alkaloid, benzofuran, terpenoid, 21 senyawa flavonoid polioksigenasi (Chauhan dan Rijhwani, 2015), kromen, kromon, koumarin, dan sterol (Okunade, 2002). Senyawa flavonoid dalam *Ageratum conyzoides* L. yaitu nobiletin diperkirakan berperan pada aktivitas antikanker (Hsiao, *et al.*, 2014) sehingga dapat dikombinasikan dengan obat kanker dan diharapkan bekerja secara sinergis sebagai ko-kemoterapi.

### **C. Ekstraksi dan Fraksinasi**

Ekstraksi adalah pemisahan bahan menggunakan pelarut yang sesuai sehingga bahan yang diinginkan dapat terpisah dari campurannya (Mukhriani, 2014). Tujuan ekstraksi yaitu untuk menarik komponen kimia yang diinginkan yang terdapat pada bahan alam, hewan, beberapa jenis ikan dan biota laut. Ekstraksi didasarkan pada prinsip perpindahan senyawa dari simplisia atau bahan yang akan diekstraksi ke dalam pelarut yang dimulai dengan adanya tekanan antarmuka kemudian pelarut berdifusi masuk ke dalam simplisia (Harbone, 1987). Untuk mendapatkan hasil ekstraksi yang

optimal harus dilakukan persiapan dan perencanaan berupa pemilihan pelarut dan metode ekstraksi yang sesuai serta persiapan awal sebelum simplisia diekstraksi (Sarker, *et al.*, 2005).

Metode ekstraksi yang paling sering digunakan adalah maserasi karena proses yang mudah dan murah. Ekstraksi dengan metode maserasi dilakukan dengan mencampurkan 10 bagian simplisia dengan 75 bagian penyari kemudian disimpan selama 5 hari sambil sesekali diaduk. Setelah 5 hari simplisia disaring dan diperas kemudian dimaserasi kembali hingga penyari/pelarut tidak berwarna lagi (Harbone, 1987).

Produk alam hasil ekstraksi merupakan hasil penyarian sederhana yang masih mengandung banyak senyawa sehingga sulit untuk melakukan pemisahan senyawa tunggal yang berasal dari ekstrak kasar. Oleh karena itu, perlu dilakukan pemisahan awal menjadi beberapa fraksi dimana senyawa bisa dikelompokkan berdasarkan kemiripan kepolaran maupun ukuran molekul senyawanya. Fraksinasi dapat dilakukan dengan beberapa metode, misalnya dengan pemisahan menggunakan dua fase yaitu ekstraksi cair-cair, kromatografi kolom, kromatografi vakum cair, *size-exclusion chromatography* (SEC) dan *solid-phase extraction* (SPE) (Sarker, *et al.*, 2005).

#### **D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Kromatografi lapis tipis merupakan kromatografi berbentuk planar, selain kromatografi kolom dan elektroforesis. Kromatografi lapis tipis merupakan bentuk terbuka dari kromatografi kolom dimana fase diamnya berupa lapisan

yang seragam (*uniform*) pada permukaan bidang datar yang menempati lempeng kaca, pelat aluminium atau pelat plastik sedangkan pada kromatografi kolom fase diamnya diisi di dalamnya. Kromatografi lapis tipis pertama kali dikembangkan tahun 1938 oleh Izmailoff dan Schraiber (Gandjar, 2014).

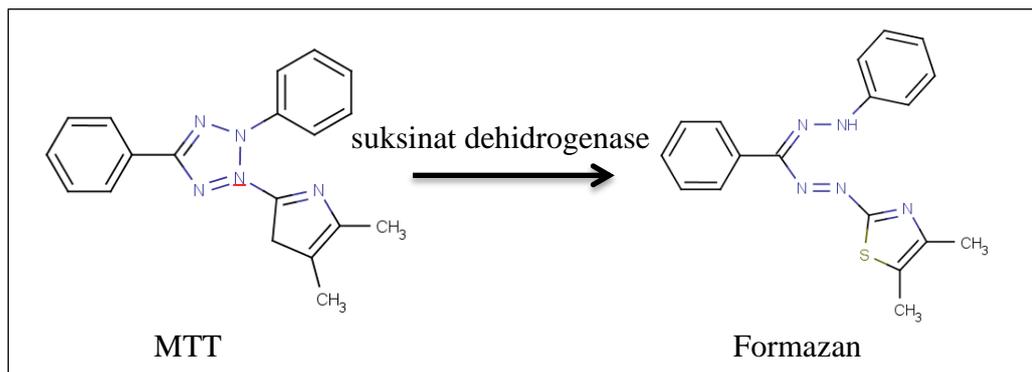
Sebagaimana kromatografi pada umumnya, KLT terdiri atas fase diam dan fase gerak. Fase diam pada kromatografi lapis tipis adalah penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30  $\mu\text{m}$ . Penjerap yang paling sering digunakan adalah silika dan selulosa. Fase geraknya merupakan pelarut pengembang yang akan bergerak sepanjang fase diam karena adanya pengaruh kapiler sehingga terjadi elusi menaik (*ascending*) dan elusi menurun (*descending*) karena pengaruh gaya gravitasi (Gandjar, 2014).

Dalam pelaksanaannya KLT lebih mudah dan murah dibandingkan kromatografi kolom sehingga memungkinkan untuk dilakukan dimana saja secara cepat. Keuntungan lainnya adalah identifikasi komponen pemisahan bisa dilakukan melalui reaksi warna, fluoresensi atau radiasi dengan sinar ultraviolet dan lebih tepat dalam pengukuran kadarnya karena komponen yang diukur tidak bergerak (Gandjar, 2014).

#### **E. Uji Sitotoksik**

Pengujian sitotoksik bisa dilakukan dengan menggunakan metode MTT *assay*. MTT ((3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) *assay* merupakan suatu metode yang digunakan untuk uji sitotoksik, proliferasi dan aktivitas sel. Pengukuran metode MTT *assay* didasarkan pada

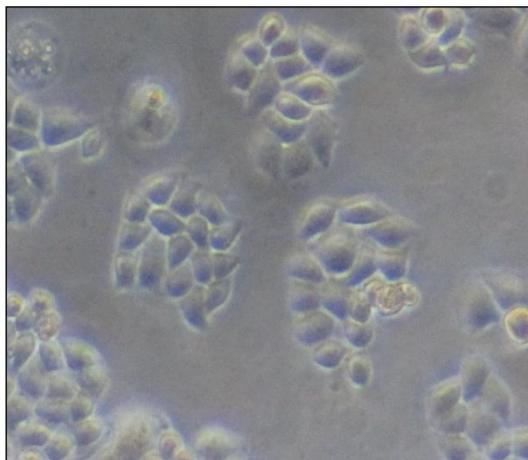
reaksi warna yang terbentuk karena adanya garam tetrazolium (MTT) yang bereaksi dengan enzim suksinat dehidrogenase pada mitokondria sel hidup membentuk kristal formazan yang berwarna ungu sehingga dapat menggambarkan konsentrasi sel hidup setelah pemberian perlakuan. Semakin tinggi intensitas warna yang dihasilkan, semakin besar pula jumlah sel yang tetap hidup setelah diberi perlakuan. Kelebihan utama metode kolorimetri menggunakan MTT *assay* adalah proses yang cepat dan hasil yang presisi serta pengukuran dapat dilakukan beberapa menit setelah pemberian asam isopropanol (Mosmann, 1983).



**Gambar 2.** Reaksi pembentukan kristal formazan dari MTT

## F. Sel HeLa

Sel HeLa merupakan sel epitel yang berasal dari sel kanker serviks pasien kanker bernama Henrietta Lacks sehingga sel tersebut diberi nama HeLa. Sel HeLa telah diperbanyak melalui metode kultur sel dan dikembangkan beberapa turunan yang telah banyak digunakan dalam penelitian-penelitian antikanker secara *in vitro*. Sel ini memiliki enzim telomerase yang aktif selama pembelahan sel untuk menghindari terjadinya pemendekan telomer (Skloot, 2010).



**Gambar 3.** Morfologi sel HeLa (Perbesaran 100x)

### ***G. Molecular Docking***

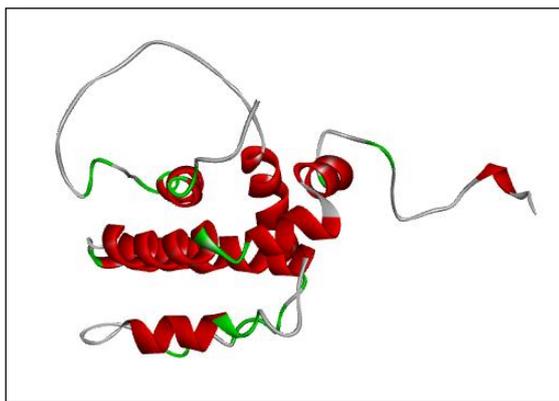
Langkah pengembangan obat baru dilakukan dengan beberapa tahap dan melalui berbagai uji. Sebelum dilakukan uji klinik terhadap manusia maka senyawa akan melewati uji *in vivo* dan *in vitro* di laboratorium. Selain itu, pengembangan obat baru juga bisa didukung dengan uji *in silico*, yaitu uji farmakodinamik maupun farmakokinetik suatu senyawa melalui pemodelan molekul menggunakan aplikasi komputer (Kumar, 2013) untuk memprediksi *Structure Activity Relationship* (SAR) suatu senyawa terhadap protein targetnya. Uji *in silico* juga digunakan untuk mengidentifikasi ligan yang berpotensi menghambat aktivitas protein tertentu atau mengetahui struktur tiga dimensi ligan-reseptor. Kelebihan *molecular docking* adalah kemampuan memprediksi yang akurat (Ferreira, 2015).

Aplikasi yang digunakan untuk kegiatan *molecular docking* antara lain PLANTS dan Autodock serta yang terbaru adalah Autodock Vina. Beberapa aplikasi tersebut bisa diunduh secara gratis dan bisa digunakan dengan mudah. Selain aplikasi utama untuk *molecular docking*, dibutuhkan beberapa

aplikasi pendukung lainnya, misalnya Yasara, Marvin Sketch, Phytion, Open Babel, DS Visualizer, dan MGLTools.

#### H. Bcl-xl (*B Cell Lymphoma Extra Large*)

Bcl-xl merupakan salah satu protein keluarga Bcl-2 yang berperan dalam regulasi apoptosis dan memiliki aktivitas sebagai penghambat apoptosis (antiapoptosis). Pada pasien kanker, protein Bcl-xl mengalami peningkatan ekspresinya sehingga menginisiasi kanker dan resistensi obat kanker. Penghambatan ekspresi protein ini potensial untuk dikembangkan sebagai salah satu jalur terapi kanker (Oltersdorf *et al.*, 2005).



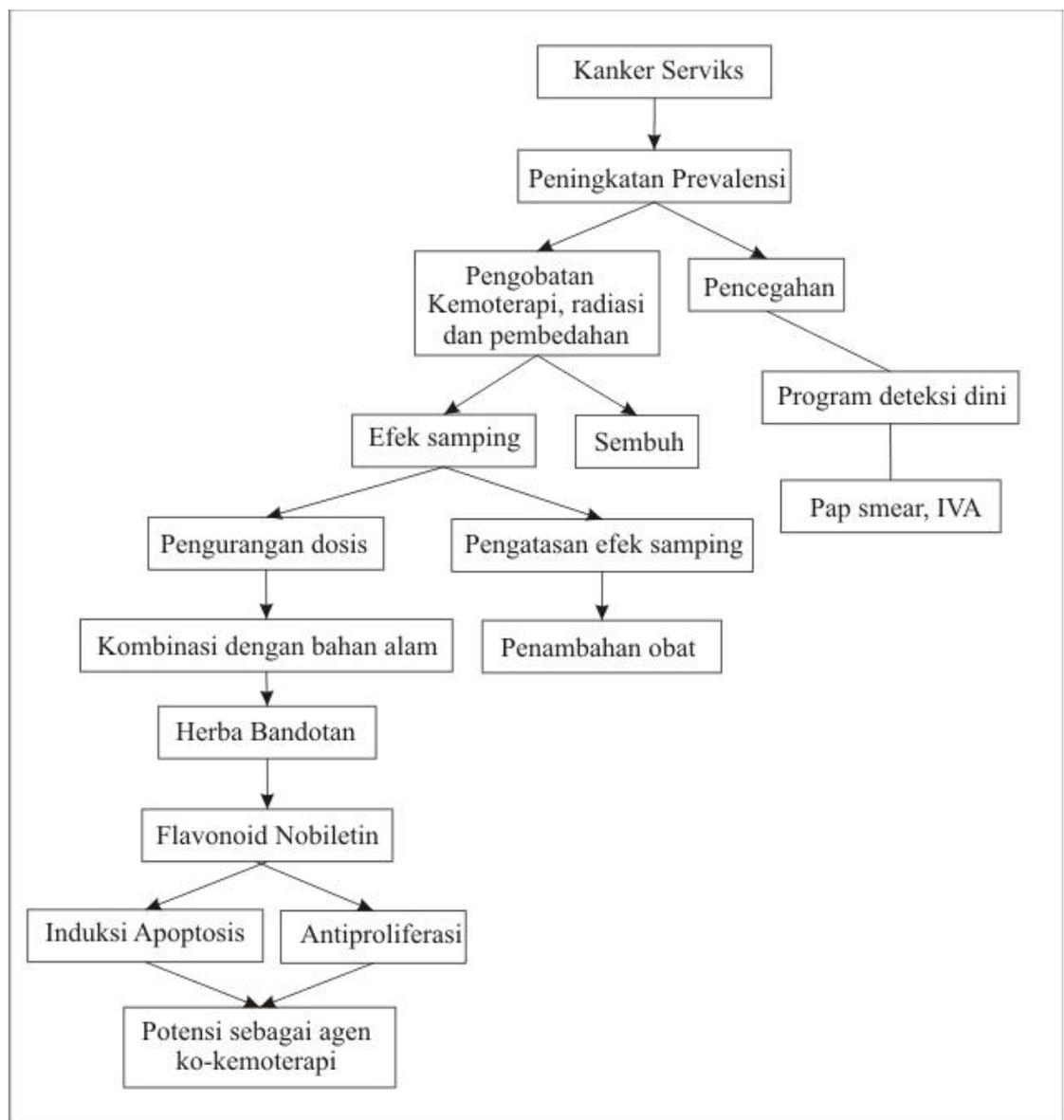
**Gambar 4.** Struktur 3D protein Bcl-xl

#### I. 5-Fluorourasil

Senyawa 5-fluorourasil merupakan turunan pirimidin yang digunakan sebagai antagonis pirimidin pada tumor payudara, usus besar, rektum, lambung, hati dan pankreas yang telah mengalami penyebaran. Kombinasi dengan obat antikanker yang lain seperti metotreksat, siklofosamid dan adriamisin dapat meningkatkan efektivitasnya hingga 20-30% (Tjay dan Rahardja, 2002). Mekanisme kerja 5-Fluorourasil adalah pembentukan 3

metabolit aktifnya yaitu *Fluoro-deoxyuridine Monophosphate* (FdUMP), *Fluorodeoxyuridine Triphosphate* (FdUTP) dan *Fluorouridine Triphosphate* (FUTP). Metabolit 5-Fluorourasil tersebut akan difosforilasi di dalam tubuh sehingga terjadi kerusakan DNA maupun RNA (Ikawati dan Sarmoko, 2011).

## J. Kerangka Konsep



**Gambar 5.** Kerangka Konsep

**K. Hipotesis**

1. Fraksi kloroform herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L) mengandung senyawa flavonoid
2. Fraksi kloroform herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L) dan 5-Fluorourasil memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker serviks HeLa
3. Kombinasi fraksi kloroform herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L) dan 5-Fluorourasil memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker serviks HeLa
4. Senyawa nobiletin pada fraksi kloroform herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) berpotensi tinggi dalam menghambat ekspresi protein Bcl-xl berdasarkan *molecular docking*.