

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

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



Gambar 1. Tanaman Keladi Tikus *Typhonium flagelliforme* L
sumber cerc.farmasi.ugm.

1. Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tanaman berdasarkan Anonim (2007) sebagai berikut :

- Divisi : Spermatophyta
- Sub Divisi : Angiospermae
- Kelas : Monocotyledonae
- Bangsa : Arcales
- Suku : Araceae
- Marga : *Typhonium*
- Spesies : *Typhonium flagelliforme* L

2. Morfologi Tanaman

Tanaman keladi tikus adalah tanaman berbatang basah banyak tumbuh ditempat terbuka pada ketinggian 1.000 meter diatas permukaan laut. Daun tunggalnya muncul dari umbi. Bentuk daunnya bulat dengan ujung meruncing berbentuk jantung, warna nya hijau segar. Umbi berbentuk bulat seperti buah pala. Bagian dalam maupun luar umbi berwarna putih. Pada musim kemarau, batang nya menghilang, sedangkan pada musim hujan, tumbuhan ini muncul lagi diatas permukaan tanah dari umbi yang terpendam didalam tanah (Harfia 2006).

3. Kandungan Tanaman

Kandungan kimiawi tanaman ini belum banyak diketahui atau belum di publikasikan, namun berdasarkan penelitian sebelumnya bahwa ekstrak etanol umbi keladi tikus mengandung senyawa flavanoid, tanin, terpenoid, dan sterol (Widowati Lucia *et al* 2009), sedangkan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Syahid (2007) kandungan kimia dari tanaman keladi tikus adalah alkaloid, steroid, flavonoid, saponin dan glikosida. Kandungan senyawa kimia pada tanaman keladi tikus yang diduga menunjukkan sifat membunuh atau menghambat pertumbuhan sel kanker, menghilangkan efek buruk kemoterapi serta sebagai antivirus dan antibakteri adalah alkaloid, triterpenoid dan lignan (polifenol) (Harfia 2006). Sedangkan menurut Penelitian yang dilakukan oleh Medawati *et al.* (2012) menyebutkan bahwa kandungan kimia dari tanaman keladi tikus yang memiliki efek antikanker adalah triterpenoid, alkaloid, polifenol, RIP dan fitol. Penelitian yang dilakukan oleh Iswantini *et al*, 2009 menunjukkan bahwa ekstrak air dan etanol keladi tikus berpotensi sebagai antikanker.

3.1 Flavonoid. Flavonoid adalah golongan senyawa dari senyawa fenolik yang merupakan pigmen tumbuhan. Flavonoid banyak digunakan sebagai antioksidan yang berperan dalam pencegahan penyakit kanker (Bimakr *et al.* 2010). Senyawa flavanoid bekerja menghambat proliferasi dan mekanisme apoptosis (Meiyanto *et al.* 2008).

3.2 Tanin. Aktifitas senyawa tanin sebagai antiproliferatif pada sel kanker yang bekerja pada tingkat sel dan menghambat fase “S” dari siklus sel (Mankaran *et al*, 2013). Beberapa tanin terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor, menghambat enzim seperti *transkriptase* balik dan *DNA topoisomerase* (Robbinson 1995).

3.3 Terpenoid. Terpenoid merupakan senyawa kimia yang terdiri dari beberapa unit isopren, terpenoid mempunyai struktur siklik dengan satu atau lebih gugus fungsi (Harborne 1987), senyawa ini umumnya larut dalam lemak dan sitoplasma tumbuhan. Terpenoid terdiri dari beberapa kelompok dan merupakan salah satu bahan alam yang banyak berfungsi sebagai obat, terpenoid mempunyai banyak peran dalam tumbuhan antara lain sebagai penghambat pertumbuhan dan

sering digunakan sebagai insektisida. Salah satu senyawa dalam terpenoid adalah taksodon dan *vernomenin* yang mempunyai efek menahan pembelahan sel sehingga dapat menghalangi pertumbuhan tumor (Yasmin *et al.* 2005).

3.4 Sterol. Sterol disebut juga steroid dan alkohol, merupakan kelompok penting molekul organik yang secara alami ada pada tanaman yang disebut sebagai fitosterol, sedangkan pada hewan disebut zoosterol. Fitosterol juga dapat menghambat perkembangan sel kanker, hal ini berkaitan kandungan antioksidan yang terdapat pada sterol (Robinson 1995).

3.5 Alkaloid. Senyawa alkaloid bersifat antineoplastik sehingga ampuh menghambat pertumbuhan sel kanker (Agoes 2010).

4. Khasiat Tanaman

Belum banyak literatur yang mencatat hasil penelitian dari tanaman keladi tikus berdasarkan pengalaman secara turun temurun dari berbagai negara dan daerah, tanaman ini dapat menyembuhkan penyakit kanker payudara, paru-paru, usus besar, rectum, liver, prostat, ginjal, leher rahim, tenggorokan, tulang, otak, limpa, leukimia, empedu, dan pankreas. Dari hasil penelitian menunjukkan sifat membunuh dan menghambat pertumbuhan sel kanker, mengurangi efek tidak nyaman dari kemoterapi, mengurangi keluhan rasa sakit dan sebagai antibakteri dan antivirus (Da'i muhammad *et al.* 2007). Senyawa fenolik telah dibuktikan mempunyai aktivitas pada proliferasi sel, waktu dan dosis dapat mempengaruhi nilai penghambatan terhadap pertumbuhan sel (Anonim, 2007). Mekanisme senyawa fenolik sebagai kemopreventif dapat memacu terjadinya hambatan siklus sel atau yang disebut apoptosis. Selain senyawa fenolik yang diduga sebagai agen kemopreventif, senyawa –senyawa golongan flavanoid dan terpenoid juga diduga mempunyai aktivitas antikanker (Yasmin 2005).

B. Simplisia

1. Pengertian

Pengertian simplisia menurut Depkes (1985) adalah bahan alamiah yang di pergunakan sebagai obat dan belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia

dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman (akar, daun, batang, dan lain-lainnya), atau eksudat tanaman yaitu isi sel yang secara spontan dikeluarkan dari tanaman atau dengan cara khusus, dikeluarkan dari sel dan dipisahkan dari tanamannya. Simplisia hewani ialah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian dari hewan atau zat-zat berguna yang di hasilkan oleh hewan tetapi belum berupa zat kimia murni (Depkes RI, 1979).

Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni. Sedangkan pengertian simplisia menurut Gunawan dan Mulyani (2014) adalah istilah untuk menyebut bahan obat alam yang masih dalam bentuk aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk .

2. Tahap Pembuatan Simplisia

Proses pembuatan simplisia memerlukan beberapa tahapan sebelum menjadi ekstrak, fraksi ataupun isolat. Tahapan pembuatan simplisia antara lain pengumpulan bahan tanaman, kemudian pencucian, perajangan, sortasi basah, pengeringan, sortasi kering, penyimpanan dan pembuatan ekstrak dengan metode yang sesuai (Prasetyo *et al.* 2013).

2.1 Pengumpulan Bahan Baku. Pengumpulan bahan baku tanaman yang akan diproses menjadi simplisia adalah faktor yang penting dalam menentukan kualitas simplisia tersebut. Waktu panen yang tepat dapat berpengaruh terhadap kandungan kimia suatu simplisia, keseragaman umur pada saat panen , lingkungan tempat tumbuh dan jenis yang benar adalah faktor yang harus dikendalikan, jadi waktu memanen yang paling tepat yaitu pada saat simplisia mengandung bahan aktif yang maksimal agar menjamin mutu suatu simplisia (Depkes 1985).

2.2 Pencucian. Bahan tanaman dicuci dengan air mengalir. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian menggunakan air bersih misalnya dari mata air, air sumur atau air PAM. Pencucian tidak dapat membersihkan simplisia dari mikroba, hal ini dikarenakan air yang digunakan untuk mencuci mengandung juga sejumlah mikroba.

2.3 Perajangan. Perajangan dilakukan untuk memperkecil ukuran simplisia sehingga memudahkan dalam proses pengeringan, karena semakin tipis dan kecil ukuran simplisia semakin cepat penguapan airnya. Alat yang digunakan untuk perajangan bisa memakai pisau ataupun mesin khusus.

2.4 Pengeringan. Setelah dilakukan perajangan simplisia dikeringkan, tujuan dari pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama, karena pengurangan kadar air yang ada didalam simplisia tersebut, karena air adalah media yang sangat baik untuk tumbuh kembang jamur, kapang dan jasad renik lainnya. Kadar air simplisia tidak boleh lebih dari 10%. Selain itu pengeringan juga bisa menghentikan reaksi enzimatik, karena enzim tertentu yang ada didalam sel dapat menguraikan senyawa aktif dan akan mencegah penurunan mutu dan rusak nya simplisia. Ada beberapa metode pengeringan yaitu pengeringan bisa dilakukan dengan cara alamiah dengan dijemur dibawah sinar matahari langsung, dengan dikeringanginkan tidak dipanaskan dibawah sinar matahari secara langsung dan metode pengeringan dengan oven. Yang perlu diperhatikan dalam pengeringan ini adalah jenis bahan, suhu pengeringan dan waktu pengeringan yang sudah diatur. Suhu pengeringan bergantung kepada jenis simplisianya, bahan simplisia dapat dikeringkan pada suhu 30° sampai 90°C, tetapi suhu yang terbaik adalah tidak melebihi 60° C. Bahan simplisia yang tidak tahan panas atau mudah menguap dikeringkan pada suhu 30° sampai 45° C.

C. Ekstraksi

1. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan secara kimia dan fisika suatu bahan padat atau cair dari padatan tanaman obat (Depkes 2000). Sedangkan menurut Voight (1994) ekstraksi merupakan pemindahan massa zat yang semula berada didalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi perpindahan larutan zat aktif kedalam cairan penyari.

Setelah dilakukan proses ekstraksi maka hasilnya berupa ekstrak dari tanaman tersebut, ekstrak adalah sediaan padat yang diperoleh dengan

mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku yang ditentukan (Depkes RI 2000). Ekstrak ini dapat melalui proses kembali sehingga menghasilkan fraksi, ataupun isolat senyawa murni. Ekstrak merupakan produk antara karena masih memerlukan proses yang lebih lanjut. Sedangkan menurut Depkes (2000) pengertian ekstrak sebagai produk jadi berarti ekstrak yang berada dalam sediaan obat jadi siap digunakan oleh pasien.

2. Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi dengan pelarut dibedakan menjadi dua macam, yaitu dengan cara dingin dan panas. Cara dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi sedangkan cara panas terdiri dari refluks, soxhletasi, digesti, dan infus (Depkes 2000).

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi dingin, istilah maserasi berasal dari kata *macerare* (*bahasa Latin, artinya merendam*): adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi simplisia dengan direndam menggunakan pelarut bukan air (pelarut nonpolar) atau setengah air, misalnya etanol encer, selama jangka waktu tertentu sesuai dengan aturan dalam buku resmi kefarmasian (Anonim 1995). Prinsip metode ekstraksi dengan maserasi adalah ketika simplisia yang akan di maserasi/direndam dalam pelarut yang dipilih, cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel yang penuh dengan zat aktif dan karena ada pertemuan antara zat aktif dan penyari itu terjadi proses pelarutan (zat aktifnya larut dalam penyari) sehingga penyari yang masuk ke dalam sel tersebut akhirnya akan mengandung zat aktif, katakan 100%, sementara penyari yang masih berada diluar sel belum terisi zat aktif (0%) akibat adanya perbedaan konsentrasi zat aktif di dalam dan diluar sel ini akan muncul gaya *difusi*, larutan yang terpekat akan didesak menuju keluar berusaha mencapai keseimbangan konsentrasi antara zat aktif didalam dan diluar sel sampai terjadi proses keseimbangandan ini akan berhenti (istilahnya “jenuh”) dan proses ekstraksi dinyatakan selesai, maka zat aktif didalam dan diluar sel akan memiliki konsentrasi yang sama. Selama proses maserasi dilakukan penggojokan berulang-ulang hal ini bertujuan agar keseimbangan lebih cepat tercapai.

Keuntungan metode ini adalah peralatan yang digunakan sederhana dan tidak perlu pemanasan sehingga simplisia tidak mudah terurai, dan banyak senyawa aktif yang bisa ditarik dengan ekstarksi dingin. Pembuatan maserasi kecuali dinyatakan lain, dilakukan sebagai berikut: dimasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok kedalam sebuah bejana, kemudian ditambahkan 75 bagian penyari, ditutup, dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sesekali dilakukan pengadukan. Kemudian setelah 5 hari dilakukan penyaringan dengan kain flanel, diserkai, peras, ampas dicuci lagi dengan 25 bagian hingga didapatkan 100 bagian (Depkes RI, 1979).

3. Pelarut

Pemilihan pelarut untuk ekstraksi adalah faktor yang penting, pelarut untuk ekstraksi berdasarkan pada daya larut dari zat aktif, zat yang tidak aktif, zat yang tidak diinginkan dan tipe preparatnya (Ansel, 1989).

3.1 Etanol 96%. Etanol merupakan pelarut yang serba guna yang baik untuk proses pendahuluan (Harborne, 1987). Pelarut etanol merupakan pelarut yang universal yang biasa digunakan sebagai pendahuluan pada proses ekstraksi. Kelebihan pelarut ini adalah netral, tidak beracun, absorbsinya baik, dapat menghambat pertumbuhan kapang dan khamir, dapat bercampur dengan air. Banyak kandungan senyawa yang bisa ditarik dengan pelarut etanol.

Setelah proses perendaman simplisia dan etanol ekstrak akan disaring menggunakan corong *buchner* dan dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstark yang pekat. Tujuan dilakukan pemekatan dengan *rotary evaporator* adalah untuk menghilangkan sisa pelarut dalam ekstrak.

D. Kanker

Kanker merupakan penyakit dimana terjadi pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal, sehingga sel menjadi kehilangan pengendalian dari mekanisme normalnya secara cepat dan tidak terkendali. Dalam keadaan yang normal sel hanya membelah diri jika ada pergantian sel yang rusak atau mati. Akan tetapi berbeda dengan sel kanker, yang akan terus membelah diri lepas dari pengendalian pertumbuhan (Mangan 2009) dan apabila tidak cepat dihentikan dan

diobati maka sel kanker akan berkembang terus, menyusup (*invasi*) pada jaringan disekitarnya, lalu ber *metastase* dan pada akhirnya menyebabkan kematian bagi penderita .

Kanker dapat tumbuh dibeberapa jaringan dalam tubuh, sehingga dikenal ada beberapa jenis kanker. Jenis kanker yang banyak dikenal di Indonesia antara lain *kanker serviks*, payudara, hati, *colon*, kanker darah, kulit dan kanker paru. Penyakit kanker ini bisa diderita oleh siapa saja tanpa melihat usia pasien, jenis kelamin, atau ras.

Pertumbuhan dan penyebaran sel kanker dibagi menjadi beberapa tahap yaitu periode displasia dari ringan, sedang dan berat, kemudian menjadi kanker yang *in situ* lalu periode akhir menjadi *metastase*, pada awalnya dimulai dari sel yang normal mengalami mutasi genetik kemudian berkembang dan membelah diri beberapa tahun kemudian sel mengalami mutasi lagi dan menyebabkan sel menjadi abnormal (*displasia*). Fase ini akan terus berkembang dari ringan, sedang dan berat, dan pada akhirnya menjadi *in situ* akan tetapi kanker belum menembus batas jaringan pada tempat tumbuh, dan beberapa tahun kemudian sel dapat menembus jaringan basal dan menginvasi sel disekitarnya.

Data dari GLOBOCAN menyebutkan kanker payudara, prostat, serviks, paru-paru, hati, leukemia merupakan kanker yang terbesar penyebab kematian. Data selengkapnya dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 2. Estimasi Prosentase Kasus Baru dan Kematian Akibat Kanker pada Penduduk di Dunia Tahun 2012

Sumber : GLOBOCAN 2012

Faktor penyebab penyakit kanker sampai sekarang belum diketahui dengan pasti, karsinogen pada umumnya diartikan sebagai penyebab kanker. Karsinogen dapat dipicu melalui mutasi dan mengakibatkan perubahan sel normal menjadi sel kanker, mutasi gen bisa disebabkan oleh reaksi kimia maupun fisik. Mutasi juga bisa berlangsung secara spontan atau diwariskan (Heti 2008).

Makanan mempunyai pengaruh terbesar dalam proporsi faktor resiko penyebab kanker, makanan berlemak, makanan dengan proses pembakaran dan merokok. Data proporsi faktor resiko penyakit kanker pada penduduk Indonesia menurut kelompok umur pada tahun 2013 dapat dilihat dibawah ini:



Gambar 3. Proporsi Faktor Risiko Penyakit Kanker pada Penduduk di Indonesia menurut Kelompok Umur, Tahun 2013

Pengobatan kanker melalui kemoterapi masih menjadi pilihan utama yang digunakan dengan tujuan untuk menghentikan pertumbuhan, mencegah penyebaran sel kanker (Katzung 2010). Namun demikian mekanisme kerja obat kemoterapi tidak bersifat selektif, dikarenakan tidak hanya sel kanker yang terbunuh tetapi juga sel normal yang bersifat aktif juga ikut terkena pengaruhnya. Tujuan akhir kemoterapi adalah kesembuhan dan kelangsungan hidup dan bebas dari penyakit dalam jangka waktu yang lama.

1. Sifat kanker

Setiap kanker memiliki ciri yang unik, kanker muncul melalui beberapa proses yang sama yang pada akhirnya bergantung pada perubahan genetik (Corwin 2009). Sel kanker juga memiliki bentuk dan struktur bermacam-macam (*polymorph*) menurut (Franks *et al.* 1998) karena adanya perubahan bentuk dan susunan dengan sel normal asalnya. Kedua, sel kanker tumbuh secara terus tanpa

batas, tidak bisa mengalami kematian (imortal), liar, tanpa kendali, tanpa kaidah pertumbuhan sel normal sehingga dapat membentuk tumor. Ketiga, sel juga mendesak dan merusak sel normal, *berinvasif* terhadap sel normal yang ada disekitarnya, merusak jaringan tersebut dan tumbuh subur diatas jaringan membentuk anak sebar, semakin besar jangkauan metastase pada jaringan akan sulit disembuhkan.

Sel kanker juga tidak mengalami apoptosis yaitu tidak mengenal program kematian sel. Protein *P-53* bisa mencegah *replikasi* dari *DNA* yang rusak pada sel normal, dan mendorong penghacuran diri sendiri. Peristiwa apoptosis sangat diperlukan untuk mengatur jumlah sel yang harus ada dalam tubuh dan apabila sudah melewati umur tertentu sel normal akan mati dengan sendirinya tanpa proses inflamasi, hal ini sangat berbeda dengan sel kanker dia tidak pernah mau mati walaupun seharusnya sel harus mati, hal ini lah yang menjadi pencetus *proliferasi* dan *transformasi* sel menjadi tak terkendali (Ramli, 2000).

2. Siklus Sel

Perkembangbiakan sel yang diperantarai tumbuh dan berkembang pada sel makhluk hidup disebut siklus, baik sel normal ataupun sel kanker. Siklus sel mempunyai dua fase utama yaitu fase sintetis dan fase mitosis

Fase sintetis adalah fase dimana terjadi replikasi DNA kromosom dalam sel, sedangkan fase mitosis terjadi pemisahan 2 sel DNA kromosom menjadi 2 sel (Nurhayati *et al*, 2006).

3. Apoptosis

Apoptosis adalah mekanisme kematian sel yang terprogram dan efisien yang penting untuk mengeliminasi sel yang tidak diperlukan dan keberadaannya dapat membahayakan organisme (Nurhayati, 2006).

Apoptosis dibagi menjadi dua, yaitu apoptosis fisiologi atau kematian sel yang diprogram, dan apoptosis patologis atau kematian sel karena adanya proses rangsangan. Proses ini dapat melalui beberapa jalur yaitu aktivitas p53, jalur sitotoksik, *disfungsi mitokondria*, dan kompleks fas dan ligan.

4. Kanker hepar

Hepar merupakan organ metabolisme yang terletak pada bagian kanan atas perut, yang terdiri dari lobus kiri dan kanan. Fungsi hepar antara lain: memproduksi dan menyimpan glukosa, pembuatan empedu untuk mencerna lemak dan makanan, sebagai detoksifikasi racun, pembuatan protein, zat pembekuan darah, antibodi dan kolesterol.

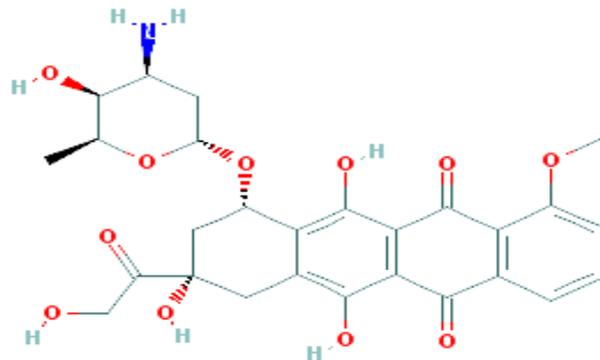
Ada banyak penyebab kanker hati diantaranya, virus hepatitis B, sirosis, hepatitis C, konsumsi alkohol. Pasien dengan hepatitis B dan C mempunyai resiko lebih besar terkena penyakit ini. Gejala yang ditunjukkan antara lain, nyeri pada bagian perut, terutama di bagian tengah, pendarahan, *ascites* (pengumpulan cairan diperut), kuning pada mata, dan kehilangan berat badan yang signifikan, urine berwarna seperti teh dan tinja berwarna abu-abu terang. Penegakan diagnosis pada penyakit ini melalui *abdominal ct scan, MRI scan, angiogram, dan biopsi*.

Pengobatan kanker hepar tergantung pada stadium yang diderita oleh pasien, pembedahan dan kemoterapi masih menjadi alternatif paling disarankan sekarang ini. Salah satu pilihan obat yang digunakan sebagai agen kemoterapi adalah *doxorubicin*.

5. Doxorubicin

Doxorubicin diklasifikasikan sebagai antibiotik anthracycline, merupakan salah satu obat kemoterapi untuk berbagai jenis kanker (Anonim, 2011). Kerja obat Doxorubicin ada 4 antara lain: (1) memperlambat atau menghentikan pertumbuhan sel kanker dengan memblokir enzim yang disebut *topoisomerase 2*. Enzim *topoisomerase 2* adalah enzim yang diperlukan oleh sel kanker untuk membelah diri dan tumbuh: (2) ikatan afinitas tinggi dengan DNA melalui interkalasi sehingga menghasilkan blokade sintesis DNA dan RNA, dan pemotongan untai DNA: (3) pengikatan dengan membran sel untuk mengganggu fluiditas dan transport ion: dan (4) pembentukan radikal bebas semiquinon dan radikal bebas oksigen melalui proses reduksi yang diperantarai enzim bergantung besi. Mekanisme radikal bebas ini telah diketahui sebagai penyebab kardiotoxicitas akibat penggunaan antrasiklin (Bruton *et al.* 2005).

Struktur kimia Doxorubicin dapat dilihat pada gambar :



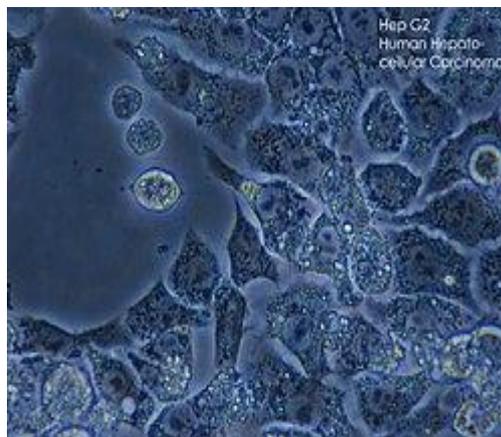
Gambar 4. Struktur Kimia Doxorubicin
(Sumber pub.chem.ncbi.nlm.nih.gov/)

Efek samping yang biasa ditimbulkan dari terapi menggunakan doxorubicin yaitu meningkatkan terjadi infeksi pendarahan, kehilangan nafsu makan, rambut rontok, mual dan muntah (Anonim, 2011), namun efek samping ini bersifat *irreversible* termasuk terbentuknya *cardiomyopathy* dan *coangestive heart failure* (Han *et al.* 2008).

6. Sel HepG2

Keberhasilan kultur sel secara *invitro* bergantung pada media kultur yang sesuai, *Sel HepG2* sering digunakan untuk penelitian kanker hepar secara *invitro*, karena memiliki kemampuan untuk *berreplikasi* dan mudah dalam mengerjakannya. *HepG2* adalah sel kultur yang berasal dari jaringan hati seorang pria Amerika 15 tahun, menderita *karsinoma hepatoseluler* yang *well differentiated*. *Karsinoma hepatoseluler* adalah kanker paling umum kelima di dunia, morfologi *sel HepG2* adalah epitel dan mengandung 55 pasang *kromosom*. Sel ini dapat tumbuh dalam skala besar. Sel-sel mensekresi berbagai protein plasma utama, misalnya *albumin*, *transferin*, dan protein fase akut fibrinogen, alpha 2-macroglobulin, alpha 1-antitrypsin, transferrin, dan plasminogen. Mereka dapat dirangsang dengan hormon pertumbuhan manusia, dan dapat tumbuh sebagai monolayers dalam agregat kecil.

Morfologi sel HepG2 dapat dilihat pada gambar :



Gambar 5. Morfologi HepG2 Cell

7. Sel Vero

Sel vero merupakan sel yang didapatkan dari ginjal oleh peneliti Jepang pada tahun 1962 (Palozza *et al*, 2005). Kultur sel vero sering digunakan sebagai kontrol maupun objek pada penelitian sitotoksik, dan digunakan sebagai model sel untuk mempelajari sinyal transduksi seluler. Pada penelitian sel vero digunakan untuk mempelajari pertumbuhan sel, sitotoksik diferensiasi sel dan transformasi sel yang dapat diinduksi oleh beberapa macam senyawa kimia. Sel vero dapat juga berfungsi untuk mempelajari perubahan sel seperti pertumbuhan dan morfologinya akibat induksi berbagai senyawa kimia serta sel vero dapat direkomendasikan sebagai sel model dalam mempelajari karsinogenesis secara *in vitro* (Goncalves *et al*. 2006)

Sel vero ini bukanlah sel kanker (Sheets, 2000), sel ini memiliki beberapa tipe yaitu vero awal, vero 76, dan vero E6 yang masing-masing memiliki karakter dan sifat tertentu (Anonim, 2013). Sel vero dapat disimpan dalam nitrogen cair pada suhu 80°C dalam kurun waktu yang lama (CCRC, 2009), sebelum digunakan untuk eksperimen penelitian sel vero ini harus dikembangkan terlebih dahulu, sel ini dapat berkembang dan memenuhi seluruh area media, akibat kontak atau komunikasi yang terjadi antar sel, lama –lama sel juga akan mengalami kematian dan digantikan sel yang baru. Sel ini memiliki mekanisme pertumbuhan yang sama dengan sel normal.

Jadi penghentian pertumbuhan sel melekat erat pada substrat yang berbahan polistirena dengan membentuk ikatan kovalen, jumlah interferon pada sel vero lebih sedikit dibandingkan dengan sel mamalia normal. Sel ini ketika diinfeksi oleh virus, maka tidak lagi mensekresikan interferon tipe 1, sehingga kekurangan interferon pada sel vero dapat menyebabkan sel ini sangat sensitif bila terinfeksi oleh berbagai macam virus. Sel ini masih memiliki reseptor interferon alfa dan beta walaupun jumlah interferon sangat sedikit, sehingga sel tersebut masih mampu merespon secara normal ketika interferon ditambahkan kedalam kultur sel (Globocan. 2012)

8. Kultur Sel

Kultur sel adalah suatu teknik yang digunakan untuk perkembangbiakan sel secara *invitro*, kultur sel ditempatkan pada tempat yang khusus dan steril, diinkubasi pada inkubator sel yang mengandung CO₂, dengan pH sekitar 7,4 dan untuk menjaga kestabilannya perlu penambahan larutan buffer. Penyimpanan kultur sel pada temperatur - 120°C sampai - 180° C agar sel tidak berpoliferasi (Mahardika, 2004).

9. Uji sitotoksik

Prinsip metode uji sitotoksik adalah untuk melihat kemampuan mematikan sel, Uji sitotoksik ini dengan melihat nilai IC₅₀ nya, semakin besar nilai IC₅₀ nya maka senyawa tersebut semakin tidak poten.

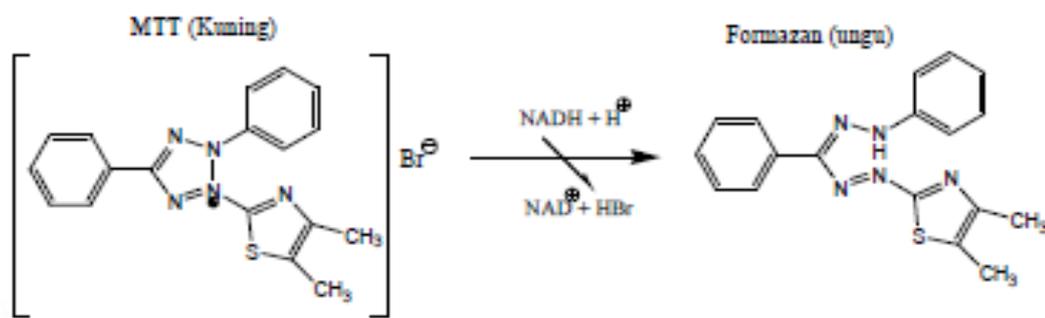
Berdasarkan ketentuan American Cancer Institut (ANCI) suatu ekstrak mempunyai aktivitas antiproliferasi bila didapatkan nilai IC₅₀ ≤ 30 µg/ml pengujian ini bisa menggunakan metode *direct counting* (perhitungan langsung) dengan menggunakan tryphan blue atau bisa menggunakan metode MTT (*Microculture Tetrazolium Technique*) assay (Palozza *et al.* 2005). Uji ini menggunakan kultur sel atau secara *in vitro*, uji ini dapat digunakan untuk mengevaluasi keamanan obat, kosmetik, makanan, dan mendeteksi adanya aktifitas antineoplastik dari senyawa (Mahardika, 2004).

Akhir dari uji sitotoksik adalah dengan melihat % sel yang mampu bertahan hidup dan apabila pada organ dapat memberikan informasi langsung terhadap perubahan yang terjadi pada fungsi sel (CCRC, 2009). Hasil absorbansi

yang terbaca dikonversikan ke persentase viabilitas sel dan dihitung nilai IC_{50} yang diperoleh, nilai IC_{50} pada uji sitotoksik tunggal yang didapat selanjutnya digunakan untuk menentukan besar konsentrasi yang diperlukan pada uji sitotoksik kombinasi ekstrak etanolik tanaman keladi tikus dan doxorubicin.

10. Uji dengan MTT Assay

Uji MTT (*Microculture Tetrazolium Salt*) adalah uji sensitif, kuantitatif, dan terpercaya. Reaksi MTT adalah reaksi reduksi seluler yang didasarkan pada pemecahan garam tetrazolium MTT berwarna kuning menjadi kristal formazon berwarna biru keunguan (CCRC, 2009). Sel akan berubah menjadi warna ungu saat terbentuk kristal tetrazolium (formazon) hal ini dikarenakan sel mengalami proliferasi sehingga mitokondria akan menyerap MTT (Da'i *et al*, 2007). Perubahan warna ini dikarenakan garam tetrazolium akan dimetabolisme oleh enzim *suksinat dihidrogenase* yang terdapat pada mitokondria sel menjadi kristal formazone. Metode ini digunakan untuk mengukur aktivitas metabolit kultur sel *invitro* berupa karakteristik pertumbuhan sel, menentukan nilai IC_{50} dan menghitung sel hidup dengan dasar pembentukan formazan ungu (Da'i *et al*, 2007). Kristal formazon bersifat *impermeable* terhadap membran sel dan tidak dapat larut dengan air, sehingga zat tambahan atau reagen stoper (detergenik) seperti DMSO, isopropanol dan larutan SDS yang diencerkan dengan HCl diperlukan dan kristal formazon ungu dapat terlarut dan kemudian dapat diukur absorbansinya dengan menggunakan *Spektrofotometer Elisa* dengan panjang gelombang 595 nM (CCRC, 2009).



Gambar 6. Reaksi Reduksi MTT Menjadi Formazan (Mosmann, 1983)

11. Uji Indeks Selektivitas

Pada penelitian ini dilakukan pula uji selektivitas sitotoksik (tingkat keamanan) dari ekstrak terhadap sel yang normal yang toksik terhadap sel kanker namun terhadap sel normal tidak toksik. Tingkat selektivitas dapat dinyatakan dengan nilai Selektivitas (SI) (Harfia *et al*, 2006).

Nilai $SI > 3,00$ menunjukkan bahwa senyawa memberikan selektivitas terhadap sel kanker, sedangkan nilai $SI < 3,00$ dianggap sel memberikan toksisitas terhadap sel yang normal (Awang *et al*, & Masriani 2014).

E. Landasan Teori

Kanker adalah suatu penyakit yang disebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkendali, diikuti proses invasi dan bermetastase ke jaringan disekitarnya. Perkembangan sel kanker yang menyebar pada jaringan yang lain dapat mengakibatkan kematian.

Pengobatan penyakit kanker antara lain dengan pembedahan, radioterapi, kemoterapi, dan imunoterapi. Doxorubicin merupakan salah satu agen kemoterapi yang digunakan pada kanker hepar (Putra *et al*, 2005). Kerja obat ini antara lain dengan memperlambat atau menghentikan pertumbuhan sel kanker dengan memblokir enzim yang disebut *topoisomerase II*. Enzim ini adalah enzim yang diperlukan oleh sel kanker untuk membelah diri dan tumbuh. Pengobatan dengan kemoterapi mempunyai efek samping yang tidak menyenangkan, oleh karena itu dikembangkan obat herbal sebagai agen kemoterapi yang diharapkan bisa memberikan efek sitotoksik, salah satu tanaman obat yang memiliki potensi sebagai antikanker adalah tanaman keladi tikus.

Tanaman keladi tikus merupakan salah satu agen kemopreventif yang mengandung zat aktif antara lain; alkaloid, steroid, glikosida, flavanoid, tanin, terpenoid, dan sterol, adanya kandungan senyawa flavanoid dan terpenoid dalam tanaman ini membuktikan bahwa tanaman ini dapat digunakan sebagai antikanker (Widowati *et al*. 2009), kandungan aktif senyawa fenol yang berfungsi sebagai antikanker juga terdapat didalam tanaman ini, dan berdasarkan jurnal dari CCRC kandungan senyawa aktif dalam tanaman keladi tikus adalah (1) 1-0-beta-

glucopyranosil-2-[(2-hydroxyoctadecanoyl) amido]-4, 8-octadecadein-1, 3-diol, (2) coniferin, (3) beta-sitosteroldan (4) beta daucosterol, menurut penelitian sebelumnya tanaman ini dapat juga mengurangi keluhan rasa sakit, rasa tidak nyaman pada saat selesai kemoterapi, ataupun mengurangi terjadinya metastase atau penyebaran sel kanker (CCRC, 2009).

Doxorubicin adalah obat kanker golongan antrasiklin yang bekerja memperlambat pertumbuhan sel kanker, dengan interkalasi terhadap DNA sehingga menyebabkan ketidakseimbangan topoisomerase II sehingga menghambat transkripsi dan replikasi sel. Pemakaian doxorubicin akhir-akhir ini menunjukkan penurunan efikasi pada terapi kanker diduga karena fenomena resistensi terhadap obat, hal ini disebabkan peningkatan aktifitas topoisomerase II dan adanya kemampuan sel untuk memperbaiki DNA sel. Oleh karena itu diperlukan penekanan ekspresinya mampu mengatasi permasalahan resistensi sel kanker obat (Zhou *et al.* 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efek ekstrak etanolik tanaman Keladi Tikus yang memiliki kandungan zat aktif sebagai agen kemopreventif yang dapat menginhibisi proliferasi sel kanker hepar *HepG2*. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah seluruh bagian tanaman baik daun, batang, dan umbinya. Uji MTT dipilih sebagai metode uji sitotoksik dengan melihat parameter nilai IC_{50} , yang ditentukan dengan mengukur % viabilitas sel. Nilai IC_{50} dengan rentang 10-20 $\mu\text{g/ml}$ dikategorikan sangat aktif, 21- 200 $\mu\text{g/ml}$ cukup aktif dan nilai yang lebih dari 201 $\mu\text{g/ml}$ dikategorikan kurang aktif.

F. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori di atas, dapat ditarik hipotesis bahwa tanaman keladi tikus memiliki aktifitas sitotoksik terhadap sel kanker hepar *HepG2*.