

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kanker merupakan penyakit seluler dengan ciri adanya sifat pertumbuhan yang tidak terkendali (Hanahan dan Weinberg, 2000). Menurut Badan Kesehatan Dunia (WHO), penyakit kanker masuk dalam urutan teratas dari kelompok penyakit. Hal ini dapat dimengerti, karena penyakit ini merupakan penyakit yang paling mematikan di dunia. Penyakit kanker diperkirakan diidap oleh 15 orang per 100.000 orang penduduk di dunia (Mulyadi, 1997). Hingga saat ini kanker leher/mulut rahim masih menempati urutan pertama penyakit yang paling banyak menyerang wanita di Indonesia. Sementara di dunia, penderita kanker ini terbanyak kedua setelah kanker payudara (Mardiana, 2004).

Kanker adalah penyakit yang ditandai oleh adanya pertumbuhan yang tidak terkontrol yang mengarah pada proses invasi ke jaringan sekitar dan menyebar (metastasis) ke bagian tubuh lain (King, 2000). Akibatnya adalah pembengkakan atau benjolan yang disebut tumor atau neoplasma (Tjay dan Raharja, 2002). Dalam perkembangannya, sel-sel kanker ini dapat menyebar ke bagian tubuh lainnya sehingga dapat menyebabkan kematian (Anonim, 1995). Sel kanker dapat dibedakan dengan sel normal antara lain; sel kanker tidak mempunyai kontrol pertumbuhan; daya lekat sel kanker berkurang atau bahkan sudah tidak ada (Mulyadi, 1997).

Kanker leher/mulut rahim (serviks) adalah kanker yang menyerang bagian ujung bawah rahim yang menonjol ke vagina (liang senggama) (Mardiana, 2004). Penelitian akhir-akhir ini mendapatkan hubungan antara berbagai cara klinis-epidemiologi – patologik dan serologik antara infeksi virus papiloma (*Human Papiloma Virus* = HPV) dengan lesi prakanker servik (Anonim, 1993). Kemungkinan faktor etiologi lainnya seperti rokok, hormon (termasuk kontrasepsi) dan nutrisi (vitamin) perlu dipertimbangkan.

Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan pembedahan, menggunakan senyawa toksik atau dengan radiasi. Penelitian di bidang farmasi akhir-akhir ini juga memiliki kecenderungan untuk meneliti khasiat tanaman tradisional yang diduga kuat memiliki aktivitas farmakologis. Beberapa peneliti melaporkan bahwa bahan- bahan dari tanaman memiliki potensi sebagai regulator negatif onkogen dan regulator positif gen suppressor, sehingga berpotensi sebagai antikanker (Cardenas, dkk 1998).

Syah (2005), menerangkan bahwa senyawa-senyawa yang diisolasi dari tumbuhan kluwih, dengan nama botani sebagai *Artocarpus communis*, *Artocarpus altilis* atau *Artocarpus incisus* memiliki aspek fitokimia dan sifat biologis. Secara fitokimia, kluwih adalah penghasil senyawa-senyawa flavonoid, stilben, dan 2-arilbenzofuran terprenilasi atau tergeranilasi. Hasil analisis fitokimia yang telah dilakukan, meliputi hampir semua bagian tumbuhan termasuk daun, bunga, kulit batang, kulit akar, kayu batang, dan kayu akar. Pada kluwih (*Artocarpus altilis* Park) tidak ditemukan turunan flavon dari jenis dihidrobenzosanton, kuininodihidrobenzosanton atau furanodihidrobenzosanton. Penelitian ini untuk

mendalami kandungan kimia dan aktivitas sitotoksik dari tumbuhan kluwih dalam rangka menjadikan tumbuhan ini sebagai sumber bahan kimia yang berguna.

Sebagian dari senyawa-senyawa yang berhasil diisolasi dari *Artocarpus altilis* Park telah dievaluasi sifat biologisnya terhadap berbagai sistem uji, yang meliputi sifat sitotoksik, antiinflamasi, antimalaria, antimikroba, sebagai inhibitor enzim 5 α -reduktase, tirosinase, dan protease sistein chatepsin K. Hasil-hasil pengujian tersebut menunjukkan bahwa sebagian senyawa-senyawa tersebut sangat potensial, terutama sebagai senyawa antitumor, antiinflamasi, inhibitor enzim 5 α -reduktase, dan inhibitor enzim tirosinase (Syah, 2005).

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka diperoleh rumusan masalah yaitu :

1. Apakah senyawa hasil isolasi dari fraksi semipolar ekstrak metanol kulit batang kluwih (*Artocarpus altilis* Park) memiliki efek sitotoksik terhadap sel HeLa?
2. Berapa nilai IC₅₀ senyawa hasil isolasi dari fraksi semipolar ekstrak metanol kulit batang kluwih (*Artocarpus altilis* Park) terhadap sel HeLa tersebut?
3. Senyawa apakah yang mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa yang terdapat dalam senyawa hasil isolasi dari fraksi semipolar ekstrak metanol kulit batang kluwih (*Artocarpus altilis* Park) didasarkan pada analisis KLT, spektra UV, dan spektra IR?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui aktivitas sitotoksik senyawa hasil isolasi dari fraksi semipolar ekstrak metanol kulit batang kluwih (*Artocarpus altilis* Park) terhadap sel HeLa.
2. Untuk menentukan nilai IC₅₀ dari senyawa hasil isolasi tersebut terhadap sel HeLa.
3. Untuk mengkarakterisasi senyawa hasil isolasi dari fraksi semipolar ekstrak metanol kulit batang kluwih (*Artocarpus altilis* Park), berdasarkan analisis KLT, spektra IR dan UV.

D. Tinjauan Pustaka

1. *Artocarpus altilis* Park

- a. Klasifikasai tanaman *Artocarpus altilis* Park

Kedudukan tanaman Kluwih (*Artocarpus altilis* Park) dalam taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut:

Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledonae
Sub Classis	: Monoclamydeae/Apetalae
Ordo	: Urticales
Famili	: Moraceae
Genus	: <i>Artocarpus</i>
Spesies	: <i>Artocarpus altilis</i> Park.

(Steenis, 2003).

b. Nama daerah

Sumatera : Gomu (Melayu), Kulu (Aceh), Kulur (Batak), Kalawi (Minangkabau), Kaluwih (Lampung) ; Jawa : Kelewih (Sunda), Kluwih (Jawa), Kolor (Madura) ; Bali : Kalewih (Bali) ; Nusa Tenggara : Kolo (Bima), Lakuf (Timor) ; Sulawesi : Gamasi (Makasar), Kuloro (Selayar), Ulo (Bugis) ; Maluku : Limes, Umasi (Seram), Dolai (Halmahera) (Sutijopitojo, 1992).

c. Deskripsi Tumbuhan

Habitus : Pohon, tinggi 10-25 m ; batang tegak, bulat, percabangan simpodial, bergetah, permukaan kasar, coklat ; daun tunggal, berseling, lonjong, ujung runcing, pangkal meruncing, tepi bertoreh, panjang 50-70 cm, lebar 25-50 cm, pertulangan menyirip, tebal, permukaan kasar, hijau ; bunga : tunggal, berumah satu, di ketiak daun, bunga jantan silindris, panjang 10-20 cm, kuning, bunga betina bulat, garis tengah 2-5 cm, hijau ; buah : semu majemuk, bulat, diameter 10-20 cm, berduri lunak, hijau ; biji : bentuk ginjal, panjang 3-5 cm, hitam ; akar : tunggang, coklat ; spesies : *Artocarpus altilis* (Park.) Fsb

d. Khasiat

Bunga jantan *Artocarpus altilis* Park berkhasiat sebagai obat sakit gigi dan daunnya untuk obat sakit kulit. Untuk obat sakit gigi dipakai 1 buah bunga jantan *Artocarpus altilis* Park dibakar sampai menjadi arang lalu ditumbuk sampai halus. Hasil tumbukan dioleskan pada gigi yang sakit (Hutapea, 1991).

e. Kandungan kimia

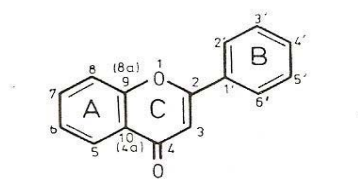
Bunga dan daun *Artocarpus altilis* Park mengandung saponin, polifenol dan tanin, sedang kulit batangnya mengandung flavonoid (Hutapea, 1991).

2. Uraian Flavonoid

a. Pengertian Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu gugus fenol alam yang terbesar. Sebenarnya, flavonoid terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga pasti ditemukan pula pada setiap ekstrak tumbuhan. Dalam tumbuhan, aglikon flavonoid (yaitu flavonoid tanpa gula terikat) terdapat dalam berbagai bentuk struktur. Semuanya mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi C6- C3- C6, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang terdapat atau tidak terdapat membentuk cincin ketiga.

Kerangka dasar senyawa golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C6-C3-C6 (cincin benzen tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Robinson, 1995). (Gambar 1)



Gambar 1. Kerangka dasar flavonoid beserta penomorannya (Markham, 1988).

b. Penggolongan Flavonoid

Struktur berbagai tipe golongan flavonoid bervariasi sesuai dengan kerangka dasar heterosiklik beroksigen yang dapat berupa gama piron, piron atau pirillium. Kecuali pada auron dan khalkon, siklisasi terjadi antara atom karbon didekat cincin B dan satu gugus hidroksil cincin A. Kelas-kelas yang berlainan di flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik oksigen dan juga hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan (Robinson, 1991).

Perbedaan di bagian rantai karbon nomor 3 menentukan klasifikasi dari senyawa flavonoid yaitu flavon, flavonol, flavononol, isoflavon, auron, khalkon.

3. Metode Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai. Kemudian semua/hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditentukan (Anonim, 1995).

Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat atau simplisia dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari obat atau simplisia (Ansel, 1989).

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari

tersebut akan menembus dinding sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Anshel, 1989).

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Sedangkan kerugiannya adalah pengerjaannya lama dan kurang sempurna (Anshel, 1989).

Pemilihan cairan penyari harus dipertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria berikut ini: murah dan mudah diperoleh, stabil fisis dan khemis, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif, tidak mempengaruhi zat berkhasiat dan diperbolehkan oleh peraturan (Anonim, 1986).

4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis ialah metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisahkan, yang terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa alat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisahkan, berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita (awal). Setelah plat atau lapisan ditaruh didalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan atau dideteksi (Stahl, 1985).

Pelarut yang digunakan bersifat polar sampai nonpolar, misalnya: air, metanol, etanol, etil asetat, dietil-eter, kloroform, benzena, karbon tetraklorida, sikloheksan, heptan, n-heksan, atau beberapa campurannya (Stahl, 1985).

a. Fase Diam (Lapisan Penyerap)

Lapisan dibuat dari salah satu penyerap yang khusus digunakan untuk KLT. Penyerap yang umum ialah silika gel, aluminium oksida, kieselgur, selulosa dan turunannya, poliamida dan lain-lain (Stahl, 1985).

b. Fase Gerak (Pelarut Pengembang)

Fase gerak ialah medium angkut dan terdiri satu atau beberapa pelarut. Fase gerak bergerak di dalam fase diam, yaitu suatu lapisan berpori, karena ada gaya kapiler. Pada kromatografi jerap, pelarut pengembang dapat dikelompokkan ke dalam deret eluotropik berdasarkan efek elusinya. Efek elusi naik dengan kenaikan kepolaran pelarut. Tetapan dielektrik (angka TD, ϵ) memberi informasi mengenai kepolaran suatu senyawa. Laju rambat tergantung kepada viskositas pelarut dan tentu juga kepada struktur lapisan, misalnya butiran penyerap (Stahl, 1985).

c. Deteksi Senyawa yang Dipisah

Deteksi paling sederhana adalah jika senyawa menunjukkan penyerapan di daerah UV gelombang pendek (250 nm) atau UV gelombang panjang (366 nm). Jika dengan kedua cara itu senyawa

dapat dideteksi, harus dicoba dengan reaksi kimia, pertama tanpa pemanasan, kemudian bila perlu dengan dipanaskan (Stahl, 1985).

d. Angka Rf Pada KLT

Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan angka Rf atau hRf.

$$Rf = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan dari titik awal}}$$

Angka Rf berjangka antara 0,00 dan 1,00, hanya dapat ditentukan dua desimal. hRf ialah angka Rf dikalikan faktor 100 (h), menghasilkan nilai berjangka 0 sampai 100 (Stahl, 1985).

5. Kromatografi Cair Vakum

Kromatografi Cair Vakum dipublikasikan pada tahun 1977 (Coll, dkk. 1997a) untuk mengisolasi *diterpena sembrenoid* dari terumbu karang lunak Australia. Diperkenalkan modifikasinya untuk mencegah pembentukan saluran, artinya sistem dirancang untuk kondisi vakum terus-menerus. Cara asli adalah dengan menggunakan corong *Buchner*, kaca masir, atau kolom pendek, sedangkan kolom panjang digunakan untuk meningkatkan daya pisah (Hostettman, dkk., 1995).

Kromatografi cair vakum (*Vacuum liquid Chromatography : VLC*) merupakan pengembangan dari kromatografi kolom. Pada VLC elusi diaktivasi dengan vakum. Elusi dilakukan dengan menggunakan fase gerak dengan gradien polaritas dari polaritas paling rendah sampai yang paling tinggi dan setiap kali

elusi fase gerak disedot dengan vakum sampai kering. Metode ini sangat praktis, cepat, murah dan diperoleh hasil yang baik.

Kromatografi dikemas kering dalam keadaan vakum agar diperoleh kemasan rapat yang maksimal, pelarut yang kepolarannya rendah dituangkan ke permukaan penyerap lalu divakumkan lagi. Kolom dihisap sampai kering dan siap dipakai. Cuplikan dilarutkan dalam pelarut yang cocok, mulai pelarut yang kepolarannya rendah lalu kepolarannya ditingkatkan perlahan-lahan, kolom dihisap jangan sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi (Hostettman, dkk., 1995).

6. Kanker

a. Tinjauan Umum

Kanker adalah penyakit seluler yang pertumbuhannya tidak terkendali karena terjadi gangguan pada pengaturan proliferasi sel dan fungsi homeostatis. Kanker merupakan *the outlaw cell* karena tumbuh secara tidak teratur, melanggar semua kaidah normal, tidak peduli akan kontrol dalam perbanyakannya (Sofyan, 2000).

Kanker dalam pengertian sederhana adalah sel yang tumbuh terus-menerus secara tidak terkendali, tidak terbatas, dan tidak normal (abnormal). Dalam kondisi normal, sel hanya akan berkembang biak dengan cara membelah diri jika ada yang mati atau rusak. Sel kanker akan terus mengalami perkembangbiakan meskipun tidak dibutuhkan oleh tubuh. Sel kanker merusak jaringan sel lain yang normal dan menyebar ke organ tubuh lain melalui jaringan ikat, darah, saraf dan jaringan penunjang organ tubuh. Bagian organ tubuh yang terserang sel kanker akan terhambat pertumbuhannya (Mardiana, 2004).

Kanker sering dikenal oleh masyarakat sebagai tumor, padahal tidak semua tumor adalah kanker. Tumor adalah semua benjolan tidak normal atau abnormal yang bukan radang. Tumor dibagi dalam dua golongan, yaitu tumor jinak dan tumor ganas. Kanker adalah istilah umum untuk tumor ganas. Sel tumor pada tumor jinak bersifat tumbuh lambat, sehingga tumor jinak pada umumnya tidak cepat membesar. Sel tumor mendesak jaringan sehat sekitarnya secara serempak sehingga terbentuk serabut pembungkus yang memisahkan jaringan tumor dari jaringan sehat, sehingga pada umumnya tumor jinak mudah dikeluarkan dengan cara operasi, dan pada umumnya tidak akan kambuh lagi. Sel tumor pada tumor ganas (kanker) tumbuh cepat, sehingga tumor ganas pada umumnya cepat menjadi besar. Sel tumor ganas tumbuh menyusup ke jaringan sehat sekitarnya dan dapat membuat anak sebar (metastasis) ke bagian alat tubuh lain yang jauh dari tempat asalnya melalui pembuluh getah bening dan tumbuh kanker baru di tempat lain (Anonim, 1995).

b. Sifat umum kanker adalah sebagai berikut:

- 1). Pertumbuhan berlebihan umumnya berbentuk tumor.
- 2). Gangguan deferensiasi dari sel dalam jaringan sehingga mirip jaringan mudhgoh.
- 3). Bersifat invasif, mampu tumbuh di jaringan di sekitarnya (perbedaan pokok dengan jaringan normal).
- 4). Bersifat metastatik, menyebar ketempat lain dan menyebabkan pertumbuhan baru.

- 5). Memiliki heriditas bawaan (*acquired heredity*) yaitu turunan sel kanker juga dapat menimbulkan kanker.
 - 6). Pergeseran metabolisme ke arah pembentukan makromolekul dari nukleosida dan asam amino peningkatan katabolisme karbohidrat untuk energi sel (Ganiswara, 1995).
- c. Bentuk-bentuk tumor dinamakan menurut jaringan tempat neoplasma berasal yaitu :
- 1). Adenoma : benjolan maligne pada kelenjar, misalnya pada prostat dan mamma.
 - 2). Limfoma : kanker pada kelenjar limfe, misalnya penyakit (non) Hodgkin dan p. Burkitt yang berciri benjolan rahang.
 - 3). Sarkoma : neoplasma ganas yang berasal dari pembuluh darah, jaringan ikat, otot atau tulang, misalnya sindroma Kaposi, suatu tumor pembuluh di bawah kulit tungkai bawah dengan bercak-bercak merah.
 - 4). Leukemia : kanker darah yang berhubungan dengan produksi leukosit yang abnormal tinggi dan eritrosit sangat berkurang.
 - 5). Myeloma : kanker pada sum-sum tulang, misalnya penyakit Kahler (*multiple myeloma*) dengan pertumbuhan liar sel-sel plasma di sum-sum. Sel plasma termasuk leukosit dan membentuk antibodi.
 - 6). Melanoma : neoplasma kulit yang luar biasa ganas, terdiri dari sel-sel pigmen yang dapat menyebar dengan pesat (Tjay dan Rahardja, 2002).

d. Siklus Sel Kanker

Sel Kanker pada dasarnya memiliki daur sel yang sama dengan sel normal, dapat berada dalam tiga keadaan; sel yang sedang membelah atau dalam siklus proliferasi, sel dalam keadaan istirahat (tidak membelah), dan sel yang secara permanen tidak dapat membelah (Nafrialdi dan Ganiswara, 1995).

Sel tumor yang sudah membelah terdapat dalam beberapa fase yaitu fase mitosis (M), pasca mitosis (*G1*), fase sintesis DNA (fase S) dan fase pramitosis (*G2*). Pada akhir fase *G1* terjadi peningkatan RNA disusul dengan fase S yang merupakan saat terjadinya replikasi DNA. Setelah fase S berakhir, sel masuk dalam fase pramitosis (*G2*) dengan ciri sel berbentuk tetraploid, mengandung DNA dua kali lebih banyak daripada sel fase lain dan masih berlangsungnya sintesis RNA dan protein. Sewaktu fase mitosis berlangsung (fase M) sintesis protein dan RNA berkurang secara tiba-tiba dan terjadi pembelahan menjadi 2 sel. Selain itu sel dapat memasuki interfase untuk kembali memasuki fase *G1*. Inilah saat berproliferasi atau memasuki fase istirahat (*G0*). Sel pada fase *G0* masih potensial untuk berproliferasi atau fase istirahat (*G0*). Sel pada fase *G0* masih potensial untuk berproliferasi disebut sel klorogenik atau sel induk (*stem cell*), jadi yang dapat menambah jumlah sel kanker adalah sel yang dalam siklus proliferasi dan dalam fase *G0* (Nafrialdi dan Ganiswara, 1995).

Regulasi Daur sel menentukan proses pertumbuhan sel. Sel kanker mengalami regulasi abnormal dari daur sel tersebut. Kanker muncul dari akumulasi perubahan genetik yang menyebabkan sel berkembang tanpa kontrol.

Perubahan ini melibatkan empat sampai enam perubahan genetik (Hanahan dan Weinberg, 2000).

Pertumbuhan menunjukkan adanya perubahan ukuran sel dan merupakan hasil akhir dari proses yang berpengaruh pada kehidupan sel tersebut seperti proliferasi, diferensiasi dan kematian sel. Sel kanker seringkali dikatakan sebagai sel yang berproliferasi cepat dibandingkan dengan keadaan normalnya (King, 2000).

Siklus sel terdiri dari dua fase yaitu interfase dan mitosis.

1. Interfase

Fase ini terbagi menjadi 3 periode yang berbeda :

a). Fase G1

Terutama disintesis asam ribonukleat, sel akan tumbuh, struktur sitoplasma tertentu akan berdiferensiasi. Pada tahap ini dipersiapkan suatu interval dalam proses pembelahan sel.

b). Fase S

Pada tahap ini disintesis DNA. Jumlah kromosom akan terlipat dua dan dengan ini pembelahan sel akan dipersiapkan.

c). Fase G2

Disebut juga interval premitosis/fase pasca sintesis. Pada tahap ini disintesis asam ribonukleat (RNA).

2. Mitosis

Adalah proses yang jauh lebih singkat daripada interfase dan berlangsung sekitar satu jam. Pada fase ini terdiri dari stadium-stadium: profase, metafase, dan telofase.

a) Profase

adalah stadium dimana struktur-struktur protein yang terdapat pada sitoplasma bergerak ke kutub yang berlawanan di dalam sel.

b) Metafase

adalah stadium dimana selama kromosom secara jelas menjadi dua sel pasangan yang berdampingan satu sama lain dibagi tengah sel. Terdapat mikrotubulus yang memanjang dari sentral ke masing-masing pasangan kromosom.

c) Anafase

adalah stadium selama mikrotubulus mulai menarik pasangan kromosom agar terpisah.

d) Telofase

adalah stadium selama sel terbelah ditengahnya dan terbentuk membran inti yang baru di kedua sel yang terdapat didalam sel.(Corwin 2001).

e. Penanggulangan Kanker

Hingga kini pengobatan neoplastik atau kanker dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu: pembedahan, radiasi, dan dengan pemberian obat antineoplastik atau antikanker (Mulyadi, 1997). Selama ini cara yang banyak ditempuh oleh banyak penderita adalah dengan pengobatan medis (melalui dokter). Pengobatan medis

tersebut antara lain dengan operasi, radioterapi, kemoterapi, hormonal terapi, imunoterapi (Mardiana, 2004). Kemoterapi kanker berusaha memanfaatkan sifat-sifat tertentu dari sel tumor. Dengan dasar tersebut, yang paling sering diterapkan adalah pemakaian anti metabolik atau zat pengalkil untuk mengusik program pembelahan sel (Smith dan Williams, 1983).

Selain pengobatan secara medis, saat ini telah berkembang teknik pengobatan dengan menggunakan tanaman obat. Terbukti tanaman obat mampu mengurangi dan menghambat perkembangan sel kanker dalam tubuh. Bahkan, tidak sedikit penderita kanker yang sembuh total setelah mengkonsumsi ramuan tanaman obat dalam jangka waktu tertentu (Mardiana, 2004).

7. Kanker *Cervix*

Kanker *cervix* di negara-negara yang maju menempati urutan setelah kanker payudara, kolorektum dan endometrium, sedangkan di negara-negara berkembang kanker *cervix* menempati urutan pertama (Anonim, 1993).

Kanker *cervix* adalah kanker yang terjadi pada *cervix* uterus, suatu daerah pada organ reproduksi wanita yang merupakan pintu masuk ke arah rahim yang terletak antara rahim (uterus) liang senggama (vagina) (Riono, 1999). Kanker *cervix* terjadi karena adanya HPV (*Human Papiloma Virus*). Hal itu dapat dibuktikan karena DNA virus HPV dapat ditemukan menjadi satu di dalam DNA yang diambil dari penderita karsinoma *cervix*. Kelompok virus ini telah diketahui mempunyai kemampuan menyebabkan proliferasi sel epitel, yang keadaan tersebut kelompok virus menyebabkan terjadinya pertumbuhan berpapil-papil (Underwood, 1999). Tetapi infeksi virus yang hanya sekali tidak dapat

menginisiasi munculnya sel kanker. Terjadinya kanker merupakan fungsi dari waktu dan parahnya infeksi virus yang ditularkan (King, 2000).

Kanker leher rahim merupakan salah satu jenis kanker yang dapat ditemukan pada stadium dini. Cara menemukannya adalah dengan pemeriksaan contoh sel yang diambil dari lendir leher rahim yang disebut tes *papanicolaou* atau "Pap Smear" (Anonim, 1995).

8. Sel HeLa

Hela *cell lines* merupakan continuous *cell lines* yang tumbuh sebagai sel yang semi melekat. Sel HeLa diturunkan dari sel epitel kanker leher rahim manusia. Sel ini diisolasi sejak tahun 1951 dari rahim wanita penderita kanker leher rahim, berasal dari Baltimore yang bernama Henrietta Lacks (31 tahun). HeLa merupakan singkatan namanya (Julia, 2001).

Media yang digunakan pada kultur sel HeLa adalah RPMI-1640-serum. Media RPMI mengandung nutrisi yang dibutuhkan sel seperti asam amino, vitamin, garam-garam anorganik dan glukosa. Sedangkan serum mengandung hormon yang dapat memacu pertumbuhan sel, albumin merupakan protein transport, lipid yang diperlukan untuk pertumbuhan sel dan mineal yang merupakan kofaktor enzim. Seluruh komponen dalam media RPMI-serum tersebut digunakan untuk memberikan nutrisi yang cukup pada sel untuk tetap bertahan hidup dan memperbanyak diri (Freshney, 1987).

9. Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik adalah uji toksisitas secara *in vitro* menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa. Penggunaan uji sitotoksitas pada kultur sel merupakan salah satu cara penetapan *in vitro* untuk mendapatkan obat sitostatik. Sistem merupakan uji kualitatif dengan cara menetapkan kematian sel. Hasil uji sitotoksik dapat ditentukan nilai LC_{50} yang menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitostatik (Freshney, 1986).

Metode *in vitro* menawarkan beberapa keuntungan antara lain: (1) dapat digunakan sebagai tahap atau langkah awal dalam mengembangkan suatu obat ; (2) hanya dibutuhkan sedikit senyawa uji dalam pengujian; (3) secara drastis mengurangi jumlah hewan laboratorium; (4) untuk berbagai tujuan penggunaan kultur sel primer dari berbagai organ target (liver, ginjal, paru-paru, kulit, dan sebagainya) dapat memberikan potensi efeknya pada sel target pada manusia, yang secara ilmiah memberikan hasil yang lebih valid (Doyle dan Griffiths, 2000 *Cit* Nurrochmad, 2001). Dalam uji sitotoksik terdapat beberapa tingkatan dosis obat yang diselidiki diberikan pada beberapa kelompok binatang dan masing-masing kelompok diberi tingkatan dosis tertentu dicatat dan probit respon kuantal ini digambarkan dalam hubungannya dengan log dosis selanjutnya ditarik garis lurus yang paling baik melalui titik-titik yang ada dan dosis pada garis ini yang menyatakan 50% kematian dalam suatu kelompok (jadi probit 5) ditentukan. Antilog ini disebut median dosis letal (*Median Lethal Dosis*=MLD) dan merupakan ukuran kuantitatif toksisitas suatu obat (Mursyidi,1985).

Jumlah sel yang bertahan hidup pada uji sitotoksik ditetapkan berdasarkan kerusakan membran menggunakan metode *MTT assay*. *MTT assay* merupakan metode pengukuran secara kolorimetri dengan dasar reduksi garam tetrazolium (MTT) menjadi formazan yang tidak larut. Setelah inkubasi selama 2-4 jam, larutan SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*) 10% ditambah untuk melarutkan kristal berwarna dan kemudian dibaca pada *ELISA reader* pada panjang gelombang 550 nm. Zat warna yang terbentuk sebanding dengan jumlah sel yang hidup.

Garam tetrazolium kuning direduksi pada fase metabolik sel aktif untuk membentuk kristal ungu formazan larut dan warnanya dan warnanya dapat ditetapkan dengan spektrofotometer (Anonim, 2002, *cit* Ramli 2002).

Akhir dari uji sitotoksitas dapat memberikan informasi konsentrasi obat maksimal yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup. Akhir uji sitotoksitas pada organ target memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Doyle dan Griffiths, 2000, *Cit* Nurrochmad, 2001).

10. Spektrofotometri Ultraviolet

Spektroskopi adalah pengukuran radiasi elektromagnetik panjang gelombang tertentu yang sempit, mendekati monokromatik yang diserap zat. Pengukuran serapan dapat dilakukan pada daerah ultraviolet (panjang gelombang 190 nm – 380 nm). Meskipun spektrum pada daerah ultraviolet dan daerah cahaya tampak dari suatu zat berguna untuk membantu identifikasi (Anonim, 1979).

Spektrofotometer UV-VIS pada umumnya digunakan untuk menentukan jenis kromofor, ikatan rangkap yang terkonjugasi dan ausokrom dari suatu

senyawa organik, menjelaskan informasi dari struktur berdasarkan panjang gelombang maksimum suatu senyawa, mampu menganalisa senyawa organik secara kuantitatif dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. Sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200-400 nm (Dachriyanus, 2004).

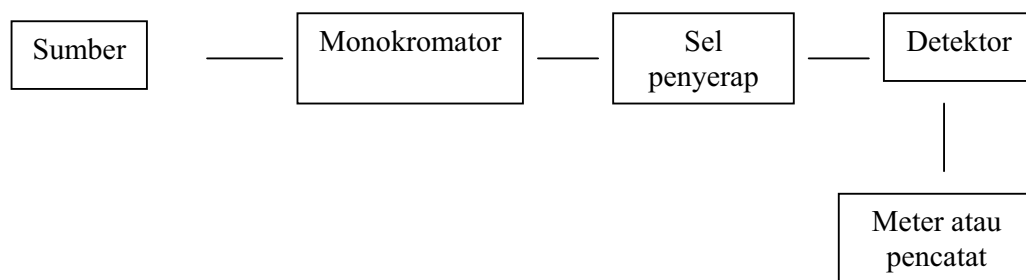
Spektroskopi serapan ultraviolet dan serapan tampak merupakan cara tunggal yang paling berguna untuk menganalisis struktur flavonoid. Cara tersebut digunakan untuk membantu mengidentifikasi jenis flavonoid dan menentukan pola oksigenasi. Dengan demikian, secara tidak langsung cara ini berguna untuk menentukan kedudukan gula atau metil yang terikat pada salah satu gugus hidroksil fenol.

Keuntungan utama cara ini ialah sangat sedikitnya jumlah flavonoid yang diperlukan untuk analisis lengkap (biasanya sekitar 0,1 mg) (Markham, 1998).

Spektrum flavonoid biasanya ditentukan dalam larutan dengan pelarut metanol (MeOH), atau etanol, meski perlu diingat bahwa spektrum yang dihasilkan dalam etanol kurang memuaskan. Spektrum khas terdiri atas dua maksimal pada rentang 240 nm – 285 nm (pita II) dan 300 nm – 550 nm (pita I) (Markham, 1988). Spektrum ultraviolet adalah suatu gambar antara panjang gelombang atau frekuensi serapan lawan intensitas serapan (transmitansi atau absorptansi). Klasifikasi transisi serapan elektronik, dalam hal ini perlu didefinisikan pengertian-pengertian tertentu yang sering digunakan dalam pembicaraan spektra elektronik.

Instrumen yang digunakan untuk mempelajari serapan atau emisi radiasi elektromagnetik sebagai fungsi dari panjang gelombang disebut "spektrometer"

atau spektrofotometer. Komponen-komponen pokok dari spektrofotometer meliputi: (1) sumber tenaga radiasi yang stabil, (2) sistem yang terdiri atas lensa-lensa, cermin, celah-celah, dan lain-lain, (3) monokromator untuk mengubah radiasi menjadi komponen-komponen panjang gelombang tunggal, (4) tempat cuplikan yang transparan, dan (5) detektor radiasi yang dihubungkan dengan sistem meter atau pencatat. Diagram sederhana dari spektrometer adalah sebagai berikut:



Gambar 2. Diagram spektrometer (Sastrohamidjojo, 1991).

11. Spektrofotometri Infra merah

Radiasi inframerah juga mengandung beberapa range frekuensi tetapi tidak dapat dilihat oleh mata. Pengukuran pada spektrum inframerah dilakukan pada daerah cahaya inframerah tengah yaitu pada panjang gelombang 2.5-50 μm atau bilangan gelombang 4000-200 cm^{-1} .

Penggunaan spektrofotometer inframerah yaitu untuk menentukan gugus fungsi suatu senyawa organik, mengetahui informasi struktur suatu senyawa organik dengan membandingkan daerah sidik jarinya (Dachriyanus, 2004).

Cara menginterpretasikan spektrum inframerah adalah dengan mengidentifikasi setiap absorpsi ikatan yang khas dari setiap gugus fungsi yang

merupakan basis dari interpretasi spektrum inframerah. Seperti regangan O-H memberikan pita serapan yang kuat pada daerah 3350 cm^{-1} . Beberapa daerah serapan yang khas dibawah ini dapat digunakan pada interpretasi awal dari spektrum inframerah. Daftar bilangan gelombang dari berbagai jenis ikatan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Daftar bilangan gelombang dari berbagai jenis ikatan

Bilangan gelombang (ν , cm^{-1})	Jenis ikatan
3750-3000	Regang O-H, N-H
3000-2700	Regang $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2$, C-H, C-H aldehid
2400-2100	Regang $-\text{C}\equiv\text{C}-$, $\text{C}\equiv\text{N}$
1900-1650	Regang C=O (asam, aldehid, keton, amida, ester, anhidrida)
1675-1500	Regang C=C (aromatik dan alifatik), C=N
1475-1300	C-H <i>bending</i>
1000-650	C=C-H, Ar-H <i>bending</i>

Seperti terlihat pada data di atas, ada daerah serapan yang tumpang tindih sehingga bisa meragukan dalam interpretasi data. Tidak ada aturan yang pasti dalam menginterpretasikan spektrum IR. Tetapi beberapa syarat harus dipenuhi dalam menginterpretasikan spektrum:

1. Spektrum harus tajam dan jelas serta memiliki intensitas yang tepat.
2. Spektrum harus berasal dari senyawa yang murni.
3. Spektrofotometer harus dikalibrasi sehingga akan menghasilkan pita atau serapan pada bilangan gelombang yang tepat.

4. Metoda penyiapan sampel harus dinyatakan. Jika digunakan pelarut maka jenis pelarut, konsentrasi dan tebal sel harus diketahui.

Karakteristik frekuensi vibrasi IR sangat dipengaruhi oleh perubahan yang sangat kecil pada molekul sehingga sangat sukar untuk menentukan struktur berdasarkan data IR saja (Dachriyanus, 2004).

E. Keterangan Empiris

Dari penelitian ini diharapkan dapat memperoleh suatu data ilmiah tentang efek sitotoksik dari senyawa hasil isolasi fraksi semipolar ekstrak metanol kulit batang kluwih terhadap sel HeLa serta gambaran struktur senyawanya.