

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kanker

Karsinoma maupun yang biasa disebut dengan kanker berasal dari bahasa Yunani *karnikos* = kepitung, adalah pembentukan jaringan baru yang tidak terkontrol dan ganas (*maligne*). Seperti halnya sifat dari kepitung, penyakit kanker akan menyerang penderitanya tanpa diberi kesempatan untuk lepas sampai mati. Penyakit ini bermula dari suatu kelompok sel normal yang menjadi liar dan secara pesat memperbanyak diri kemudian mengakibatkan pembengkakan atau benjolan yang disebut dengan tumor atau *noeplasma* (*neo* = baru, *plasma* = bentukan (Sukardja, 2000).

Kanker merupakan penyakit yang ditandai oleh pertumbuhan yang tidak terkendali mengarah pada proses inyasif jaringan sekitarnya dan menyebar (proses metastasis) ke bagian tubuh lain (King, 2000). Kanker disebabkan oleh adanya kerusakan gen yang menyebabkan terganggunya proses siklus sel dan apoptosis. Kerusakan gen ini dapat disebabkan oleh faktor eksternal seperti rokok, bahan kimia, radiasi dan infeksi mikroorganisme serta faktor internal seperti mutasi bawaan, hormon, dan kondisi imunitas (American Cancer Society, 2008)

Pada dasarnya sel kanker berbeda dengan sel normal. Sel kanker mampu membelah dan memperbanyak diri tanpa adanya pengontrol pertumbuhan. Kondisi tersebut akan semakin parah jika tidak langsung diobati, karena sel kanker mampu masuk ke jaringan lain dan menyebabkan kerusakan pada jaringan tersebut. Penyebaran sel kanker melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening, sehingga dapat dengan mudah membentuk kanker baru yang berakibat pada kematian pada penderitanya (Tjay dan Rahardja, 1986).

Perbedaan antara sel kanker dengan sel normal antara lain:

- a. Sel kanker mampu mencukupi sendiri kebutuhan sinyal pertumbuhannya

Sel-sel normal untuk melakukan proliferasi membutuhkan signal pertumbuhan (*Mitogenic Growth Factor*). Tanpa adanya rangsangan tersebut sel-sel normal tidak mampu berkembang. Sedangkan sel kanker dapat memproduksi sendiri *Growth Factor* sehingga tidak bergantung pada rangsangan signal pertumbuhan dari luar untuk berproliferasi yang menyebabkan sel kanker tumbuh tak terkendali (Hanahan dan Weinberg, 2000).

- b. Tidak sensitif terhadap sinyal antiproliferatif

Pada sel normal banyak sinyal antiproliferatif untuk mengatur homeostatis jaringan dan mengatur daur hidup sel. Pada sel kanker terdapat gangguan yang menyebabkan tidak ada (*deleted*) gen-gen yang memproduksi protein antiproliferatif (Hanahan dan Weinberg, 2000).

- c. Sel kanker mampu menghindari mekanisme apoptosis (kematian sel yang terprogram)

Kematian sel adalah suatu proses normal yang mempunyai peranan untuk perbaikan jaringan dan pelepasan sel rusak yang membahayakan tubuh (King, 2000). Sel normal mempunyai mekanisme kematian sel yang terprogram yaitu apoptosis. Apoptosis terjadi dengan melibatkan *apoptotic regulator* yang terdiri atas proapoptosis dan antiapoptosis. Tumor *supressor* gen p53 menimbulkan apoptosis dengan meng-upregulasi ekspresi gen proapoptosis. Sedangkan pada sel kanker umumnya terjadi mutasi pada gen p53 sehingga kehilangan regulator proapoptosis (Hanahan dan Weinberg, 2000).

- d. Sel kanker mempunyai potensi untuk replikasi tidak terbatas

Sel kanker dapat melakukan replikasi yang tidak terbatas karena sel kanker menghasilkan sinyal pertumbuhan sendiri dan adanya upregulasi ekspresi enzim telomerase (Hanahan dan Weinberg, 2000).

- e. Sel kanker dapat menginvasi jaringan di sekitarnya dan membentuk metastasis

Pada perkembangannya, sebagian besar kanker akan membentuk massa tumor primer yang mampu melepaskan diri dari jaringan awal, memasuki aliran darah maupun pembuluh limfa dan membentuk tumor sekunder (metastasis) di bagian tubuh yang lain. Kanker akan semakin sulit untuk disembuhkan jika jangkauan metastasis meluas.

Menurut Sukardja (2000) karsinogenesis merupakan proses terjadinya kanker yang bermula dari satu sel kanker yang kemudian berubah menjadi suatu koloni pada jaringan. Terdapat 4 tahapan dalam karsinogenesis meliputi tahap inisiasi, tahap promosi, tahap progresif, dan tahap metastasis.

Tahap yang pertama yaitu tahap inisiasi, pada tahap ini terdapat karsinogenesis berupa zat yang mampu menyebabkan mutasi pada gen (mutagen). Sel yang awalnya normal dengan adanya mutagen akan membentuk menjadi premalignan. Zat karsinogen akan berinteraksi dengan DNA sehingga menyebabkan amplifikasi dan membentuk produk *copy multiple gen* (Sukardja, 2000). Pada tahap inisiasi juga terjadi kelainan pada kromosom yang disebabkan karena adanya mutasi gen kemudian dapat diturunkan pada anak-anak sel dan begitu seterusnya (Tjay dan Rahardja, 2002). Tahap inisiasi berlangsung sangat cepat (Kartawiguna, 2001).

Kesalahan acak selama proses pembelahan sel atau terpapar oleh karsinogen spesifik, misalnya hormon merupakan penyebab terjadinya tahap promosi (Schneider, 1997). Pada saat proliferasi sel diperlukan adanya zat karsinogen tambahan (*co-carcinogen*) sebagai promotor, dimana promotor adalah zat yang tidak bersifat mutagen namun mampu menaikkan reaksi karsinogen serta tidak menimbulkan amplifikasi gen, dengan demikian sel-sel rusak menjadi ganas (Tan dan Rahardja, 2002).

Pada tahap progresif terjadi pengaktifan gen-gen pertumbuhan karena adanya kerusakan DNA yang mengakibatkan perkembangan kanker menjadi ganas (Tan dan Rahardja, 2002). Selain aktivasi, juga terjadi perubahan bentuk beningan menjadi pra-malignan dan malignan (Sukardja, 2000).

Tahap selanjutnya yaitu tahap metastasis, tahap ini dapat menyebabkan gejala klinis bahkan hingga kematian (King, 2000). Pada tahap metastasis, terjadi pemisahan sel kanker dari sel induk, masuk ke pembuluh darah dan kelenjar limfe kemudian membentuk jaringan baru (Schneider, 1997). Kemampuan dalam membentuk jaringan baru dikarenakan adanya produksi protease yang berlebih. Protease tersebut yang memegang peranan dalam interaksi sel dan pergerakan sel melalui matriks ekstraseluler.

B. Kanker Serviks

Penyakit kanker serviks merupakan kanker yang terbentuk pada organ yang menghubungkan antara rahim dengan vagina (leher rahim). Terjadi karena adanya infeksi *human papiloma virus* (HPV) yang mengekspresikan protein onkogen E6/E7 yang mengganggu regulasi siklus sel normal menyebabkan hilangnya kontrol siklus sel normal dari sel tersebut sehingga terbentuk jaringan baru (neoplasma) pada sel epitel serviks (Snijders *et al.*, 2006). HPV dapat menginfeksi sel pada bagian kulit, alat kelamin, mulut serta tenggorokan. Penularan virus ini dari kulit ke kulit yang lain maupun dengan adanya hubungan seksual (*American Cancer Society*, 2013). Sekitar 70% kasus kanker serviks di seluruh dunia adalah karena HPV tipe 16 dan 18 (WHO, 2010). Terdapat sekitar 59% kematian pada wanita karena kanker serviks akibat infeksi HPV (WHO, 2012). Indonesia mempunyai tingkat prevalensi kanker serviks yang tinggi dibandingkan dengan jenis kanker lainnya (Oemiati *et al.*, 2011).

Tanda dan gejala kanker serviks meliputi pendarahan pada vagina yang terjadi diantara siklus menstruasi. Pada stadium lanjut penderita mengalami pendarahan yang spontan yang disertai nyeri pinggang bagian bawah (Yatim, 2005). Adanya bau busuk yang khas pada pendarahan dapat memperkuat karsinoma (Hanifa, 1999).

C. Sel HeLa

Sel HeLa adalah salah satu jenis sel kanker serviks yang diturunkan dari seorang wanita penderita kanker serviks yang bernama Henrietta Lacks, yang meninggal karena kanker pada tahun 1951. Isolasi yang pertama kali tersebut dilakukan oleh Dr. George O. Gey (Brendan *et al.*, 2009). Sel HeLa merupakan sel kanker serviks yang diakibatkan oleh infeksi HPV 18 (Goodwin dan Dimaio, 2000).

Sel HeLa yang ditumbuhkan dalam media kultur dapat tumbuh dengan pesat dan agresif. Media kultur yang digunakan dalam penelitian yaitu RPMI 1640-serum. Pada media kultur RPMI-1640 serum terkandung asam amino, vitamin, garam organik dan glukosa. Serum yang ditambahkan mengandung hormon pertumbuhan (Freshney, 1986).

D. Tanaman Kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus* L.)

1. Sistematika Tanaman

- Kingdom : Plantae
- Division : Magnoliophyta
- Class : Magnoliopsida
- Ordo : Fabales
- Famili : Fabaceae
- Genus : *Psophocarpus*
- Species : *Psophocarpus tetragonolobus* L.

Di Indonesia, tanaman ini mempunyai beberapa nama yaitu kacang botol atau kacang belingbing (Sumatera), jaat (Sunda), kelongkang (Bali), dan biraro (Ternate). Di beberapa negara, kecipir dikenal dengan nama goa bean, winged bean, four angled bean (Inggris), dambala (Sinhala, Sri Lanka), kacang botol (Malaysia), sigarillas (Tagalog, Filipina), sirahu avarai (bahasa Tamil), dan tua phoo (Thailand) (Krisnawati, 2010).

Semua bagian tanaman kecipir bisa dikonsumsi kecuali batangnya, seperti daun, bunga, polong muda, dan biji. Tanaman ini banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional antara lain untuk penambah nafsu makan, obat radang telinga, obat bisul dan lain-lain (Handayani, 2013).

2. Morfologi Tanaman

Tanaman kecipir tumbuh merambat dengan panjang 2-5 m. Akarnya berupa akar tunggang dengan akar lateral yang panjang dan menebal serta mampu membentuk umbi. Batangnya silindris, beruas, dan jarang mengayu. Pada batang umumnya berwarna hijau. Daun majemuk dengan anak daun tiga berbentuk segi tiga dengan dua daun penumpu kecil, sepanjang 7–8,50 cm. Bentuk pertulangan daun menyirip, berselang-seling, dan umumnya berwarna hijau (Krisnawati, 2010). Seperti tanaman kacang-kacangan lainnya, bunga kecipir berupa bunga kupu-kupu, dengan warna sayap bervariasi biru muda, biru, ungu muda atau ungu (Handayani, 2013). Bunga kecipir berjumlah 2-10 buah. Berada di ketiak daun, kelopak bunga biasanya berwarna biru pucat. Buah kecipir berbentuk polong persegi empat dengan panjang 15-40 cm. Pada setiap sisi bersayap dan di bagian pinggirnya berombak, bergerigi maupun berlekuk. Lebar sayap 0,30-1 cm, berwarna kuning-hijau, hijau atau krem, dan terkadang disertai lurik merah. Polong berisi 5-20 biji. Biji berbentuk membulat dengan panjang 0,60-1 cm dan berat biji 0,04-0,64 gram. Warna biji

kuning, kehijauan, coklat, putih hingga hitam atau berbintik (Krisnawati, 2010).

3. Kandungan Kimia Kecipir

Menurut Rismunandar (1986) kandungan protein pada biji kecipir lebih besar dibandingkan dengan polong muda, umbi, maupun daunnya. Selain kandungan protein yang tinggi, biji kecipir juga mengandung asam amino. Seperti yang dilaporkan oleh Chan dan de Lumen (1982) bahwa biji kecipir mengandung asam amino yang bersifat asam dan basa misalnya prolin, serin, dan lisin dalam jumlah yang cukup tinggi.

National Academy of Science (1975) menjelaskan bahwa kadar lemak biji kecipir sekitar 15-20,4%. Sekitar 71% dari jumlah tersebut tersusun atas asam lemak tidak jenuh seperti asam linoleat. Lemak pada biji kecipir mengandung banyak tokoferol (vitamin E) yang berfungsi sebagai antioksidan. Terdapat pula beberapa vitamin lain seperti β -karoten, thiamin, riboflavin, niasin, piridoksin, asam folat, dan asam askorbat. Walaupun kebutuhannya sangat kecil, namun ketersediaan vitamin tersebut dibutuhkan oleh tubuh (Utami, 2010).

Biji kecipir mengandung mineral seperti Ca, Mg, K, Na, P, dan Fe. Dari keseluruhan mineral tersebut yang terpenting adalah Fe yang berfungsi untuk pembentukan hemoglobin (Utami, 2010). Biji kecipir merupakan sumber mineral besi yang baik dan cara pengolahannya tidak mempengaruhi kandungan (Ekpenyong dan Borchers, 1980).

Polisakarida merupakan kandungan karbohidrat yang sebagian besar terdapat pada biji kecipir, seperti hemiselulosa dan selulosa yang mempunyai rantai panjang sehingga sulit dicerna oleh tubuh manusia. Sedangkan yang mudah dicerna oleh tubuh yaitu beberapa jenis oligosakarida dan monosakarida seperti sukrosa, stakiosa, rafinosa, arabinosa, dan glukosa (*National Academy of Science*, 1975). Menurut Sekhar (2013) kuantifikasi polifenol total, flavonoid dan tanin dengan

persentase tertinggi yaitu kaempferol (1,07-790,5 µg/g) dan persentase terendah asam galat (0,09-3,49 µg/g) yang terdapat pada biji kecipir.

4. Pemanfaatan Tradisional Kecipir

Seluruh bagian dari tanaman kecipir seperti daun, bunga, polong muda, biji, dan umbi dapat dikonsumsi kecuali batang. Pada buah muda tanaman kecipir ini sering dibuat sayur dan bahan peceh, selain itu biji kecipir yang sudah tua dapat diolah menjadi. Biji kecipir juga digunakan untuk membuat minyak goreng, susu dan makanan tradisional seperti tahu, miso tempe (Handayani, 2013) dan tauco yang semakin banyak digemari (Margono *et al.*, 2000). Menurut Brody (1982) ubi kecipir di dataran tinggi Papua dimanfaatkan dengan cara direbus, dikukus, digoreng, ataupun dibuat kue.

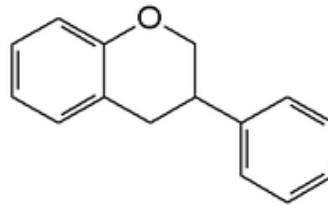
5. Aktivitas Farmakologi

Ekstrak metanol daun kecipir menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi hambat 2,55 mg/mL (Yoga, *et al.*, 2007). Aktivitas antibakteri juga ditunjukkan dari yoghurt kecipir terhadap *Salmonella typhi* (Shagti, 2012). Menurut Sasidharan *et al.*, (2008) menyebutkan bahwa ekstrak metanol akar kecipir menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *Candida albicans* dengan konsentrasi hambat 3,13 mg/mL.

E. Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder tanaman yang banyak memiliki gugus fenol. Flavonoid terbagi menjadi berbagai macam, antara lain flavonol, flavon, flavanon, isoflavon, *catechin*, *anthocyanidins*, dan *chalcon*. Flavonoid dilaporkan memiliki banyak aktivitas farmakologis seperti antivirus, antiplatelet, antiinflamasi, antitumor, dan antioksidan. Senyawa golongan flavonoid memiliki rangka struktur berupa C₆-C₃-C₆. Flavonoid terbentuk di tanaman melalui jalur biosintesis *phenylpropanoid pathway*, jalur ini juga memproduksi senyawa golongan lain seperti asam fenolat, lignin, lignan, dan stilben (Markham, 1988).

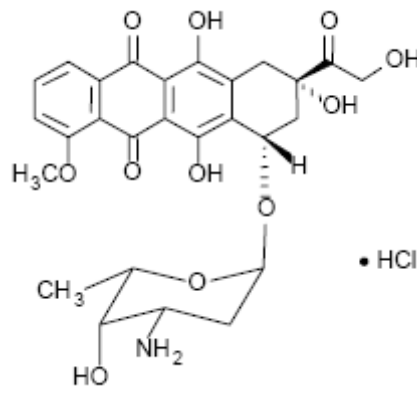
Isoflavonoid merupakan salah satu senyawa golongan flavonoid yang memiliki struktur mirip dengan estrogen, atau biasa disebut senyawa fitoestrogen. Telah banyak studi yang membuktikan bahwa senyawa ini memiliki aktivitas membunuh dan menghambat pertumbuhan *estrogen-dependent cancer* seperti kanker payudara dan kanker serviks. Senyawa isoflavonoid yang banyak ditemukan adalah daidzin dan genistein yang tersebar di tanaman keluarga *Fabaceae* seperti kedelai, kacang kedelai, dan alfalfa (Dewick, 2002). Struktur isoflavonoid dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur dasar isoflavonoid (Markham, 1988)

F. Doxorubicin

Doxorubicin termasuk golongan antibiotik antrasiklin adalah obat kemoterapi yang digunakan untuk berbagai jenis kanker (Tjay dan Rahardja, 2003). Bekerja dengan cara memblokir enzim topoisomerase I dan mengikat DNA sel kanker, sehingga sel kanker tidak aktif lagi membelah. *Doxorubicin* merupakan cairan berwarna merah yang diberikan secara injeksi intravena atau dengan infus. *Doxorubicin* adalah *vesicant*, yaitu zat kimia yang menyebabkan jaringan menjadi rusak dan melepuh jika zat tersebut keluar dari vena (Bugger *et al.*, 2010). Efek samping dari *doxorubicin* adalah myelotoksitas, sering rontok rambut total (reversibel), mual muntah, amenorrea, dan neutropenia selewat (Tjay dan Rahardja, 2003). Struktur *doxorubicin* dapat dilihat pada Gambar 2.

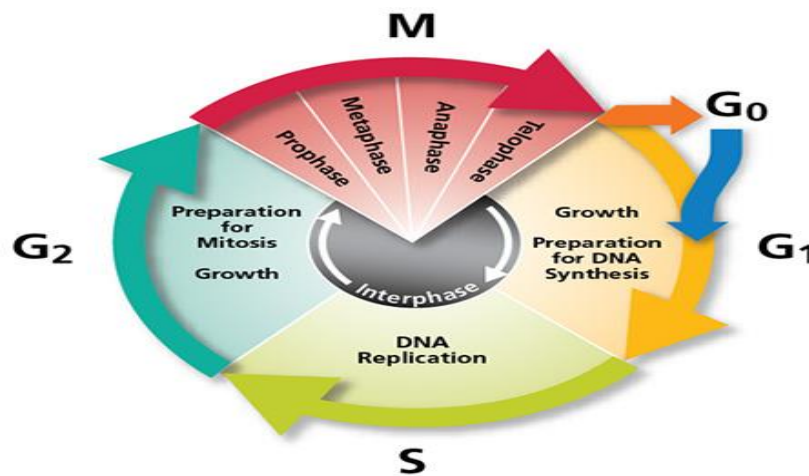


Gambar 2. Struktur *doxorubicin* (sumber: www.rxlist.com)

G. Proliferasi Sel

Proliferasi sel merupakan salah satu ciri dari makhluk hidup untuk tumbuh, berkembang dan mempertahankan kehidupannya. Proliferasi yang terjadi dalam suatu rangkaian proses disebut dengan siklus sel. Terdapat dua mekanisme yang mengontrol terjadinya siklus sel yaitu *checkpoint* siklus sel dan proses apoptosis. Komponen yang bertanggungjawab pada proses pengontrolan siklus sel yaitu produk gen tumor supresor seperti CDK inhibitor, protein kinase cekpoin, p53, p38, ATM, ATR, CHK 1 dan 2, serta jalur ubiquitin proteasome (Rachmawati *et al.*, 2012).

Pada sel normal proliferasi terjadi melalui siklus sel yang terdiri atas 4 fase, seperti yang terlihat pada Gambar 3, yaitu fase G1, fase S, fase G2, dan fase M. Pada saat sel melewati mitosis, sel memasuki fase G1, ketika sel aktif namun tidak mensintesis DNA atau dengan kata lain untuk beristirahat, sel memasuki fase G0. Sel mengandung DNA diploid (2N) pada saat fase G0/G1, yang selanjutnya sel memasuki fase S dan terjadi sintesis DNA menyebabkan kandungan DNA menjadi 4N. Ketika fase G2 sebelum fase M, sel membelah diri menjadi 2 sel diploid. Siklus sel diregulasi oleh adanya aktivitas *cyclin dependent kinase* (CDK) yang berikatan dengan subunit regulator *cyclin*.

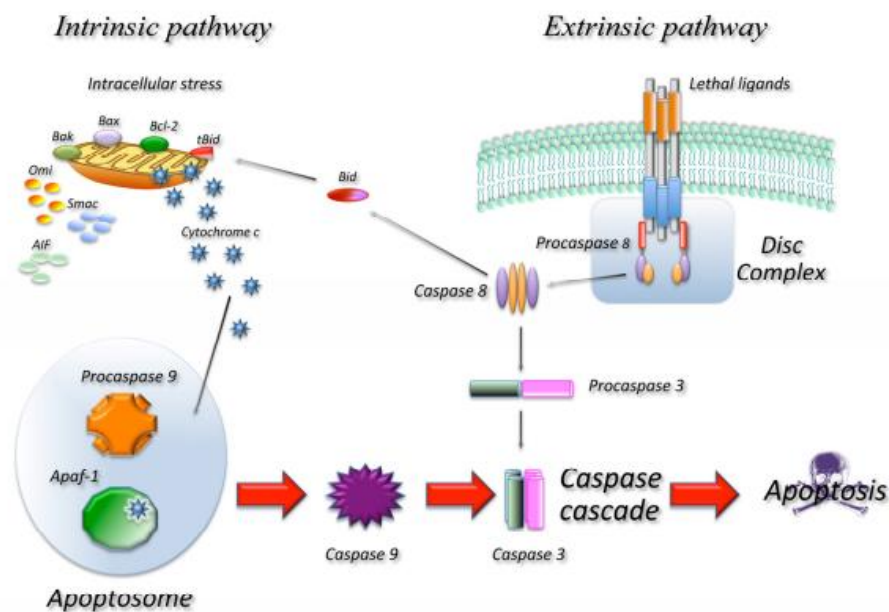


Gambar 3. Siklus sel (sumber: www.bdbiosciences.com)

Berbeda dengan sel normal, proliferasi pada sel kanker terjadi secara tidak terkendali yang diakibatkan oleh adanya mutasi gen, sehingga menyebabkan instabilitas genomik dan instabilitas kromosom. Mutasi gen juga menyebabkan kompleks CDK-*cyclin* kehilangan kemampuan dalam meregulasi siklus sel, sehingga mengakibatkan proliferasi yang terjadi secara terus menerus atau tidak terkontrolnya siklus sel. Pada keadaan tersebut merupakan karakteristik dari pertumbuhan sel tumor yang dapat menginfiltrasi jaringan sekitarnya (Olivia, 2014).

H. Apoptosis

Kematian sel pada umumnya dibagi menjadi dua yaitu apoptosis dan nekrosis. Apoptosis merupakan proses kematian sel yang terprogram sebagai upaya tubuh menjaga homeostasis sel, dan menghilangkan sel rusak atau terinfeksi. Proses apoptosis tidak terlepas dari peran protein caspase, terutama caspase 3 yang merupakan inisiator utama yang akan menginduksi proses pemotongan protein, sitoskeletal, dan organela sel. Caspase 3 dapat diaktifkan melalui dua jalur yaitu jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik seperti yang terlihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Skema jalur molekuler secara intrinsik dan ekstrinsik yang menyebabkan apoptosis (Favaloro *et al*, 2012).

1. Jalur intrinsik

Adanya kerusakan DNA, hypoxia, dan tingginya kadar Ca^{2+} di sitoplasma dapat menjadi stimulus pengeluaran protein pro apoptosis seperti sitokrom c ke sitoplasma. Sitokrom akan membentuk kompleks dengan Apaf-1 dan caspase 9 untuk mengaktifkan caspase 3. Pengeluaran dan penghambatan sitokrom c diatur oleh keluarga protein Bcl-2 yang dibagi menjadi 2 yaitu protein pro apoptosis dan anti apoptosis. Kelompok protein pro apoptosis antara lain Bax, Bak, Bad, Bxl-Xs, Bid, Bik, Bim, dan Hrk sedangkan protein anti apoptosis antara lain Bcl-2, Bcl-X_L, Bcl-W, Bfl-1 dan Mcl-1. Caspase 3 yang telah aktif akan menginduksi pemotongan dan perusakan protein sel, sitoskeleton, dan organela sel lain serta dapat mempengaruhi siklus sel yang nantinya akan berkontribusi terhadap perubahan morfologi sel dalam apoptosis.

2. Jalur ekstrinsik

Apoptosis jalur ini diaktifkan oleh faktor luar berupa *death ligand* yang nantinya akan berikatan dengan *death receptor*. Contoh *death ligand* adalah TNF dan Fas ligand sedangkan reseptornya adalah *type I TNF receptor (TNFR1)* dan *Fas receptor*. Ligan dan reseptor ini akan membentuk kompleks dengan domain atau saluran reseptor dengan sitoplasma membentuk *death-inducing signalling complex (DISC)*. Domain pada *death receptor* disebut *TNF receptor-associated death domain (TRADD)* dan *Fas-associated death domain (FADD)*. Selanjutnya DISC akan mengaktifkan caspase 8 yang nantinya akan mengaktifkan caspase 3 yang merupakan *inducer* utama dalam proses apoptosis (Wong dan Rebecca, 2011).

