

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

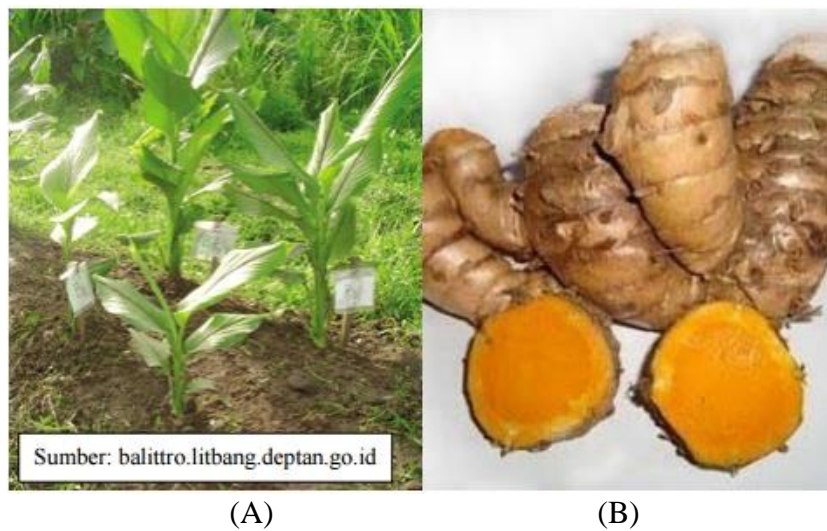
1. Tanaman Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.)

a. Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Temulawak

Merupakan semak berimpang, tinggi mencapai 2,5 m. Batangnya semu terbentuk dari pelepah daun yang saling bertautan, lunak, pada pangkalnya membentuk rimpang dasar berwarna kuning muda, globular, kulit rimpang kuning tua atau cokelat kemerahan. Daging rimpang orange kecoklatan, bercabang dengan warna cabang kuning pucat. Bau merangsang, berasa agak pahit. Rimpang terdiri dari rimpang induk berbentuk bulat telur dengan anakan rimpang yang lebih langsing berjumlah 3-4. Daunnya berbentuk oval, tunggal, dengan ujung meruncing, permukaan licin dan tepinya rata. Pertulangan daun menyirip, warna daun hijau dengan tulang daun yang di tengah ungu. Bunga tumbuh pada bagian dekat dengan tanah, berupa bunga majemuk berbulir, memiliki banyak daun pelindung, kelopakanya berambut putih, mahkota juga putih berbentuk tabung, benang sari kuning muda (Sudarsono *et al*, 1996).

Menurut Harmono dan Andoko (2005), dalam dunia tumbuhan Botani tanaman temulawak tersusun dalam sistematika,

Kingdom : Plantae Ordo : Zingiberales,
Divisio : Spermatophyta, Famili : Zingiberaceae,
Sub divisi : Angiospermae, Genus : Curcuma,
Kelas : Monocotyledonae Spesies : *Curcuma xanthorrhiza*
Roxb.



Gambar 1. Tanaman temulawak (A) dan rimpang temuawak (B)

b. Tempat Tumbuh

Secara alami temulawak tumbuh dengan baik di lahan-lahan yang teduh dan terlindung dari teriknya sinar matahari. Di habitat alami rumpun tanaman ini tumbuh subur di bawah naungan pohon bambu atau jati. Namun demikian temulawak juga dapat dengan mudah ditemukan di tempat yang terik seperti tanah tegalan. Secara umum tanaman ini memiliki daya adaptasi yang tinggi terhadap berbagai cuaca di daerah beriklim tropis. Suhu udara yang baik untuk budidaya tanaman ini antara 19 - 30°C dengan curah hujan sekurang-kurangnya 1.500 mm/tahun, bulan kering 3-4 bulan per tahun, kelembaban udara

70-90%. Perakaran temulawak dapat beradaptasi dengan baik pada berbagai jenis tanah baik tanah berkapur, berpasir, agak berpasir maupun tanah-tanah berat yang berliat. Namun demikian untuk memproduksi rimpang yang optimal diperlukan tanah yang subur, gembur dan berdrainase baik. Temulawak merupakan tanaman asli Indonesia, banyak ditemukan terutama di Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, Jakarta, Yogyakarta, Bali, Sumatera Utara, Riau, Jambi, Kalimantan Barat dan Kalimantan Timur, Sulawesi Utara dan Sulawesi Selatan (Prana, 2008).

c. Kandungan Temulawak

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) merupakan salah satu tanaman obat yang banyak digunakan sebagai bahan baku dalam industri jamu dan farmasi. Rimpang temulawak segar mengandung air sekitar 75%. Selain itu rimpang temulawak juga mengandung minyak atsiri (*volatile oil*), lemak, zat warna, protein, resin, selulosa mineral, dan sebagainya. Kandungan berbagai komponen tersebut sangat tergantung pada umur rimpang saat dipanen (Herman 1985). Komposisi rimpang kering dengan kandungan air 10% terdiri atas pati (58,23%), lemak (12,1%), kurkumin (1,55%), serat kasar (4,2%), abu (4,9%), mineral (4,29%), dan minyak atsiri (4,9%) (Sumiyati 1997).

Temulawak secara umum mempunyai efek menormalkan fungsi jaringan yang terganggu. Dalam dunia fitoterapi, Temulawak dikelompokkan sebagai adaptogen, yaitu bahan tidak berbahaya, yang

dapat mendorong peningkatan resistensi melawan racun atau dapat mempengaruhi secara fisik, kimia, dan biologi (Aries, 2012). Beberapa penelitian yang telah dilakukan menemukan bahwa di dalam temulawak terdapat senyawa kurkuminoid yang diketahui mempunyai aktivitas antioksidan (Nurcholis *et al.*, 2012).

Kurkuminoid merupakan salah satu komponen temulawak yang mempunyai efek antiinflamasi dan memiliki aktivitas hipokolesterolemik. Xanthorrhizol merupakan zat penting di dalam kandungan temulawak yang memberikan efek farmakologis. Xanthorrhizol memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antikanker, antimikroba, antiinflamasi, antioksidan, antihiperlipidemik, nephroprotective, hepatoprotective dan sebagainya. (Aries, 2012; Oon *et al.*, 2015).

d. Manfaat Temulawak

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb), salah satu familia *Zingiberaceae*, merupakan tanaman asli Indonesia yang merupakan salah satu dari tanaman obat unggulan nasional BPOM dan berkhasiat untuk menjaga kesehatan. Tanaman temulawak secara empirik banyak digunakan sebagai obat dalam bentuk tunggal maupun campuran untuk mengatasi gangguan saluran cerna, gangguan aliran getah empedu, sembelit, radang rahim, kencing nanah, kurang nafsu makan, radang lambung, cacar air, dan terdapat beberapa penelitian yang melaporkan bahwa temulawak memiliki

aktivitas antitumor, anti kanker dan hepatoprotektif (Sidik, *et al.*, 1992).

2. Kanker Serviks dan karsinogenesis

a. Serviks dan Kanker serviks

Serviks dilapisi oleh epitel squamous yang melapisi daerah eksoserviks dan epitel kolumnar yang mensekresi mucus melapisi bagian endoserviks. Daerah transisional antara endoserviks dan ektoserviks dilapisi disebut dengan junctional squamocolumnar, dan daerah ini mempunyai resiko tinggi terjadinya transformasi neoplastik virus (Fan *et al* 1994; Ceraline *et al*, 1998). Normal epithelium pada serviks secara konstan akan terjadi regeneration, yang akan mengatur program dari homeostasis jaringan dengan membentuk keseimbangan antara proliferasi sel dengan kejadian apoptosis. Gangguan dari proses ini dapat membuat virus invasi ke sel normal yang menyebabkan transformasi neoplastic.

Kanker serviks adalah tumor ganas yang tumbuh pada serviks yang merupakan pintu masuk ke arah rahim (uterus) yang terletak antara rahim dan liang senggama (vagina). Mulut Rahim (serviks) dilapisi oleh epitel skuamosa bertingkat. Kanker ini biasanya terjadi pada wanita yang telah berumur diatas 30 tahun, tetapi bukti statistik menunjukkan bahwa kanker serviks juga dapat terjadi pada wanita yang berumur antara 20 sampai 30 tahun. Sebagian besar kasus kanker serviks diakibatkan oleh infeksi human papilommavirus (HPV) yang

didapatkan pada 95% kasus kanker serviks ganas (Diananda, 2009 ;Small *et al.*, 2017).

b. Epidemiologi

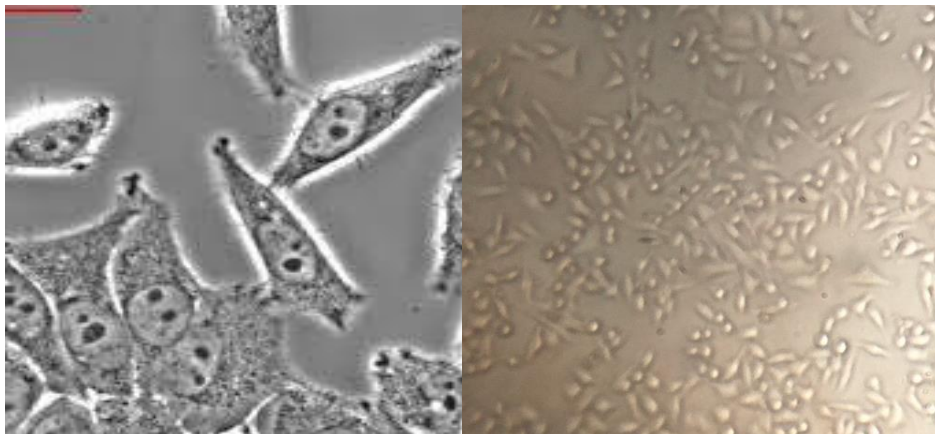
Kanker serviks merupakan penyebab utama kematian akibat kanker pertama pada wanita di seluruh dunia, angka kejadian kanker serviks mencapai 530.000 kasus baru setiap tahunnya dengan angka kematian sebesar 270.000 kematian. Sekitar 85% kematian kanker serviks terjadi di Negara berkembang dengan angka kematian 18 kali lebih tinggi dibanding dengan Negara maju (WHO, 2016). Tingkat insiden tertinggi terjadi di Amerika Tengah dan Selatan, Karibia, Afrika Sub-Sahara, dan Asia Selatan terutama Indonesia (ACS, 2016).

c. Karsinogenesis

Karsinogenesis adalah proses multi tahap yang merupakan proses perubahan genetik sel normal menuju bentuk progresif dan akhirnya menjadi malignan (ganas). Banyak faktor penyebab terjadinya kanker, baik internal maupun external. Faktor internal terutama keberadaan genen yang berperan pada siklus sel telah menjadi pusat perhatian dalam hubungannya dengan proses terjadinya pertumbuhan tumor. Dalam hubungannya dengan pertumbuhan tumor, terdapat dua golongan gen: Pertama adalah kelompok pemicu terjadinya tumor yang lazim disebut *tumor oncogenes*, seperti: gen *c-myc* dan gen *ras*; Kedua adalah kelompok penekan terjadinya tumor yang lazim disebut *tumor suppressor gene*, seperti: gen *p53* dan gen *Rb* (Prayitno, 2005).

Pemahaman mengenai karsinogenesis mengawali upaya pengembangan strategi baru yang menjanjikan untuk pencegahan kanker yaitu penemuan senyawa kemopreventif. Senyawa kemopreventif merupakan suatu senyawa yang dapat digunakan untuk menghambat, menunda, dan mengembalikan proses terjadinya kanker. Senyawa ini dibagi menjadi dua kategori yaitu *blocking agent* dan *suppressing agent*. *Blocking agent* mencegah karsinogen mencapai target aksinya baik melalui penghambatan aktivasi metabolisme atau menghambat interaksi dengan target makromolekul. *Suppressing agent* menghambat pembentukan malignan dari sel yang telah terinisiasi pada tahap promosi atau progresi (Akrom, 2013).

3. Sel HeLa



Gambar 2. Sel HeLa kanker serviks

Sel HeLa merupakan salah satu sel kanker turunan dari sel epitel leher Rahim (cervix). Sel line yang didapatkan dari seorang penderita kanker serviks bernama Henrietta Lacks. Sel hela memiliki ukuran diameter 20 mikron dimana memiliki ukuran yang lebih besar dari sel

normal. Sel hela memiliki sifat immortal yang diperankan oleh ekspresi telomerase yang terlalu aktif sehingga terjadi pembelahan sel terus menerus. Sel HeLa tumbuh dengan mudah dan cepat, menggandakan jumlah sel hanya dalam 24 jam sehingga dapat digunakan untuk kepentingan penelitian dan kemajuan ilmu pengetahuan (Lucey *et al.*, 2009).

Sel HeLa dapat tumbuh dengan agresif dalam media kultur. Media yang digunakan adalah media RPMI 1640-serum. Di dalamnya terkandung nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan, yaitu asam amino, vitamin, garam-garam anorganik, dan glukosa. Serum yang ditambahkan mengandung hormon-hormon yang mampu memacu pertumbuhan sel. Albumin berfungsi sebagai protein transport, lipid diperlukan untuk pertumbuhan sel, dan mineral berfungsi sebagai kofaktor enzim (Lucey *et al.*, 2009).

4. Apoptosis

Apoptosis diartikan sebagai kematian sel terprogram pada beberapa proses fisiologi penting yaitu, penghancuran dari sel terprogram selama embryogenesis, berbagai stimulus dari injury yang ringan, delesi dari autoreactive sel T pada thymus, dan involusi fisiologis yang tergantung pada hormon. Kemampuan dari sel untuk menghancurkan dirinya sendiri dengan cara mengaktifkan program intrinsik seluler saat sel terjadi mutasi atau sudah tidak berfungsi lagi.

Apoptosis merupakan salah satu fenomena kejadian yang

memiliki peran penting dalam pengaturan aktivitas seluler pada organisme eukariotik. Karakteristik perubahan morfologi dari apoptosis adalah kondensasi kromatin dan sitoplasma, membran blebbing, fragmentasi DNA, pembentukan badan apoptosis dan pemaparan fosfatidilserin ke bagian luar membran sel. (Elmore, 2007).

Apoptosis merupakan mekanisme homeostatis sel untuk memelihara populasi sel dalam jaringan tubuh dan dalam mekanisme pertahanan tubuh. Ada 2 jalur apoptosis yaitu jalur ekstrinsik dan jalur intrinsik. Jalur ekstrinsik melibatkan Fas, sedangkan jalur intrinsik melibatkan sitokrom C yang dirilis dari mitokondria. Agen-agen anti kanker menginduksi terjadinya apoptosis jalur intrinsic (Elmore, 2007; Vinay, 2005).

5. Gen P53 dan Protein P53

Gen p53 adalah gen supresor tumor multifungsi dan sering dijumpai dengan terjadinya mutasi sel pada kanker serviks dan kanker lainnya. Gen p53 dalam kondisi normal akan berinteraksi dengan berbagai jenis protein yang terlibat dalam regulasi transkripsi, perbaikan DNA, siklus sel, apoptosis, dan degradasi protein (Sa dan Das, 2008). Gen p53 terletak pada bagian lengan pendek dari kromosom 17 (17p13.1), merupakan suatu nuklear phosphoprotein yang memiliki berat molekul sebesar 53 kilo Dalton (kDa). Gen p53 ini dikode oleh 20 kilobasa (kb) yang terdiri dari 11

ekson dan 10 29 intron. Gen p53 ini termasuk di dalam kelompok gen pelindung sel, yang memiliki dua anggota lainnya yaitu, p63 dan p73 (Ratner et al, 2001). Gen P53 berfungsi sebagai regulator utama dalam jalur sinyal kanker kerana adanya tekanan sitotoksik dan genotoksik yang dapat memacu terjadinya transformasi neoplastik. Peran utama dari gen ini adalah untuk menginduksi atau mengurangi jumlah gen yang terlibat pada siklus sel, penuaan, apoptosis, perbaikan DNA dan angiogenesis. Produk protein dari gen P53 merupakan salah satu molekul terpenting di dunia biologis. P53 merupakan protein penekan tumor yang mempunyai peran penting untuk mengendalikan respon sel terhadap tekanan. Protein ini dapat menginduksi apoptosis dengan mentranskrip gen pro apoptosis atau dengan mengaktivasi molekul pro apoptosis. Berbagai peran lain dari p53 meliputi regulasi siklus sel, penuaan sel, perbaikan kerusakan DNA yang disebabkan oleh agen genotoksik, angiogenesis dan regulasi stres oksidatif.(Kumari *et al.*, 2014).

Agen genotoksik dan sitotoksik menyebabkan perubahan pada DNA dan penyimpangan kromosom. Akumulasi dari perubahan genom tersebut menyebabkan fungsi gen yang berubah bahkan dapat menyebabkan hilangnya gen supresor tumor seperti P53. Mutasi dari gen P53 sering dikaitkan dengan penyakit yang agresif dan memiliki kelangsungan hidup yang buruk seperti kanker. Selain itu agen tersebut menyebabkan terjadinya peningkatan ekspresi onkogen yang

memfasilitasi perkembangan kanker (Wiseman, 1996; Kumari *et al.*, 2014).

Relevansi fungsional yang sangat luas dapat menempatkan p53 dalam posisi pengendali yang bertanggung jawab atas berbagai proses yang terkait dengan karsinogenesis. Dalam kondisi normal, jaringan p53 berada dalam keadaan tidak aktif, biasanya diaktifkan oleh sejenis tekanan seluler yang dapat mengubah siklus pertumbuhan sel normal atau menginduksi mutasi genomik yang kemudian menyebabkan transformasi onkogenik. Protein p53 aktif dapat menghentikan siklus sel atau mengaktifkan jalur apoptosis dan memaksa sel-sel yang rusak dan mutasi melakukan apoptosis sehingga mencegah perambatan dan pertumbuhan sel abnormal.

6. Imunositokimia (ICC)

Imunositokimia merupakan suatu metode yang digunakan untuk mendeteksi adanya ekspresi suatu protein spesifik atau antigen dalam sel dengan menggunakan antibodi spesifik yang akan berikatan dengan protein atau antigen. Ada dua jenis metode imunositokimia, yaitu metode langsung dan metode tidak langsung. Pada metode langsung, antibodi yang mengikat fluoresen atau zat warna langsung berikatan dengan antigen pada sel. Sedangkan pada metode tidak langsung, antigen diikat pada antibodi primer secara langsung, kemudian ditambahkan antibodi sekunder yang mengikat enzim seperti peroksidase, alkali fosfatase, atau glukosa oksidase.

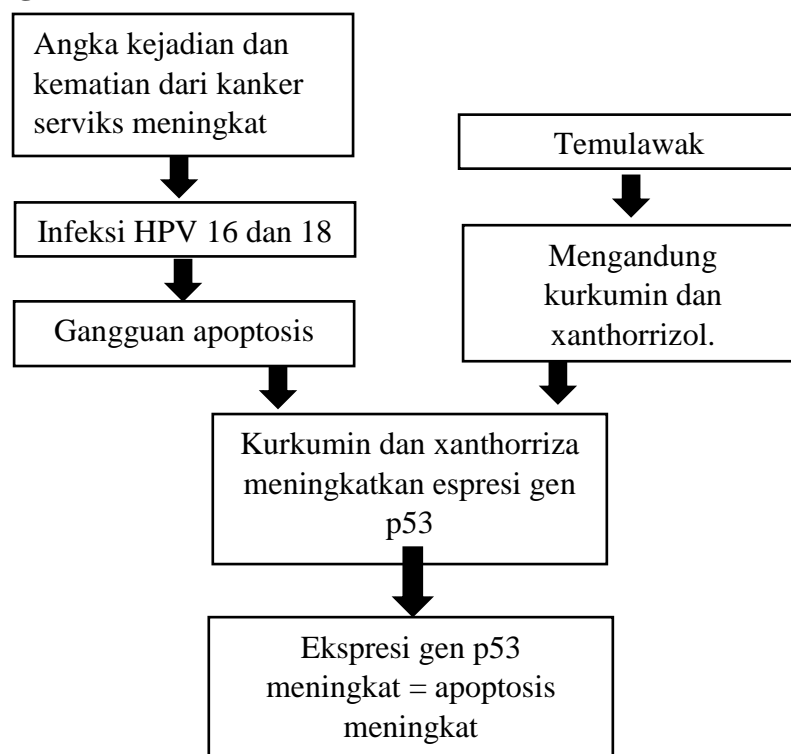
Antibodi sekunder akan berikatan dengan antibodi primer. Selanjutnya ditambahkan substrat kromogen yang akan diubah oleh enzim sehingga terjadi pembentukan warna (pigmen) yang akan mewarnai sel. Untuk menjamin antibodi agar dapat mengikat antigen, sel harus difiksasi dengan ditempelkan pada bahan pendukung padat sehingga antigen akan *immobile*. Hal ini dapat dilakukan dengan cara menumbuhkan sel pada slide mikroskop, *coverslip*, atau bahan pendukung plastik yang sesuai. Ada dua macam metode fiksasi, yaitu pelarut organik dan reagen *cross-linking*. Pelarut organik seperti alkohol dan aseton akan memindahkan lipid, mendehidrasi sel, dan mengendapkan protein. Reagen *cross-linking* seperti paraformaldehid membentuk jembatan intermolekuler melalui gugus amino bebas. Imunositokimia melibatkan inkubasi sel dengan antibodi. Antibodi akan berikatan dengan antigen atau protein spesifik di dalam sel. Antibodi yang tidak berikatan dipisahkan dengan pencucian, sedangkan antibodi yang berikatan dideteksi secara langsung dengan antibodi primer berlabel, maupun secara tidak langsung dengan antibodi sekunder berlabel enzim atau fluoresen.

7. Ekstrak

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut. Zat-zat aktif terdapat di dalam sel, namun sel tanaman dan

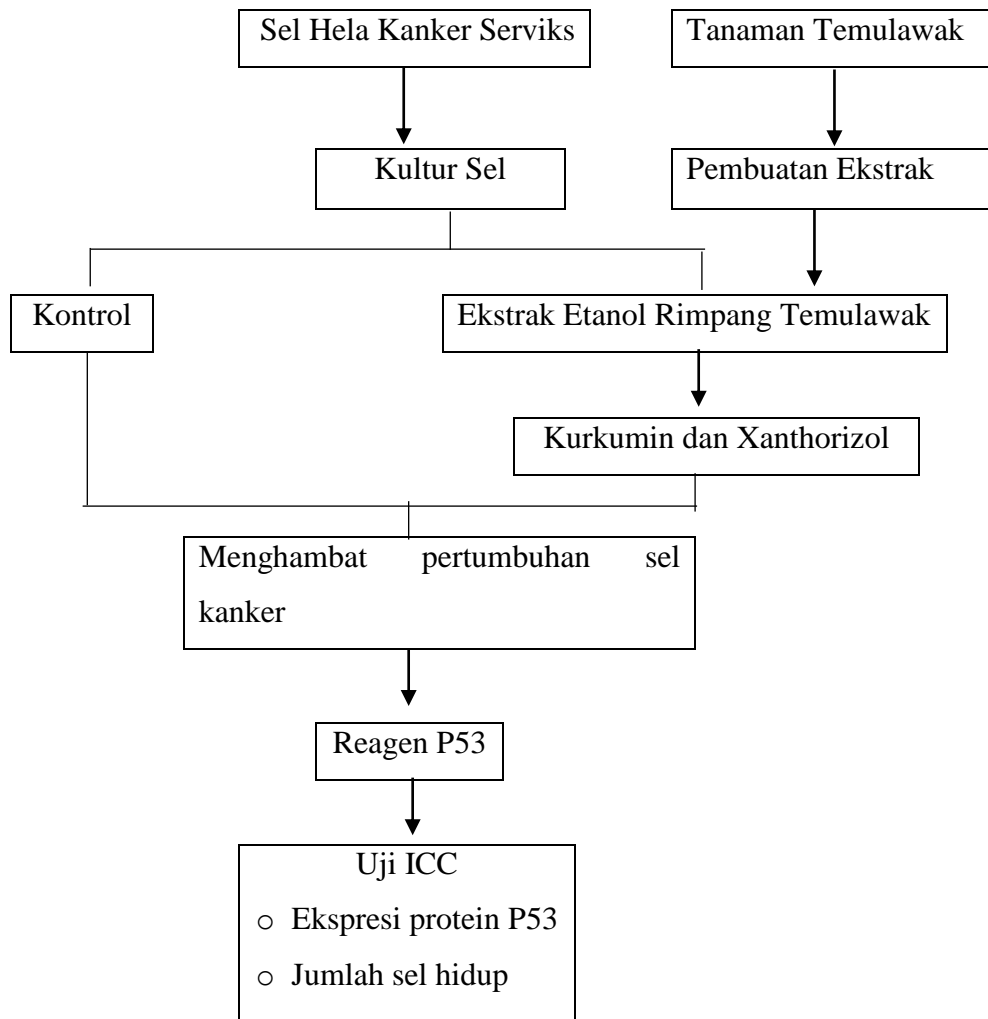
hewan berbeda demikian pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya. Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Hudaya, 2011).

B. Kerangka Teori



Gambar 3. Bagan kerangka Teori

C. Kerangka Konsep



Gambar 4. Bagan Kerangka Konsep Penelitian

Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) mengandung senyawa kimia yaitu kurkumin, dan xanthorrhizol yang bermanfaat bagi kesehatan. Kurkumin diketahui sebagai kandungan yang banyak memberi manfaat terutama sebagai anti hepatotoksik, antioksidan (Anonim, 2008). Zat aktif kurkumin dari rimpang Temulawak relatif mudah larut dalam pelarut organik sehingga kurkumin dapat disari dengan metanol, etanol, benzen dan alkali atau asam asetat glasial. Pemberian ekstrak etanol

rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) dengan zat aktif kurkumin diharapkan dapat meningkatkan efek karsinogenesis dari gen P53.

D. Hipotesis

H₀= Ekstrak temulawak tidak efektif dalam menginduksi aktifitas apoptosis sel HeLa kanker serviks.

H₁= Ekstrak temulawak efektif dalam menginduksi aktifitas apoptosis sel HeLa kanker serviks.

Berdasar teori yang telah diuraikan pada tinjauan pustaka, maka hipotesis penelitian ini dapat dirumuskan bahwa ekstrak etanol rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*, Roxb.) efektif menginduksi aktifitas apoptosis sel kanker dilihat dari peningkatan ekspresi gen p53.