

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Tanaman Teh (*Camellia sinensis*)

a. Klasifikasi

Tanaman teh yang secara umum dibudidayakan di Indonesia dengan klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta (tumbuhan biji)
Sub divisi	: Angiospermae (tumbuhan biji terbuka)
Kelas	: Dicotyledonae (tumbuhan biji belah)
Sub Kelas	: Dialypetalae
Ordo (bangsa)	: Guttiferales (<i>Clusiales</i>)
Familia (suku)	: Camelliaceae (<i>Theaceae</i>)
Genus (marga)	: <i>Camellia</i>
Spesies (jenis)	: <i>Camellia Sinensis</i>



Gambar 1. *Camellia Sinensis* (Daun Teh Hitam) (Surtiningsih, 2005)

Teh (*Camellia sinensis*) adalah jenis minuman non alkohol yang terbuat dari daun teh yang mengalami proses pengolahan tertentu. Menurut Setyamidjaja (2008) bahan kimia yang terkandung dalam daun teh terdiri dari empat kelompok yaitu substansi bukan fenol (pektin, resin, vitamin, dan mineral), substansi aromatic, dan enzim-enzim. Teh mengandung tanin, kafein, dan flavonoid. Flavonoid yang terkandung dalam teh merupakan antioksidan yang dapat membantu mencegah penyakit kardiovaskuler (Surtiningsih, 2005). Berdasarkan varietasnya, teh dibagi menjadi dua yaitu *Camellia sinensis varietas Assamica* dan *Camellia sinensis varietas Sinensis*. Di Indonesia, sebagian besar tanamannya berupa *Camellia Sinensis varietas Assamica*. Salah satu kelebihan dari *varietas Assamica* ini adalah kandungan polifenolnya yang tinggi. Oleh karena itu, teh Indonesia lebih berpotensi dalam hal kesehatan dibandingkan teh Jepang maupun teh China yang mengandalkan varietas *sinensis* sebagai bahan baku (Krisna, 2015). Semua varietas teh diproduksi dari tanaman teh. Tanaman teh tumbuh baik pada daerah yang lembab, curah hujan cukup tinggi, dan tingkat keasaman tanah rendah. Tanaman teh yang tumbuh baik akan menghasilkan teh yang berkualitas (Krisna, 2015).

b. Proses Produksi Teh Hitam

Teh hitam adalah jenis teh yang dalam pengolahannya melalui proses fermentasi secara penuh. Fermentasi tidak menggunakan mikroba sebagai sumber enzim, tetapi menggunakan enzim polyphenol

oksidase yang terdapat di dalam daun teh itu sendiri (Ratnawati, 2015). Aktivitas enzim sangat berperan untuk membentuk pigmen theaflavin dan thearubigin 16-21. Meskipun proses produksi teh hitam tergantung pada daerah masing-masing, namun secara umum proses produksi teh hitam adalah sebagai berikut : pemetikan daun teh, pelayuan, penggulungan, fermentasi, dan pengeringan. Tahapan produksi teh hitam tersebut, fermentasi merupakan bagian yang krusial dalam menentukan kualitas teh hitam, yang ditunjukkan dengan oksidasi katekin menjadi produk-produknya, yaitu *theaflavin* dan *thearubigin* (Norahmawati, 2015).

2. Kanker

a. Definisi

Kanker adalah sekelompok penyakit yang ditandai oleh pertumbuhan dan perkembangan sel – sel yang tidak terkontrol dan abnormal. Kanker dapat dicetuskan oleh faktor eksternal dan faktor internal yang memicu terjadinya karsinogenesis (proses pembentukan kanker). Faktor eksternal dapat juga berupa infeksi, radiasi zat kimia tertentu, dan juga konsumsi tembakau. Faktor internal yang bisa menyebabkan kanker adalah mutasi gen (baik karena diturunkan atau akibat metabolisme), hormon dan kondisi sistem imun seseorang (American Cancer Society, 2008). Terdapat lebih dari 100 jenis kanker dan setiapnya diklasifikasi berdasarkan jenis sel yang terlibat. Sejalan dengan pertumbuhan dan kembangbiaknya, sel-sel kanker membentuk

suatu massa dari jaringan ganas yang menyusup ke jaringan sehat di sekitarnya yang dikenal sebagai invasif. Di samping itu, sel kanker dapat menyebar (metastasis) ke bagian alat tubuh lainnya yang jauh dari tempat asalnya melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening sehingga tumbuh kanker baru di tempat lain dan hasilnya adalah suatu kondisi serius yang sangat sulit untuk diobati.

Ada lima kelompok besar yang digunakan untuk mengklasifikasikan kanker yaitu karsinoma, sarkoma, limfoma adenoma dan leukemia (National Cancer Institute, 2009).

- 1) Karsinoma ialah kanker yang berasal dari kulit atau jaringan yang menutupi organ internal.
- 2) Sarkoma ialah kanker yang berasal dari tulang, tulang rawan, lemak, otot, pembuluh darah, atau jaringan ikat.
- 3) Limfoma ialah kanker yang berasal dari kelenjar getah bening dan jaringan sistem kekebalan tubuh.
- 4) Adenoma ialah kanker yang berasal dari tiroid, kelenjar pituitari, kelenjar adrenal, dan jaringan lainnya.
- 5) Leukimia ialah kanker yang berasal dari jaringan pembentuk darah seperti sumsum tulang dan sering menumpuk dalam aliran darah.

Menurut Hanahan dan Weinberg (2011), sel kanker secara genotif mempunyai ciri-ciri yang menyebabkan pertumbuhannya bersifat *malignant* dan merupakan manifestasi dari enam perubahan esensial fisiologi sel, yaitu :

- 1) Mempunyai kemampuan untuk mencukupi kebutuhan sinyal pertumbuhannya sendiri.
- 2) Tidak sensitif terhadap sinyal antipertumbuhan.
- 3) Mempunyai kemampuan untuk menghindari program apoptosis.
- 4) Mempunyai kemampuan untuk mengadakan replikasi yang tidak terbatas.
- 5) Memiliki kemampuan angiogenesis sehingga mampu bertahan hidup.
- 6) Mampu mengadakan invasi ke jaringan sekitarnya dan membentuk metastasis.

3. Penyebaran Kanker

Dalam proses penyebarannya, sel-sel kanker menyebar melalui beberapa cara, di antaranya sel kanker menyebar ke jaringan di sekitarnya atau menyebar melalui aliran darah ke organ-organ tubuh lainnya atau bisa juga menyebar melalui sistem limfa. Secara umum, kanker juga tidak menular, baik melalui aliran darah, air liur, atau kuman, tetapi virus ditularkan secara tidak langsung. Kecuali pada beberapa kasus kanker seperti HIV, kanker serviks, kanker hati, dan beberapa jenis limfoma.

Seperti yang sudah di singgung di atas, kanker terjadi karena proses mutasi gen yang terjadi dalam tubuh. Proses mutasi ini terjadi dengan dua cara, yaitu :

- a. Mutasi terjadi karena kesalahan dalam proses pembagian sel, yaitu saat sel-sel berkembang secara masif dan tidak terkendali.

- b. Mutasi bisa terjadi karena DNA yang rusak akibat bahan-bahan berbahaya seperti radiasi dan radikal bebas. Kerusakan dari radikal bebas bisa di cegah dengan pengikatan radikal bebas oleh antioksidan (Riksani, 2015).

4. Proliferasi

Proliferasi sel merupakan pengukuran jumlah sel yang tumbuh dan membelah dalam medium kultur sel secara *in vitro*. Proses ini dapat di ketahui dengan adanya viabilitas, konfluenitas dan abnormalitas pada sel kultur. Viabilitas didefinisikan sebagai jumlah sel-sel yang mampu berkembang dalam medium kultur. Konfluen yaitu meratanya sel sebagai sel monolayer sampai menutupi tissue disk. Abnormalitas apabila sel tersebut berukuran melebihi ukuran sel normal dan mengalami perubahan bentuk dari asalnya. Proliferasi sel menghasilkan dua sel yang berasal dari satu sel. Keadaan ini membutuhkan pertumbuhan sel yang kemudian diikuti oleh pembelahan (*divisi*) sel. Pertumbuhan sel yang tidak terkendali merupakan ciri khas kanker. Sel kanker secara umum berisi biomolekul yang diperlukan untuk bertahan, proliferasi, diferensiasi, kematian sel dan ekspresi tipe sel dengan fungsi khusus (*cell-typespecific functions*). Kegagalan regulasi fungsi inilah yang menghasilkan perubahan fenotip dan kanker. Pada jaringan normal, proliferasi sel mengarah kepada penambahan jaringan. Dimana jumlah sel tidak hanya tergantung kepada proliferasi sel tetapi juga oleh kematian sel. Keseimbangan antara produksi sel baru dan kematian sel itulah yang mempertahankan sel yang tepat pada jaringan (*homeostasis*) (Willie, 2005).

5. Migrasi

Sel-sel kanker dapat berkembang dengan cepat, tidak terkendali dan akan terus membelah diri, dan selanjutnya akan menyusup ke jaringan di sekitarnya (invasif) dan terus menyebar melalui jaringan ikat, darah, dan menyerang organ-organ penting serta saraf tulang belakang. Sel-sel normal hanya akan membelah apabila terdapat sel-sel yang mati, namun tidak demikian dengan sel kanker, sel tersebut akan terus menerus membelah bahkan saat tidak dibutuhkan. Akibatnya akan terjadi penumpukan sel baru yang terus merusak dan mendesak jaringan normal sehingga mengganggu organ yang ditempatinya. Penderita penyakit kanker di Indonesia terus meningkat setiap tahunnya, penderita dengan usia di atas 40 tahun memiliki risiko lebih tinggi (Mangan, 2009).

Setiap saat, jutaan sel di dalam tubuh manusia bergerak, sel-sel tersebut biasanya bergerak untuk memandu respon sistem kekebalan tubuh, melakukan perbaikan, atau menghasilkan sesuatu yang bermanfaat bagi struktur yang ada di sekelilingnya. Pada saat migrasi sel berjalan tidak sesuai, hal tersebut dapat menyebabkan timbulnya tumor dan penyebaran kanker (Schwarz, 2012).

Proses penyebaran (metastase) terjadi karena ada interaksi antara sel kanker dengan sel tubuh normal penderita. Sel-sel tubuh mempunyai daya tahan, baik mekanis, maupun immunologis, sedang sel kanker mempunyai daya untuk mengadakan invasi, imobilisasi, dan metastasis. Pada proses metastasis, sel kanker menginvasi dan masuk ke dalam pembuluh darah dan akan :

- a. Terhenti pada suatu tempat dan menempel pada endothel pembuluh darah

Sel kanker yang masuk sirkulasi dapat sendirian atau bergerombol dengan bekuan darah membentuk emboli. Tidak semua sel kanker yang masuk sirkulasi dapat tumbuh menjadi metastasis. Sebagian besar akan mati dan yang tahan hidup pada suatu tempat pada endothel kapiler dalam organ akan melekat dengan bantuan glikoprotein, seperti fibronektin, laminin dan reseptor membran sel penderita. Berhasil atau tidaknya sel kanker melekat dan tumbuh di situ tergantung pada keadaan organ di tempat itu, apakah sesuai atau tidak.

- b. Sel kanker merusak membran basal dan matriks pembuluh darah

Setelah melekat pada endothel membran basal, sel kanker itu mengeluarkan enzim, seperti protease, collagenase, cathepsin yang dapat merusak membran basal sehingga sel kanker dapat keluar dari pembuluh darah.

- c. Sel kanker migrasi ke jaringan ekstravaskuler

Sel kanker dengan gerakan amoeboid masuk ke jaringan ekstravaskuler dan tumbuh di situ membentuk koloni-koloni sel. Arah gerakan dipengaruhi oleh faktor kemotaksis yang dapat berasal dari serom, organ parenkim, atau membran basal yang mempengaruhi lokasi metastase.

d. Sel kanker merangsang pertumbuhan pembuluh darah baru

Untuk dapat tumbuh, perlu ada pasokan darah yang hanya diukupi dengan angiogenesis, yaitu pembentukan pembuluh darah baru, dan neovaskularisasi.

1) Peran Sistem Imun Tubuh Terhadap Kanker

Secara alamiah, sistem imun sebenarnya bekerja untuk menangkal sebagian besar sel kanker. Ketika sel kanker mulai menyerang, sistem imun sebenarnya bekerja untuk menangkal serangan sel kanker. Ketika sel kanker mulai menyerang, sistem imun langsung datang dan berupaya untuk mengusir sel-sel asing yang berpotensi menimbulkan kerusakan pada jaringan tubuh. Kekuatan sistem imun dalam menangkal serangan sel kanker sangat dipengaruhi oleh kemampuan tubuh dalam mempersiapkan sistem imun yang tangguh, yang dibangun oleh salah satunya dari makanan bergizi yang kaya akan antioksidan. Pada kenyataannya makanan yang kaya antioksidan dan vitamin D berjalan efektif dalam memperkuat respons imun tubuh.

6. Kanker Kolon

a. Definisi

Kanker kolon (usus besar) adalah pertumbuhan tumor yang bersifat ganas dan merusak sel DNA dan jaringan sehat di sekitar kolon dan rectum. Proses terbentuknya kanker kolon ini melibatkan akumulasi dari defek genetic, modifikasi protein dan interaksi sel

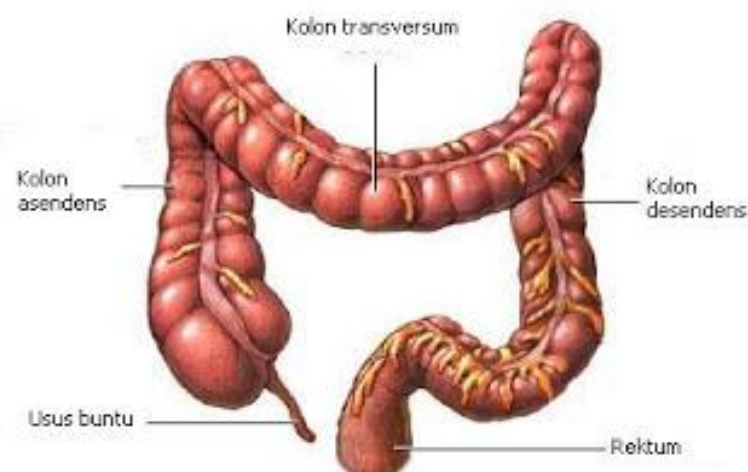
dengan matriks pada sel epitel kolon. Inflamasi kronik diduga berperan pada karsinogenesis dengan menghambat apoptosis, merusak DNA, dan menstimulasi proliferasi mukosa secara kronik. Perubahan pada populasi mikroba usus, baik pada spesies tertentu ataupun pada komposisinya secara keseluruhan, juga dapat menyebabkan inflamasi kronik (Tedja dan Abdullah, 2013).

b. Patofisiologi

Tubuh terdiri dari triliunan sel hidup. Sel tubuh normal tumbuh, membagi sel menjadi sel – sel baru, dan mati dengan cara yang teratur. Pada usia muda, sel – sel normal membelah lebih cepat untuk membantu proses perkembangan tubuh sedangkan pada dewasa, kebanyakan sel membelah hanya untuk menggantikan sel yang rusak, mati atau untuk memperbaiki saat cedera. Kanker dimulai ketika pembelahan sel – sel di bagian tubuh tertentu di luar kendali sehingga terjadi abnormalitas sel (ACS, 2015).

Kanker kolon merupakan kanker yang terjadi di bagian kolon. Kolon memiliki 4 bagian utama yaitu kolon asenden yaitu dimulai dari kantong kecil (sekum) yang merupakan tempat menempelnya usus buntu pada usus besar dan memanjang ke atas di sisi kanan perut. Bagian kedua dari kolon disebut kolon transversal. Bagian ini melintang dari sisi kanan sampai ke sisi kiri perut di bagian atas. Bagian ketiga adalah kolon desenden yaitu merupakan bagian kolon yang menurun di sisi kiri perut, bagian terakhir dari kolon adalah kolon sigmoid yaitu kolon yang memiliki bentuk sigmoid (ACS, 2015).

Dinding kolon terdiri dari beberapa lapisan. Kanker kolon dimulai dari lapisan yang paling dalam dan dapat berkembang ke semua lapisan. Rata – rata kanker kolon berkembang perlahan – lahan selama beberapa tahun. Sebelum kanker berkembang, pertumbuhan jaringan atau tumor biasanya dimulai sebagai polip non kanker pada lapisan dalam kolon. Jaringan tumor abnormal dapat bersifat jinak (bukan kanker) atau bersifat ganas (kanker). Tumor yang jinak adalah tumor bukan kanker. Beberapa polip dapat berubah menjadi kanker tetapi tidak semuanya. Hal tersebut tergantung jenis polipnya yaitu: polip adenoma yaitu polip yang dapat berubah menjadi kanker atau disebut juga kondisi prekanker. Jenis polip yang lain adalah polip hiperplastik dan polip inflamasi, umumnya bukan prekanker (Cappel, 2004).



Gambar 2. Usus Besar (Cappel, 2004)

c. Gejala Klinis

Gejala umum yang dapat dialami penderita kanker kolon antara lain nyeri perut, pendarahan rektal, perubahan kebiasaan buang air besar, seperti diare atau sembelit, dan terjadi penurunan berat badan. Gejala yang jarang timbul atau tidak umum terjadi pada penderita kanker kolon yaitu mual, muntah, anoreksia, dan distensi abdomen. Munculnya gejala bergantung pada lokasi kanker, ukuran kanker, dan metastasis. Letak kanker kolon di sebelah kiri lebih dapat menyebabkan obstruksi usus parsial atau seluruhnya karena lumen kolon sebelah kiri lebih sempit. Obstruksi parsial dapat mengakibatkan sembelit, mual, perut kembung, dan nyeri perut (Cappell, 2005).

d. Prevalensi Kanker dan Kanker Kolon

Total jumlah kasus kanker pada tahun 2012 adalah 14,1 juta yang terdiri dari kanker paru, kanker payudara, kanker kolon, kanker prostat, kanker hati, dan jenis kanker lainnya dengan jumlah kematian total akibat kanker sebesar 8,2 juta. Angka tersebut mengalami kenaikan dari tahun 2008 yaitu 12,7 juta kasus kanker dengan jumlah kematian sebesar 7,6 juta. Jenis kasus kanker yang paling banyak adalah kanker paru sebanyak 1,825 juta kasus dengan jumlah kematian sebesar 1,590 juta jiwa. Kemudian disusul oleh kanker payudara yaitu sebesar 1,677 juta kasus baru dengan jumlah kematian sebesar 0,522 juta jiwa. Sedangkan kanker kolon menempati urutan ketiga yaitu sebesar 1,361 juta kasus baru Dengan jumlah kematian sebesar 0,694

juta jiwa . Diperkirakan jumlah kasus baru dan kematian akibat kanker akan terus meningkat. Pada tahun 2030 diperkirakan akan terjadi 23,6 juta kasus kanker baru setiap tahunnya (IARC, 2013).

7. Tinjauan Sel WiDr

Sel WiDr merupakan sel kanker kolon manusia yang diisolasi dari kolon seorang wanita berusia 78 tahun. Sel WiDr merupakan turunan sel kanker kolon yang lain yakni sel HT-29. 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 yang memacu proliferasi sel WiDr (Palozza *et al.*, 2005).



Gambar 3. Sel Kanker Kolon WiDr (Sigmond *et. al.*, 2003).

WiDr merupakan salah satu sel yang memiliki sensitivitas yang rendah apabila diberi perlakuan dengan 5-fluorouracil (5-FU), agen kemoterapi golongan antimetabolite. Transfeksi WiDr dengan p53 normal pun tidak meningkatkan sensitivitasnya terhadap 5-FU (Giovannetti *et al.*, 2007). Resistensi sel WiDr terhadap 5-FU salah satunya disebabkan

oleh terjadi peningkatan ekspresi enzim timidilat sintetase yang menjadi target penghambatan utama dari 5-FU (Sigmond *et. al.*, 2003).

8. Doksorubisin (Dox)

Doksorubisin (Dox) merupakan agen kemoterapi yang paling umum digunakan untuk terapi kanker payudara. Dox diketahui memiliki potensi yang sangat baik dalam membunuh sel kanker (Bandyopadhyay dkk., 2010; Tam, 2013). Meskipun aktivitas anti tumornya sangat baik, Dox memiliki indeks terapi yang rendah dan kegunaan klinisnya terbatas karena toksisitas akut dan kronis seperti myelosupresi dan kardiotoxikitas akibat akumulasi dosis. Oleh karena itu, kombinasi pengobatan dengan obat non-toksik baru yang efektif dan dapat menurunkan dosis agen kemoterapi perlu dikembangkan (Bandyopadhyay dkk., 2010).

Doksorubisin (Dox) diketahui mampu mengaktivasi sinyal Transforming Growth Factor-Beta (TGF-Beta) pada sel kanker MDAMB-231 dan 4T1 pada uji secara *in vitro*. Dox dapat menginduksi epithelial-mesenchymal transition (EMT), mendorong invasi dan peningkatan sel dan peningkatan sel dengan fenotip sel induk pada sel kanker payudara 4T1 secara *in vitro*. Dox juga meningkatkan metastasis ke paru-paru pada model kanker xenograft orthotopik 4T1 (Bandyopadhyay dkk., 2010). Akibat dari aktivitas tersebut, Dox mampu menginduksi terjadinya migrasi ke jaringan lain.

9. Uji Sitotoksisitas Secara In Vitro

Uji *in vitro* kemo-resisten dan kemo-sensitivitas telah dikembangkan untuk memberikan informasi tentang karakteristik keganasan individual pasien untuk memprediksi respon potensi kanker mereka terhadap obat spesifik. Metode uji *in vitro* memberikan beberapa keuntungan, yaitu dapat digunakan sebagai langkah awal dalam pengembangan suatu obat, merupakan metode yang cepat, hanya memerlukan sedikit senyawa yang digunakan dalam pengujian, secara drastis dapat mengurangi penggunaan hewan laboratorium dan beberapa tujuan penggunaan kultur sel primer dari bermacam-macam organ target (hati, paru-paru, ginjal, kulit) dapat memberikan informasi tentang potensi efeknya pada sel target manusia secara langsung (Doyle dan Griffiths, 2010).

Uji sitotoksik digunakan untuk memprediksi keberadaan obat sitotoksik baru dari bahan alam yang berpotensi sebagai anti kanker. Adapun dasar dari percobaan ini antara lain, bahwa sistem penetapan aktivitas biologi akan menghasilkan kurva seharusnya berhubungan dengan efek *in vivo* dari obat sitotoksik yang sama (Padmi, 2008).

Metode uji sitotoksik yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah metode MTT, dimana prinsip kerjanya adalah terjadi reduksi garam kuning tetrazolium MTT oleh sistem reduktase. Suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan *reagen stopper* (bersifat detergenik) akan melarutkan kristal

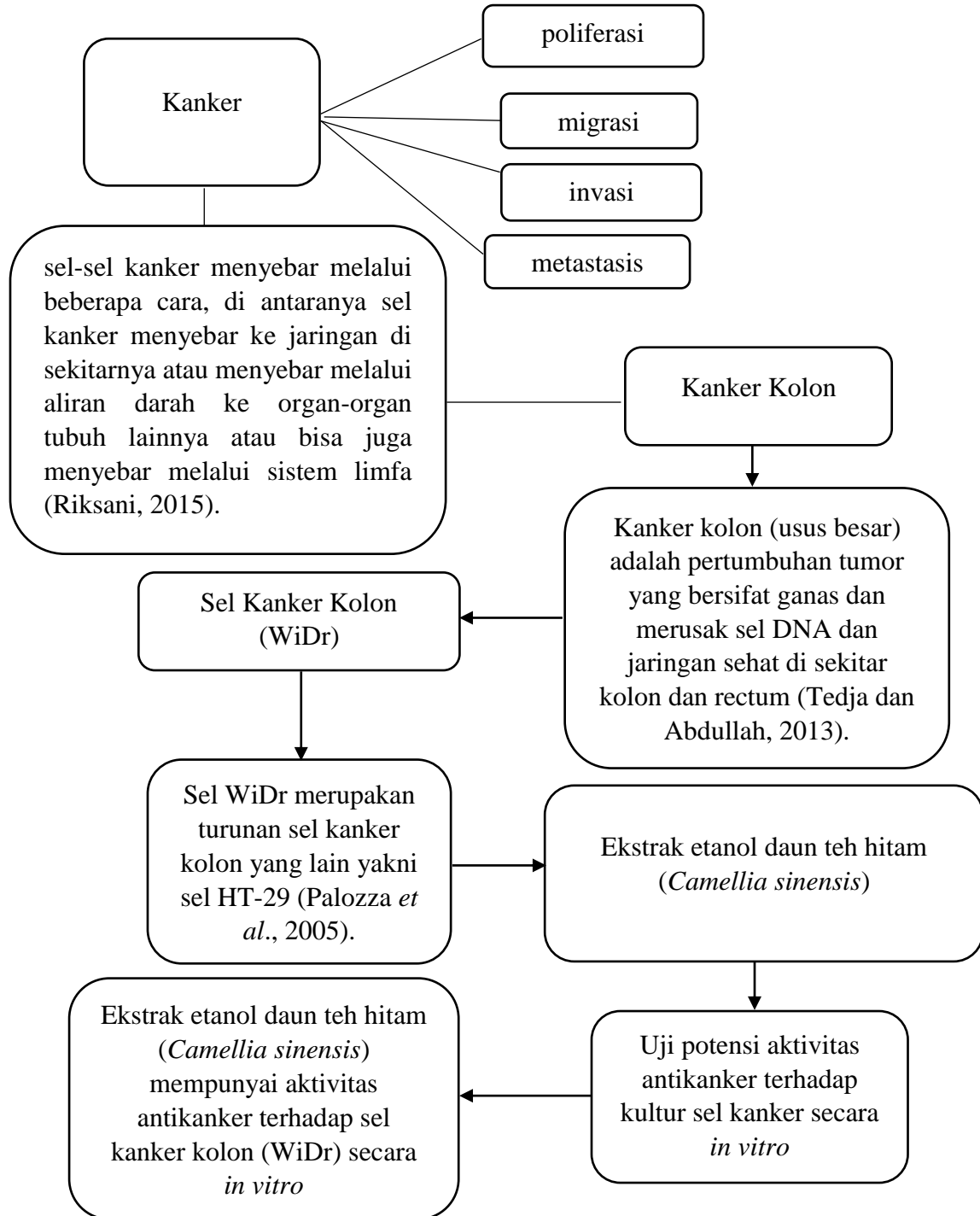
berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan ELISA *reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel yang hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak (Megawati, 2014).

10. Uji Scratch Wound Healing

Metode *scratch wound healing* merupakan metode *in vitro* untuk pengamatan migrasi sel yang paling sederhana dan ekonomis (CCRC, 2015). Metode *scratch* dilakukan untuk mengetahui aktivitas migrasi sel pada *in vivo* serta memudahkan dalam mengukur berbagai parameter migrasi sel seperti kecepatan, polaritas dan aktivitas signaling intraseluler (Firdaus, 2016). Migrasi sel yang dimaksud adalah pergerakan sel setelah dilakukan goresan sumuran kultur menggunakan ujung mikro pipet steril yang diukur dengan menggunakan *wound healing scratch assay secara in vitro*. Aktivitas migrasi sel difoto dibawah mikroskop pembesaran 40x dan dianalisa menggunakan *software* ImageJ (CCRC, 2015).

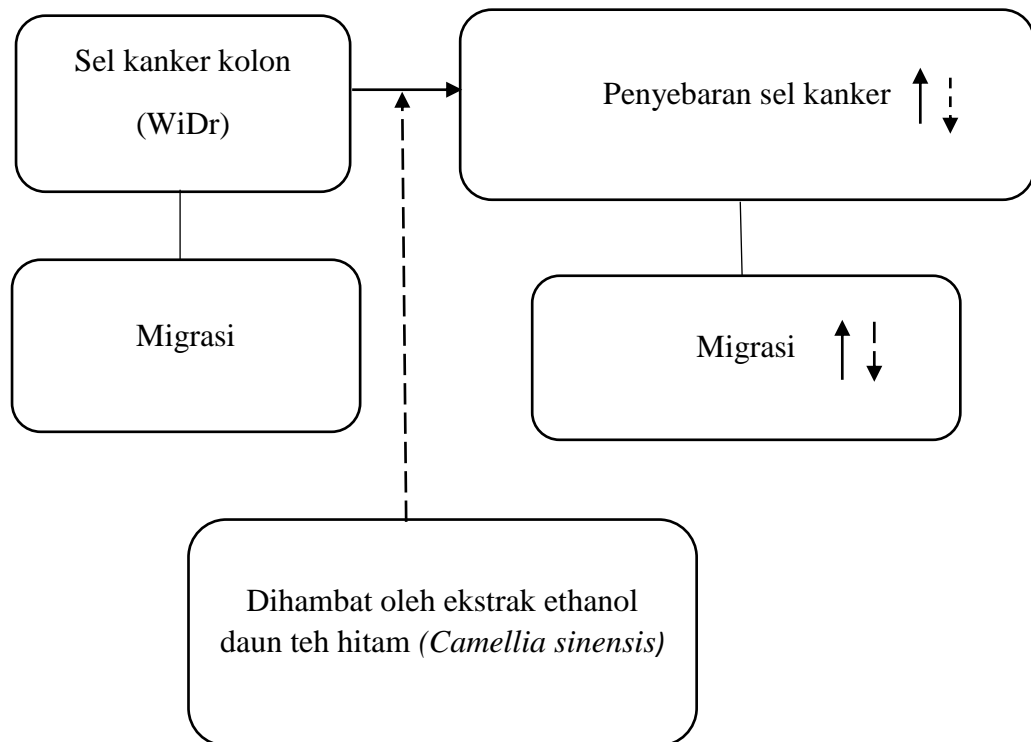
Prinsip dari metode ini adalah membuat celah buatan (*scratch*) pada sel monolayer yang kofluen. Sel akan berkomunikasi satu sama lain sehingga pada waktu tertentu akan menutup *scratch* pada sel monolayer, pengambilan gambar pada waktu awal dan beberapa rentang waktu tertentu, kemudian membandingkan gambar untuk menentukan nilai migrasi sel (Wang, *et al.*, 2012).

B. Kerangka Teori



Gambar 4. Kerangka Teori

C. Kerangka Konsep



Keterangan :

————— : Tidak di terapi

----- : di terapi

Gambar 5 . Kerangka Konsep

D. Hipotesis

H_0 : Tidak berpengaruh ekstrak ethanol daun teh hitam (*Camellia sinensis*) mampu menghambat kanker kolon (WiDr) dalam sel migrasi.

H_1 : Berpengaruh bahwa ekstrak ethanol daun teh hitam (*Camellia sinensis*) mampu menghambat kanker kolon (WiDr) dalam sel migrasi.