

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan tentang *Annona muricata* Linn.

2.1.1. Klasifikasi ilmiah



Gambar 2.1. *Annona muricata* Linn. (Haryoto, 1998)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Ranunculales
Famili	: Annonaceae
Genus	: <i>Annona</i>
Spesies	: <i>Annona muricata</i> Linn. (Haryoto, 1998)

2.1.2. Sinonim

Annona bonplandiana H.B.K., *Annona caeraensis* Barb.Rodr., *Annona macrocarpa* auct., *Annona macrocarpa* Werckle, *Annona muricata* var.*borinquensis* Morales, *Annona sericea* Dunal, *Guanabanus muricatus* Gomez de la Maza (Wikipedia, 2011).

2.1.3. Nama Daerah

Sumatera : Deureuyan belanda (Aceh); tarutung olanda (Batak); durio ulondra (Nias); durian belanda, nangka belanda, nangka walanda (Melayu); durian bawawi, duian bawawi (Minangkabau); jambu landa (Lampung). Jawa: Nangkawalanda (Sunda); angka londa, nangkamanila, nangka sabrang, mulwa londa, surikaya welonda, srikaya welandi (Jawa); nangka buris, nangka englan, nangka moris (Madura). Bali : Srikaya jawa. Nusatenggara : Naka, nakat, annona (Flores). Sulawesi : Atis, mangka walanda (Sulawesi Utara); lange lo walanda (Gorontalo); sirikaya balanda (Makasar); sirikaya balanda (Bugis). Maluku : Anad walanda, tafena warata (Seram) ; anal wakano (Nusa laut); naka loanda (Buru); durian, naka wolada (Halmahera); naka walanda (Ternate); naka lada (Tidore). (Depkes RI, 2010)

2.1.4. Deskripsi Tanaman

Pohon : Pohon sirsak memiliki model Troll, ketinggian mencapai 8-10 meter, dan diameter batang 10-30 cm (Radi, 1998). Tanaman sirsak (*Annona muricata* Linn.) termasuk tanaman tahunan.

Daun : Daun sirsak berwarna hijau muda sampai hijau tua memiliki panjang 6 -18 cm, lebar 3-7 cm, bertekstur kasar, berbentuk bulat telur, ujungnya lancip pendek, daun bagian atas mengkilap hijau dan gundul pucat kusam di bagian bawah daun, berbentuk lateral saraf. Daun sirsak memiliki bau tajam menyengat dengan tangkai daun pendek sekitar 3-10 mm.

(Radi, 1998). Daun yang berkualitas adalah daun sirsak dengan kandungan antioksidan yang tinggi terdapat pada daun yang tumbuh pada urutan ke-3 sampai urutan ke-5 dari pangkal batang daun dan dipetik pukul 5-6 pagi (Zuhud, 2011).

- Bunga** : Bunga pada tanaman sirsak berbentuk tunggal (*flos simplex*) yaitu satu bunga terdapat banyak putik sehingga dinamakan bunga berpistil majemuk. Bagian bunga tersusun secara hemicyclis, yaitu sebagian terdapat dalam lingkaran yang lain spiral atau terpenjar. Mahkota bunga berjumlah 6 sepalum yang terdiri atas 2 lingkaran, bentuknya hampir segi tiga, tebal dan kaku, berwarna kuning keputih-putihan, dan setelah tua mekar, kemudian lepas dari dasar bunganya. Putik dan benang sari lebar dengan banyak karpel (bakal buah). Bunga keluar dari ketiak daun, cabang, ranting, atau pohon. bunga umumnya sempurna, tetapi terkadang hanya bunga jantan dan bunga betina saja dalam satu pohon. Bunga melakukan penyerbukan silang, karena umumnya tepung sari matang lebih dahulu sebelum putiknya (Radi, 1998).
- Buah** : Buah sirsak memiliki bentuk sejati berganda (agregat fruit) yaitu buah yang berasal dari satu

bunga dengan banyak bakal buah tetapi membentuk satu buah. Buah memiliki duri sisik halus. Apabila sudah tua daging buah berwarna putih, lembek, dan berserat dengan banyak biji berwarna coklat kehitaman (Radi, 1998).

Biji : Biji buah sirsak berwarna coklat agak kehitaman dan keras, berujung tumpul, permukaan halus mengkilat dengan ukuran panjang kira-kira 16,8 mm dan lebar 9,6 mm. jumlah biji dalam satu buah bervariasi, berkisar antara 20-70 butir biji normal, sedangkan yang tidak normal berwarna putih kecoklatan dan tidak berisi (Radi, 1998).

2.1.5. Tempat Tumbuh dan Penyebaran

Tanaman sirsak dapat tumbuh di sembarang tempat, paling baik ditanam di daerah yang cukup berair. Di Indonesia sirsak dapat tumbuh dengan baik pada ketinggian 1000 m dari permukaan laut. Tanaman sirsak berasal dari amerika selatan, yaitu meksiko. Tanaman tersebut masuk Indonesia diduga dibawa oleh orang Belanda semasa zaman penjajahan. Bila dugaan ini benar, wajar nama sirsak lebih dikenal dengan istilah *nantaka* belanda. Nama sirsak sendiri berasal dari bahasa Belanda *Zuurzak*, kurang lebih yang berarti kantung yang asam. Di Indonesia, penyebaran tanaman sirsak dapat dijumpai di daerah Jawa Barat, terutama Rajamendala dan Bandung Selatan, serta di Jawa Tengah, terutama Karang Anyar (Hendro. S, 2005).

2.1.6. Kandungan Tanaman

Tanaman sirsak mengandung saponin, flavonoid, tanin, kalsium, fosfor vitamin (A, B, C), Fitosterol, ca-oksalat, dan alkaloid murisine (Mangan, 2009).

Daun, batang, kulit batang dan biji sirsak mengandung senyawa-senyawa asetogenin, antara lain anokatalin, anoheksin, anomonisin, dan anomontasin yang memiliki kerja antitumor dan toksisitas selektif sel-sel kanker (Latief, 2012).

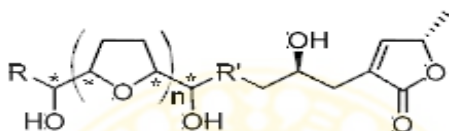
2.1.7. Kegunaan Tanaman

Kegunaan daun sirsak diketahui dapat menyembuhkan penyakit kanker, caranya dengan merebus 10 lembar daun sirsak yang berwarna hijau tua kedalam 3 gelas air dan direbus hingga airnya tinggal 1 gelas saja. Air rebusan diminumkan kepada penderitanya 2 kali sehari. Setelah diminum, badan pasien terasa panas, mirip dengan efek kemoterapi, bahkan lebih hebat lagi karena rebusan daun sirsak hanya membunuh sel-sel yang tumbuh abnormal dan membiarkan sel-sel yang tumbuh normal. Sedangkan kemoterapi masih ada efek membunuh juga sebagian sel-sel yang normal. Selain itu, tanaman sirsak juga dimanfaatkan untuk pengobatan demam, diare, anti kejang, anti jamur, anti parasit, anti mikroba, sakit pinggang, asam urat, gatal-gatal, bisul, flu, dan lain-lain (Mardiana, 2011).

2.2. Tjauan Tentang *Annonaceous acetogenin*

Annonaceous acetogenin hanya ditemukan pada keluarga *Annonaceae*. *Annonaceous acetogenins* telah diketahui memiliki khasiat antitumor, antiparasit, pestisidal, antiprotozoal, antihelminthic, dan antimicrobial. *Annonaceous acetogenin* merupakan suatu kelompok

fitokimia yang mengandung poliketida. Kebanyakan acetogenin adalah derivat rantai panjang asam lemak (C32 atau C34) dan asam terminal carboxylic yang dikombinasi dengan 2 unit propanolol pada posisi C2 untuk membentuk *methylsubstituted α,β -unsaturated- γ -25 lactone* (Kojima, 2009). Salah satu struktur yang menarik adalah *tetrahydrofuran (THF)* atau *tetrahydropyran (THP)*.



Gambar 2.2. Struktur Annonaceous acetogenin

Dikutip dari : American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy

Annonaceous acetogenin terdiri dari, *annocatalin*, *annohexocin*, *annomonicin*, *annomontacin*, *annomuricatin A & B*, *annomuricin A thru E*, *annomutacin*, *annonacin*, (*multiple iso, cis, one, etc.*), *annonacinone*, *annopentocin A thru C*, *cis-annonacin*, *cis-corossolone*, *cohibin A thru D*, *corepoxylone*, *coronin*, *corossolin*, *corossolone*, *donhexocin*, *epomuricenin A & B*, *gigantetrocin*, *gigantetrocin A & B*, *gigantetrocinone*, *gigantetronenin*, *goniothalamycin*, *isoannonacin*, *javoricin*, *montanacin*, *montecristin*, *muracin A thru G*, *muricapentocin*, *muricatalicin*, *muricatalin*, *muri-catenol*, *muricatetrocin A & B muricatin D*, *muricatocin A thru C muricin H*, *muricin I*, *muricoreacin*, *murihexocin 3*, *murihexocin A thru C*, *murihexol*, *murisolin*, *robustocin*, *rolliniastatin 1 & 2*, *saba-delin*, *solamin*, *uvariamicin I & IV*, *xylomaticin* (McLaughlin et al, 1999)

Efek sitotoksik dan anti kanker dari acetogenins memiliki beberapa mekanisme yaitu, 1). Menghambat oksidase dari NADH di membran plasma pada sel kanker. Enzim ini hanya di ekspresi pada sel normal yang sehat. Dengan menghambat enzim ini ATP selular akan menurun. 2). Menghambat kompleks I (NADH : *ubiquinone oxidoreduktase*) dalam sistem transport elektron di mitokondria, menghambat fosforilasi oksidasi dan menghasilkan kadar ATP yang rendah, sehingga menghambat pertumbuhan sel kanker. 3). Menghambat sel kanker yang *multidrug resistant*. Meningkatkan ekspresi dari pompa plasma membran, *P-glycoprotein*, adalah kontributor terhadap *multidrug resistant*. Pompa meningkatkan eliminasi dari kandungan anti kanker sebelum kandungan tersebut dapat berefek terhadap sel kanker. Dua tempat ATP berikatan pada intraselular ditemukan pada *P-glycoprotein*, dan aktivitas pompa membutuhkan ATP. Acetogenin, lewat penurunan ATP, dapat menurunkan aktivitas atau mematikan pompa *P-glycoprotein*. 4).sel kanker pada fase S dari siklus selnya lebih rentan terhadap acetogenin annonacin. Annonacin mampu mengistirahatkan siklus sel pada fase G1 dan menghambat progresi fase S. Sebagai tambahan p53 dan p21 ditingkatkan oleh annonacin (Raintree Nutrition, 2004). Pada studi *in vitro* telah diketahui bahwa acetogenin yang di isolasi dari daun sirsak berguna melawan berbagai sel, yaitu *human hepatoma hep G*, *prostate adenocarcinoma PC-3*, *pancreatic carcinoma PACA-2*, *murine leukemia L1210* dan *P388 leukemia*, *human breast adenocarcinoma MDA-MB231* dan *carcinoma MCF-7*, *human lung carcinoma A-549*, dan *human colon cancer HT-29*.

2.3. Tinjauan Tentang Simplisia dan Ekstrak

2.3.1. Definisi Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tumbuhan utuh, bagian tanaman atau eksudat tumbuhan (Depkes RI, 2000).

2.3.2. Definisi Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.

Ekstrak cair adalah sediaan dari simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-masing monografi, tiap ml ekstrak mengandung senyawa aktif dari 1 g simplisia yang memenuhi syarat (Depkes RI, 2000).

2.3.3. Definisi Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan dua zat atau lebih dengan menggunakan pelarut yang tidak saling campur. Berdasarkan fase yang terlibat, terdapat dua jenis ekstraksi, yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat-cair. Pemandahan komponen dari padatan ke pelarut pada ekstraksi padat-cair melalui tiga tahapan, yaitu difusi pelarut ke pori-pori padatan atau ke dinding sel, di dalam dinding sel terjadi pelarutan padatan oleh pelarut, dan tahapan terakhir adalah pemindahan larutan dari pori-pori

menjadi larutan ekstrak. Ekstraksi padat-cair dipengaruhi oleh waktu ekstraksi, suhu yang digunakan, pengadukan, dan banyaknya pelarut yang digunakan (Harborne, 1987).

2.3.4. Metode Ekstraksi

2.3.4.1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. (Depkes RI, 2000)

Menurut Harborne (1987), metode maserasi digunakan untuk mengekstrak jaringan tanaman yang belum diketahui kandungan senyawanya yang kemungkinan bersifat tidak tahan panas sehingga kerusakan komponen tersebut dapat dihindari. Kekurangan dari metode ini adalah waktu yang relatif lama dan membutuhkan banyak pelarut. Ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan prinsip kelarutan. Prinsip kelarutan adalah *like dissolve like*, yaitu (1) pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, demikian juga sebaliknya pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar, (2) pelarut organik akan melarutkan senyawa organik.

2.3.4.2. Perkolasi

Perkolasi dilakukan dengan cara dibasahkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok, menggunakan 2,5 bagian sampai 5 bagian cairan penyari dimasukkan dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya 3 jam. Massa dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator, ditambahkan cairan penyari. Perkolator ditutup dibiarkan selama 24 jam, kemudian kran dibuka dengan kecepatan 1 ml permenit, sehingga simplisia

tetap terendam. Filtrat dipindahkan ke dalam bejana, ditutup dan dibiarkan selama 2 hari pada tempat terlindung dari cahaya.

2.3.4.3. Destilasi Uap

Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa kandungan menguap (minyak atsiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap air dan ketel secara kontinu sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian. (Depkes RI, 2000)

2.3.4.4. Soxhletasi

Soxhletasi adalah salah satu model ekstraksi (pemisahan/pengambilan) yang menggunakan pelarut selalu baru dalam mengekstraknya sehingga terjadi ekstraksi yang kontinyu dengan adanya jumlah pelarut konstan yang juga dibantu dengan pendingin balik (kondensor). Kondensor dialiri air dari bawah ke atas untuk menjaga kondensor tetap dingin. Tepat di bawah kondensor, serbuk bahan tanaman ditempatkan dalam keranjang soxhlet. Pelarut yang ada di labu di bawah keranjang soxhlet kemudian dipanaskan sampai menguap. Uap dari pelarut segera dikondensasikan kembali menjadi cairan, segera setelah masuk ke pipa kondenser. Kondensat pelarut jatuh ke atas keranjang soxhlet menjenuhkan serbuk bahan alam yang diekstraksi. Pelarut mengalir ke dalam keranjang soxhlet dan keluar melalui lubang di bawahnya menuju ke dalam labu. Pelarut sarat ekstrak yang jatuh dari keranjang soxhlet berwarna

gelap, dan akan menjadi semakin jernih dimana bahan tanaman telah tercuci dan proses ekstraksi berakhir.

2.4. Tinjauan Tentang Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan penelitian pendahuluan yang bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman, yang biasanya mempunyai aktifitas biologis, secara tepat dan teliti (Fong, 1990; Zaini dan Indrayanto, 1978). Pendekatan secara penapisan fitokimia meliputi analisis kualitatif kandungan dalam tumbuhan atau bagian tumbuhan (akar, batang, daun, bunga, buah dan biji) terutama kandungan metabolit sekunder yang merupakan senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, terpenoid, saponin, tanin dan polifenol.

2.5. Tinjauan Tentang Kanker

2.5.1. Definisi Kanker

Kanker adalah penyakit yang ditandai dengan mekanisme tidak normal dan tidak terkontrol yang mengatur kelangsungan hidup, proliferasi dan diferensiasi sel. Sel yang telah mengalami transformasi neoplastik biasanya mengekspresikan antigen permukaan sel yang dapat menunjukkan kelainan kromosom secara kualitatif atau kuantitatif.

Sekelompok sel tumor dan sel induk tumor mempertahankan kemampuan untuk menjalani proliferasi berulang serta bermigrasi ke organ lain dalam tubuh, proses ini disebut metastasis. Keberadaan kumpulan sel ini ditandai dengan kelainan kromosom yang mencerminkan ketidakstabilan genetik. Ketidakstabilan genetik ini juga dapat memungkinkan mereka menjadi resisten terhadap kemoterapi dan radioterapi. Serangkaian proses metastasis dan infasif yang berhubungan dengan kanker dapat

mengakibatkan kematian, kecuali neoplasma dapat diberantas dengan pengobatan. (Katzung *et al.*, 2009)

2.5.2. Epidemiologi, Etiologi dan Patofisiologi

2.5.2.1. Kanker Payudara

Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang mempunyai prevalensi cukup tinggi. Kanker payudara dapat terjadi pada pria maupun wanita, hanya saja prevalensi pada wanita jauh lebih tinggi. Diperkirakan pada tahun 2006 di Amerika, terdapat 212.920 kasus baru kanker payudara pada wanita dan 1.720 kasus baru pada pria, dengan 40.970 kasus kematian pada wanita dan 460 kasus kematian pada pria (Anonim, 2006). Di Indonesia, kanker payudara menempati urutan ke dua setelah kanker leher rahim (Tjindarbumi, 1995). Kejadian kanker payudara di Indonesia sebesar 11% dari seluruh kejadian kanker (Siswono, 2003).

Penyebab kanker payudara sangat beragam, tetapi ada sejumlah faktor risiko yang dihubungkan dengan perkembangan penyakit ini yaitu asap rokok, konsumsi alkohol, umur pada saat menstruasi pertama, umur saat melahirkan pertama, lemak pada makanan, dan sejarah keluarga tentang ada tidaknya anggota keluarga yang menderita penyakit ini (Macdonald dan Ford, 1997). Hormon tampaknya juga memegang peranan penting dalam terjadinya kanker payudara. Estradiol dan atau progesteron dalam daur normal menstruasi meningkatkan resiko kanker payudara. Hal ini terjadi pada kanker payudara yang memiliki reseptor estrogen, dimana memang 50 % kasus kanker payudara merupakan kanker yang tergantung estrogen (Gibbs, 2000).

2.5.2.2. Kanker Kolon

Kanker kolon adalah ketiga yang paling umum didiagnosis pada laki-laki dan perempuan di Asia Tenggara, dengan 68.811 kasus kanker baru dan 44.280 kematian diperkirakan telah terjadi pada tahun 2008. Indonesia menduduki peringkat ke empat tertinggi setelah Singapura, Brunei, dan Malaysia. Peningkatan tingkat kanker kolorektal dianggap mencerminkan perubahan dalam pola diet, obesitas, dan tingkat merokok, sering terlihat pada tingkat ekonomi negara. (Kimman *et al.*, 2012)

Kanker kolon stadium awal biasanya tidak mempunyai gejala. Gejala yang muncul pada stadium lebih lanjut yang mungkin terjadi adalah pendarahan pada rektum, pendarahan saat buang air besar, perubahan kebiasaan usus, kram pada perut bagian bawah. Faktor resiko dari kanker kolon adalah keturunan (kurang dari 10% kanker kolon disebabkan oleh keturunan mutasi gen), riwayat polip kolon, inflamasi usus, obesitas, kurang aktivitas fisik, konsumsi makanan berlemak, rokok dan konsumsi alkohol. (American Cancer Society, 2008)

2.5.2.3. Kanker Serviks

Kanker serviks adalah kanker kedua yang paling banyak didiagnosis dan merupakan penyebab ketiga kematian akibat kanker pada wanita di Asia Tenggara, terhitung dari 11% jumlah kasus kanker baru dan 9% kasus kematian akibat kanker pada wanita pada tahun 2008. Seperti kanker payudara, kanker serviks berkembang pada usia wanita relatif muda (di bawah 50 tahun). Beban terhadap kanker serviks di negara-negara berkembang tampaknya disebabkan oleh kombinasi faktor kurang luasnya skrining dan fasilitas pengobatan, dan proporsi yang lebih besar dari persisten infeksi *Human Papilloma Virus* (HPV). (Kimman *et al.*, 2012)

Ada dua tipe kanker serviks : kanker sel squamosa dan adenokarsinoma. Kurang lebih 90% kanker serviks adalah kanker sel squamosa pada permukaan eksoserviks. Jenis kedua adalah adenokarsinoma, yang berkembang dari mukosa yang memproduksi sel glandular dari endoserviks.

Faktor resiko dari kanker serviks antara lain adalah infeksi Human Papilloma Virus (HPV), rokok, *immunosuppression*, infeksi bakteri klamidia, konsumsi makanan rendah sayur, penggunaan kontrasepsi oral, kehamilan di usia dini, kehamilan berulang dalam jangka waktu yang singkat, penggunaan dietilstilbestrol (hormon yang digunakan untuk mencegah keguguran), kemiskinan, dan riwayat keluarga dengan kanker serviks.

Penderita dengan kanker serviks stadium awal biasanya tidak memiliki gejala kelainan sampai kanker menjadi infasif dan tumbuh berkembang di jaringan. Dalam hal ini gejala yang mungkin timbul adalah pendarahan tidak normal dari vagina (biasanya setelah berhubungan seksual) dan rasa sakit saat berhubungan seksual. (American Cancer Society, 2008)

2.5.2.4. Kanker Nasofaring

Kanker nasofaring merupakan tumor ganas yang paling banyak dijumpai di antara tumor ganas THT di Indonesia, dimana karsinoma nasofaring termasuk dalam lima besar tumor ganas dengan frekwensi tertinggi, sedangkan didaerah kepala dan leher menduduki tempat pertama. Tumor ini berasal dari fossa Rosenmuller pada nasofaring yang merupakan daerah transisional dimana epitel kuboid berubah menjadi epitel skuamosa.

Penderita karsinoma nasofaring lebih sering dijumpai pada pria disbanding pada wanita dengan rasio 2-3 : 1. Penyakit ini ditemukan terutama pada usia yang masih produktif (30-60 tahun), dengan usia terbanyak adalah 40-50 tahun.

Penanggulangan karsinoma nasofaring sampai saat ini masih merupakan suatu problem, hal ini karena etiologi yang masih belum pasti, gejala dini yang tidak khas serta letak nasofaring yang tersembunyi, sehingga diagnosis sering terlambat. Pada stadium dini, radioterapi masih merupakan pengobatan pilihan yang dapat diberikan secara tunggal dan memberikan angka kesembuhan yang cukup tinggi. Pada stadium lanjut, diperlukan terapi tambahan kemoterapi yang dikombinasikan dengan radioterapi. (Soetjipto, 1989)

2.5.3. Macam-Macam Sel Kanker yang Digunakan

2.5.3.1. Sel Kanker Payudara (T47D)

Sel T47D merupakan *continous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun (Burdall *et al.*, 2003). Sel T47D memiliki morfologi seperti sel epitel. (Abcam, 2007). Sel kanker payudara T47D mengekspresikan protein p53 yang termutasi (Schafer *et al.*, 2000). Induksi estrogen dan eksogen mengakibatkan peningkatan proliferasinya (Verma *et al.*, 1998).

2.5.3.2. Sel Kanker Kolon (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). Sel ini sering digunakan dalam penelitian karena aman digunakan pada uji sitotoksitas,

mudah dalam pengkulturan dan perlakuan (Djajanegara, 2008). Sel WiDr memerlukan rentang waktu sekitar 15 jam untuk dapat menyelesaikan 1 daur sel. Salah satu karakteristik dari sel WiDr ini ialah ekspresi siklooksigenase -2 (COX-2) yang tinggi yang memicu proliferasi sel WiDr (Palozza *et al.*, 2005).

2.5.3.3. Sel Kanker Serviks (HeLa)

Sel HeLa merupakan *continous cell lines* yang tumbuh sebagai sel yang semi melekat. Sel HeLa diturunkan dari sel epitel kanker leher rahim (*serviks*) manusia. Sel ini diisolasi sejak tahun 1951 dari rahim wanita pertama penderita kanker leher rahim, berasal dari Baltimore, USA yang bernama Henrietta Lack yang saat itu berusia 31 tahun (Padmi, 2008). Sel HeLa merupakan sel kanker leher rahim akibat infeksi Human Papillomavirus (HPV 18) sehingga mempunyai sifat yang berbeda dengan sel leher rahim normal (Goodwin *et al.*, 2000).

2.5.3.4. Sel Kanker Nasofaring (Raji)

Sel Raji adalah sel yang berasal dari kultur cell line lymphoblastoid yang diturunkan dari lymphoma Burkitt. Burkitt merupakan sejenis kanker yang terdapat pada sistem limpa khususnya pada limfosit B. Sel raji telah ditemukan sejak tahun 1963 yang diperoleh dari rahang kiri anak lelaki dari Afrika yang saat itu mempunyai limfoma Burkitt (www.abcam.com).

2.6. Tinjauan Tentang Uji Sitotoksisitas Secara *In Vitro*

Uji *in vitro* kemo-resisten dan kemo-sensitivitas telah dikembangkan untuk memberikan informasi tentang karakteristik keganasan individual pasien untuk memprediksi respon potensi kanker mereka terhadap obat spesifik. Metode uji *in vitro* memberikan beberapa keuntungan, antara lain dapat digunakan sebagai langkah awal dalam pengembangan suatu obat, merupakan metode yang cepat, hanya memerlukan sedikit senyawa yang digunakan dalam pengujian, secara drastis dapat mengurangi penggunaan hewan laboratorium dan untuk beberapa tujuan penggunaan kultur sel primer dari bermacam-macam organ target (hati, paru-paru, ginjal, kulit, SSP) dapat memberikan informasi tentang potensi efeknya pada sel target manusia secara langsung (Doyle dan Griffiths, 2000).

Uji sitotoksisitas adalah uji *in vitro* yang menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas anti neoplastematik dari suatu senyawa. Penggunaan uji sitotoksisitas pada suatu sel merupakan salah satu cara penetapan *in vitro* untuk mendapatkan obat - obat yang sitotoksik. Sistem ini merupakan uji kualitatif dengan cara menetapkan kematian sel. Akhir dari uji sitotoksik dapat memberikan informasi konsentrasi obat yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup (Doyle and Griffiths, 2000).

Uji sitotoksik digunakan untuk memprediksi keberadaan obat sitotoksik baru dari bahan alam yang berpotensi sebagai anti kanker. Adapun dasar dari percobaan ini antara lain, bahwa sistem penetapan aktivitas biologi akan menghasilkan kurva dosis respon dan kriteria respon yang seharusnya menunjukkan hubungan lurus dengan jumlah sel. Informasi yang didapat dari kurva seharusnya berhubungan dengan efek *in vivo* dari obat sitotoksik yang sama (Padmi, 2008).

Metode uji sitotoksik yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah metode MTT, dimana prinsip kerjanya adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT oleh sistem reduktase. Suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan *reagen stopper* (bersifat detergenik) akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan *ELISA reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel yang hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak.

