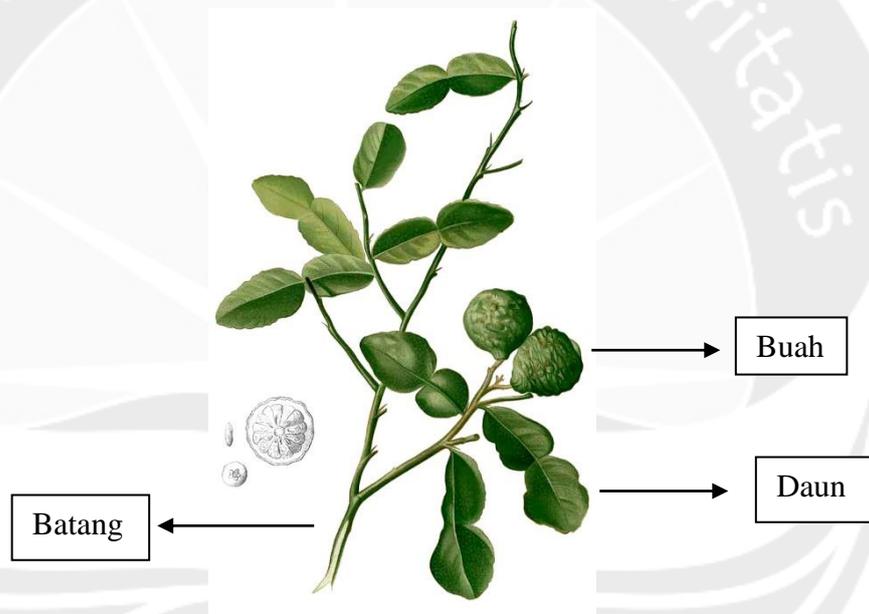


II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Sistematika *Citrus hystrix*

1. Nama Tanaman

Jeruk (atau limau/limo) purut (*Citrus hystrix* D.C.) merupakan tumbuhan perdu yang dimanfaatkan terutama buah dan daunnya sebagai bumbu penyedap masakan. Dalam perdagangan internasional dikenal sebagai kaffir lime (Munawaroh dan Handayani, 2010).



Gambar 1. Tanaman Jeruk Purut (Sumber: Munawaroh dan Handayani, 2010).

Di Indonesia daun jeruk purut juga digunakan sebagai bumbu masak untuk menutupi bau amis ikan. Buahnya lebih banyak digunakan untuk perawatan tubuh dan kulitnya digunakan untuk makanan. Kulit buah ini dapat dimanfaatkan untuk bahan shampoo pencuci rambut (Fransisca, 1999).

2. Klasifikasi dan Deskripsi

Citrus hystrix termasuk ke dalam suku jeruk-jerukan (Rutaceae).

Klasifikasi *Citrus hystrix* menurut USDA (2015) adalah sebagai berikut:

Kingdom	:	Plantae
Subkingdom	:	Tracheobionta
Superdivisi	:	Spermatophyta
Divisi	:	Magnoliophyta
Kelas	:	Dicotyledonae
Subkelas	:	Rosidae
Bangsa	:	Sapindales
Suku	:	Rutaceae
Marga	:	<i>Citrus</i>
Spesies	:	<i>Citrus hystrix</i> D.C.

Jeruk purut dapat tumbuh hingga 2-12 meter, batangnya kecil, bengkak, dan bercabang rendah. Batang yang sudah tua bentuknya bulat, hijau tua, polos atau berbintik. Daunnya majemuk, menyirip, beranak daun satu. Tangkai daun melebar menyerupai anak daun. Anak daun berbentuk bulat telur sampai lonjong, pangkal membulat atau tumpul, ujung tumpul sampai meruncing, tepi beringgit, panjang 8-15 cm, lebar 2-6 cm, kedua permukaan licin dengan bintik-bintik kecil berwarna jernih, permukaan atas warnanya hijau tua agak mengkilap, permukaan bawah hijau muda atau hijau kekuningan, buram, apabila diremas berbau harum. Bunga berbentuk bintang, berwarna putih kemerahan atau putih kekuningan. Buah berbentuk bulat telur, keras, kulitnya tebal dan berkerut, warna kulit hijau, berbenjol-benjol, rasanya sangat masam dan agak pahit. Buah matang berwarna sedikit kuning (Dalimartha, 2006).

3. Senyawa Aktif

Tanaman jeruk purut memiliki metabolit sekunder yang berupa senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif dapat diartikan sebagai metabolit sekunder yang memiliki efek farmakologis dan/atau toksikologis pada manusia dan hewan, tidak termasuk nutrisi yang berada pada tumbuhan (seperti vitamin dan mineral). Metabolit sekunder tidak digunakan tumbuhan sebagai bahan utama dalam proses pertumbuhan dan perkembangan, akan tetapi sebagai senyawa yang sifatnya melindungi tanaman. Oleh karena itu, produk metabolit sekunder memiliki kuantitas yang lebih sedikit dibandingkan dengan produk metabolit primer dan merupakan hasil sampingan dari biosintesis primer (Bernhoft, 2010)

Jeruk purut mengandung zat seperti naringenin dan hesperidin yang digolongkan sebagai flavonoida (Han *et al.*, 2012). Penelitian telah menunjukkan bahwa hasil ekstraksi senyawa aktif tertinggi terdapat pada kulit buah (Ampasavate *et al.*, 2010). Sifat antioksidan dan antiradikal bebas pada naringenin dan hesperidin telah diteliti dengan menggunakan hewan uji (Jayraman *et al.*, 2011).

B. Kanker

Kanker, dapat digambarkan sebagai proliferasi sel yang tidak terkontrol. Kanker atau karsinoma, dapat juga digambarkan sebagai pertumbuhan sel yang tidak teratur dan persebaran sel ke bagian lain dari tubuh. Setiap sel memiliki potensi mengalami perubahan yang mengarah pada karsinoma. Sel kanker tidak hanya terbatas pada lokasi tertentu atau infiltrasi

jaringan sekitarnya, akan tetapi juga menyebar ke bagian lain dari tubuh dengan menggunakan sistem limfatik dan aliran darah, hal ini disebut “metastasis”. Metastasis terjadi ketika mekanisme sel normal terganggu atau bahkan gagal (Gabriel, 2007).

Pada tingkat molekuler, kontrol pembelahan sel diatur oleh aksi penghambatan berbagai molekul, seperti PRB, p15, p16, p21, dan p53. Selain itu diregulasi mekanisme kontrol sel yang mengarah pada apoptosis (mekanisme kematian sel terprogram). Kematian sel juga dapat disebabkan oleh pemendekan bertahap pada telomer di ujung kromosom. Namun, pada sebagian besar sel tumor, panjang telomer berhasil dipertahankan karena adanya enzim telomerase yang tidak terdapat pada sel normal, sehingga tidak terjadi kematian sel (Kintzios & Barberaki, 2003).

Tidak hanya gen yang bisa memicu kanker namun juga faktor lingkungan. Faktor lingkungan yang dapat memicu terjadinya kanker diantaranya zat kimia (tembakau, limbah asbestos, dll), pola makan (obesitas, lemak jenuh, dll), radiasi, dan patogen (Epstein-Barr, HPV, dll). Namun agar efek lingkungan dapat memberikan efek yang signifikan maka, faktor tersebut harus terpapar dalam waktu yang lama. Namun pada kanker tertentu seperti kanker prostat dan kanker payudara faktor genetik lebih menjadi faktor penentu (Kintoz & Barberaki, 2003).

Secara umum kanker dibedakan menjadi tiga jenis berdasarkan sel asalnya, yaitu sarkoma, glioma, dan karsinoma. Sarkoma merupakan kanker yang berasal dari jaringan ikat, glioma adalah kanker yang berasal dari sel-sel

otak non neural, sedangkan karsinoma (bentuk paling umum kanker) berasal dari sel epitel (Kintioz & Barberaki, 2003).

C. Kanker Serviks

Menurut Alison (2002), kanker serviks adalah salah satu kanker yang paling umum dijumpai pada wanita. Kanker leher rahim (serviks) merupakan kanker mudah dideteksi karena aksesibilitasnya yang dapat dijangkau. Oleh karena itu, kanker jenis ini dapat dievaluasi, misalnya dengan metode *Pap Smear* atau *Pap Test*. Kanker serviks juga bisa dideteksi dengan melihat sel-sel serviks neoplasia intra epitel (CIN/ Cervical intraepithelia neoplasia). Faktor utama penyebab kanker serviks adalah infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV). Sebanyak 95% dari kanker leher rahim diakibatkan oleh infeksi HPV. Jenis virus yang paling umum adalah HPV-16. Selain HPV, kanker leher rahim juga bisa disebabkan oleh faktor lain yaitu hubungan seks pada usia yang masih muda.

Diketahui ada 30 jenis HPV yang dapat menyerang dan menginfeksi saluran kelamin wanita. Beberapa jenis HPV dikatan jinak(misalnya HPV-6 dan 11). Virus ini menyebabkan tumor kecil seperti kutil. Sementara virus lain, disebut dengan virus resiko tinggi, yaitu berhubungan dengan invasi kanker, misalnya 16, 18, 31, 33, 51, 52,58, dan 59 (Alison, 2002).

D. Cervical Cell Line

Cell lines adalah kultur sel kanker yang biasanya digunakan untuk keperluan penelitian *in vitro*, misalnya kemoterapi atau imunomodulator yang membutuhkan skrining dengan cepat (Alison, 2002). *Cervical cancer*

cell line merupakan kultur sel kanker serviks yang diperoleh dari manusia. Beberapa *cell line* yang digolongkan sebagai *human cervical cancer cell line* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. *Human Cervical Cancer Cell Line* (Scheffner *et al.*,1991)

<i>Cell Line</i>	Infeksi HPV DNA
HeLa	HPV-18
C-4II	HPV-18
SiHa	HPV-16
CaSki	HPV-16
ME-180	HPV-39
C-33A	Negatif
HT-3	Negatif

E. Pengobatan Kanker

Pengobatan kanker secara konvensional dilakukan dengan pembedahan, radiasi, dan kemoterapi. Pembedahan bertujuan pengangkatan atau eksisi tumor. Pembedahan adalah pengobatan pertama yang dilakukan untuk mengobati kanker. Kerugian dari pengobatan ini meliputi kerusakan pada jaringan sehat atau organ tertentu (Kintizios & Barberaki, 2003).

Pengobatan dengan radiasi atau disebut juga dengan radio terapi, menggunakan prinsip penyinaran yang menyebabkan kematian pada sel kanker (apoptosis sel kanker) namun mempertahankan struktur anatomi sekitar sel kanker tersebut, juga menghancurkan sel kanker yang non visibel. Pengobatan ini tidak dapat digunakan untuk membunuh sel kanker yang

menyebar (metastasis). Pengobatan menggunakan radiasi memiliki efek samping, contohnya adalah neuro toksisitas pada anak, tetapi pasien lebih cepat sembuh daripada tindakan operasi atau pembedahan (Kintzios & Barberaki, 2003).

Kemoterapi didasarkan pada pemberian sistemik obat anti kanker yang berjalan pada seluruh tubuh melalui peredaran darah. Kemoterapi bertujuan untuk mematikan seluruh koloni kanker pada tubuh pasien, termasuk sel kanker yang menyebar pada pembuluh darah. Namun sebagian jenis kanker yang paling umum saja tidak dapat disembuhkan hanya dengan kemoterapi. Jenis pengobatan ini juga memiliki banyak efek samping, seperti mual, anemia, *immune system failure*, diare, muntah, dan rambut rontok. Selain itu sel kanker dapat mengalami resistensi terhadap obat kemoterapi (Kintzios & Barberaki, 2003).

Kemoterapi adalah metode yang paling cepat berkembang pada bidang pengobatan kanker, termasuk juga obat kemoterapi dari metabolit tanaman tertentu dan regulator sistem endokrin. Obat-obat kemoterapi dapat digolongkan dalam sepuluh kelompok umum (Kintzios & Barberaki, 2003) :

1. Anti metabolit, bertindak sebagai analog non-fungsional metabolit penting dalam sel
2. Ikatan alkilasi agen kimia dengan DNA melalui gugus alkil, sehingga mengganggu struktur dan fungsi gen
3. Inhibitor topoisomerase yang menghambat replikasi DNA dalam pembelahan sel

4. Alkaloid tanaman dengan menghalangi depolimerisasi mikrotubulus
5. Antibiotik yang dapat melakukan blok terhadap replikasi DNA dan sintesis protein
6. Anthracyclin bagian antibiotik yang memiliki efek samping pada jantung dan sumsum tulang yang besar.
7. Enzim proteolitik dan fibrinolitik seperti inhibitor tyrosinase,
8. Hormon yang merupakan zat campuran dengan agen kemoterapi lain yang digunakan untuk mengatur regulasi sistem endokrin
9. Immunomodulator sebagai penghambat proliferasi tumor melalui stimulasi sistem imun
10. Berbagai zat lain yang tidak termasuk dalam 9 zat diatas.

F. Apoptosis pada sel HeLa

Salah satu tujuan pengobatan secara kemoterapi adalah induksi apoptosis pada sel kanker. Keseimbangan antara jumlah sel yang mati dan hidup sangat penting pada organisme multi seluler (Broker *et al.*, 2005). Namun proses kematian sel juga bisa membahayakan (Hanahan & Weinberg, 2011). Ketidakseimbangan pada tingkat kematian dan pertumbuhan sel dapat mengakibatkan malfungsi kesehatan, seperti gangguan embriogenesis, penyakit saraf degeneratif dan kanker. Oleh karena itu keseimbangan dari kematian dan pertumbuhan sel diatur secara ketat sehingga jika muncul gangguan dari luar akan dimusnahkan oleh kematian sel terprogram (Broker *et al.*, 2005).

Kanker tidak lepas dari homeostasis pembelahan sel dan apoptosis kematian sel. Kanker terjadi apabila sel terus membelah namun tidak ada mekanisme apoptosis yang mengimbangi disamping banyak sel yang memperbanyak diri. Oleh karena itu senyawa yang dapat menginduksi apoptosis pada sel kanker dikembangkan menjadi obat anti kanker (Li *et al.*, 2007).

Fenomena apoptosis pada sel HeLa dapat dilihat dengan adanya fragmentasi DNA dan kondensasi kromatin. Sel-sel yang teramati berwarna hijau dengan DNA yang telah terfragmentasi pada metode *double staining* dan terjadi kondensasi kromatin. Sel-sel tersebut masih berada pada tahap awal apoptosis. Pada tahap akhir apoptosis, sel-sel akan teramati sebagai badan-badan apoptosis yang berwarna oranye. Dengan demikian diperkirakan di dalam fraksi uji terdapat senyawa fenolik yang dapat menyebabkan terjadinya apoptosis (Meiyanto *et al.*, 2005).

Senyawa fenolik di alam terdapat dalam berbagai golongan, senyawa golongan flavonoida merupakan senyawa yang paling banyak diteliti aktivitas kemoprevensinya. Kemoprevensi adalah upaya penggunaan agen sintetis atau bahan alam, baik tunggal maupun campuran untuk mencegah, menghambat, dan mengembalikan fungsi normal dari proses perkembangan penyakit (Chang *et al.*, 2001).

Salah satu penelitian mengenai aktifitas kemoprevensi flavonoida adalah senyawa *targetin* yang memiliki efek antioksidan yang dapat

memecah radikal DPPH, hidroksil, anion super oksida, dan hidrogen peroksida (Yi *et al.*,2008).

Flavonoidanya diperkirakan memiliki efek antiproliferatif terhadap sel HeLa. Efek ini didasarkan pada penghambatan proses transduksi sinyal faktor pertumbuhan maupun faktor-faktor lain yang dapat menginduksi pertumbuhan sel (Middleton *et al.*,1993).

G. Hipotesis

Ekstrak etanolik kulit jeruk purut *Citrus hystrix*, bersifat sitotoksik terhadap sel HeLa, dan ekstrak etanolik jeruk purut mengandung flavonoida, alkaloid, saponin, terpenoid, dan tanin.