

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hasil Penelitian Terdahulu

Penelitian mengenai tanaman rempah-rempah yang berpotensi sebagai agen antikanker mulai banyak dilakukan, salah satunya adalah studi mengenai efek antikanker dari oleoresin. Terdapat studi yang telah dilakukan sebelumnya mengenai efek antikanker oleoresin dari tanaman lada (*Piper nigrum* L.). Studi mengenai aktivitas antikanker oleoresin lada hitam pernah dilakukan oleh Morsy dan Abd El-Salam (2017) tentang Aktivitas antimikroba dan antiproliferatif dari minyak atsiri dan oleoresin lada hitam (*Piper nigrum*, L.). Oleoresin lada hitam diperoleh melalui proses ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol, kemudian diujikan pada sel kanker hati (HepG2), sel kanker serviks (HeLa), sel kanker payudara (MCF-7), sel kanker prostat (PC-3), dan sel kanker laring (HEP-2) menggunakan metode MTT Assay. Analisis menggunakan spektrofotometri mengindikasikan bahwa *piperine* merupakan komponen utama dari oleoresin lada hitam yang berpotensi memiliki aktivitas sebagai antikanker. Hasil penelitian menunjukkan bahwa oleoresin lada hitam (*Piper nigrum*, L.) memiliki aktivitas antikanker tertinggi paada sel kanker hati dengan nilai IC_{50} 5,17 μ g/ml. Kemudian diikuti pada sel kanker payudara, sel kanker laring, sel kanker prostat, dan sel kanker serviks dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 5,23; 5,31; 5,57; dan 9,38 μ g/ml.

Selain itu, terdapat studi dari Grinevicius *et al.* (2016) dan Grinevicius *et al.* (2017) terkait efek dari ekstrak lada terhadap sel kanker. Grinevicius *et al.* (2016) menyatakan bahwa ekstrak etanol lada hitam memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara (MCF-7) dan sel kanker kolon (HT-29). Ekstrak lada diperoleh melalui ekstraksi maserasi yang kemudian diujikan pada sel kanker dengan metode MTT Assay. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak etanol lada hitam memiliki aktivitas tertinggi pada sel kanker payudara dengan nilai EC_{50} $27,1 \pm 2,0$ μ g/ml kemudian pada sel kanker kolon dengan nilai EC_{50} $80,5 \pm 6,6$ μ g/ml. *Piperine* diketahui merupakan komponen terbesar berdasarkan analisis

menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Selanjutnya studi Grinevicius *et al.* (2017) menyatakan bahwa *supercritical extract* dari lada hitam memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara (MCF-7). Ekstrak lada diperoleh melalui *Supercritical Fluid Extraction* yang kemudian diujikan pada sel kanker dengan metode MTT Assay. Dari hasil uji didapatkan nilai EC50 $14,40 \pm 3,30$ $\mu\text{g/ml}$. Hasil analisis dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) mengindikasikan bahwa *piperine* merupakan komponen terbesar.

Kemudian terdapat studi aktivitas antikanker dari tanaman *Piper longum* yang memiliki genus yang sama dengan lada (*Piper nigrum* L.). Studi dari Sharma *et al.* (2014) dan Ovadje *et al.* (2014) menyebutkan bahwa ekstrak *Piper longum* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker prostat (DU-145), sel kanker paru-paru (A549), sel kanker leukemia (THP-1), sel kanker ovarium (IGR-OVI-1; OVCAR-3), sel kanker payudara (MCF-7), sel kanker kolon (HT-29; HCT 116), dan sel kanker pankreas (BxPC-3). Hasil analisis dengan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) mengindikasikan bahwa *piperine*, *piperlongumine*, dan *dihydropiperlongumine* merupakan komponen dari *Piper longum* yang berpotensi sebagai antikanker. Pada penelitian ini, oleoresin yang digunakan berasal dari lada putih yang telah difermentasi dengan ragi tempe untuk kemudian diujikan pada sel kanker kolon WiDr.

2.2 Landasan Teori

2.2.1 Tanaman Lada (*Piper nigrum* L)

Lada termasuk tanaman dari famili piperaceae. Famili tersebut terdiri dari 10-12 genus dan 1.400 spesies yang bentuknya beragam seperti herba, semak, tanaman menjalar, hingga pohon-pohonan. Lada dari genus piper merupakan spesies tanaman yang berasal dari Ghats, Malabar India (Rismunandar, 2007).

Taksonomi tanaman lada menurut Rukmana (2003) adalah sebagai berikut:

Regnum : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Classis : Monocotyledoneae
Ordo : Piperales
Family : Piperaceae
Genus : *Piper*
Species : *P. nigrum* L.

Wilayah Indonesia sangat luas, sehingga lada memiliki berbagai nama yang berbeda di tiap daerah. Nama-nama tersebut di antaranya yaitu lada (Aceh, Batak, Lampung, Buru, dan Nias), raro (Mentawai), lado (Minangkabau), merico (Jawa), maica (Bali), ngguru (Flores), malita lo dawa (Gorontalo), marica atau barica (Sulawesi Selatan), marisan mau, manise ahuwee (Seram), rica jawa (Halmahera, Ternate, Minahasa), leudeu pedih (Gayo), sahang (Banjarmasin, Jawa Barat), sakang (Madura), saha (Bima), dan mboko saah (Ende) (Rismunandar dan Riski, 2003).

Deskripsi dari tanaman lada yaitu batang pokok berkayu, beruas-ruas dan tumbuh merambat dengan menggunakan akar pelekat pada tiang panjat atau menjalar di atas permukaan tanah. Akar tanaman lada merupakan akar tunggang. Daun tanaman lada merupakan daun tunggal, berseling, dan tersebar (Tjitrosoepomo, 2004). Daun berbentuk bulat telur sampai memanjang dengan ujung meruncing (Rismunandar, 2007).

Buah lada berbentuk bulat, berbiji keras, memiliki kulit buah yang lunak, dan melekat pada malai. Kulit buah yang masih muda berwarna hijau, sedangkan yang sudah tua berwarna kuning, dan buah yang sudah masak berwarna merah berlendir dengan rasa manis pada kulit buahnya. Besar buah lada 4-6 mm, sedangkan biji lada besarnya 3-4 mm dengan berat 100 biji kurang lebih 38 gram (Rismunandar, 2007).

2.2.2 Lada Putih

Biji lada merupakan salah satu jenis rempah yang didapatkan dari buah lada. Buah lada berbentuk bulat, biji yang keras, serta kulit buah yang lunak (Tjitrosoepomo, 2004). Terdapat dua jenis

buah lada, yaitu lada hitam dan lada putih. Perbedaan lada hitam dan lada putih terletak pada proses pembuatannya. Lada hitam merupakan biji dari buah lada yang masih hijau, kemudian diperam dan dikeringkan. Karakteristik biji lada hitam lebih keriput dan berwarna kehitam-hitaman. Sedangkan lada putih merupakan biji dari buah lada yang hampir masak (berwarna kekuningan), direndam, lalu dikupas kulit yang sudah lunak dan dikeringkan hingga berwarna putih cerah kekuningan (Rismunandar, 2007). Gambar dari lada putih dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Lada Putih (*Piper nigrum* L.) (Suwarto, 2013)

Dalam lada putih terkandung *piperine*, *piperidine*, lemak, asam piperat, chavisin, dan minyak menguap yang terdiri dari felanden, kariofilen, dan terpen-terpen (Achyad dan Rasyidah, 2000). Menurut Trivedi *et al.* (2011) lada putih memiliki kandungan fitokimia yaitu fenol (flavonoid, tanin), alkaloid (*piperine*, *piperamide*), dan minyak essensial.

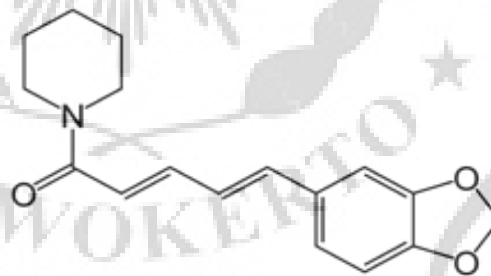
Madhavi *et al.* (2009) menyebutkan dalam lada putih terkandung alkaloid *piperine* (5-9 %), minyak volatil (1-2,5%), resin (6,0%), *piperidine* dan pati (sekitar 30%). Perbandingan komposisi kimia lada hitam dan lada putih dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi Kimia Lada Hitam dan Lada Putih		
Kandungan	Lada hitam (%)	Lada Putih (%)
Air	8-13	9,9-15
Protein	11	11
Karbohidrat	22-24	50-65

Minyak atsiri	1-4	<1
Piperine	5-9	5-9

Sumber : Rismunandar, 2007

Selain itu lada juga mengandung oleoresin. Oleoresin adalah senyawa aromatik yang diekstrak dari rempah-rempah menggunakan pelarut yang kemudian diuapkan lagi sehingga menghasilkan minyak kental (Winarno dan Agustinah, 2005). Menurut Rismunandar (2000) oleoresin merupakan campuran resin dan minyak atsiri, berbentuk padat atau semi padat, dan konsistensinya lengket, untuk mendapatkan oleoresin dapat diperoleh dari ekstraksi bagian tertentu dari tanaman dengan menggunakan pelarut organik. Oleoresin memiliki karakteristik yang hampir sama dengan buah aslinya. Oleoresin lada putih mengandung *piperine*, *piperanine*, *piperolein B*, *guineensine*, *piperlonguminine*, *piperamide*, *dehydropiperonaline* dengan kandungan terbesar adalah *piperine* yaitu 43,5% (Singh *et al.* 2013). Olalere *et al.* (2017) menyebutkan oleoresin lada putih mengandung *piperine* 54,67% kemudian *caryophyllene*, *sabinene*, *limonene*, α -*pipene*, *linalool*, *terpinen-4-ol*, dan γ -*muurolene*.



Gambar 2.2 Struktur Kimia *Piperine* (Patil, 2013)

Berdasarkan penelitian Khusbhu *et al.* (2011), senyawa *piperine* memiliki aktivitas antiinflamasi, antibakteri, dan antiasma. Penelitian dari Singletary (2010) menyatakan lada memiliki manfaat untuk meningkatkan fungsi saluran pencernaan, antikanker, serta antiinflamasi.

2.2.3 Fermentasi

Fermentasi adalah proses perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Fermentasi dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu spontan dan tidak spontan. Fermentasi spontan adalah fermentasi yang tidak ditambahkan mikroorganisme dalam bentuk starter atau ragi dalam proses pembuatannya, sedangkan fermentasi tidak spontan adalah fermentasi yang ditambahkan starter atau ragi dalam proses pembuatannya (Suprihatin, 2010).

Pengolahan lada putih secara tradisional menggunakan *water retting method*, yaitu dengan menempatkan buah lada yang telah masak didalam karung goni kemudian direndam dalam aliran sungai selama ± 15 hari untuk membantu pelepasan kulit buah. Karena memerlukan proses yang panjang, beberapa faktor seperti kebersihan dan kualitas lada putih sering diabaikan. Sehingga metode ini memiliki kelemahan, antara lain yaitu lada putih yang dihasilkan cenderung berbau busuk dan terjadi kontaminasi mikroba. Dari permasalahan tersebut, pengolahan lada putih dilakukan dengan bioteknologi dengan cara memanfaatkan mikroorganisme seperti bakteri atau fungi untuk membantu proses pelepasan kulit buah lada dalam produksi lada putih. Bioteknologi yang dilakukan salah satunya melalui proses fermentasi dengan menggunakan ragi tempe. Hal ini dilakukan guna mengurangi kontaminasi mikroba untuk menghasilkan kualitas lada putih yang lebih tinggi dengan waktu perendaman yang lebih cepat serta biaya yang murah (Aziz *et al.*, 2019).

2.2.4 Ekstraksi dan Sokletasi

Ekstraksi menggunakan soklet dengan pelarut cair adalah salah satu metode yang paling baik digunakan dalam memisahkan senyawa bioaktif dari alam. Alat soklet merupakan suatu sistem penyarian berulang dengan pelarut yang sama yang menggunakan proses sirkulasi perubahan uap-cair dari pelarut dengan pemanasan. Ekstraksi dengan cara ini memiliki kelebihan dibanding yang lain,

yaitu sampel kontak dengan pelarut murni secara berulang, kemampuan mengekstraksi sampel lebih tanpa tergantung jumlah pelarut yang banyak (Maretniatin, 2008).

2.2.5 Kanker

Kanker atau tumor ganas adalah pertumbuhan sel atau jaringan yang tidak terkontrol, dan terus bertumbuh atau bertambah (Kementerian Kesehatan RI, 2013). Kanker dapat muncul di semua sel dan atau jaringan tubuh (Dalimartha, 2004). Ada lima kelompok besar yang digunakan untuk mengklasifikasikan kanker menurut National Cancer Institute (2009), yaitu:

- a) Karsinoma ialah kanker yang berasal dari kulit atau jaringan yang menutupi organ internal.
- b) Sarkoma adalah kanker yang berasal dari tulang, tulang rawan, lemak, otot, pembuluh darah, atau jaringan ikat.
- c) Limfoma adalah kanker yang berasal dari kelenjar getah bening dan jaringan sistem kekebalan tubuh.
- d) Adenoma adalah istilah untuk kanker yang berasal dari tiroid, kelenjar pituitari, kelenjar adrenal, dan jaringan kelenjar lainnya.
- e) Leukemia merupakan kanker yang berasal dari jaringan pembentuk darah seperti sumsum tulang dan sering menumpuk dalam aliran darah.

2.2.6 Kanker Kolon

Kanker kolon merupakan suatu kanker yang timbul pada sel epitel usus besar dan rektum dan disebabkan oleh terjadinya mutasi genetik kumulatif yang merubah proses dalam sel yang secara normal membatasi pembelahan yang berlebihan, migrasi, dan diferensiasi yang berakibat terjadinya proliferasi, invasi, dan metastatis suatu sel. Ketidakstabilan genetik terus terjadi dan menyebabkan perubahan yang lebih lanjut, dan mempengaruhi sensitifitas terhadap terapi pada tumor yang ganas (Steinberg, 2012). World Health Organization (2012) melaporkan lima besar

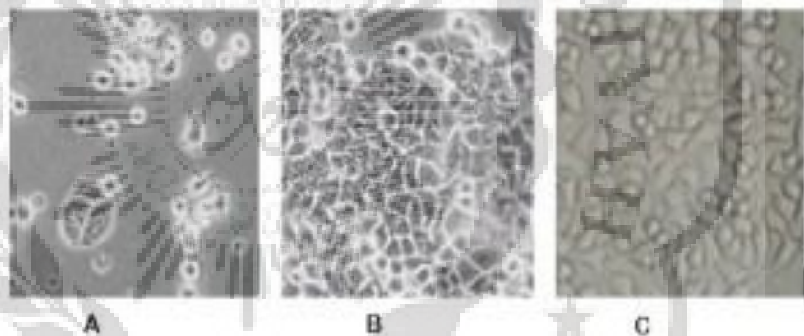
jenis kanker yang ditemukan pada laki-laki di dunia pada 2012, yaitu kanker paru, prostat, kolorektum, kanker perut (*stomach cancer*), dan kanker hati. Sedangkan pada perempuan yang terbanyak adalah kanker payudara, kolorektum, paru-paru, serviks, serta kanker perut (*stomach cancer*).

Sebagian besar kanker kolorektal berasal dari adenoma yang berkembang menjadi keganasan (Abdullah, 2011). Kanker kolorektal timbul melalui interaksi yang kompleks antara faktor genetik dan faktor lingkungan. Kedua jenis kanker kolorektal (herediter dan sporadik) tidak muncul secara mendadak melainkan melalui proses yang diidentifikasi pada mukosa kolon (seperti displasia, adenoma). Faktor genetik mendominasi yang lainnya pada kasus sindrom herediter seperti *Familial Adenomatous Polyposis* (FAP) dan *Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer* (HNPCC) (Abdullah, 2014). Kanker kolorektal yang sporadis muncul setelah melewati rentang masa yang lebih panjang sebagai akibat faktor lingkungan yang menimbulkan perubahan genetik yang berkembang menjadi kanker (Abdullah, 2014). Kanker kolon terjadi sebagai akibat dari kerusakan genetik pada lokus yang mengontrol pertumbuhan sel. Perubahan dari kolonosit normal menjadi jaringan adenomatosa dan akhirnya karsinoma kolon menimbulkan sejumlah mutasi yang mempercepat pertumbuhan sel.

2.2.7 Sel WiDr

Sel WiDr merupakan sel kanker kolon manusia yang diisolasi dari kolon seorang wanita berusia 78 tahun. Sel WiDr merupakan turunan sel kanker kolon yang lain yakni sel HT-29 (Chen *et al.*, 1987). Karakteristik dari sel WiDr adalah adanya produksi antigen karsinoembrionik dan ekspresi COX-2 yang tinggi sehingga memacu proliferasi sel WiDr (Palozza *et al.*, 2005), namun Bcl-2 sebagai protein antiapoptosis tidak diekspresikan tinggi (Meyerhardt dan Mayer, 2005). Pada sel WiDr, terjadi mutasi p53

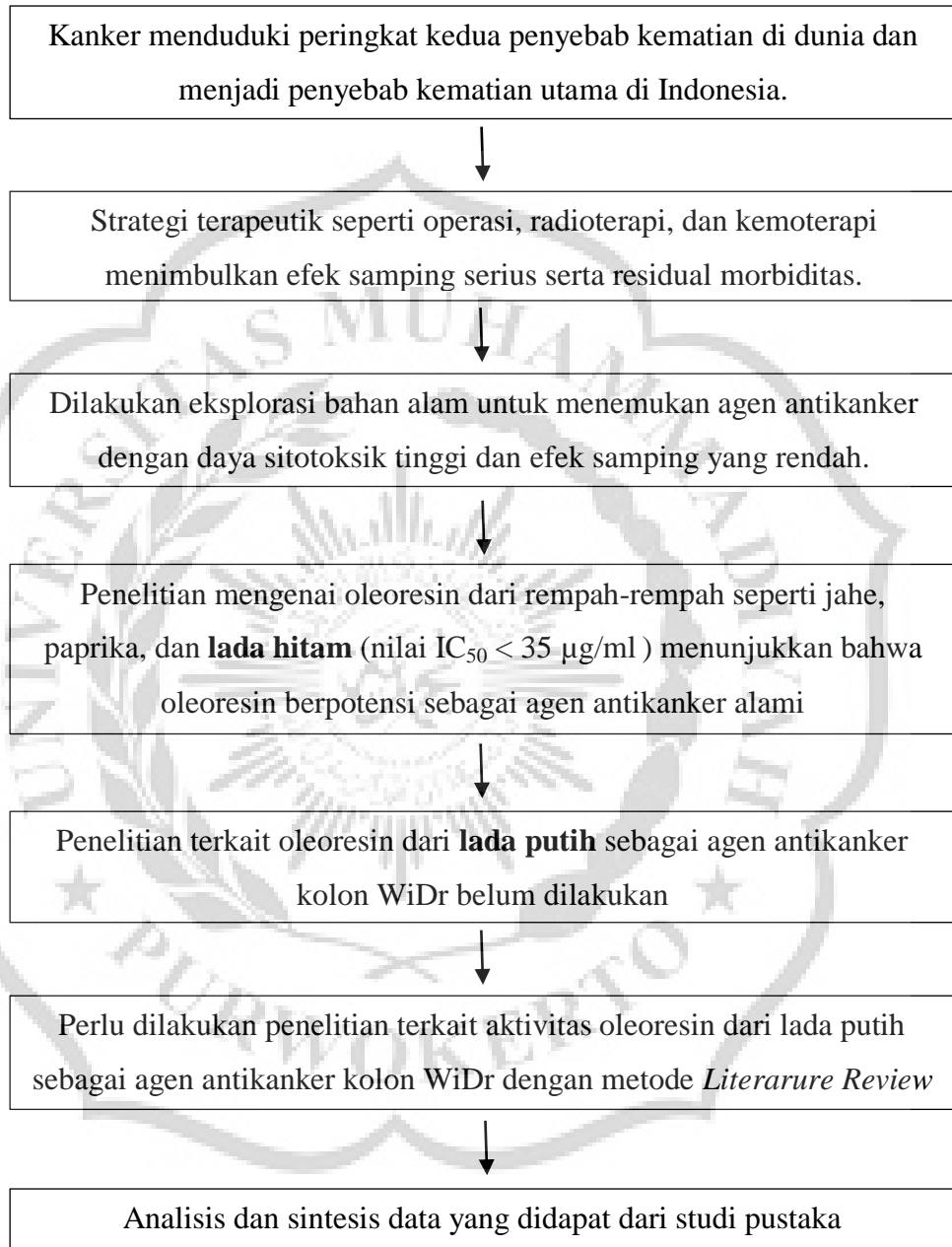
G α A pada posisi 273 sehingga terjadi perubahan residu arginin menjadi histidin (Noguchi *et al.*, 1979). Namun, p21 pada sel WiDr yang masih normal memungkinkan untuk terjadinya penghentian daur sel (Liu *et al.*, 2006). Apoptosis pada sel WiDr dapat terjadi melalui jalur *independent* p53, di antaranya melalui aktivasi p73 (Levrero *et al.*, 2000). Beberapa kelebihan dari sel WiDr yaitu dapat membentuk tumor secara histologikal dengan efisiensi mendekati 100% pada empat host yang berbeda selama 1-4 tahun setelah inokulasi, mudah untuk dikulturkan, memiliki *doubling-time* yang cukup singkat yakni 15 jam, memiliki efisiensi plating yang tinggi yaitu 51%, dan memiliki mekanisme resistensi terhadap agen kemoterapi yang cukup tinggi (Palozza *et al.*, 2005). Sel WiDr sehari setelah *thawing* dan setelah mencapai konfluen dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.3 Sel WiDr sehari setelah *thawing* (A) dan setelah mencapai konfluen (B dan C) (CCRC, 2014)

2.3 Kerangka Konsep

Kerangka konsep penelitian mengenai uji aktivitas antikanker oleoresin lada putih (*Piper nigrum* L.) hasil fermentasi ragi tempe terhadap sel kanker kolon WiDr dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.4 Kerangka Konsep Penelitian

2.4 Hipotesis

Berdasarkan kerangka konsep, maka didapatkan hipotesis :

1. Terdapat pengaruh dilakukannya fermentasi ragi tempe pada buah lada terhadap oleoresin lada putih yang dihasilkan.
2. Oleoresin lada putih hasil fermentasi ragi tempe memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker kolon WiDr.

