

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum tentang Sirsak

2.1.1 Diskripsi Tanaman Sirsak

Sirsak merupakan pohon yang tinggi dapat mencapai sekitar 3-8 meter. Daun memanjang, bentuk lanset atau bulat telur terbalik, ujung meruncing pendek, seperti kulit, panjang 6-18 cm, tepi rata. Bunga berdiri sendiri berhadapan dengan daun dan baunya tidak enak. Daun kelopak kecil. Daun mahkota berdaging, 3 daun yang terluar berwarna hijau, kemudian kuning, panjang 3.5-5 cm, 3 yang terdalam bulat telur, kuning muda. Daun kelopak dan daun mahkota yang terluar. Bakal buah banyak, bakal biji 1. Tangkai putik langsing, berambut kepala silindris. Buah majemuk tidak beraturan, bentuk telur miring atau bengkok, 15-35 kali, diameter 10-15 cm. Biji hitam dan daging buah putih (Steenis, 2003).



Gambar 2.1 Daun Sirsak (*Annona muricata* L) (Sinurat, 2011)

2.1.2 Sistematika Tanaman Sirsak

Menurut Rukamana (2001) sistematika pada tanaman sirsak adalah

| | |
|---------|-----------------------------|
| Kingdom | Plantae |
| Divisi | Spermatophyta |
| Kelas | Dikotil |
| Ordo | Ranales |
| Family | Annonaceae |
| Genus | Annona |
| Spesies | <i>Annona muricata</i> Linn |

2.1.3 Manfaat Tanaman Sirsak

Sirsak memiliki manfaat yang besar bagi kehidupan manusia, yaitu sebagai buah yang syarat dengan gizi dan merupakan bahan obat tradisional yang memiliki multi khasiat. Dalam industri makanan, sirsak dapat diolah menjadi selai buah dan sari buah, sirup dan dodol sirsak (Jannah, 2010). Sugeng (2010) menambahkan bahwa kandungan sirsak dapat berfungsi sebagai antitumor, antiparasit, insektisida, dan aktivitas antimikroba. *Annonaceous acetogenins* telah menunjukkan toksisitas selektif untuk sel tumor pada dosis yang sangat rendah.

Semua bagian dari *Annona muricata* L digunakan sebagai obat herbal pada daerah tropis, yaitu bagian dari kulit batang, daun, akar serta biji dan buahnya. Umumnya buah dan jus buahnya dapat digunakan sebagai obat panas dan antiparasit, untuk demam dingin, dan meningkatkan air susu ibu setelah melahirkan dan dapat digunakan sebagai obat diare dan disentri. Biji digunakan sebagai obat panas dan antiparasit. Tumbuhan ini juga bersifat antibakteri dan antidiabetes. Pada *A. muricata* juga memiliki kandungan fitokimia (*Annonaceous acetogenins*) yang

telah ditemukan pada daun, biji dan batang yang merupakan sitotoksik yang dapat melawan beberapa sel kanker (Adewole, 2006).

Allah berfirman dalam Al-Qur'an surat ASy-Syu'ara' ayat 7 yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”*

Ayat tersebut dijelaskan dalam Tafsir Al-Mishbah bahwa ayat ini membuktikan melalui urainnya, keniscayaan keesaan Allah SWT. Keaneka ragaman tumbuhan yang terhampar di bumi ini sedemikian banyak dan bermanfaat, berbeda-beda jenis rasa dan warna, namun keadaanya konsisten. Itu semua tidak tercipta dengan sendirinya, pasti ada penciptanya Yang Maha Esa lagi Maha Kuasa.

Berdasarkan penjelasan tersebut, tumbuhan yang diciptakan Allah merupakan tumbuhan yang memiliki manfaat bagi makhluk hidup lainnya. Manfaatnya antara lain sebagai bahan makanan yang bergizi bagi manusia dan hewan, sebagai bahan baku kertas, pelindung dari banjir, erosi, dll, tumbuhan juga bermanfaat juga sebagai obat yang memiliki kelebihan lebih aman, mudah didapatkan dan relative lebih murah.

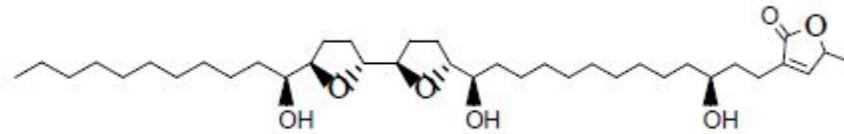
2.1.4 Kandungan Bahan Aktif Daun Sirsak

Annona muricata Linn. mengandung bermacam-macam senyawa kimia antara lain alkaloid, karbohidrat, lipid, asam amino, protein, polyphenol, minyak esensial, terpen, dan senyawa aromatik (Yus, 1996). Daun sirsak mengandung bahan aktif annonain, saponin, flavonoid, tanin (Kardinan, 2004).

Flavonoid, poifenol dan tannin merupakan senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan karena ketiga senyawa tersebut adalah senyawa-senyawa fenol, yaitu senyawa dengan gugus -OH yang terikat pada karbon cincin aromatik. Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan yang efektif dengan memberikan atom hidrogen pada radikal bebas sehingga terbentuk produk radikal bebas sendiri pada senyawa ini. Produk radikal bebas senyawa-senyawa ini terstabilkan secara resonansi akibat adanya ikatan rangkap terkonjugasi dan oleh karena itu tidak reaktif dibandingkan dengan kebanyakan radikal bebas lain (Fessenden, 1999).

Naria (2005) juga menyatakan bahwa pada sirsak ditemukan senyawa bersifat bioaktif yang dikenal dengan nama *acetogenin*. Daun sirsak mengandung senyawa *acetogenin* antara lain *asimisin*, *bulatacin*, dan *squamosin*. Disamping itu, daun, biji, akar dan buahnya yang mentah juga mengandung senyawa kimia *annonain* (Mulyaman, dkk. 2000 dalam Tenrirawe, 2007)

Acetogenin adalah senyawa *polyketides* dengan struktur 30 – 32 rantai karbon tidak bercabang yang terikat pada gugus *5-methyl-2-furanone*. *Annonaceous acetogenin* bekerja dengan menghambat produksi ATP dengan mengganggu kompleks I mitokondria (Shiddiqi, 2008).



Gambar 2.2 Struktur kimia acetogenin (Souza, 2008)

Chang (2003) menyatakan bahwa senyawa pada daun sirsak yaitu *Annonaceous Acetogenin* berpotensi sebagai obat kanker. Kim (1997) juga menyatakan bahwa lebih dari 250 jenis *annonaceous acetogenins* telah diisolasi dari 30 spesies dari family *Annonaceae* dan sejauh ini telah dilaporkan telah berpotensi sebagai antitumor, sitotoksik, pestisida, antibakteri, antiparasit, dan efek immunosupresif.

Tanaman herbal sudah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk pencegahan dan pengobatan suatu penyakit, hal itu disebabkan karena tanaman herbal lebih mudah didapatkan, aman dan relatif lebih murah. Para Nabi terdahulu telah banyak menggunakan obat yang berasal dari tumbuhan, salah satunya yaitu Nabi Yunus As Allah SWT berfirman dalam surat Ash- Shafaat ayat 145-146:

﴿ فَتَبَدَّنْهُ بِالْعُرَاءِ وَهُوَ سَقِيمٌ ﴾ ﴿١٤٥﴾ وَأَنْبَتْنَا عَلَيْهِ شَجْرَةً مِّنْ يَقْطِينٍ ﴿١٤٦﴾

Artinya: “kemudian kami lemparkan dia ke daerah yang tandus, sedang ia dalam keadaan sakit. dan Kami tumbuhkan untuk Dia sebatang pohon dari jenis labu” (QS. Ash-Shafaat: 145-146).

Ayat tersebut menjelaskan peristiwa Nabi Yunus As, pada waktu beliau ditelan seekor ikan besar kemudian dilempar ke dalam tanah tandus sedang Nabi Yunus dalam keadaan sakit, Allah memerintahkan untuk berusaha memulihkan kondisi tubuhnya dengan memakan tumbuhan dari jenis labu (tafsir Al-Misbah,

2002). Hal tersebut memberikan petunjuk bagi manusia bahwa tumbuh- tumbuhan yang ada disekitar kita memiliki manfaat yang besar khususnya dalam bidang pengobatan.

2.1.5 Efek Daun Sirsak terhadap Sel Kanker

Kandungan daun *Annona muricata* Linn. yang berfungsi sebagai antikanker adalah *Acetogenin* yang mampu mengendalikan mitokondria yang overacting. Woo Mi Hee (2000) menyatakan bahwa *Acetogenin* berfungsi menghambat transport electron mikondria (kompleks 1) dan menghambat membran plasma NADH oksidase pada sel kanker. Kim (1997) juga menambahkan bahwa potensi bioaktif Acetogenin telah ditunjukkan dalam menghambat produksi ATP yaitu dengan menghambat enzim NADH ubiquinone oksidoreduktase (kompleks 1) secara terus menerus pada sistem transport elektron mitokondria (ETS) dan ubiquinone yang berhubungan dengan NADH oksidase pada membrane plasma sel tumor, mereka secara selektif menghambat sel tumor.

Villo (2008) juga menambahkan bahwa mekanisme kerja Acetogenin yaitu menghambat ikatan respirasi pada mitokondria (kompleks 1). Pada struktur kimia acetogenin terdiri dari Y- lacton yang berfungsi sebagai penghambat karena dapat berikatan dengan ubiquinon pada transfer electron. Sedangkan pada bagian tetrahydrofuran (THF) dapat berikatan dengan lipid membrane mitokondria.

Beberapa penelitian yang telah dilakukan untuk membuktikan bahwa ekstrak daun *Annona muricata* mampu menghambat sel kanker diantaranya yaitu secara *in*

vivo, penelitian dari Wang (2002) menyatakan bahwa pada konsentrasi 0.012 ug/mL ekstrak daun sirsak dapat menghambat sel kanker paru- paru tikus.

Penelitian secara *in vitro*, yaitu penelitian dari Quispe (2007) bahwa ekstrak etanol daun *Annona muricata* L dapat menghambat sel kanker lambung dan sel kanker paru- paru manusia pada konsentrasi 0.0002 mg/L. Rachmani (2012) juga menyatakan bahwa ekstrak etanol daun *Annona muricata* dapat menghambat kanker payudara dengan nilai IC₅₀ 17,149 µg/mL.

Berdasarkan penelitian- penelitian yang telah dilakukan, ekstrak daun sirsak mampu menghambat pertumbuhan sel kanker, hal tersebut dapat dijelaskan bahwa penyakit yang berbahaya pun bisa sembuh jika manusia bisa berusaha dan berdo'a, Nabi Muhammad SAW bersabda.

تَلَوْا يَا عِبَادَ اللَّهِ فَإِنَّ اللَّهَ لَمْ يَضَعْ دَاءً إِلَّا وَضَعَ لَهُ شِفَاءً إِلَّا دَاءً وَاحِدًا الْإِبْرَمَ

Artinya: “berobatlah kalian hai hamba Allah, sesungguhnya Allah SWT tidak menjadikan penyakit melainkan Dia menjadikan pula obat baginya kecuali penyakit yang satu: tua” (HR. Ahmad dan Al-Bukhori).

2.2 Tinjauan Umum tentang Kanker

Kanker adalah penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel- sel jaringan tubuh yang tidak normal. Sel- sel kanker akan berkembang dengan cepat, tidak terkendali, dan akan terus membelah diri, selanjutnya menyusup ke jaringan di sekitarnya (invasif) dan terus menyebar melalui jaringan ikat, darah, dan menyerang organ- organ penting serta saraf tulang belakang. Dalam keadaan normal, sel hanya akan membelah diri jika ada penggantian sel-sel yang telah mati dan rusak.

Sebaliknya, sel kanker akan membelah terus menerus meskipun tubuh tidak memerlukannya, sehingga akan terjadi penumpukan sel baru. Penumpukan sel tersebut mendesak dan merusak jaringan normal, sehingga mengganggu organ yang ditempatinya (Mangan, 2009).

Lodish (2005) juga menyatakan bahwa kanker adalah segolongan penyakit yang ditandai dengan pembelahan sel yang tidak terkendali dan kemampuan sel-sel tersebut untuk menyerang jaringan biologis lainnya, baik dengan pertumbuhan langsung di jaringan yang bersebelahan (invasi) maupun dengan migrasi sel ke tempat yang jauh (metastasis). Pertumbuhan yang tidak terkendali tersebut disebabkan oleh kerusakan DNA dan menyebabkan mutasi di gen vital yang mengontrol pembelahan sel pada jaringan dan organ.

2.2.1 Faktor Penyebab Kanker

Telah diketahui bahwa sekumpulan faktor genetik dan lingkungan dapat meningkatkan risiko terajadinya kanker. faktor- faktor yang dapat meningkatkan resiko tersebut antara lain riwayat keluarga, kelainan kromosom, faktor lingkungan, makanan, bahan kimia, tempat tinggal, virus, infeksi, dan hormon (Diananda, 2007).

Kejadian dan jenis penyakit kanker erat hubungannya dengan berbagai faktor antara lain adalah jenis kelamin, usia, ras, dan paparan terhadap beberapa zat yang bersifat karsinogen. Zat yang bersifat karsinogen ini dapat dibagi dalam beberapa kelompok baik yang sintetik maupun yang berasal dari alam (Katzung, 1992).

Allah berfirman dalam surat Al- Furqon ayat 2 yang berbunyi:

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَلَمْ يَتَّخِذْ وَلَدًا وَلَمْ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ

وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿١٠﴾

Artinya: “ Yang kepunyaan-Nya-lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu bagiNya dalam kekuasaan(Nya), dan dia telah menciptakan segala sesuatu, dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya.”

Ayat (فقدره تقديرًا) dijelaskan pada tafsir Al-Aisar bahwa Dia (Allah) telah menetapkan suatu ukuran dengan serapi- rapinya tanpa ada cela atau kebengkokan di dalamnya, tidak perlu ada penambahan atau pengurangan walaupun dengan alasan untuk suatu hikmah atau maslahat. Dan semua yang Dia Tentukan adalah demi kemaslahatan manusia.

Allah menciptakan segala sesuatu dalam keadaan yang seimbang dan sesuai dengan ukuran, manusia hidup di dunia ini hidup diberi kenikmatan oleh Allah berupa makanan, minuman, serta kehidupan yang nyaman maka hendaknya dimanfaatkan dengan sebaik- baiknya. Salah satunya yaitu menjaga kesehatan, mengatur pola makan yang seimbang yang sesuai dengan ukuran dan tanpa melebih- lebihkan. Banyak orang yang mengalami berbagai macam penyakit yang disebabkan oleh pola hidup manusia yang kurang seimbang dan tidak sesuai ukuran, manambah- nambahkan sesuatu yang membuat tubuh tidak sehat seperti zat pengawet, pewarna, dll. Salah satu penyakit yang dapat disebabkan oleh pola hidup yang tidak sehat yaitu penyakit kanker.

2.2.2 Pengobatan Kanker

Secara umum, pengobatan kanker dilakukan dengan cara pembedahan (operasi), penyinaran (radioterapi), peningkatan daya tahan tubuh (imunoterapi) (Mangan, 2003). Operasi yaitu pengambilan daerah yang terserang kanker sedangkan radiasi yaitu penyinaran dengan sinar x berkekuatan tinggi yang dapat dilakukan secara internal maupun eksternal. Terapi hormon (dengan cara menggunakan bahan-bahan alami yang mampu merangsang sistem kekebalan tubuh agar mampu melawan sel kanker) dan pemberian obat antineoplastik atau antikanker (kemoterapi) (Kardinan, 2003).

Obat antikanker seharusnya dapat membunuh sel kanker tanpa membahayakan jaringan sel normal. Penggunaan obat perlu dipertimbangkan untuk mendapatkan efek terapi yang baik (Katzung, 1997). Selain itu Diananda (2007) menyebutkan bahwa salah satu obat alternatif untuk pengobatan kanker terdapat pada senyawa tumbuh- tumbuhan.

2.2.3 Kanker Otak

Peranan sentral dari otak dan kelainan fungsional yang terjadi mencerminkan beratnya akibat yang ditimbulkan oleh tumor otak. Kematian akibat tumor otak besarnya 2% dari seluruh kematian akibat tumor. Dan insidens tumor otak besarnya 7 per 100.000 penduduk per tahun. Jenis tumor otak ini sangat beraneka ragam dari yang jinak sampai ganas. Tumor yang ganas disebut juga dengan kanker. Salah satu

tumor yang merupakan frekuensi terbesar dari semua jenis tumor di otak adalah glioma. Insidens dari glioma besarnya 5 per 100.000 penduduk (Japardi, 2003).

Sel otak yang mengalami kemampuan untuk terus membelah atau berproliferasi adalah sel neuroglia atau bisa disebut sel glia, hal tersebut sesuai dengan pernyataan Soewolo (2000) bahwa sel-sel glia memiliki kemampuan membelah diri, oleh karena itu kebanyakan tumor otak berasal dari sel-sel glia (gliomas), sedangkan sel-sel saraf telah kehilangan kemampuannya untuk membelah diri.

Glioma merupakan tumor otak yang paling banyak dijumpai, sekitar 50% dari tumor otak primer dibanding tumor otak primer lainnya, seperti meningioma (15%), adenoma (8%), neurinoma (7%) dan sisanya tumor sekunder atau tumor metastasis sebesar 20%. Letak tumor pada orang dewasa 60% terletak pada supratentorial dan berasal dari korteks dan hemisfer otak dan pada anak-anak 70% terletak pada infratentorial yang berasal dari serebelum, batang otak dan mesensefalon. Insiden pada pria lebih banyak dibanding dengan wanita dengan perbandingan 11:9 (Widjanarko, 2011).

Tumor ini memiliki beberapa karakteristik antara lain : i) dapat timbul pada berbagai lokasi di susunan saraf pusat (SSP), tetapi lebih sering ditemukan pada hemisfer serebral, ii) biasanya menimbulkan manifestasi pada usia dewasa, iii) memberikan gambaran histopatologi dan perilaku biologi yang berbeda-beda, iv) dapat mengadakan infiltrasi ke sekitarnya maupun ke tempat-tempat yang jauh tanpa dipengaruhi oleh gambaran histopatologi, v) memiliki kecenderungan untuk progresif

menjadi fenotip yang lebih ganas seperti *anaplastic astrocytoma* dan *glioblastoma* (Japardi, 2003).

Tumor metastasis (kanker) otak merupakan 20% dari tumor intrakranial. Beberapa faktor yang menjadi penyebab kanker otak antara lain adalah genetik, sisa-sisa sel embrional, perubahan neoplastik, trauma, virus dan bahan-bahan karsinogenik. Glioma atau kanker sel glia merupakan kanker yang menempati urutan pertama dari jenis kanker otak yang banyak diderita oleh manusia (Hartono, 1984).

2.2.4 Karsinogenesis

Proses perkembangan sel normal menjadi sel kanker disebut karsinogenesis. Salah satu faktor terbentuknya kanker karena adanya sel epitel yang terus berkembang (berproliferasi). Saat berproliferasi, genetik sel bisa berubah akibat adanya pengaruh agen karsinogen yang menyebabkan hilangnya penekanan terhadap proses proliferasi sel. Perubahan sel menjadi ganas juga melibatkan gen-gen yang mengatur pertumbuhan sel, akibatnya sel berkembang tidak terkendali (Susilowati, 2010).

Proses pembentukan kanker terjadi melalui beberapa tingkat yaitu (Heti, 2008):

- 1) Fase inisiasi: Tahap inisiasi merupakan tahap yang diperlukan untuk pembelahan sel. Pada tahap ini terjadi perubahan genetik yang menetap akibat rangsangan bahan atau agen inisiator yang menimbulkan kerusakan DNA dan sel. Kerusakan DNA dan sel yang terjadi bersifat *irreversible*, respon sel yang termutasi

berubah terhadap lingkungan dan tumbuh secara berlebihan sehingga berpotensi sebagai sel kanker.

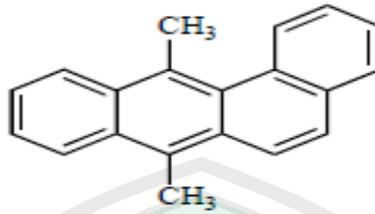
2) Fase promosi: zat karsinogen tambahan (*co-carcinogens*) diperlukan sebagai promotor untuk mencetuskan proliferasi sel, dengan demikian sel-sel rusak menjadi ganas.

3) Fase progresi: Bagian yang paling penting dari tahap ini adalah invasi sel kanker sampai ke jaringan lokal dan menyebar ke tempat yang lebih jauh (metastase).

Metastasis atau penyebaran terjadi jika sel-sel kanker berpindah melalui aliran darah atau pembuluh getah bening ke bagian-bagian lain dari tubuh dan mulai tumbuh serta menggantikan jaringan yang normal. Tidak semua tumor adalah kanker. tumor jinak tidak menyebar ke bagian-bagian lain dari tubuh (metastasis) dan jarang mengancam hidup (Diananda, 2007).

2.2.5 Karsinogen Dimetilbenz(a)Antrasen (DMBA)

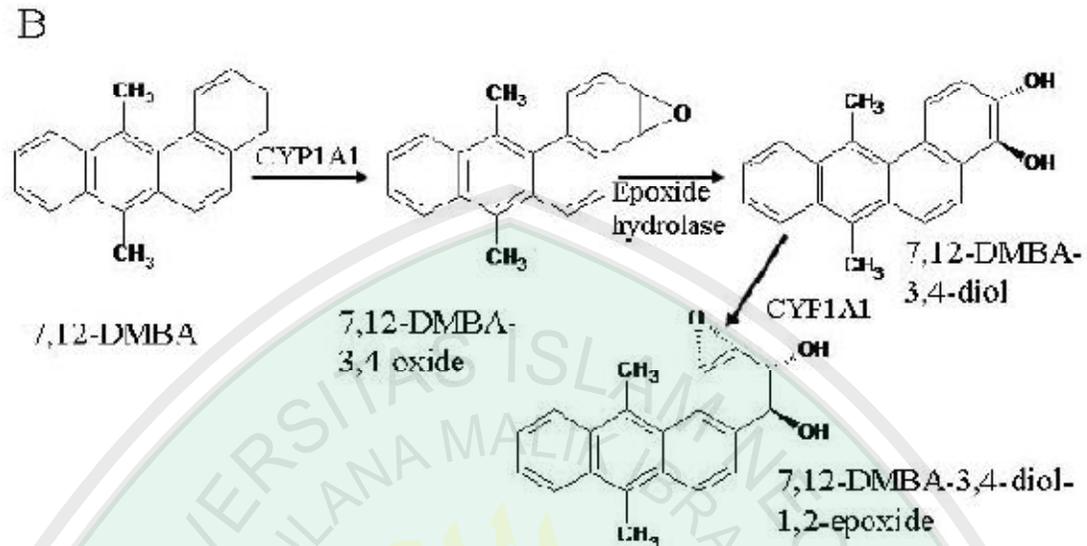
DMBA (7,12-dimethylbenz[a]anthracene) merupakan golongan hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH) yang telah diketahui sebagai penyebab tumor. PAHs terdiri dari petroleum dan derivatnya, yang meluas sebagai polutan organik dalam lingkungan, melalui tumpahan minyak dan pembakaran fosil yang tidak sempurna. Sejak PAHs bertahan dalam lingkungan pada waktu yang lama, bioakumulasi terjadi yang mana menyebabkan polusi lingkungan dan berakibat pada keseimbangan biologi secara drastis (Talas, 2009).



Gambar 2.3. Struktur Kimia DMBA (Nagini, 2009)

Metabolisme senyawa ini pada hewan pengerat akan bereaksi dengan sitokrom p-450 untuk membentuk ikatan kovalen dengan DNA pada sel yang aktif membelah sehingga menyebabkan *DNA adduct*. Keberadaan karsinogen ini umumnya mengakibatkan mutasi gen *ras* dan meningkatkan ekspresi Ras dan fos. Senyawa ini tergolong *indirect acting carcinogen* atau prokarsinogen yang memerlukan aktivasi metabolik (Ranasasmita, 1997).

Aktivitas karsinogenik dari DMBA terjadi melalui aktivasi metabolisme (biotransformasi) untuk menghasilkan karsinogenesis. Jalur metabolisme DMBA melalui aktivasi enzim sitokrom P450 membentuk *proximate carcinogen* dan *ultimate carcinogen*. *Proximate carcinogen* adalah metabolit intermediet yang akan mengalami metabolisme lebih lanjut menjadi *ultimate carcinogen*. *Ultimate carcinogen* merupakan metabolit akhir dari karsinogen induk yang akan membentuk *DNA adduct*, suatu proses awal inisiasi kanker (Susilowati, 2010).



Gambar 2.4 Aktivasi metabolit DMBA (Androutsopoulos, 2009).

Metabolit aktif dari DMBA adalah DMBA-3,4-diol-1,2 epoxides yang mampu membentuk DNA *adduct*. Metabolit DMBA yang membentuk DNA *adduct* menentukan mutasi dalam gen dan mampu mengendalikan siklus sel, sehingga mendorong pembelahan sel kanker. Senyawa *epoxide* tersebut nantinya akan berikatan secara kovalen dengan gugus amino eksosiklik deoksiadenosin (dA) atau deoksiguanosin (dG) pada DNA. Interaksi ini (DNA *adduct*) dapat menginduksi mutasi pada gen-gen penting sehingga menyebabkan iniasi kanker (Miyata, 1999).

Penelitian yang dilakukan oleh Ranasasmita (1997) telah membuktikan bahwa pemberian DMBA sebanyak 220 mg/kg BB tikus mampu menginduksi terjadinya tumor pada kelenjar mammae tikus betina. Sedangkan pada keadaan *in vitro*, pemberian DMBA dengan konsentrasi 0.1 ug/ml selama 48 jam menyebabkan kanker pada sel fibroblast (Meng, 2008). DMBA akan diubah oleh enzim fase I, sitokrom P450 (CYP) menjadi ultimate karsinogen berupa senyawa epoksida elektrofil yang

merupakan metabolit aktifnya. Metabolit epoksida dapat membentuk DNA adduct dan menyebabkan mutasi, akibatnya terbentuklah kanker (Hamid, 2009).

2.3 Sel Otak

Otak merupakan organ yang sangat kompleks bagi manusia dan hewan. Menurut Kuntarti (2007), otak dibagi menjadi 6 divisi utama yaitu *cerebrum*, *diensefalon*, *cerebelum*, *midbrain*, *pons*, dan *medula oblongata*. Otak besar (*cerebrum*) merupakan bagian otak yang paling besar. Permukaan otak besar menjadi sangat luas karena banyaknya lipatan-lipatan yang disebut gyri dan dipisahkan oleh lekukan (*sulcus*) dan lekukan dalam (*fisura*) (Frandsen 1992). Otak besar tersusun atas jaringan saraf yang terdiri atas sel saraf (*neuron*) dan sel glia. Sel saraf berfungsi untuk menghantarkan impuls dari sel saraf ke sel saraf lainnya dan sel glia berfungsi untuk melindungi dan mendukung sel saraf.

Sel saraf adalah unit anatomis dan fungsional sistem saraf. Menurut Kuntarti (2007), sel saraf terdiri atas tiga bagian yaitu badan sel, dendrit, dan akson (Gambar 2). Badan sel terdiri atas suatu massa sitoplasma yang berukuran relatif besar, sebuah nukleus, dengan satu atau lebih nukleoli. Sitoplasma sering disebut *neuroplasma*. Diantara bagian-bagian *neuroplasma* terdapat organel-organel penting meliputi mitokondria, fibril, badan golgi, dan sentrosom (Frandsen 1992). Dendrit adalah tonjolan yang menghantarkan informasi menuju badan sel. Tonjolan tunggal dan panjang yang menghantarkan informasi keluar dari badan sel disebut akson (Feriawati, 2006).

Sel glia merupakan sel penunjang yang berfungsi melindungi, merawat, dan sumber nutrisi sel saraf. Sel glia terdiri atas astrosit, oligodendrosit, mikroglia, dan sel ependimal. Astrosit merupakan sel glia terbesar, badan sel berbentuk bintang dengan banyak tonjolan. Fungsi astrosit adalah mempertahankan sirkulasi darah di otak, mengatur kadar ion dan nutrien, memperbaiki dan mencegah jaringan saraf dari kerusakan (Ardini, 2011). Oligodendrosit merupakan sel glia yang melapisi akson dengan menghasilkan myelin. Mikroglia melindungi susunan saraf pusat dengan menghilangkan debris yang berasal dari sel-sel otak yang mati, bakteri, dan lain-lain dengan mekanisme fagositosis. Sel ependim merupakan sel yang melapisi rongga atau ruang yang terdapat pada otak yang disebut *ventrikel* dan *kanalis sentralis* pada medulla spinalis. Ependimal berperan dalam produksi cairan cerebrospinal (Feriyawati 2006).

2.3.1 Kultur Sel Otak

Kultur sel merupakan teknik menumbuhkan dan mengembangbiakan tipe sel yang berbeda-beda. Sel yang langsung diperoleh dari organ lalu ditumbuhkan secara *in vitro* disebut kultur primer. Kultur sel berguna untuk menyelidiki karakteristik fisiologi dan metabolisme sel dan menguji efek zat tertentu terhadap suatu sel (Malole 1990). Penggunaan jaringan embrional lebih baik karena dapat berkembang biak secara terus menerus dalam media kultur optimal dan dalam keadaan tertentu dapat diarahkan untuk berdifferensiasi menjadi berbagai sel yang terdifferensiasi

seperti sel jantung, sel kulit, sel saraf, dan sel hati sehingga dapat dipakai untuk mengganti jaringan yang rusak (Trenggono 2009).

Perkembangan teknologi yang maju, memicu para ilmuwan untuk melakukan penelitian yang berhubungan dengan kultur jaringan,. Allah berfirman dalam surat Al-Waqi'ah ayat 62 yang berbunyi :

وَلَقَدْ عَلَّمْتُمُ النَّشَأَ الْأُولَىٰ فَلَوْلَا تَذَكَّرُونَ ﴿٦٢﴾

Artinya: "Dan Sesungguhnya kamu Telah mengetahui penciptaan yang pertama, Maka mengapakah kamu tidak mengambil pelajaran (untuk penciptaan yang kedua)?"

Berdasarkan ayat diatas dijelaskan bahwa segala yang diciptakan oleh Allah dilangit dan di bumi serta apa saja yang telah terjadi didalamnya adalah suatu pelajaran yang diberikan oleh Allah kepada orang-orang yang berfikir. Artinya dibalik semua kuasa Allah SWT yang telah ditampakkan kepada manusia terdapat banyak hikmah dan pelajaran yang seharusnya dapat diambil dan diaplikasikan dalam kehidupan didunia. Hal ini mendorong manusia sebagai khalifah dibumi untuk mencari dan mempelajari hikmah apa yang terkandung didalamnya supaya dapat tercipta kemaslahatan dan ketentraman dibumi ini.

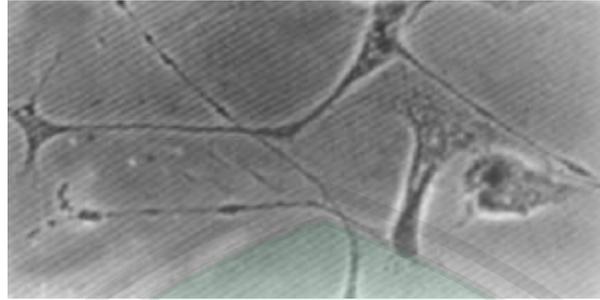
Pada tafsir Al-Mishbah dijelaskan bahwa pengetahuan tentang penciptaan pertama mestinya mengantar kepada keyakinan tentang adanya kebangkitan setelah kematian. Ini bukan saja karena siapa yang kuasa mencipta dari ketiadaan, maka tentu kuasa pula mencipta dari sesuatu yang telah pernah ada, bukan saja karena itu, tetapi juga seperti ditulis Penciptaan pertama dalam kehidupan dunia ini pastilah ada

tujuannya yang langgeng. Di sisi lain, keberadaan sistem tersebut menuntut adanya hidayah dan petunjuk untuk segala sesuatu menuju kebahagiaan jenisnya.

Kata (تذكرون) yang artinya mengambil pelajaran yang kedua mengisyaratkan bahwa kalau pada masa lalu kamu belum lagi manarik pelajaran, maka kini dan masa datang, seharusnya kamu bersungguh- sungguh menarik pelajaran.

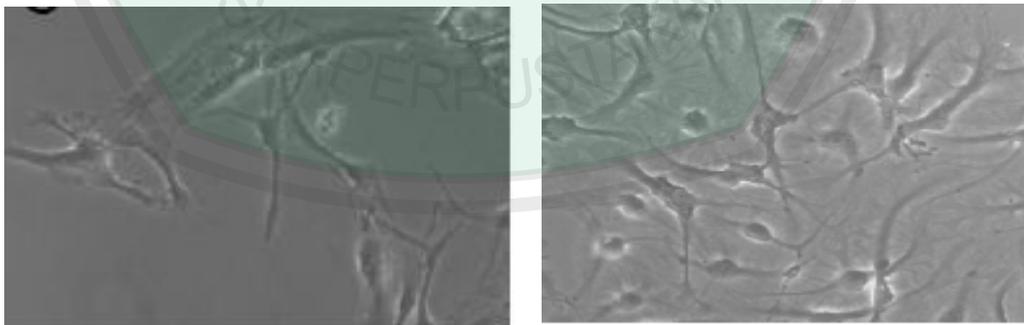
Sekitar 90% sel di dalam system saraf pusat adalah bukan sel saraf, tetapi sel- sel glial atau neuroglia. Meskipun jumlahnya besar, neuroglia menempati hanya sekitar separoh dari volume otak, sebab sel neuroglia tidak bercabang- cabang seperti pada sel saraf (Soewolo, 2000). Menurut Junqueira & Carneiro (2005) seluruh otak memiliki jumlah sel glia 10 kali lebih banyak dibandingkan sel saraf pada keadaan *in vivo*. Pada kondisi *in vitro*, astrosit menunjang fungsi sel saraf dengan perbandingan 1:4 (Woehrling *et al.* 2010). Pada tikus dan mencit, perbandingan jumlah astrosit dengan sel saraf pada keadaan *in vitro* yaitu 1:3 (Nedergaard *et al.* 2003).

Neuroglia memiliki tipe dan fungsi yang unik, beberapa sel menghasilkan senyawa kimia yang menuntun sel neuron muda ke sambungan yang teoat serta meningkatkan pertumbuhan neuron (Marieb, 2007). Sel glia yang berasal dari mencit dan manusia dalam kultur *in vitro* tumbuh seperti fibroblast yang multipolar (Trenggono 2009). Sel glia mampu menjalankan serangkaian pembelahan mitosis sehingga jumlah sel glia dalam kultur bertambah dan jumlah sel glia lebih banyak dari jumlah sel saraf. Ukuran sel menjadi semakin kecil pada setiap pembelahan sehingga mencapai suatu konfluenitas sel pada cawan petri.



Gambar 2.5 Sel otak *Xenopus* dalam Kondisi Kultur (Lang, 1996).

Faktor yang berperan dalam keberhasilan pertumbuhan sel secara *in vitro* antara lain lingkungan kultur. Kondisi dan pengaturan lingkungan kultur terdiri atas substrat, medium, gas, dan suhu. Komposisi medium dapat mempengaruhi arah pertumbuhan sel yang dikultur. Medium yang dibutuhkan dalam kultur pada umumnya membutuhkan bahan-bahan tambahan yang sesuai untuk tipe sel tertentu. Bahan-bahan tambahan tersebut antara lain asam amino, vitamin, garam-garaman, glukosa, suplemen organik, hormon dan *growt factor*, antibiotik serta serum (Riris, 2008).



Gambar 2.6 Sel Primer otak tikus mengalami proses pemanjangan dan berikatan dengan sel yang lain dalam kondisi kultur (Weiss, 2003).

Untuk menjaga kelangsungan hidup kultur, sel – sel dari jaringan harus dimasukkan dalam larutan media. Untuk tujuan tertentu, biasanya untuk

eksperimental sel- sel dipelihara dalam larutan garam. Ciri umum dari larutan tersebut yaitu isotonic atau isosmotik. Istilah tersebut berhubungan dengan membrane yang semipermeabel. Jadi, air dan beberapa komponen molekul intraseluler dapat bebas melewati membrane (Martin, 1994).

Media yang digunakan pada penelitian ini merupakan media cair, hal tersebut disesuaikan dengan keadaan in vivo yaitu 80% pada tubuh manusia maupun hewan terdiri dari air. Air merupakan sesuatu yang sangat penting bagi pertumbuhan sel, Allah dalam firmanNya surat Al- Anbiyya' ayat 30:

أَوَلَمْ يَرِ الَّذِينَ كَفَرُوا أَنَّ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ كَانَتَا رَتْقًا فَفَتَقْنَاهُمَا ۖ وَجَعَلْنَا مِنَ
الْمَاءِ كُلِّ شَيْءٍ حَيٍّ أَفَلَا يُؤْمِنُونَ ﴿٣٠﴾

Artinya: *"Dan apakah orang-orang yang kafir tidak mengetahui bahwasanya langit dan bumi itu keduanya dahulu adalah suatu yang padu, Kemudian kami pisahkan antara keduanya. dan dari air kami jadikan segala sesuatu yang hidup. Maka mengapakah mereka tiada juga beriman?"*.

Pada ayat (وجعلنا من الماء كل شيء حي) yang artinya *" dan air kami jadikan segala sesuatu yang hidup"*. Ayat tersebut menjelaskan bahwa air merupakan sesuatu yang penting bagi kehidupan makhluk hidup. Semua makhluk hidup tidak akan bisa hidup tanpa adanya air, karena air merupakan sumber kehidupannya. Hal tersebut sama halnya dengan media pada kultur yang memerlukan air untuk pertumbuhan sel otak.

Dalam tafsir Al-Mishbah juga dijelaskan bahwa ayat ini telah dijelaskan kebenarannya melalui penemuan lebih dari satu cabang ilmu pengetahuan. Sitologi

(ilmu tentang susunan dan fungsi sel), misalnya menyatakan bahwa air adalah komponen terpenting dalam pembentukan sel yang merupakan satuan bangunan pada setiap makhluk hidup, baik hewan maupun tumbuhan. Sedang biokimia menyatakan bahwa air adalah unsur yang sangat penting bagi setiap interaksi dan perubahan yang terjadi di dalam tubuh makhluk hidup. Air dapat berfungsi sebagai media, faktor pembantu, bagian dari proses interaksi, atau bahkan hasil dari sebuah proses interaksi itu sendiri. Sedangkan fisiologi menyatakan bahwa air sangat dibutuhkan agar masing-masing organ dapat berfungsi dengan baik. Hilangnya fungsi itu akan berarti kematian.

Medium pada kultur *in vitro* sangat dibutuhkan karena sel atau jaringan tidak dapat mensintesa nutrisi sendiri (Malole 1990). Medium pertumbuhan yang sering digunakan untuk kultur sel mamalia adalah *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM). DMEM mengandung konsentrasi asam amino dua kali lipat lebih banyak dari *Eagle's Minimal Essential Medium* (MEM), empat kali vitamin, dan mengatur konsentrasi HCO₃ dan CO₂ (Freshney 2005).

2.3.2 Pertumbuhan Kultur Sel Otak

Pertumbuhan dan perkembangan sel tidak lepas dari siklus kehidupan yang dialami sel untuk tetap bertahan hidup. Siklus ini mengatur pertumbuhan sel dengan meregulasi waktu pembelahan dan mengatur perkembangan sel dengan mengatur jumlah ekspresi atau translasi gen pada masing-masing sel yang menentukan diferensiasinya (Trenggono, 2009).

Sel akan mengalami proliferasi kemudian akan mengalami apoptosis atau mati. Setiap sel memiliki siklus sel tertentu sehingga menyebabkan keseimbangan antar sel, baik sel itu sendiri maupun dengan sel yang lain. Sel- sel tersebut akan berkumpul membentuk jaringan sampai membentuk suatu individu baru. Semua peristiwa tersebut telah diatur oleh Allah SWT dengan keadaan yang kompleks, sehingga manusia bisa memanfaatkan fenomena tersebut untuk dipelajari. Allah berfirman dalam surat Al- Insyiqoq ayat 19 :

لَتَرْكَبُنَّ طَبَقًا عَن طَبَقٍ ﴿١٩﴾

Artinya :” *sesungguhnya kamu melalui tingkat demi tingkat (dalam kehidupan).*”

Dalam tafsir Ibnu Katsir dijelaskan bahwa manusia diciptakan dari satu keadaan ke keadaan yang lain. Hal tersebut menunjukkan bahwa manusia terdiri dari satu sel membelah menjadi beberapa sel yang membentuk suatu jaringan sampai menjadi individu baru. Peristiwa tersebut melalui tingkat demi tingkat dalam kondisi yang berbeda.

Pertumbuhan sel dalam system kultur terdiri 3 fase yaitu *Lag Phase*, *Log Phase* dan *Plateu Phase*. Pada *Lag Phase* konsentrasi sel adalah sama atau hampir sama dengan konsentrasi pada saat subkultur. Fase ini disebut juga dengan fase adaptasi atau fase lambat, yaitu fase sel yang meliputi pelekatan pada substrat dan penyebaran sel. *Log Phase* merupakan fase terjadinya peningkatan jumlah sel secara eksponensial dan saat pertumbuhan mencapai konfluen, proliferasi akan terhanti setelah 1 atau 2 siklus berikutnya. Fraksi pertumbuhan pada fase ini mencapai 90-

100%. *Plateu Phase* merupakan fase terjadinya penurunan dan berkurangnya kemampuan sel untuk tumbuh apabila sel telah mencapai konfluen. Pada fase ini fraksi pertumbuhan akan mencapai 0-10% (Budiono, 2002).

Proliferasi sel merupakan proses pertumbuhan sel yang meliputi pembelahan sel secara aktif dan memerlukan suatu pengaturan. Proliferasi sel ini dilakukan untuk mengganti sel-sel yang rusak. Sel yang terbentuk dari hasil kultur akan tumbuh mengikuti kurva pertumbuhan yang terbagi dalam 3 tahap yaitu fase lambat, fase eksponensial dan fase menetap (Treggono, 2009).

2.3.2.1 Siklus Sel

Siklus sel terdiri dari fase G1 (Gap 1), merupakan fase terpanjang setelah mengalami mitosis dan persiapan sel untuk sintesis DNA. Sel tumbuh membesar dan berfungsi normal dan sebagai kontrol mitosis selanjutnya. Fase S (Sintesis) merupakan fase replikasi DNA sehingga terbentuk 2 kromatid yang identik. Di fase ini terdapat 2 fase penting yaitu transkripsi dan translasi (Fabre, 2004).

Fase G2 (Gap 2) antara fase S dan Mitosis. Persiapan mitosis, fase ini lebih pendek dibanding G1. Pada saat ini sentriol/sentrosom mengalami duplikasi. Sel mengecek hasil sintesis protein yang telah dibuat pada fase sintesis. Bila ada kerusakan DNA maka akan diperbaiki yang telah dibuat pada fase sintesis. Bila ada kerusakan DNA maka akan diperbaiki oleh gen DNA polimerase atau diprogram apoptosis. Fase mitosis, fase ini juga terdiri dari 4 fase, yaitu fase profase, metafase,

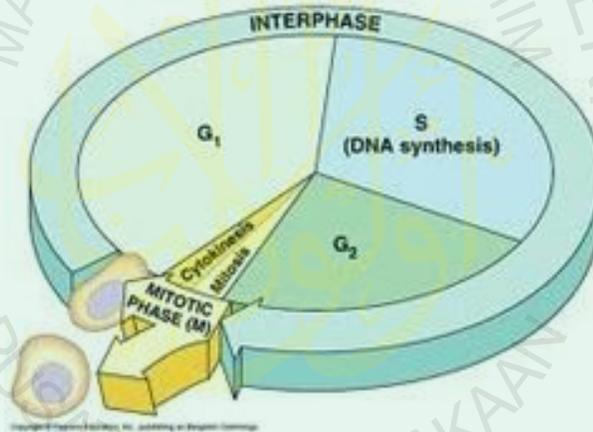
anafase, dan telofase. Fase sintesis, fase G1 dan fase G2 disebut fase interfase yang merupakan 90% dari siklus sel (Fabre, 200).

Fase mitotik (M) mencakup mitosis dan sitokinesis, biasanya merupakan bagian tersingkat dari siklus sek. Pembelahan sel mitotik yang berurutan bergantian dengan interfase yang jauh lebih lama. Pada fase mitosis terdiri dari fase profase, metafase, anafase dan telofase (Campbell, 2002).

Tahap profase, DNA bersama dengan protein pendukungnya mengubah bentuk DNA untaian panjang menjadi bentuk yang terkondensasi seperti bentuk X. Kromatid mengalami kondensasi menjadi lebih pendek dan lebih padat sehingga terbentuk kromosom. Sentrosom yang telah menduplikasi, mulai memproduksi mirotubulus. Mikrotubulus terus diproduksi ke segala arah, sebagian mikrotubulus dari kutub yang berlawanan bertemu dan berikatan mendorong sentrosom bergerak ke kutub sel. Kromosom terus mengalami kondensasi. Membran nukleus menghilang, pecah menjadi fragmen kecil sehingga kromosom terapung di dalam sitoplasma setelah itu nukleolus menghilang. Setiap kromosm membentuk kinetokor pada setiap sisi sentromer (Beeker, 1986).

Tahap metafase, kromosom akan berjajar di garis tengah gelondong (equatorial plane), mikrotubulus kinetokor saling tarik menarik. Setiap kinetokor harus berhubungan dengan mikrotubulus. Bila ada yang terlewat, kinetokor akan memberikan sinyal sehingga proses mitosis tidak berlanjut ke tahap selanjutnya (Beeker, 1986).

Tahap anafase terjadi 2 peristiwa yaitu protein mengikat 2 kromatid terputus dan mikrotubulus kinetokor memendek menarik kromatid ke arah kutub sel. Mikrotubulus polar terus memanjang untuk persiapan sitokinesis. Pada akhir anafase terjadi sitokinesis. Pada tahap telofase, mikrotubulus kinetokor menghilang, mikrotubulus polat terus memanjang untuk persiapan sitokinesis. Kromosom mencapai kutub sel kemudian mulai membentuk membran inti dengan menggunakan fragmen membran inti sel induk yang kemudian menyelubungi kromosom. Selanjutnya muncul nukleolus dan kromosom mengalami penguraian (Beker, 1986)



Gambar 2.7 Siklus Sel (Campbell, 2002).

2.3.2.2 Proliferasi Kultur Sel Otak

Proliferasi sel merupakan pengukuran jumlah sel yang tumbuh dan membelah dalam medium kultur sel secara *in vitro* (Wulandari, 2003). Proliferasi sel otak dapat dipengaruhi oleh suatu stimulus atau ligan. Ligan berikatan dengan reseptor pada membran sel, kemudian mengaktifkan beberapa protein di dalam sel melalui

fosforilasi. Transduksi ligan tersebut diteruskan ke dalam inti sel untuk mengaktifkan faktor transkripsi yang selanjutnya dapat mengaktifkan siklus sel (Albert, 2002)

Sel otak *baby* hamster setelah mengalami konfluen, kultur sel otak berbentuk seperti sel fibroblast. Trenggono (2009) menjelaskan bahwa sel glia yang berasal dari mencit dan manusia dalam kultur *in vitro* tumbuh seperti fibroblast yang multipolar . Sel glia mampu menjalankan serangkaian pembelahan mitosis sehingga jumlah sel glia dalam kultur bertambah dan jumlah sel glia lebih banyak dari jumlah sel saraf. Ukuran sel menjadi semakin kecil pada setiap pembelahan sehingga mencapai suatu konfluenitas sel pada Tc Disk.

Proliferasi sel neuroglia, berawal dari *tubulus neural* yang berkembang dari satu lipatan ektoderm sepanjang bagian dorsal embrio, yang mana sel akan melepaskan diri membentuk *krista neural* selanjutnya dibentuk *ganglia kraniospinal* dan mungkin juga ganglia autonom oleh selapis epitel, dengan cepat akan membelah diri dan berdiferensiasi menjadi neuroblas-neuroblas, kemudian membentuk neuron-neuron dan spongioblas kemudian membentuk neuroglia (Leeson 1996).

2.3.2.3 Apoptosis

Secara fisiologis, system pertumbuhan sel dalam individu juga diatur oleh suatu sistem keseimbangan, yaitu apoptosis dan proliferasi. Apabila pada individu terjadi apoptosis yang berlebihan, maka individu tersebut akan mengalami kemunduran fungsi dari suatu system organ yang dapat menimbulkan suatu penyakit.

Demikian halnya juga bila terjadi proliferasi sel secara berlebihan, maka akan terjadi massa tumor (*malignancy*) (Sudiana, 2008).

Allah berfirman dalam surat Yaasin ayat 68

وَمَنْ نُعَمِّرْهُ نُنَكِّسْهُ فِي الْخَلْقِ أَفَلَا يَعْقِلُونَ ﴿٦٨﴾

Artinya :”Dan barangsiapa yang kami panjangkan umurnya niscaya kami kembalikan dia kepada kejadian(nya). Maka apakah mereka tidak memikirkan?.”

Dalam tafsir Al-Mishbah dijelaskan bahwa dahulu ketika bayi manusia lemah, tidak memiliki pengetahuan, lalu dari hari ke hari ia menjadi kuat dan banyak tahu, selanjutnya bila usianya menanjak hingga mencapai batas tertentu, dia dikembalikan Allah menjadi pikun, lemah, serta membutuhkan bantuan yang banyak. *Maka apakah mereka tidak berfikir* tentang kekuasaan Allah mengubah keadaannya itu, dan tentang kelemahannya agar dia sadar bahwa kekuatannya tidak langgeng, dan bahwa dunia ini fana, dan bahwa dia harus memiliki sandaran yang kuat, lagi langgeng dan abadi. Sandaran itu tidak lain kecuali Allah SWT. Penjelasan tersebut sama halnya dengan sel yang mengalami pertumbuhan dan juga mengalami kematian.

Bila sel mengalami kerusakan yang besar, mereka akan mengaktifkan apoptosis yakni kematian sel terprogram melalui digesti enzimatik oleh dirinya sendiri. Apoptosis merupakan suatu mekanisme yang efisien untuk mengeliminasi sel yang tidak diperlukan dan mungkin berbahaya sehingga dapat menyelamatkan organism (Nurhayati, 2006).

Nurhayati (2006) juga menyatakan bahwa apoptosis juga merupakan proses aktif dengan menginduksi gen seperti *BAX* dan ekspresi antigen Fas maupun represi/penekanan simultan gen seperti *BCL2*. Jika kerusakan selnya berat, sejumlah gen untuk apoptosis yang dikontrol oleh gen *p53* juga berperan dalam pengaturan siklus sel. Hasil penelitian menunjukkan pengaktifan jalur apoptosis oleh *p53* dapat dilakukan dengan mentransfer *p53* jenis ganas (*wild type*) rekombinan pada sel kanker yang tidak memiliki *p53* (*null*) atau mengalami mutasi. Dengan demikian terdapat tiga mekanisme apoptosis yang berbeda yang mana sebuah sel melakukan program bunuh diri dengan cara apoptosis. Ketiga mekanisme apoptosis tersebut adalah :

1. Dipicu oleh sinyal yang muncul dalam sel itu sendiri.
2. Dipicu oleh pengaktif kematian di luar sel yang terikat pada suatu reseptor pada permukaan sel seperti TNF- α , limfotoksin dan ligand Fas (FasL).
3. Dipicu oleh spesies oksigen reaktif yang membahayakan sel.

2.3.2.4 Konfluenitas Kultur Primer Sel Otak

Konfluenitas sel merupakan tumbuhnya sel secara homogen atau meratanya sel sebagai sel monolayer sampai menutupi cover glass (Wulandari, 2003). Sel dikatakan konfluen apabila sel tersebut sudah menempel dan berkembang memenuhi wadah kultur (Djati, 2006).

Konfluen diketahui hasilnya dengan mengetahui lama setelah kultur primer sampai sel menempel pada dasar dan menutupi luas permukaan darai *cover glass*. Sel

granulosa pada kultur primer (hari kelima, ke enam dan tujuh) dan subkultur pertama (hari ke sepuluh, ke empat belas dan ke delapan belas) dihitung menggunakan *hemocytometer* dan *hangcouter*. Waktu koenfluen ditunjukkan dengan ditemukannya jumlah sel jumlah sel yang paling banyak di antara hari-hari tersebut (Juwita, 2005).

2.3.2.5 Sitotoksik

Suatu zat dikatakan bersifat sitotoksik apabila zat tersebut memiliki efek toksisitas atau racun terhadap sel yang dapat menyebabkan kematian sel. Uji sitotoksitas merupakan uji yang digunakan untuk mengevaluasi suatu senyawa yang akan digunakan sebagai obat, kosmetik, zat tambahan makanan, pestisida dan digunakan juga untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa dengan menggunakan kultur sel secara *in vitro*. Sistem uji sitotoksitas ini merupakan uji kuantitatif dan kualitatif dengan cara menetapkan kematian sel (Freshney, 2005).

Secara *in vitro*, uji sitotoksitas dilakukan untuk menentukan potensi sitotoksik senyawa- senyawa seperti produk- produk farmasi, kosmetik, dan obat- obat antikanker. Pengembangan metode *in vitro* sebagai alternative pengganti pengujian menggunakan hewan uji relevansi yang cukup baik yang bertujuan mendeteksi potensi ketoksikan suatu obat pada manusia. Uji *in vitro* harus dapat menggambarkan efek senyawa uji yang sama bila diberikan secara *in vivo*. Respon sel terhadap agen- agen sitotoksik dipengaruhi oleh kerapatan sel (Freshney, 2005).

Uji sitotoksitas yang dilakukan dalam penelitian ini adalah uji sitotoksitas secara langsung yang dilakukan secara manual dengan menghitung jumlah sel hidup dibandingkan dengan sel mati. Perhitungan sel hidup secara manual dilakukan dengan pengecatan menggunakan tripan blue. Sel yang mati akan menyerap warna tripan blue sedang yang hidup tidak, hal ini disebabkan karena sel yang mati mengalami kerusakan pada membran selnya, protein dalam sel keluar dan berikatan dengan tripan blue. Perhitungan jumlah sel yang hidup dilakukan langsung pada haemocytometer (Djajanegara, 2010).

