

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Akar Kuning**

##### **1. Klasifikasi tumbuhan**

Klasifikasi akar kuning menurut Backer dan van Der Brink (1965) adalah

Divisi : Spermatophyta  
Anak Divisi : Angiospermae  
Kelas : Dicotyledoneae  
Bangsa : Ranunculiales  
Suku : Menispermaceae  
Marga : Arcangelisia  
Jenis : *Arcangelisia flava* (L.) Merr.

##### **2. Nama lain tumbuhan**

*Arcangelisia flava* (L.) Merr. dikenal sebagai reuy ki koneng di daerah Sunda, wali bulan di daerah Ambon, kayu kuning di daerah Palembang, oyod koneng di daerah Madura, dan di daerah Jawa lebih dikenal dengan sebutan oyod sirawan atau sirawan kunyit (Hariana 2008).

##### **3. Morfologi tumbuhan**

Akar kuning merupakan tumbuhan liana, panjang sampai 20 m, hidup pada dataran rendah sampai 800 m di atas permukaan laut. Daunnya tebal dan kuat seperti kulit, berbentuk oval, tumpul, lebar daun 7 cm sampai 20 cm, permukaan atas mengkilap dan tangainya panjang. Bunganya berumah dua dengan ukuran kecil-kecil tersusun dalam rangkaian berupa *glabrous* 20 cm sampai 50 cm, tajuk bercuping putih kehijauan atau putih kekuningan (Subiandono & Heriyanto 2009).



**Gambar 1. Tumbuhan akar kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) (Balitbang Palangkaraya 2018).**

#### **4. Khasiat tumbuhan**

Akar kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) telah lama digunakan oleh masyarakat suku Dayak Kalimantan untuk mengobati berbagai penyakit seperti hepatitis, demam, infeksi, gangguan pencernaan, kecacingan, dan sariawan (Pratama 2016).

#### **5. Kandungan kimia**

Akar kuning memiliki beberapa senyawa kimia seperti flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid berberin yang terdapat pada bagian batang, tangkai, daun dan akar tanaman (Maryani *et al.* 2013). Senyawa kimia berberin adalah salah satu metabolit dari akar kuning yang diketahui menunjukkan aktivitas antikanker yang cukup baik pada berbagai jenis sel kanker. Aktivitas antikanker berberin salah satunya ditunjukkan dengan efek antiproliferasi sel kanker (Pratama, 2016).

### **B. Simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun dan berupa bahan yang telah dikeringkan (Utami *et al.* 2013). Simplisia dapat berupa simplisia nabati, hewani, dan pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh dan atau bagian tanaman. Simplisia hewani yaitu simplisia yang dapat berupa hewan utuh,

bagian dari hewan atau zat berguna yang dihasilkan hewan, tetapi bukan berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral yaitu simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah secara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Wahyuni *et al.* 2014).

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan seperti berikut (Wahyuni *et al.* 2014) :

### **1. Sortasi basah**

Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari tumbuhan sebelum pencucian dengan cara membuang bagian-bagian yang tidak perlu sebelum pengeringan, sehingga didapatkan herba yang layak untuk digunakan.

### **2. Pencucian**

Pencucian simplisia dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada tumbuhan. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya dari mata air, air sumur atau air PAM. Pencucian dilakukan sesingkat mungkin agar tidak menghilangkan zat berkhasiat dari tumbuhan tersebut.

### **3. Perajangan**

Perajangan dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Sebelum dirajang tumbuhan dijemur dalam keadaan utuh selama 1 hari. Perajangan dapat dilakukan dengan pisau, dengan alat mesin perajang khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki.

### **4. Pengeringan**

Salah satu proses pasca panen yang berperan penting terhadap mutu simplisia adalah proses pengeringan. Proses pengeringan berpengaruh terhadap kandungan senyawa kimia maupun efek farmakologis yang terkandung dalam suatu tanaman obat (Luliana *et al.* 2016). Pengeringan adalah proses perpindahan panas dan uap air dari permukaan bahan yang dengan menggunakan energi panas (Hardianti *et al.* 2017). Pengeringan simplisia berlangsung hingga diperoleh kadar air  $\leq 10\%$  (Wahyuni *et al.* 2014).

Terdapat berbagai metode dalam pengeringan simplisia antara lain pengeringan dengan sinar matahari langsung, pengeringan dengan alat buatan (*oven*), dan kering angin. Pengeringan dengan matahari langsung merupakan proses pengeringan yang paling ekonomis dan paling mudah dilakukan. Sinar ultra violet dari matahari juga dapat menimbulkan kerusakan pada kandungan kimia bahan yang dikeringkan. Pengeringan dengan oven dianggap lebih menguntungkan karena akan terjadi pengurangan kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat, akan tetapi penggunaan suhu yang terlalu tinggi dapat meningkatkan biaya produksi selain itu terjadi perubahan biokimia sehingga mengurangi kualitas produk yang dihasilkan. Sedangkan metode kering angin dianggap murah akan tetapi kurang efisien waktu dalam pengeringan simplisia (Winangsih *et al.* 2013).

### **5. Sortasi kering**

Sortasi kering dilakukan untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotor lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering.

### **6. Pengepakan dan penyimpanan**

Selama penyimpanan ada kemungkinan terjadi kerusakan pada simplisia. Untuk itu dipilih wadah yang bersifat tidak beracun dan tidak bereaksi dengan isinya sehingga tidak menyebabkan terjadinya reaksi serta penyimpangan warna, bau, rasa dan sebagainya pada simplisia. Untuk simplisia yang tidak tahan panas diperlukan wadah yang melindungi simplisia terhadap cahaya, misalnya aluminium foil, plastik atau botol yang berwarna gelap, kaleng dan sebagainya. Penyimpanan simplisia kering biasanya dilakukan pada suhu 150°C sampai 300°C.

## **C. Metode Penyarian**

### **1. Ekstraksi**

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut

yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan serbuk yang tersisa diberlakukan sedemikian sampai memenuhi baku yang ditetapkan (Depkes 1995). Ekstraksi adalah 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 adalah cara ekstraksi yang paling sederhana dan paling banyak digunakan. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif dan zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut terjadi berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Simplisia yang akan diekstraksi ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar bersama larutan penyari yang telah ditetapkan, bejana ditutup rapat kemudian dikocok berulang-ulang sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan simplisia. Rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya langsung untuk mencegah reaksi yang dikatalisis oleh cahaya atau perubahan warna (Indraswari 2008). Maserasi biasanya dilakukan pada suhu kamar selama 3 hari sampai bahan-bahan larut dalam cairan penyari. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengrajan dan peralatan yang digunakan sederhana, sedangkan kekurangannya adalah proses pengrajan yang lama dan penyariannya kurang sempurna (Setiani 2018). Pada remaserasi sebagian pelarut digunakan untuk maserasi lalu setelah penyaringan, residu digunakan lagi untuk kedua kalinya dengan sisa pelarut yang ada dan disaring kembali, lalu kedua filtrat digabungkan pada tahap akhir (Fauzana 2010).

Metode ekstraksi remaserasi dilakukan dengan cara sebagian serbuk dilarutkan dalam 10 bagian pelarut selama 24 jam sambil diaduk sekali-sekali pada 6 jam pertama, kemudian didiamkan selama 18 jam. Saring maserasi dan

residu hasil saringan digunakan kembali untuk ekstraksi kedua dengan jenis pelarut yang sama dan jumlah volume pelarut sebanyak setengah kali jumlah volume pelarut pada penyarian pertama. Semua maserat digabungkan lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental (Kemenkes RI 2013).

#### **D. Pelarut**

Pelarut adalah suatu zat untuk melarutkan zat lain dalam preparat larutan. Pada suatu 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. 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. Farmakope Indonesia III menetapkan sebagai cairan penyari adalah air, etanol, etanol-air dan eter (Triputra 2016).

Air dipertimbangkan sebagai penyari karena murah, mudah didapat, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun, alamiah, dan mampu mengekstraksi banyak bahan kandungan simplisia. Adapun kerugian air sebagai penyari adalah tidak selektif, diperlukan waktu yang lama untuk memekatkan ekstrak, sari dapat ditumbuhkapang atau kuman serta cepat rusak (Pratiwi 2010).

Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, dapat mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim (Pratiwi 2010). Cairan pengekstraksi yang biasa digunakan adalah campuran etanol dan air, dimana etanol sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal. Keuntungan etanol adalah tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut (Triputra 2016).

## **E. Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorbsi dan partisi yang ditentukan oleh fase diam (adsorben) dan fase gerak (eluen) (Alen *et al.* 2017).

KLT merupakan metode kromatografi paling sederhana yang banyak digunakan. Peralatan dan bahan yang dibutuhkan untuk melaksanakan pemisahan dan analisis sampel dengan metode KLT cukup sederhana yaitu sebuah bejana tertutup (*chamber*) yang berisi pelarut dan lempeng KLT. Dengan optimasi metode dan menggunakan instrumen komersial yang tersedia, pemisahan yang efisien dan kuantifikasi yang akurat dapat dicapai (Wulandari 2011).

Pelaksanaan analisis dengan KLT diawali dengan menotolkan alikuot kecil sampel pada salah satu ujung fase diam (lempeng KLT), untuk membentuk zona awal. Kemudian sampel dikeringkan. Ujung fase diam yang terdapat zona awal dicelupkan ke dalam fase gerak (pelarut tunggal ataupun campuran dua sampai empat pelarut murni) di dalam *chamber*. Jika fase diam dan fase gerak dipilih dengan benar, campuran komponen-komponen sampel bermigrasi dengan kecepatan yang berbeda selama pergerakan fase gerak melalui fase diam. Hal ini disebut dengan pengembangan kromatogram. Ketika fase gerak telah bergerak sampai jarak yang diinginkan, fase diam diambil, fase gerak yang terjebak dalam lempeng dikeringkan, dan zona yang dihasilkan dideteksi secara langsung (visual) atau di bawah sinar ultraviolet (UV) baik dengan atau tanpa penambahan pereaksi penampak noda yang cocok (Wulandari 2011).

## **F. Penyakit Kanker**

### **1. Definisi kanker**

Kanker adalah sel tubuh yang mengalami mutasi dan tumbuh tidak terkendali serta membelah lebih cepat dibandingkan dengan sel normal. Sel kanker tidak mengalami kematian, melainkan tumbuh terus dan bersifat invasif sehingga sel normal tubuh dapat terdesak atau mati (Kemenkes RI 2015).

Pembelahan sel pada kanker mengarah pada invasi jaringan di sekitarnya serta menyebar ke bagian lain dalam tubuh. Aktivitas proliferasi (pembelahan) yang tidak terkontrol akan membentuk jaringan abnormal yang disebut neoplasma. Namun, infeksi virus yang hanya sekali tidak dapat menginisiasi munculnya sel kanker. 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 kanker

Sel kanker memiliki perbedaan yang sangat signifikan dengan sel normal dalam tubuh. Sifat umum dari kanker ialah 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 sangat dibutuhkan 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 dengan karakteristik tersebut. Sel kanker akan terus hidup meski seharusnya mati. Mutasi dari gen *p53* menyebabkan proliferasi dan transformasi sel menjadi kehilangan kendali.

Sel kanker tidak mengenal komunikasi ekstraseluler atau asosial. Komunikasi ekstraseluler diperlukan untuk menjalin koordinasi sel sehingga mereka dapat saling menunjang fungsi masing-masing. Berdasarkan sifatnya yang asosial, sel kanker bertindak semaunya sendiri tanpa mempedulikan kebutuhan lingkungannya. 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.

Sel kanker mampu membentuk pembuluh darah baru (neoangiogenesis) untuk mencukupi kebutuhan pangan dirinya sendiri, pembuluh darah baru ini dapat mengganggu kestabilan jaringan tempat sel kanker tumbuh dan sel kanker memiliki kemampuan yang tidak terbatas dalam memperbanyak dirinya sendiri (proliferasi), meski seharusnya sel kanker sudah tidak dibutuhkan dan jumlahnya sudah melebihi kebutuhan yang seharusnya. Berdasarkan kemampuannya untuk memenuhi kebutuhan sinyal pertumbuhan dan kemampuan menghindari mekanisme apoptosis, sel kanker memiliki kemampuan tidak terbatas untuk bereplikasi. Sel-sel yang mengalami kerusakan genetik tidak peka lagi terhadap mekanisme regulasi siklus sel akan menyebabkan penyimpangan siklus sel dan salah satu akibatnya adalah pembentukan kanker atau karsinogenesis (Triputra 2016).

### **3. Pengobatan kanker**

**3.1 Pembedahan.** Tindakan pembedahan dimaksudkan untuk mengurangi ukuran tumor, meredakan nyeri, dan mencegah metastasis jika dilakukan sejak dini (Triputra 2016).

**3.2 Kemoterapi.** Kemoterapi dilakukan dengan cara menyuntikkan obat antikanker ke dalam pembuluh darah atau mengonsumsi obat antikanker. Melalui pembuluh darah, obat akan disebarluaskan ke seluruh tubuh sehingga dapat membunuh sel kanker yang telah menyebar ke organ jauh lainnya. Selain dapat membunuh sel kanker, kemoterapi juga memiliki efek samping merusak sel tubuh normal, mual muntah, hilangnya nafsu makan, rambut rontok, serta berpengaruh pada sumsum tulang belakang yang berfungsi memproduksi sel-sel darah. Hal tersebut menyebabkan tubuh menjadi rentan terkena infeksi, mudah terjadi memar atau perdarahan, serta anemia (Handayani *et al.* 2012).

**3.3 Radioterapi.** Radioterapi dapat digunakan sebagai terapi kuratif, paliatif maupun profilaksis (preventif). Dalam radioterapi, digunakan radiasi

pengion karena dapat membentuk ion (partikel bermuatan listrik) dan menyimpan energi ke sel-sel jaringan yang melewatinya. Energi yang tersimpan ini dapat membunuh sel kanker atau menyebabkan perubahan genetik yang mengakibatkan kematian sel kanker. Penghantaran radiasi terhadap lokasi kanker dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu radioterapi eksternal dan *brachytherapy* atau terapi radiasi internal. Radioterapi eksternal adalah radioterapi yang dipaparkan ke tubuh secara eksternal menggunakan mesin perawatan, sedangkan pada *brachytherapy*, sumber radiasi temporer atau permanen ditempatkan ke dalam rongga tubuh (Fitriatuzzakiyyah *et al.* 2017). Efek samping radioterapi diantaranya rasa lelah, gangguan lambung, mual, dan muntah. Keluhan dapat bertambah jika radioterapi dikombinasikan dengan kemoterapi. Efek samping yang juga sering ditemui adalah perubahan pada kulit di sekitar daerah yang mengalami radioterapi. Selain itu, radiasi juga dapat mengakibatkan anemia (penurunan jumlah sel darah merah) dan leukopenia (penurunan sel darah putih) sehingga menyebabkan tubuh menjadi rentan terhadap infeksi (Handayani *et al.* 2012).

**3.4 Terapi *Photodynamic* (PDT).** *Photodynamic therapy* (PDT) menggunakan sumber cahaya untuk mengaktifkan obat fotosensitiser untuk mengobati kanker dan penyakit-penyakit lain. PDT adalah modalitas terapi yang terbukti secara klinis minimal invasif, yang dapat menghasilkan aktifitas sitotoksik selektif terhadap sel-sel ganas. Prosedur PDT terdiri dari beberapa tahap, yaitu pemberian obat fotosensitiser, diikuti dengan penyinaran daerah kanker dengan cahaya dengan panjang gelombang yang sesuai dengan daya absorpsi obat fotosensitiser. Dengan adanya oksigen sel, terjadi beberapa reaksi yang menyebabkan kematian sel tumor secara langsung, kerusakan mikrovaskuler, dan induksi reaksi inflamasi lokal (Indrasari 2016).

**3.5 Imunoterapi/bioterapi.** Terapi jenis ini juga disebut sebagai terapi biologi, merupakan jenis pengobatan kanker yang menggunakan sistem imun tubuh untuk melawan kanker. Imunoterapi digunakan untuk memprovokasi sistem imun tubuh dengan menyerang antigen tersebut sebagai target (Suddin 2017).

## G. Siklus Sel

Sel kanker seringkali dikatakan sebagai sel yang berproliferasi lebih cepat dibandingkan dengan keadaan normalnya. Sel kanker dapat berada dalam tiga keadaan yaitu sedang membelah (siklus proliferatif), dalam keadaan istirahat (tidak membelah), dan secara permanen tidak membelah (Heti 2008). Sel kanker yang sedang membelah terdapat dalam 4 fase, yaitu :

### **1. Fase G1 (*growth phase-1/pasca mitosis*)**

Fase G1 dipersiapkan suatu interval dalam proses pembelahan sel dan dimulai dengan sintesis DNA. Pada fase ini, 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, dalam fase G0 yang masih potensial untuk berproliferasi disebut sel klonogenik atau sel induk (*stem cell*), sel inilah yang menambah jumlah sel kanker dalam siklus proliferasi dan dalam fase G0 (Anggrianti 2008).

### **2. Fase S (sintesis DNA)**

Fase ini merupakan saat terjadinya replikasi DNA. Dalam fase sintesis ini berlangsung perbaikan DNA yang dapat untuk mencegah berkembangnya generasi kanker. Fase ini berlangsung kira-kira 6-8 jam (Heti 2008).

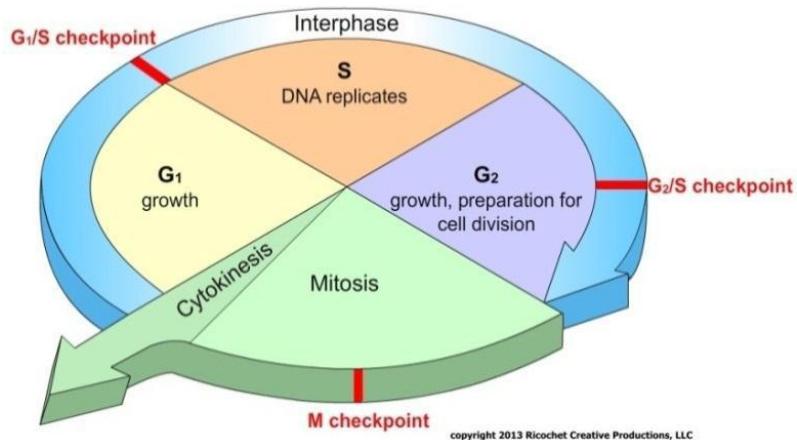
### **3. Fase G2 (*growth phase-2/prá mitosis*)**

Sel yang telah masuk dalam fase G2 memiliki ciri-ciri sel berbentuk tetraploid, mengandung DNA dua kali lebih banyak daripada fase lain dan masih berlangsung sintesis RNA dan protein (Heti 2008).

### **4. Fase Mitosis**

Sewaktu mitosis berlangsung, sintesis protein dan RNA berkurang secara tiba-tiba, berlangsung pemisahan sel menjadi dua sel anakan dengan sifat dan karakteristiknya yang sama induknya. Berdasarkan morfologinya proses ini dapat

dibagi menjadi 4 subfase yaitu profase, metaphase, anafase dan telofase. Fase ini berlangsung sekitar 30-60 menit (Heti 2008).



**Gambar 2. Fase siklus sel.**

## H. Kanker Hati

Kanker hati (hepatoma) merupakan kanker nomor lima tersering di Indonesia. Dalam kelompok penyakit hati, kanker ini menduduki tempat ketiga setelah sirosis hati dan hepatitis virus. Di Indonesia, kanker ini mematikan lebih dari satu juta orang per tahun. Penyebab pasti hepatoma belum diketahui tetapi penyakit ini paling banyak ditemukan pada penderita sirosis hati (pengerasan hati), hepatitis B, dan pada penderita hepatitis C, sehingga para penderita tersebut dimasukkan dalam kelompok berisiko tinggi mendapatkan kanker hati (Rasyid 2006).

Hepatitis adalah peradangan hati yang pada umumnya disebabkan oleh infeksi virus. Terdapat lima virus hepatitis utama, yaitu HAV, HBV, HCV, HDV dan HEV. Virus hepatitis B dan C menyebabkan penyakit kronis pada ratusan juta orang secara bersama-sama, serta merupakan penyebab paling umum dari sirosis hati dan kanker (Trisnaningtyas *et al.* 2017).

Hepatitis B merupakan infeksi serius yang ditularkan secara vertikal maupun horizontal melalui darah atau cairan tubuh (Trisnaningtyas *et al.* 2017). Virus hepatitis B (VHB) merupakan virus DNA yang termasuk dalam famili virus *Hepadnaviridae*. Virus ini secara spesifik menyerang sel hati, namun sebagian

kecil DNA hepatitis juga dapat ditemukan di ginjal, pankreas, dan sel mononuklear (Amtarina *et al.* 2009). Ada dua cara penularan virus hepatitis B, yaitu secara horisontal dan vertikal. Penularan horisontal adalah penularan dari pengidap hepatitis B ke orang lain, paling sering melalui suntikan, produk-produk darah, kontak seksual, pecandu narkoba karena memakai alat suntik bersama dan dipakai berulang kali. Diketahui bahwa antara keluarga yang serumah lebih mudah tertular bila ada pengidap hepatitis B dan diduga penularan melalui air liur. Penularan vertikal adalah penularan dari ibu pengidap hepatitis B ke bayi yang baru lahir. Penularan secara vertikal paling banyak menyebabkan hepatitis kronis, lebih kurang 80-90% akan menjadi pengidap hepatitis B. Dengan dilakukannya vaksinasi secara massal, maka tingkat kronisitas hepatitis B dapat menurun (Hilman *et al.* 2002).

Hepatitis C adalah peradangan hati yang disebabkan oleh Virus Hepatitis C (HCV), yaitu virus yang bergenom RNA untai tunggal dan dikategorikan ke dalam kelompok *Flaviviridae*. Dalam perjalanan penyakitnya hepatitis C dapat menjadi infeksi akut dan infeksi kronis, dimana dari infeksi kronis tersebut dapat berkembang menjadi fibrosis dan kanker hati (Rinanda 2012). Hepatitis C paling mudah ditularkan melalui rute parenteral seperti penggunaan narkotika suntik dan transfusi darah (Kurniawati *et al.* 2015).

Sebanyak 52% kasus hepatoma di dunia akibat terinfeksi kronik virus hepatitis B dan 25% kasus pada penderita terinfeksi kronis virus hepatitis C (Hidayat, 2007). Penyebab lain penyakit ini antara lain aflatoxin, sirosis hati, dan alkohol. Sedangkan faktor risiko lain yang berperan menimbulkan kanker hati adalah penyakit hati autoimun, penyakit hati metabolismik, dan zat-zat kimia (Butar 2013).

Pemeriksaan Alfa Feto Protein (AFP), ultrasonografi (USG), *Computed Tomographic Scanning (CT Scan)*, *Magnetic Resonance Imaging (MRI)* sangat penting untuk menegakkan diagnosis dan mengetahui ukuran tumor. Dengan kemajuan teknologi yang semakin canggih, kanker hati seluler yang sekecil apapun sudah dapat dideteksi sejak dini terutama dengan pendekatan radiologi yang akurasinya 70-95% dan pendekatan AFP yang akurasinya 60-70%. Kriteria

diagnosa kanker hati menurut PPHI (Perhimpunan Peneliti Hati Indonesia), yaitu : hati membesar berbenjol-benjol, AFP meningkat lebih dari 500 mg/ml, pada hasil USG, CT Scan, MRI, *Positron Emission Tomography* (PET), *Peritoneoscopy*, dan biopsi menunjukan adanya karsinoma hepatoseluler (Sunanda *et al.* 2010).

### **I. Sel *HepG2***

Sel *HepG2* adalah salah satu *cell line* kanker manusia yang paling banyak digunakan dalam penelitian biomedis. Sel ini diisolasi dari biopsi hati seorang pria Kaukasia berusia 15 tahun, dengan karsinoma hepatoseluler yang terdiferensiasi dengan baik. Sel *HepG2* telah banyak digunakan dalam berbagai bidang seperti metabolisme hati, perkembangan, onkogenesis (kemokarsinogenesis dan mutagenesis), hepatotoksitas, studi tentang metabolisme obat, kanker, mekanisme pengaturan gen dan penemuan biomarker (Dolores *et al.* 2009; Bo Zhou *et al.* 2019). Sel *HepG2* merupakan *cell line* hepatokarsinoma yang telah sukses dikultivasi. Sel ini memiliki tingkat diferensiasi morfologi dan fungsional yang tinggi, serta lebih stabil dan seragam dibandingkan sel hati primer (Nuralih *et al.* 2018).

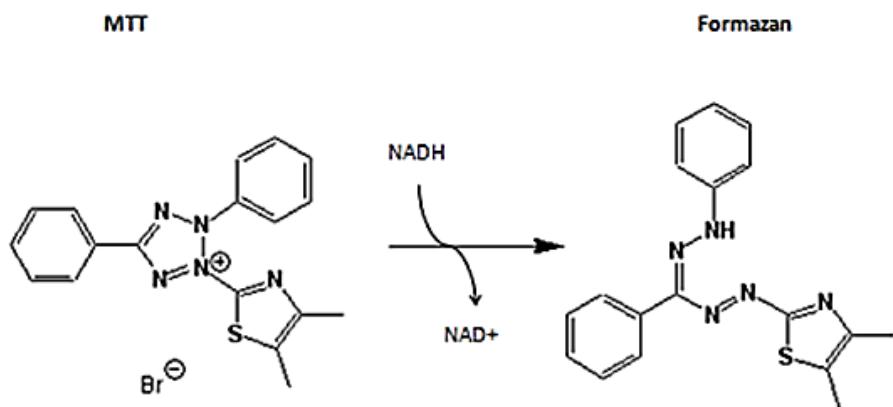
### **J. Uji Sitotoksitas**

Senyawa sitotoksik adalah suatu senyawa atau zat yang dapat merusak sel normal dan sel kanker, serta dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan sel tumor malignan (Tianandari & Rasidah 2017). Uji sitotoksitas merupakan uji *in vitro* dengan menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi tingkat ketoksikan suatu senyawa. Sistem tersebut merupakan uji kuantitatif dengan menetapkan kematian sel. Dasar dari percobaan tersebut antara lain bahwa sistem penetapan aktivitas biologis seharusnya memberikan kurva dosis respon yang menunjukkan hubungan lurus dengan jumlah sel (Winarno 2011). Metode yang paling umum digunakan untuk uji sitotoksitas adalah metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan biru tripan (*trypan blue*) dan metode MTT (*Microculture Tetrazolium Technique*) assay (Triputra 2016).

Uji sitotoksitas digunakan untuk menentukan parameter nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Semakin besar nilai  $IC_{50}$  maka senyawa tersebut semakin tidak toksik (Winarno 2011). Nilai  $IC_{50}$  yang kecil menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki efek sitotoksik yang tinggi. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka makin poten senyawa uji tersebut (Rahardhian & Dwi 2018). Aktivitas sitotoksik dari suatu senyawa yang menyerang sel-sel kanker dapat diklasifikasikan menjadi tiga kategori, yaitu sangat aktif jika  $IC_{50} < 10 \mu\text{g/ml}$ , aktif jika  $IC_{50} 10-100 \mu\text{g/ml}$ , dan cukup aktif jika  $IC_{50} 100-500 \mu\text{g/ml}$ . Senyawa dikatakan tidak memiliki aktivitas sitotoksik jika nilai  $IC_{50} > 500 \mu\text{g/ml}$  (Sirait *et al.* 2019).

### **K. Metode MTT assay**

Menurut CCRC (*Cancer Chemoprevention Research Center*) Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, prinsip dari metode MTT (*Microculture Tetrazolium Technique*) assay adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) oleh sistem reduktase. Suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Penambahan *reagen stopper* akan melarutkan kristal berwarna ini yang kemudian diukur absorbansinya menggunakan *ELISA reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, maka berarti jumlah sel hidup semakin banyak. Reduksi garam tetrazolium merupakan cara yang dapat dipercaya untuk mendeterminasi proliferasi sel. Garam tetrazolium MTT yang berwarna kuning berkurang sebagai akibat dari aktivitas metabolisme sel terutama oleh kerja enzim suksinat dehidrogenase dengan bantuan NADPH menjadi produk berwarna biru gelap yang disebut formazan (Nursid *et al* 2006 ; Triputra 2016).



Gambar 3. Reaksi reduksi MTT assay.

Metode MTT ini berdasarkan dengan mekanisme pembentukan kristal formazan yang berkorelasi dengan jumlah sel yang hidup. MTT akan pecah menjadi formazan oleh sistem reduktase suksinat tetrazolium yang dimiliki oleh rantai pernafasan mitokondria yang hanya aktif terhadap sel hidup. Kompleks warna formazan tidak larut dalam air dan berwarna ungu. Untuk menghentikan reaksi diberikan reagen stopper SDS (*sodium duodecyl sulphate*) 10% dalam HCl 0,01 N. Intensitas warna ungu ditetapkan secara spektfotometri dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 550 nm. Intensitas warna ungu yang terbentuk sebanding dengan jumlah sel hidup, sehingga jika intensitas warna ungu makin tinggi maka jumlah sel hidup semakin banyak (Rahardhian & Dwi 2018).

## L. Uji Indeks Selektivitas

Nilai indeks selektivitas (SI) suatu senyawa bertujuan untuk mengetahui tingkat keamanan suatu senyawa antikanker terhadap sel normal. Nilai SI yang disyaratkan adalah  $> 3$ , yang menandakan bahwa ekstrak mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker tapi dengan pengaruh minimal pada sel normal, dan dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai agen kemopreventif (Rollando 2017). Ekstrak dikatakan mempunyai selektivitas yang tinggi apabila nilai  $SI \geq 3$ , dan dikatakan kurang selektif apabila nilai  $SI < 3$  (Sutejo *et al* 2016)

### **M. Sel Vero**

Sel Vero merupakan sel *line* yang berasal dari ginjal monyet hijau dari Afrika (*African green monkey*) yang dikultur pertama kali oleh Yasumura dan Kawakita pada tahun 1962. Sel ini berbentuk poligonal dan pipih, merupakan sel monolayer, homolog dengan sel tubuh manusia dan mudah dibiakkan. Sel ini menempel dengan kuat pada lapisan substrat yang berbahan polistiren dan membentuk ikatan kovalen. Sel Vero yang sehat berbentuk triangular dan akan berubah menjadi bentuk *round-off* jika berinteraksi dengan senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik. Sel Vero dapat disimpan dalam nitrogen cair atau pada suhu -80°C dalam waktu yang lama. Stok beku sel Vero memerlukan pengembangbiakan terlebih dahulu sebelum dilakukan eksperimen (Ammerman *et al.* 2008 ; Sutejo *et al.* 2016 ; Triatmoko *et al.* 2016).

Sel Vero pada penelitian dapat digunakan untuk mempelajari pertumbuhan sel, diferensiasi sel, sitotoksitas dan transformasi sel yang diinduksi oleh berbagai senyawa kimia. Adanya sel Vero memudahkan dalam mempelajari perubahan sel yang meliputi pertumbuhan dan morfologinya akibat induksi berbagai senyawa kimia (Triputra 2016). Ada beberapa sel *line* Vero yang tersedia secara komersial seperti Vero, Vero 76, Vero E6, tetapi semuanya tetap berasal dari sumber yang sama (Ammerman *et al.* 2008).

### **N. Landasan Teori**

Kanker adalah penyakit akibat pertumbuhan tidak normal dari sel-sel jaringan tubuh yang berubah menjadi sel kanker. Perkembangan sel kanker dapat menyebar ke bagian tubuh lainnya sehingga dapat menyebabkan kematian. Para peneliti kanker menyimpulkan bahwa 70-90% kanker pada manusia dapat pula disebabkan oleh faktor-faktor lingkungan, makanan, konsumsi alkohol, rokok, polusi udara, air, bahkan kimia di tempat kerja, radiasi, dan sinar ultraviolet (Triputra 2016).

Kanker hati merupakan salah satu jenis kanker yang makin meningkat jumlah penderitanya dari tahun ke tahun. Umumnya penatalaksanaan kanker hati

adalah melalui kombinasi antara pembedahan dan kemoterapi. Akan tetapi, kebanyakan agen kemoterapi dapat menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan dan dapat menyebabkan resistensi. Oleh karena itu, pencarian akan bahan yang dapat digunakan untuk membunuh sel kanker hati dan bersifat selektif terus dilakukan oleh para ahli (Susi *et al* 2009).

Tanaman akar kuning (*Arcangelisia flava* Merr.) telah lama digunakan oleh masyarakat suku Dayak Kalimantan untuk mengobati berbagai jenis penyakit, bahkan dalam penelitian sebelumnya disebutkan bahwa akar kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) memiliki berbagai aktivitas farmakologi, diantaranya sebagai antimalaria, antibakteri, antioksidan, antijamur, antidiabetes, antidepresan, bahkan memiliki potensi untuk terapi antikanker (Pratama 2016).

Salah satu kandungan akar kuning yang berkhasiat sebagai sitotoksik adalah senyawa alkaloid berberin, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ulfa dan Ema (2015) menyebutkan bahwa batang akar kuning mengandung senyawa alkaloid berberin. Penelitian yang dilakukan Keawpradub *et al.* (2005) menyebutkan bahwa ekstrak kloroform dan ekstrak metanol kulit batang akar kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) memiliki aktivitas sitotoksik dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 210-278  $\mu$ g/ml terhadap larva udang *Artemia salina* L dan IC<sub>50</sub> sebesar 8-12  $\mu$ g/ml terhadap sel MCF-7 dan penelitian dari Kolina *et al.* (2015) menyebutkan bahwa ekstrak etanol batang akar kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) memiliki efek sitotoksik terhadap larva udang *Artemia salina* L dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 32,66  $\mu$ g/ml. Penelitian dari Haryanti & Yuli (2017) menyebutkan bahwa ekstrak air akar *Arcangelisia flava* (L.) Merr. memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC<sub>50</sub> 216,3  $\mu$ g/ml.

Hal tersebut yang menjadi landasan dilakukannya penelitian dengan mengekstraksi batang akar kuning menggunakan etanol 70% terhadap kultur sel *HepG2* ini, agar melihat seberapa besar sitotoksik yang dihasilkan pada masing-masing konsentrasi dan mengetahui apakah ekstrak etanol batang akar kuning memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai senyawa antikanker.

## O. Hipotesis

Terdapat 3 hipotesis dalam penelitian ini, yaitu :

1. Ekstrak etanol batang akar kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) memiliki aktivitas antikanker terhadap kultur sel kanker hati *HepG2* dengan nilai  $IC_{50} < 100 \mu\text{g/ml}$ .
2. Nilai indeks selektivitas ekstrak etanol batang akar kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) terhadap sel kanker hati *HepG2* lebih besar dari 3,00.
3. Ekstrak etanol batang akar kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr.) selektif terhadap kultur sel kanker hati *HepG2*.