

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker

2.1.1. Epidemiologi

Pada tahun 2000, kanker telah didiagnosis pada sepuluh juta orang dan menyebabkan kematian sekitar 6,2 juta di seluruh dunia, terjadi peningkatan sekitar 22% sejak tahun 1990. Kanker menjadi penyebab kematian 10% dari morbiditas total di seluruh dunia dan berada pada urutan kedua setelah penyakit kardiovaskular dan menjadi penyebab utama kematian di negara-negara maju. Meskipun kanker dianggap sebagai masalah di negara-negara maju, sekitar dua pertiga dari semua kanker terjadi di tiga perempat penduduk dunia yang hidup di negara-negara yang sedang berkembang. Di seluruh dunia, terdapat sekitar 22 juta orang penderita kanker. Jumlah kasus kanker di seluruh dunia diprediksikan akan mengalami peningkatan (WHO, 2003).

15 juta kasus baru setiap tahun pada tahun 2020. Hal ini terutama berhubungan dengan bertambahnya masa hidup banyak penduduk, kemajuan ilmu kedokteran di dalam mengobati penyakit tidak menular

lain, dan juga kecenderungan kebiasaan merokok dan gaya hidup tidak sehat masyarakat yang mengarah pada peningkatan munculnya jenis kanker tertentu (WHO, 2003).

2.1.2. Prinsip Dasar Perawatan Kanker

Invasi, proliferasi sel tumor dan penghambatan angiogenesis merupakan target mekanisme perawatan antikanker. Sel kanker mengalami kematian dengan disregulasi jalur apoptosis yang relevan, tetapi dapat juga dipicu untuk mati dengan kemoterapi konvensional maupun obat-obatan modern lainnya (Liotta & Kohn, 2003).

Eradikasi lengkap sel kanker, diperlukan untuk membunuh sel stem kanker, yaitu sel yang dapat memperbaharui diri, proliferasi, dan regenerasi baik tumor primer maupun metastatik. Terdapat bukti bahwa apoptosis dapat secara selektif memicu sel stem kanker dan tidak pada sel stem somatik normal (Revianti & Parisihni, 2005).

Selama kemoterapi sitotoksik, apoptosis pada sel tumor didahului oleh apoptosis sel endotel pembuluh darah sekitar tumor. Pemberian inhibitor angiogenesis tidak hanya secara langsung menimbulkan efek sitotoksik terhadap sel tumor namun dapat meningkatkan apoptosis dan menghambat pertumbuhan sel tumor (Field, 2005).

Obat kemoterapi konvensional saat ini lebih bersifat efektif merawat satu subset penyakit ini dengan menghambat produk gen yang diekspresikan pada kanker tertentu. Namun, karena gen sel kanker sangat tidak stabil

serta perubahan gen terus terjadi sehingga mengubah karakteristik baik tumor primer maupun massa metastatiknya, maka hal tersebut tidak menjamin bahwa bahan kemoterapi tersebut dapat menghambat progresi penyakit. Sebaliknya, bahan kemoterapi yang secara efektif dapat menghambat angiogenesis terlihat lebih efektif pada hampir semua tumor karena bahan tersebut bekerja pada sistem vaskularisasi dengan sel endotel yang lebih stabil (Sudiana, 2008).

2.2 Sambung nyawa (*Gynura procumbens*)

2.2.1. Pengertian dan Pengaruh

Daun tanaman *Gynura procumbens* atau sering disebut tanaman sambung nyawa mengandung flavonoid, terpenoid dan asam fenolat yang diduga bertanggung jawab atas efek kemopreventif yang ditimbulkan. Secara *in vitro* dan *in vivo*, ekstrak etanol daun sambung nyawa menunjukkan aktivitas sebagai penghambat dan penekan terjadinya karsinogenesis. Ekstrak etanol dan fraksi fenolik daun sambung nyawa telah terbukti dapat menghambat proliferasi sel HeLa dan sel T47D serta memacu terjadinya apoptosis. Pemacuan apoptosis tersebut di antaranya melibatkan peningkatan ekspresi p53 dan Bax serta aktivasi *Caspase-7* (Meiyanto, 2007).

Ekstrak etanol daun sambung nyawa juga telah terbukti memiliki efek antiangiogenesis pada membran korioalantoik telur ayam yang diinduksi bFGF. Secara *in vivo*, ekstrak etanol daun sambung nyawa menghambat

pertumbuhan kanker paru pada mencit dan kanker payudara pada tikus yang diinduksi *benzo[a]piren*. Sebagai dasar aplikasi ko-kemoterapi dengan obat sitostatik, telah diteliti efek sinergisme yang terjadi pada fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sambung nyawa dengan *doxorubicin* pada sel kanker payudara T47D. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengembangkan sambung nyawa sebagai agen kemopreventif serta pengaplikasinya (Septisetyani, 2005).

2.2.2. Sambung nyawa Sebagai Kemopreventif

Ekstrak etanol daun sambung nyawa terbukti menghambat pertumbuhan sel myeloma dan dapat menghambat pertumbuhan kanker pada tikus yang diinduksi DMBA. Usaha penemuan antikanker yang spesifik dan selektif terhadap sambung nyawa terus dilakukan. Fraksinasi ekstrak etanol daun sambung nyawa untuk mengetahui senyawa aktif yang berperan sebagai antikanker telah dilakukan (CCRC, 2008).

Fraksi etil asetat ekstrak etanol sambung nyawa mengandung senyawa flavonoid yang mengarah pada golongan favon atau flavonol. Senyawa flavonoid yang ditemukan pada fraksi *heksana-etil asetat XIX* dan *XX* ekstrak etanol daun sambung nyawa mempunyai nilai sebesar 119 µg/ml terhadap sel kanker leher rahim HeLa (Septisetyani, 2005).

Senyawa flavonoid yang ditemukan dalam fraksi heksan-etil asetat *XII* dan *XIII* ekstrak etanol daun sambung nyawa mampu menghambat sel kanker payudara T47D dengan IC₅₀ sebesar 80 µg/ml (CCRC, 2008). Penelitian

lebih lanjut melaporkan bahwa flavonoid yang diisolasi dari fraksi etil asetat ekstrak etanol daun sambung nyawa memiliki efek sitotoksik terhadap sel T47D dan diamati adanya peningkatan ekspresi p53 dan Bax (Ren *et al.*, 2003).

Senyawa flavonoid juga dapat menghambat proliferasi melalui inhibisi proses oksidatif yang dapat menyebabkan inisiasi kanker. Mekanisme ini diperantarai penurunan enzim *xanthin oksidase*, *siklooksigenase* (COX) dan *lipooksigenase* (LOX) yang diperlukan dalam proses prooksidasi sehingga menunda siklus sel (Ren *et al.*, 2003).

Aktivitas antikanker juga ditunjukkan flavonoid melalui induksi apoptosis. Flavonoid menghambat ekspresi enzim *topoisomerase I* dan *topoisomerase II* yang berperan dalam katalisis pemutaran dan relaksasi DNA. Inhibitor enzim *topoisomerase* akan menstabilkan kompleks *topoisomerase* dan menyebabkan DNA terpotong dan mengalami kerusakan. Kerusakan DNA dapat menyebabkan terekspresinya protein proapoptosis seperti Bax dan Bak dan menurunkan ekspresi protein- protein antiapoptosis yaitu Bcl-2 dan Bcl-X_L. Dengan demikian pertumbuhan sel kanker terhambat. Sebagian besar flavonoid telah terbukti mampu menghambat proliferasi pada berbagai sel kanker pada manusia namun bersifat tidak toksik pada sel normal manusia (Ren *et al.*, 2003).

Senyawa golongan flavonoid mampu menghambat proses karsinogenesis baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Penghambatan terjadi pada tahap

inisiasi, promosi maupun progresi melalui mekanisme molekuler antara lain inaktivasi senyawa karsinogen, antiproliferatif, penghambatan angiogenesis dan daur sel, induksi apoptosis, dan aktivitas antioksidan (Ren *et al.*, 2003). Sifat antioksidan dari senyawa flavonoid juga dapat menghambat proses karsinogenesis. Fase inisiasi kanker seringkali diawali melalui oksidasi DNA yang menyebabkan mutasi oleh senyawa karsinogen (Kakizoe, 2003).

Kelangsungan hidup sel kanker juga dapat ditekan melalui penghambatan angiogenesis oleh flavonoid melalui penghambatan angiogenesis, sel kanker akan mengalami kematian karena tidak mendapat suplai nutrisi dan oksigen. Berdasarkan penelitian ekstrak etanol daun sambung nyawa mampu menghambat angiogenesis pada embrio ayam dan otak tikus (Matter, 2000).

Oleh karena adanya penghambatan pembentukan pembuluh darah baru oleh sambung nyawa, maka terapi kanker dengan menggunakan sambung nyawa tidak diperkenankan untuk ibu hamil. Selama proses kehamilan terjadi pembentukan pembuluh-pembuluh darah baru untuk mensuplai kebutuhan janin akan nutrisi dan oksigen. Apabila angiogenesis dihambat, janin akan mengalami kematian karena tidak mendapat suplai nutrisi dan oksigen (Jenie *et al.*, 2006).

Selain kandungan flavonoid, dalam daun sambung nyawa juga terdapat senyawa-senyawa lain yang juga memiliki aktivitas sebagai antikanker.

Dalam fraksi *heksan-etil asetat XII-XIII* ekstrak etanol daun sambung nyawa juga mengandung asam fenolat dan terpenoid. Senyawa golongan fenolat dan terpenoid juga terdapat dalam fraksi *heksan-etil asetat IX-X* (CCRC, 2008).

Asam fenolat sederhana yang dimiliki oleh daun sambung nyawa antara lain asam kafeat, asam p-kumarat, asam p-hidroksi benzoat dan asam fenolat (Harborne, 2004). Dari golongan asam fenolat, asam kafeat mempunyai efek yang paling besar. Senyawa golongan fenolat secara *in vitro* memiliki aktivitas antiproliferatif dan dapat memacu terjadinya apoptosis pada sel kanker payudara T47D. Asam kafeat dapat menurunkan ekspresi protein antiapoptosis yaitu Bcl-2 sehingga terjadi induksi apoptosis (Kampa *et al.*, 2003).

Senyawa-senyawa yang terkandung di dalam daun sambung nyawa memiliki kemampuan untuk menghambat proses karsinogenesis dengan yang target spesifik. Ekstrak etanol daun sambung nyawa bersifat sitotoksik pada sel myeloma dan kurang toksik terhadap sel vero dan sel limfosit dibandingkan doxorubicin sebagai obat sitostatik. Oleh karena itu, senyawa-senyawa dalam ekstrak etanol daun sambung nyawa berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen kemopreventif (CCRC, 2008).

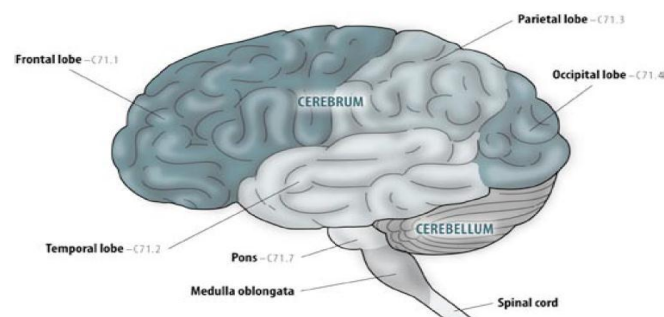
Dosis efektif pemberian ekstrak daun sambung nyawa ialah 500 mg/kgBB dengan jalur peroral. Dengan dosis ini senyawa flavonoid didalamnya

mampu memberikan efek kemopreventif dalam pengobatan antikanker. Namun dalam peningkatan dosis pemberian ekstrak sambung nyawa mampu memberikan efek toksik di berbagai organ tubuh seperti otak, hati, lambung, jantung, dan sel darah (Meiyanto, 2007).

2.3 Otak

2.3.1. Anatomi Otak

Otak terdiri dari serebrum, serebelum, dan batang otak yang dibentuk oleh mesensefalon, pons, dan medulla oblongata. Bila kalvaria dan dura mater disingkirkan, di bawah lapisan arachnoid mater kranialis dan pia mater kranialis terlihat *gyrus*, sulkus, dan fisura korteks serebri. Sulkus dan fisura korteks serebri membagi hemisfer serebri menjadi daerah lebih kecil yang disebut lobus (Moore & Anne, 2012).



Gambar 2.1. Bagian-bagian Otak (CDC, 2004).

Seperti terlihat pada gambar di atas, otak terdiri dari tiga bagian, yaitu:

1. Serebrum (Otak Besar)

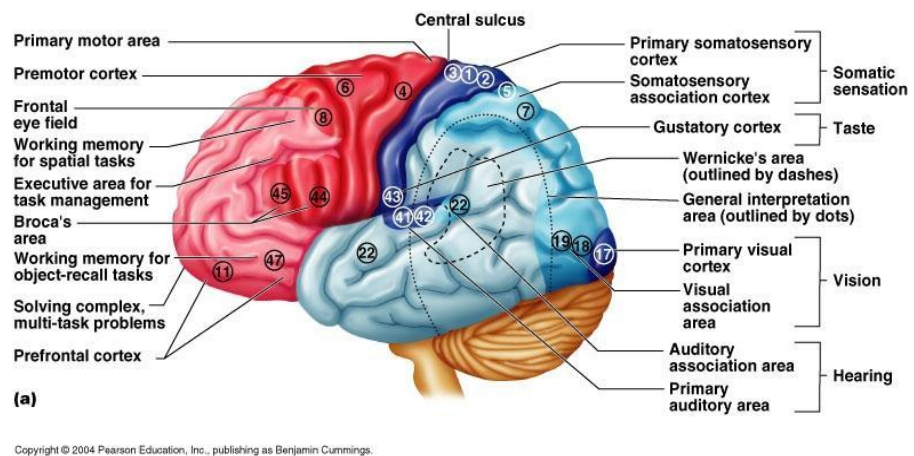
Serebrum adalah bagian terbesar dari otak yang terdiri dari dua hemisfer. Hemisfer kanan berfungsi untuk mengontrol bagian tubuh sebelah kiri dan hemisfer kiri berfungsi untuk mengontrol bagian

tubuh sebelah kanan. Masing-masing hemisfer terdiri dari empat lobus. Bagian lobus yang menonjol disebut *gyrus* dan bagian lekukan yang menyerupai parit disebut sulkus. Keempat lobus tersebut masing-masing adalah lobus frontal, lobus parietal, lobus oksipital dan lobus temporal (CDC, 2004).

- a. Lobus parietal merupakan lobus yang berada di bagian tengah serebrum. Lobus parietal bagian depan dibatasi oleh sulkus sentralis dan bagian belakang oleh garis yang ditarik dari sulkus parieto-oksipital ke ujung posterior sulkus lateralis. Daerah ini berfungsi untuk menerima impuls dari serabut saraf sensorik thalamus yang berkaitan dengan segala bentuk sensasi dan mengenali segala jenis rangsangan somatik (Ellis, 2006).
- b. Lobus frontal merupakan bagian lobus yang ada di bagian paling depan dari serebrum. Lobus ini mencakup semua korteks anterior sulkus sentral dari Rolando. Pada daerah ini terdapat area motorik untuk mengontrol gerakan otot-otot, gerakan bola mata; area broca sebagai pusat bicara dan area prefrontal yang mengontrol aktivitas intelektual (Ellis, 2006).
- c. Lobus temporal berada di bagian bawah dan dipisahkan dari lobus oksipital oleh garis yang ditarik secara vertikal ke bawah dari ujung atas sulkus lateral. Lobus temporal berperan penting dalam kemampuan pendengaran, pemaknaan informasi dan bahasa dalam bentuk suara (Ellis, 2006).

d. Lobus oksipital berada di belakang lobus parietal dan lobus temporal. Lobus ini berhubungan dengan rangsangan visual yang memungkinkan manusia mampu melakukan interpretasi terhadap objek yang ditangkap oleh retina mata (Ellis, 2006).

Apabila diuraikan lebih detail, setiap lobus masih bisa dibagi menjadi beberapa area yang punya fungsi masing-masing, seperti terlihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 2.2 Area Otak (CDC, 2004).

2. Serebelum (Otak Kecil)

Serebelum atau otak kecil adalah komponen terbesar kedua otak. Serebelum terletak di bagian bawah belakang kepala, berada di belakang batang otak dan di bawah lobus oksipital, dekat dengan ujung leher bagian atas. Serebelum adalah pusat tubuh dalam mengontrol kualitas gerakan. Serebelum juga mengontrol banyak fungsi otomatis otak, diantaranya: mengatur sikap atau posisi tubuh, mengontrol

keseimbangan, koordinasi otot dan gerakan tubuh. Selain itu, serebelum berfungsi menyimpan dan melaksanakan serangkaian gerakan otomatis yang dipelajari seperti gerakan mengendarai mobil, gerakan tangan saat menulis, gerakan mengunci pintu dan sebagainya (Clark, 2005).

3. Batang Otak

Batang otak berada di dalam tulang tengkorak atau rongga kepala bagian dasar dan memanjang sampai medulla spinalis. Batang otak bertugas untuk mengontrol tekanan darah, denyut jantung, pernafasan, kesadaran, serta pola makan dan tidur. Bila terdapat massa pada batang otak maka gejala yang sering timbul berupa muntah, kelemahan otot wajah baik satu maupun dua sisi, kesulitan menelan, diplopia, dan sakit kepala ketika bangun (CDC, 2004).

Batang otak terdiri dari tiga bagian, yaitu:

- a. Mesensefalon atau otak tengah (*mid brain*) adalah bagian teratas dari batang otak yang menghubungkan serebrum dan serebelum. Saraf kranial III dan IV diasosiasikan dengan otak tengah. Otak tengah berfungsi dalam hal mengontrol respon penglihatan, gerakan mata, pembesaran pupil mata, mengatur gerakan tubuh dan pendengaran (Moore & Anne, 2012).
- b. Pons merupakan bagian dari batang otak yang berada diantara *midbrain* dan medulla oblongata. Pons terletak di fossa kranial

posterior. Saraf Kranial (CN) V diasosiasikan dengan pons (Moore & Anne, 2012).

- c. Medulla oblongata adalah bagian paling bawah belakang dari batang otak yang akan berlanjut menjadi medulla spinalis. Medulla oblongata terletak juga di fossa kranial posterior. CN IX, X, dan XII diasosiasikan dengan medulla, sedangkan CN VI dan VIII berada pada perhubungan dari pons dan medulla (Moore & Anne, 2012).

4. Bagian lainnya

- a. Hipotalamus merupakan bagian ujung depan diencefalon yang terletak di bawah sulkus hipotalamik dan di depan nucleus interpundenkuler. Hipotalamus terbagi dalam berbagai inti dan daerah inti. Terletak pada anterior dan inferior talamus berfungsi mengontrol dan mengatur sistem syaraf autonom juga bekerja dengan hipofisis untuk mempertahankan keseimbangan cairan, mempertahankan pengaturan suhu tubuh melalui peningkatan vasokonstriksi atau vasodilatasi dan mempengaruhi sekresi hormonal dengan kelenjar hipofisis, juga sebagai pusat lapar dan mengontrol berat badan, sebagai pengatur tidur, tekanan darah, perilaku agresif dan seksual dan pusat respon emosional (Clark, 2005).
- b. Talamus berada pada salah satu sisi pada sepertiga ventrikel dan aktivitas primernya sebagai pusat penyambung sensasi bau

yang diterima semua impuls memori, sensasi dan nyeri melalui bagian ini (Clark, 2005).

- c. Traktus Spinotalamus (serabut-serabut segera menyilang kesisi yang berlawanan dan masuk ke medulla spinalis dan naik). Bagian ini bertugas mengirim impuls nyeri dan temperatur ke talamus dan kortek serebri (Clark, 2005).
- d. Kelenjar Hipofisis dianggap sebagai master kelenjar karena sejumlah hormon-hormon dan fungsinya diatur oleh kelenjar ini. Hipofisis merupakan bagian otak yang tiga kali lebih sering timbul tumor pada orang dewasa (Clark, 2005).

2.3.2. Histologi Otak

A. Otak

Secara keseluruhan otak terbagi atas:

1. Otak besar (*cerebrum*)

Otak besar tersusun atas dua belahan (*cerebral hemisphere*) kiri dan kanan. Di bagian tepi luar (korteks) terdapat substansia grisea, lalu semakin ke dalam dibatasi dengan substansia alba, dan di bagian paling dalam terdapat nukleus yang merupakan substansia grisea. Lapisan yang menyusun otak besar berlekuk-lekuk, membentuk struktur sulkus dan girus. Lapisan ini jika ditinjau secara mikroskopik akan terlihat bahwa tersusun atas enam lapisan, yakni:

- Lapisan molekular, merupakan lapisan terluar dan terletak tepat di bawah lapisan pia. Terdapat sel horizontal (*cajal*) yang pipih dengan denrit dan akson yang berkontak dengan sel-sel di lapisan bawahnya (sel piramid, sel *stelatte*).
- Lapisan granular luar, sebagian besar terdiri atas sel saraf kecil segitiga (piramid) yang dendritnya mengarah ke lapisan molekular dan aksonnya ke lapisan di bawahnya; sel granula (*stelatte*) dan sel-sel neuroglia.
- Lapisan piramid luar, terdapat sel piramid yang berukuran besar (semakin besar dari luar ke dalam). Dendrit mengarah ke lapisan molekular; akson mengarah ke substansia alba.
- Lapisan granular dalam, merupakan lapisan tipis yang banyak mengandung sel-sel granula (*stellate*), piramidal, dan neuroglia. Lapisan ini merupakan lapisan yang paling padat.
- Lapisan piramidal dalam, suatu lapisan yang paling jarang, banyak mengandung sel-sel piramid besar dan sedang, selain sel *stelatte* dan Martinotti. Sel Martinotti adalah sel saraf multipolar yang kecil, dendritnya mengarah ke lapisan atas dan aksonnya ke lateral.
- Lapisan sel multiform, adalah lapis terdalam dan berbatasan dengan substansia alba, dengan varian sel yang banyak dan sel fusiform (Eroschenko, 2010).

Otak besar merupakan pusat belajar, ingatan, analissi informasi, inisiasi gerakan motorik, dan merupakan pusat integrasi informasi yang diterima. Nukleus merupakan kumpulan dari perikarion neuron yang terdapat di dalam SSP (Junqueira & Carneriro, 2007).

Di substansia alba cerebrum terdapat banyak serat-serat yang menghubungkan berbagai daerah korteks dalam hemisfer yang sama (asosiasi) menghubungkan antarahemisfer (komisura) dan menghubungkan ke nukleus di bawahnya (proyeksi) (Eroschenko, 2010).

2. Otak kecil (*cerebellum*)

Serebelum juga tersusun atas substansia grisea yang terletak di tepi (dinamakan korteks serebeli). Korteks serebeli tersusun atas tiga lapisan:

- Lapisan molekular, lapisan terluar dan langsung terletak di bawah lapisan pia dan sedikit mengandung sel saraf kecil, serat saraf tak bermielin, sel stelata, dan dendrit sel Purkinje dari lapisan di bawahnya.
- Lapisan Purkinje, disebut lapisan ganglioner, banyak sel-sel. Purkinje yang besar dan berbentuk seperti botol dan khas untuk serebelum. Dendritnya bercabang dan memasuki lapisan molekular, sementara akson termielinasi menembus substansia alba.

- Lapisan granular, lapisan terdalam dan tersusun atas sel-sel kecil dengan 3-6 dendrit naik ke lapisan molekular dan terbagi atas 2 cabang lateral (Junqueira & Carneriro, 2007).

3. Otak tengah (*mesensefalon*)

Otak tengah terletak di depan otak kecil dan jembatan varol. Di depan otak tengah terdapat talamus dan kelenjar hipofisis yang mengatur kerja kelenjar-kelenjar endokrin. Bagian atas (dorsal) otak tengah merupakan lobus optikus yang mengatur refleks mata seperti penyempitan pupil mata, dan juga merupakan pusat pendengaran (Junqueira & Carneriro, 2007).

4. Sumsum sambung (*medulla oblongata*)

Sumsum sambung berfungsi menghantar impuls yang datang dari medula spinalis menuju ke otak. Sumsum sambung juga memengaruhi jembatan, refleks fisiologi seperti detak jantung, tekanan darah, volume dan kecepatan respirasi, gerak alat pencernaan, dan sekresi kelenjar pencernaan. Selain itu, sumsum sambung juga mengatur gerak refleks yang lain seperti bersin, batuk, dan berkedip (Eroschenko, 2010).

5. Jembatan varol (*pons varoli*)

Jembatan varol berisi serabut saraf yang menghubungkan otak kecil bagian kiri dan kanan, juga menghubungkan otak besar dan sumsum tulang belakang (Junqueira & Carneriro, 2007).

2.4 Uji Toksisitas

Uji toksisitas merupakan uji pendahuluan untuk mengamati aktivitas farmakologi suatu senyawa. Prinsip uji toksisitas adalah bahwa komponen bioaktif selalu bersifat toksik jika diberikan dengan dosis tinggi dan menjadi obat pada dosis rendah. Zat atau senyawa asing yang ada di lingkungan akan terserap ke dalam tubuh secara difusi dan langsung memengaruhi kehidupannya. Uji toksisitas digunakan untuk mengetahui pengaruh racun yang dihasilkan oleh dosis tunggal dari suatu campuran zat kimia pada hewan coba sebagai uji pra skrining senyawa antikanker (Mc. Laughlin & Rogers, 1998).

Uji toksisitas mempunyai korelasi dengan aktivitas obat antikanker. Berdasarkan pada nilai-nilai IC_{50} , sitotoksisitas yang tingkat ekstrak dapat dibagi menjadi kuat ($<100\mu\text{g/ml}$), sedang ($101-200\ \mu\text{g/ml}$), dan lemah ($>200\ \mu\text{g/ml}$). Semakin rendah nilai IC_{50} semakin tinggi toksisitas terhadap kematian hewan percobaan, maka senyawa tersebut aktif terhadap sel tumor atau sel kanker (Depkes RI, 2000).

Salah satu metoda yang digunakan untuk menguji senyawa yang memiliki bioaktivitas sebagai antikanker dari senyawa yang diisolasi adalah *Brine shrimp lethality test* (BSLT), dimana tujuan dari penggunaan metode ini adalah sebagai uji pendahuluan yang dapat mendukung penemuan senyawa-senyawa antikanker (Donatus, 2001).

Uji toksisitas terdiri atas 2 jenis yaitu toksisitas umum (akut, subakut/subkronis, kronis) dan toksisitas khusus (teratogenik, mutagenik, dan karsinogenik). Dalam uji toksisitas perlu dibedakan obat tradisional yang dipakai secara singkat dan yang dipakai dalam jangka waktu lama (Depkes RI, 2000).

Pengujian toksisitas biasanya dibagi menjadi tiga kelompok yaitu :

1. Uji toksisitas akut

Uji ini dilakukan dengan memberikan zat kimia yang sedang diuji sebanyak satu kali, atau beberapa kali dalam jangka waktu 24 jam.

2. Uji toksisitas jangka pendek (sub kronik)

Uji ini dilakukan dengan memberikan bahan tersebut berulang – ulang, biasanya setiap hari, atau lima kali seminggu, selama jangka waktu kurang lebih 10% dari masa hidup hewan, yaitu 3 bulan untuk tikus dan 1 atau 2 tahun untuk anjing.

3. Uji toksisitas jangka panjang (kronik).

Percobaan jenis ini mencakup pemberian obat secara berulang selama 3-6 bulan atau seumur hewan, misalnya 18 bulan untuk mencit, 24 bulan untuk tikus, dan 7-10 tahun untuk anjing dan monyet (Radji, 2004).

2.4.1 Uji Toksisitas Akut

Percobaan toksisitas ini meliputi *Single Dose Experiments* yang di evaluasi 3-14 hari sesudahnya, tergantung dari gejala yang ditimbulkan. Tes toksisitas akut ini dirancang untuk menentukan efek yang terjadi dalam periode waktu yang singkat setelah pemberian dosis. Tes – tes ini dapat menentukan hubungan suatu dosis respons dan nilai LD50 jika diperlukan (Timbrell, 2002).

Tujuan uji toksisitas akut suatu obat tradisional adalah untuk menetapkan potensi toksisitas akut (LD50), menilai berbagai gejala klinis, spektrum efek toksik, dan mekanisme kematian (Depkes, 2000).

Percobaan ini juga dapat menunjukkan organ sasaran yang mungkin dirusak dan efek toksik spesifiknya, serta memberikan petunjuk tentang dosis yang sebaiknya digunakan dalam pengujian yang lebih lama (Radji, 2004). Untuk uji toksisitas akut obat tradisional perlu dilakukan pada sekurang-kurangnya satu spesies hewan coba biasanya spesies pengerat yaitu mencit atau tikus (Lu, 2005).

Sampel hewan coba untuk masing-masing kelompok perlakuan perlu mencukupi jumlahnya untuk memungkinkan estimasi insiden dan frekuensi efek toksik. Biasanya digunakan 4 – 6 kelompok hewan coba (Depkes, 2000).

Secara umum obat harus diberikan melalui jalur yang biasa digunakan pada manusia yaitu jalur oral. Jalur oral paling sering digunakan, bila diberikan per oral, zat tersebut harus diberikan dengan sonde (Radji, 2004).

Pengamatan hewan coba sudah dimulai sejak masa persiapan sebelum diberikan perlakuan (fase penyesuaian hewan coba terhadap situasi dan kondisi pelaksanaan eksperimen). Setelah mendapatkan perlakuan berupa pemberian obat tradisional-uji dosis tunggal maka dilakukan pengamatan secara intensif, cermat, dan dengan frekuensi dan selama jangka waktu tertentu. Jangka waktu untuk pengamatan yang lazim adalah 7-14 hari, bahkan dapat lebih lama antara lain dalam kaitan pemulihan gejala toksik (Depkes, 2000).

2.4.2 Uji toksisitas Sub kronik

Uji toksisitas subkronis adalah uji ketoksikan suatu senyawa yang diberikan dengan dosis berulang pada hewan uji tertentu, selama kurang dari tiga bulan. Uji ini ditujukan untuk mengungkapkan spectrum efek toksik senyawa uji serta untuk memperlihatkan apakah spectrum efek toksik itu berkaitan dengan takaran dosis (Donatus, 2001).

Pengamatan dan pemeriksaan yang dilakukan dari uji ketoksikan subkronis meliputi :

- a. Perubahan berat badan yang diperiksa paling tidak tujuh hari sekali.
- b. Masukan makanan untuk masing-masing hewan atau kelompok hewan yang diukur paling tidak tujuh hari sekali.
- c. Gejala kronis umum yang diamati setiap hari.
- d. Pemeriksaan hematologi paling tidak diperiksa dua kali pada awal dan akhir uji coba.
- e. Pemeriksaan kimia darah paling tidak dua kali pada awal dan akhir uji coba.
- f. Analisis urin paling tidak sekali.
- g. Pemeriksaan histopatologi organ pada akhir uji coba (Loomis, 2008)

Hasil uji ketoksikan subkronis akan memberikan informasi yang bermanfaat tentang efek utama senyawa uji dan organ sasaran yang dipengaruhi. Selain itu juga dapat diperoleh info tentang perkembangan efek toksik yang lambat berkaitan dengan takaran yang tidak teramati pada uji ketoksikan akut. Kekerabatan antar kadar senyawa pada darah dan jaringan terhadap perkembangan luka toksik dan keterbalikan efek toksik (Donatus, 2001).

Tujuan utama dari uji ini adalah untuk mengungkapkan dosis tertinggi yang diberikan tanpa memberikan efek merugikan serta untuk

mengetahui pengaruh senyawa kimia terhadap badan dalam pemberian berulang (Eatau & Klaassen, 2001)

2.5 Tikus (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan pengerat dan sering digunakan sering sebagai hewan percobaan atau digunakan untuk penelitian dikarenakan tikus merupakan hewan yang mewakili dari kelas mamalia, yang mana manusia juga merupakan dari golongan mamalia sehingga homogenitas, kelengkapan organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme biokimia, sistem reproduksi, pernafasan, peredaran darah, gen serta ekskresi menyerupai manusia (Cholisoh, 2008).

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) juga memiliki beberapa sifat menguntungkan seperti cepat berkembang biak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, lebih tenang, dan ukurannya lebih besar dari pada mencit. Tikus putih juga memiliki ciri-ciri albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badanya, pertumbuhannya cepat, tempramennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan tahan terhadap perlakuan. Keuntungan utama tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* adalah ketenangan dan kemudahan penanganannya (Isroi, 2010).

Tikus (*Rattus norvegicus*) diklasifikasikan sebagai berikut (Isroi, 2010).

Kingdom : Animalia

Phylum : Chordata

Sub Phylum	: Vertebrata
Class	: Mammalia
Sub Class	: Theria
Ordo	: Rodentia
Sub Ordo	: Myomorpha
Family	: Muridae
Sub Family	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus novergicus</i>
Galur	: <i>Sprague dawley</i>

Berat badan tikus laboratorium lebih ringan dibandingkan dengan berat badan tikus liar. Biasanya pada umur empat minggu beratnya 35-40gram, dan berat dewasa rata-rata 200-250 gram, hidung tumpul dengan panjang 18-25cm, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga 27 keeping kecil dan tidak lebih dari 20-23 mm (Depkes RI, 2000).

Tikus yang digunakan dalam penelitian adalah galur *Sprague dawley* berjenis kelamin jantan berumur 3–4 bulan. Tikus *Sprague dawley* dengan jenis kelamin betina tidak digunakan karena kondisi hormonal yang sangat berfluktuasi pada saat mulai beranjak dewasa, sehingga dikhawatirkan akan memberikan respon yang berbeda dan dapat mempengaruhi hasil penelitian (Cholisoh, 2008).



Gambar 2.3. Tikus (*Rattus norvegicus*) (Cholisoh, 2008)

2.6 Kerangka penelitian

2.6.1 Kerangka teori

Hambatan invasi dan proliferasi pada sel tumor serta hambatan angiogenesis merupakan mekanisme perawatan antikanker yang paling banyak diteliti saat ini. Pemberian inhibitor angiogenesis tidak secara langsung akan berefek sitotoksik pada sel kanker, tetapi dapat meningkatkan laju apoptosis sel kanker dengan mekanisme menurunnya produksi VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) sehingga menekan pertumbuhan tumor dengan menghambat proliferasi sel endotel dan memicu apoptosis sel endotel yang berakhir dengan apoptosis sel kanker itu sendiri.

Salah satu tanaman obat yang ada di Indonesia adalah sambung nyawa. Penggunaan sambung nyawa sebagai bahan obat diperoleh

dari penduduk lokal Papua. Sambung nyawa dipercaya dapat menyembuhkan beragam penyakit berat seperti tumor, kanker, jantung, stroke, TBC, rematik, gangguan asam urat, maag, gangguan fungsi ginjal dan prostat karena terbukti mengandung senyawa flavonoid.

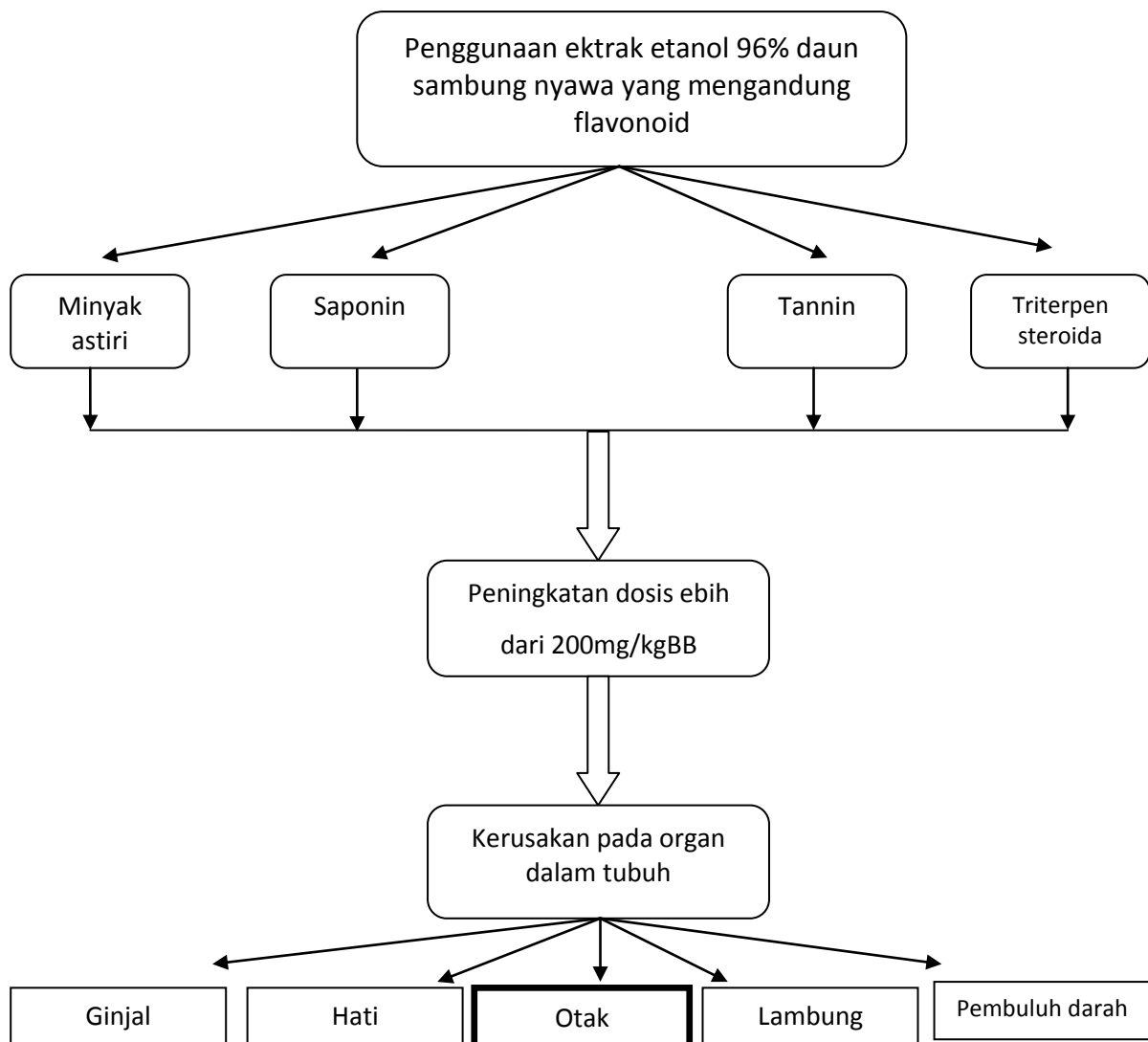
Flavonoid merupakan golongan senyawa bahan alam dari senyawa fenolik yang banyak merupakan pigmen tumbuhan. Saat ini lebih dari 6.000 senyawa yang berbeda masuk kedalam golongan flavonoid. Flavonoid mengandung minyak atsiri, saponin, tannin, dan triterpen steroida

Flavonoid merupakan bagian penting dari diet manusia karena banyak manfaatnya bagi kesehatan. Fungsi kebanyakan flavonoid dalam tubuh manusia adalah sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, memiliki hubungan sinergis dengan vitamin C (meningkatkan efektivitas vitamin C), anti inflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik.

Senyawa flavonoid yang terkandung dalam *herbal medicine* mempunyai efek memblok reseptor *growth factors*, menginhibisi *Mitogen Activated Protein Kinase* (MAPK), pada jalur sinyal *Receptor Tirosin Kinase* (RTKs).

Flavonoid dalam *herbal medicine* juga dilaporkan mempunyai kemampuan untuk menghambat aktivasi *Nuclear Factors Kappa B* (NF- κ B). Suatu *transcription factors* yang berperan penting dalam regulasi molekul pembentukan sitokin. Flavonoid alamiah dapat menstimulasi produksi interferon- γ (IFN- γ) dalam suatu populasi immunosit (Tazulakhova, 2002).

Senyawa flavonoid dengan dosis lebih dari dosis efektifnya, 200 mg/kgBB dicurigai mampu memberikan efek toksik terhadap beberapa organ yang dilaluinya seperti hati, otak, lambung dan ginjal.



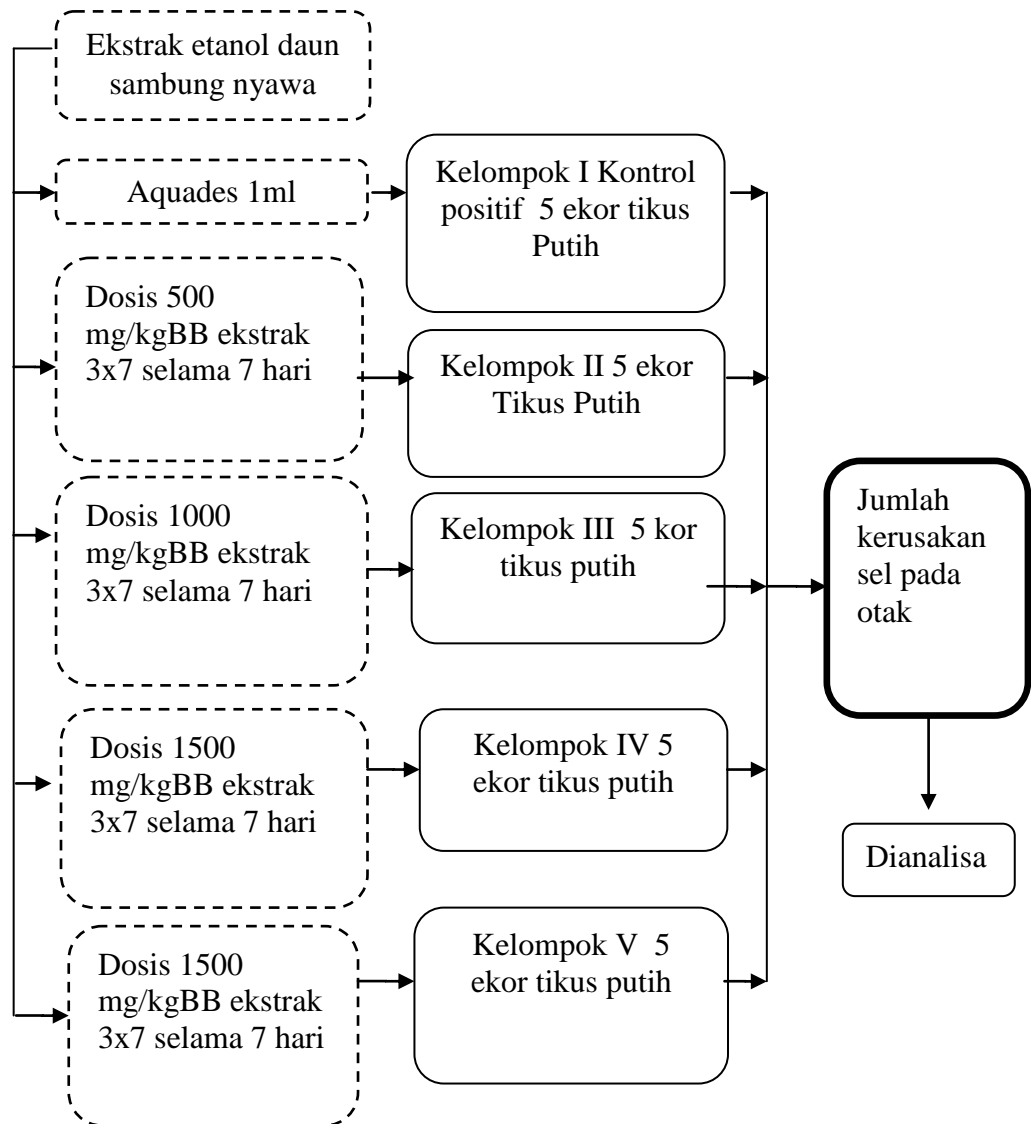
Gambar 2.4. Diagram Kerangka Teori Penelitian

Keterangan:

: variabel yang diteliti

: variabel yang tidak diteliti

2.6.2 Kerangka Konsep



Gambar 2.5. Diagram Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan:

- : Variabel independen
- : Variabel dependen

2.7 Hipotesis

1. Ekstrak etanol daun sambung nyawa tidak menimbulkan kerusakan akibat toksisitas pada gambaran histopatologi otak tikus putih galur *Sprague dawley*.
2. Peningkatan dosis ekstrak etanol daun sambung nyawa tidak menimbulkan kerusakan akibat toksisitas pada gambaran histopatologi otak tikus putih galur *Sprague dawley*.