

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Hasil Penelitian Terdahulu

Menurut penelitian yang dilakukan Poeloengan dkk (2006) kulit batang Beringin pencekik mengandung beberapa senyawa diantaranya alkaloid, steroid/ triterpenoid, flavonoid, dan saponin. Flavonoid telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan antiproliferatif (Kuo YC et al., 2005). Alkaloid, triterpenoid menunjukkan sifat membunuh atau menghambat pertumbuhan kanker dan menghilangkan efek buruk kemoterapi (Harfia, 2006). Alkaloid pada tanaman termasuk pada obat CCS (vinblastin dan vinkristin), obat jenis ini bekerja secara spesifik pada fase mitosis (M). Zat ini akan berikatan dengan mikrotubulus dan mengganggu pembentukan spindle sehingga kromosom tidak terpisah pada saat mitosis. Merusak fungsi lain mikrotubulus (yaitu mobilitas dan transport membran) dan aktivitas enzim (Rogers, 1990). Triterpenoid merupakan terpenoid yang terdiri dari unsur-unsur C dan H dengan rumus molekul $C_{30}H_{48}$. Ircinin merupakan salah satu senyawa terpenoid yang dilaporkan aksinya menyebabkan G1 *arrest* pada sel kanker kulit (Mayer dan Kirk, 2008 dan Choi et al., 2005). Kandungan terpenoid ini kemungkinan memiliki aktivitas serupa dengan ircinin dan bereaksi lebih dominan sehingga terjadi G1 *arrest*.

Ekstrak n-hexane 7% w/w daun Beringin (*Ficus benghalensis L.*) yang memiliki jenis famili yang sama dengan *Ficus annulata*, mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap KB (*oral cancer*), kanker kulit (*A-431*) dan sel fibroblas (*NIH3T3*), terbukti dari hasil uji MTT dengan nilai IC_{50} yaitu 92,18 $\mu\text{g/ml}$ pada kanker oral, IC_{50} 99,90 $\mu\text{g/ml}$ pada kanker kulit dan IC 189,18 $\mu\text{g/ml}$ pada sel fibroblast (Bhanwase, 2016). Selain itu, ekstrak etanol *Ficus pseudopalma* juga dapat menghambat pertumbuhan sel hepatokarsinoma (*HepG2*) pada konsentrasi 353,342 $\mu\text{g/ml}$. Pada konsentrasi 300 dan 1000 $\mu\text{g/ml}$ menunjukkan fragmentasi, agregasi kromatin, penyusutan sel HepG2.

B. Landasan Teori

1. Pengertian Kanker

Kanker merupakan penyakit yang ditandai pembelahan sel tidak terkendali dan kemampuan sel menyerang jaringan biologis lainnya, baik dengan pertumbuhan langsung di jaringan yang bersebelahan (*invasif*) atau dengan migrasi ke tempat yang jauh (metastasis). Pertumbuhan yang tidak terkendali tersebut disebabkan kerusakan DNA yang menyebabkan mutasi di gen vital yang mengontrol pembelahan sel. Sel kanker kehilangan fungsi kontrolnya terhadap regulasi daur sel maupun fungsi homeostasis sel pada organisme multiselular sehingga sel tidak dapat berproliferasi secara normal. Akibatnya, sel akan berproliferasi terus menerus sehingga menimbulkan pertumbuhan jaringan yang abnormal (Diandana, 2009).

Sel kanker timbul dari sel normal tubuh yang mengalami transformasi atau perubahan menjadi ganas oleh karsinogen atau karena mutasi spontan. Transformasi sejumlah gen yang menyebabkan gen tersebut termutasi disebut neoplasma atau tumor. Neoplasma merupakan jaringan abnormal yang terbentuk akibat aktivitas proliferasi yang tidak terkontrol (neoplasia). Pada tahap awal neoplasia berkembang menjadi karsinoma in situ dimana sel pada jaringan tersebut masih terlokalisasi dan mungkin memiliki kesamaan fungsional dengan sel normal (King, 2000).

Sel neoplasma mengalami perubahan morfologi, fungsi, dan siklus pertumbuhan yang akhirnya menimbulkan disintegrasi dan hilangnya komunikasi antar sel. Tumor diklasifikasikan sebagai benigna, yaitu kejadian neoplasma jinak dan tidak menyebar ke jaringan sekitarnya. Sebaliknya, maligna disinonimkan sebagai tumor yang melakukan metastasis, yaitu menyebar dan menyerang jaringan lain sehingga maligna sering disebut sebagai kanker. Kanker sering dikenal sebagai tumor, tetapi tidak semua tumor disebut kanker (Diandana, 2009). Menurut Sukardja (2000), kanker mempunyai berbagai sifat umum, diantaranya adalah :

a. Heterogenitas

Heterogenitas ini terjadi karena sel-sel kanker tumbuh dengan cepat, sehingga belum dewasa, belum matang telah mengalami mitosis, terus membiak

sehingga semakin lama semakin banyak keturunan sel yang makin jauh menyimpang dari sel asalnya yang menimbulkan bentuk yang bervariasi.

b. Tumbuh autonom

Sel kanker tumbuh terus tanpa batas (*immortal*), liar, terlepas dari kendali pertumbuhan normal sehingga terbentuk suatu tumor yang terpisah dari bagian tubuh yang normal.

c. Mendesak dan merusak sel-sel normal di sekitarnya

d. Dapat bergerak sendiri (amoeboid)

e. Tidak mengenal koordinasi dan batas-batas kewajaran

f. Tidak menjalankan fungsinya yang normal

2. Siklus Sel

Pertumbuhan sel menunjukkan adanya perubahan ukuran sel dan merupakan hasil akhir dari proses-proses yang berpengaruh pada kehidupan sel tersebut seperti proliferasi, diferensiasi dan kematian sel. Sel kanker seringkali dikatakan sebagai sel yang berproliferasi lebih cepat dibandingkan dengan keadaan normalnya (King, 2000). Sel kanker dapat berada dalam tiga keadaan yaitu sedang membelah (siklus proliferasi), dalam keadaan istirahat (tidak membelah), dan secara permanen tidak membelah (Nafrialdi dan Gan, 1995). Sel kanker yang sedang membelah terdapat dalam empat fase.

Fase awal dimulai dengan G_1 , pada fase ini sel mulai mempersiapkan untuk melakukan sintesa DNA dan juga melakukan biosintesa RNA dan protein (Sjamsuhidayat, 1997). Kemudian dilanjutkan dengan fase S, dimana pada fase ini terjadi replikasi DNA. Pada akhir fase ini telah beisi DNA ganda dan kromosom telah mengalami replikasi (Shengli, 2001). Setelah fase S berakhir sel masuk dalam fase pra mitosis (G_2) dengan ciri: sel berbentuk tetraploid, mengandung DNA dua kali lebih banyak dari pada sel fase lain dan masih berlangsungnya sintesis RNA dan protein. Sewaktu mitosis berlangsung (fase M) sintesis protein dan RNA berkurang secara tiba-tiba dan terjadi pembelahan menjadi 2 sel. Setelah itu sel memasuki fase istirahat (G_0). Sel dalam fase G_0 yang masih potensial untuk berproliferasi disebut sel klonogenik atau sel induk (*stem cell*) (Soetamto, 2004).

Jadi yang menambah jumlah sel kanker adalah sel yang dalam siklus proliferasi dan dalam fase G_0 (Shengli, 2001).

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 G_1 normalnya menyebabkan berhentinya siklus sel atau terjadi apoptosis tergantung pada tingkat kerusakannya, sehingga sel tidak bisa memasuki fase S karena dihentikan pada G_1 (Alfred, 1997). Ketidakmampuan kontrol *checkpoint* menyebabkan inisiasi fase S atau mitosis tetap berlangsung meskipun ada kerusakan seluler dan ketidakstabilan genetik yang selanjutnya menimbulkan *clone maligna* (Janne, 2000; Budiani *et al.*, 2005).

3. Kematian Sel

Kematian sel dapat terjadi karena kerusakan sel secara akut (nekrosis) atau telah diprogramkan secara internal (apoptosis). Kematian yang berbeda tersebut berlangsung melalui mekanisme yang berbeda pula (Subowo, 2011).

a. Nekrosis

Nekrosis merupakan kematian sel yang terjadi patologis dengan penyebab utama gangguan produksi ATP. Pada setiap kerusakan jaringan misalnya akibat radikal bebas, bahan toksik, atau bahan infeksius, kedua proses ini berjalan dengan proporsi yang berbeda dan saling berkaitan (Yusni, 2008). Sel yang mengalami nekrosis akan membengkak, organelnya membesar yang berakhir dengan “Peletupan” yang dibarengi dengan pelepasan isinya kedalam celah ekstraselular. Sel makrofag yang akan memfagositosis serpihan sel nekrosis melepaskan molekul-molekul mediator yang menimbulkan reaksi peradangan (Subowo, 2011).

b. Apoptosis

Apoptosis merupakan kematian sel terprogram yang terjadi baik pada beberapa proses fisiologik maupun pada neoplasma. Penumpukan sel pada neoplasma tidak hanya terjadi sebagai akibat aktivitas gen perangsang pertumbuhan atau tidak aktifnya antionkogen tetapi juga oleh mutasi gen pengatur apoptosis (Pringgoutomo, *et al.*, 2002). Apoptosis diaktivasi oleh berbagai macam sinyal, baik ekstrinsik maupun intrinsik. Beberapa macam faktor eksternal untuk aktivasi apoptosis, misalnya oleh TNF (*tumor necrosis factor*) melalui reseptornya yang akan memicu apoptosis melalui aktivasi reaksi kaskade kaspase. Faktor ekstrinsik lain, misalnya : *Transforming Growth Factor β* (TGF- β), neurotransmitter tertentu, radikal bebas, sinar uv dan radiasi ionisasi. Sedang faktor intrinsik dapat disebut produk onkogenena (*myc* dan *rel*), supresor tumor (p53) dan antimetabolit penghambat nutrien. Lintasan proses apoptosis juga diaktivasi oleh peristiwa-peristiwa yang mendorong terjadinya kerusakan proses mitosis, misalnya tidak berfungsinya pengendalian pada titik-titik pemeriksaan (*check point*) kerusakan DNA khusus dalam siklus pembelahan sel. Kerusakan proses mitosis dibarengi dengan kondensasi kromatin, pelepasan sitokrom c mitokondria, aktivasi kaskade kaspase dan fragmentasi DNA (Subowo, 2011).

Apoptosis juga dapat dihambat oleh sinyal-sinyal dari sel-sel lain dan lingkungan sekitarnya dengan perantaraan faktor ketahanan hidup (*survival factor*) faktor-faktor tersebut meliputi GF (*growth factor*), hormon (estrogen dan androgen), asam amino netral, Zn, dan interaksi dengan protein matriks ekstraselular. Beberapa protein selular dan virus dapat bertindak sebagai penghambat kaspase, misalnya *neuronal apoptosis inhibitory protein* (NAIP) yang dikandung sel neuron dengan maksud agar dapat melindungi sel-sel saraf dari apoptosis dini. Tetapi fungsi pengendalian yang paling penting dalam apoptosis dilakukan secara internal oleh keluarga protein Bcl-2. Anggota keluarga protein ini terdiri dari anggota anti-apoptosis dan anggota proapoptosis, yang menentukan hidup atau matinya sebuah sel. Protein-protein tersebut saling berinteraksi untuk menghambat atau mendorong

aktivitas mereka sendiri dengan cara bekerja pada aktivasi aliran hilir dari langkah-langkah eksekusi apoptosis yang beragam. Mereka juga bekerja tidak saling bergantung pada mitokondria dalam mengatur pelepasan *sitokrom c*, yang merupakan agen paling poten dalam menginduksi apoptosis (Subowo, 2011).

Ciri-ciri morfologik dan biokimiawi yang ditampilkan oleh sel yang mengalami apoptosis yaitu:

a. Fragmentasi DNA

Fragmentasi DNA merupakan akibat dari aktivasi endonuklease DNA yang bergantung pada Ca^{++} dan Mg^{++} . Enzim tersebut secara selektif memecah DNA membentuk fragmen kecil-kecil *oligonucleosom*. Pengecilan volume sel yang disebabkan oleh pengkerutan sitoplasma.

b. Hilangnya fungsi mitokondria

Hilangnya fungsi mitokondria disebabkan oleh perubahan permeabilitas saluran dalam membran mitokondria. Integritas mitokondria terganggu, potensial transmembran menurun, rangkaian transpor elektron terganggu.

c. Pembentukan gelembung bermembran akibat perubahan integritas membran sel.

d. Pembentukan badan apoptosis

Sebagai langkah akhir proses apoptosis terjadilah perpecahan sel. Gelembung-gelembung yang terbentuk mengandung organela sel dan komponen kandungan sitoplasma dan bahan inti. Badan apoptosis tersebut secara cepat dibersihkan oleh sel makrofag, tanpa meninggalkan bekas dan reaksi peradangan (Subowo, 2011).

4. Kanker Payudara

Kanker payudara merupakan salah satu jenis tumor ganas terbanyak pada perempuan dengan angka kejadian sebanyak 22% dari kasus baru kanker pada

perempuan. Keganasan pada kanker payudara dapat menyerang lapisan-lapisan dari payudara baik epitel maupun jaringan mesenkim. Kanker payudara merupakan keganasan yang mengenai sel epitel payudara, contohnya karsinoma duktal dan karsinoma lobular (American Cancer Society, 2011). Pada tahun 2015 di temukan 231.840 kasus baru kanker payudara *invasif* yang terdiagnosa pada wanita AS dan 60.290 kasus tambahan pada kanker payudara *in situ*. Sekitar 40.290 wanita AS meninggal akibat kanker payudara. Angka kejadian kanker payudara tertinggi yaitu pada wanita kulit putih non- Hispanik, diikuti oleh wanita Afrika dan terendah di antara Asia atau wanita kepulauan Pasifik (American Cancer Society, 2015).

Pada 90 % wanita, kanker payudara fase awal bersifat asimtomatik dan tidak menimbulkan nyeri. Kanker payudara biasanya didiagnosis dengan adanya benjolan kecil berukuran kurang dari 2 cm sedangkan pada tumor yang ganas, benjolan ini bersifat *soliter, unilateral, solid*, keras dan tidak beraturan. Tanda yang kurang umum adalah adanya abnormalitas pada puting dan retraksi. Pada kasus yang lebih berat dapat terjadi edema kulit, kemerahan dan rasa panas pada jaringan payudara (Dipiro *et al.*, 2005).

Secara histopatologi kanker payudara dibagi menjadi karsinoma *noninvasif* dan *invasif*. Sekitar 70-80 % kasus termasuk ke dalam kategori *invasive ductal carcinoma*, yang lebih sering mengenai usia muda dimana sedangkan *invasivelobular carcinoma* sekitar 5-15 % sering mengenai perempuan berusia lebih dari 50 tahun. Pola metastasis jauh antara keduanya juga berbeda, dimana pada *invasivelobular carcinoma* cenderung terjadi penyebaran ke tulang, saluran pencernaan, meningen, uterus, dan lain-lain. *invasive ductal carcinoma* menyebar lebih sering terjadi ke paru (Aisha Rahmatya, 2015).

Peningkatan insiden kanker payudara disebabkan oleh kegagalan terapi terhadap kanker itu sendiri. Kegagalan ini diakibatkan oleh adanya *multidrug resistance* (MDR) dan terjadi hingga 71% dibandingkan dengan faktor penyebab lainnya. Multidrug resistance atau resistansi obat ini diakibatkan oleh adanya breast cancer resistance protein (BCRP) yang salah satunya adalah P-glycoprotein (Pgp) (Imai, et al, 2005). Aktivasi Pgp dan peningkatan ekspresinya dapat menurunkan

efikasi dari beberapa agen kemoterapi, seperti Taxol dan Doxorubicin. Penekanan aktivitas Pgp dan ekspresinya mampu meningkatkan efektivitas agen kemoterapi (Zhou, et al, 2006).

Selain itu, paparan estrogen endogen yang berlebihan juga dapat berkontribusi sebagai penyebab kanker payudara. Sekitar 50% kasus kanker payudara merupakan kanker yang bergantung pada estrogen dan sekitar 30% kasus merupakan kanker yang positif mengekspresi HER-2 berlebihan. Kedua protein tersebut selain berperan dalam metastasis, juga berperan dalam perkembangan kanker payudara (early cancer development) (Gibbs, 2000).

5. Sel Kanker T47D

Sel T47D merupakan *continous cell line* yang pertama kali diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. *Cell line* adalah sel yang disubkultur dari *primary cultures*, yaitu sel dari organ atau jaringan yang dikultur dalam media dan kondisi yang sesuai. *Continous cell line* sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall et al. 2003).

6. Sitotoksik

Uji sitotoksitas adalah uji toksisitas secara *in vitro* menggunakan kultur sel yang digunakan dalam evaluasi keamanan obat, kosmetik, zat tambahan makanan, pestisida dan digunakan juga untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa (Freshney, 1986). Senyawa sitotoksik adalah senyawa yang bersifat toksik pada sel tumor secara *in vitro* dan jika toksisitas ini ditransfer menembus sel tumor *in vivo* senyawa tersebut mempunyai aktivitas antitumor (Evans, 2002). Metode *in vitro* memberikan berbagai keuntungan, seperti: dapat digunakan pada langkah awal pengembangan obat, hanya membutuhkan sejumlah kecil bahan yang digunakan untuk kultur sel primer manusia dari berbagai organ target (ginjal, liver, kulit) serta dapat memberikan

informasi secara langsung efek potensial pada sel target manusia (Doyle and Griffiths, 2000).

Akhir dari uji sitotoksik dapat memberikan informasi konsentrasi obat maksimal yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup. Akhir dari uji sitotoksisitas pada organ target memberikan informasi tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Doyle and Griffiths, 2000). Penetapan jumlah sel yang bertahan hidup pada uji sitotoksisitas dapat dilakukan dengan beberapa cara yang seringkali didasarkan pada parameter kerusakan membran, gangguan sintesis dan degradasi makromolekul, modifikasi kapasitas metabolisme serta perubahan morfologi sel. Metode lain yang dapat digunakan adalah metode kolorimetrik menggunakan suatu substrat yang akan dimetabolisme oleh sel menjadi produk berwarna misal MTT {3-(4,5-dimetil tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida} (Sladowsky et al., 1992, cit. Rokhman, 2007).

Uji sitotoksik dapat menggunakan parameter nilai IC50. Nilai IC50 menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan pertumbuhan sel sebesar 50 % dari populasi dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel. Nilai IC50 dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar harga IC50 maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Melannisa, 2004).

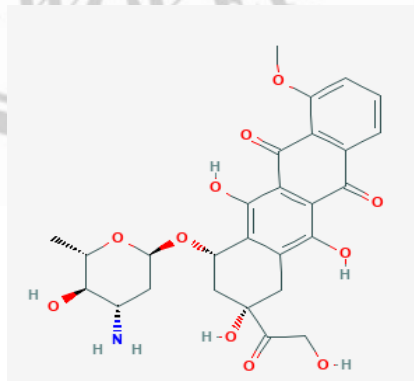
7. MTT Assay

Uji sitotoksisitas dengan metode MTT didasarkan pada aktivitas enzim yang dapat diukur secara kolorimetri. Metode ini cepat, sensitif, akurat dan sejumlah besar sampel dapat diuji secara otomatis menggunakan spektrofotometer. Metode ini mengukur sel yang hidup (baik yang masih membelah ataupun tidak membelah) dan juga aktivasi metabolik atau penghambatan sel (Doyle and Griffiths, 2000). Prinsip metode MTT adalah reaksi reduksi senyawa MTT oleh sistem reduktase suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi mitokondria menjadi garam berwarna ungu yang disebut formazan (Doyle and Griffiths, 2000).

Reaksi reduksi tersebut terjadi di dalam sel yang masih hidup. Menurut Mosmann (1983) garam tetrazolium (MTT) dilarutkan dalam Phosphate-Buffered Saline (PBS) 5 mg/ml dan disaring untuk menghilangkan residu yang tidak larut. MTT ditambahkan secara langsung pada plate yang berisi medium kultur sebanyak 10-100 μ l dan kemudian diinkubasi selama kurang lebih 4 jam pada 37°C. Kristal formazan berwarna ungu yang terbentuk terlarut dengan adanya penambahan isopropanol asam (100 μ l 0,04 N HCl dalam isopropanol) (Doyle and Griffiths, 2000) atau SDS 10 % dalam HCl 0,01 N (Tada et al., 1986). Selanjutnya dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm (Mosmann, 1983). Intensitas warna ungu yang terbentuk berbanding langsung dengan jumlah sel yang aktif melakukan metabolisme (Sigma, 1999).

8. Epirubicin

Epirubicin adalah senyawa golongan anthracycline yang merupakan 4'-epi-isomer dari doxorubicin. Epirubicin, senyawa golongan anthracyclin yang merupakan antibiotik dengan spektrum luas ini memiliki efek anti tumor dengan jalan mengganggu proses sintesis dan fungsi DNA, senyawa ini membunuh sel tumor dengan melekatkan secara langsung di antara pasangan basa DNA untuk mengganggu proses transkripsi dan mencegah pembentukan mRNA. Epirubicin merupakan turunan semi sintetis dari doxorubicin yang telah banyak dievaluasi pada pasien dengan kanker payudara. Efektivitasnya dalam pengelolaan penyakit metastasis dan sebagai terapi adjuvant pada pasien dengan kanker payudara dini.



Gambar 2.1. Struktur kimia Epirubicin

Epirubicin (4'-epidoxorubicin) adalah agen anti neoplastik yang berasal dari doxorubicin. Senyawa-senyawa berbeda dalam konfigurasi dari kelompok

hidroksil pada posisi 4. Epirubicin, seperti doxorubicin, memberikan efek antitumor melalui gangguan pada sintesis dan fungsi DNA dan paling aktif selama fase S dari siklus sel. Epirubicin diberikan secara intravena (IV). Senyawa tersebut dimetabolisme oleh hati dan dieliminasi oleh empedu. Sekitar 10% dari obat tersebut tereliminasi dalam urin. Dosis penyesuaian yang dianjurkan untuk pasien dengan metastasis hati. Waktu paruh epirubicin adalah 30 sampai 40 jam. Studi klinis menunjukkan aktivitas pada kanker payudara, limfoma non-Hodgkin, kanker ovarium, sarkoma jaringan lunak, dan kanker pankreas. Terdapat pula bukti aktivitas terhadap kanker lambung, kanker paru-paru sel kecil, dan leukemia akut.

Aktivitas yang dimiliki epirubicin sebagai agen tunggal melawan tumor kepala dan leher atau kanker sel paru-paru, tapi mungkin bermanfaat dalam kombinasi dengan agen lainnya. Secara keseluruhan aktivitas epirubicin tampaknya sebanding dengan doxorubicin. Studi lebih lanjut diperlukan untuk menentukan perannya dalam kombinasi regimen kemoterapi. Dosis akut yang membatasi toksisitas epirubicin adalah myelo supresi. Mual, muntah, dan alopecia juga umum. Epirubicin dapat menyebabkan aritmia jantung sementara dan perubahan elektrokardiogram. Terapi kronis terbatas, tetapi data yang tersedia menunjukkan bahwa epirubicin dapat diberikan dalam dosis kumulatif lebih tinggi dari doxorubicin sebelum terapi cardiotoxicity lebih lanjut (Cersosimo dan Hong WK, 1986). Berdasarkan C.-G. Sun *et al* IC50 epirubicin yang diberikan pada sel kanker payudara MCF-7 yaitu $13 \pm 1.4 \mu\text{M}$. Sedangkan pada sel HeLa, epirubicin memiliki nilai IC50 sebesar $0.1 \mu\text{g/ml}$ (Arican dan Nazli, 2005).

9. Beringin Pencekik

a. Nama Daerah

Masyarakat lokal Kalimantan menyebut tanaman ini dengan sebutan bulu atau ara susu. Orang Sunda menyebut beringin pencekik kiara bodas atau kiara oneng sedangkan orang Jawa menyebutnya grasak (Alamendah, 2012).

b. Habitat Tanaman

Habitat Beringin pengecik meliputi ; India, Andaman, Pulau Nicobar, Myanmar, Indo-Cina, Yunani, Thailand, Sumatera, Malaysia, Banka, Jawa, Borneo, Sulawesi dan pipilipa (Rasingam, 2013).

c. Klasifikasi Tanaman

Tanaman Beringin pengecik termasuk dalam subgenus *Urostigma* (Rasingam, 2013). Klasifikasi pohon beringin pengecik adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Phylum : Tracheophyta
Class : Magnoliopsida
Ordo : Rosales
Familia : Moraceae
Genus : Ficus
Spesies : *Ficus annulata* Bl.
Sinoni : *Ficus balabacensis*, *Ficus flavescens* Bl, *Ficus valida* Bl, *Urostigma annulatum* dan *Urostigma flavescen*, *Urostigma validum*, *Urostigma conocarpum*, *Urostigma biverrucellum* Miq (Hassler, 2016).

d. Karakteristik Tanaman

Beringin pengecik merupakan pohon epifit sewaktu muda yang memiliki tinggi 15 meter. Batangnya tegak, berkayu, bulat, permukaan kasar, berwarna coklat dan memiliki getah. Tersusun dari beberapa epidermis. Memiliki daun spiral beraturan tidak menyambung, tangkai daun relatif tebal dan pendek, daun tunggal, tersebar, lonjong, tepi rata, ujung dan pangkalnya runcing, memiliki panjang 15-25 cm, dan lebar 5-10 cm, pertulangan menyirip. Tanaman ini memiliki bunga majemuk, bunga jantan tersebar, benang sari berjumlah banyak tersusun dalam satu lingkaran, mahkota bunga lepas berwarna kuning dan memiliki buah buni berbentuk bola. Tanaman ini memiliki akar tunggang yang berwarna coklat (Chantarasuwan, 2015).

Mekarnya bunga dan pembuahan terjadi pada bulan maret hingga juni (Rasingam, 2013).



**Gambar 2.2. Tanaman Beringin Pencekik (*Ficus annulata*)
(Didokumentasikan pada tanggal 01 November 2016 oleh Peneliti di Jalan Watukumpul-Pemalang)**

e. Kegunaan Secara Tradisional

Daun Beringin pencekik berkhasiat sebagai obat sakit demam, dan akarnya untuk obat sakit lepra. Untuk obat demam, dipakai 15 gram daun segar Beringin pencekik, lalu dicuci, direbus dengan 2 gelas air hingga mendidih selama 15 menit, dinginkan dan saring. Hasil saringan diminum sekaligus.

f. Kandungan Zat Aktif

Daun, akar, dan kulit batang Beringin pencekik mengandung flavonoida dan polifenol, selain itu daun dan akarnya juga mengandung saponin (Asosiasi Herbal Nusantara). Menurut penelitian yang dilakukan Poeloengan dkk (2006) kulit batang Beringin pencekik mengandung beberapa senyawa diantaranya alkaloid, steroid/ triterpenoid, flavonoid, dan saponin. Flavonoid telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan antiproliferatif (Kuo YC et al.,2005). Alkaloid, triterpenoid menunjukkan sifat membunuh atau menghambat pertumbuhan kanker dan menghilangkan efek buruk kemoterapi (Harfia, 2006).

Triterpenoid merupakan terpenoid yang terdiri dari unsur-unsur C dan H dengan rumus molekul $C_{30}H_{48}$. Ircinin merupakan salah satu senyawa terpenoid yang dilaporkan aksinya menyebabkan G1 *arrest* pada sel kanker kulit (Mayer dan Kirk, 2008 dan Choi *et al.*, 2005). Kandungan terpenoid ini kemungkinan memiliki aktivitas serupa dengan ircinin dan bereaksi lebih dominan sehingga terjadi G1 *arrest*.

10. Maserasi

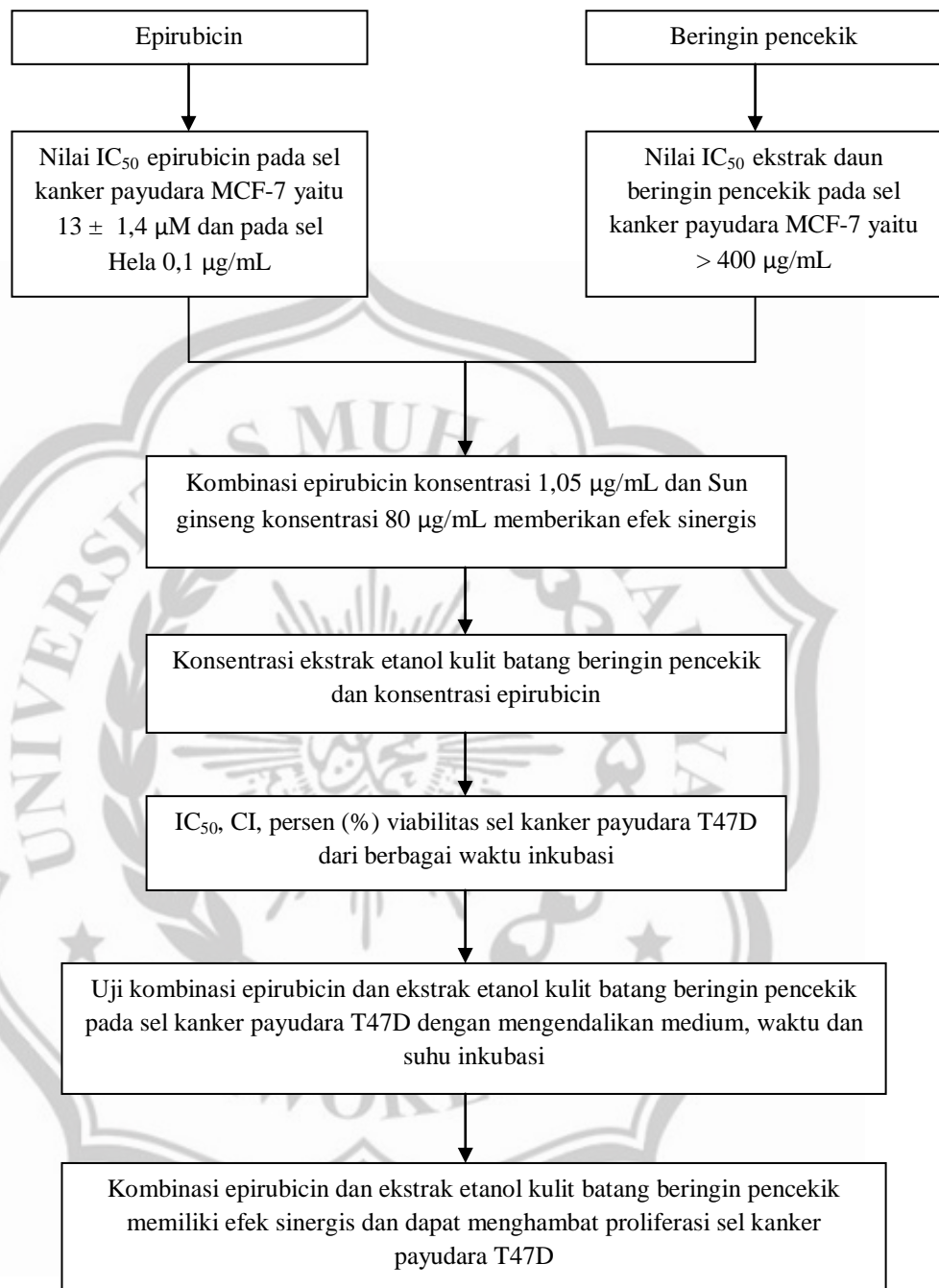
Istilah maserasi berasal dari bahasa latin “*macerare*” yang artinya mengairi, melunakan, merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan jamu yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau diserbuk kasarkan) disatukan dengan bahan ekstraksi. Rendaman tersebut disimpan terlindungi dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok kembali. Waktu maserasi adalah berbeda-beda, masing-masing farmakope mencantumkan 4-10 hari. Namun pada umumnya 5 hari, setelah waktu tersebut keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan luar sel telah tercapai. Pengocokan dilakukan agar cepat mendapat keseimbangan antara bahan yang diekstraksi dalam bagian sebelah dalam sel dengan yang masuk ke dalam cairan. Keadaan diam tanpa pengocokan selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif (Voight, 1994).

Dalam referensi lain disebutkan bahwa maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Proses pengerjaan dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Anonim, 1986). Keuntungan dari metode maserasi yaitu prosedur dan peralatannya sederhana (Agoes, 2007).

Secara umum metode remaserasi tidak jauh berbeda dengan metode maserasi. Perbedaan metode remaserasi terletak pada digunakannya sebagai pelarut untuk maserasi, dimana setelah penyaringan akan dilakukan penggunaan kembali terhadap komponen residu untuk kedua kalinya dengan sisa pelarut yang ada untuk kemudian disaring kembali. Setelah itu kedua filtrat digabungkan pada tahap akhir. Metode remaserasi ini menggunakan pelarut dua kali lebih banyak dibanding metode maserasi, karena pelarut yang digunakan bukan sebagian dari perbandingan yang telah ditetapkan.



C. Kerangka konsep



D. Hipotesis

1. Ekstrak etanol kulit batang beringin pencekik memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara T47D.
2. Kombinasi agen kemoterapi epirubicin dengan ekstrak etanol kulit batang beringin pencekik memiliki aktivitas sitotoksik sinergis pada sel kanker payudara T47D.
3. Kombinasi agen kemoterapi epirubicin dengan ekstrak etanol kulit batang beringin pencekik dapat menghambat proliferasi sel kanker payudara T47D.

