BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Kanker

2.1.1 Definisi

Kanker merupakan sekelompok penyakit yang berbeda, yang ditandai dengan pertumbuhan sel/jaringan abnormal yang bersifat ganas, tumbuh cepat tidak terkendali dan dapat menyebar ke tempat lain dalam tubuh penderita dan metastatis (penyebaran sel kanker dapat melalui pembuluh darah maupun pembuluh getah bening. Merupakan penyebab utama kematian kedua di amerika. Hampir 1,8 juta kasus kanker didiagnosis pada tahun 2019 dengan perkiraan hampir 600.000 kematian di amerika serikat. Kanker yang paling umum adalah kanker prostat, payudara, dan paru-paru, yang menyebabkan hampir 150.000 kematian setiap tahun (Dipiro dkk., 2021).

2.1.2 Patofisiologi

Sel kanker menunjukkan beberapa karakteristik yang membedakan sel normal. Ciri-ciri ini termasuk pertumbuhan tak terbatas dimana siklus sel tidak lagi diatur secara ketat. Perubahan genetik memungkinkan aktivasi beberapa onkogen dan penekanan berbagai gen penekan tumor, melepaskan sel kanker dari regulasi ketat yang diamati dengan sel sehat. Sel-sel kanker kemudian mengalami beberapa pembelahan sel, memungkinkan ukuran tumor meningkat secara eksponensial. Sel kanker juga menolak kematian sel terprogram dengan menghambat apoptosis dan penuaan. Terakhir, sel kanker menumbuhkan pembuluh darah baru, menyerang jaringan lokal baru, dan menyebar ke seluruh tubuh (Dipiro dkk., 2021).

2.1.3 Obat Kanker

Beberapa obat kanker dari jamur endofit, yaitu:

1. Paclitaxel diproduksi dari tanaman *taxus longifolia* kemudian diidentifikasi oleh jamur endofit *Taxomyces andreanae*. Paclitaxel ini digunakan dalam pengobatan berbagai jenis kanker termasuk kanker payudara, ovarium, dan paru-paru (Strobel, G. A., dkk, 1996).
2. Enzim L-asparaginase sebagai obat dalam penanganan kanker, khususnya lymphoblastic leukemia. Aplikasi L-asparaginase pada sel kanker yaitu menguraikan L-asparagin yang merupakan salah satu komponen nutrisi sel kanker menjadi asam L-aspartat dan amonia, sehingga menghambat pertumbuhan sel kanker tersebut. Spesies jamur penghasil enzim L-asparaginase yang di isolasi dari endofit mangrove *Sonneratia alba* (Swardhika, 2018).
3. Podophyllotoxin dari jamur endofit *Phialocephala fortinii* yang ditemukan dalam tanaman *Podophyllum peltatum* (Mayapple) memiliki potensi aktivitas antikanker. Podophyllotoxin terbukti memiliki sifat antineoplastik dengan menghambat perakitan tubulin menjadi mikrotubulus dan memicu apoptosis. Efek ini dicapai melalui pencegahan polimerisasi tubulin, yang kemudian dapat menyebabkan penghentian siklus sel pada fase mitosis dan menghambat pembentukan mikrotubulus gelendong mitosis (Abad dkk, 2012).

2.2 Tanaman Sawo (*Manilkara zapota* P. Royen)

2.2.1 Tinjauan Tanaman Sawo (*Manilkara zapota* P. Royen)

Tanaman sawo (*Manilkara zapota* P. Royen) adalah tanaman buah yang termasuk dalam keluarga Sapotaceae, yang berasal dari Amerika Tengah dan Meksiko. Tanaman ini dapat tumbuh di berbagai tipe dataran, baik dataran rendah maupun tinggi, dan kini telah menyebar ke seluruh Indonesia. Sebagai tanaman tropis, sawo manila dapat berbuah sepanjang tahun. Tanaman ini dikenal mudah beradaptasi dengan lingkungan tropis, sehingga mudah dibudidayakan di berbagai wilayah di Indonesia. Sawo banyak ditanam di pekarangan rumah dan sering ditemukan di pasar (Hasanah, 2018).

2.2.2 Morfologi Tanaman Sawo (*Manilkara zapota* P. Royen)

Manilkara zapota P. Royen merupakan pohon sawo manila dapat tumbuh hingga mencapai ketinggian 40 meter dan memiliki bentuk yang besar serta rindang. Cabangnya tumbuh rendah, dengan batang yang memiliki kulit kasar berwarna abu-abu kehitaman hingga cokelat tua. Daunnya tunggal dan terletak berseling, dengan bentuk pangkal dan ujung yang mirip biji. Bunga sawo manila tumbuh secara tunggal di ketiak daun dekat ujung ranting, memiliki tangkai sepanjang 1-2 cm, seringkali menggantung, dengan diameter hingga 1,5 cm. Bagian luar bunga ditutupi bulu kecokelatan dan berbilangan enam. Kelopak bunga biasanya tersusun dalam dua lingkaran, sedangkan mahkota berbentuk corong berwarna putih, dengan panjang tabung bervariasi. Buahnya adalah buni dengan tangkai pendek, berbentuk bulat, bulat telur, atau jorong, berukuran antara 3-6 x 3-8 cm, berwarna cokelat kemerahan hingga kekuningan dengan kulit kasar berwarna

cokelat yang mudah mengelupas. Kulit buahnya tipis, sementara daging buahnya lembut, terkadang sedikit memasir, dengan warna cokelat kemerahan hingga kekuningan, rasanya manis, dan mengandung banyak sari buah. Di dalamnya terdapat hingga 12 butir biji yang berbentuk lonjong pipih, berwarna hitam atau kecokelatan mengilap, dan keping bijinya berwarna putih lilin (Syamsul Hidayat, 2015).



Gambar 1. Tanaman Sawo (Manilkara zapota P. Royen)

Sumber : www.sonora.id

2.2.3 Klasifikasi Tanaman Sawo (*Manilkara zapota* P. Royen)

Adapun klasifikasi dari tanaman sawo adalah sebagai berikut, yaitu:

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: tracheobionata
Super Division	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Sub Class	: Dilleniidae
Ordo	: Ebenales

Famili : Sapotaceae

Genus : Manilkara

Spesies : *Manilkara zapota*

(Hasanah, 2018).

2.2.4 Kandungan Tanaman Sawo (*Manilkara zapota* P. Royen)

Tabel 1. Kandungan Tanaman Sawo

Senyawa	Aktivitas	Referensi
(+)-dihydrokaempferol	Menunjukkan sitotoksisitas yang kuat pada garis sel karsinoma payudara (BT474), garis sel karsinoma bronkus paru (Chago-K1), garis sel karsinoma hati (HepG2), garis sel karsinoma lambung (KATO-). III), dan garis sel karsinoma usus besar (SW620).	Kasote dkk., 2015.
Asam Oleanolic	isolasi senyawa dari asam oleanolic merupakan turunan saponin memiliki aktivitas anti-tumor dengan mengaktifkan NRF2 dalam sel mononuklear darah menghambat NF-κB dan cyclin D1 (mediator perkembangan siklus sel) dalam biopsi tumor. Perkiraan laju filtrasi glomerulus (eGFR, ukuran fungsi ginjal) pasien juga meningkat dan ini menunjukkan	Hong DS dkk., 2012.

	bahwa CDDO-Me mungkin dapat berperan dalam pengobatan penyakit ginjal kronis.	
Myracetin	Isolasi senyawa myricetin-3-O-α-L-rhamnoside merupakan turunan flavonoid menunjukkan potensi antikanker melalui menginduksi apoptosis dan secara signifikan menurunkan regulasi mutasi resistensi multidrug 1 (MDR-1) dalam sel kanker ovarium.	Berköz *dkk*, 2021.
Apigenin	Isolasi senyawa dari apigenin-7-O-α-L-rhamnoside merupakan turunan alkoloid telah terbukti menunjukkan efek antikanker yang luas pada berbagai jenis kanker, termasuk kanker kolorektal, kanker payudara, kanker hati, kanker paru-paru, melanoma, kanker prostat, dan osteosar. Koma menunjukkan aktivitas anti kanker dengan merangsang respon imun.	Cardenas H *dkk*, 2016.

2.3 Jamur Endofit

2.3.1 Hubungan Jamur Endofit dengan Inangnya

Jamur endofit ialah jenis jamur yang tumbuh di dalam jaringan tumbuhan pada masa tertentu, dan mampu membentuk koloni di dalam jaringan tersebut tanpa mengancam keselamatan tanaman yang dijadikan inang (Murdiyah, 2017). Jamur

endofit adalah mikroorganisme yang hidup di dalam tumbuhan tingkat tinggi, yang dianggap sebagai sumber metabolit sekunder dengan potensi manfaat di bidang kesehatan, pertanian, dan industri. Jamur ini dapat bertahan hidup pada suhu optimal antara 20°C hingga 26°C. Jamur endofit adalah mikroorganisme yang tinggal di dalam jaringan tumbuhan seperti akar, batang, daun, buah, dan biji tanpa merugikan tumbuhan inangnya. Jamur ini dapat menghasilkan senyawa antibakteri yang memiliki potensi sebagai agen pengendali hayati. Hubungan antara jamur endofit dan tumbuhan inang dapat melindungi tanaman dari berbagai patogen yang berbahaya, termasuk bakteri dan jamur (Sofiyani, 2014).

Menurut Kurnia dkk, (2014), setiap jenis tanaman yang ada di bumi mengandung satu atau lebih mikroorganisme endofit, yang meliputi bakteri endofit dan jamur endofit. Mikroorganisme ini dapat menghasilkan senyawa metabolit yang berfungsi sebagai antibiotik, antivirus, antikanker, antidiabetes, antimalaria, antioksidan, antiimunopresif, antiserangga, serta zat pengatur tumbuh dengan menghasilkan hormon seperti etilen, auksin, dan sitokinin. Selain itu, mikroorganisme ini juga memproduksi enzim hidrolitik seperti amilase, selulase, xilanase, ligninase, dan kitinase. Jamur endofit dapat menghambat pertumbuhan patogen dengan mengambil nutrisi dari patogen, menyebabkan perubahan pada hifa patogen.

Penggunaan jamur endofit sebagai agen pengendali hayati semakin banyak diteliti sejak diketahui bahwa jamur ini membantu tanaman beradaptasi dengan kondisi lingkungan abiotik dan biotik. Selain itu, jamur endofit dianggap lebih efektif dan ramah lingkungan. Beberapa jenis jamur endofit yang ditemukan pada

tanaman inang dan berperan sebagai agen pengendali hayati meliputi *Fusarium solani, Acremonium zeae, Verticillium sp., Ampelomyces sp., dan Neotyphodium lolii (*Kurnia dkk., 2014).

Interaksi antara jamur endofit dan tumbuhan inangnya bersifat simbiosis mutualisme, di mana jamur endofit mendapatkan nutrisi dari tanaman inang, sementara tanaman inang terlindungi dari patogen penyebab penyakit dan memiliki peningkatan ketahanan terhadap kekeringan (Akmalasari dkk 2013). Jamur endofit juga dapat membantu tanaman inangnya dalam menyerap nutrisi seperti nitrogen dan fosfor. Populasi jamur endofit lebih banyak ditemukan pada batang dan daun dibandingkan dengan akar. Untuk mengamati jamur endofit, mereka dapat ditumbuhkan pada media pertumbuhan (Purwanto, 2011).

Tumbuhan tingkat tinggi biasanya mengandung beberapa mikroba endofit yang menghasilkan metabolit sekunder, yang terbentuk melalui transfer genetik dari tumbuhan inang ke jamur endofit. Selama proses evolusi, jamur endofit mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang serupa dengan yang dihasilkan oleh tumbuhan inangnya (Kuncoro dan Sugijanto, 2011).

Dalam memanfaatkan jamur endofit sebagai sumber senyawa bioaktif yang bermanfaat, penting untuk mempertimbangkan pemilihan tumbuhan inangnya. Jenis, keunikan, dan aktivitas biologis dari produk yang dihasilkan oleh jamur endofit sangat dipengaruhi oleh pilihan tumbuhan inang. Beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam pemilihan tanaman inang untuk isolasi jamur endofit meliputi: tanaman tersebut berasal dari lingkungan unik dengan kondisi biologis ekstrem, sering digunakan dalam pengobatan tradisional oleh masyarakat setempat,

merupakan tanaman endemik yang hanya tumbuh di wilayah atau waktu tertentu, dan berasal dari lokasi dengan tingkat biodiversitas tinggi. Jamur endofit yang diambil dari daerah dengan biodiversitas tinggi memiliki potensi untuk menghasilkan berbagai jenis senyawa bioaktif yang bernilai ekonomis tinggi di masa depan (Kuncoro dan Sugijanto, 2011).

2.3.2 Laporan Senyawa Dari Jamur Endofit yang Memiliki Aktivitas Antikanker

Tabel 2. Laporan Senyawa Dari Jamur Endofit yang Memiliki Aktivitas Antikanker

Agen Bioaktif	Tanaman Inang	Jamur Endofit	Sel Jaringan
Sequoiatone A dan Sequoiatone B	*Sequoia sempervіens*	*Aspergillus parasiticus*	Kanker payudara, sel adenokarsinoma par-paru garis
9-dehidroksieurotino n	*Kembang sepatu tillaceous*	*Eurotium rubrum*	Kanker pancreas
Radicicol	*Ephedra fasciculata*	*Chaetomium chiversii*	Garis sel kanker payudara
Perenniporin A	*Taxus chinensis var. mairei*	*Perenniporia tephropora Z41*	HeLa SMMC-7721

Xylariacin A–C	*Annona squamosa L*	*Xylarialean sp. A45*	garis sel tumor manusia HepG2

(Tyagi dkk., 2021)

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhtarini, 2014).

Jenis-jenis metode ekstraksi

a. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk. tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel. dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa

senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhtarini, 2014).

b. Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu (Mukhtarini, 2014).

c. Soxhlet

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ektraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhtarini, 2014).

d. Reflux dan Destilasi Uap

Pada metode reflux, sampel di masukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik did ih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2 bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Mukhtarini, 2014).

2.5 Uji Aktivitas Sitotoksik

Uji sitotoksik adalah uji toksisitas secara *in vitro* menggunakaln kultur sel yang diginakan untuk mendeteksi adanya antivitas antineoplastic dari suatu senyawa. Penggunaan uji sitotoksik pada kultur sel merupakan salah satu cara penepatan *in vitro* untuk mendapatkan obat-obat sitotoksik. Sistem ini merupakan uji kuantitatif dengan cara menentukan kematian sel.

Parameter yang digunakan untuk uji sitotoksik yaitu nilai IC50. Nilai IC50 menunjukkan nilai kosentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50% 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.

Bagian akhir uji sitotoksik dapat memberikan konsentrasi yang maksimum yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup. Bagian akhir uji sitotoksisitas

pada organ target memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Djajanegara dkk, 2009).

Metode Pengujian Sitotoksik

a. *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) adalah salah satu cara yang digunakan untuk menilai tingkat sitotoksisitas suatu senyawa atau ekstrak, terutama yang berasal dari tanaman. Metode ini melibatkan pemberian berbagai konsentrasi senyawa tersebut kepada larva udang Artemia Salina Leach dalam larutan. Diketahui bahwa larva udang memiliki kulit yang tipis, membuatnya sensitif terhadap lingkungannya. Zat atau senyawa asing dalam lingkungan dapat berdifusi ke dalam tubuh larva udang, mempengaruhi sel-selnya. Jika senyawa yang masuk ke dalam sel bersifat toksik, hal ini dapat mengakibatkan kematian pada larva udang tersebut (Rafiqah dkk, 2019). Menurut Valensia dkk pada tahun 2021, suatu ekstrak bahan alam dapat berpotensi sebagai obat jika memiliki LC_{50} kurang dari 1000 mg/L menurut uji BSLT.

b. MTT assay

MTT assay adalah teknik yang sering dipakai pada umumnya, teknik ini menggunakan garam tetrazolium atau MTT {3-(4,5-dimetil tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida) yang berwarna kuning dimana akan dimetabolisme oleh enzim suksinat dehidrogenase yang terdapat pada mitokondria sel menjadi kristal formazan berwarna ungu (Freshney,1992). MTT dilarutkan dalam *Phosphate Buffer 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 µl dan diinkubasi selama kurang lebih 4 jam pada 37^{o}C. Kristal formazan yang berwarna ungu yang terbentuk akan terlarut dengan penambahan isopropanol asam (100 µl 0,04 N HCl dalam isopropanol) atau SDS 10% dalam HCl 0,01 N. Selanjutnya dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm. Intensitas warna yang terbentuk berbanding langsung dengan jumlah sel yang aktif melakukan metabolisme (Zakaria, 2010).

c. Metode Perhitungan Langsung

Metode perhitungan langsung dilakukan dengan pengecatan menggunakan larutan biru tripan. Sel yang mati akan menyerap warna biru tripan, sedangkan yang mati tidak. Hal ini disebabkan karena sel yang mati mengalami kerusakan pada membran selnya, mengakibatkan protein didalam sel keluar dan berikatan dengan biru tripan. Pemberian biru tripan dilakukan secara bertahap untuk menghindari kemungkinan kematian sel yang disebabkan oleh biru tripan dan hasilnya sel yang mati akan tampak keruh tidak bercahaya (Agoes, 1994).

d. Perubahan Integritas Membran

Metode ini terutama digunakan untuk senyawa toksik yang memberikan efek dengan merusak membran sel yang tidak terjadi dalam keadaan normal (seperti biru tripan dan eritrosin) dan pengeluaran isotope atau pewarna dalam keadaan normal tidak dikeluarkan oleh sel, seperti 15 Kromium dan diasetil fluoresin (Freshney, 1992).

e. Radioisotop

Pemasukan radioisotop seperti [3H]-timidin ke dalam DNA dan [3H]-uridin ke dalam RNA (Freshney, 1992).