

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Penelitian Terdahulu

Eleutherine bulbosa (Mill.) Urb. atau sering disebut sebagai bawang dayak merupakan tanaman yang berpotensi sebagai agen ko-kemoterapi. Bulbus tumbuhan genus *Eleutherine* ini dari beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa ekstrak dari senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan kanker melalui inhibisi siklus pertumbuhan sel dan induksi apoptosis sel (Listyana dan Suryadinata, 2016)

Penelitian yang dilakukan oleh Fitri *et al* (2014) hasil pengujian sitotoksik Ekstrak Etil Asetat Bawang Dayak (EEABD) terhadap sel T47D memberikan nilai IC_{50} 147,124 $\mu\text{g/mL}$. EEABD dikombinasikan dengan doksorubisin terhadap sel T47D memberikan efek sinergis kuat pada konsentrasi EEABD - doksorubisin 36,75 $\mu\text{g/mL}$ – 1,0 $\mu\text{g/mL}$ ($1/4 IC_{50}$ – $1/2 IC_{50}$). EEABD dan kombinasinya dengan doksorubisin dilakukan uji siklus sel dengan metode flowsitometri, hasilnya menghambat siklus sel pada fase G0-G1 dengan presentase 54,74% disebabkan terjadi penekanan ekspresi siklin D1 sedangkan pengujian apoptosis menunjukkan mekanisme apoptosis dengan presentase 13,86% dikarenakan terjadi penekanan ekspresi Bcl-2.

Pada penelitian Yudiarti (2015) mengenai uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanol bawang dayak pada sel T47D memberikan nilai IC_{50} sebesar 286,82 $\mu\text{g/mL}$. Uji kombinasi 5-FU dan ekstrak etanol bawang dayak memiliki efek sinergis sampai sinergis sangat kuat dengan nilai CI 0,209 dan 0,134. Persentase apoptosis kombinasi 125 $\mu\text{g/mL}$ 5-FU dan 25 $\mu\text{g/mL}$ ekstrak etanol bawang dayak terhadap sel T47D adalah 21,33%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi (125 $\mu\text{g/mL}$ 5-FU dan 25 $\mu\text{g/mL}$ EEABD) mampu menginduksi apoptosis terhadap sel kanker payudara T47D. Hasil pengamatan siklus sel menunjukkan kombinasi (125 $\mu\text{g/mL}$ 5-FU dan 25 $\mu\text{g/mL}$ EEABD) memicu akumulasi sel pada fase G0-G1 (57,11%).

Minggarwati (2017) melakukan penelitian mengenai penentuan senyawa aktif dan membandingkan aktivitas antikanker fraksi air, fraksi n-heksan,

fraksi kloroform dan fraksi etil asetat pada sel kanker serviks Hela menggunakan metode MTT. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa nilai IC_{50} fraksi etil asetat umbi bawang sabrang memiliki bioaktivitas paling tinggi yaitu 44,335 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan fraksi air, N-heksan dan kloroform secara berturut-turut adalah $>1000 \mu\text{g/mL}$; 250,774 $\mu\text{g/mL}$; 270,459 $\mu\text{g/mL}$. Identifikasi senyawa aktif terhadap fraksi etil asetat umbi bawang dayak menunjukkan bahwa senyawa isoliquiritigenin dan senyawa *oxyresveratrol* adalah senyawa mayor yang diduga sebagai senyawa *lead compound* aktivitas antikanker dalam umbi bawang sabrang.

Amelia *et al* (2014) melakukan uji untuk menyelidiki potensi senyawa dalam bawang dayak sebagai anti kanker payudara menunjukkan senyawa *eleutherinol* golongan naphtoquinone dari bawang dayak memiliki afinitas ikatan tertinggi terhadap alpha estrogen reseptor (3ERT) dengan energi ikatan bebas 6,43 kcal/mol dan dapat menghambat alfa reseptor estrogen.

B. Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.)Urb.)

1. Daerah Tumbuh

Bawang dayak termasuk tumbuhan yang berasal dari Amerika tropis, di Jawa dipelihara sebagai tanaman hias dan di beberapa tempat tumbuh liar antara 600 hingga 1500 Meter di atas permukaan laut, kadang-kadang didapati dalam jumlah besar di pinggir-pinggir jalan yang berumput dan di dalam kebun-kebun teh, kina dan karet (Ogata, 1995). Tanaman ini juga banyak ditemukan mulai dari semenanjung Malaysia hingga Filipina, Sumatera, Kalimantan, Jawa, Sulawesi dan Nusa Tenggara. (Ogata, 1995; Budityastomo, 2010).

2. Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tanaman bawang dayak adalah sebagai berikut : (SK Determinasi Tanaman, Siregar, 2015)

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobinota

Super Divisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Liliopsida
Sub Kelas : Lilidae
Ordo : Liliales
Famili : Iridaceae
Genus : Eleutherine
Spesies : *Eleutherine bulbosa* (Mill.)Urb..
Sinonim : *Eleutherine americana* (Aubl) Merr.
Eleutherine plicata Herb.
Eleutherine palmifolia (L) Merr.



Gambar 2.1 Bawang dayak (dokumentasi pribadi)

3. Nama Daerah

Nama Indonesia *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. adalah bawang kapal (Sumatera); bawang hantu, bawang makkah (Kalimantan); sedangkan nama daerah Jawa adalah babawangan beureum, bawang sabrang, bawang siyem, brambang sabrang, luluwan sapi, teki sabrang (Depkes RI, 1989; Ogata, 1995; Budityastomo, 2010).

4. Deskripsi Tanaman

Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) adalah salah satu jenis tanaman yang berkhasiat dalam pengobatan. Ciri spesifik dari tanaman ini adalah umbinya yang berwarna merah menyala dengan permukaan yang sangat licin, letak daun berpasangan dengan komposisi daun bersirip ganda dan bunganya berwarna putih. Tipe pertulangan daunnya sejajar dengan tepi daun licin dan bentuknya seperti pita bergaris. Selain digunakan sebagai tanaman obat, tanaman ini juga bisa digunakan sebagai tanaman hias karena memiliki bunga yang berwarna putih (Firdaus, 2006).

5. Kandungan Kimia

Umbi bawang dayak terkandung senyawa fitokimia yaitu alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, steroid, dan tanin. Secara empiris bawang dayak sudah dipergunakan masyarakat lokal sebagai obat berbagai jenis penyakit seperti kanker payudara, penurun tekanan darah tinggi, penyakit kencing manis, menurunkan kolesterol, obat bisul, kanker usus, mencegah stroke, dan mengurangi sakit perut setelah melahirkan. Selain itu, tanaman ini juga dapat dipergunakan sebagai pelancar air susu ibu (Galingging, 2009).

Dalam jurnal ilmiah Kuntorini *et al* (2010) menyatakan beberapa penelitian tentang bawang dayak telah dilakukan antara lain bulbus tanaman genus *Eleutherine*. Bulbus tanaman *Eleutherine bulbosa* dan *Eleutherine americana* diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder golongan naftokuinon (*elecanacin*, *eleutherin*, *eleutherol*, *eleutherinon*) (Alves *et al.*, 2003; Hara *et al.*, 1997; Han *et al.*, 2008; Nielsen dan Wege, 2006). Banyak senyawa turunan naftokuinon diketahui memiliki bioaktivitas sebagai antikanker maupun antioksidan, selain itu bersifat sangat toksik, umumnya digunakan sebagai antimikrobia, antifungal, antiviral dan antiparasit. Selain itu, naftokuinon memiliki bioaktivitas sebagai antikanker dan antioksidan yang biasanya terdapat di dalam sel vakuola dalam bentuk glikosida (Babula *et al.*, 2005; Robinson, 1995).

Kandungan senyawa kimia lain dari tumbuhan umbi bawang dayak adalah flavonoid (Wardani, 2009). Fungsi kebanyakan flavonoid dalam tubuh manusia adalah sebagai aktivitas antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker (Ivan, 2009). Penelitian yang dilakukan oleh Ivan (2009) membuktikan adanya aktivitas anti kanker dari ekstrak etanol bawang dayak terhadap sel T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 125 $\mu\text{g/mL}$.

Pada penelitian Amelia *et al* (2014) mengenai uji yang dilakukan untuk menyelidiki potensi senyawa dalam bawang dayak sebagai anti kanker payudara menunjukkan senyawa *eleutherinol* golongan napthaquinone dari bawang dayak memiliki afinitas ikatan tertinggi

terhadap alpha estrogen reseptor (3ERT) dengan energi ikatan bebas 6,43 kcal / mol dan dapat menghambat alfa reseptor estrogen.

Minggarwati (2017) melakukan penelitian mengenai penentuan senyawa aktif dan aktivitas antikanker ekstrak etanol bawang sabrang dengan berbagai jenis pelarut terhadap sel kanker serviks. Hasilnya menggunakan metode MTT. Ekstrak etanol bawang sabrang dilakukan fraksinasi bertingkat menggunakan air, n-heksan, kloroform dan etil asetat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC_{50} fraksi etil asetat umbi bawang sabrang memiliki bioaktivitas paling tinggi yaitu 44,335 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan fraksi air, N-heksan dan kloroform secara berturut-turut adalah >1000 $\mu\text{g/mL}$; 250,774 $\mu\text{g/mL}$; 270,459 $\mu\text{g/mL}$. Identifikasi senyawa aktif terhadap fraksi etil asetat umbi bawang dayak menunjukkan bahwa senyawa isoliquiritigenin dan senyawa oxyresveratrol adalah senyawa mayor yang diduga sebagai senyawa *lead compound* aktivitas antikanker dalam umbi bawang sabrang.

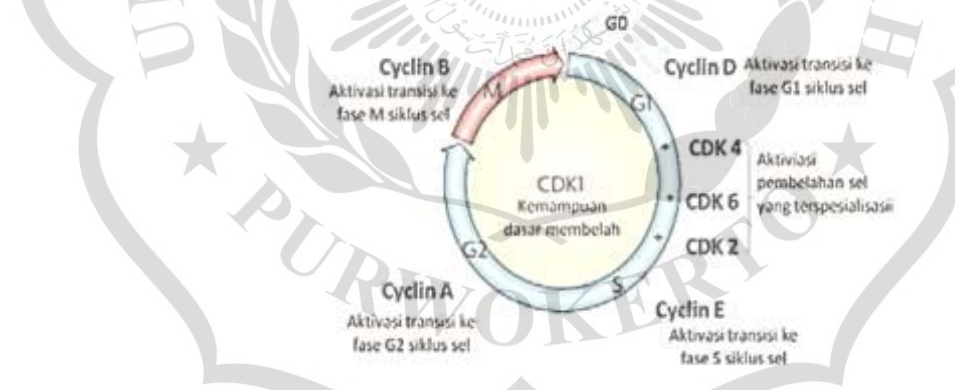
C. Kanker

Kanker adalah istilah umum yang dipakai untuk menunjukkan neoplasma ganas, dan ada banyak tumor atau neoplasma lain yang tidak bersifat kanker (Price *et al.*, 2006). Kanker adalah istilah yang luas untuk kelas penyakit yang ditandai dengan sel-sel tumbuh secara abnormal dan menyerang sel-sel yang sehat dalam tubuh. Kanker terjadi sebagai akibat perubahan sel sehingga sel dapat melepaskan diri dari mekanisme pengaturan pertumbuhan normal. Perubahan sel ini disebut dengan istilah transformasi. Sebagai dasar transformasi adalah gangguan kelainan (mutasi) di dalam genom dari sel yang mengalami transformasi.

Mutasi gen merupakan penyebab terjadinya transformasi dari sel normal menjadi sel kanker. Ada tiga macam kelas gen yang mengatur pertumbuhan normal yaitu Protoonkogen yang mendorong pertumbuhan, tumor suppressor gen yang menghambat pertumbuhan dan apoptosis gen yang mengatur kematian sel, ketiga gen ini merupakan sasaran utama pada kerusakan genetik. Selain itu ada gen yang mengatur perbaikan DNA yang rusak. Kerusakan pada gen yang memperbaiki DNA dapat memudahkan terjadinya

mutasi luas di genom dan transformasi neoplastik. Setiap gen kanker memiliki fungsi spesifik, yang disregulasinya ikut berperan dalam perkembangan kanker (Tjandra, 2010).

Siklus sel merupakan proses vital dalam kehidupan setiap organisme. Siklus sel secara normal terbagi dalam empat fase yaitu: G1, S, G2, M, dan diselingidenganfaseistirahatG0 (Shengli, 2001). Siklus sel normal pada manusia Proliferasi sel normal berlangsung melalui suatu siklus sel yang terdiri dari 4 fase yang ditentukan oleh waktu sintesis DNA, yaitu fase G1, fase S, fase G2 dan fase M. Setelah mitosis, sel memasuki fase G1, yaitu fase sel sangat aktif tetapi tidak mensintesis DNA, atau memasuki fase G0 untuk istirahat. Pada fase G0/G1 kandungan DNA sel adalah diploid (2N). Siklus sel kemudian berlanjut ke fase S saat terjadi sintesis DNA dan kandungan DNA berubah menjadi 4N. Fase selanjutnya adalah fase G2 sebelum memasuki fase M di mana sel membelah diri menjadi 2 sel diploid. Waktu yang diperlukan untuk satu siklus bergantung pada jenis sel dan perbedaan waktu itu terutama di fase G1, bila perlu siklus sel berhenti pada fase ini (G1 arrest) atau pada interfase G1/S (Kresno, 2012).



Gambar 2.2 Peran kompleks cyclin dependent kinase (CDK) di tiap fase siklus sel (Malumbres dan Barbacid, 2009; Lapenna, 2009)

Kelainan siklus sel pada kanker payudara. Pada genom manusia, terdapat sekitar 300 gen yang ditemukan mengalami mutasi pada kanker, yang membuat instabilitas genomik dan instabilitas kromosom; perubahan ini berkontribusi pada deregulasi kinase siklus sel, berdampak pada proliferasi sel kanker yang tidak terkontrol (Malumbres dan Bardacid, 2009; Lapenna,

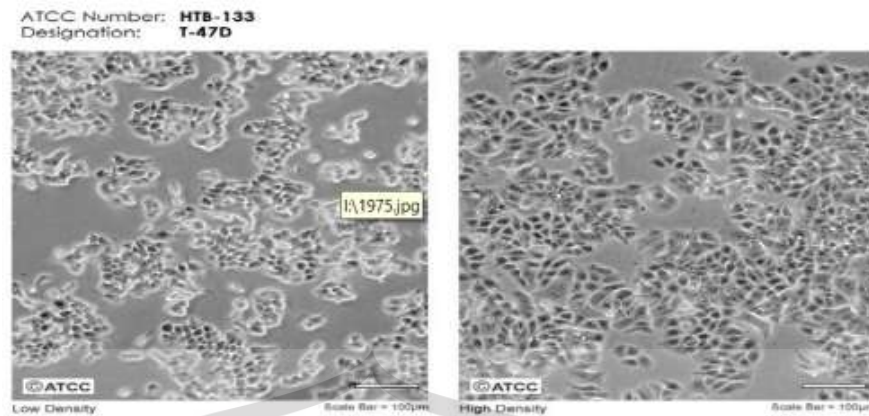
2009). Cyclin D1 memudahkan proliferasi sel kanker payudara. Kerja cyclin D1 secara spesifik adalah menonaktifkan protein retinoblastoma (Rb protein) yang fungsinya mencegah pembelahan sel. Lebih lanjut, kehadiran cyclin D1 berkorelasi dengan buruknya prognosis kanker payudara (Millar *et al*, 2009).

Pada kanker terjadi perubahan pada pengaturan siklus sel. Selama perkembangan sel kanker, baik secara genetik maupun epigenetik, biasanya mempengaruhi ekspresi protein-protein pengatur siklus sel. Hal ini dapat menyebabkan deregulasi aktivitas CDK. Pada sel kanker juga terjadi ketidakmampuan kontrol *checkpoint*, mengakibatkan respon yang menyimpang terhadap adanya kerusakan seluler. Contohnya, kerusakan DNA pada fase G1 normalnya menyebabkan berhentinya siklus sel atau terjadi apoptosis tergantung pada tingkat kerusakannya, sehingga sel tidak bisa memasuki fase S karena dihentikan pada G1 (Alfred, 1997). Ketidakmampuan kontrol checkpoint menyebabkan inisiasi fase S atau mitosis tetap berlangsung meskipun ada kerusakan seluler dan ketidakstabilan genetik yang selanjutnya menimbulkan *clonemaligna* (Janne, 2000; Budiani *et al.*, 2005).

D. Sel kanker T47D

Sel kanker payudara T47D (Gambar 2.3) merupakan *continous cell lines* yang morfologinya seperti sel epitel yang diambil dari jaringan payudara seorang wanita berumur 54 tahun yang terkena *ductal carcinoma*. Sel ini dapat ditumbuhkan dengan media dasar penumbuh RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) 1640. Untuk memperoleh media kompleks, maka ditambahkan 0,2 U/ml bovine insulin dan *Fetal Bovine Serum* (FBS) hingga konsentrasi akhir FBS dalam media menjadi 10%. Sel ditumbuhkan pada suhu 37°C dengan kadar CO₂ 5% (CCRC, 2017).

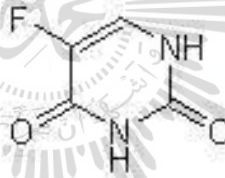
Continous cell line sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penangannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall *et al.*, 2003)



Gambar 2.3 Morfologi sel T47D (ATCC, 2017)

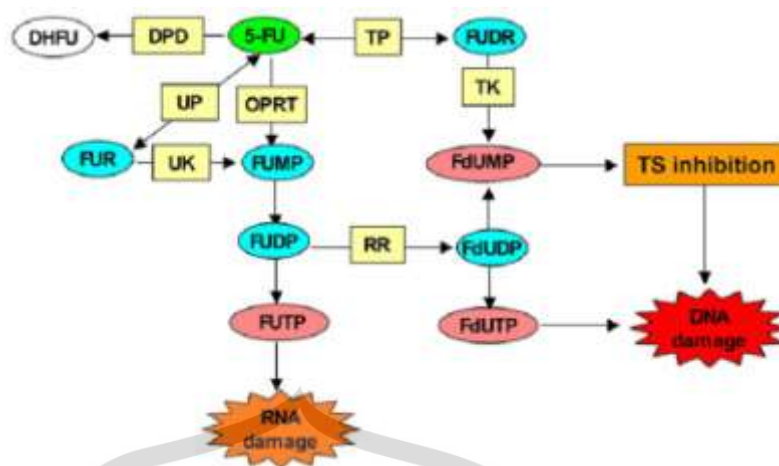
E. 5-Fluorourasil (5-FU)

5-Fluorourasil (Gambar 2.4) merupakan salah satu obat kemoterapi tertua yang telah digunakan beberapa dekade. Obat ini digunakan untuk beberapa jenis kanker seperti kolon, payudara, lambung, pankreas, dan kulit. 5-FU berupa cairan jernih dan tidak berwarna dan diberikan secara intravena, dapat juga berupa krim yang digunakan pada kanker kulit (Yusni, 2008).



Gambar 2.4 Struktur 5-Fluorourasil (CCRC, 2017)

5-Fluorourasil adalah antimetabolit yang bekerja secara antagonis dengan timin terhadap aktivitas enzim *thymidylate sintase* (TS). 5-FU merupakan prodrug, metabolisme 5-FU menghasilkan fluoridin-5'-trifosfat (FUTP) yang bergabung ke dalam RNA dan mempengaruhi fungsinya dan fluoro-deoxyuridine monophosphate (FdUMP) yang menghambat replikasi DNA (Longley and Johnston, 2007).



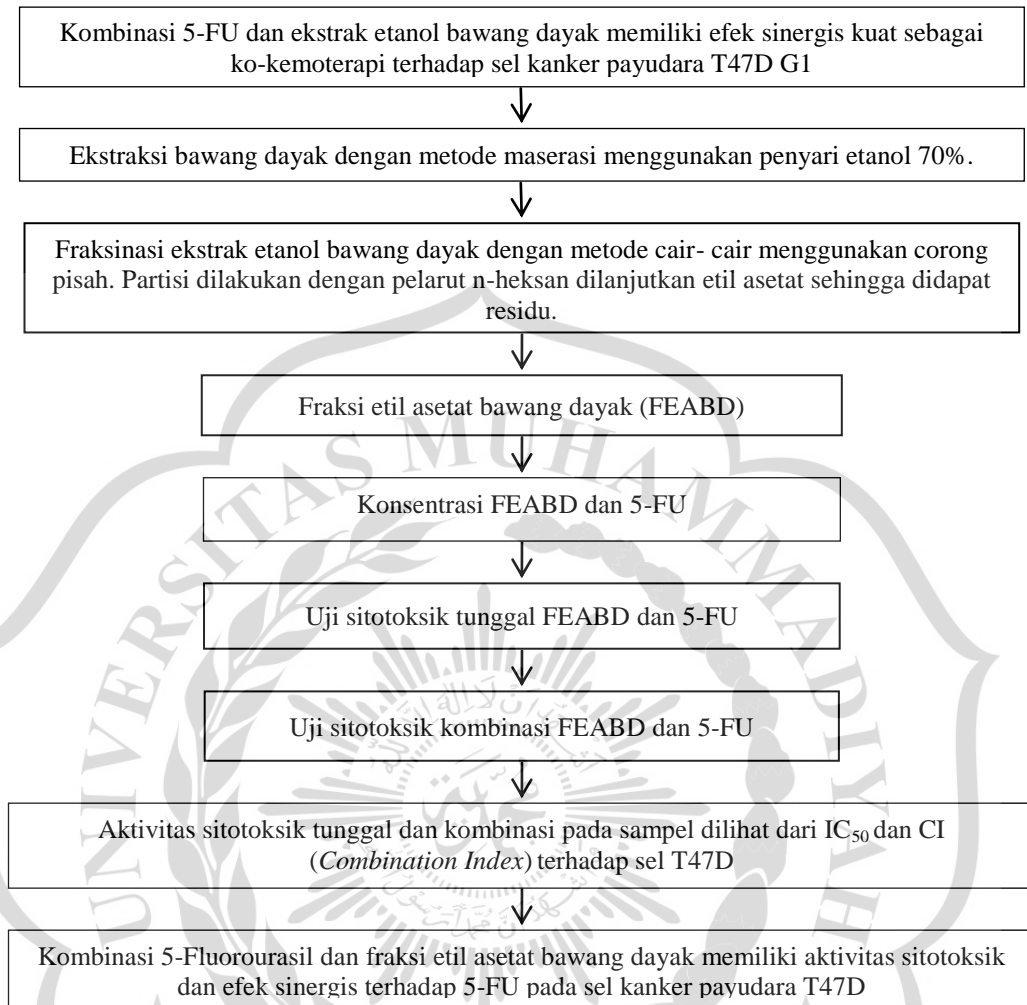
Gambar 2.5 Metabolisme 5-Fluorourasil (Longley and Johnston, 2007)

5-FU dikonversi menjadi tiga metabolit aktif utama yaitu: (1) *fluorodeoxyuridine monophosphate* (FdUMP), (2) *fluorodeoxyuridine triphosphate* (FdUTP), dan (3) *fluorouridine triphosphate* (FUTP). Mekanisme utama aktivasi 5-FU adalah konversi menjadi *fluorouridine monophosphate* (FUMP) juga secara langsung oleh *orotate phosphoribosyl transferase* (OPRT) atau secara tidak langsung melalui *fluorouridine* (FUR) melalui aksi berurutan dari *uridine phosphorylase* (UP) dan *uridine kinase* (UK). FUMP kemudian difosforilasi menjadi *fluorouridine diphosphate* (FUDP) yang dapat difosforilasi lebih lanjut menjadi metabolit aktif *fluorouridine triphosphate* (FUTP) atau dikonversi menjadi *fluorodeoxyuridine diphosphate* (FdUDP) oleh *ribonucleotide reductase* (RR). Di sisi lain, FdUDP dapat pula difosforilasi atau didefosforilasi menjadi metabolit aktif masing-masing FdUTP dan FdUMP. Jalur aktivasi alternatif lainnya melibatkan *thymidine phosphorylase* yang mengkatalisis konversi 5-FU menjadi *fluorodeoxyuridine* (FdUR), kemudian difosforilasi oleh *thymidine kinase* (TK), dan menjadi *thymidylate synthase* (TS) inhibitor. Ada pula enzim *dihydropyrimidine dehydrogenase* (DPD) yang mengkonversi 5-FU menjadi *dihydrofluorouracil* (DHFU) yang tidak aktif. DHFU adalah *rate limiting step* katabolisme 5-FU pada sel normal dan sel tumor, proporsi dari pengerusakan menjadi metabolit tidak aktif mencapai 80% (Longley dan Johnston, 2007).

Hal ini akan mengakibatkan induksi apoptosis karena penghambatan sintesis DNA yang disebabkan sel kekurangan deoksitimidin trifosfat (dTTP). Peningkatan ekspresi *thymidilate synthetase* (TS) pada sel kanker merupakan respon sel yang dapat mengakibatkan resistensi terhadap 5-FU (Giovanetti et al., 2007). Pada kaitannya dengan daur sel 5-FU tidak dapat bekerja pada sel yang berada di luar daur sel (G0). 5-FU hanya bekerja pada sel yang aktif menjalankan daur sel dimana diperlukan aktivitas TS untuk sintesis basa penyusun DNA. TS diekspresikan tinggi pada fase G1 melalui perantara aktivitas transkripsi dari E2F. Setelah diekspresikan, TS sendiri langsung mensintesis prekursor dUMP yang diperlukan dalam fase sintesis. Perlakuan dengan 5-FU pada sel kanker dapat menyebabkan akumulasi sel pada G1 dan awal fase sintesis (G1 arrest) (Liu *et al.*, 2006).

Penggunaan 5-FU dapat menyebabkan efek toksik yang parah pada saluran gastrointestinal, hematologi, saraf, jantung dan reaksi dermatologis (Suriyakala *et al*, 2017). Menurut Focaccetti *et al* (2015) efek samping 5-FU yang sering muncul seperti diare, dehidrasi, sakit perut, mual, neutropenia, stomatitis, dan *hand-food syndrome*. Namun efek samping yang paling serius adalah *cardiomyositis* yang diikuti dengan gagal jantung.

F. Kerangka Konsep



G. Hipotesis

1. Fraksi etil asetat bawang dayak memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D.
2. Kombinasi fraksi etil asetat bawang dayak dengan 5-Fluorourasil memiliki efek sinergis terhadap sel kanker payudara T47D

