

METABOLIT SEKUNDER DARI TANAMAN

APLIKASI DAN PRODUKSI



PENULIS

Y. Ulung Anggraito

R. Susanti

Retno Sri Iswari

Ari Yuniastuti

Lisdiana

Nugrahaningsih WH

Noor Aini Habibah

Siti Harnina Bintari



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

METABOLIT SEKUNDER DARI TANAMAN: APLIKASI DAN PRODUKSI

Yustinus Ulung Anggraito

R. Susanti

Retno Sri Iswari

Ari Yuniastuti

Lisdiana

Nugrahaningsih WH

Noor Aini Habibah

Siti Harnina Bintari

Diterbitkan oleh:
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Semarang
2018



METABOLIT SEKUNDER DARI TANAMAN: APLIKASI DAN PRODUKSI

Penulis : Yustinus Ulung Anggraito
R. Susanti
Retno Sri Iswari
Ari Yuniastuti
Lisdiana
Nugrahaningsih WH
Noor Aini Habibah *et al*
Siti Harnina Bintari

Desain Sampul dan tata letak : Ahmad Faris

ISBN: 978-602-5728-05-1

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang.

Dilarang mengutip atau memperbanyak
sebagian atau seluruh isi buku ini
tanpa ijin tertulis dari penulis.

PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan ke Hadirat Allah SWT, atas segala nikmat, rahmat, dan inayah-Nya sehingga terwujud buku ilmiah dalam bentuk *Book Chapter*. Buku tersebut merupakan salah satu Program Fakultas MIPA dalam memfasilitasi para dosen untuk mengembangkan kemampuan dalam penyusunan buku. *Book Chapter* dengan judul *Metabolit Sekunder pada Tanaman*, merupakan hasil kolaborasi dari beberapa penulis dalam bidang Sains khususnya tentang aplikasi dan produksi zat bioaktif yang terkandung dalam sayuran dan buah-buahan. Pertama dan terutama, saya ucapkan selamat dan terima kasih kepada para penulis yang dengan tekad, semangat dan keseriusannya dalam berkontribusi mewujudkan *Book Chapter* yang membahas zat bioaktif yang terkandung dalam tanaman. Buku ilmiah tentang metabolit sekunder dari tanaman ini, praktis, mudah dipahami, sistematis dan berbasis hasil penelitian yang berwawasan konservasi. Pemahaman dalam menggunakan zat bioaktif terutama yang terkandung dalam buah dan sayur bagi masyarakat Indonesia masih sangat kurang. Salah satu penyebabnya masih kurangnya buku tentang zat bioaktif dalam bahasa Indonesia. Keberadaan buku ilmiah ini sangat berguna untuk dibaca oleh siapapun.

Sebagai pengajar, sudah seharusnya perlu transfer ilmu hasil penelitian terkait baik dalam bentuk pengabdian maupun dalam bentuk tulisan yang informatif, edukatif dan mudah dipahami. Semoga buku ini dapat dijadikan dasar studi yang lebih terperinci atau khusus dan digunakan untuk pengembangan di bidang pangan, kesehatan, dan bidang-bidang lain yang terkait.

Sebagai penutup, besar harapan saya, ilmu yang telah ditulis di dalam buku ini berguna untuk mencegah dan mengobati beberapa macam penyakit. Melalui buku ini saya berharap dapat mendorong anggota masyarakat untuk menyadari mudahnya melakukan gaya hidup sehat

alami dengan zat bioaktif yang mudah didapat. Semoga buku ini berguna dan lebih mendorong semangat kita mengembangkan ilmu pengetahuan untuk kemajuan FMIPA Unnes dan Indonesia yang kita cintai bersama.

Dekan FMIPA UNNES

Prof. Dr. Zaenuri M, S.E., M.Si.Akt.

PENGANTAR

Buku “Metabolit Sekunder Dari Tanaman” cukup menarik dan sangat bermanfaat, dapat menambah wawasan bagi para pembaca terkait metabolik sekunder tanaman yang ternyata mempunyai manfaat bagi tanaman itu sendiri dan juga dapat kita gunakan untuk mencegah dan mengobati penyakit. Potensial pengembangan metabolit sekunder sebagai bahan pencegahan dan pengobatan penyakit baik bagi tanaman maupun hewan termasuk manusia sangat tinggi karena jenis metabolit sekunder sangat beragam dengan variasi struktur yang besar sehingga proses biokimiawi yang dipengaruhi juga sangat luas. Selain itu, Indonesia merupakan negara yang memiliki jenis tanaman yang sangat banyak variasinya dan tanaman yang berbeda akan menghasilkan metabolit sekunder yang berbeda pula. Metabolit sekunder yang berbeda dapat mempunyai manfaat yang sama atau manfaat yang berbeda tergantung proses biokimiawi yang dipengaruhi. Hal ini semakin memberi peluang bagi kita untuk menggali manfaat lebih dalam dari metabolit sekunder tersebut.

Dalam buku ini dikemukakan bukti-bukti manfaat metabolit sekunder hasil beberapa penelitian. Beberapa senyawa yang mempunyai manfaat sebagai antioksidan seperti likopen dalam buah tomat, flavonoid rambutan, isoflavon kedelai, dan produksi antioksidan secara kultur juga diuraikan secara jelas dalam buku ini. Selain senyawa yang bersifat antioksidan tersebut juga dikemukakan senyawa antiinflamasi andrograponin serta glukomanan yang sangat bermanfaat dalam pengendalian kadar kolesterol dan glukosa dalam darah sehingga dikatakan sebagai antihiperkolesterolemia dan antidiabetik.

Segala sesuatu pasti ada kelebihan dan kekurangannya termasuk dalam pembuatan buku ini, akan tetapi kekurangan dalam buku ini menurut saya sifatnya hanya teknis saja sehingga saya yakin kekurangan tersebut tidak akan mengurangi makna atau esensi informasi terkait metabolit

sekunder yang akan disampaikan kepada para pembaca. Semoga para pembaca buku ini dapat memanfaatkan informasi dalam buku ini untuk kesehatan dan kesejahteraan masyarakat.

Yogyakarta, 3 April 2018

Dr.Sunarti, M.Kes
Ketua Departemen Biokimia
Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan (FKKMK),
Universitas Gadjah Mada,
Yogyakarta

DAFTAR ISI

	Halaman
PENGANTAR	iii
PENGANTAR	v
PRAKATA	vii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
BAB1 METABOLIT SEKUNDER PADA TUMBUHAN	
1.1. Definisi dan Fungsi Metabolit Sekunder	1
1.2. Macam-macam dan Struktur Metabolit Sekunder	2
1.3. Biosintesis Metabolit Sekunder	6
1.4. Pemanfaatan Metabolit Sekunder dalam Bioteknologi	20
1.5. Simpulan	22
Daftar Pustaka	23
BAB 2 SENYAWA ANTIOKSIDAN ALAMI PADA TANAMAN	
2.1. Pendahuluan	24
2.2. Radikal Bebas dan Stres Oksidatif	25
2.3. Pengujian Aktivitas Antioksidan	27
2.4. Aktivitas Antioksidan pada Berbagai Jenis Cabai dan Tanaman	29
2.5. Mekanisme Kerja Antioksidan	34
2.6. Simpulan	37
Daftar Pustaka	38
BAB 3 LIKOPEN SEBAGAI ANTI-ATHEROGENIK	
3.1. Pendahuluan	45
3.2. Senyawa Bioaktif Likopen.....	46
3.3. Bioavaibilitas Likopen	50
3.4. Likopen sebagai Anti-Atherogenik dan Penyakit Kardiovaskuler	58
3.5. Simpulan	63
Daftar Pustaka	64
BAB 4 POTENSI GLUKOMANAN LIDAH BUAYA SEBAGAI ANTIHIPERKOLESTEROLEMIA	
4.1. Pendahuluan	71
4.2. Senyawa Bioaktif Glukomanan	74

4.3. Bioavailabilitas Glukomanan	78
4.4. Glukomanan sebagai Antihiperkolesterolemi dan Antidiabetik	80
4.5. Simpulan	84
Daftar Pustaka	85
BAB 5 POTENSI FLAVONOID KULIT BUAH RAMBUTAN SEBAGAI ANTIOKSIDAN ALAMI	
5.1. Pendahuluan	89
5.2. Flavonoid pada Kulit Rambutan	92
5.3. Struktur Kimia Flavonoid	93
5.4. Bioavailabilitas Flavonoid	95
5.5. Flavonoid Kulit Rambutan sebagai Antioksidan	100
5.6. Simpulan	104
Daftar Pustaka	105
BAB 6 POTENSI ANDROGRAFOLID DARI SAMBILOTO (<i>Andrographis paniculata</i>) SEBAGAI ANTIKANKER	
6.1. Pendahuluan	109
6.2. Struktur dan Keamanan Andrografolid	111
6.3. Bioavailabilitas Andrografolid	112
6.4. Andrografolid sebagai Antikanker	119
6.5. Simpulan	122
Daftar Pustaka	123
BAB 7 PRODUKSI ANTIOKSIDAN MELALUI KULTUR KALUS <i>Stelechocarpus burahol</i>	
7.1. Pendahuluan	125
7.2. Induksi Kultur Kalus	126
7.3. Jenis Flavonoid pada Kultur Kalus <i>S. burahol</i> yang Berpotensi sebagai Antioksidan	133
7.4. Produksi Antioksidan	134
7.5. Simpulan	142
Daftar Pustaka	142
BAB 8 POTENSI ISOFLAVON PADA KEDELAI SEBAGAI ANTI KANKER	
8.1. Pendahuluan	147
8.2. Tempe sebagai Sumber Isoflavon	149
8.3. Bioavailabilitas Isoflavon	152
8.4. Isoflavon Tempe sebagai Anti Kanker	154
8.5. Simpulan	156
Daftar Pustaka	157

POTENSI ANDROGRAFOLID DARI
SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*)
SEBAGAI ANTIKANKER

BAB
6



Nugrahaningsih V/H

POTENSI ANDROGRAFOLID DARI SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) SEBAGAI ANTIKANKER

Penulis Nugrahaningsih WH

6.1. Pendahuluan

Kanker merupakan penyakit dengan prevalensi yang cukup tinggi di dunia. Tahun 2016 sebanyak 1.685.210 kasus baru ditemukan di Amerika Serikat. Jenis kanker yang sering ditemukan adalah kanker mamma, kanker paru dan bronkus, kanker prostat, kanker colon dan rectum, kanker kandung kemih, melanoma kulit, non-Hodgkin lymphoma, kanker thyroid, kanker ginjal dan pelvis renalis, leukemia, kanker endometrial, dan kanker pancreas. Dari kasus tersebut diperkirakan 595.690 akan meninggal. Angka kematian kanker pada laki-laki lebih tinggi dibanding wanita, yaitu 207,9 per 100.000 pada laki-laki dan 145,4 per 100.000 pada wanita. Resiko kematian akibat kanker pada Afrika Amerika lebih tinggi dibandingkan pada Asia. Kanker tidak hanya terjadi pada lanjut usia, tetapi dapat juga terjadi pada anak. (www.cancer.gov, diakses 27 Februari 2018)

Sambitoto (*Andrographis paniculata*) adalah tanaman perdu yang banyak tumbuh di Indonesia. Memiliki rasa yang sangat pahit sehingga dijuluki *King of bitter*. Sambiloto merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang digunakan secara luas di negara-negara Asia. Secara tradisional sambiloto telah banyak digunakan sebagai obat termasuk untuk infeksi HIV dan antikanker. Beberapa penelitian menunjukkan sambiloto dapat berfungsi sebagai antipiretik, analgesik, imunostimulan, antihepatotoksik, anti mikrobia, anti-HIV, dan anti

kanker. Andrografolid dan 14-deoxy-11, 12-dehydroandrografolid adalah zat aktif dalam sambiloto yang berefek sebagai antiviral, antipiretik, imunostimulan dan antikanker (Suebasana, 2009; Chao, 2010). Neoandrografolid bersifat anti-inflamasi, anti-infeksi dan anti-hepatotoksik. 14-deoksiandrografolid dapat meningkatkan sistem imun dan bersifat anti-aterosklerotik. Kandungan andrograponin dalam sambiloto dapat berefek antiinflamasi dan anti infeksi. Isoandrographolide 3,19-isopropylideneandrographolide DAN 14-acetylan-drographolide merupakan kandungan lain dari sambiloto yang merupakan *tumor suppressor*. Sambiloto juga mengandung empat flavonoid yaitu 7-O-methylwogonin, apigenin, onysilin dan 3,4-dicaffeoylquinic acid yang berfungsi sebagai anti aterosklerotik.

Sambiloto dapat diekstrak dengan berbagai ekstraktor. Ekstrak methanol menarik zat aktif paling banyak. Ekstrak methanol mengandung alkaloid, asam amino, flavonoid, glikosida, saponin, tanin, steroid dan teroenoid. Ekstrak air mengandung alkaloid, asam amino, flavonoid, glikosida, saponin dan tanin. Steroid dan terpenoid tidak didapatkan pada ekstrak air. Ekstrak dengan dichloromethane hanya dapat menarik alkaloid, flavonoid, steroid dan terpenoid (Pandey, 2011).

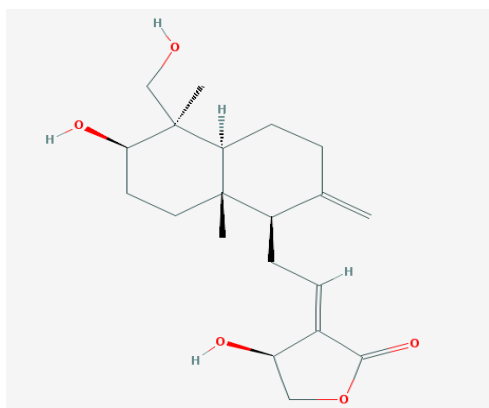
Komponen aktif sambiloto dapat diekstrak dari daun, batang atau keseluruhan bagian tanaman. Lebih dari 20 diterpenoid dan 10 flavonoid telah diekstrak dari tanaman sambiloto. Andrografolid ($C_{20}H_{30}O_5$) merupakan diterpenoid terbanyak yang ditemukan yaitu 4% dari tanaman kering, 0,8-1,2% dari batang, dan 0,5-6% dari daun. Selain andrografolid, diterpenoid lain adalah deoksiandrografolid,

neoandrografolid, 14-deoxy-11,12-didehydroandrographide, dan isoandrografolid (Chao, 2010). Isolasi dengan fraksi terlarut etil asetat dari ekstrak etanol atau metanol didapatkan beberapa flavonoid yaitu 5-hydroxy - 7, 8 - dimethoxyflavone, 5 - hydroxy - 7, 8, 2', 5' - tetramethoxyflavone, 5 - hydroxy - 7,8,2',3'- tetramethoxyflavone, 5-hydroxy - 7,8,2' - trimethoxyflavone, 7-O-methylogonin dan 2' - methyl ether (Chao, 2010).

6.2. Struktur dan Keamanan Andrografolid

6.2.1. Struktur Andrografolid

Andrografolid merupakan metabolit sekunder utama dari tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata*). Andrografolid adalah labdane diterpenoid dengan rumus molekul $C_{20}H_{30}O_5$ mempunyai berat molekul 350.455 g/mol. Nama sesuai nomenklatur IUPAC adalah 3-[2 - [Decahydro - 6 - hydroxyl - 5 - (hydroxymethyl) - 5,8a -dimethyl - 2 - methylene - 1 - naphthaleny] ethylidene]dihydro-4-hydroxy-2(3H)-furanone. Struktur andrografolid secara 2D tampak pada Gambar 6.1.



Gambar 6.1. Struktur andrografolid

6.2.2. Keamanan Andrografolid

Daun sambiloto memiliki rasa yang sangat pahit sehingga sering disebut sebagai *king of bitter*. Masyarakat Indonesia biasa mengkonsumsinya sebagai seduhan dari daun kering. Pemakaian sambiloto pada masyarakat tergolong aman. Penelitian menggunakan tikus yang diberikan sambiloto selama 60 hari, tidak didapatkan adanya toksisitas pada organ testis, baik pada berat testis, struktur histologis, struktur sel Leydig maupun pada kadar testosteronnya. Toksisitas akut sambiloto diteliti pada berbagai sediaan menunjukkan dosis aman yang cukup tinggi. LD50 infusa sambiloto pada mencit dengan pemberian secara oral adalah 71,08 mg/10 gBB atau 177,6 mg/ekor (diasumsikan berat rata-rata mencit 25 g). Penelitian toksisitas ekstrak etanol melalui pemberian intraperitoneal pada mencit menunjukkan hasil LD50 sebesar 11.46 g/kgBB atau 286,5 mg/ekor (Akbar, 2011). Pemberian ekstrak aquades secara oral pada dosis 25 mg/ekor per hari selama 14 hari tidak menyebabkan perubahan struktur mikroanatomi pada ginjal dan hepar mencit (Nugrahaningsih, 2009).

6.3. Bioavailabilitas Andrografolid

Andrografolid yang terkandung dalam sambiloto sebagian besar terikat pada protein plasma dan sebagian masuk ke dalam sel. Kadar maksimum dalam plasma dicapai dalam waktu yang relatif cepat yaitu 1,5 – 2 jam pada pemberian oral, sedangkan waktu paruh berkisar antara 6,6 – 10 jam (Panossian, 2000). Andrografolid yang dikonsumsi secara oral diakumulasi dalam organ visera termasuk jaringan otak, ginjal, jantung dan paru. Andrografolid diabsorpsi dan diekskresi dari tubuh

secara cepat kurang lebih 80% dalam 8 jam dan 90% dalam 48 jam (Jarukamjorn & Nemoto, 2008).

6.4. Andrografolid sebagai antikanker

Sel kanker merupakan sel yang telah mengalami perubahan perantai sehingga terjadi proliferasi yang tidak terkontrol serta apoptosis yang menurun. Sel kanker memproduksi berbagai mediator kimia yang bertanggungjawab terhadap terjadinya invasi ke jaringan lain, timbulnya rasa sakit. Andrografolid yang terkandung dalam tumbuhan sambiloto memiliki potensi sebagai antikanker. Penelitian dengan menggunakan ekstrak sambiloto dan andrografolid yang dilakukan secara *in vitro* maupun *in vivo* telah memberikan hasil yang menunjukkan perannya terhadap sel kanker (Tabel 6.1). Berbagai jenis sel kanker dapat dihambat pertumbuhannya melalai jalur proliferasi sel, apoptosis, angiogenesis dan imunitas terhadap kanker.

Tabel 6.1. Penelitian andrografolid dan ekstrak sambiloto terhadap sel kanker

No	Obyek penelitian	Metode penelitian	Sediaan sambiloto	Hasil penelitian	Referensi
1	sel adenokarsin oma mamma	In vitro	Ekstrak air	Meningkatkan apoptosis sel mulai 1 mg/ml	Nugrahaningsih dkk <i>Media Medika Indonesiana</i> vol.38 (3) , th 2003
2	Sel HeLa	In vitro	Ekstrak metanol	Induksi apoptosis sel HeLa	Sukardiman dkk <i>Media Kedokteran Hewan</i> vol.21 no.3 th 2005
3	Sel TD-47	In vitro	Ekstrak metanol	Peningkatan ekspresi p53,bax,	Sukardiman dkk. <i>African Journal</i>

No	Obyek penelitian	Metode penelitian	Sediaan sambilan	Hasil penelitian	Referensi
				caspase 3 dan penurunan ekspresi bcl-2	<i>Traditional</i> , Vol 4 No.3 th 2007
4	Sel line HUVECs, SGC 7901, GES-1, MGC 803, BGC-823	In vitro	Andrografolid	Menekan NF- κ B, menekan adhesi GES-1	Jiang CG, dkk <i>Anticancer Research</i> Vol 27 th 2007
5	Sel line B16-F-10 Mencit C57BL diinjeksi B16-F-10 intradermal	In vitro in vivo intraperitoneal	APE ANDLE	Menghambat angiogenesis tumor spesifik dengan down-regulasi proangiogenesis dan up-regulasi antiangiogenesis	Sheeja K, dkk <i>International Immunopharmacology</i> vol.7 th 2007
6	Sel HepG2 dan Hep3B, HeLa, HCT116	In vitro	DAPI (andro, 4-6-diamino-2-phenylindole)	Aktivasi p53 melalui ROS-dependent JNK menyebabkan up-regulasi DR4 dan sensitisasi TRAIL untuk induksi apoptosis	Zhou J, dkk <i>Molecular Cancer Therapy</i> vol.7 no.7 th 2008
7	Thymoma EL4	In vitro dan in vivo	Andrografolid dan ekstrak	Meningkatkan produksi CTL, IL-2 dan IFN γ	Sheeja dan Kuttan, <i>Journal Immunopharmacology and Immunotoxicity</i> 29(1): 81-93, 2008
8	Sel line PC-3, MDA-MB-435s, MDA-MB-231, SMMC 7721, K562, A549, SGC 7901	In vitro	Kristal andrografolid	Menghambat pertumbuhan PC-3: aktivasi caspase-3, up-regulasi bax, down-regulasi bcl-2 dan menghambat VEGF	Manikam ST dan Stanslas J. <i>Journal of Pharmacy and Pharmacology</i> vol.91.th 2009
9	Adenokarsinoma mammae pada mencit C3H	In vivo	Ekstrak air sambilan	Menghambat pertumbuhan transplant kanker, tidak ada kerusakan struktur ginjal	Nugrahaningsih, dkk. <i>Biosaintifika</i> 1(2), 2009
10	Sel PC-3, DU-145, LNCap	In vitro	Andrografolide	Meningkatkan Bax, Bid, caspase 8, menginduksi cell cycle arrest pada fase	Wong HC et al. <i>African Journal of Pharmacy and Pharmacology</i> 5(2), 2011

No	Obyek penelitian	Metode penelitian	Sediaan sambiloto	Hasil penelitian	Referensi
				G2/M (pada sel line PC-3)	
11	Adenokarsi noma mammae pada mencit C3H	In vivo	Ekstrak air sambiloto	Menginduksi Apoptosis adenokarsinoma mamma	Nugrahaningsih dkk, <i>Universa Medicina</i> 32(2): 99-107, 2013
12	Adenokarsi noma mammae pada mencit C3H	In vivo	Ekstrak air sambiloto	Menurunkan ekspresi VEGF adenokarsinoma mamma	Nugrahaningsih dkk, <i>Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia</i> 13(1):29-34, 2015

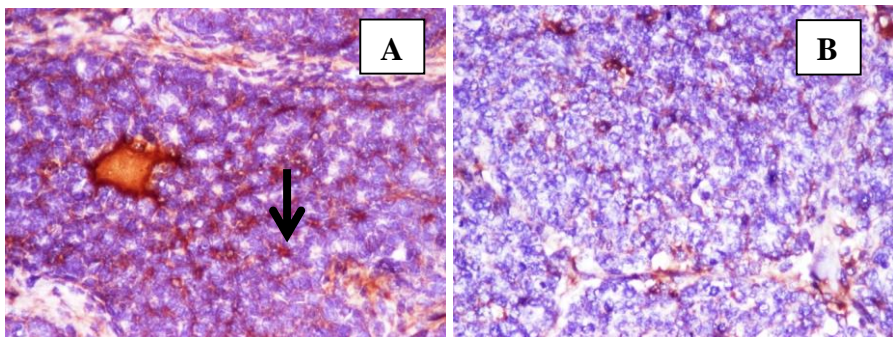
6.4.1. Penghambatan Proliferasi Sel Kanker

Sel-sel yang sedang dalam fase proliferasi mengekspresikan beberapa protein spesifik yang dapat dideteksi dengan antibodi monoklonal tertentu. Ki-67 merupakan suatu antigen inti sel yang sedang dalam fase G1, S, G2 dan M dari siklus sel, sehingga dapat digunakan sebagai penanda proliferasi sel.

Andrografolid yang diekstrak dari tumbuhan sambiloto menunjukkan pengaruhnya terhadap penghambatan proliferasi sel (Manikam, 2008; Zhao *et al.*, 2008; Wong *et al.*, 2011). Penelitian *in vitro* yang dilakukan dengan memberikan andrografolid konsentrasi 1 μM , 3 μM , 10 μM dan 30 μM pada sel line PC-3 kanker prostat menunjukkan adanya induksi *cell cycle arrest* pada fase G2/M. Sel yang diberi andrografolid menunjukkan down-regulasi dari ekspresi CDK1, tetapi tidak ada penurunan ekspresi CDK4 dan cyclin D1. (Wong *et al.*, 2011)

Pemberian ekstrak sambiloto dapat menurunkan indeks proliferasi sel adenokarsinoma mamma. Ekspresi Ki-67 sebagai

indikator sel yang aktif membelah menurun secara signifikan pada jaringan kanker mammae mencit yang mendapatkan ekstrak sambiloto secara oral selama 14 hari. Indeks proliferasi menjadi lebih rendah pada pemberian ekstrak dengan dosis yang lebih tinggi. Fraksi pertumbuhan Ki-67 berhubungan dengan grade pada sebagian besar tumor. Tumor yang tidak memiliki reseptor estrogen dan progesteron memiliki kecenderungan fraksi Ki-67 positif yang tinggi.



Gambar 6.2. Ekspresi Ki67 nampak sebagai sel dengan sitoplasma berwarna coklat (tanda panah) pada jaringan kanker adenokarsinoma mamma. Tampak perbedaan antara yang tidak diberi ekstrak sambiloto (A) dan yang diberi ekstrak sambiloto (B)

6.4.2. Penghambatan Angiogenesis

Pertumbuhan jaringan neoplastik yang cepat serta invasinya memerlukan nutrisi yang lebih banyak dibandingkan jaringan normal. Nutrisi tersebut diperoleh melalui pembentukan jaringan vaskuler baru dari pembuluh darah yang telah ada yang disebut angiogenesis. Angiogenesis terjadi karena kondisi kekurangan oksigen atau hipoksia akibat melonjaknya kebutuhan oksigen oleh jaringan neoplastik. Hipoksia memicu pelepasan faktor pro-angiogenesis yang akan

merangsang pembentukan pembuluh darah baru. Angiogenesis dipengaruhi oleh faktor-faktor proangiogenesis dan antiangiogenesis. Beberapa proangiogenesis yang sudah dikenal antara lain *fibroblast growth factor*, *Vascular endothelial growth factor* (VEGF), *platelet-derived growth factor* (PDGF), *platelet-derived endothelial cell growth factor*, *angiopoetin-1*, *angiopoetin-2*, *transforming growth factor beta-1* (TGF- β 1), *transforming growth factor alpha* (TGF- α) dan *epidermal growth factor* (EGF).

Faktor proangiogenik yang paling banyak diketahui dan berperan dalam pertumbuhan kanker adalah *vascular endothelial growth factor* (VEGF). VEGF disekresi sebagai glikoprotein dimer, dimana semuanya mengandung residu delapan sistein yang khas yang disebut motif “cysteine knot”. VEGF merupakan protein angiogenik yang bekerja langsung dan paling potensial. Merupakan suatu mitogen spesifik sel endotel yang mampu berdifusi dan juga mampu meningkatkan permeabilitas vaskuler. Penghambatan VEGF dan reseptornya menunjukkan pengaruhnya pada angiogenesis beberapa tumor padat termasuk kanker mamma, kanker kolon, kanker kandung kemih, kanker lambung, dan kanker prostat. Beberapa strategi dikembangkan dengan target jalur VEGF sebagai bagian dari terapi antikanker.

VEGF diproduksi terutama oleh sel-sel tumor dan jaringan penyokong yang berhubungan dengan tumor juga dapat memproduksi. Sinyal kemotaktik yang berasal dari sel tumor dapat mempengaruhi sel-sel penyokong untuk menghasilkan VEGF dan faktor angiogenik lain. Sinyal dari sel kanker yang dilepaskan ke dalam ruang jaringan

penyokong akan mendukung pertumbuhan kanker dan sifat invasifnya. Kontribusi sel-sel penyokong dalam memproduksi VEGF dan faktor angiogenik lain memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan tumor secara *in vivo*. Sinyal yang berasal dari jaringan penyokong mempunyai peran yang sangat penting dalam terapi dengan target pada penghambatan angiogenesis. Sel myeloid merupakan salah satu bagian dari jaringan penyokong yang mempunyai peran penting dalam mekanisme pembiasan terapi anti angiogenesis.

Penelitian Zhao dkk, dilakukan secara *in vitro* untuk melihat pengaruh andrografolid yang diisolasi dari tanaman *Andrographis paniculata* terhadap kadar VEGF serum pada kultur sel line kanker prostat (PC-3). Andrografolid diberikan dengan konsentrasi 0; 1,25; 2,5, 5, 10 dan 20 $\mu\text{mol/L}$. Pemeriksaan kadar VEGF pada supernatan dilakukan setelah inkubasi selama 48 jam. Andrografolid yang diberikan pada kultur sel PC-3 dapat menurunkan pelepasan VEGF oleh sel kanker tersebut. Efek penghambatan mulai terlihat pada konsentrasi 1,25 $\mu\text{mol/l}$ dan semakin kuat dengan bertambahnya konsentrasi andrografolid.

Penelitian secara *in vivo* pada mencit C3H yang diberi ekstrak sambiloto per oral dilakukan untuk melihat pengaruhnya terhadap angiogenesis jaringan adenokarsinoma mamma. Pemberian ekstrak selama 14 hari menunjukkan berkurangnya angiogenesis. Dengan pengecatan imunohistokimia didapatkan ekspresi VEGF yang lebih rendah pada jaringan adenokarsinoma mamma yang mendapat ekstrak sambiloto dibandingkan dengan yang tidak mendapat ekstrak sambiloto (Nugrahaningsih *et al.*, 2015). Penurunan kadar VEGF dimungkinkan

karena terhambatnya pertumbuhan sel kanker sehingga kebutuhan oksigen dan nutrisi juga berkurang.

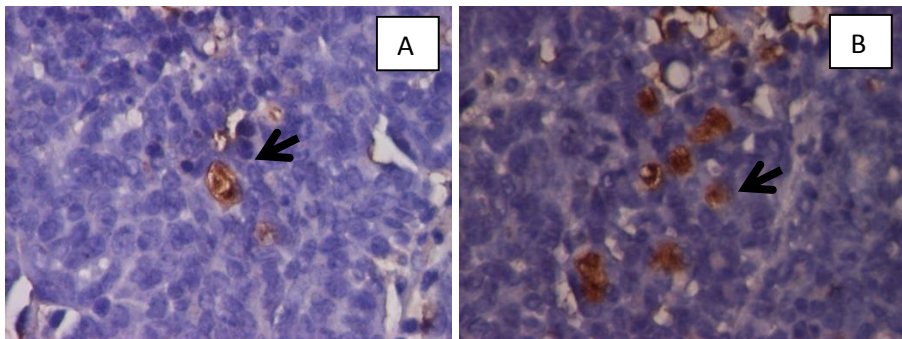
Penelitian lain dilakukan secara *in vivo* oleh Sheeja et.al. Penelitian dilakukan untuk mengeksplorasi efek anti angiogenesis dari ekstrak *Andrographis paniculata* dan andrografolid terhadap angiogenesis mencit C57BL/6. Dalam penelitian tersebut digunakan ekstrak etanol *Andrographis paniculata* dan andrografolid yang disuntikkan secara intraperitoneal pada mencit C57BL/6 yang telah diinduksi dengan sel line tumor melanoma B16F-10 secara intradermal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *Andrographis paniculata* dan andrografolid secara intraperitoneal selama 4 hari dapat menurunkan kadar VEGF serum.

6.4.3. Peningkatan Apoptosis

Apoptosis atau kematian sel terprogram adalah proses yang mempunyai peran penting pada regulasi jaringan dan organ. Kegagalan fungsi apoptosis menyebabkan sel menjadi immortal. Apoptosis adalah proses kompleks yang melibatkan sejumlah komponen. Apoptosis dikendalikan oleh banyak protein. Protein – protein tersebut dapat bersifat pro apoptosis seperti *Bax*, maupun anti apoptosis seperti *Bcl-2* dan *Bcl-xl*. Selain itu masih ada serangkaian kelompok protein caspase dimana caspase yang satu akan mengaktifkan caspase yang lain membentuk cascade caspase. Reseptor permukaan seperti *Fas* dan reseptor *TNF* serta sitokrom-C juga berperan dalam proses apoptosis.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk melihat pengaruh andrografolid terhadap apoptosis sel kanker antara lain human sel

kanker servik HeLa (Sukardiman, 2005; Zhou *et al.*, 2008), human sel kanker mamma T47-D (Sukardiman, 2007), human sel kanker gaster SGC-7901(Jiang *et al.*, 2007), sel leukemia promielositik akut: HL-60, NB4, NB4-R2 (Manikam, 2008), human sel kanker hati HepG2, Hep38 (Zhou *et al.*, 2008), human sel kanker kolorektal (Zhou *et al.*, 2008), human sel kanker prostat PC-3 (Zhao *et al.*, 2008; Wong *et al.*, 2011). Andrografolid terbukti dapat meningkatkan apoptosis pada sel-sel kanker tersebut. Andrografolid pada ekstrak sambiloto juga meningkatkan apoptosis sel adenokarsinoma mammae baik secara in vitro (Nugrahaningsih *et al.*, 2003) maupun in vivo (Nugrahaningsih *et al.*, 2013).



Gambar 6.3. Dengan metode TUNEL sel adenokarsinoma mamma yang mengalami apoptosis tampak berwarna coklat (tanda panah). . Tampak perbedaan jumlah sel yang apoptosis antara yang tidak diberi ekstrak sambiloto (A) dan yang diberi ekstrak sambiloto (B)

Andrografolid berpengaruh terhadap apoptosis dengan mekanisme regulasi terhadap p53 (Zhou *et al.*, 2008; Sukardiman, 2007) sehingga menyebabkan sel menuju apoptosis. Andrografolid juga

menginduksi apoptosis melalui aktivasi caspase 8 pada jalur *extrinsic death receptor* dan sesudah itu akan mengaktifkan caspase 9 (Wong *et al.*, 2011) dan caspase 3 (Sukardiman, 2007; Zhao, 2008) sebagai eksekutor. Caspase 8 juga dapat mengaktifkan Bax dan menurunkan ekspresi bcl-2 (Sukardiman *et al.*, 2007; Zhao, 2008; Wong, 2011).

TRAIL (*TNF related apoptosis-inducing ligand*) merupakan salah satu jenis TNF penting yang berpotensi besar dalam terapi kanker. Diterpenoid dari sambiloto meningkatkan TRAIL-induced apoptosis berbagai sel line tumor. Ekstrak sambiloto mensensitisasi sel kanker terhadap TRAIL-induced apoptosis. Sambiloto meningkatkan TRAIL-induced apoptosis terutama melalui promosi aktivasi caspase 8. Sebagai hasil dari peningkatan aktivasi caspase tersebut, sambiloto mempromosi FLIP-L cleavage dan *down regulation* IAP (*inhibitor of apoptosis*) (Zhou, 2008) Sambiloto mensensitisasi TRAIL-induced apoptosis dengan *up-regulation* DR4 melalui *p53-dependent transcriptional regulation*. Sambiloto menstabilkan p53 melalui aktivasi ROS-dependent JNK (*cJun N-terminal kinase*). Sambiloto juga mengaktifkan fungsi p53 melalui aktivasi ROS-dependent JNK, menyebabkan *up-regulation* DR4 dan sensitisasi TRAIL-induced apoptosis (Zhou, 2008).

6.4.4. imunosurveilens terhadap kanker

Imunosurveilens adalah mekanisme penjagaan atau pengawasan terhadap sel-sel yang berubah perilaku atau proses tumorogenesis. Sistem immune *innate* dan *adaptive* memegang peran penting dalam inisiasi tumbuhnya sel kanker dan progresifitas keganasan sel kanker.

Imunosurveilens terhadap sel kanker diperankan terutama oleh sel B, sel T, natural killer (NK), natural killer T (NKT), interferon (IFN) dan perforin (Kim *et al.*, 2007). Sel *innate* seperti NK, sel NKT, sel $\gamma\delta$ T, eosinofil dan neutrofil merupakan proteksi terhadap tumor yang diperantarai oleh sistem imun, Ketiadaan imun adaptive dapat menyebabkan berkembangnya sel-sel kanker. Interferon γ (IFN γ), CD4 dan CD8 sel T memberikan respon yang kuat terhadap sel-sel kanker.

Andrografolid dan ekstrak sambiloto dapat meningkatkan produksi *cytotoxic T lymphocyte* (CTL) mencit BALB/c yang diinduksi dengan sel thymoma EL4. Peningkatan produksi CTL dipicu oleh meningkatnya produksi interleukin 2(IL-2) dan interferon γ (IFN- γ) (Sheeja dan Kuttan, 2008). Pemberian ekstrak juga memperpanjang umur sel EL4 dari 27,1 hari menjadi 51,1 hari (ekstrak) dan 44,5 hari (andrografolid).

6.5. Simpulan

Angka kesakitan dan kematian kanker yang tinggi merupakan masalah kesehatan yang memerlukan upaya pencegahan dan penanganan yang serius. Berbagai penelitian dikembangkan untuk mencari obat anti kanker. Tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) dikenal masyarakat Indonesia sebagai tanaman obat yang memiliki banyak manfaat. Andrografolid yang merupakan metabolit sekunder utama dari tumbuhan sambiloto mempunyai potensi sebagai antikanker. Hasil penelitian yang sudah dilakukan menunjukkan potensi yang dimiliki oleh andrografolid dalam menghambat pertumbuhan sel kanker Potensi andrografolid sebagai antikanker dapat

melalui beberapa mekanisme yaitu: 1) Penghambatan proliferasi, 2) Penghambatan angiogenesis, 3) Induksi atau peningkatan apoptosis, 4) Aktivasi sistem imun terhadap sel kanker.

Daftar Pustaka

- Akbar S. 2011. *Andrographis paniculata*: a review of pharmacological activities and clinical effect. *Alternative Medicine Review* 16(1): 66-77.
- Burgos RA, Caballero EE, Sfinchez NS, Schroeder RA, Wilkman GK, & Hancke JL. 1997. Testicular toxicity assessment of *Andrographis paniculata* dried extract in rats. *Journal Ethnopharmacol* 58: 219-224.
- Chao WW & Lin BF. 2010. Isolation and identification of bioactive compound in *Andrographis paniculata* (Chuanxinlian). *Chinese Medicine* 5: 17.
- Jarukamjorn K & Nemoto N. 2008. Pharmacological aspect of *andrographis paniculata* on health and its major diterpenoid constituent andrographolide. *Journal of Health Science* 54(4): 370-381.
- Jiang CG, Li JB, Liu FR, Wu T, Yu M & Xu HM. 2007. Andrographolide inhibits the adhesion of gastric cancer cells to endothelial cell by blocking E-selectin expression. *Anticancer Research* 27: 2439-2448.
- Kim R, Emi M & Tanabe K. 2007. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. *Immunology* 121: 1-14.
- Manikam ST & Stanslas J. 2009. Andrographolide inhibits growth of acute promyelocytic leukemia cells by inducing retinoic acid receptor-independent cell differentiation and apoptosis. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 61: 69-78.
- Nugrahaningsih, Tjahjono & Dharmana E. 2003. Apoptosis sel adenokarsinoma mamma mencit C3H setelah pemberian ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata*) (penelitian in vitro). *Media Medika Indonesiana* 38(3): 121-124.
- Nugrahaningsih, Utami NR & Sugiarti E. 2009. Pengaruh ekstrak sambiloto terhadap pertumbuhan kanker mamma dan mikroanatomi ginjal mencit C3H. *Biosaintifika* 1(2).

- Nugrahaningsih, Sarjadi, Dharmana E & Subagio HW. 2013. *Andrographis paniculata* extract induced apoptosis of adenocarcinoma mammae in C3H mice. *Universa Medicina* 32(2): 99-107.
- Nugrahaningsih, Sarjadi, Dharmana E & Subagio HW. 2015. VEGF Expression of adenocarcinoma mammae after oral administration of *Andrographis paniculata* extract. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesi* 13(1): 29-34.
- Sheeja K, Guruvayoorappan C & Kuttan G. 2007. Antiangiogenic activity of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. *International Immunopharmacology* 7: 211-21.
- Sheeja K dan Kuttan G. 2008. Activation of cytotoxic t lymphocyte responses and attenuation of tumor growth in vivo by *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. *Journal Immunopharmacology and Immunotoxicology* 29(1).
- Suebsana S, Pongnaratorn P, Sattayasai J, Arkaravichien T, Tiamkao S & Aromdee C. 2009. Analgesic, antipyretic, anti-inflammatory, and toxic effect of andrographolide derivatives in experimental animal. *Archives of Pharmacal Research* 32(9): 1191-1200.
- Sukardiman, Rahman A, Ekasari W & Sismindari. 2005. Induksi apoptosis senyawa andrographolida dari sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) terhadap kultur sel kanker. *Media Kedokteran Hewan* 21(3): 105-110.
- Sukardiman, Harjotaruno, Widyawariyanti A, Sismindari & Zaini NC. 2007. Apoptosis inducing effect of andrographolide on TD-47 Human breast cancer cell line. *African Journal Traditional, CAM* 4 (3): 345-351.
- Wong HC, Sagineedu SR, Lajis NH, Loke SC & Stanslas J. 2011. Andrographolide induces cell cycle arrest and apoptosis in PC-3 prostate cancer cell. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 5(2): 225-233.
- Zhao F, He EQ, Wang L & Liu K. 2008. Anti-tumor activities of andrographolide, a diterpene from *Andrographis paniculata*, by inducing apoptosis and inhibiting VEGF level. *Journal of Asian Natural Products Research* 10(5): 473-479.
- Zhou J, Lu GD, Ong CS, Ong CN & Shen HM. 2008. Andrographolide sensitizes cancer cells to TRAIL-induced apoptosis via p53-mediated death receptor 4 up-regulation. *Molecular cancer Therapy* 7(7): 2170-2180.