

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sisik Naga

1. Klasifikasi tanaman



Gambar 1. Tanaman sisik naga (United States Department of Agriculture 2015).

Klasifikasi tanaman sisik naga adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Divisio : Pteridophyta
Class : Pteridopsida
Ordo : Polypodiales
Family : Polypodiaceae
Genus : Drymoglossum
Species : *Drymoglossum piloselloides* (L) Presl. (United States Department of Agriculture 2015).

2. Nama daerah

Nama daerah: picisan, sisik naga, sakat ribu-ribu (Sumatera); pakis duwitan (Jawa); paku duduwan (Sunda). Nama asing : dubbeltjesvaren, duiteblad, duitvaren (Belanda); bao shu lian (Cina) (Hariana 2006).

3. Morfologi tanaman

Tumbuhan sisik naga merupakan tumbuhan yang tumbuh di batang dan dahan pohon, akar rimpangnya panjang kecil merayap bersisik panjang 5-55 cm dan akar melekat kuat. Daun yang satu dengan yang lainnya tumbuh dengan jarak

yang pendek. Daun bertangkai pendek, tebal, berdaging, berbentuk jorong, memanjang, ujung tumpul atau membundar (Utami 2008). Daun tumbuhan paku ini memiliki bentuk bulat dan kecil yang menyerupai sisik naga. Daunnya terbagi dalam 2 bentuk, yaitu *tropofil* dan *sporofil*. Pada jenis yang *tropofil*, daun berbentuk bulat dan kecil, sedangkan jenis *sporofil* daunnya lebih panjang dibandingkan *tropofil*, *sporofil* juga memiliki *sporangium*. *Spongarium* terdapat pada daun fertil (Purnawati 2014).

4. Kandungan kimia tanaman daun sisik naga

Tumbuhan sisik naga mengandung saponin, polifenol, minyak atsiri, triterpen, fenol, flavonoid, gula, dan tanin (Hariana 2006).

Aktivitas antikanker kemungkinan disebabkan oleh adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tumbuhan sisik naga yaitu flavonoid, saponin, tanin dan steroid yang kemungkinan dapat berperan sebagai antikanker (Wulandari *et al.* 2013).

5. Habitat sisik naga

Tumbuhan sisik naga biasanya tumbuh di daerah yang mempunyai curah hujan tinggi dan hidup secara alami di kawasan Asia Tropika. Tumbuhan ini merupakan salah satu jenis tumbuhan epifit yaitu yang hidup menempel di batang , dahan atau ranting pohon pada tumbuhan lain (Azizah 2016).

Sisik naga tumbuh menempel pada permukaan kulit batang pohon tidak mengambil unsur hara maupun air dari pohon yang di tumpanginya, kecuali dalam jumlah yang sangat banyak akan memberikan efek menutupi atau mematahkan cabang dengan berat dan lilitannya. Tumbuhan ini tinggal di permukaan kulit batang untuk mendapatkan air dengan akarnya selama hujan dan ketika waktu malam. Selain itu, akar sering tumbuh bersama lumut untuk mengumpulkan unsur hara. Unsur hara dapat berupa debu, sampah atau detrius yang berada di permukaan batang pohon inang, tanah yang dibawa oleh hewan kecil seperti semut atau rayap, maupun kotoran burung. Tumbuhan ini akan tumbuh lebat pada daerah basah dan termasuk tumbuhan sukulen yang mampu bertahan hidup pada kondisi kekeringan dalam waktu yang cukup lama karena mampu menyimpan dan meimbang air di dalam tubuhnya. Tumbuhan sisik naga biasanya menginvasi

semua jenis tanaman seperti karet, kakao, kelapa, durian, mangga, kopi, kelapa sawit, akasia dan beringin (Azizah 2016).

6. Khasiat tanaman daun sisik naga

Tumbuhan sisik naga baik segar maupun yang sudah dikeringkan dapat digunakan untuk mengatasi beragam penyakit seperti radang gusi, sariawan, pendarahan, rematik, pada jaringan lunak, TBC paru-paru disertai batuk darah, dan kanker payudara (Hariana 2006).

7. Perkembangan penelitian antikanker

Sebagian besar masyarakat menggunakan tumbuhan obat daun sisik naga terhadap kanker hanya berdasarkan pengalaman masyarakat sehari-hari. Namun pemanfaatan tumbuhan sebagai obat tradisional yang terstandar perlu didasarkan pada hasil penelitian-penelitian ilmiah. Tumbuhan sisik naga perlu dilakukan penelitian ilmiah terhadap sel kanker. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Abdillah (2006) bahwa ekstrak air daun sisik naga terhadap sel HeLa dapat menghambat pertumbuhan sel kanker sebesar 84,64% pada konsentrasi 1050 $\mu\text{g/mL}$. Susi (2009) menyatakan ekstrak sisik naga memiliki aktivitas antikarsinogenik terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC_{50} sebesar 83,63 $\mu\text{g/mL}$. Anwar (2013) menyatakan ekstrak metanol daun sisik naga memiliki efek sitotoksik terhadap sel leukimia P388 yang ditunjukkan dengan nilai IC_{50} sebesar 19,32 $\mu\text{g/mL}$.

B. Simplisia

1. Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia nabati adalah berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia

yang berupa bahan pelikan (mineral) yang belum diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Sortasi basah dan Pencucian

Sortasi basah dimaksudkan untuk memisahkan kotoran serta tanaman lain yang tidak diinginkan dari bahan simplisia. Kotoran yang dimaksud berupa tanah, krikil, rumput, tanaman lain yang mirip, bahan yang telah busuk, serta bagian tanaman yang harus dipisahkan dan dibuang. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih, air sumber, air sumur atau air PAM. Khusus untuk bahan yang mengandung senyawa aktif mudah larut dalam air , pencucian dilakukan secepat mungkin (tidak direndam) (Kemenkes RI 2015).

3. Penirisan dan Pengubahan bentuk

Setelah dicuci bersih segera ditiriskan pada rak-rak yang telah diatur untuk mencegah pembusukan atau bertambahnya kandungan air. Penirisan dimaksudkan untuk mengurangi atau menghilangkan kandungan air di permukaan bahan dan dilakukan sesegera mungkin sehabis pencucian. Pengubahan bentuk beberapa simplisia seringkali harus dilakukan menjadi bentuk lain, misalnya irisasi, potongan dan serutan untuk memudahkan kegiatan pengeringan, pengemasan, penggilingan, dan penyimpanan. Tidak semua simplisia mengalami pengubahan bentuk umumnya terbatas pada simplisia akar, batang, kayu, kulit, daun dan bunga (Kemenkes RI 2015).

4. Pengeringan dan Sortasi kering

Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air agar bahan simplisia tidak rusak dan dapat disimpan, menghentikan reaksi enzimatis dan mencegah pertumbuhan kapang, jamur dan jasad renik lain. Pengeringan dapat dilakukan dengan 2 cara yakni, pengeringan alamiah (sinar matahari) dan pengeringan buatan (oven, uap panas, alat pengering lain). Hal yang perlu di perhatikan dalam proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembapan udara, lama pengeringan dan luas permukaan bahan. Sortasi kering bertujuan untuk memisahkan simplisia dari bahan-bahan asing dan simplisia yang belum kering

seutuhnya, kemudian dilakukannya pemisahan simplisia berdasarkan ukuran sehingga diperoleh simplisia dengan ukuran seragam (Kemenkes RI 2015).

5. Pengemasan dan Penyimpanan

Simplisia dengan jenis tertentu bisa dikemas dengan kain katun atau karung yang terbuat dari plastik, jerami atau goni. Guci porcelin dan botol kaca untuk menyimpan simplisia berbentuk cair. Simplisia daun dan herba umumnya umumnya di mampatkan dulu untuk mempermudah pengemasan kemudian dikemas dalam karung plastik yang dijahit tiap sisinya. Setiap kemasan ditambahkan silika gel untuk menyerap air dan menjaga kondisi kemasan agar tidak lembap. Selesai proses pengemasan simplisia disimpan sebagai upaya untuk mempertahankan kualitas fisik dan kestabilan kandungan senyawa aktif sehingga tetap memenuhi persyaratan mutu yang telah ditetapkan (Kemenkes RI 2015).

C. Metode Penyarian

Penyarian merupakan peristiwa pemindahan masa zat aktif yang berada dicairan penyari tersebut. Proses penyarian pada sel yang dindingnya masih utuh, zat aktif yang terlarut pada cairan penyari untuk keluar dari sel harus melewati dinding sel. Penyarian dipengaruhi oleh derajat kehalusan serbuk dan perbedaan konsentrasi. Cara penyarian dapat dibedakan menjadi maserasi, perkolasai dan penyarian berkesinambungan. Metode penyarian yang dipilih pada penelitian ini adalah maserasi (Depkes RI 1986).

1. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai, proses ini dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Mukhriani 2014).

2. Maserasi

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan

yang terpekat di desak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mudah larut dalam cairan penyari. Maserasi biasanya dilakukan pada temperatur 15 °C – 20 °C selama 33 hari sampai bahan - bahan melarut dalam cairan penyari. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol atau pelarut lain. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengolahan dan peralatan yang digunakan sederhana, sedangkan kerugiannya adalah pengolahan lama dan penyariannya kurang sempurna (Depkes RI 1986).

3. Perkolasi

Proses dimana simplisia yang sudah halus, diekstraksi dalam pelarut yang cocok dengan cara melewatkannya perlahan-lahan melalui simplisia yang berada di dalam suatu kolom. Simplisia dimampatkan dalam alat ekstraksi khusus disebut *perkolator*, dengan ekstrak yang telah dikumpulkan disebut *perkolat*. Prinsip perkolasian yaitu, serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Cara perkolasian lebih baik dari maserasi karena adanya aliran cairan penyari yang menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasiannya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi. Penyarian berkesenimbungan merupakan proses untuk menghasilkan ekstrak cair, yang akan dilanjutkan ke proses penguapan (Depkes RI 1986).

D. Pelarut Penyari

1. Cairan penyari

Cairan penyari yang digunakan dalam proses pembuatan ekstrak adalah penyari yang baik untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau aktif. Penyari tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan dari senyawa kandungan lainnya. Faktor selektifitas, ekonomis, kemudahan bekerja, ramah lingkungan dan aman (Depkes RI 2000).

Pelarut adalah suatu zat untuk melarutkan zat lain dalam preparat larutan. Pada penelitian pemilihan larutan penyari harus memperhatikan banyak faktor. Larutan penyari harus memenuhi kriteria yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat, diperbolehkan oleh peraturan (Triputra 2016).

1.1 Air. Air disamping melarutkan garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, tanin dan gula , juga melarutkan gom, pati, protein, lendir, enzim, lilin, lemak, pektin, zat warna dan asam organik. Air digunakan sebagai cairan penyari yang kurang menguntungkan. Air merupakan tempat tumbuh bagi kuman, kapang dan khamir, karena itu pembutan dengan air harus di tambah zat pengawet. Air dipertimbangkan sebagai penyari karena murah, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Kerugian menggunakan air yaitu tidak selektif, sari dapat di tumbuhkapang dan kuman serta cepat rusak dan pengeringan diperlukan waktu lama (Depkes RI 1986).

1.2 Etanol. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar, dan klorofil. Lemak, malam, tanin, dan saponin hanya sedikit larut. Campuran antara etanol dan air biasanya digunakan untuk meningkatkan penyarian. Perbandingan jumlah etanol dan air tergantung pada bahan yang akan disari. Etanol di pertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandigan, serta panas yang di perlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Depkes RI 1986).

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

E. Penyakit Kanker

1. Definisi kanker

Kanker merupakan penyakit yang ditandai dengan mekanisme tidak normal dan tidak terkontrol yang mengatur kelangsungan hidup, proliferasi, dan

diferensiasi sel. Sel yang telah mengalami sel transformasi neoplastik biasanya mengekspresikan antigen permukaan sel yang dapat menunjukkan kelainan kromosom secara kualitatif dan kuantitatif. Sekelompok sel tumor dan sel induk tumor mempertahankan kemampuan untuk menjalani poliferasi berulang serta berimigrasi ke organ lain dalam tubuh, proses ini disebut metastatis. Keberadaan kumpulan sel ini ditandai dengan kelainan kromosom yang mencerminkan ketidakstabilan genetik. Ketidakstabilan genetik ini juga dapat memungkinkan mereka menjadi resisten terhadap kemoterapi dan radioterapi. Seringkali proses metastatis dan infasif yang berhubungan dengan kanker dapat mengakibatkan kematian, kecuali neoplasma dapat diberantas dengan pengobatan (Katzung *et al.* 2009).

Pembelahan sel pada kanker mengarah pada invasi jaringan di sekitarnya serta menyebar ke bagian lain dalam tubuh, proses tersebut disebut metastasis. Aktivitas proliferasi (pembelahan) yang tidak terkontrol akan membentuk jaringan abnormal yang disebut neoplasma. Sel normal akan berjalan sesuai siklusnya dengan pertumbuhan terkendali sedangkan sel kanker akan mengalami pertumbuhan yang tidak terkendali pada mekanisme kontrol atau pengaturan pertumbuhan (Triputra 2016).

2. Sifat sel kanker

Menurut Franch dan Teich (1998), sifat sel kanker diantaranya memiliki dan struktursel yang bermacam-macam (*polymorph*) karena adanya perbedaan bentuk dan susunan dengan sel normal asalnya, maka dapat dibuat diagnosa patologi kanker. Kedua, tumbuh autonom sel kanker itu tumbuh terus tanpa batas (*immortal*), liar, terlepas 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 itu mendesak (*ekspansif*) sel-sel normal disekitarnya, yang berubah menjadi kapsel yang membatasi pertumbuhan tumor.

Sel kanker memiliki perbedaan yang dengan sel normal dalam tubuh. Sifat umum dari kanker sebagai berikut : Sel kanker tidak mengenal program kematian sel yang dikenal dengan nama apoptosis. Protein *p53* mampu 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 berguna untuk mengatur berapa jumlah sel yang dibutuhkan dalam tubuh, secara fungsional dan menempati tempat yang tepat dengan umur tertentu. Apabila telah melewati masa hidupnya, sel-sel normal akan mati dengan sendirinya tanpa ada efek inflamasi, namun sel kanker berbeda karakteristik tersebut. Sel kanker akan terus hidup meski seharusnya mati. Mutasi dari gen *p53* menyebabkan proliferasi dan transformasi sel menjadi kehilangan kendali (Ramli 2000).

Sel kanker dapat memproduksi *growth factor* sendiri sehingga tidak bergantung pada rangsangan sinyal pertumbuhan dari luar untuk melakukan proliferasi. Sel kanker dapat tumbuh menjadi tidak terkendali. Sel kanker mampu menyerang jaringan lain (invasif), merusak jaringan tersebut dan tumbuh subur di atas jaringan lain membentuk anak sebar (metastasis). Semakin besar jangkauan metastasis tumor, kanker semakin sulit untuk disembuhkan. Kanker pada stadium metastasis merupakan penyebab 90% kematian penderita kanker (Triputra 2016).

3. Siklus sel

Siklus sel dapat digambarkan sebagai siklus hidup suatu sel, siklus ini terjadi pada seluruh jaringan yang memiliki pergantian sel. Siklus sel dibagi menjadi 2 peristiwa besar, yaitu : mitosis (pembelahan sel) dan *interphase*. Fase mitosis lebih singkat daripada *interphase*, terjadi pembagian nucleus dan cytoplasma sel sehingga terbentuknya 2 sel anak. Fase *interphase* merupakan interval antara pembelahan selama sel menjalankan fungsinya dan mempersiapkan mitosis. Karena itu selain terjadinya replikasi materi genetik, ukuran dan isi sel juga bertambah. *Interphase* dibagi menjadi 3 fase, yaitu : fase G1 (presintesis), fase S (sintesis DNA), fase G2 (post duplikasi DNA). Namun sel-sel yang tidak membelah terus menerus (sel neuron dan sel otot), aktivasi sel (sementara ataupun tetap) tidak melalui siklus ini dan tetap pada fase istirahat, yaitu fase G0 (Muliani 2016).

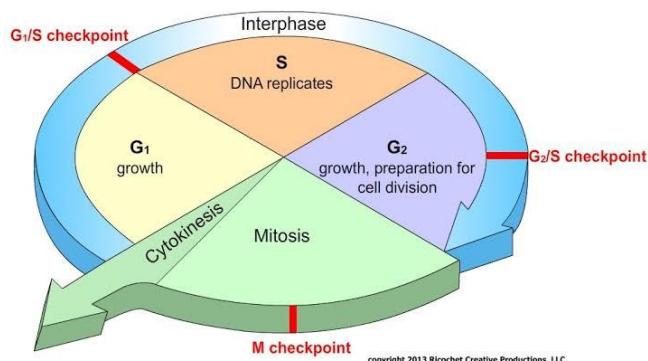
3.1 Fase G1 (Growth phase-1/ pasca mitosis). Fase ini dipersiapkan suatu interval dalam proses pembelahan sel dan dimulai dengan sintesis asam

deoksiribonukleat (DNA). 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 (Sukaradja 2000).

3.2 Fase S (*Synthetic phase/ sintesis*). Fase ini dibentuknya untai DNA yang baru melalui proses replikasi. Replikasi DNA terjadi dengan bantuan enzim DNA-polimerase, dengan dibentuknya DNA baru maka rantai tunggal DNA rantai ganda. Selama fase S juga berlangsung perbaikan DNA yang dapat mencegah berkembangnya generasi kanker. Fase ini berlangsung kira-kira 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 ini memiliki ciri sel berbentuk tetraploid, mengandung dua kali lebih banyak DNA (Nafrialdi & Gan 2007).

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



Gambar 2. Fase siklus sel (Nafrialdi 2007)

F. Kanker Hati

Karsinoma hepatoseluler / *hepatocellular carcinoma* (HCC) merupakan penyakit neoplasma ganas primer hepar tersering yang terdiri dari sel menyerupai hepatosit dengan derajat diferensiasi bervariasi. HCC adalah istilah terminologi yang lebih baik dibandingkan hepatoma dan kanker *liver* yang sebaiknya dihindari. Sebagian besar pada manusia HCC muncul dengan latar belakang hepatitis kronis atau sirosis. HCC sudah menjadi masalah kesehatan global, merupakan kanker kelima terbanyak di dunia, yaitu 5,4% dari semua jenis kanker, dan penyebab kematian ketiga tertinggi akibat kanker. HCC menjadi salah satu keganasan terbanyak pada orang dewasa, lebih dominan pada laki-laki dengan perbandingan 2-4:1. 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 alkoholic. Resiko kanker hati pada sirosis hanya berkisar sekitar 1-6 % pertahun. Sebuah laporan dari Hongkong menunjukkan bahwa 76 % pasien kanker hati datang dengan keluhan rasa tidak nyaman pada bagian abdomen, ditandai dengan adanya penurunan berat badan (4,4%), pendarahan gastrointestinal (4,4%), dan sakit kuning (*jaundice*) (2,6%) (Ricky 2015).

Pemeriksaan dengan Alfa Feto Protein (AFP), pemakaian alat Ultrasonografi (USG), *Computed Tonographic Scanning* (CT Scan), dan *Magnetic Resonance Imaging* (MRI) penting untuk menegakkan diagnosis dan mengetahui seberapa besar ukuran tumor. Kemajuan teknologi dan keakuratan dalam bidang radiologi dengan dan pendekatan laboratorium *alphafetoprotein* (AFP), kanker hati yang sekecil apapun sudah dapat dideteksi sejak dini. Kriteria diagnosa kanker hati menurut PPHI (Perhimpunan Peneliti Hati Indonesia), yaitu : hati membesar berbenjol-benjol, AFP yang meningkat lebih dari 500 mg/mL, adanya hasil yang menunjukkan karsinoma hepatoselular pada USG, CT Scan, dan MRI, serta hasil biopsi menunjukkan adanya karsinoma hepatoselular (Sunanda *et al.* 2010).

G. Terapi Kanker Hati

1. Pembedahan

Secara umum tatalaksana tindakan pembedahan dilakukan untuk mengurangi ukuran tumor, meredakan nyeri dan mencegah metastase yang dilakukan sejak dini (Indrawati 2009). Pembedahan juga digunakan untuk mengeksis bagian mayor dari tumor yang mengurangi bahan tumor dan meningkatkan respon terhadap kemoterapi atau radiasi (Crowin & Elizabeth 2009).

2. Kemoterapi

Pemberian terapi dengan anti tumor ternyata dapat memperpanjang hidup penderita, dengan pemberian obat obat sitostatika yang sering digunakan sampai saat ini adalah 5-fluoro uracil (5-FU). Zat ini dapat diberikan secara sistemik atau secara lokal (intra-arteri, sitostatika lain yang juga sering digunakan adalah adriamisin (doxorubicin HCl) dimana kombinasi antara 5-FU dan adriamisin memberikan respon yang sangat baik untuk tumor hati. Kombinasi dari keduanya tidak memberikan efek yang bagus pada penderita sirosis lanjut (Sirregar 2011).

3. Radioterapi

Efek samping radioterapi berkaitan dengan dosis total (*centigray*), lama pemberian ekstrak dari dosis tersebut yaitu dosis harian, luas atau volume bagian tubuh yang diterapi dan bagian tubuh yang diradiasi Sel – sel yang lewat pada daerah yang diradiasi mungkin dapat mengalami perubahan dan mempengaruhi fungsi ditempat lain, misal efek samping yaitu sariawan atau faringitis, anoreksia, nyeri daan kulit menjadi terbakar. Efek samping merupakan hal yang paling umum yang terjadi pada pemberian radioterapi dan akan mereda dalam waktu 2 minggu pengobatan (Indrawati 2009).

4. Imunoterapi atau bioterapi

Terapi jenis ini bekerja dengan mengaktifkan sistem imun untuk mengenali dan mengahncurkan sel tumor secara spesifik, memblok enzim dan faktor pertumbuhan yang diperlukan untuk metastatis. Imunoterapi yang saat ini sedang dikembangkan yaitu stimulan imun, antibodi berlabel flouresen, antibodi penyerang terapi gen (Crowin & Elizabeth 2009).

H. Uji Sitotoksitas

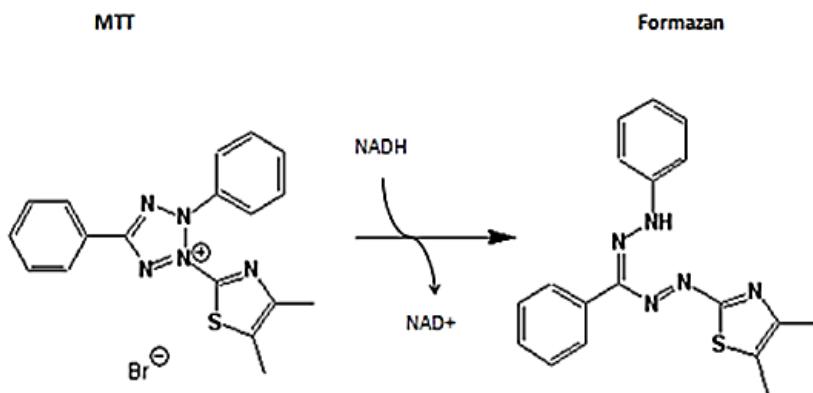
Uji sitotoksik digunakan untuk menentukan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel. Nilai IC_{50} dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar nilai IC_{50} senyawa tersebut semakin tidak toksik (Haryoto *et al.* 2013).

Senyawa dengan nilai IC_{50} menurut penelitian dari Rollando (2016) dikatakan poten memiliki efek sitotoksik apabila suatu senyawa itu memiliki nilai IC_{50} di bawah 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Menurut Freshney (2000), rentang nilai IC_{50} bila <10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sangat aktif, 10-20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ aktif, dan >20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dinyatakan kurang aktif, namun nilai IC_{50} 50-100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ tetap berpotensi terhadap sel kanker. Hasil dari uji sitotoksitas dapat memberikan informasi berapa persen sel yang mampu bertahan hidup, sedangkan pada organ target memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Haryoto *et al.* 2013).

I. Metode MTT

Uji MTT adalah uji sensitif, kualitatif, dan terpercaya. Reaksi MTT merupakan reaksi reduksi seluler yang didasarkan pada pemecahan garam tetrazolium MTT berwarna kuning menjadi kristal formazan berwarna biru keunguan. Sel yang mengalami proliferasi, mitokondria akan menyerap MTT sehingga sel-sel tersebut akan berwarna ungu akibat terbentuknya kristal tetrazolium (Formazan) (Depemede & Rosyidi 2009). Garam tetrazolium atau MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid] yang berwarna kuning akan dimetabolisme oleh enzim *suksinat dihidrogroginase* dengan bantuan NADPH yang terdapat pada mitokondria sel menjadi kristal formazan. MTT ditambahkan secara langsung pada plate yang berisi medium kultur sebanyak 10-100 μL dan diinkubasi selama kurang lebih 4 jam pada suhu 37° C. Kristal formazan yang berwarna ungu yang terbentuk akan terlarut dengan penambahan *reagen stopper* SDS 10% . Prinsip uji MTT adalah untuk mengatur aktivitas

seluler berdasarkan kemampuan enzim *mitokondria reduktase* pada mitokondria dalam mereduksi garam *methylthiazol tetrazolium* MTT. Ketika bermetabolisme, sel-sel hidup akan menghasilkan *mitokondria reduktase* enzim ini akan beraksi dengan MTT dan membentuk kristal formazan berwarna ungu. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup, sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka jumlah sel hidup semakin banyak. Kristal formazan bersifat *impermeable* pada membran sel dan tidak larut dalam air sehingga biasanya ditambahkan dengan zat tambahan pelarut seperti isopropanol, DMSO, atau larutan SDS yang diencerkan dalam HCl untuk melarutkan kristal formazan ungu tersebut (Fazwischni 2000).



Gambar 3. Reaksi Reduksi MTT assay

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 *raeder* 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 (Wijaya 2012).

J. Sel Vero

Sel vero ini untuk mempelajari pertumbuhan sel, diferensiasi sel, sitotoksitas, dan transformasi sel yang diinduksi oleh berbagai senyawa kimia. Sel vero merupakan sel monolayer berbentuk poligonal dan pipih yang diisolasi dari sel ginjal monyet hijau afrika. Sel ini 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. Sel ini direkomendasikan untuk digunakan 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).

K. Uji Indeks Selektivitas

Uji indeks selektivitas merupakan uji yang digunakan untuk mengetahui tingkat keamanan suatu senyawa antikanker terhadap sel normal, nilai uji selektivitas akan menandakan bahwa ekstrak mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker tapi dengan pengaruh minimal pada sel normal (Siswadi & Rollando 2016).

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

L. Enzyme Linked Imunnoassay (ELISA)

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) merupakan metode baru yang dikembangkan dengan biosensor dan imunosensor. Biosensor adalah perangkat analitik yang dibuat dari kombinasi dua bagian: unsur pengenalan biologis seperti antibodi, enzim, reseptor, DNA, atau sel dan transduser yang mengubah proses biorecognition menjadi sinyal fisik yang terukur. Imunosensor adalah biosensor berbasis afinitas yang dirancang untuk mendeteksi pengikatan langsung suatu antibodi atau antigen. Reaksi biologis pada permukaan elektroda

akan dideteksi oleh transduser dan kemudian dikonversi menjadi sinyal fisik (Noor *et al.* 2017).

Prinsip Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) sering digunakan untuk imobilisasi antibodi dan antigen in immunoassay untuk pengembangan biosensor. ELISA melibatkan pelekatan antigen kepermukaan, penerapan antibodi ke antigen, reaksi antigen-antibodi dan akhirnya penambahan substrat. ELISA hadir dalam beberapa jenis yaitu ELISA tidak langsung, langsung, sandwich, dan kompetitif. ELISA diterapkan secara luas dalam bidang medis, industri makanan, industri minuman dan bidang lingkungan, misalnya deteksi dioksin dan senyawa PAH (Noor *et al.* 2017).

M. Landasan Teori

Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Kanker penyebab kematian sekitar 8,2 juta orang. Berdasarkan data terdapat 14.067.894 kasus baru kanker dan 8.201.575 kematian akibat kanker di seluruh dunia. Penyebab terbesar kematian akibat kanker setiap tahunnya antara lain disebabkan oleh kanker paru, hati, perut, kolorektal, dan kanker payudara. (Kemenkes 2015).

Salah satu jenis penyakit kanker yang semakin meningkat kasusnya di dunia dan khususnya di Indonesia adalah penyakit kanker hati. Karsinoma hepatoselulersangat berhubungan dengan penyakit hepar kronis, terutama infeksi hepatitis B virus (HBV) dan hepatitis C virus (HCV). Sebanyak 52,3% penderita HCC berasal dari infeksi HBV kronis dan 20% dari infeksi HCV. Penyebab lain yaitu *non-alcoholic fatty liverdisease* (NAFLD), alfatoksin, dan penyakit hepar alkoholik. Proses penyembuhan dengan pengobatan kemoterapi dan obat obat sintetik secara umum masih belum memberikan hasil yang memuaskan, karena obat obat tersebut bersifat tidak selektif sehingga menimbulkan efek samping kepada sel normal (Susi *et al.* 2009; Ricky 2015).

Proses penyembuhan dengan pengobatan kemoterapi dan obat obat sintetik secara umum masih belum memberikan hasil yang memuaskan, karena obat obat tersebut bersifat tidak selektif sehingga menimbulkan efek samping kepada sel

normal. Hal ini mendorong dilakukannya upaya untuk mencari zat sitotoksik yang berpotensi mengobati sel kanker terutama kanker hati dan salah satunya menggunakan senyawa alami yang berasal dari tanaman obat (Susi *et al.* 2009; Handayani 2008).

Salah satu tanaman obat yang digunakan dan dimanfaatkan adalah daun sisik naga yang berpotensi sebagai antikanker, antioksidan, antibakteri, antipiretik dengan kandungannya yaitu senyawa flavonoid, tanin, steroid atau triterpenoid, minyak atsiri dan glikosida yang diduga berpotensi sebagai antikanker. Daun sisik naga digunakan masyarakat sebagai obat untuk menyembuhkan radang gusi, sariawan, pendarahan, rematik pada jaringan lunak, TBC paru – paru disertai batuk darah, dan kanker payudara. Daun sisik naga dapat juga digunakan untuk pengobatan gondongan (*Parotitis*), sakit kuning (*Jaundice*), sakit perut, sembelit, keputihan, pemakaian luar untuk penyakit kulit, seperti kudis dan kurap (Endrini 2009; Ratna *et al.* 2018; Rida *et al.* 2013; Dalimunthe dan Poppy 2011).

Aktivitas antikanker tersebut kemungkinan disebabkan oleh adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tumbuhan sisik naga yaitu flavonoid, saponin, tanin dan steroid yang kemungkinan dapat berperan sebagai antikanker (Wulandari *et al.* 2013).

Berdasarkan hasil uji sitotoksik dilakukan oleh Yuliani dan Maryati (2009) bahwa ekstrak etanol 70% dari tanaman sisik naga terhadap sel T47D dapat menghambat pertumbuhan sel kanker sebesar 69,20% pada konsentrasi 500 $\mu\text{g/mL}$. Susi (2009) menyatakan ekstrak sisik naga memiliki aktivitas antikarsinogenik terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC_{50} sebesar 83,63 $\mu\text{g/mL}$. Anwar (2013) menyatakan ekstrak metanol daun sisik naga memiliki efek sitotoksik terhadap sel leukemia P388 yang di tunjukan dengan nilai IC_{50} sebesar 19,32 $\mu\text{g/mL}$.

Hal tersebut yang menjadi landasan dilakukannya penelitian ini dengan ekstraksi daun sisik naga menggunakan etanol 70% terhadap kultur sel HepG2. Penelitian ini dilakukan untuk melihat aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun sisik naga dengan seberapa besar efek sitotoksik yang dihasilkan pada masing-masing konsentrasi. Pemilihan etanol yang bersifat polar dikarenakan pelarut ini dapat

menyari senyawa flavonoid dan steroid yang terkandung pada daun sisik naga. Metode penelitian yang digunakan adalah MTT (Microculture Tetrazolium) pada kultur sel kanker HepG2 yang ditunjukan dengan parameter nilai IC_{50} dan selektivitas sel Vero yang ditunjukan dengan indeks selektivitas. Ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel apabila memiliki nilai IC_{50} di bawah 100 $\mu\text{g/mL}$ (Rollando 2016). Rentang nilai IC_{50} bila $<10 \mu\text{g/mL}$ sangat aktif, 10-20 $\mu\text{g/mL}$ aktif, dan $>20 \mu\text{g/ml}$ dinyatakan kurang aktif, namun nilai IC_{50} 50-100 $\mu\text{g/mL}$ tetap berpotensi terhadap sel kanker (Freshney 2000). Ekstrak dikatakan bersifat selektif apabila mempunyai indeks selektivitas > 3 (Sutedjo 2016).

N. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang ada diatas, disusun suatu hipotesa dalam penelitian ini, yaitu :

Pertama, ekstrak etanol daun sisik naga memiliki nilai IC_{50} yang poten terhadap kultur sel kanker hati HepG2 kurang dari 100 $\mu\text{g/ml}$.

Kedua, nilai indeks selektivitas ekstrak etanol daun daun sisik naga terhadap sel kanker hati HepG2 lebih besar dari 3.