

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Daun Sirsak



Gambar 3. Daun Sirsak (Purwatresna, 2012)

Tanaman sirsak memiliki sebaran penanaman yang sangat luas. Ia tumbuh baik di dataran rendah sampai ketinggian 1000 meter di atas permukaan laut (Redaksi Trubus, 2012). Tanaman ini telah menyebar di seluruh pelosok Indonesia (Sunarjono, 2005) dan dapat tumbuh pada daerah tropis dan subtropis (Orwa *et al.*, 2009) yang berifat tahunan (Subagja, 2013). Tanaman ini dapat tumbuh pada semua jenis tanah dengan derajat keasaman (pH) antara 5-7 , suhu udara yang sesuai antara 22-32⁰C , dan memerlukan sinar matahari antara 50-70% (Sunarjono, 2005).

Taksonomi tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) yaitu sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Famili : Annonaceae

Genus : *Annona*

Species : *Annona muricata* L. (Herliana & Rifai, 2011).

Daun sirsak berbentuk bulat telur agak tebal. Permukaan bagian atasnya halus berwarna hijau tua dan bagian bawahnya berwarna lebih muda (Pradana, 2013).

Kini daun sirsak mulai gencar ditingkatkan pemanfaatannya maupun penggunaannya. Memang rasa daun sirsak jauh dari kata lezat jika dibandingkan dengan buahnya. Namun daun sirsak ternyata banyak dimanfaatkan sebagai obat herbal seperti untuk penyakit kulit, rematik, batuk, flu, kanker (Orwa *et al.*, 2009), dan hipertensi (Lans, 2006).

Daun sirsak memiliki kandungan *acetogenins*, *annocatacin*, *annocatalin*, *annohexocin*, *annoanacin*, *annomuricin*, dan *anonol* yang bermanfaat bagi tubuh, yaitu mulai dari meningkatkan daya tahan tubuh hingga mampu mengobati penyakit tertentu seperti kanker, nyeri rematik, menghambat pertumbuhan virus dan bakteri, menghambat terjadinya mutasi gen, mengobati cacingan, mengobati hepatitis, flu, kejang, dan lain sebagainya (Dewi & Hermawati, 2013).

1. Potensi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai antikanker

Berbagai senyawa yang diisolasi dari daun sirsak diketahui efektif melawan proliferasi sel. Senyawa tersebut menunjukkan efek sitotoksik baik dengan merusak DNA atau dengan menghalangi pembentukan mitosis selama tahap pembelahan sel (George *et al.*, 2012).

Tabel 1. Analisis Kualitatif Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Minari & Okeke, 2014)

No.	Komponen fitokimia	Ekstrak etanol
1	Saponin	-
2	Terpenoid	+
3	Steroid	+
4	Flavonoid	+
5	<i>Cardiac glicoside</i>	+
6	Tanin	+
7	Fenol	+
8	Flobatanin	-
9	Alkaloid	+
10	<i>Reducing sugar</i>	+

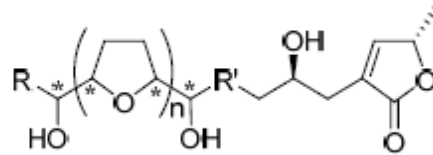
Keterangan : (+) : ada fitokimia; (-): tidak ada fitokimia

Flavonoid dan tanin merupakan senyawa fenolik pada tanaman. Flavonoid meningkatkan efek vitamin C dan berfungsi sebagai antioksidan (Vijayameena *et al.*, 2013). Senyawa fenolik ini berpengaruh terhadap pembersihan radikal bebas dan memiliki potensi antineoplasma (George *et al.*, 2012). Selain itu, terdapat efek antiproliferasi dari polifenol herbal di berbagai sel kanker manusia (Bishayee *et al.*, 2013).

Pengaruh preventif ekstrak etanol daun sirsak terhadap kerusakan DNA yang diinduksi DMBA dapat dikarenakan adanya berbagai metabolit sekunder (tanin, terpenoid, *cardiac glikosida* (CGs), dan flavonoid). Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas antikanker (Kuno *et al.*, 2012).

Terdapat kelompok senyawa aktif *acetogenins* pada daun anggota famili *Annonaceae* yang berkhasiat sitotoksik. Prinsip dasar acetogenins adalah menghambat sintesis *adenosine trifosfat* (ATP) oleh mitokondria sel yang dibutuhkan oleh sel kanker (Redaksi Trubus, 2012).

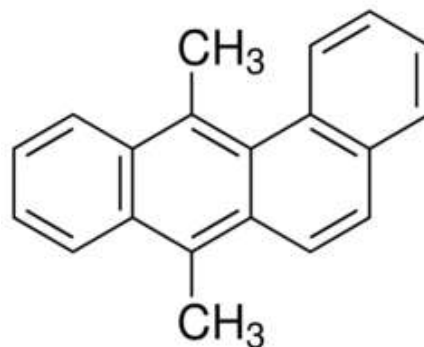
Acetogenins yang merupakan kumpulan senyawa aktif seperti *muricatosin A*, *muricatosin B*, *annomuricin E*, *muricapentocin*, *annopentocin A*, *annopentocin B*, dan *annopentocin C* masuk dan menempel di reseptor dinding sel untuk merusak ATP di dinding mitokondria. Sel kanker memiliki kemampuan untuk membelah cepat, yakni setiap 2-5 jam. Sedangkan sel normal biasanya 7-14 hari. Pembelahan yang cepat memerlukan energi yang cukup besar berasal dari ATP. Jika pasokan energi berkurang, aktivitas sel kanker melambat dan akhirnya terjadi apoptosis. *Acetogenins* sangat selektif, hanya menyerang sel kanker, yaitu yang memiliki kelebihan ATP. Senyawa ini tidak menyerang sel-sel lain yang normal di dalam tubuh. Mitokondria sendiri merupakan organel tempat berlangsungnya respirasi sel, metabolisme lemak, dan penghasil energi ATP (Redaksi Trubus, 2012).



Gambar 4. Struktur *annonaceous acetogenin* (Kojima & Tanaka, 2009)

Selain itu, salah satu senyawa *annonaceous acetogenins*, yaitu *bullatacin*, secara khusus membunuh sel kanker yang resisten terhadap obat-obatan dengan menghambat produksi ATP, sehingga menghilangkan sumber energi sel kanker. Selektivitas yang luar biasa terhadap sel kanker terutama terdapat pada daunnya (Gholse & Yadav, 2012).

B. DMBA (7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene)



Gambar 5. Struktur DMBA (Sigma-Aldrich Co, 2014)

DMBA memiliki 4 cincin benzena dan termasuk dalam tujuh *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH) yang dapat menyebabkan kanker pada manusia. Secara alami DMBA dapat ditemukan di alam sebagai hasil dari proses pembakaran yang tidak sempurna, seperti dalam asap tembakau, asap pembakaran kayu, asap pembakaran gas, bensin, minyak, batubara atau daging. Senyawa DMBA dapat ditemukan di dalam air, tanah maupun udara (Budi & Widyarini, 2010).

DMBA adalah bahan karsinogen yang kuat dan spesifik yang banyak digunakan dalam laboratorium penelitian kanker sebagai inisiator dan promosi tumor, sehingga membuat pertumbuhan tumor menjadi cepat (Miyata *et al.*, 2001). DMBA yang dikenal sebagai sitotoksik, karsinogenik, dan mutagenik sebagai analog dari PAH akan mengaktifasi sitokrom P450 yang bisa menyebabkan mutasi DNA dan menyebabkan terjadinya kanker (Buters *et al.*, 2003).

Oleh CYP, DMBA diubah menjadi *DMBA-3,4-diol-1,2-epoksida* (DMBA-DE), metabolit bersifat genotoksik, reaktif oksidatif dan hematotoksik-imunosupresif. Pembentukan DMBA-DE tergantung pada aktivitas enzim CYP (1A1/1B1). Peningkatan jumlah DMBA-DE dalam tubuh sebanding dengan peningkatan jumlah dan aktivitas enzim CYP1A1. Meningkatnya onkogen dan menurunnya ekspresi *tumor suppressor gen* (antionkogen) akibat DMBA-DE meningkatkan kejadian kanker (Akrom, 2012).

Metabolit aktif dari DMBA akan berikatan dengan DNA (*DNA adduct*), selanjutnya ikatan dengan DNA akan turun hingga 50% 16 jam pasca

paparan dengan DMBA. Namun demikian, apabila paparan DMBA dilakukan terus menerus selama 42 hari, maka akan terjadi ikatan yang menetap antara metabolit aktif DMBA dan DNA yang akan memicu munculnya kanker (Budi & Widyarini, 2010). Pembentukan nodul tumor diawali dengan pembentukan *DNA adduct* oleh DMBA-DE (Akrom, 2012).

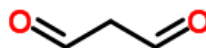
Mekanisme aktivasi DMBA melibatkan CYP1A1 menjadi *intermediate* reaktif yang dapat merusak DNA, yaitu terbentuknya epoksida dihidrodiol. Epoksida dehidrodiol akan mengikat DNA secara kovalen menjadi bentuk *adduct* yang stabil (Hamid & Meiyanto, 2009). Epoksida dehidrodiol, metabolit aktif yang dihasilkan selama aktivasi metabolik DMBA akan mengikat dan menyebabkan kerusakan pada DNA (Manoharan & Selvan, 2012). Jalur epoksida dehidrodiol inilah yang bertanggung jawab terhadap inisiasi tumor karsinogenik DMBA dibanding bentuk kation radikal (Hamid & Meiyanto, 2009).

Langkah awal dalam tumorigenesis bergantung pada enzim sitokrom P450 yang memetabolisme DMBA ke dalam epoksida mutagenik sedang yang siap membentuk *DNA adduct*. *DNA adduct* ini berhubungan dengan mutasi DNA dan transformasi maligna yang diperkirakan terlibat dalam karsinogenesis yang dimediasi oleh PAH (Currier *et al.*, 2005). Banyaknya paparan radikal bebas seperti DMBA yang terdapat di lingkungan menyebabkan sangat besar kemungkinan radikal bebas tersebut berikatan dengan sel di dalam tubuh. DMBA dimetabolisme di hati dan akan menjadi

senyawa yang reaktif setelah mengalami metabolisme, hal ini dapat menyebabkan kerusakan hati (Sari, 2008).

DMBA dimetabolisme di hati tikus menjadi metabolit *7-hydroxy-DMBA* oleh karena metabolit tersebut yang bersifat reaktif oksidan terhadap DNA sel. Beberapa studi memperlihatkan bahwa senyawa DMBA yang tidak mengalami biotransformasi menjadi *7-hydroxy-DMBA* gagal dalam menyebabkan karsinoma (Nair & Varalakshmi, 2011). Pelepasan molekul biologis aktif dari sel Kupffer yang telah aktif, terlibat dalam mekanisme toksikologi dan hepatokarsinogenik (Koul *et al.*, 2014).

C. Malondialdehid (MDA)



Gambar 6. Struktur Malondialdehid (Royal Society of Chemistry, 2014)

Senyawa radikal bebas yang berlebihan menyebabkan stres oksidatif sehingga terjadi kerusakan atau kematian sel. Radikal bebas mengoksidasi dan menyerang komponen lemak membran sel. Kerusakan oksidatif pada senyawa lipid terjadi ketika senyawa radikal bebas bereaksi dengan senyawa *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) (Winarsi, 2007).

Hal ini disebabkan karena PUFA merupakan sasaran utama bagi radikal bebas. Fosfolipid dan glikolipid merupakan membran lemak bilayer

terpenting yang mengandung asam lemak tak jenuh dan mudah terkena serangan radikal, sehingga menimbulkan reaksi berantai yang disebut peroksidasi lemak (Panut, 2012).

Peroksidasi lemak merupakan suatu rangkaian proses yang terdiri atas 3 tahapan, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Peroksidasi lemak dapat diakhiri dengan adanya reaksi antara satu radikal dengan radikal lainnya atau antioksidan (Winarsi, 2007). Produk oksidasi lemak yang diinduksi oleh stres oksidatif akan membentuk radikal bebas oksigen, salah satunya adalah malondialdehid (MDA). MDA sebagai salah satu produk peroksidasi lemak yang bersifat toksik terhadap sel merupakan senyawa dialdehid yang memiliki tiga rantai karbon (Donne *et al.*, 2006).

Peroksidasi lemak merupakan hasil kerja radikal bebas yang diketahui paling awal dan paling mudah pengukurannya. Oleh karena itu, reaksi ini paling sering dilakukan untuk mempelajari stres oksidatif. MDA sebagai salah satu produk peroksidasi lemak telah diakui sebagai salah satu penanda biologis stres oksidatif yang dipercaya. Adanya peningkatan MDA menunjukkan peningkatan aktivitas peroksidasi lemak (Donne *et al.*, 2006).

Senyawa PAH menghasilkan tingkat yang tinggi dalam meningkatkan peroksidasi lemak pada sel hati. Hati merupakan organ yang rentan terhadap metabolisme kimia sehingga menyebabkan hepatotoksisitas. Peningkatan peroksidasi lemak mengindikasikan kerusakan pada hati (Ubani *et al.*, 2012).

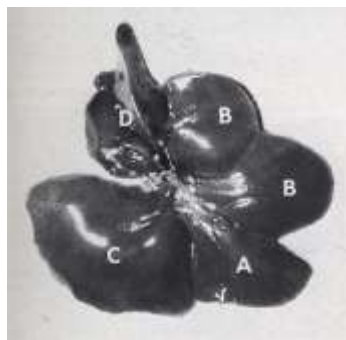
Meningkatkannya radikal bebas dapat berpengaruh pada perkembangan penyakit hati, seperti virus hepatitis dan kanker hati (Hanif *et al.*, 2005).

D. Hati Tikus Putih

Klasifikasi tikus putih (*Rattus novergicus*) :

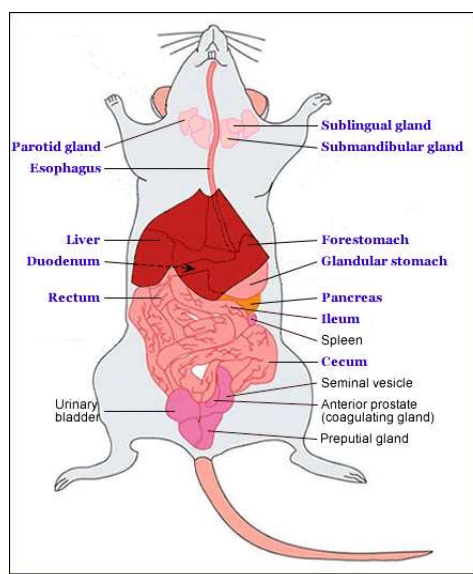
Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Subfilum : Vertebrata
Kelas : Mammalia
Ordo : Rodentia
Famili : Muridae
Genus : Rattus
Spesies : *Rattus novergicus* (Sowash, 2009)

1. Anatomi Hati Tikus Putih



Gambar 7. Hati Tikus Putih (A. Lobus media; B. Lobus lateral dextra; C. Lobus lateral sinistra; D. Lobus kaudatus) (Vinerean, 2014)

Hati menempati urutan ketiga kranial dari rongga perut dan terdiri dari beberapa lobus. Hati tikus terdiri dari 4 lobus utama yang saling berhubungan di bagian belakang (Ishbah, 2012). Pada dasarnya dibagi menjadi lobus kiri, tengah, kanan, dan lobus kaudatus. Sebuah kapsul jaringan ikat tipis yang secara eksternal dilapisi oleh peritoneal menutupi permukaan parietal dan visceral hati. Lobus tengah terdapat celah tempat ligamentum falsiforme berada. Pada tikus putih, kantong empedu terletak di fisura lobus tengah. Lobus kanan berada di bagian anterior dan posterior dan lobus kaudatus terdiri dari dua atau lebih sublobus (Eustis *et al.*, 1990)

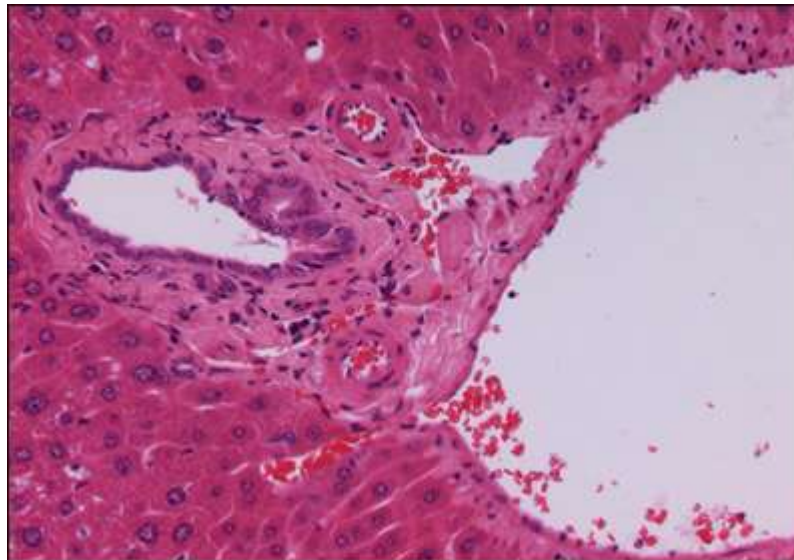


Gambar 8. Anatomi Umum Tikus Putih (Conti *et al.*, 2004)

Hati memiliki pasokan darah ganda, dari vena porta hepatica dan arteri hepatica. Arteri hepatica menyuplai darah yang teroksigenasi. Sekitar 75% darah dikirim ke hati melalui vena porta hepatica. Cabang-cabang

arteri hepatica dan vena porta terlihat di triad porta hepatica bersama dengan saluran empedu. Saluran-saluran empedu bergabung untuk membentuk saluran hati menuju ke kantong empedu pada tikus putih. Darah mengalir dari daerah porta ke vena sentral di bagian tengah masing-masing lobulus sementara empedu mengalir dari lobulus hepatic sentral ke daerah portal dan duktus hepatica (Harada *et al.*, 1999).

2. Histologi Hati Tikus Putih



Gambar 9. Histologi Hati Tikus Putih Pembesaran 20x (Gambaran triad porta yang terdiri dari duktus biliaris, vena porta, dan arteri hepatica) (Conti *et al.*, 2004)

Septa interlobular pada hati yang terdiri dari jaringan ikat akan memisahkan tiap lobulus dan membentuk triad porta yang terdiri dari arteri hepatica, vena porta, dan duktus biliaris. Di pusat setiap lobulus hati, terdapat vena sentral yang merupakan cabang dari vena hepatica.

Pada permukaan apikal hepatosit terdapat kanalikuli biliaris yang saling berhubungan dan merupakan bagian pertama dari sistem duktus biliaris. Pada sinusoid terdapat sel Kupffer yang berfungsi seperti makrofag dan bersifat fagosit pada hati (Conti *et al.*, 2004; Thoolen *et al.*, 2010).