

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kanker dan Kanker Kolon

Kanker adalah penyakit yang diakibatkan oleh mekanisme sel yang tidak normal dan tidak terkontrol. Sel tersebut kemudian mampu merusak dan menyebar ke jaringan yang lain melalui pembuluh darah dan limpa. Inilah yang menyebabkan kanker sering mengakibatkan kematian (*American Cancer Society*, 2018).

Kanker kolorektal biasanya diawali dengan terdapat polip pada mukosa usus atau terdapat kerusakan abnormal yang masih bersifat jinak, biasa disebut dengan adenoma, kerusakan abnormal jinak tersebut memiliki kemampuan untuk berubah menjadi ganas tergantung dari persentase jaringan yang rusak dan ukurannya. Kasus dengan adenoma sederhana sekitar 60%, multiple adenoma 40% dan 24% dari pasien dengan polip yang tidak diobati akan berkembang menjadi kanker (Romero *et al.*, 2017)

Menurut *American Cancer Society* (2017) faktor yang dapat meningkatkan resiko adalah keturunan dan riwayat kesehatan seperti, IBD (*Inflammatory bowel disease*), diabetes, mengkonsumsi alkohol, obesitas, merokok, mengkonsumsi daging merah dan daging olahan. Untuk mengurangi resiko dapat dilakukan dengan melakukan aktivitas fisik dan mengkonsumsi susu. Pada penelitian terbaru telah dipaparkan bahwa menjaga berat badan, banyak melakukan aktivitas fisik, mengurangi konsumsi alkohol dan menjaga pola makan dapat mengurangi kanker kolon sebesar 37% (Aleksandrova *et al.*, 2014). Pendeteksian kanker kolon dapat

dilakukan dengan barium enema, colonoscopy, sigmoidoscopy, uji guaiac, dan *fecal immunochemical test* (FIT) (Romero *et al.*, 2017).

B. Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Berikut klasifikasi dari bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Magnoliopsida*

Subkelas : *Dilleniidae*

Bangsa : *Malvales*

Suku : *Malvaceae*

Marga : *Hibiscus*

Jenis : *Hibiscus sabdariffa* Linn.

Nama Umum : Gamet walanda (Sunda), Kasturi roriha (Ternate)



Gambar 1. *Hibiscus sabdariffa* L.

Deskripsi tanaman: bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan tumbuhan semak yang memiliki tinggi sekitar 2,4 m. Batang berbulu, bulat dan berwarna merah. Daunnya bertepi ringgit, pangkal daun meruncing, sedikit berambut dan tulang daun berwarna kemerahan. Bunganya seperti lonceng, kelopak bunga saling menempel, tumbuh dari ketiak daun, dan berwarna coklat kemerahan (Direktorat Obat Asli Indonesia, 2010).

Bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) adalah salah satu tanaman yang sangat poten untuk dikembangkan sebagai alternatif terapi kanker. Di masyarakat, bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) sudah banyak dimanfaatkan untuk memperlancar buang air besar, mengurangi nafsu makan, flu, luka bakar dan sariawan (Direktorat Obat Asli Indonesia, 2010). Bahan aktif yang terkandung diantaranya, flavonoid (gosipetin, hibisetin, sabdaretin) (Hanani, 2015), beta karoten, riboflavin, tiamin (Pramita *et al.*, 2014), saponin dan alkaloid (Gheller *et al.*, 2017) dengan kandungan utama berupa golongan antosianin ialah delphinidin-3-sambubioside dan sianidin-3-sambubioside (Da Costa-Rocha *et al.*, 2014).

C. Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi merupakan proses yang dilakukan untuk memisahkan bahan dengan pelarut yang sesuai sehingga diharapkan bahan yang diinginkan dapat terpisah dengan baik (Mukhriani, 2014). Adanya tekanan antarmuka memudahkan pelarut berdifusi kedalam simplisia, sehingga terjadilah pemisahan senyawa yang terdapat pada simplisia atau bahan yang diekstraksi ke dalam pelarut (Harbone, 1987). Metode yang dipilih harus sesuai dengan sifat dari bahan atau senyawa yang ingin diisolasi (Sarker *et al.*, 2005).

Metode maserasi merupakan metode yang paling umum digunakan karena prosesnya yang sederhana dan murah. Maserasi ialah salah satu metode ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam 10 bagian simplisia dengan 75 bagian penyari lalu disimpan selama 5 hari, selama penyimpanan sesekali diaduk. Setelah 5 hari, kemudian disaring dan diperas lalu selanjutnya dimaserasi kembali sampai pelarut tidak berwarna lagi (Harbone, 1987).

Hasil ekstraksi awal merupakan campuran dari berbagai macam senyawa, senyawa akan sulit dipisahkan jika hanya dilakukan pemisahan dengan teknik tunggal. Oleh karena itu, dilakukan pemisahan dalam bentuk fraksi, yang merupakan tahapan kedua dari pemisahan senyawa. Pemisahan senyawa berdasarkan polaritas serta ukuran molekul yang sama. Fraksinasi dapat dilakukan dengan beberapa metode seperti cair-cair atau dengan kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom (KK), *size-exclusion chromatography* (SEC), *solid-phase extraction* (SPE) (Sarker *et al.*, 2005).

D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

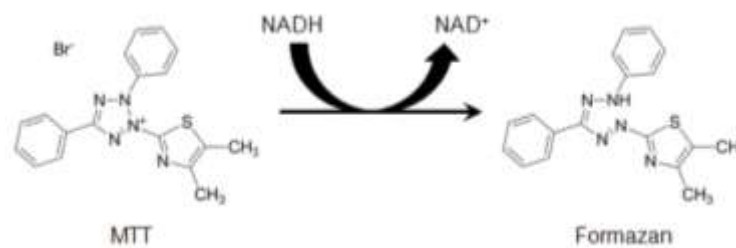
Pada tahun 1938 untuk pertama kalinya Izmailoff dan Schraiber mengembangkan KLT. KLT merupakan kromatografi dengan bentuk terbuka dari kromatografi kolom dan berbentuk planar selain dari kromatografi kertas dan elektroforesis. KLT ialah proses pemisahan senyawa dengan menggunakan 2 fase yaitu fase diam dan fase gerak (Gandjar, 2007).

Fase diam pada KLT berperan sebagai penjerap dengan ukuran kecil berdiameter partikel antara 10-30 μm , penjerap yang umum digunakan ialah selulosa dan silika. Fase gerak pada KLT berperan medium angkut yang biasanya terdiri dari berbagai kombinasi pelarut. Fase gerak akan bergerak sepanjang fase diam karena terdapat pengaruh kapiler yakni, elusi naik (*ascending*) dan turun (*descending*) disebabkan oleh gravitasi bumi. Teknik KLT ini memiliki banyak keuntungan, diantaranya prosesnya yang sederhana, murah dan tidak membutuhkan waktu yang lama (Gandjar, 2014).

E. Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik adalah metode yang digunakan untuk mendeteksi kemampuan suatu senyawa yang diujikan dalam membunuh suatu sel. Metode ini termasuk dalam uji *in vitro* dengan menggunakan kultur sel. Metode yang digunakan ialah metode MTT ((3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) assay dengan prinsip kerja yakni reaksi warna antara warna garam terazolium (MTT) dengan enzim suksinat dehidrogenase di mitokondria pada sel yang masih hidup akan terbentuk suatu kristal formazan berwarna ungu yang dapat menggambarkan jumlah sel yang masih hidup setelah diberi perlakuan.

Maka, semakin tinggi intensitas warna ungu yang dihasilkan, semakin banyak jumlah sel yang masih hidup setelah diberi perlakuan. Metode ini memiliki beberapa kelebihan diantaranya proses yang cepat dan hasil yang presisi (Mosmann, 1983).



Gambar 2. Reaksi pada metode MTT Assay (Liss *et al.*, 2016)

F. Uji *Flowcytometri*

Flowcytometri adalah teknik analisis yang dilakukan untuk melihat jenis sel yang terdapat dalam satu populasi. Populasi sel tersebut diberi perlakuan dengan senyawa uji yang diduga memiliki sifat sitotoksik maka dapat dilakukan analisis berupa fase-fase daur sel, sel apoptosis dan sel yang mengalami polipodi (CCRC, 2014).

Flowcytometri dapat menganalisis suspensi sel dengan ukuran 0,2-150 μm . Mekanisme kerja *flowcytometri* adalah sistem fluida akan dialirkan pada setiap sel lalu sinar laser akan ditembakkan dan setiap sel akan menyebarkan sinar tersebut. Senyawa berfluoresen dalam sel akan aktif karena sinar tersebut. Sinar tersebut akan menjadi impuls elektrik sehingga bisa terdeteksi dan terekam di dalam komputer (Koolman *et al.*, 1994).

G. Sel WiDr

Sel WiDr salah satu sel kanker yang diisolasi dari seorang wanita yang menderita kanker kolon berusia 78 tahun. Sel ini merupakan sel turunan kanker kolon yang lain yakni sel HT-29 (Chen *et al.*, 1987). Sel ini tergolong aman digunakan untuk uji sitotoksisitas karena mudah untuk dikultur dan mudah dalam perlakuan. Karakteristik sel ini ialah ekspresi siklooksigenase-2 (COX-2) yang tinggi yang dapat menimbulkan proliferasi sel WiDr (Palozza *et al.*, 2005).

H. Uji Antioksidan

Metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan pada bahan alam ialah diuji dengan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), senyawa tersebut merupakan radikal bebas. Uji antioksidan dengan menggunakan metode ini memiliki beberapa keuntungan diantaranya ialah sederhana, cepat, dan menggunakan sedikit reagen (Yuhernita dan Juniarti, 2011).

Prinsip kerja dari metode ini yaitu adanya perubahan warna dari DPPH stabil yang berwarna ungu tua menjadi warna kuning pucat. Hal ini disebabkan oleh senyawa yang diujikan bereaksi dengan larutan DPPH yang berwarna ungu tersebut. Sampel dapat diukur dengan spektrofotometer untuk mengetahui aktivitas peredaman radikal bebas (Juniarti *et al.*, 2011).



Gambar 3. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan (pubs.rsc.org)

I. Molecular Docking

Uji *in silico* adalah uji yang dilakukan dengan bantuan komputerisasi. Uji ini berguna untuk pengembangan awal suatu senyawa dan untuk meningkatkan aktivitas senyawa induk. Salah satu metode uji *in silico* ialah *molecular docking* (Hardjono, 2013).

Molecular docking yaitu suatu pemodelan bioinformatik dimana terdapat interaksi antara dua molekul atau lebih. Hasil yang akan didapatkan ialah *docking algorithm* dan *scoring function*. *Docking algorithm* berfungsi untuk mengetahui konformasi ligan yang ideal dan stabil pada reseptor. *Scoring function* berguna untuk menghitung afinitas dari ligan dan protein. Parameter yang digunakan ialah teori energi bebas Gibbs yaitu semakin kecil energi bebas maka semakin stabil konformasi yang didapat (Kroemer, 2003).

Kelebihan *molecular docking* ialah mampu memprediksikan dengan akurat (Fierra, 2015), seperti memprediksikan pengikatan ligan dimolekul target dan orientasi ligan yang dioptimalkan oleh target (Shoichet *et al.*, 2002).

Dalam melakukan *molecular docking* dibantu dengan adanya beberapa aplikasi diantaranya, PLANTS dan *Autodock* atau versi terbaru yaitu *Autodock Vina*. Kemudian terdapat beberapa aplikasi pendukung yaitu seperti *MGLTools*, *Yasara*, *Phyton*, *Open Babel*, *DS Visualizer* dan *Marvin Sketch*.

J. Protein IKK dan VEGF

a. Protein IκB Kinase (IKK)

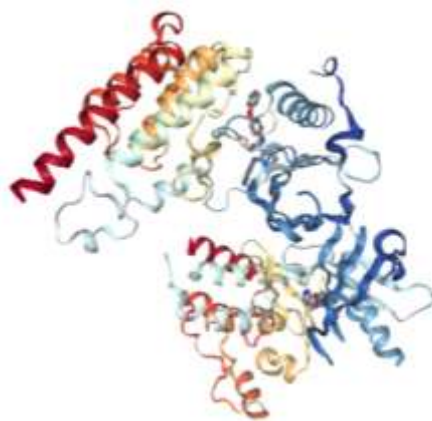
NF-κB adalah faktor transkripsi yang penting dalam mengatur kekebalan tubuh, respon inflamasi, dan apoptosis (Leung *et al.*, 2013). IκB kinase merupakan salah satu protein yang berperan dalam aktivasi NF-κB. Peningkatan aktivasi NF-κB menghambat terjadinya apoptosis, meningkatkan proliferasi sel (Rohmah, 2013), dihubungkan dengan penyakit kanker, dan autoimun (Leung *et al.*, 2013). Maka, penghambatan IKK dapat menjadi pilihan untuk pengobatan kanker.



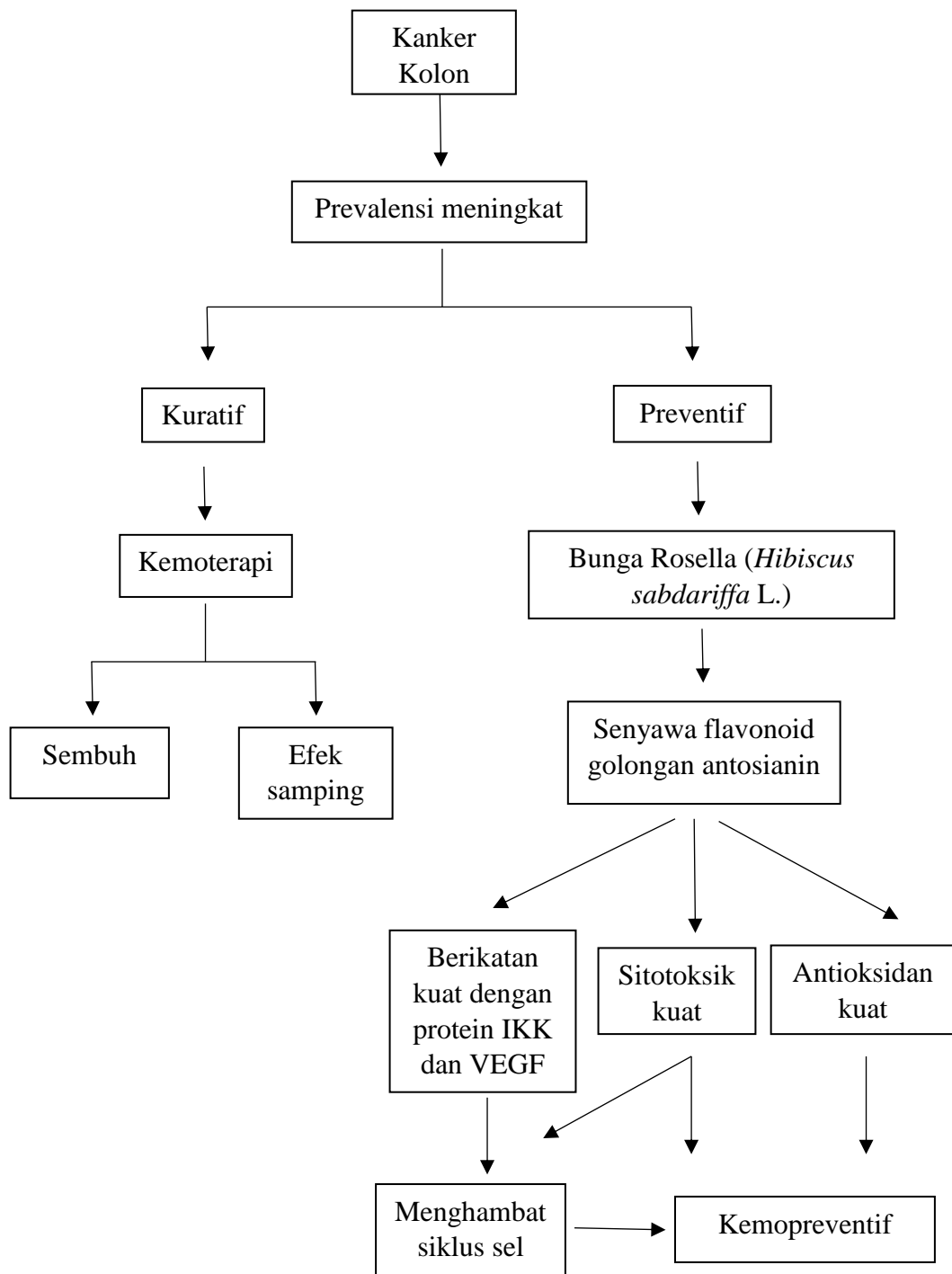
Gambar 4. Struktur 3D protein IKK (www.rscb.org)

b. *Protein Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)*

Sebagaimana diketahui bahwa pembentukan pembuluh darah baru sering dihubungkan dengan timbulnya hal yang buruk, seperti kanker. Peristiwa ini disebut angiogenesis dan dapat dimodulasi oleh VEGF. Pada sel kanker yang mampu meningkatkan sensitivitas VEGF tentu akan lebih mudah untuk bermetastasis, karena kanker mendapatkan suplai darah yang cukup untuk terus berpoliferasi (Saha *et al.*, 2013).



Gambar 5. Struktur 3D protein VEGF (www.rscb.org)

K. Kerangka Konsep**Gambar 6.** Kerangka konsep

L. Hipotesis

1. Fraksi etanol bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) mengandung senyawa golongan flavonoid berdasarkan uji KLT.
2. Fraksi etanol bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki aktivitas antioksidan berdasarkan uji DPPH.
3. Fraksi etanol bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker kolon WiDr berdasarkan uji sitotoksik MTT *assay*.
4. Senyawa antosianin yang terdapat pada bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) memiliki afinitas yang baik dalam menghambat protein IKK dan VEGF berdasarkan analisis *docking* molekuler.
5. Terdapat peningkatan kemampuan apoptosis sel pada sel WiDr setelah diberi fraksi etanol bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.).