

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Pucuk Merah

1. Klasifikasi tanaman



Gambar 1. Tanaman pucuk merah.

Sistematika tumbuhan pucuk merah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Class : Dicotyledoneae
Ordo : Myrtales
Family : Myrtaceae
Genus : *Syzygium*
Species : *Syzygium myrtifolium* Walp
Sinonim : *Syzygium campanulatum* Korth. dan *Syzygium oleana*.
(Herbarium Bogoriense 2014).

2. Nama lain

Tanaman ini dikenal dengan nama kelat paya di Malaysia dan Singapura, di Australia dikenal sebagai *Red lip brush-cherry*, sedangkan di Indonesia dikenal dengan sebutan pucuk merah (Aisha *et al.* 2013).

3. Morfologi tanaman

Tumbuhan pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) menurut (F.Muell. & B.Hyland) adalah jenis tanaman hias yang tergolong dalam family myrtaceae. Tanaman ini dikenal dengan nama pucuk merah karena tunas daun yang baru tumbuh pada bagian pucuk berwarna merah menyala. Daun pucuk merah berupa daun tunggal berbentuk oval, bertangkai daun sangat pendek, warna daun mengalami perubahan, ketika baru tumbuh berwarna merah menyala, kemudian berubah menjadi coklat, lalu berubah lagi menjadi warna hijau. Ukuran daun memiliki panjang ± 6 cm dan lebar ± 2 cm dan memiliki pertulangan daun menyirip (www.biodiversitywarriors.html).

4. Kandungan kimia tanaman daun pucuk merah

Senyawa metabolit yang terkandung dalam genus *Syzygium* di antaranya adalah flavonoid (Samy *et al.* 2014), terpenoid (Abdallahim *et al.* 2012), kalkon (Memon *et al.* 2014), ligan (Mir *et al.* 2009), terpenoid pentasiklik alam yang memiliki aktivitas antiinflamasi (Muruganandan *et al.* 2001), antihipertensi (Arai *et al.* 2000), diabetes (Pine *et al.* 1998), alergi (Kim *et al.* 1998), dan antibakteri (Djipa *et al.* 2000). Pada tanaman pucuk merah mengandung senyawa antioksidan seperti flavonoid, alkaloid, dan tanin (Murni 2015). Penelitian terdahulu menyatakan bahwa *batulinic acid* yang terkandung dalam ekstrak metanol daun pucuk merah memiliki aktivitas antikanker kolon dengan cara menghambat angiogenesis tumor pada tikus (Aisha *et al.* 2013). Selain itu terdapat senyawa flavonoid pada daun hijau tanaman pucuk merah yaitu *dimethyl cardamonin* atau dikenal dengan sebutan DMC yang memiliki aktivitas sebagai hepatoprotektor, sitoprotektif, antiinflamasi, antiviral, antihiperglikemik, dan efek antiapoptosis (Memon *et al.* 2014).

5. Khasiat tanaman daun pucuk merah

Ekstrak metanol daun pucuk merah diketahui mengandung senyawa fenolat, antioksidan flavonoid, dan *batulinic acid*. Senyawa *batulinic acid* pada ekstrak metanol daun pucuk merah memiliki efek antitumor yang diuji secara *in vivo* terhadap sel tumor kolon HCT-116 pada mencit, dan efek *antiangiogenic* dengan menekan aktivitas reseptor *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF)

sebagai pemicu pembentukan pembuluh darah baru di sekitar tumor (angiogenesis) (Aisha *et al.* 2013).

Penelitian Santoni *et al.* (2013) yang dilakukan terhadap buah pucuk merah yang diekstraksi menggunakan berbagai pelarut (metanol dengan HCl 0,1%; metanol dengan asam sitrat 3%; akuades dengan HCl 0,1%; dan akuades dengan asam sitrat 3%) diketahui mengandung senyawa antosianin yang memiliki manfaat sebagai antioksidan dan bahan pewarna pada makanan dan minuman yang dapat menggantikan pewarna sintetis. Beberapa penelitian membuktikan berbagai aktivitas farmakologi ekstrak daun pucuk merah. Penelitian lain yang dilakukan pada daun pucuk merah adalah adanya kandungan senyawa *Dimethyl Cardamonin* (DMC) dan adanya aktivitas antikanker pada sel kanker kolon manusia (HT-29) (Memon *et al.* 2014).

B. Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat dan belum mengalami pengolahan apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia tumbuhan obat merupakan bahan baku proses pembuatan ekstrak, baik sebagai bahan obat atau produk. Simplisia dibagi menjadi tiga golongan utama, yaitu:

- Simplisia nabati yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat dari tanaman.
- Simplisia hewani yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang berguna dari hewani yang belum berupa zat kimia murni.
- Simplisia mineral yang berupa bahan mineral yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes RI 1989).

Berikut ini prosedur pengelolaan tanaman obat yang meliputi pengumpulan bahan, sortasi basah, pencucian, penirisan, pengubahan bentuk, pengeringan, sortasi kering, pengemasan dan penyimpanan menurut Depkes RI (2008) :

1. Sortasi basah

Sortasi basah dimaksudkan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing serta bagian tanaman lain yang tidak diinginkan dari bahan simplisia. Kotoran yang dimaksud dapat berupa tanah, kerikil, rumput/gulma, tanaman lain yang mirip, bahan yang telah busuk/rusak, serta bagian tanaman lain yang memang harus dipisahkan dan dibuang. Pemisahan bahan simplisia dari kotoran ini bertujuan menjaga kemurnian serta mengurangi kontaminasi awal yang dapat mengganggu proses selanjutnya, mengurangi cemaran mikroba serta memperoleh simplisia dengan jenis dan ukuran seragam. Oleh karena itu dalam tahapan ini juga dilakukan pemilihan bahan berdasarkan ukuran panjang, lebar, besar kecil dan lain-lain (Depkes RI 2008).

2. Pencucian simplisia

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang melekat pada bahan simplisia. Dilakukan dengan menggunakan air bersih (standar air minum), bisa air sumber, air sumur, atau air PDAM. Khusus untuk bahan yang mengandung senyawa aktif mudah larut dalam air, pencucian dilakukan secepat mungkin (tidak direndam). Pencucian sebaiknya dilakukan dengan air mengalir agar kotoran yang terlepas tidak menempel kembali. Pencucian bahan simplisia dalam jumlah besar dapat lebih efektif bila dilakukan dalam bak bertingkat yang menerapkan konsep air mengalir. Kotoran yang melekat pada bagian yang susah dibersihkan dapat dihilangkan dengan penyemprotan air bertekanan tinggi atau dengan disikat (Depkes RI 2008).

3. Penirisan simplisia

Setelah bahan dicuci bersih segera ditiriskan pada rak-rak yang telah diatur sedemikian rupa untuk mencegah pembusukan atau bertambahnya kandungan air. Penirisan dimaksudkan untuk mengurangi atau menghilangkan kandungan air di permukaan bahan dan dilakukan sesegera mungkin setelah pencucian. Selama penirisan bahan dibolak-balik untuk mempercepat penguapan, dilakukan di tempat teduh dengan aliran udara cukup agar terhindar dari fermentasi dan pembusukan. Setelah air yang menempel di permukaan bahan menetes atau menguap, bahan simplisia dikeringkan dengan cara yang sesuai (Depkes RI 2008).

4. Pengeringan simplisia

Bahan tanaman jarang sekali digunakan dalam keadaan segar karena mudah rusak dan tidak dapat disimpan dalam waktu lama. Bahan segar umumnya hanya digunakan pada penyarian/penyulingan minyak atsiri atau untuk konsumsi sendiri dalam jumlah kecil. Untuk keperluan stok/penyimpanan agar lebih praktis dan tahan lebih lama, bahan perlu dikeringkan dan disimpan dalam bentuk simplisia kering. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air agar bahan simplisia tidak rusak dan dapat disimpan, menghentikan reaksi enzimatik dan mencegah pertumbuhan kapang, jamur dan jasad renik lain. Dengan matinya sel bagian tanaman, maka proses metabolisme (seperti sintesis dan transformasi) terhenti sehingga senyawa aktif yang terbentuk tidak diubah secara enzimatik (Depkes RI 2008).

5. Sortasi kering

Prinsip kegiatan sortasi kering sama dengan sortasi basah, tetapi dilakukan terhadap simplisia (bahan yang telah dikeringkan) sebelum dikemas. Sortasi kering bertujuan untuk memisahkan bahan-bahan asing dan simplisia yang belum kering seutuhnya. Kegiatan sortasi kering dilakukan untuk menjamin simplisia benar-benar bebas dari bahan asing. Kegiatan ini dilakukan secara manual, simplisia yang telah bersih dari bahan asing kadang untuk tujuan tertentu (misalnya agar memenuhi standar mutu) masih perlu dilakukan *grading* atau pemisahan menurut ukuran sehingga diperoleh simplisia dengan ukuran seragam (Depkes RI 2008).

6. Penyerbukan

Serbuk simplisia dibuat dari simplisia utuh atau potongan-potongan halus simplisia yang sudah dikeringkan melalui proses pembuatan serbuk dengan suatu alat tanpa menyebabkan kerusakan atau kehilangan kandungan kimia yang dibutuhkan dan diayak hingga diperoleh serbuk. Penyerbukan simplisia dilakukan dengan menggunakan mesin penggiling atau penghancur dan kemudian diayak menggunakan mesh 40, 60, atau 80 yang bertujuan untuk mendapatkan serbuk simplisia yang halus agar mempermudah saat dilakukannya ekstraksi karena

dengan memperbesar luas permukaan akan memperbesar kontak antara serbuk dan pelarut (Sa'adah & Nurhasnawati 2015).

C. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu cara penarikan kandungan kimia yang dapat larut pada pelarut tertentu sehingga dapat dipisahkan dari bahan-bahan yang tidak dapat larut dalam pelarut cair. Salah satu proses ekstraksi yang dapat dilakukan dengan menggunakan pelarut yaitu maserasi (Depkes RI 2000).

1. Maserasi

Maserasi adalah proses penyarian simplisia menggunakan pelarut dengan perendaman dan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan terpekat didesak keluar. Proses ini berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan diluar sel. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, metanol, etanol-air atau pelarut lainnya. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana serta mudah untuk dikerjakan. Kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyarian maserat pertama, dan seterusnya (Depkes RI 1989; Depkes RI 2000).

D. Pelarut

Pelarut adalah suatu zat untuk melarutkan zat lain dalam preparat larutan. Pemilihan pelarut harus memperhatikan banyak faktor. Pelarut harus memenuhi kriteria yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bersifat netral, tidak mudah menguap, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, dan diperbolehkan oleh peraturan. Sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi

dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan.

1. Air

Air adalah zat kimia yang istimewa, terdiri dari dua atom hidrogen dan satu atom oksigen dengan rumus kimia (H_2O). Air bersifat netral ($pH = 7$) dalam keadaan murni. Air tidak berwarna, tidak berasa, dan tidak berbau. Air bersifat polar karena adanya perbedaan muatan. Air merupakan pelarut yang baik karena kepolarannya, konstanta dielektrik yang tinggi dan ukurannya yang kecil, terutama untuk senyawa ionik dan garam yang polar. Sifat air yang bersifat polar dapat melarutkan senyawa tanin dan flavonoid. Air dipertimbangkan sebagai penyari karena tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan mampu mengekstraksi banyak bahan kandungan simplisia. Kerugian air sebagai penyari adalah tidak selektif, diperlukan waktu yang lama dalam pemekatan ekstrak, sari dapat ditumbuhi kapang atau bakteri serta cepat rusak (Pratiwi 2010; Khafidhoh *et al.* 2015).

2. Etanol

Etanol merupakan pelarut yang bersifat volatil, tidak berwarna, dan merupakan pelarut organik yang tidak bersifat racun bagi tubuh. Etanol merupakan senyawa organik yang tersusun dari unsur-unsur karbon, hidrogen, dan oksigen. Etanol memiliki titik didih yang lebih tinggi dibandingkan dengan metanol dan lebih rendah dibandingkan dengan alkohol-alkohol lainnya. Etanol dapat mengekstrak senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik lain. Hal ini dikarenakan etanol yang bersifat universal dapat melarutkan senyawa-senyawa yang polar maupun non-polar seperti tanin, flavonoid, fenol, dan minyak atsiri (Aziz *et al.* 2009; Fadillah 2014).

3. Etanol-air

Penyari campuran etanol dan air dapat dibuat dalam segala perbandingan tergantung pada bahan yang akan diekstrak dan bertujuan untuk meningkatkan penyarian (Pratiwi 2010).

E. Kanker

1. Definisi

Kanker adalah penyakit yang prosesnya dimulai ketika sel abnormal diubah oleh mutasi genetik dari DNA selular. Sel yang abnormal membentuk suatu kumpulan dan mulai berkembang biak secara abnormal, mengabaikan sinyal yang mengatur pertumbuhan di lingkungan sekitar sel. Sel-sel yang abnormal ini dapat menyebar ke jaringan lain dan mendapatkan akses ke getah bening dan pembuluh darah sehingga sel-sel ini dapat menyebar ke bagian tubuh lainnya (Smeltzer *et al.* 2010).

Kanker merupakan suatu penyakit dimana sekelompok sel-sel yang abnormal tumbuh tidak terkendali dengan mengabaikan sinyal normal untuk pembelahan sel. Sel-sel normal terus mengikuti sinyal yang menentukan apakah sel harus membagi, berdiferensiasi menjadi sel lain atau mati. Sel-sel kanker mengembangkan tingkat otonomi dari sinyal-sinyal ini, sehingga pertumbuhannya tidak terkontrol bahkan sampai menyebar ke organ lain.

Penyakit kanker ditandai dengan pembelahan sel tidak terkendali dan kemampuan sel menyerang jaringan biologis lainnya, baik pertumbuhan langsung di jaringan tetangganya (invasif) maupun migrasi sel ke tempat yang lebih jauh (metastasis). Pertumbuhan yang tidak terkendali tersebut disebabkan kerusakan DNA yang menyebabkan mutasi di gen vital yang mengontrol pembelahan sel. Sel kanker kehilangan fungsi kontrolnya terhadap regulasi daur sel maupun fungsi homeostasis sel pada organisme multiseluler sehingga sel tidak dapat berproliferasi secara normal. Akibatnya, sel akan berproliferasi terus-menerus sehingga menimbulkan pertumbuhan jaringan yang abnormal (Diananda 2009).

2. Sifat kanker

Sel kanker memiliki perbedaan yang sangat signifikan dengan sel normal. Sel kanker tidak mengenal apoptosis dan akan terus hidup meski seharusnya mati (bersifat immortal) (Sofyan 2000). Sel kanker tidak mengenal komunikasi ekstraseluler atau asosial yang diperlukan untuk menjalin koordinasi antar sel sehingga dapat saling menunjang fungsi masing-masing. Dengan sifatnya yang asosial, sel kanker bertindak semauanya sendiri tanpa peduli apa yang dibutuhkan

oleh lingkungannya. Sel kanker dapat memproduksi *growth factor* sendiri sehingga tidak bergantung pada rangsangan sinyal pertumbuhan dari luar untuk melakukan proliferasi sehingga dapat tumbuh menjadi tak terkendali. Sel kanker juga tidak sensitif terhadap sinyal yang dapat menghentikan pertumbuhan dan pembelahan sel. Sel kanker mampu menghindari dari sinyal antipertumbuhan yang berhubungan dengan siklus sel.

Secara umum, penyebab kanker dapat dibagi dalam 3 kategori, yaitu karsinogen fisik (radiasi sinar UV dan radiasi ionisasi), karsinogen kimiawi (asap tembakau dan asbestos), dan karsinogen biologis (virus, bakteri, dan parasit) (PCC 2014). Selain itu, kanker dapat timbul karena pola hidup yang tidak sehat. Hampir separuh dari kanker yang terdiagnosis setiap tahun disebabkan oleh gaya hidup yang tidak sehat. Pencetus kanker dapat berasal dari makanan yang kaya akan gula buatan, karbohidrat olahan, pengawet, produk sampingan dari hasil penggorengan (minyak jelantah), mengandung banyak lemak, asupan antioksidan yang kurang, dan minuman yang mengandung bahan kimia (minuman beralkohol) (Mueller 2005). Penyebab kanker juga bisa timbul karena kondisi kejiwaan yang tidak stabil dan faktor keturunan. Orang tua yang mengidap kanker sangat mungkin menurunkan pada anaknya (Rahayu 2010).

3. Siklus sel

Siklus sel merupakan proses perkembangbiakan sel yang memperantarai pertumbuhan dan perkembangan makhluk hidup. Setiap sel baik normal maupun kanker mengalami siklus sel. Siklus sel memiliki dua fase utama, yakni fase S (sintesis) dan fase M (mitosis). Fase S merupakan fase terjadinya replikasi DNA kromosom dalam sel, sedangkan pada fase M terjadi pemisahan 2 set DNA kromosom tersebut menjadi 2 sel (Nurse 2000). Fase yang membatasi kedua fase utama tersebut yang dinamakan *Gap*. G1 (*Gap-1*) terdapat sebelum fase S dan setelah fase S dinamakan G2 (*Gap-2*) (Ruddon 2007).

Menurut Sukardja (2000) secara biokimiawi, siklus pertumbuhan sel terdiri dari 4 fase :

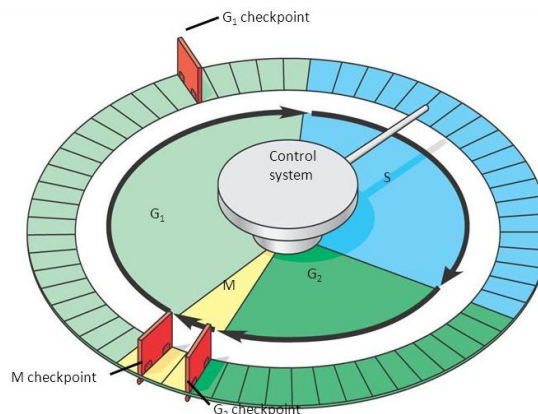
3.1. Fase G1 (*Growth phase-1*). Pada fase G1, sel anak baru berupa untai tunggal DNA yang terbentuk setelah mitosis akan tumbuh menjadi sel dewasa

membentuk protein, enzim, dan sebagainya. Sel dewasa tersebut masuk ke zona perbatasan (*restriction zone*) yang menentukan apakah sel tersebut akan berhenti tumbuh atau tumbuh terus. Sel yang berhenti tumbuh akan masuk ke fase G0 dan terbagi menjadi 2 golongan. Golongan pertama adalah stem sel, yaitu sel yang dapat tumbuh lagi bila ada rangsangan tertentu, misalnya untuk mengganti sel yang rusak atau mati dan kembali ke fase-S. Golongan kedua adalah sel yang tetap tidak akan tumbuh sampai sel itu mati dan hanya sel syaraf yang praktis tidak tumbuh. *Checkpoint* pada fase G1 akan dapat dilalui jika ukuran sel memadai, ketersediaan nutrisi mencukupi, dan adanya faktor pertumbuhan (sinyal dari sel yang lain).

3.2. Fase-S (*Synthetic phase*). Pada fase-S ini dibentuk untai DNA baru melalui proses replikasi. Replikasi DNA terjadi dengan bantuan enzim DNA-polimerase. Dengan dibentuknya DNA baru maka rantai tunggal DNA menjadi rantai ganda.

3.3. Fase-G2 (*Growth phase-2*). Pada fase G2, sel melakukan sintesis lebih lanjut untuk proses pembelahan pada fase M. *Checkpoint* pada fase G2 terjadi ketika ada kerusakan DNA yang akan mengaktifasi beberapa kinase termasuk *ataxia telangiectasia mutated* (ATM) kinase. *Checkpoint* pada fase G2 dapat dilewati jika ukuran sel memadai, dan replikasi kromosom terselesaikan dengan sempurna.

3.4. Fase-M (*Mitotic phase*). Pada fase ini hampir tidak ada kegiatan kimiawi. Kegiatan yang ada adalah pembelahan sel, dari satu induk menjadi dua sel anak yang mempunyai struktur genetika yang sama dengan sel induknya. Di sini rantai ganda DNA yang merupakan pembawa informasi gen terbelah menjadi dua rantai tunggal masing-masing untuk satu sel anak baru. *Checkpoint* pada metaphase (M) terpenuhi bila semua kromosom dapat menempel pada gelendong (*spindle*) mitosis.



Gambar 2. Fase Siklus Sel (Ruddon 2007).

Kesalahan pada *checkpoint* akan meloloskan sel untuk berkembang biak meskipun terdapat kerusakan DNA atau replikasi yang tidak lengkap atau kromosom tidak terpisah sempurna sehingga akan menghasilkan kerusakan genetik. Hal ini kritis bagi timbulnya kanker. Oleh karena itu, proses regulasi siklus sel mampu berperan dalam pencegahan kanker (Ruddon 2007).

F. Kanker Hati

Hepatoma disebut juga kanker hati atau karsinoma hepatoseluler atau karsinoma hepatoprimer. Hepatoma merupakan pertumbuhan sel hati yang tidak normal yang ditandai dengan bertambahnya jumlah sel dalam hati yang memiliki kemampuan membelah/mitosis disertai dengan perubahan sel hati yang menjadi ganas.

Kanker hati sering disebut "penyakit terselubung". Pasien seringkali tidak mengalami gejala sampai kanker pada tahap akhir, sehingga jarang ditemukan dini. Pada pertumbuhan kanker hati, beberapa pasien mungkin mengalami gejala seperti sakit di perut sebelah kanan atas meluas ke bagian belakang dan bahu, berat badan menurun, kehilangan nafsu makan, kelelahan, mual, muntah, dan demam. Beberapa penyakit hati lainnya dan masalah kesehatan juga dapat menyebabkan gejala-gejala tersebut, tapi setiap orang yang mengalami gejala seperti ini harus berkonsultasi dengan dokter (Budihusodo 2009).

Kanker hati hepatoseluler yang berasal dari sel hati merupakan kanker nomor lima tersering di Indonesia. Dalam kelompok penyakit hati, kanker ini

menduduki tempat terbanyak ketiga setelah sirosis hati dan virus hepatitis. Di Indonesia, kanker hati mematikan lebih dari satu juta orang pertahunnya. Penyebab pasti dari penyakit ini belum diketahui, namun kanker hati sering ditemukan pada penderita sirosis hati (pengerasan hati), virus hepatitis B aktif, virus hepatitis B *carrier*, dan pada penderita virus hepatitis C, sehingga penderita tersebut dapat digolongkan dalam kelompok yang beresiko tertinggi mendapatkan kanker hati (Rasyid 2006).

Sebanyak 52,3 % penderita kanker hati berasal dari infeksi hepatitis B virus kronis, dan 20 % berasal dari infeksi hepatitis C virus. Penyebab lain dari penyakit ini adalah *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD), aflatoksin, dan penyakit hepar alkoholik. Sedangkan resiko kanker hati pada sirosis hanya berkisar sekitar 1-6 % pertahun (Alianto 2015).

G. Terapi Kanker Hati

Pilihan pengobatan yang ditawarkan untuk pasien kanker harus didasarkan pada tujuan yang realistis dan dapat dicapai untuk setiap jenis kanker tertentu. Berbagai tujuan pengobatan yang mungkin dilakukan yaitu mencakup penyembuhan, memperpanjang kelangsungan hidup, penahanan pertumbuhan sel kanker, atau menghilangkan gejala terkait dengan penyakit. Menurut Smeltzer *et al.* (2010) penatalaksanaan penyakit kanker, meliputi :

1. Pembedahan

Operasi pengangkatan seluruh kanker merupakan pilihan yang ideal dan paling sering digunakan sebagai metode pengobatan. Pendekatan bedah tertentu, mungkin berbeda untuk beberapa alasan. Operasi diagnostik adalah metode definitif untuk mengidentifikasi karakteristik seluler yang mempengaruhi semua keputusan pengobatan. Pembedahan merupakan metode primer dalam pengobatan, atau mungkin profilaksis, paliatif, atau rekonstruktif.

2. Terapi radiasi

Radiasi pengion dalam terapi radiasi digunakan untuk mengganggu pertumbuhan sel. Lebih dari setengah pasien kanker menerima bentuk terapi radiasi di beberapa titik selama pengobatan. Radiasi dapat digunakan untuk

mengobati kanker, seperti pada penyakit limfoma Hodgkin, testis seminoma, karsinoma tiroid, kanker lokal dari kepala dan leher, dan kanker serviks. Terapi radiasi juga dapat digunakan untuk mengontrol penyakit ganas ketika tumor tidak dapat diangkat melalui pembedahan atau ketika metastasis nodal lokal ini, atau dapat digunakan sebagai profilaksis untuk mencegah infiltrasi leukemia ke otak atau sumsum tulang belakang.

Dua jenis pengan sinar radiasi elektromagnetik (sinar-x dan sinar gamma) dan partikel (elektron partikel beta, proton, neutron, dan partikel alpha), dapat menyebabkan gangguan jaringan. Kebanyakan gangguan jaringan berbahaya adalah perubahan molekul DNA dalam sel-sel dari jaringan. Radiasi pengan heliks DNA, menyebabkan kematian sel. Jika DNA tidak mampu memperbaiki, sel akan mati segera atau mungkin memulai membunuh sel (apoptosis).

3. Kemoterapi

Agen antineoplastik pada kemoterapi digunakan dalam upaya untuk menghancurkan sel-sel tumor dengan mengganggu fungsi sel dan reproduksi. Kemoterapi digunakan terutama untuk mengobati sistemik penyakit dari lesi yang lokal dan untuk operasi atau radiasi. Kemoterapi dapat dikombinasikan dengan operasi atau terapi radiasi, atau keduanya, untuk mengurangi ukuran tumor sebelum operasi, untuk menghancurkan sel-sel tumor yang tersisa pasca operasi, atau untuk mengobati beberapa bentuk leukemia. Tujuan dari kemoterapi penyembuhan, kontrol, dan paliatif harus realistis karena mereka akan menentukan obat yang akan digunakan dan agresivitas rencana pengobatan. Pemberantasan 100% dari tumor hampir mustahil, tapi tujuan pengobatan adalah untuk memberantas tumor sehingga sel tumor yang tersisa dapat dihancurkan oleh sistem kekebalan tubuh.

4. Terapi gen

Kemajuan teknologi dan informasi yang diperoleh melalui penelitian genetika telah membantu peneliti dan dokter dalam memprediksi, mendiagnosis, dan mengobati kanker. Terapi gen termasuk pendekatan yang memperbaiki cacat genetik atau memanipulasi gen untuk menginduksi kerusakan sel tumor dengan harapan mencegah atau memerangi penyakit. Sel somatik yaitu sel yang tidak

terkandung dalam embrio atau dijadikan untuk menjadi terapi gen pada sel telur atau sperma. Jenis terapi melibatkan penyisipan dari gen diinginkan ke dalam sel target. Meskipun terapi gen sedang diteliti, peneliti memprediksi itu akan memiliki dampak besar pada perawatan medis dan kesehatan di abad ke-21.

Lebih dari 100 uji klinis untuk terapi gen dalam mengobati kanker telah dimulai. Contoh dari salah satu percobaan tersebut melibatkan memasukkan gen supresor tumor p53 dalam sel-sel kanker. Biasanya gen ini bertanggung jawab untuk memperbaiki yang rusak sel atau menyebabkan kematian sel ketika sel tidak dapat diperbaiki. Banyak jenis sel kanker telah bermutasi gen p53 yang kemudian mengarah pertumbuhan sel yang tidak terkendali. Penyisipan gen p53 yang normal dapat menyebabkan baik kematian sel kanker atau memperlambat pertumbuhan tumor.

H. Uji Sitotoksitas

Uji sitotoksik adalah uji toksisitas secara *in vitro* dimana agen memiliki tindakan destruktif spesifik terhadap sel-sel tertentu. Senyawa sitotoksik adalah suatu senyawa atau zat yang dapat merusak sel normal dan sel kanker, serta digunakan untuk menghambat pertumbuhan dari sel tumor. Istilah toksisitas juga dapat digunakan untuk zat-zat yang bersifat genotoksik, mutagenik, onkogenik, teratogenik, dan zat yang berbahaya lainnya (Purwanto *et al.* 2015).

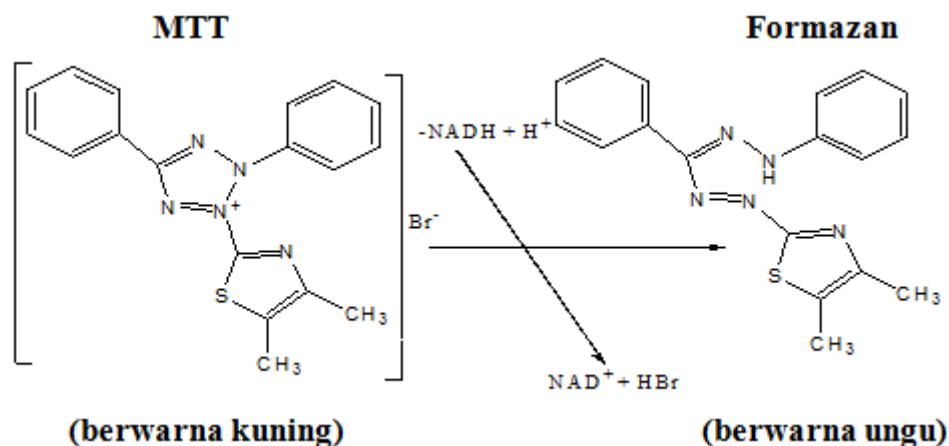
Metode *in vitro* memberikan berbagai keuntungan, seperti: dapat digunakan pada langkah awal pengembangan obat, hanya membutuhkan sejumlah kecil bahan yang digunakan untuk kultur primer manusia dari berbagai organ target (ginjal, liver, kulit) serta memberikan informasi secara langsung efek potensial pada sel target manusia. Akhir dari uji sitotoksik dapat memberikan informasi konsentrasi obat maksimal yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup. Penetapan jumlah sel yang masih bertahan hidup pada uji sitotoksitas dapat dilakukan dengan berbagai cara yang seringkali didasarkan pada parameter kerusakan membran, gangguan sintesis dan degradasi makromolekul, modifikasi kapasitas metabolisme serta perubahan morfologi sel.

Metode lain yang dapat digunakan adalah metode kolorimetrik menggunakan suatu substrat yang akan dimetabolisme oleh sel menjadi produk berwarna misal MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid]. Uji sitotoksik dapat menggunakan parameter IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan pertumbuhan sel sebesar 50% dari populasi. Nilai IC_{50} dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar nilai IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Hetu 2008).

Kategori dalam senyawa sitotoksik terdiri atas 4 kategori yaitu kategori sangat toksik jika nilai $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/ml}$, kategori sitotoksik moderat atau cukup poten jika nilai IC_{50} masuk dalam range 21-200 $\mu\text{g/ml}$, kategori sitotoksik lemah atau kurang poten jika nilai IC_{50} masuk dalam range 201-500 $\mu\text{g/ml}$ dan jika nilai $IC_{50} \geq 500 \mu\text{g/ml}$ termasuk kategori tidak toksik dengan kata lain semakin kecil nilai IC_{50} yang dihasilkan suatu senyawa maka semakin besar aktivitas sitotoksiknya (Abdel-Hameed *et al.* 2012).

I. Metode MTT

Metode ini berdasarkan pada perubahan garam tetrazolium menjadi formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup. MTT diabsorbsi ke dalam sel hidup dan dipecah melalui reaksi reduksi oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi mitokondria menjadi formazan yang berwarna ungu. Penambahan SDS 10% dalam HCl 0,01 M bertujuan untuk menghentikan reaksi enzimatik dan melarutkan formazan sehingga warna ungu formazan dapat dibaca absorbansinya secara spektrofotometri dengan ELISA reader dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif. Semakin kuat intensitas warna ungu yang terbentuk, absorbansi akan semakin tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak MTT yang diabsorbsi ke dalam sel hidup sehingga formazan yang terbentuk juga semakin banyak (Kupcsik *et al.* 2011).



Gambar 3. Reaksi Reduksi MTT assay (Haryadi 2012)

Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel yang hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak. Pengujian dengan metode MTT ini berdasarkan pada konversi garam tetrazolium yang berwarna kuning oleh enzim suksinat dehydrogenase dengan bantuan NADPH menjadi produk berwarna ungu yang disebut formazan. Formazan larut dalam pelarut organik SDS yang akan melarutkan dan mengekstraksi formazan dari sel (Siregar & Hadijono 2000).

J. Uji Indeks Selektivitas

Indeks selektivitas atau *Selectivity Indeks* (SI) menunjukkan selektivitas sitotoksik dari ekstrak kasar terhadap sel kanker dibandingkan sel normal, dihitung dari IC_{50} sampel kasar pada sel normal terhadap sel kanker. Nilai $SI \geq 3$ menunjukkan selektivitas tinggi. Uji ini dilakukan ketika hasil uji sitotoksik sel kanker memenuhi syarat, dengan nilai IC_{50} yang didapatkan kurang dari 1.000 $\mu\text{g/ml}$. Suatu zat dikatakan tidak toksik bila nilai $IC_{50} > 1.000 \mu\text{g/ml}$ (Omorie & Sisodia 2012).

Ekstrak dikatakan mempunyai selektivitas yang tinggi apabila memiliki nilai selektivitas ≥ 3 , dan dikatakan kurang selektif apabila memiliki nilai selektivitas < 3 (Sutejo *et al.* 2016).

K. Sel Vero

Sel Vero merupakan sel epitel non kanker (sel normal) dimana sel ini berasal dari organ ginjal monyet hijau asal Afrika. Sel Vero merupakan sel monolayer berbentuk poligonal dan pipih, *immortal, non tumorigenic fibroblastic cell*. Sel ini melekat erat pada substrat yang berbahan polistirena dengan membentuk ikatan kovalen. Pengujian sel Vero dilakukan untuk mempelajari pertumbuhan sel, diferensiasi sel, sitotoksitas, dan transformasi sel yang diinduksi oleh berbagai senyawa kimia (Goncalves *et al.* 2006).

Sel Vero tidak memiliki kemampuan untuk mensekresikan interferon tipe 1 ketika diinfeksi oleh virus, kekurangan interferon pada sel Vero mengakibatkan sel ini sangat sensitif jika terinfeksi oleh berbagai jenis virus (Haryadi 2012). Sel ini juga direkomendasikan untuk dijadikan sebagai sel model dalam mempelajari karsinogenesis secara *in vitro* dan memudahkan dalam mempelajari perubahan sel yang meliputi pertumbuhan dan morfologinya akibat induksi berbagai senyawa kimia (Triputra 2016).

L. Landasan Teori

Daun pucuk merah sering digunakan oleh masyarakat untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit, dan telah dibuktikan secara ilmiah dalam beberapa penelitian bahwa tanaman pucuk merah memiliki aktivitas sebagai hepatoprotektor, sitoprotektif, antiinflamasi, antiviral, antihiperglikemik, dan efek antiapoptosis (Memon *et al.* 2014).

Salah satu kandungan pucuk merah yang berkhasiat sebagai sitotoksik dan gangguan fungsi hati adalah senyawa flavanoid. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Memon *et al.* (2014) menyebutkan bahwa daun pucuk merah diketahui kaya akan kandungan flavonoid, salah satunya senyawa *dimethyl cardamonin* (2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethylchalcone), suatu golongan kalkon yang memiliki sifat sitotoksik. Senyawa golongan kalkon diketahui memiliki aktivitas antikanker (Wattenberg *et al.* 1994), antiinflamasi, antioksidan, analgesik, antibakteri, antijamur dan antiprotozoa (Oyedapo *et al.* 2008).

Berdasarkan hasil uji sitotoksik ekstrak etanolik daun pucuk merah yang dilakukan oleh Memon (2014) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pucuk merah memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker kolon (HT-29) dengan nilai IC_{50} sebesar 12,6 $\mu\text{g/ml}$. Penelitian yang dilakukan oleh Aisha (2013) juga menyebutkan bahwa ekstrak metanol daun pucuk merah memiliki nilai IC_{50} 17,6 $\mu\text{g/ml}$ dan memiliki efek antiangiogenik terhadap sel endothelial.

Hal tersebut menjadi landasan dilakukannya penelitian pada ekstrak daun pucuk merah yang diekstraksi menggunakan etanol 70% terhadap kultur sel kanker hati HepG2 dan sel Vero. Penelitian ini dilakukan untuk melihat seberapa besar aktivitas sitotoksik yang dihasilkan pada masing-masing konsentrasi dan mengetahui apakah ekstrak etanol daun pucuk merah berpotensi untuk dikembangkan sebagai senyawa antikanker. Penelitian ini juga dilakukan uji indeks selektivitas untuk mengetahui tingkat keamanan dari ekstrak daun pucuk merah berdasarkan anggapan bahwa efek samping obat tradisional tidak sama dengan obat sintesis karena pada tumbuhan obat terdapat suatu mekanisme penangkal atau mampu menetralkan efek samping tersebut, disebut juga “SEES” (Side Effect Eliminating Substanted).

M. Hipotesis

Terdapat 2 hipotesis dalam penelitian ini, yaitu:

Pertama, ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) memiliki nilai IC_{50} yang poten terhadap kultur sel kanker hati HepG2.

Kedua, ekstrak etanol daun pucuk merah memiliki selektivitas sitotoksik terhadap kultur sel kanker hati HepG2.