

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kanker serviks merupakan salah satu penyebab kematian wanita di seluruh dunia, terhitung 8% total kematian akibat kanker serviks dikalangan wanita dan terdapat 9% kasus baru tentang kanker serviks (Jemal dkk., 2011). Lebih dari 88% kasus kanker serviks terjadi di negara-negara berkembang. Angka kematian mencapai 15,8% terjadi di wilayah Asia Tenggara (Ferlay dkk., 2010). Penyakit kanker serviks merupakan penyakit kanker dengan prevalensi tertinggi di Indonesia pada tahun 2013, yaitu sebesar 0,8‰ (Kemenkes RI., 2015).

Tingginya insiden penyakit kanker serviks mendorong upaya penemuan dan pengembangan pengobatan terhadap kanker. Berbagai penanganan dan pengobatan seperti kemoterapi, radioterapi, terapi hormonal, terapi antibodi monoklonal serta pembedahan telah dilakukan untuk mengatasi kanker (Mitrasinovic dan Mihajlovic, 2008). Namun sering kali cara tersebut menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan dan juga dapat menimbulkan *multidrug resistant* (MDR). Pengembangan alternatif pengobatan kanker dengan cara eksplorasi tanaman obat merupakan usaha untuk menghindari efek samping dari berbagai cara pengobatan kanker yang telah ada.

Salah satu tanaman obat yang berpotensi memiliki aktivitas sebagai antikanker adalah daging biji kluwak. Penelitian oleh Andarwulan., (1999) menyatakan bahwa ekstrak daging biji kluwak (*Pangium edule* R) mengandung

tokoferol yang terbukti sebagai antioksidan yang berpotensi sebagai anti kanker. Senyawa Tokoferol terbukti mampu memiliki aktivitas sitotoksik pada sel HeLa dengan cara penghambatan proliferasi sel (Wu dan ng., 2010). Penelitian Guthrie dkk., (1997) menyatakan bahwa tokoferol yang di dapatkan pada tanaman kelapa sawit terbukti memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dan MDA-MB.

Tokoferol merupakan senyawa pada daging biji kluwak yang bersifat non polar. Menurut Ahmadi, (2010) heksana termasuk pelarut organik non polar. n-heksan merupakan pelarut yang paling ringan dalam mengangkat minyak yang terkandung dalam biji-bijian (Susanti dkk., 2012). Penyarian yang dilakukan dengan metode ultrasonik ternyata mampu memberikan laju perpindahan yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional sehingga lebih cepat dan efisien (Rouhani dkk., 2009).

Berdasarkan latar belakang diatas maka ingin mengidentifikasi kandungan senyawa tokoferol pada fraksi n-heksan ekstrak etanol daging biji kluwak serta mengetahui aktivitas antikankernya terhadap sel kanker seriks HeLa.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka perumusan masalah penelitian adalah sebagai berikut :

1. Apakah fraksi n-heksan ekstrak etanol daging biji kluwak (*Pangium edule* R) metode ultrasonik mengandung tokoferol ?

2. Apakah fraksi n-heksan ekstrak etanol daging biji kluwak (*Pangium edule* R) metode ultrasonik memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker serviks HeLa ?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, dapat ditetapkan tujuan penelitian ini yaitu :

1. Membuktikan kandungan tokoferol pada fraksi n-heksan ekstrak etanol daging biji kluwak (*Pangium edule* R) dengan metode ultrasonik.
2. Membuktikan aktivitas efek sitotoksik fraksi n-heksan ekstrak etanol daging biji kluwak (*Pangium edule* R) dengan metode ultrasonik terhadap sel kanker serviks HeLa.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat, yaitu :

1. Memberikan bukti ilmiah adanya aktivitas sitotoksik fraksi n-heksan ekstrak etanol daging biji kluwak (*Pangium edule* R) terhadap sel kanker serviks HeLa.
2. Menambah data ilmiah mengenai aktivitas sitotoksik fraksi n-heksan ekstrak etanol daging biji kluwak (*Pangium edule* R) terhadap sel kanker serviks HeLa.

E. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman kluwak

a. Deskripsi Tanaman

Kluwak (*Pangium edule*. R) adalah salah satu jenis tanaman yang berasal dari Indonesia. Pohon kluwak dapat mencapai ketinggian 40 meter. Pohon

kluwak termasuk pohon yang berukuran sedang sampai besar, tingginya dapat mencapai ± 40 m. Cabang yang muda umumnya berbulu, sedangkan cabang yang tua tidak berbulu. Batang pokoknya besar, Kulit kayu berwarna kemerahan atau abu-abu kecokelatan dan kadang-kadang kasar dengan banyak celah yang mengeras (Heriyanto dan Subiandono, 2008). Daun muda pohon kluwak berlekuk tiga sedangkan daun tuanya berbentuk oval dengan pangkal melebar dan ujung meruncing.

Apriyanti (2011), menyatakan buah kluwak mengandung biji yang jumlahnya banyak dan tersusun rapi pada poros buah seperti buah cempedak. Buah yang berukuran besar mengandung biji yang jumlahnya dapat mencapai 30 biji, sedangkan buah yang berukuran kecil mengandung sekitar 12 biji. Biji kluwak (gambar 1) berukuran besar, berwarna kelabu, berbentuk limas dan keras antara endosperma dengan tempurung dibatasi oleh selaput tipis berwarna coklat. Kulit biji kasar dengan perikarp setebal 6 - 10 mm, berkayu dan beralur.

Klasifikasi Tanaman sebagai berikut (USDA., 2018) :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Violales
Famili	: Flacourtiaceae
Genus	: <i>Pangium</i>
Spesies	: <i>Pangium edule</i> R.



Gambar 1. Biji kluwak *Pangium edule* R (Sibuea., 2015).

b. Kandungan Kimia

Biji Kluwak (*endosperm*) banyak mengandung lemak. Buah yang masih segar, endospermanya berwarna putih, apabila buah sudah disimpan dalam waktu yang lama, maka warna endosperma berubah menjadi kehitaman. Daging biji mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, tokoferol, tokotrienol dan sianida. Hampir diseluruh bagian pohon kluwak, baik daun, biji, buah, kulit kayu dan akar, terdapat kandungan asam sianida (HCN). Asam sianida sifatnya beracun, dapat diatasi dengan pemanasan pencucian karena mudah menguap pada suhu 26° C serta larut dalam air. Adanya tanin menyebabkan daging biji kluwak menjadi cokelat. Reaksi tersebut dikenal dengan *browning enzymatic*, yang terjadi jika dikatalisis oleh enzim polifenolase dengan substrat berupa senyawa fenolik (Ramdana., 2015). Kandungan tokoferol pada daging biji kluwak diatur oleh tingkat asam lemak tak jenuh. Tokoferol pada daging biji kluwak terdapat banyak terlebih pada fase perkecambahan (Andarwulan., 1999).

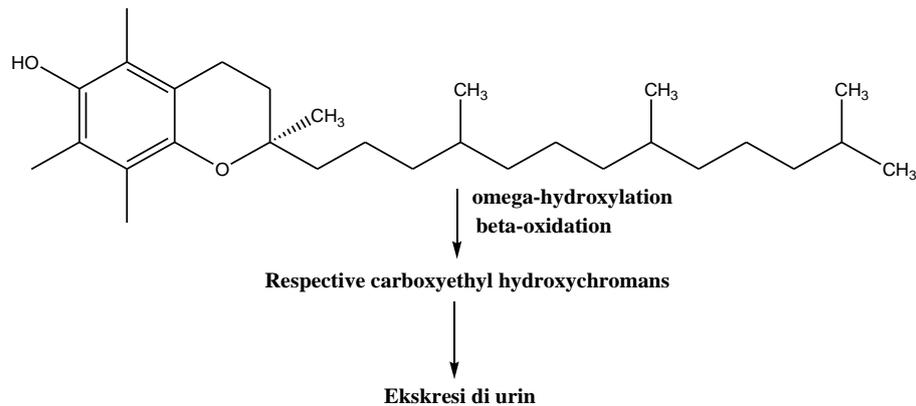
c. Khasiat

Kluwak mengandung senyawa tokoferol yang memiliki aktivitas antioksidan (Andarwulan., 1999). Menurut Heriyanto (2008) asam lemak siklik,

seperti asam hidnokarpat ($C_{16}H_{28}O_2$) dan asam khaulmograt ($C_{18}H_{32}O_2$) yang terkandung dalam biji kluwak memiliki sifat anti bakteri yang dapat mengobati penyakit lepra, kudis dan beberapa penyakit kulit lainnya. Senyawa sianida yang dikandung juga efektif sebagai pengawet dalam mengendalikan perkembangan bakteri pada ikan dan daging, seperti bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Ramdana., 2015). Daun kluwak memiliki khasiat sebagai obat cacing kremi dan penawar keracunan makanan. Daun segar, getah daun, tumbukan daun dan biji juga digunakan sebagai antiseptik dan disinfektan untuk membersihkan luka luar. Serbuk biji daging kluwak memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri (Chey., 2009). Tokokromanol yaitu campuran antara tokoferol dan Tokotrienol dalam daging biji kluwak mengandung senyawa antioksidan yang berfungsi sebagai anti kanker (Andarwulan., 1999).

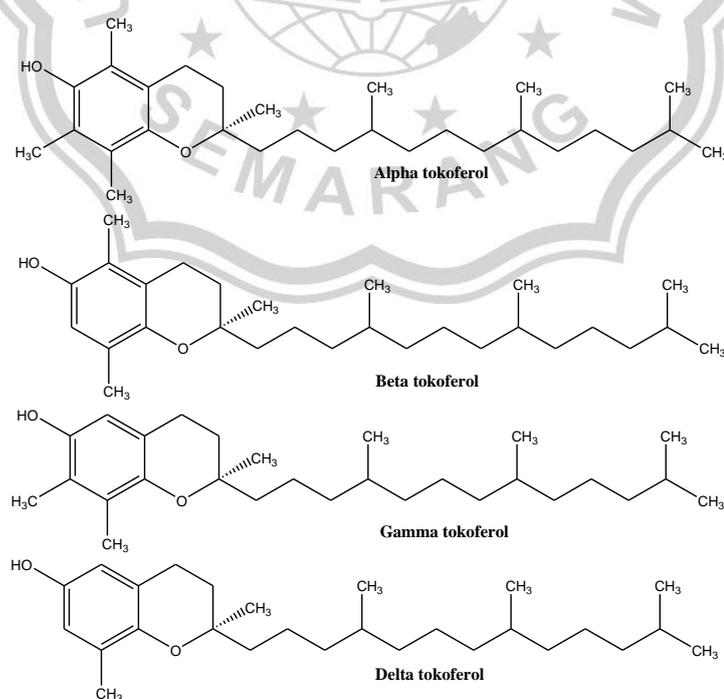
2. Tokoferol

Vitamin E merupakan kompleks gabungan dari tokoferol dan tokotrienol. Vitamin E pertama kali ditemukan dalam bentuk α -tokoferol pada tahun 1922 oleh Herbert Evans, sebagai nutrisi vital yang berperan dalam absorpsi nutrisi pada janin (Martha., 2013). Tokoferol merupakan salah satu vitamin yang larut lemak. Tokoferol di metabolisme di hati oleh sitokrom P 450, diikuti dengan oksidasi, conjugasi, dan ekskresi (Traber., 2013). Metabolisme tokoferol dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Metabolisme tokoferol (Kabir 2017).

Tokoferol terdiri dari struktur cincin kromanol dan rantai cabang poliprenil yang jenuh (Martha., 2013). Ada empat isomer tokoferol yaitu alfa, beta, delta, dan gama tokoferol terganung dari jumlah dan posisi gugus metil pada cincin kromanol. Jenis isomer alfa tokoferol yang memiliki biopotensi paling besar menunjukkan aktivitas biologis vitamin E (Lamid.,1995). Struktur tokoferol dapat dilihat pada gambar 3.



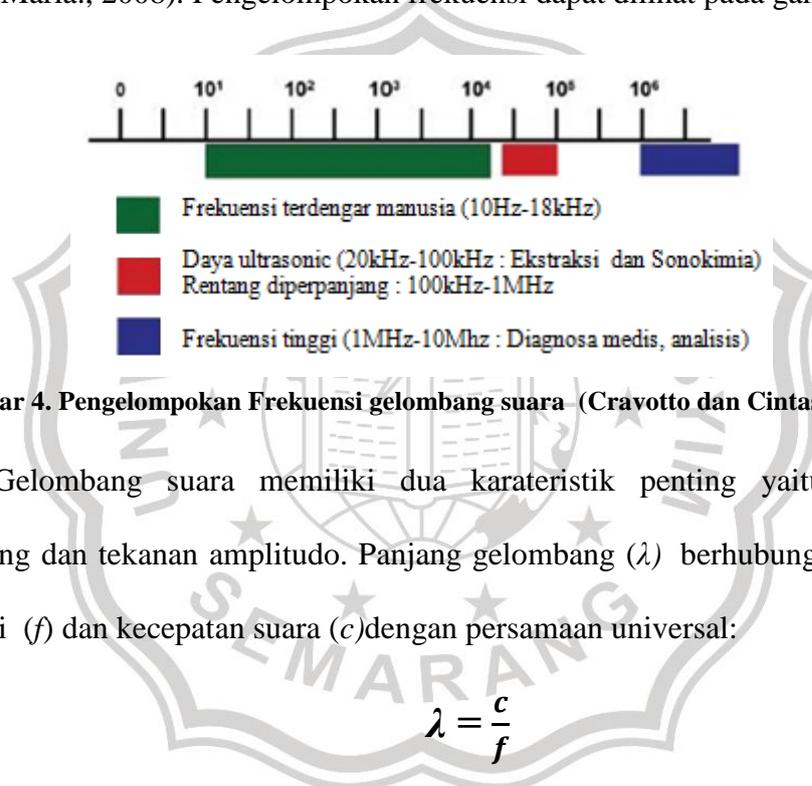
Gambar 3. Struktur tokoferol (Kabir 2017).

Fungsi terbesar dari tokoferol adalah sebagai antioksidan. Adapun fungsi lain yaitu sebagai imunomodulator, mencegah serangan jantung dan menghambat pertumbuhan kanker (Silalahi., 2006). γ -Tokoferol memiliki aktifitas menghambat tumor pada adenokarsinoma transgenik prostat pada tikus (Gupta., 2016). α -Tokoferol memiliki peran dalam mengorganisir aktivitas pemacu radikal cincin kromanol bereaksi dengan radikal peroksid lipid untuk membentuk α -tokoferoksid radikal bebas yang teroksidasi serta menghambat propagasi radikal tersebut dan menstabilisasi asam lemak tak jenuh pada lipoprotein dan membran sel tokoferol efektif menghambat proliferasi sel HeLa, dan mekanisme potensial mereka dapat melalui pengaturan genitil IL-6 dan pengaturan turunan siklin D3, p16, dan CDK6 pada jalur sinyal sel siklus (Wu., 2010).

3. Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian yaitu peristiwa perpindahan masa zat menggunakan pelarut tertentu untuk menarik senyawa didalam tanaman sehingga zat aktif tersebut larut dalam cairan penyari. Proses ekstraksi selesai setelah didapatkan kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam sel tanaman dengan konsentrasi senyawa dalam pelarut (Mukhriani., 2014). Hasil dari ekstraksi adalah sebuah ekstrak yaitu sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati (Depkes., 1995). Metode ekstraksi dipilih berdasarkan sifat dari tanaman yang akan disari dan daya penyesuaian pada tiap metode ekstraksi dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari suatu obat (Ansel., 1989).

Ekstraksi dengan ultrasonik merupakan ekstraksi maserasi dengan modifikasi pancaran gelombang ultrasonik. Ekstraksi menggunakan bentuk energi yang dihasilkan dari gelombang suara dengan frekuensi 20 kHz - 500 MHz (Mukhriani., 2014). Gelombang suara dapat dikelompokkan menjadi tiga menurut frekuensinya. Infrasonik yaitu panjang gelombang frekuensi kurang dari 20 Hz, Suara terdengar yaitu frekuensi 20 Hz – 20kHz dan ultrasonik frekuensi lebih dari 20 kHz (Maria., 2008). Pengelompokan frekuensi dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Pengelompokan Frekuensi gelombang suara (Cravotto dan Cintas., 2005).

Gelombang suara memiliki dua karakteristik penting yaitu panjang gelombang dan tekanan amplitudo. Panjang gelombang (λ) berhubungan dengan frekuensi (f) dan kecepatan suara (c) dengan persamaan universal:

$$\lambda = \frac{c}{f}$$

Kecepatan suara ditentukan oleh densitas (ρ) dan kompresibilitas medium yang dilewati kecepatan suara dalam medium gas berkisar 300-400 m/s sedangkan pada medium cair berkisar 1000-1500 m/s. Pemanfaatan ultrasonik dalam proses kimia disebut sonokimia (Maria., 2008). Ultrasonik intensitas tinggi frekuensi rendah biasa digunakan untuk aplikasi sonokimia dan pada intensitas rendah

frekuensi tinggi digunakan sebagai evaluasi non-destruktif (Doraiswamy, 2001).

Variasi konsentrasi gelombang ultrasonik dapat dilihat pada tabel I.

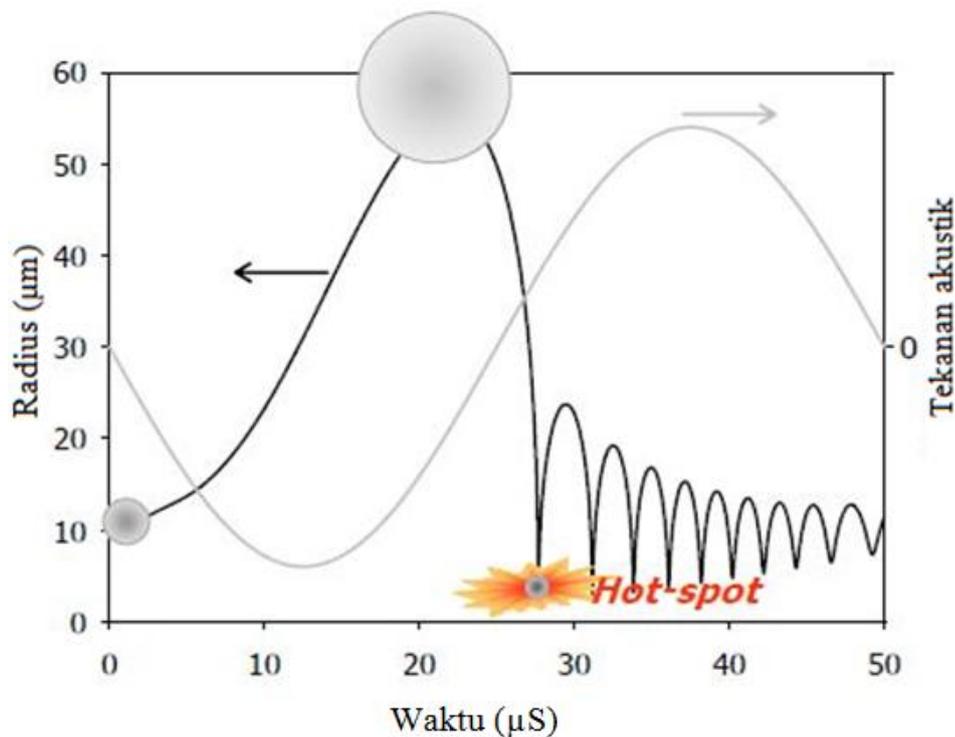
Tabel I. Variasi konsentrasi ultrasonik (Maria., 2008)

	Ultrasonik frekuensi rendah (20 kHz – 1 MHz)	Ultrasonik frekuensi tinggi (1 – 10 MHz)
Intensitas rendah	Sonophoresis	Diagnosa medis
Intensitas tinggi	Ekstraksi Gangguan sel Lithotripsy Aplikasi teknik Sonokimia	Pijat terapi Pengantar obat

Mekanisme kerja dari ultrasonik ini adalah menggunakan gelombang ultrasonik pada sonicator (reaktor ultrasonik) untuk membuat kavitasasi pada material larutan. Pecahnya dinding sel disebabkan karena terbentuknya gelembung kejut dan pancaran cairan (*liquid jets*). Keadaan seperti ini akan memacu keluarnya sel yang berakibat sel akan keluar dan bercampur dengan larutan. Hal ini yang dapat mempercepat waktu lebih efisien dibandingkan dengan ekstraksi konvensional (Cintas dan Ravotto, 2005).

Variasi tekanan dari gelombang suara membuat gerakan radikal pada rongga antara pelarut dan serbuk. Selama fase ekstraksi, tekanan negatif dari gelombang suara menginduksi perluasan antara pelarut dengan serbuk. Fase kompresi berikutnya gelombang suara menyebabkan tumbukan antar partikel berkontraksi. Rongga runtuh dalam waktu yang relatif singkat dibandingkan dengan fase ekspansi. Karena dinamika keruntuhannya cepat dibandingkan dengan perpindahan massa dan panas, kompresi rongga menyebabkan tekanan tinggi dan

peningkatan suhu adiabatik dari isi rongga Rongga yang runtuh sering disebut hot spot (Maria., 2008). Kavitasasi akustik dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Peristiwa kavitasi tunggal akibat tekanan akustik (Maria.,2008).

Gelombang suara merupakan getaran mekanis yang membutuhkan medium untuk bergerak. Pergerakan dari gelombang suara menyebabkan siklus dan kompresi dalam medium. Molekul akan bergerak terpisah pada siklus ekspansi dan pada siklus ompresi molekul akan bergerak secara bersamaan (Maria, 2008).

Ekstrak awal merupakan campuran dari berbagai senyawa. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama (Mukhriani., 2014). Fraksinasi

merupakan pemisahan senyawa berdasarkan kelarutan (hidrofilisitas atau hidrofobisitas), sifat asam-basa, muatan, stabilitas, dan ukuran molekul. Fraksinasi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair (Sarker dkk., 2006). Menurut Mukhriani (2014), suatu indikasi polaritas ekstrak sesuai dengan senyawa yang ada dalam ekstrak dapat dideterminasi dengan mengeringkan aliquot dari campuran dan mencoba melarutkannya kembali dalam variasi pelarut pada beberapa tingkatan polaritas.

4. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah metode kromatografi yang paling mudah untuk mengisolasi produk alami. Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan suatu teknik pemisahan senyawa secara sederhana. Dengan menggunakan adsorben (fase stasioner) berupa lapisan tipis seragam yang ditempelkan pada permukaan bidang datar berupa lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik. Pengembangan kromatografi terjadi ketika fase gerak tertapis melewati adsorben (Deinstrop, 2007). Pelat KLT silika gel analitik yang paling umum adalah pelat 20 x 20 cm plastik atau aluminium yang dilapisi silika gel 60 F254 memiliki ketebalan silika 0,25 mm (Sarker, 2006).

KLT digunakan secara luas untuk analisis *solute-solute organic* terutama dalam bidang biokimia, farmasi, klinis, forensik, baik untuk analisis kualitatif dengan cara membandingkan nilai Rf solut dengan nilai Rf senyawa baku atau untuk analisis kualitatif (Gandjar., 2007). Penggunaan umum KLT adalah untuk menentukan banyaknya komponen dalam campuran, identifikasi senyawa,

memantau berjalannya suatu reaksi, dan untuk menentukan efektifitas pemurnian (Gandjar., 2007).

Deteksi senyawa alami pada kromatografi lapis tipis dapat dilakukan dengan deteksi semprotan menggunakan pendeteksi seperti Wagner and Blatt's atau dengan pancaran sinar ultraviolet pada gelombang pendek 254 nm dan gelombang panjang 366 nm. Indikator akan memancarkan cahaya hijau pucat dibawah sinar ultraviolet 254 nm indikator selanjutnya akan memancarkan cahaya ungu pucat di bawah sinar ultraviolet 366. Senyawa yang menyerap lampu pada 254 atau 366 nm akan tampak sebagai titik gelap dengan latar belakang terang saat sinar ultraviolet bersinar ke lempeng KLT (Sarker., 2006).

5. Kanker

Kanker merupakan pertumbuhan sel-sel normal yang berubah menjadi abnormal yang tumbuh melampaui batas. Sel tersebut dapat bermultifikasi tanpa kontrol serta dapat menyerang organ yang dekat dan menyebar ke organ lain (Nurwijaya., 2010). Sel kanker juga dapat menyebar kebagian tubuh lain melalui darah dan sistem limpa. Tiga faktor penyebab utama kanker adalah *genetic predisposition* (faktor keturunan), *genetic environment*, dan interaksi agen-agen infeksi. Zat karsinogen merupakan zat yang memicu munculnya kanker. beberapa zat yang dapat memicu terjadinya kanker adalah radikal bebas, makanan yang diasinkan, dibakar, diasap dan diawetkan dengan nitrit (Mardina., 2004).

Hanahan dan Weinberg (2000) menjelaskan tentang ciri-ciri sel kanker yaitu. Sel kanker dapat memproduksi faktor pertumbuhan dan reseptor faktor pertumbuhan untuk dirinya sendiri dan mengirimkan sinyal untuk stimulasi sel

normal untuk menyediakan berbagai faktor pertumbuhan yang mampu digunakan oleh sel kanker. Sel kanker mampu menghindari dari *growth suppressor*. Gen retinoblasma (RB) memiliki tugas untuk menghambat transkripsi. Gen retinoblasma (RB) pada sel kanker mengalami kerusakan sehingga sel kanker tidak mengenal sinyal penghambat pertumbuhan. Di dalam tubuh, sel kanker mampu menghindari dari adanya respon imun. Sel kanker mampu menyerang dan berpindah ke bagian lain di dalam tubuh. Sel kanker membutuhkan banyak suplai oksigen dan makanan untuk bertahan hidup, sehingga sel akan membentuk angiogenesis (pembuluh darah baru). Mampu menghindari dari kematian sel (apoptosis). Sel kanker membutuhkan energi lewat jalur glikolisis. Sel kanker akan mampu menaikkan jumlah energi melalui jalur glikolisis. Terjadi mutasi gen replikasi DNA terdapat *tumor associated macrophages* (TAMs) untuk memproduksi molekul yang dapat mempengaruhi pertumbuhan sel tumor.

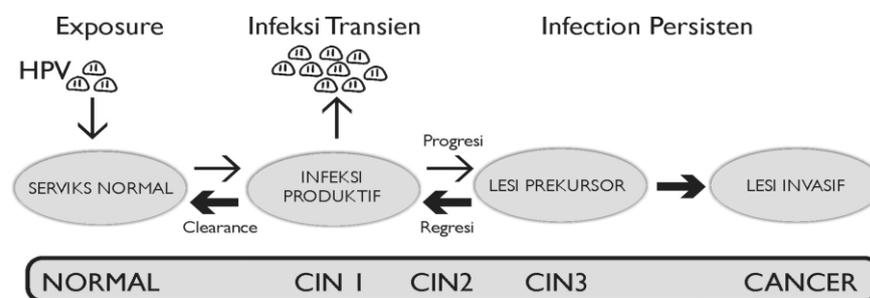
6. Kanker Serviks

Serviks adalah organ yang menghubungkan rahim dengan vagina. Kanker serviks merupakan kanker primer yang berasal dari metaplasia epitel di daerah skuamo kolumnar (SSK) yang merupakan daerah peralihan mukosa vagina dan mukosa kanalis servikalis (Nurwijaya., 2010). Kanker serviks terjadi karena adanya pertumbuhan sel yang tidak terkontrol atau berlebihan yang berada di daerah sekitar serviks (Rasjidi., 2010). Kanker serviks dapat berasal dari sel-sel yang berasal dari leher rahim, mulut rahim, ataupun dari keduanya. Perjalanan terjadinya kanker serviks dimulai dari zona transformasi yaitu perpindahan dari

tipe sel skuamosa menuju tipe sel silindiris. Pengaruh zat karsinogen berkembang secara bertahap menjadi sel pra kanker menjadi sel kanker (Nurwijaya dkk, 2010).

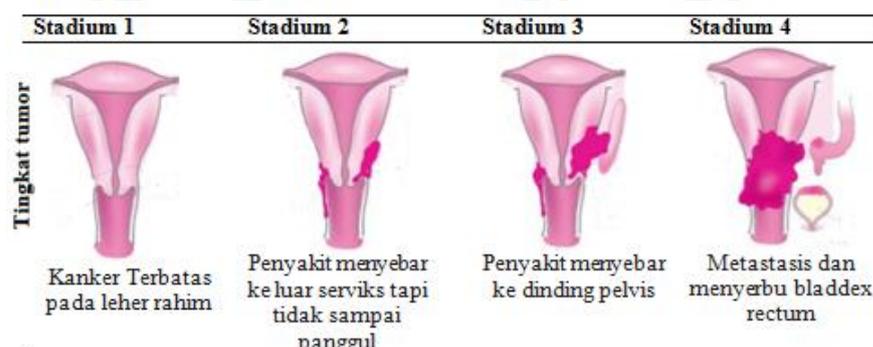
Penyebab primer kanker leher rahim adalah infeksi kronik leher rahim oleh satu atau lebih virus HPV (*Human Papilloma Virus*) tipe onkogenik yang berisiko tinggi menyebabkan kanker leher rahim, ditularkan melalui hubungan seksual (*sexually transmitted disease*).

Human Papilloma Virus (HPV) merupakan virus yang menyebabkan neoplasia servikal. HPV menjadi salah satu faktor inisiator dari kanker serviks yang menyebabkan terjadinya gangguan sel serviks. Karsinogenis pada kanker serviks dimulai sejak seseorang mulai terinfeksi HPV. Adanya infeksi *Human Papilloma Virus* (HPV) persisten dapat berubah menjadi neoplasia intraepitel serviks (NIS) (Rasjidi., 2009). Sel kanker serviks (HeLa) yang diinfeksi HPV mampu mengekspresikan 2 onkogen yaitu E6 dan E7. Dimana kedua onkogen tersebut adalah protein yang mampu menghambat ekspresi gen p53 sebagai gen penekan kanker (Goodwin., 2000). proliferasi sel kanker menjadi tidak terkendali akibat adanya onkogen yang lebih tinggi dibandingkan dengan p53 (Prayitno., 2005). Berikut ini adalah perjalanan penyakit kanker serviks dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Perjalanan penyakit kanker serviks (Rasjidi., 2009)

Beberapa faktor risiko yang telah dibuktikan dari adanya kasus kanker serviks yaitu berupa faktor hubungan seksual, karakteristik partner dan riwayat keturunan. Hubungan seksual wanita pada usia muda dapat meningkatkan risiko terinfeksi kanker serviks. Hal ini dikarenakan sel kolumnar serviks lebih peka terhadap metaplasia pada usia dewasa. Wanita yang berhubungan seksual sebelum usia 18 tahun memiliki risiko yang lebih besar yaitu lima kali lipat. Pasien kanker serviks relatif lebih sering menjalani hubungan seks aktif dengan partner yang melakukan seks berulang kali selain itu partner pria yang mempunyai kanker penis ataupun berhubungan seks dengan pria yang ditinggal meninggal oleh istrinya mampu meningkatkan risiko kanker serviks. Selain itu, Wanita dengan seksual aktif memiliki resiko yang tinggi (80%) terhadap HPV. Dalam hal ini respon antibodi terhadap HPV sangat berperan. HPV beresiko tinggi akan menjadi tersien dan tidak berkembang menjadi NIS dan virus serta lesi tidak menghilang. Dalam hal ini *cytotoxic T-cell* sangat berperan (Rasjidi., 2009). Perkembangan kanker serviks berdasarkan stadiumnya dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Perkembangan kanker serviks berdasarkan stadium (Kumaladewi., 2017)

Keputusan menteri kesehatan no. 796 tahun 2010 mengatur tentang pedoman teknis pengendalian kanker serviks yang meliputi empat pilar yaitu :

adanya tindakan pencegahan infeksi HPV dengan melakukan vaksinasi HPV dan menghindari faktor risiko, melakukan deteksi dini melalui peningkatan kewaspadaan dan program skrining yang terorganisasi, diagnosis yang terlaksana, serta perawatan paliatif untuk kasus lanjut. Skrining kanker serviks juga merupakan salah satu upaya pencegahan sekunder yang masih menjadi fokus kejadian kanker serviks. Skrining ini dilakukan dengan metode Inspeksi Visual Asam (IVA) dan tes pap smear. Skrining ini dilakukan terhadap orang yang sudah pernah melakukan hubungan seksual (Nurwijaya dkk., 2010).

Kultur Sel HeLa merupakan salah satu turunan sel epitel kanker leher rahim (*cervix*) yang memiliki sifat semi melekat dan merupakan akibat infeksi *Human Papilloma virus* (HPV 18) sehingga mempunyai sifat yang berbeda dengan sel leher rahim normal. Sel HeLa ditumbuhkan dalam medium RPM 1640 sigmal yang mengandung fetal bovine serum (FBS) 10%, fungizon 0,5 serta penisilin-streptomisin 2% (Fajarningsih, 2008).

Penyebab primer kanker leher rahim adalah infeksi kronik leher rahim oleh satu atau lebih virus HPV (*Human Papiloma Virus*) tipe onkogenik yang berisiko tinggi menyebabkan kanker leher rahim, ditularkan melalui hubungan seksual (*sexually transmitted disease*).

F. Landasan Teori

Daging biji kluwak (*Pangium edule.R*) mengandung senyawa antara lain terpenoid, flavonoid, alkaloid, fenolik (Anggara dkk., 2016) serta mengandung tokoferol dan tokotrienol (Andarwulan., 1999). Menurut Susanti dkk., (2012) berdasarkan polaritas heksana termasuk kedalam pelarut organik non polar.

Vitamin E (tokoferol) memiliki kelarutan yang cukup tinggi pada pelarut heksan (Ahmadi., 2010).

Penelitian Shahidi (2016) menunjukkan bahwa tokoferol memiliki manfaat sebagai adjuvant dalam pengobatan kanker dan pencegahan. Penelitian menurut Guthrie (1997) menyatakan bahwa tokoferol pada *palm oil* memiliki aktivitas proliferasi pada sel kanker payudara MDA-MB dan MCF-7 dengan $IC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ dan $IC_{50} 125 \mu\text{g/mL}$. Penelitian Yu (2009) menyatakan RRR-tokoferol alami signifikan menghambat tumor sel MD-mb-231 yang diinduksikan pada tikus. Menurut Wu., (2010) tokoferol memiliki aktivitas anti kanker pada sel karsinoma serviks manusia (HeLa). Hasil penelitian menunjukkan bahwa efek antiproliferatif tokoferol adalah ($IC_{50}: 49,46 \pm 3,01 \mu\text{M}$).

G. Hipotesis

1. Fraksi n-heksan ekstrak etanol daging biji kluwak (*Pangium edule* R) dengan metode ultrasonik mengandung senyawa tokoferol.
2. Fraksi n-heksan ekstrak etanol daging biji kluwak (*Pangium edule* R) dengan metode ultrasonik memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker serviks HeLa.