

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Landasan Teori

1. Genetika Kanker

Kanker adalah istilah penyakit yang menggambarkan keganasan dari neoplasma atau jaringan baru, awalnya kanker hanya berupa pertumbuhan jaringan yang abnormal sehingga menjadi masa. Namun, ketika masa ini tumbuh dengan ganas sampai merusak sel aslinya maka menjadi kanker (Nussbaum, 2001). Pembelahan sel yang abnormal ini terjadi karena adanya kerusakan DNA yang menyebabkan mutasi di gen yang bertugas mengontrol proliferasi atau pembelahan sel, sehingga menyebabkan timbulnya neoplasia (Robbin dan Kumar, 1992). Suatu neoplasia akan menjadi kanker bila sifatnya berubah menjadi ganas dan tumbuh langsung di jaringan tubuh lainnya. Dalam kondisi normal, pembelahan dan diferensiasi sel dikontrol secara ketat, sehingga terdapat keseimbangan antara apoptosis (kematian sel) dengan proliferasi. Salah satu faktor yang mempengaruhi proses proliferasi sel adalah faktor pertumbuhan. Faktor ini bekerja sebagaimana nama yang diberikan, yaitu untuk merangsang mitosis seluler sehingga menimbulkan pertumbuhan jaringan. Ketika sel memang merasa perlu melakukan pertumbuhan dan pembelahan, maka sel akan terus menerus melakukan replikasi sel. Siklus replikasi sel dimulai dalam fase G1 (Gap 1) setelah sel dalam keadaan tidak aktif (G0) sel akan merespons terhadap

rangsangan tertentu dan berkembang melalui fase S (Sintesis) di mana dalam fase ini terjadi sintesis DNA dan menghasilkan kromosom yang telah bereplikasi. Setelah fase S ini terlewati kemudian terjadi fase G₂ (Gap 2) dan fase M (Mitosis) (Price dan Wilson, 2006). Jika siklus - siklus tertentu dari proliferasi gen ini terjadi mutasi, maka akan menyebabkan munculnya sifat baru yang ditimbulkan oleh gen yang mengalami mutasi.

Mutasi DNA pada sel somatik merupakan proses dasar terjadinya neoplasma, salah satu contoh mutasi yaitu perubahan dalam rangkaian DNA dan hal ini akan menyebabkan keadaan ganas karena sel tidak dapat mengendalikan dirinya sendiri untuk terus membelah sehingga keadaan inilah yang disebut sebagai kanker. Mutasi sel akan menghasilkan klon keganasan yang tidak tahan lama dalam merespons pengaturan normal mekanisme proliferasi sel tanpa memperhatikan kebutuhan tubuh. Telah diidentifikasi empat golongan gen yang memainkan peranan penting dalam mengatur sinyal mekanisme faktor pertumbuhan dan siklus sel, antara lain yaitu :

a. Protoonkogen dan Onkogen

Protoonkogen adalah gen seluler yang berfungsi untuk mendorong dan meningkatkan pertumbuhan normal dan pembelahan sel. Sel yang memperlihatkan bentuk mutasi dari gen ini dinamakan onkogen dan memiliki kemungkinan yang besar untuk berubah menjadi ganas setelah terjadi pembelahan sel yang tidak terkendali. Ketika bermutasi menjadi onkogen karsinogenik, protoonkogen normal menjadi aktif dan mengakibatkan replikasi sel yang berlebihan.

Prototonkogen dapat berubah menjadi onkogen dengan melalui empat mekanisme dasar, yaitu : mutasi point, amplifikasi gen, pengaturan kembali kromosom, dan insersi genom virus. Mutasi ini akan menyebabkan perubahan struktur gen sehingga sintesis produksi gen menjadi abnormal dan fungsinya mulai berubah (Price dan Wilson, 2006).

b. Gen- Gen Supresor Tumor

Gen – gen supresor tumor adalah gen yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan sel dan siklus pembelahan yang abnormal (Price dan Wilson, 2006). Mutasi pada gen supresor tumor akan menyebabkan sel mengabaikan sinyal penghambatan untuk siklus sel sehingga menyebabkan pertumbuhan sel tidak terkontrol. Hampir 30 gen-gen supresor tumor telah teridentifikasi, termasuk di dalamnya Rb, BRCA1, BRCA2, dan p53. Gen p53 adalah suatu protein yang menjaga transkripsi sel di fase G1. Apabila terjadi inaktivasi dan mutasi pada gen ini akan menyebabkan terhentinya sinyal untuk menghambat pertumbuhan sel sehingga akan menyebabkan sel bereplikasi dan tumbuh secara berlebihan.

c. Gen - Gen yang Mengatur Apoptosis

Apoptosis atau kematian sel terprogram adalah suatu proses aktif yang bertujuan untuk membunuh sel-sel dari organisme, jika dirasa sel tersebut sudah tidak layak dalam tubuh. Seperti pertumbuhan dan diferensiasi, apoptosis juga membutuhkan pengaturan yang terkoordinasi dan aktif dengan gen-gen khusus. Hilangnya gen yang mengatur apoptosis dapat menyebabkan kegagalan sel untuk

mengalami kematian, sehingga akibatnya sel-sel akan terus membelah tanpa bisa dikendalikan (Price dan Wilson, 2006)

d. Gen – gen untuk perbaikan DNA

Penyebab kerusakan DNA antara lain karena pengaruh paparan radiasi, bahan kimia, lingkungan atau karena kesalahan replikasi (Wulandari, 2010). Gen perbaikan DNA mengkode protein untuk memperbaiki kesalahan dari ekspresi gen yang timbul ketika sel menduplikasi DNA-nya sebelum terjadi pembelahan sel (Price dan Wilson, 2006). Mutasi dalam gen perbaikan DNA dapat menyebabkan kegagalan fungsi dari gen supressor tumor dan akan meningkatkan resiko terjadinya kanker. Contohnya, Hereditary nonpoliposis colorectal cancer (HNPCC) memiliki kaitan erat dengan mutasi spesifik pada jalur perbaikan DNA (Glickman, 2001).

2. Metastasis Kanker

Sel – sel neoplasma ganas yang berproliferasi mampu melepaskan diri dari induknya kemudian memasuki sirkulasi untuk menyebar ke tempat lain. Jika saat pelepasannya sel-sel ini berhenti di jaringan tubuh lain maka sel-sel kanker ini dapat melanjutkan proliferasi di jaringan yang ditempelinya. Satu kanker primer dapat juga membentuk banyak fragmen yang jauh dari jaringan kanker primer tersebut. Proses terputusnya penyebaran kanker primer tersebut disebut *metastasis*, dan anak fokus atau daerah pertumbuhan sekunder disebut dengan *daerah metastasis*. Jadi, salah satu cara untuk membedakan suatu kanker adalah jinak atau ganas dengan melihat kemampuannya menginvasi jaringan lain. Neoplasma jinak tidak bisa menginvasi jaringan lain, berkebalikan dengan neoplasma ganas yang sangat berpotensi untuk menginvasi jaringan lain.

Metastasis pada kanker dapat terjadi melalui berbagai cara. Invasi melalui pembuluh darah dan pembuluh limfa paling banyak ditemukan pada kasus metastasis kanker. Pada kasus kanker kolon, penyebaran sel kanker biasanya menuju ke organ organ di sekitarnya seperti hepar dan gaster.

3. Migrasi Sel Kanker

Migrasi sel merupakan tahapan sangat terintegrasi yang diprakarsai oleh penonjolan membran sel yang dipicu oleh siklus polimerisasi dan depolimerisasi aktin akibat merespon sinyal kemotaksis. Pada perjalanannya, suatu sel kanker harus melepaskan diri dari kelompoknya (tumor primer) untuk mengadakan invasi ke daerah sekitarnya, kemudian berusaha menembus pembuluh limfe atau secara langsung mencari pembuluh darah terdekat dan mulai berkembang di tempat jaringan tubuh yang baru (tumor sekunder).

Migrasi pada sel menentukan transmisi kekuatan tenaga dari matriks ekstra seluler ke sitoskeleton sel tumor ataupun sel endotelial. Penggabungan kembali elemen sitoskeletal untuk membentuk membran ruffles, lamellipodia, filopodia dan pseudopodia dilakukan oleh sel yang berpindah. Perpindahan sel dimulai dari penonjolan filopod atau lamellipod, yang dibentuk oleh polimerisasi aktin untuk membentuk filamen sentral yang memanjang dan anyamanyang lebih lebar pada lamellipod. Pada tepi dari struktur yang protruding, integrin terkonsentrasi pada daerah yang khusus sehingga terjadi ligasi dengan ekstra seluler matriks yang akhirnya akan membentuk fokal adhesi yang terdapat pada filamen aktin. Ikatan integrin dengan ekstra seluler matriks ini menyebabkan terdorongnya badan sel.

Tahap akhir dari integrin *mediated cell migration* adalah dilepasnya ekstra seluler matriks integrin sitoskeletal secara utuh dari tepi sel. Terdapat dua mekanisme yang terjadi pada pelepasan sel ini, yaitu :

1. Pengaruh pelepasan integrin dari permukaan sel. Integrin terlepas dari membran sel, secara *in vitro* telah di observasi migrasi fibroblast dan lapisan sel tumor.
2. Mediasi pelepasan bagian pinggir dari sel merupakan distabilisasi dari hubungan interseluler sitoskeleton melalui aktivitas proteolitik ataupun aktivitas dari phosphatase.

4. Kanker Kolon

Kanker kolon merupakan salah satu jenis kanker yang mempunyai prevalensi cukup tinggi di dunia. Kanker kolon adalah suatu keganasan yang terjadi di organ kolon atau usus besar. Jenis kanker ini digolongkan menjadi adenokarsinoma kolon karena berasal dari jaringan epitel. Salah satu turunan dari kanker kolon adalah kanker WiDr. Sel kanker WiDr ini berasal dari turunan sel kanker HT-29 yang diisolasi dari adenokarsinomakanker kolon primer seorang wanita berusia 78 tahun. Sel ini menghasilkan antigen yang disebut dengan CEA(*Carsino Embryonic Antigen*) yang berguna sebagai tumor marker untuk kepentingan diagnostik kanker kolon (Noguchi, dkk.,1979).

Sel kanker kolon WiDr ini akan membutuhkan waktu selama 15 jan untuk dapat menyelesaikan satu siklus sel, tetapi sel ini juga membutuhkan waktu yang cukup lama untuk dapat menempel setelah dilakukan subkultur (Noguchi,

dkk.,1979). Menurut penelitian yang ada sel ini tidak merespon baik terhadap agen anticancer *5-fluoro uracil (5-FU)*.

5. Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides*)

Ageratum conyzoides adalah sejenis tanaman gulma pada tanaman hasil pertanian yang lebih dikenal dengan tanaman bandotan di Indonesia (Pujowati,2006). Penyebutan tanaman ini memiliki berbagai nama dalam bahasa daerah, contohnya di Sumatra dikenal dengan nama daun tombak, rumput tahi ayam atau siangit sedangkan di Jawa dikenal dengan nama babandotan, bandotan, dus wedusan, tempuyak dan berokan, untuk masyarakat Sulawesi mengenal tumbuhan ini dengan nama dawet, lawet, rukut manoe dan sopi (Dalimartha, 2006).

Tanaman ini termasuk dalam golongan famili Asteraceae. Berikut ini klasifikasi dari daun bandotan :

Kingdom : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Asterales
Famili : Asteraceae
Genus : *Ageratum*

Spesies: *Ageratum conyzoides* (L.)

Daun badotan (*Ageratum conyzoides* L.) merupakan tanaman pengganggu yang biasa hidup di daerah Asia Tenggara, India, Amerika, dan China Selatan (Agbafor, dkk., 2015). Menurut penelitian yang telah dilakukan, tumbuhan ini

mampu menghasilkan bahan metabolit primer seperti gula dan lemak. Selain itu bahan metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid juga dapat ditemukan pada tumbuhan ini (Agbafor, dkk., 2015).

Kandungan bahan metabolit sekunder ini paling banyak terdapat di bagian daun dari tumbuhan bandotan (*Ageratum conyzoides L.*). Khasiat dari tumbuhan ini secara medis dapat digunakan sebagai agen antiinflamasi, antikanker, dan antibakteri (Adebayo, et al., 2010). Studi fitokimia yang dilakukan oleh Dash dan Murthy (2011) menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun bandotan menunjukkan beberapa kandungan antara lain steroid, sterol, triterpenoid, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenolik, karbohidrat dan protein. Senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan ini memiliki banyak manfaat seperti sebagai agen antibakteri, analgesik, antiinflamasi dan antikanker (Yildirim& Kutlu, 2015).

6. Uji Sitotoksik dengan Metode MTT

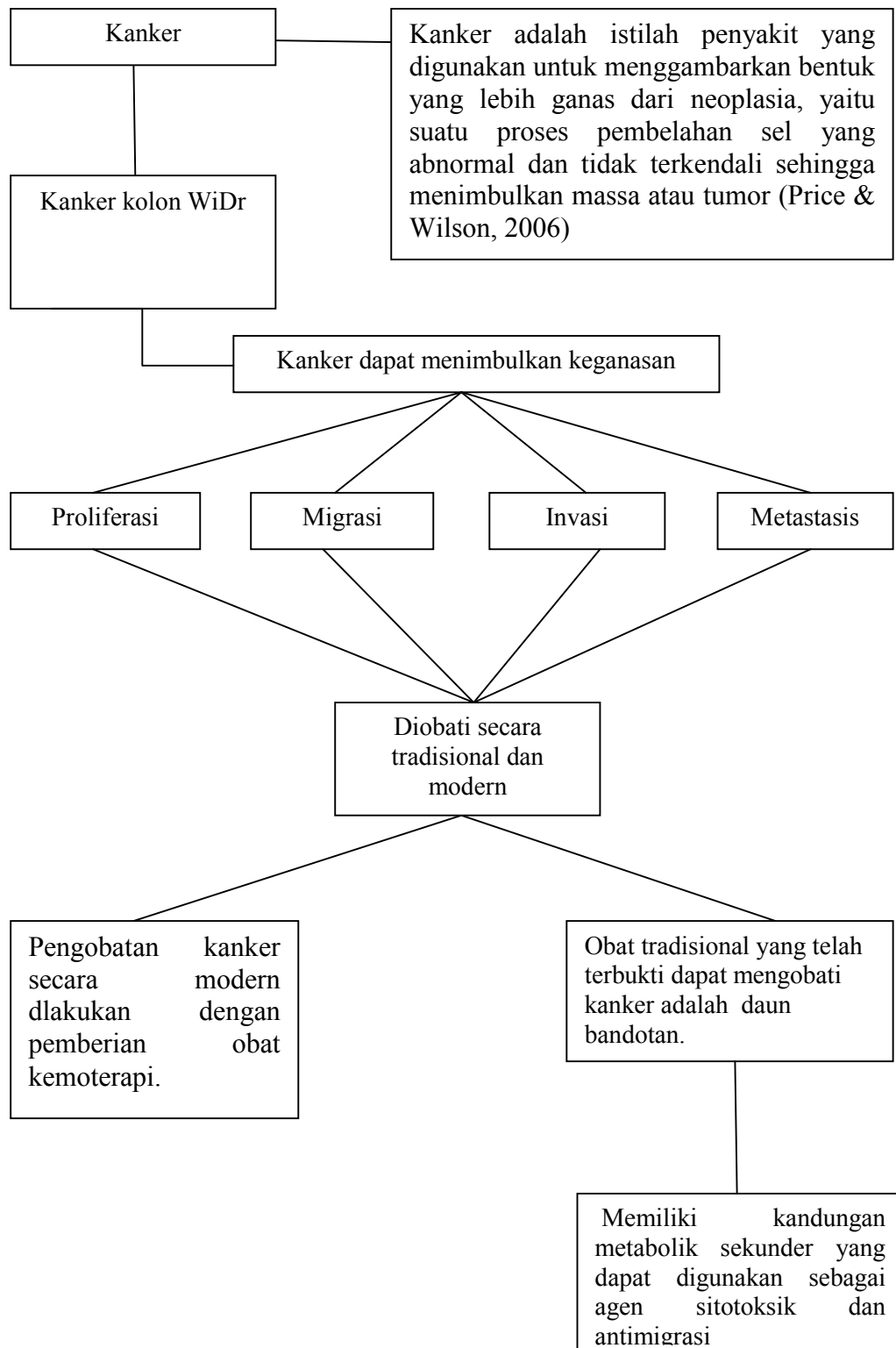
Uji sitotoksik adalah sebuah cara untuk mengetahui toksisitas suatu senyawa terhadap sel kanker secara in vitro. Uji sitotoksik biasa digunakan untuk mendapatkan obat-obatan yang bersifat sitotoksik (Freshney,2000). Parameter yang biasa digunakan dalam uji sitotoksik suatu senyawa adalah nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} ditentukan berdasarkan konsentrasi senyawa yang dapat menghambat proliferasi sel kanker sampai 50% (Meiyanto dkk, 2003). Suatu senyawa dikatakan dapat memiliki aktivitas antikanker jika mempunyai IC_{50} kurang dari 100 $\mu\text{g/mL}$. Sehingga apabila nilai IC_{50} semakin besar maka senyawa tersebut dinilai tidak pontent dalam menghambat proliferasi sel.

Metode umum yang biasa digunakan dalam uji sitotoksik ada dua macam, yaitu metode perhitungan langsung (*direct counting*) dan metode *MTT Assay*. Metode *MTT Assay* yaitu metode yang menggunakan prinsip kolorimetri dengan alat uji 3-(4, 5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-difenil-2H-tetrazolium bromida (MTT). Hasil dari uji ini berupa pengukuran intensitas warna (kolorimetri) yang terjadi sebagai hasil metabolisme suatu substrat oleh sel hidup menjadi produk berwarna. Pada uji ini digunakan garam MTT. Garam ini akan terlibat pada kerja enzim dehidrogenase. MTT akan direduksi menjadi formazan oleh sistem reduktase suksinat tetrazolium, yang termasuk dalam mitokondria dari sel hidup. Kristal formazan ini memberi warna ungu yang dapat dibaca absorbansinya dengan menggunakan *ELISA reader* dengan panjang gelombang 595 nm.

7. In Vitro Scratch Assay

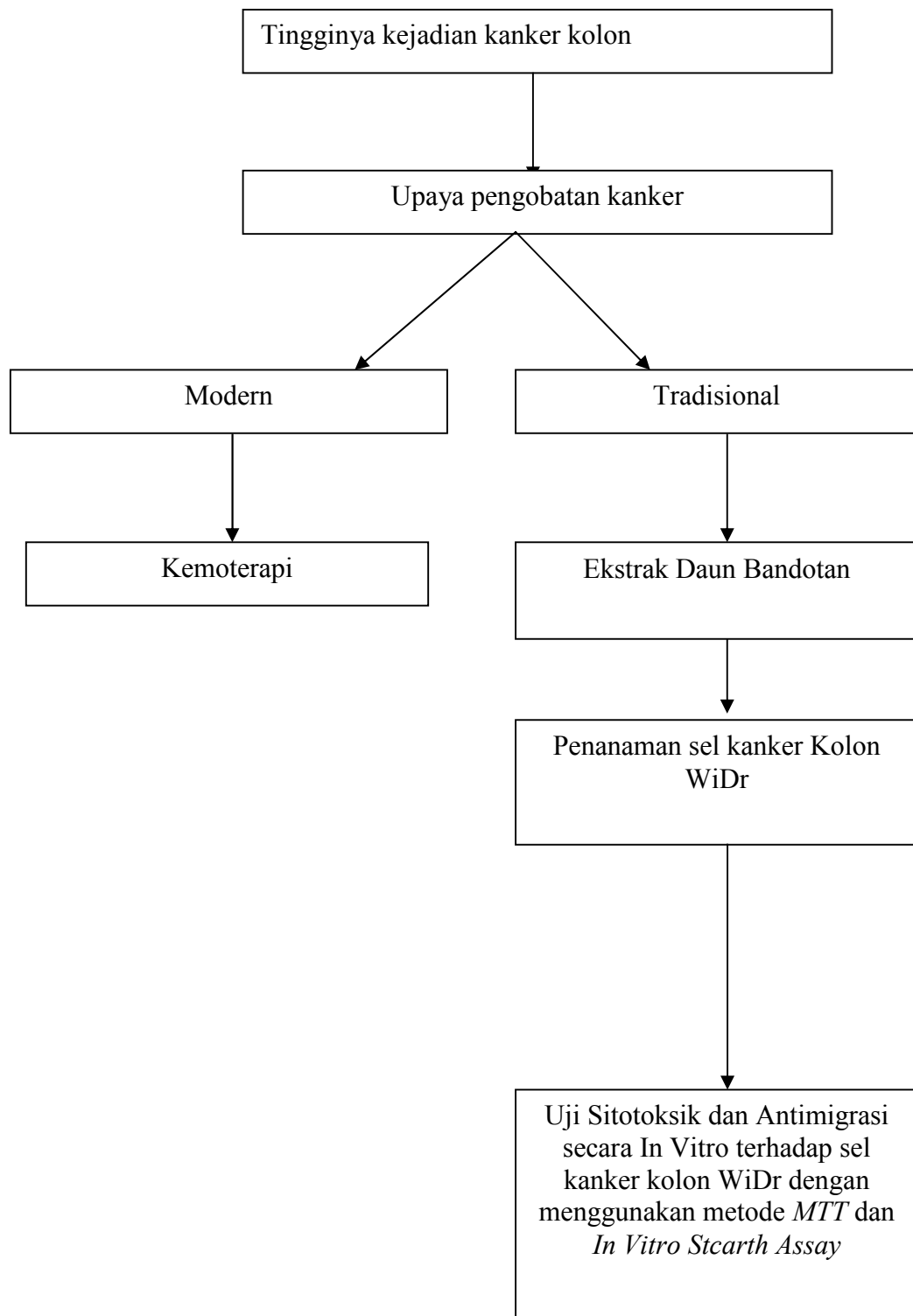
In vitro scratch assay adalah sebuah metode yang secara sederhana digunakan untuk mengukur migrasi sel secara *in vitro*. Langkah dasar dalam metode ini dimulai dengan membuat goresan pada plate sel kemudian mengamati sel dengan mengambil gambar secara berkala selama proses ini berlangsung. Langkah selanjutnya, yaitu membandingkan gambar yang diambil setiap interval waktu tertentu untuk mengukur jarak perpindahan sel. Prinsip *in vitro scratch assay* ini diadopsi dari proses migrasi sel selama penyembuhan luka secara *in vivo*. Waktu yang diperlukan untuk pengamatan sel dalam *in vitro scratch assay* biasanya berlangsung selama beberapa jam sampai satu malam (Liang, et al., 2007).

B. Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka Teori

C. Kerangka Konsep



Gambar 2. Kerangka Konsep

D. Hipotesis

H0 : Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) dalam kemampuan sitotoksik dan menghambat migrasi sel kanker kolon WiDr secara in vitro.

H1 : Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) dalam kemampuan sitotoksik dan menghambat migrasi sel kanker kolon WiDr secara in vitro.

