

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme* (L.) BI)

1. Sistematika tanaman keladi tikus

Sistematika tanaman keladi tikus yaitu (Cerc 2018) :



Gambar 1. Tanaman Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme* (L.) BI)

Kingdom : Plantae
Division : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledonae
Ordo/Bangsa : Arales
Suku/Familia : Araceae
Genus/Marga : *Typhonium*
Spesies/Jenis : *Typhonium flagelliforme* (L.) BI

2. Deskripsi

Tanaman berbatang basah, banyak tumbuh di tempat terbuka pada ketinggian 1.000 meter di atas permukaan laut. Daun tunggalnya muncul dari umbi. Bentuk daunnya bulat dengan ujung meruncing berbentuk jantung. Warnanya hijau segar.

Umbi berbentuk bulat rata sebesar buah pala. Bagian dalam maupun luar umbi berwarna putih. Pada musim kemarau, batangnya menghilang. Pada musim

hujan, tumbuhan ini muncul lagi di atas permukaan tanah dari umbi yang terpendam di dalam tanah (Tandi 2015).

3. Khasiat tanaman

Tanaman keladi tikus (*Typhonium flagelliforme* (L.)) merupakan salah satu tanaman obat Indonesia yang berasal dari suku Araceae. Tanaman ini berkhasiat membunuh atau menghambat pertumbuhan sel kanker, menekan efek negatif dari pengobatan modern yaitu proses kemoterapi pada penderita kanker seperti rambut rontok, hilang nafsu makan, rasa mual dan nyeri pada tubuh. Selain itu juga bersifat antivirus dan antibakteri. Digunakan untuk mengobati penyakit seperti koreng, borok, frambusia, dan menetralkan racun narkoba (Ermin *et al.* 2012).

Penelitian yang dilakukan di Malaysia menunjukkan bahwa keladi tikus mampu mengurangi rasa sakit ataupun terjadinya metastase atau penyebaran sel kanker, meliputi: kanker payudara, kanker nasofaring, kanker pankreas, kanker hati, kanker leher rahim, kanker paru-paru dan kanker prostat (Muhammad *et al.* 2007).

4. Kandungan tanaman

Tanaman keladi tikus mengandung terpenoid, fenolik, flavonoid, saponin, steroid atau triterpenoid, stigmasterol dan kumarin (Ermin *et al.*, 2012).

Pada fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan, terdapat empat senyawa *pheophorbide* (*pheophorbide-a*, *pheophorbide-a'*, *pyropheophorbide-a* dan *metyl pyropheophorbide-a*) yang memiliki aktivitas antiproliferasi terhadap sel kanker NCI-H23 dan HS578T. Ditemukan juga senyawa asam heksadonat, asam oleat, asam linoleat, asam linolenat, kampesterol, stigmasterol dan β -sitosterol dalam keladi tikus (Lai 2008).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami proses pengolahan apapun juga kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes 1979).

Simplisia terdiri dari tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman dan eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang dihasilkan hewan yang masih belum berupa zat kimia murni. Simplisia mineral adalah seimplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang berasal dari bumi, baik telah diolah atau belum diolah dan tidak berupa zat kimia murni (Depkes 1979).

2. Pengumpulan simplisia

Bagian yang diambil dari tanaman, misalnya daun, bunga, buah, akar, atau rimpang. Hal ini karena zat berkhasiat tidak terdapat pada seluruh bagian tanaman. Kadangkala ada bagian dari tanaman yang tidak dikehendaki. Pengumpulan simplisia juga perlu memperhatikan kondisi khusus, misalnya pemanenan daun yang dilakukan sewaktu daun masih muda atau ketika masih tunas, usia tanaman, bagian tanaman pada waktu panen, serta lingkungan tempat tumbuh tanaman (Noehendy *et al.* 2002).

3. Pencucian simplisia

Pencucian simplisia dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya yang melekat pada tanaman obat sehingga mikroba atau kotoran yang dapat merusak dan mengubah komposisi zat pada tanaman dapat dihilangkan. Proses pencucian sebaiknya dilakukan dengan air bersih yang mengalir agar kotoran dapat terbuang. Kualitas air yang digunakan untuk membersihkan simplisia harus air bersih yang tidak mengandung mikroba atau logam (Noehendy *et al.* 2002).

4. Perajangan simplisia

Perajangan dilakukan untuk memperkecil ukuran seimplisia sehingga mempermudah dalam proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Perajangan dapat dilakukan menggunakan pisau, dengan alat mesin perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki. Semakin tipis bahan yang dikeringkan, semakin cepat penguapan air sehingga mempercepat waktu pengeringan (Prasetyo & Inorah 2013).

5. Pengeringan simplisia

Pengeringan merupakan salah satu proses untuk menentukan baik atau buruknya mutu produk yang dihasilkan. Tujuan pengeringan yaitu untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang cukup lama. Proses pengeringan harus memperhatikan sifat-sifat zat aktif, cara pemanasan, tinggi suhu dan lamanya pemanasan. Air yang tersisa dalam simplisia dengan kadar tertentu akan menjadi media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya. Proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik bila kadar airnya kurang dari 10% (Depkes 1986).

Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan sinar matahari atau menggunakan suatu alat pengering. Pengeringan pada dasarnya ada dua cara, yaitu pengeringan secara alamiah dan pengeringan buatan. Pengeringan alamiah dilakukan dengan panas matahari langsung dan dengan diangin-anginkan tanpa dipanaskan dengan sinar matahari langsung. Pengeringan buatan dapat dilakukan dengan menggunakan alat atau mesin pengering dengan suhu, kelembaban, tekanan yang dapat diatur (Kurnia 2016).

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental, kering atau cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung. Berdasarkan sifatnya ekstrak dibagi menjadi empat yaitu ekstrak encer, ekstrak kental, ekstrak kering, dan ekstrak cair. Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut tertentu. Tujuan ekstraksi adalah untuk memperoleh zat berkhasiat sebagai pengobatan sebanyak mungkin untuk lebih mudah digunakan daripada simplisia asal (Suhartono *et al.* 2008).

2. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi merupakan pemindahan massa zat yang semula berada di dalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi pemindahan larutan zat aktif ke

dalam cairan penyari. Metode penyarian yang digunakan tergantung dari wujud dan kandungan zat dari bahan tumbuhan yang diekstraksi dan serta jenis senyawa yang diisolasi (Voigt 1994).

3. Metode ekstraksi

Metode ekstraksi dipilih atas beberapa faktor seperti sifat dari bahan obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari obat. Metode penyaringan yang biasa dilakukan yaitu metode maserasi, metode soxhletasi, metode perkolasi dan metode infudasi. Jenis ekstraksi dan cairan pengekstraksi yang digunakan tergantung pada kelarutan dan stabilitas dari bahan yang tergantung dalam simplisia (Voigt 1994).

3.1 Metode maserasi. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur kamar. Tujuannya adalah untuk menarik zat-zat yang tahan dengan pemanasan maupun yang tidak tahan dengan pemanasan. Keuntungan metode maserasi adalah pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana. Kerugiannya yakni cara pengerjaannya lama, membutuhkan pelarut yang banyak dan penyarian kurang sempurna. Metode ini paling cocok digunakan untuk senyawa yang termolabil (Tiwari *et al.* 2011).

3.2 Metode perkolasi. Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang dibasahi. Alat yang digunakan adalah perkolator, cairan yang digunakan untuk menyari disebut cairan penyari. Larutan zat aktif yang keluar dari perkolator disebut ampas atau perkolat, sedangkan sisa penyarian disebut ampas atau sisa perkolasi. Perkolasi cocok untuk mengekstrak bahan aktif dalam penyusunan tingtur dan ekstrak cairan (Tiwari *et al.* 2011).

3.3 Metode soxhletasi. Soxhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan menggunakan alat khusus soklet sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Voigt 1994).

3.4 Metode infusa. Infusa adalah sediaan cair yang dibuat untuk menyari simplisia dengan air pada temperatur 90° C selama 15 menit. Pembuatan infusa dilakukan dengan mencampur simplisia dengan air secukupnya, dipanaskan dengan penangas air dimana bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih. Hitung 15 menit saat suhu mula 90° C sambil diaduk, selagi panas saring menggunakan kain flanel. Metode infusa cocok digunakan untuk zat aktif yang larut dalam air (Voigt 1994).

4. Fraksinasi

Fraksinasi adalah pemisahan suatu campuran berupa golongan senyawa. Fraksinasi merupakan ekstraksi cair-cair yaitu pemisahan suatu komponen kimia yang tidak saling bercampur diantara dua macam pelarut, dimana sebagian komponen larut dalam sebagian fase pertama, dan sebagian larut dalam fase kedua. Kedua fase yang mengandung zat terdispersi dikocok, kemudian diamkan sampai terjadi pemisahan sempurna dan terbentuk dua lapisan fase cair. Tujuan fraksinasi adalah untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari kandungan yang lain. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar dan senyawa non polar akan masuk ke dalam pelarut non polar (Harborne 1987).

5. Pelarut

Pelarut adalah cairan yang digunakan untuk ekstraksi. Cairan penyari yang baik harus memenuhi persyaratan yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil dengan cara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar dan hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki. Pemilihan pelarut yang digunakan dalam ekstraksi berdasarkan pada daya larut maksimum zat aktif dan seminimum mungkin zat yang tidak aktif (Ansel 1989).

Cairan pengestraksi yang diperbolehkan adalah air, etanol, atau campuran air dengan etanol. Ekstraksi air dari suatu bagian tumbuhan dapat melarutkan gula, bahan lender, amina, tanin, vitamin, asam organik, garam organik serta pengotor lain. Ekstraksi etanol sebagai cairan pengestraksi mampu melarutkan alkaloid, klorofil, basa, minyak menguap, kurkumin, antrakuinon, steroid, glikosida, flavonoid, dan damar (Voight 1994).

D. Kanker

1. Pengertian kanker

Kanker adalah pertumbuhan sel yang tak terkendali diikuti dengan proses invasi ke jaringan sekitar dan menyebar (metastasis) ke bagian tubuh yang lain. Pada dasarnya kanker merupakan sel dengan proliferasi yang tak terkendali akibat kerusakan gen, terutama pada regulator daur sel (Sher 1996). Kanker terjadi karena adanya proliferasi tak terkontrol yang terjadi tanpa batas yang akhirnya tumbuh menjadi malignan (Corwin 2009).

2. Sifat sel kanker

Sifat sel kanker adalah memiliki bentuk dan struktur sel bermacam-macam (*polymorph*) karena adanya perbedaan bentuk dan susunan dengan sel normal asalnya, maka dapat dibuat diagnosa patologi kanker. Kedua, autonom sel kanker tumbuh itu tumbuh tanpa batas (*immortal*), liar, lepas kendali dari pertumbuhan normal sehingga terbentuk suatu tumor (benjolan) yang terpisah dari bagian tubuh normal. Ketiga, mendesak dan merusak sel-sel normal disekitarnya. Sel-sel tumor mendesak (ekspansif) sel-sel normal disekitarnya, yang berubah menjadi kapsel yang membatasi pertumbuhan tumor (Franks 1998).

Sel kanker tidak mengenal program kematian sel (apoptosis). Protein *p53* mencegah replikasi dari DNA yang rusak pada sel normal dan mendorong penghancuran sendiri dari sel yang mengandung DNA yang tidak normal, peristiwa ini disebut apoptosis. Apoptosis sangat dibutuhkan untuk mengatur berapa jumlah sel yang dibutuhkan dalam tubuh, secara fungsional dan menempati tempat yang tepat dengan umur tertentu. Setelah melewati masa hidupnya, sel-sel normal akan mati dengan sendirinya tanpa ada efek inflamasi, namun sel kanker tidak seperti itu. Sel kanker akan terus hidup meski seharusnya mati. Mutasi dari gen *p53* menyebabkan proliferasi dan transformasi sel menjadi kehilangan kendali (Ramli 2000).

3. Siklus sel

Siklus sel merupakan proses perkembangbiakan sel yang memperantarai pertumbuhan dan perkembangan makhluk hidup (Nurse 2000).

3.1 Fase G1 (*Growth phase-1/ Pasca Mitosis*). Fase ini dipersiapkan suatu interval dalam proses pembelahan sel dan dimulai dengan sintesis DNA (Mulyadi, 1997). Pada fase G1, sel anak baru berupa untai tunggal DNA yang terbentuk setelah mitosis akan tumbuh menjadi sel dewasa membentuk protein, enzim, dan sebagainya. Sel yang berhenti tumbuh akan masuk ke fase G0 (Sukardja 2000).

3.2 Fase S (*Synthetic phase/ Sintesis*). Pada fase ini dibentuk untai DNA yang baru melalui proses replikasi. Replikasi DNA terjadi dengan bantuan enzim DNA-polimerase, dengan dibentuk DNA baru maka rantai tunggal DNA menjadi rantai ganda. Selama fase S juga berlangsung perbaikan DNA yang dapat mencegah berkembangnya generasi kanker. Fase S berlangsung selama 6-8 jam (Mulyadi 1997).

3.3 Fase G2 (*Growth phase-2/ Pra Mitosis*). Fase G2 terjadi proses pembentukan RNA, protein, enzim, dan sebagainya untuk persiapan fase M. Sel yang telah masuk dalam fase pra mitosis memiliki ciri sel berbentuk tetraploid, mengandung dua kali lebih banyak DNA (Nafriasi & Gan 2007).

3.4 Fase M (*Mitotic phase/ Mitosis*). Terjadi pengurangan sintesis protein dan RNA secara tiba-tiba, berlangsung pemisahan sel menjadi dua sel anakan dengan sifat dan karakteristik sama dengan induknya (Nafrialdi & Gan, 2007). Berdasarkan morfologinya fase ini dibagi menjadi 4 subfase, yaitu profase, metafase, anafase, dan telofase. Fase ini berlangsung sekitar 30-60 menit (Mulyadi 1997).

4. Apoptosis

Apoptosis adalah proses kematian sel yang terprogram yang penting dalam berbagai proses biologi melalui mekanisme genetik dengan kerusakan fragmentasi kromosom atau DNA. Apoptosis dibedakan menjadi dua macam, yaitu apoptosis fisiologi dan apoptosis patologis. Apoptosis fisiologis adalah kematian sel yang diprogram (Sudiana 2011).

Proses kematian sel erat kaitannya dengan enzim telomerase. Pada sel embrional, enzim ini mengalami aktivasi sedangkan pada sel somatik enzim ini tidak mengalami aktivasi, kecuali sel bersangkutan mengalami transformasi

menjadi ganas. Telomer yang terletak pada ujung kromosom merupakan faktor penting dalam melindungi kromosom. Pada sel normal, telomer akan memendek pada saat pembelahan diri. Apabila ukuran telomer mencapai ukuran tertentu (level kritis) akibat pembelahan berulang, maka sel tidak dapat membelah diri lagi. Selanjutnya sel akan mengalami apoptosis secara fisiologi. Pada sel ganas, pemendekan telomerase sampai pada level kritis tidak terjadi karena pada sel ganas terjadi aktivasi enzim ribonukleoprotein (telomerase) secara terus-menerus. Enzim ini berperan dalam sintesis telomer DNA, sehingga berbagai macam elemen yang diperlukan pada pembentukan telomer dapat dibentuk secara terus-menerus dan ukuran telomer pada ujung kromosom dapat dipertahankan. Oleh sebab itu, sel ganas dapat bersifat *immortal* (Sudiana 2011).

Apoptosis patofisiologis adalah kematian sel karena adanya proses suatu rangsangan. Terjadi melalui beberapa jalur, yaitu aktivitas *p53*, jalur sitotoksik, disfungsi mitokondria, dan kompleks fase dan lignan. Apoptosis dipicu oleh aktivitas *p53* karena sel memiliki gen cacat yang dipicu oleh banyak faktor antara lain bahan kimia, radikal bebas, maupun virus (oncovirus). Gen yang cacat dapat memicu aktivitas beberapa enzim seperti PKC dan CPK-K2 yang dapat memicu aktivitas *p53*. *p53* adalah faktor transkripsi terhadap pembentukan p21. Peningkatan p21 akan menekan semua CDK (*Cyclin Dependent Kinase*) dengan *cyclin*, dimana siklus pembelahan sel sangat tergantung pada ikatan kompleks antara CDK dengan *cyclin* (Sudiana 2011).

5. Kanker payudara

Kanker payudara merupakan kanker yang menyerang jaringan epitelial payudara, yaitu membran mukosa dan kelenjar sehingga kanker payudara tergolong karsinoma. Penyebab kanker payudara beragam, antara lain kerusakan pada DNA yang menyebabkan mutasi genetik. Kerusakan dapat disebabkan oleh radiasi yang berlebihan. Selanjutnya karena kegagalan *immune surveillance* dalam pencegahan proses malignan pada fase awal, faktor pertumbuhan yang abnormal, dan malfungsi DNA repairs seperti BRCA1, BRCA2, dan *p53* (Terosian 2002).

Perkembangan payudara mempengaruhi resiko terjadinya kanker payudara, keseimbangan antara proliferasi, diferensiasi dan kematian sel-sel kelenjar

payudara berperan penting dalam proses perkembangan tersebut. Gangguan dalam keseimbangan ini akan menyebabkan terjadinya kanker (Kumar et al. 2000). Proses metastasis kanker payudara dimulai oleh adanya aktivasi/ekspresi berlebih beberapa protein, seperti Estrogen Reseptor (ER) dan c-erbB (HER-2) yang merupakan protein predisposisi kanker payudara. Aktivasi reseptor estrogen melalui ikatan kompleks dengan estrogen akan memacu transkripsi gen yang mengatur proliferasi sel. Estrogen dapat memacu ekspresi protein yang berperan dalam siklus sel seperti cyclin D1, CDK4, cyclin E, dan CKD2. Selain itu, aktivasi reseptor estrogen mampu mengaktivasi beberapa onkoprotein yang berperan dalam sinyal pertumbuhan, misalnya Ras, Myc, dan cycD1 (Foster *et al.* 2001).

Beberapa onkogen telah diketahui mempengaruhi karsinogenesis kanker payudara, diantaranya Ras, c-myc, *epidermal growth factor receptor* (EGFR, erb-B1), dan erb-B2 (HER-2/neu) (Greenwald 2002). Perubahan ekspresi maupun fungsi dari gen supresor tumor seperti BRCA1, BRCA2, dan *p53* tidak sepenuhnya bertanggungjawab dalam tingginya prevalensi kanker payudara spontan. Mutasi atau keadaan BRCA1 terdapat pada <10% kanker payudara, sementara itu mutasi *p53* terjadi pada lebih dari 30% kanker payudara (Bouker *et al.* 2005).

Beberapa jenis sel kanker payudara yang dapat dikultur adalah MCF-7, Ia270, BT 20, BT-474, BT-549, Colo-824, HBL-100, MA-CLS-2, MDA-MB-231, MDA-MB 43S, MDA-MB-436, MB-MDA-468, MX-1, SK-BR-3, ZR-75-1, dan T47D (Pao *et al.* 2985; Anonim 2014). Banyaknya jenis sel kanker payudara akan memberikan hasil yang berbeda pada setiap selnya. Perbedaan hasil ini akan memberikan peluang baru untuk menyelidiki perkembangan yang terjadi pada resistensi obat pada pasien dengan tumor payudara yang memiliki *p53* termutasi (Schafer *et al.* 2000).

6. Pengobatan kanker

Pengobatan modern sekarang ini membutuhkan biaya yang tinggi, namun pengobatannya tidak spesifik dan menimbulkan efek yang samping yang besar. Pengobatan kanker sering dilakukan dengan cara operasi atau pembedahan,

penyinaran atau radiasi dan kemoterapi, yang sekarang berkembang menjadi imunoterapi. Pengobatan ditujukan untuk membunuh sel-sel kanker sehingga tidak berkembang dan membahayakan tubuh (Diyah 2000).

6.1 Kemoterapi. Kemoterapi adalah salah satu pengobatan yang ditujukan untuk mematikan atau memperlambat pertumbuhan sel kanker. Jenis agen kemoterapi yang sering digunakan pada kanker payudara antara lain kemoterapi neoajuvan, ajuvan, dan palatif (Yudissabta *et al.* 2012). Kemoterapi menimbulkan efek samping seperti anemia, anoreksia, ansietas, pendarahan, demam, infeksi, insomnia, nyeri, alopesia (rambut rontok) dan herpes zoster. Penggunaan obat-obat kemoterapi sering dikombinasi dengan obat-obat lain dengan maksud mengurangi efek samping yang timbul (Indrawati 2009). Pengobatan kemoterapi yang paling umum digunakan yaitu senyawa golongan antimetabolit seperti metotreksat yang bekerja menghambat reduksi asam folat menjadi THFA (*Tetrahydro Folic Acid*) dengan efek samping utama supresi sumsum tulang belakang. Golongan lain seperti antibiotika (sitotoksik) seperti doksorubisin bekerja dengan menghambat sintesis DNA dan RNA memiliki efek samping berupa kerusakan otot jantung dengan gagal jantung (Tan 2006).

6.2 Radioterapi. Radiasi payudara diberikan sebagai ajuvan terhadap kasus-kasus kanker payudara stadium dini yang dilakukan *Breast Conserving Surgery* (BCS). Teknik radiasi dapat berupa tangensial 2D, 3D korformal dengan FIF (*Field in field*), ataupun teknik *Intensity Modulated Radiotherapy* (IMRT). Pemberian radiasi diberikan 5 kali dalam seminggu (Depkes 2015).

6.3 Pembedahan. Tindakan pembedahan bertujuan untuk mengurangi ukuran tumor, meredakan nyeri, dan mencegah metastasis jika dilakukan sejak dini (Indrawati, 2009). Terapi dipusatkan pada pengendalian lokal dan resiko penyebaran sistemik. Pengendalian lokal dengan *tylectomy* (pengangkatan benjolan dan pengambilan kelenjar getah bening) sama efektifnya dengan *mastectomy* radikal dengan modifikasi (Woodley 1995).

6.4 Imunoterapi/bioterapi. Bekerja dengan mengaktifkan sistem imun untuk mengenali dan menghancurkan sel tumor secara spesifik, memblok enzim dan faktor pertumbuhan yang diperlukan untuk metastasis (Corwin 2009).

E. Sel T47D

Sel kanker payudara T47D merupakan *continuous cell line* yang morfologinya sama seperti sel epitel yang diambil dari jaringan payudara wanita berusia 54 tahun yang menderita *ductal carcinoma*. Sel ditumbuhkan di media dasar penumbuh RPMI 1640 yang di dalamnya terkandung banyak nutrisi yang dibutuhkan sel seperti asam amino, vitamin, garam-garam organik, glukosa, hormon pertumbuhan sel, albumin sebagai perotein transport, lipid untuk pembentukan sel dan mineral sebagai kofaktor enzim. Media kultur sel biasanya berupa media kompleks yang terdiri dari RPMI yang kemudian ditambahkan dengan 0,2 µg/mL *bovine insulin* dan *Fetal Bovine Serum* (FBS) hingga konsentrasi akhir FBS dalam media 10%. Sel ditumbuhkan pada suhu 37⁰C kurang lebih 1⁰C dengan kadar CO₂ 5% kurang lebih 1% (ATCC 2012).

Sel T47D merupakan sel kanker yang mengekspresikan reseptor estrogen satu yang biasa disebut ER positif serta mengekspresikan *p53* yang telah termutasi sehingga resisten terhadap mekanisme apoptosis (Junedi *et al.* 2010). Pada sel ini, *p53* mengalami *missense mutation* pada residu 194 (dalam *zinc-binding domain* L2) sehingga *p53* kehilangan fungsinya. Jika *p53* tidak mampu mengikat response elemen pada DNA, maka akan mengurangi atau menghilangkan kemampuannya dalam meregulasi siklus sel dan memacu apoptosis. Sel dapat kehilangan estrogen reseptor (ER) apabila kekurangan estrogen pada jangka waktu lama selama percobaan *in vitro*. Model sel ini, digunakan pada penelitian resistensi obat pada pasien dengan tumor payudara yang memiliki *p53* termutasi (Abcam 2007).

Sel T47D sering digunakan pada penelitian kanker secara *in vitro* karena penanganannya yang mudah, memiliki kemampuan replikasi yang tak terbatas atau tumbuh dengan cepat, homogenitas tinggi dan mudah diganti sel baru yang telah dibekukan jika terjadi kontaminasi (Abcam 2007). Sel T47D memiliki mekanisme antiapoptosis dan karsinogenesis lebih kuat daripada sel MCF-7. Beberapa protein yang terlibat dalam stimulasi pertumbuhan sel ini termasuk caspase-3 p12, protein nuklir Hcc-1, G1/S-specific cyclin-D3, cathepsin B, protein CDV3 homolog, N

(G), N(G)-dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2, dan prohibitin (Aka *et al.* 2012).

F. Sel Vero

Sel vero berasal dari ginjal kera hijau Afrika (*Cercopithecus aethiops*). Sel ini homolog dengan sel tubuh manusia dan mudah dibiakkan. Sel vero yang sehat berbentuk triangular dan akan berubah menjadi bentuk *round-off* jika berinteraksi dengan senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik. Medium yang digunakan untuk mengukur sel vero adalah media M199, media ini berguna untuk memberikan nutrisi yang dibutuhkan sel agar dapat bertahan hidup dan dapat memperbanyak diri dengan bovine serum konsentrasi akhir hingga 10% (Bawom *et al.* 2016). Kondisi untuk menumbuhkan sel vero yaitu suhu 37°C dan kadar CO₂ 5% (ATCC 2012). Sel vero memiliki tingkat pertumbuhan atau pembelahan yang cepat dengan waktu replikasi selama 12-24 jam (Khumairoh 2016).

G. Doxorubicin

Doxorubicin adalah obat *anthracycline* yang pertama kali diekstrak dari *Streptomyces peucetius* var. *caesius* pada tahun 1970-an dan secara rutin digunakan dalam pengobatan beberapa kanker termasuk kanker payudara, paru-paru, lambung, ovarium, tiroid, limfoma non-Hodgkin dan Hodgkin, multiple myeloma, sarkoma, dan kanker pediatrik (Thorn *et al.* 2011).

Doxorubicin agen kemoterapi yang umum digunakan untuk terapi kanker payudara, namun efektivitas penggunaan agen kemoterapi ini mejadi terbatas karena munculnya masalah resistensi sel kanker dan adanya efek toksik pada jaringan normal tubuh (Smith *et al.* 2006). Mekanisme yang menyebabkan terjadinya resistensi doxorubicin adalah adanya overekspresi gen *Pgp* yang menyebabkan doxorubicin dipompa keluar sel dan konsentrasi doxorubicin dalam sel turun. Perubahan biokimiawi lain pada sel yang resisten doxorubicin antara lain peningkatan aktivitas *glutation peroksidase*, peningkatan aktivitas maupun mutasi topoisomerase II, serta peningkatan kemampuan sel untuk memperbaiki DNA yang rusak (Bruton *et al.* 2005).

Mekanisme aksi doxorubicin dioksidasi menjadi semiquinon, metabolit yang tidak stabil, yang diubah kembali menjadi doxorubicin dengan melepaskan spesies oksigen reaktif. Spesies oksigen reaktif dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan membran, kerusakan DNA, stres oksidatif, dan memicu jalur apoptosis kematian sel serta doxorubicin dapat memasuki nukleus dan meracuni topoisomerase-II (Thorn *et al.* 2011). Enzim topoisomerase merupakan target yang penting pada pemakaian obat ini. Enzim ini mempertahankan struktur 3 dimensi dari DNA dan penting pada proses replikasi, transkripsi, repair dan rekombinasi DNA. Topoisomerase bekerja melalui pemotongan dan penyambungan rantai DNA serta mengganggu penyambungan rantai DNA (Siahaan 2007).

Doxorubicin memiliki efek toksik diantaranya alopesia, depresi sumsum tulang belakang, demam, mual, dan flebitis. Efek toksik yang dianggap lebih serius, karena dapat membatasi pemakaian obat dalam jangka panjang, yaitu efek kardiotoxicitas dan mengalami kerusakan otot jantung atau kardiomiopati (Kamelia 2017).

H. Metode Uji Sitotoksik MTT Assay

Uji MTT adalah uji sensitif, kuantitatif dan terpercaya. Reaksi MTT merupakan reaksi reduksi seluler yang didasarkan pada pemecahan garam tetrazolium MTT berwarna kuning menjadi kristal formazan berwarna biru keunguan (Basmal *et al.*, 2009). Sel yang mengalami proliferasi, mitokondria akan menyerap MTT sehingga sel-sel tersebut akan berwarna ungu akibat terbentuknya kristal tetrazolium (Formazan) (Depamede 2009). Garam tetrazolium atau MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida) yang berwarna kuning dimana akan dimetabolisme oleh enzim suksinat dihidrogenase yang terdapat pada mitokondria sel menjadi kristal formazan. MTT ditambahkan secara langsung pada plate berisi medium kultur sebanyak 10-100 μ L dan diinkubasi selama kurang lebih 4 jam pada 37⁰C. Kristal formazan yang berwarna ungu yang terbentuk akan terlarut dengan penambahan isopropanolol asam 100 μ L 0,04 N HCl dalam isopropanolol atau SDS 10% dalam HCl 0,01 N (Junedi 2000).

Prinsip uji MTT adalah mengukur aktivitas seluler berdasarkan kemampuan enzim mitokondria reduktase pada mitokondria dalam mereduksi garam methylthiazol tetrazolium (MTT). Pada saat proses metabolisme sel-sel hidup akan menghasilkan mitokondria reduktase. Enzim ini bereaksi dengan MTT dan membentuk kristal formazan berwarna ungu. Intensitas warna ungu yang terbentuk setara dengan jumlah sel hidup, sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka jumlah sel hidup semakin banyak (Junedi, 2000). Kristal formazan bersifat impermeable pada membran sel dan tidak larut dalam air sehingga perlu ditambahkan dengan zat tambahan pelarut seperti isopropanol, DMSO, atau larutan SDS yang diencerkan dalam HCl untuk melarutkan kristal formazan ungu (Berata 2000).

Kristal formazan yang memberi warna ungu kemudian dibaca absorbansinya dengan menggunakan *Enzym-Linker Immunosorbent Assay* (ELISA) *Reader* (Pemilih, 2009). Penetapan jumlah sel hidup pada uji sitotoksik dapat dilakukan berdasarkan adanya kerusakan membran dengan perhitungan sel sedangkan perubahan morfologi diketahui dengan menggunakan mikroskop elektron.

Uji sitotoksik digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} yang menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan penghambatan proliferasi sel sebesar 50%. Nilai IC_{50} menentukan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik, dengan rentang standar $<100 \mu\text{L}/\text{mL}$. Semakin besar IC_{50} maka semakin kecil aktivitas sitotoksiknya atau tidak poten/toksik. Rentan nilai IC_{50} bila $<10 \mu\text{L}/\text{mL}$ sangat aktif, $10-20 \mu\text{L}/\text{mL}$ aktif dan $>20 \mu\text{L}/\text{mL}$ dinyatakan kurang aktif, namun nilai IC_{50} $50-100 \mu\text{L}/\text{mL}$ tetap berpotensi terhadap sel kanker (Freshney 2000).

I. Uji Indeks Selektivitas

Nilai selektivitas suatu senyawa bertujuan untuk mengetahui tingkat keamanan suatu senyawa antikanker terhadap sel normal (Rollando 2017). Ekstrak atau fraksi sebelum dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensinya sebagai antikanker perlu dipastikan terlebih dahulu efek sitotoksiknya terhadap sel normal. Efek toksik pada sel normal menjadi permasalahan besar pada terapi

kanker, berupa efek samping yang dapat menurunkan kualitas hidup pasien (Mutiah 2017).

Indeks selektivitas diperoleh dengan menggunakan metode MTT dari rasio IC_{50} sel vero dibandingkan dengan IC_{50} sel kanker yang diuji. Nilai indeks selektivitas yang disyaratkan adalah >3 , yang mendandakan bahwa ekstrak atau fraksi mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker dengan pengaruh minimal pada sel normal, dan dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai agen kemopreventif (Prayong *et al.* 2008).

J. Landasan Teori

Kanker merupakan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol dan diikuti dengan invasi ke jaringan sekitar dan penyebaran (metastasis) ke bagian tubuh yang lain. Sel kanker dapat menyebar ke bagian tubuh lainnya sehingga dapat menyebabkan kematian (Sher 1996).

Kanker payudara merupakan jenis kanker yang menyerang jaringan epitelial payudara, yaitu membran mukosa dan kelenjar. Perkembangan payudara mempengaruhi resiko terjadinya kanker payudara, keseimbangan antara proliferasi, diferensiasi dan kematian sel kelenjar payudara berperan penting dalam perkembangan kanker payudara. Gangguan dalam keseimbangan ini akan mengakibatkan terjadinya kanker (Kumar *et al.* 2000).

Salah satu penyebab kanker payudara yaitu adanya kerusakan pada DNA yang menyebabkan mutasi genetik. Kerusakan ini dapat disebabkan oleh radiasi yang berlebihan, kegagalan *immune surveillance* dalam pencegahan proses malignan pada fase awal, faktor pertumbuhan yang abnormal, dan malfungsi DNA repairs seperti BRCA1, BRCA2, dan *p53* (Torosian 2002).

Pengobatan modern membutuhkan biaya yang cukup tinggi, namun pengobatannya tidak spesifik dan menimbulkan efek samping yang cukup besar. Pengobatan penyakit kanker sering dilakukan dengan cara operasi atau pembedahan, penyinaran atau radiasi dan kemoterapi, yang sekarang berkembang menjadi imunoterapi. Pengobatan ini ditujukan untuk membunuh sel-sel kanker sehingga tidak dapat berkembang dan membahayakan tubuh (Diyah 2000).

Banyak obat kemoterapi untuk pengobatan kanker, tetapi hasilnya belum memuaskan. Selain karena senyawa aktif yang kurang atau tidak selektif dalam membunuh sel kanker, efek samping yang ditimbulkan juga cukup besar. Kondisi tersebut mendorong masyarakat melakukan pengobatan alternatif ataupun komplementer dengan menggunakan bahan alam atau obat tradisional (Yunahara *et al.* 2009).

Tanaman keladi tikus (*Typhonium flagelliforme* (L.)) suku Araceae, merupakan salah satu jenis tanaman liar yang belum banyak dikenal oleh masyarakat. Secara empiris, masyarakat Indonesia memanfaatkan tanaman keladi tikus untuk mengobati penyakit kanker/tumor. Hasil penelitian menyebutkan bahwa ekstrak keladi tikus dapat menyembuhkan beberapa kasus penyakit kanker antara lain kanker prostat dan kanker payudara. Penelitian terhadap fraksi *n*-heksan dan ekstrak metanol daun keladi tikus terhadap sel kanker payudara T47D menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 32,50 $\mu\text{g/mL}$ untuk fraksi *n*-heksan dan nilai IC_{50} sebesar 183,06 $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak metanol (Yunahara *et al.* 2009).

Ekstrak *n*-heksan tanaman keladi tikus diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap kultur *in vitro* sel murine leukemia P388 dan menunjukkan IC_{50} 15 $\mu\text{g/mL}$ (Choo *et al.* 2001). Empat senyawa yang berhubungan dengan *pheophorbide*, yaitu *pheophorbide-a*, *pheophorbide-a'*, *pyropheophorbide* dan *amethyl pyropheophorbide* telah diidentifikasi dalam fraksi yang paling aktif, yaitu D/F19. Senyawa ini memiliki aktivitas antiproliferatif terhadap NCI-H23 (kanker paru-paru) dan HS578T (sel kanker payudara) dan meningkatkan aktivitas setelah *photoactivation*. Aktivitas antiproliferatif yang lebih besar yang ditunjukkan oleh D/F19 sendiri dibandingkan dengan *pheophorbides* dan subfraksi lainnya menunjukkan beberapa bentuk aksi sinergis antar senyawa aktif (Lai *et al.* 2010).

Penelitian dilakukan untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak dan fraksi tanaman keladi tikus terhadap kultur sel kanker payudara jenis T47D. Pengujian menggunakan sel kanker payudara dilakukan berdasarkan tingginya prevalensi kanker payudara terutama di Indonesia. Pengujian kali ini dilakukan dengan menggunakan ekstrak etanol 96%, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air tanaman keladi tikus. Penelitian menggunakan tanaman keladi tikus

diharapkan dapat memberikan hasil yang maksimal dengan memanfaatkan bagian tanaman keladi tikus mulai dari daun, batang hingga umbi. Uji MTT dalam penelitian dipilih sebagai metode uji sitotoksik dengan parameter berupa nilai IC_{50} yang akan ditentukan dengan mengukur (%) kehidupan sel dan pembentukan kristal formazan. Nilai IC_{50} pada fraksi bila $<10 \mu\text{g/mL}$ dinyatakan sangat aktif, $10\text{-}20 \mu\text{g/mL}$ aktif dan $>20 \mu\text{g/mL}$ dinyatakan kurang aktif, namun nilai IC_{50} $50\text{-}100 \mu\text{g/mL}$, tetap berpotensi terhadap sel kanker (Freshney 2000).

K. Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

1. Ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air tanaman keladi tikus memiliki aktivitas sitotoksik terhadap kultur sel kanker payudara T47D dan ekstrak etanol memiliki nilai $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$, serta fraksi *n*-heksan, dan fraksi etil asetat memiliki nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$.
2. Fraksi *n*-heksan memiliki aktivitas sitotoksik yang paling kuat dan memiliki nilai IC_{50} paling kecil.
3. Nilai indeks selektivitas ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air tanaman keladi tikus dari sel kanker payudara T47D terhadap sel *vero* lebih besar dari 3,00.