

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Tanaman Waru (*Hibiscus tiliaceus* L.)

##### 1. Klasifikasi Tanaman (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991)

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Malvales
Suku	: Malvaceae
Marga	: <i>Hibiscus</i>
Jenis	: <i>Hibiscus tiliaceus</i> L.



Gambar 1 *Hibiscus tiliaceus* L.

##### 2. Morfologi Tanaman

Pohon ini cepat tumbuh sampai tinggi 5-15 meter, garis tengah batang 40-50 cm, bercabang dan berwarna coklat. Daun merupakan daun tunggal, berangkai, berbentuk jantung, lingkaran lebar/bulat telur, tidak berlekuk dengan diameter kurang dari 19 cm. Daun menjari, sebagian dari tulang daun utama dengan kelenjar berbentuk celah pada sisi bawah dan sisi pangkal. Sisi bawah daun berambut abu-abu rapat. Daun penumpu bulat telur memanjang, panjang 2,5 cm, meninggalkan tanda bekas berbentuk cincin. Bunga waru merupakan bunga tunggal, bertaju 8-11. Panjang kelopak 2,5 cm beraturan bercangap 5. Daun mahkota berbentuk kipas,

panjang 5-7 cm, berwarna kuning dengan noda ungu pada pangkal, bagian dalam oranye dan akhirnya berubah menjadi kemerah-merahan. Tabung benang sari keseluruhan ditempati oleh kepala sari kuning. Bakal buah beruang 5, tiap rumah dibagi dua oleh sekat semu, dengan banyak bakal biji. Buah berbentuk telur berparuh pendek, panjang 3 cm, beruang 5 tidak sempurna, membuka dengan 5 katup (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

### 3. Kandungan Kimia

Kandungan kimia daun dan akar waru adalah saponin dan flavonoid. Disamping itu, daun waru juga paling sedikit mengandung lima senyawa fenol, sedang akar waru mengandung tanin (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991; Dalimartha, 2000). Berbagai senyawa fitokimia telah diisolasi dari tanaman ini antara lain yaitu *hibiscusin*, *hibiscusamide*, *vanilic acid*, *P-hydroxybenzoic acid*, *syringic acid*, *P-hidroxybenzaldehyde*, *skopoletin*, *N-TRANS-feruloytyramine*, *N-CIS-feruloytyramine*, campuran beta-sitosterol dan stigmasterol, campuran *sitostenone* dan *stigmasta-4,22-dien-3-one* (Chen *et al.*, 2006) *gossypol*, *gossypetin*, *hyperoside*, *quercetin*, *kaemferol*, *quercetin 3-O rutinoside* (rutin) (Zhen *et al.*, 2008) para-kumarat, asam fumarat (Kumar *et al.*, 2009).

### 4. Aktivitas biologis

Daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, aktivitas penghambatan tirosinase dan aktivitas melawan bakteri gram positif (Wong, 2008). Selanjutnya Ramproshad, *et al.* (2012)

menindaklanjuti dengan melakukan penelitian aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun waru menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun waru memiliki aktivitas antioksidan dengan  $IC_{50} = 86,5 \mu\text{g/ml}$ . Dari hasil penelitian menunjukkan daun waru mempunyai potensi sebagai penangkal radikal bebas dan mempunyai potensi lebih besar yang berkaitan dengan aktivitas antioksidan tersebut. Selain itu dilaporkan bahwa ekstrak daun waru memiliki aktivitas antinosiseptif dan antiinflamasi yang signifikan (Narender *et al.*, 2009), serta aktivitas anti ulkus (Mukesh *et al.*, 2010).

## B. Kanker Serviks

Kanker adalah 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) atau dengan migrasi sel ke tempat yang jauh (metastasis) (Donny, 2009). Pertumbuhan yang tidak terkendali tersebut disebabkan kerusakan DNA, menyebabkan mutasi di gen vital yang mengontrol pembelahan sel. Mutasi tersebut umumnya disebabkan karena adanya paparan senyawa karsinogen. Senyawa karsinogen merupakan senyawa yang mampu mengoksidasi DNA sehingga terjadi mutasi (Kakizoe, 2003). Kerusakan DNA dapat disebabkan oleh serangan *Reactive Oxygen Species* (ROS) baik bersumber dari endogenus maupun eksogenus. Dimana paparan yang tak diinginkan dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) yaitu stress oksidatif (Ariyani, 2009). Diketahui neoplasia serviks

berhubungan dengan inflamasi berlebihan hasil dari stress oksidatif oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Singh *et al.*, 2007)

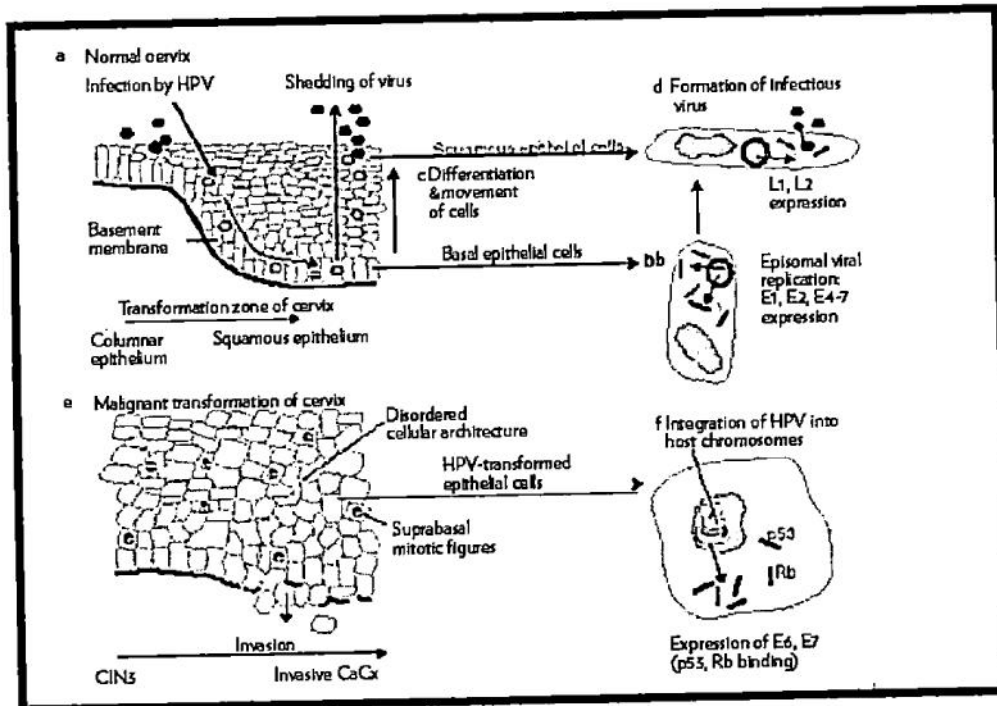
Kanker serviks adalah pertumbuhan baru yang ganas terdiri dari sel-sel *epithelial* yang cenderung menginfiltrasi jaringan sekitarnya dan menimbulkan metastasis (Dorland, 1998). Kanker serviks merupakan jenis kanker penyebab kematian kedua terbanyak pada wanita di seluruh dunia, dengan insidensi sebesar 25-40 per 100.000 wanita per tahun (Tambunan, 2007). Menurut *American Social Health Association*, sekitar 6,2 juta orang di Amerika Serikat terinfeksi HPV setiap tahunnya. Sedangkan GLOBOCAN (2008) menunjukkan data prevalensi HPV di populasi wanita Indonesia adalah sekitar 31%. Data infeksi HPV dan kanker serviks di Indonesia dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Data Statistik HPV dan Kanker Serviks di Indonesia

Wanita yang beresiko terkena kanker serviks (populasi wanita $\geq 15$ tahun)	79,14 juta
Jumlah kasus kanker serviks per tahun	13.762
Jumlah kasus kematian akibat kanker serviks per tahun	7.493
Perkiraan jumlah kasus kanker serviks baru tahun 2025	21.155
Perkiraan jumlah kematian akibat kanker serviks tahun 2025	12.080
Prevalensi infeksi HPV pada populasi (wanita tanpa kelainan sitologi)	31,0%
Prevalensi HPV tipe 16 dan/atau 18 pada wanita	
• Tanpa kelainan sitologi	4,0%
• <i>Low grade cervical lesions</i> (LSIL/ CIN-1)	-
• <i>High grade cervical lesions</i> (HSIL/ CIN-2 and CIN-3)	-
• Kanker Serviks	80,1%

Sumber : WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer (HPV Information Centre). *Human papillomavirus and related cancers. Summary Report Update, 3<sup>rd</sup> edition. 2010.*

Sel kanker serviks atau disebut juga sel HeLa terjadi akibat infeksi *Human Papillomavirus* (HPV 18) sehingga mempunyai sifat yang berbeda dengan sel serviks normal (Goodwin dan DiMaio, 2000). HPV adalah jenis virus dari keluarga *Papillomaviridae* dengan materi inti DNA untai ganda (*double-stranded DNA*) dan tidak memiliki selubung (*envelope*). Transfer gen horizontal dari *Human Papillomavirus* 18 (HPV18) ke sel serviks manusia menghasilkan genom HeLa yang berbeda dari genom induk dengan berbagai cara termasuk jumlah kromosomnya (Macville *et al.*, 1999). Sel kanker serviks yang diinfeksi HPV diketahui mengekspresikan 2 onkogen, yaitu E6 dan E7. Aktivasi protein onkogenik pada HPV tipe *high risk* menyebabkan terjadinya perubahan *epigenetic* pada beberapa promotor *tumor suppressor gene* (TSG) sehingga dapat menimbulkan kanker. Protein E6 dan E7 terbukti dapat menyebabkan sifat imortal pada kultur primer keratinosit manusia, namun sel yang imortal ini tidak bersifat tumorigenik hingga suatu proses genetik terjadi. Jadi, viral onkogen tersebut tidak secara langsung menginduksi pembentukan tumor, tetapi menginduksi serangkaian proses yang pada akhirnya dapat menyebabkan sifat kanker (Goodwin dan DiMaio, 2000). Siklus HPV dapat dilihat pada Gambar 2,



**Gambar 2.** Infeksi dan siklus HPV pada sel-sel epitel serviks. (a) Serviks yang normal memiliki zona transformasi (atau TZ) yang tiba-tiba bertransisi dari epitel kolumnar menjadi epitel skuamosa. (b) HPV mendapatkan akses ke sel-sel epitel basal serviks via vagina (selama berhubungan seksual) dan bereplikasi secara episomal (siklus lisogenik) dan mengekspresikan *early gen* ( $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_4$ ,  $E_5$ ,  $E_6$ , dan  $E_7$ ). (c) Sel-sel basal yang rusak akibat infeksi HPV.

Proses menuju terjadinya kanker yang progresif umumnya berjalan lama dan melibatkan perubahan-perubahan genetik lanjut serta perubahan ekspresi gen yang dapat mempengaruhi sifat pertumbuhan sel. Protein E6 dan E7 berperan dalam memodulasi protein seluler yang mengatur daur sel (DeFilipis *et al.*, 2003), sehingga menghasilkan peningkatan dalam ekspresi gen Bcl-x1, menunjukkan efek langsung dari protein virus pada ekspresi gen antiapoptosis Bcl-x1 (Aungsumart *et al.*, 2007). Studi molekuler lebih lanjut mengenai aktivitas suatu senyawa perlu dilakukan dimana seperti diketahui kebanyakan

sel-sel kanker secara molekuler sering dihubungkan oleh aktivasi berlebih atau ekspresi dari protein atau hilangnya inhibitor sel. Dimana overekspresi protein Bcl-xl telah dicatat dalam sel kanker serviks (Liang *et al.*, 1995). Bcl-xl mencegah apoptosis melalui dua mekanisme yang berbeda yaitu dengan heterodimerisasi dengan protein apoptosis untuk menghambat efek apoptosis dan dengan efek langsung membentuk pori pada membran luar mitokondria untuk membantu mempertahankan keadaan membran normal dalam kondisi stres (Adams dan Cory, 1998). Sehingga blokade fungsional Bcl-2 *family* seperti Bcl-xl diharapkan bisa mengembalikan proses apoptosis pada sel tumor atau membuat peka tumor untuk kemoterapi dan radioterapi.

### **C. Ekstraksi dan Fraksinasi**

Ekstraksi adalah proses penarikan komponen atau zat aktif suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu. Metode ekstraksi senyawa dipengaruhi oleh faktor sifat kandungan zat aktif atau kelarutan dalam pelarut. Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non-polar dalam pelarut non-polar (Amalina, 2008; Fahri, 2010). Maserasi merupakan proses penyarian dengan cara merendam sampel menggunakan pelarut sampai dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan.

Dalam proses maserasi sampel yang akan diekstraksi ditempatkan pada wadah atau bejana, bejana ditutup rapat dan isinya dikocok berulang-ulang.

Maserasi biasanya dilakukan dalam waktu tiga hari sampai bahan-bahan yang larut melarut (Ansel, 1989). Menurut Harborne (1987), metode maserasi digunakan untuk mengekstrak jaringan tanaman yang belum diketahui kandungan senyawanya yang kemungkinan bersifat tidak tahan panas sehingga kerusakan komponen tersebut dapat dihindari. Kekurangan dari metode ini adalah waktu yang relatif lama dan membutuhkan banyak pelarut. Ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan prinsip kelarutan.

Kendala pemanfaatan ekstrak kasar seperti kandungan padatan yang tinggi, aktivitas yang rendah serta sifat toksik perlu diwaspadai. Oleh karena itu perlu dilakukan proses fraksinasi/pemisahan dengan tujuan mendapatkan fraksi ekstrak yang lebih murni dengan aktivitas yang lebih tinggi. Fraksinasi dengan menggunakan pelarut merupakan salah satu metode pemisahan yang baik dan populer karena dapat dilakukan untuk tingkat mikro maupun makro. Fraksinasi terdiri dari dua macam yaitu ekstraksi padat-cair dan cair-cair. Fraksinasi padat-cair dapat dikerjakan dengan alat sokhlet, pada fraksinasi ini terjadi keseimbangan di antara fasa padat dan fasa cair (pelarut). Fraksinasi cair-cair merupakan suatu pemisahan yang didasarkan pada perbedaan kelarutan komponen dua pelarut yang tidak saling bercampur. Alat yang digunakan adalah alat yang sederhana yaitu corong pisah. Prinsip fraksinasi menggunakan pelarut didasarkan pada distribusi zat terlarut dan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur (Harborne, 2006).



#### D. Identifikasi Senyawa Kimia Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT merupakan teknik pemisahan yang banyak digunakan dalam proses pemurnian dan identifikasi senyawa kimia pada tanaman obat. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) telah digunakan secara luas karena menggunakan peralatan sederhana, murah, cepat dan daya pisah cukup baik. Prinsip KLT adalah pemisahan komponen berdasarkan distribusinya pada fase diam dan fase gerak. Cuplikan atau contoh diteteskan pada lapisan tipis kemudian dimasukkan ke dalam wadah pengembangan yang berisi fase gerak sehingga cuplikan tersebut terpisah menjadi komponen-komponennya (Adnan, 1997).

Eluen atau fase gerak pada KLT merupakan suatu medium angkut yang terdiri atas satu atau campuran pelarut tunggal. Fase gerak akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara menaik (*ascending*), atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*) (Rohman, 2007). Pemilihan pelarut sebagai fase gerak sangat menentukan pemisahan senyawa (Roth dan Blaschke, 1998). Penjerap yang umum ialah silika gel, aluminium oksida, kieselgur, selulosa dan turunannya, poliamida, dan lain-lain.

Senyawa diidentifikasi berdasarkan penampakan dan nilai Rf-nya (jarak relatif komponen terhadap jarak pelarut) yang kemudian dibandingkan dengan spot standar untuk analisis kualitatifnya (Fried dan Sherma, 1982). Nilai Rf, yaitu perbandingan jarak yang ditempuh senyawa dengan jarak yang ditempuh pelarut. Nilai Rf khas untuk suatu senyawa tertentu (Khopkar, 2002). Penampak

bercak yang umum digunakan adalah sinar UV. Dikenal pula penampak bercak yang disemprotkan pada fase diam seperti asam sulfat untuk semua golongan senyawa (Cannell, 1998), serum sulfat digunakan umumnya untuk golongan senyawa alkaloid, steroid sapogenin, terpenoid. Terdapat pula penampak bercak spesifik terhadap alkaloid yang disemprotkan pada fase diam yakni dragendorff yang akan menampakkan warna bercak jingga (Houghton dan Raman, 1998).

#### E. *Molecular Docking*

*Molecular docking* merupakan suatu teknik yang digunakan untuk mempelajari interaksi yang terjadi dari suatu kompleks molekul. *Molecular docking* dapat memprediksikan orientasi dari suatu molekul ke molekul yang lain ketika berikatan membentuk kompleks yang stabil (Funkhouser, 2007). Prinsip *docking* ialah teknik penempatan ligan ke dalam sisi aktif reseptor yang dilanjutkan dengan evaluasi molekul berdasarkan kecocokan bentuk dan sifat seperti elektrostatis (Kroemer, 2003). Simulasi *docking* dapat dipergunakan untuk memperoleh pengertian yang lebih baik terhadap mekanisme kerja suatu senyawa kimia atau makromolekul seperti protein maupun peptida, dalam skala molekuler sehingga dimungkinkan untuk mendesain obat berbasis struktur (Ali *et al.*, 2007)

Salah satu aplikasi kimia komputasi yang cukup memadai dan lengkap adalah PLANTS (*Protein Ligand ANT System*). PLANTS menyediakan aplikasi untuk mendesain dan menganalisis senyawa serta merupakan *software* yang terintegrasi kimia komputasi, pemodelan molekul dan *software* aplikasi ilmu

informatika. Untuk melakukan *molecular docking* hal pertama yang dibutuhkan adalah struktur tiga dimensi dari ligan (*drug*) dan protein target. Struktur tiga dimensi ligan dapat dimodelkan dengan menggunakan teknik *molecular docking* sedangkan struktur tiga dimensi protein target dapat ditentukan secara empiris dengan menggunakan teknik *NMR spectroscopy* dan *X-RAY crystallography* yang terdapat pada database *Protein Data Bank* (PDB) dan secara *in silico* dengan teknik *homology modeling* (Lucientes, 2004).

Dengan *docking* ini akan didapatkan *score* yang menggambarkan ikatan yang terjadi antara ligan dengan protein target. Output yang diperoleh berupa  $\Delta G$  (energi Gibbs). Nilai energi bebas Gibbs yang kecil menunjukkan bahwa konformasi yang terbentuk adalah stabil, sedangkan nilai energi bebas Gibbs yang besar menunjukkan tidak stabilnya kompleks yang terbentuk (Funkhouser, 2007). Kuat lemahnya ikatan ini akan menentukan besarnya aktivitas biologis. Semakin kecil *score docking* maka semakin kuat ikatan antara reseptor dan ligan.

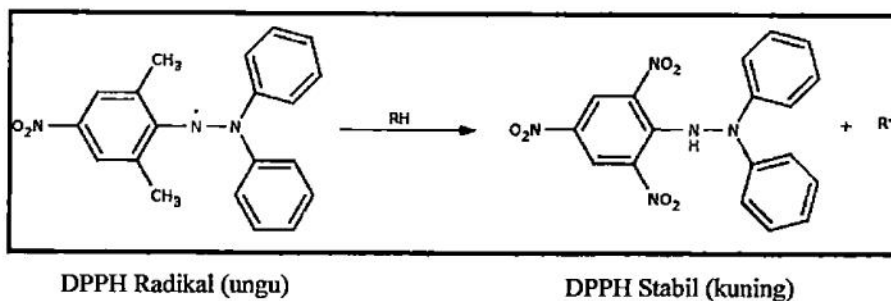
#### **F. Uji Antioksidan Metode DPPH**

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga dapat menghambat kerusakan sel (Winarsi, 2007). Ada beberapa metode uji antioksidan yang dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan baik berupa *in vitro* maupun *in vivo*. Metode *in vitro* memberikan

hasil aktivitas antioksidan yang lebih maksimal tetapi data yang didapat melalui metode ini sulit diaplikasikan pada manusia. Sebaliknya, pengukuran *in vivo* sulit mengetahui antioksidan yang diambil oleh sel dan proses transpornya. Metode penentuan aktivitas antioksidan memiliki beberapa prinsip pengujian yaitu uji stabilitas yang dipercepat, pengukuran nilai peroksida, konjugasi diena, penentuan senyawa reaktif asam tiobarbioturat, pengukuran heksanal, dan produk akhir yang berhubungan, dan pengukuran melalui radikal bebas (Antolovich *et al.*, 2002).

Metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) merupakan metode yang sederhana, cepat, dan murah untuk penapisan aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa. DPPH digunakan secara luas untuk percobaan kemampuan komponen dalam menangkap senyawa radikal bebas atau donor hidrogen, dan menentukan aktivitas antioksidan makanan. Selain itu juga dapat digunakan untuk kuantifikasi antioksidan dalam sistem biologi kompleks. Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel padatan atau cairan dan tidak spesifik untuk komponen antioksidan tertentu. Metode ini untuk semua aplikasi aktivitas antioksidan (Prakash *et al.*, 2001). Radikal DPPH merupakan suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen yang tidak stabil dengan absorbansi kuat pada panjang gelombang 517 nm dan berwarna ungu gelap. Analisis kualitatif aktivasi antioksidan menggunakan DPPH sebagai uji dalam mencari kemampuan menangkap radikal suatu senyawa dalam ekstrak tumbuhan yang umumnya dilakukan. Prinsip metode penangkapan radikal adalah pengukuran

penangkapan radikal bebas sintetik DPPH dalam pelarut organik polar seperti etanol atau metanol pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Pokorni, 2001). Senyawa DPPH merupakan senyawa yang sensitif terhadap beberapa basa Lewis, jenis pelarut, serta oksigen. Prinsipnya didasarkan pada penurunan nilai absorbansi akibat perubahan warna larutan. Perubahan warnanya dari ungu yang berubah menjadi kuning. Hal ini terjadi pada saat penangkapan DPPH oleh antioksidan yang melepas atom hidrogen untuk menangkap DPPH-H stabil (Ozcelik *et al.*, 2003).



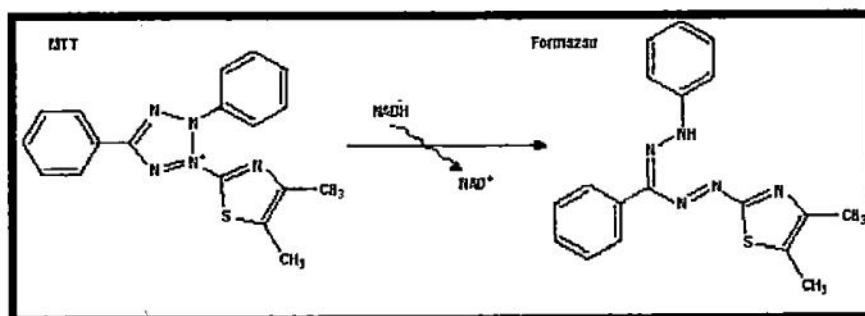
**Gambar 3.** Reaksi antara DPPH dan antioksidan

### G. Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik merupakan uji *in vitro* dengan menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi tingkat ketoksikan suatu senyawa. Sistem tersebut merupakan uji kualitatif dengan menetapkan kematian sel. Dasar dari percobaan tersebut antara lain bahwa sistem penetapan aktivitas biologis seharusnya memberikan kurva dosis respon yang menunjukkan hubungan lurus dengan jumlah sel (Anggriati, 2008). Dua metode umum yang digunakan untuk uji sitotoksitas adalah metode perhitungan langsung (*direct counting*) dengan menggunakan biru tripan (*trypan blue*) dan metode MTT *assay*. Dalam

penelitian ini digunakan uji *MTT assay* yang memiliki kelebihan yaitu relatif cepat, sensitif, akurat, digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya bisa untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan (Doyle dan Griffiths, 2000).

Dasar uji enzimatik MTT adalah dengan mengukur kemampuan sel hidup berdasarkan aktivitas mitokondria dari kultur sel. Metode ini berdasarkan pada perubahan garam tetrazolium [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide] (MTT) menjadi formazan dalam mitokondria yang aktif pada sel hidup. MTT diabsorpsi ke dalam sel hidup dan dipecah melalui reaksi reduksi oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi mitokondria menjadi formazan yang terlarut dalam SDS 10% berwarna ungu. Konsentrasi formazan yang berwarna ungu dapat ditentukan secara spektrofotometri visibel dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria aktif (Mosmann, 1983). Semakin besar absorbansi menunjukkan semakin banyak jumlah sel yang hidup. Reaksi reduksi MTT dapat dilihat pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Reaksi Reduksi MTT menjadi Formazan

Uji sitotoksik digunakan untuk menentukan parameter nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai  $IC_{50}$  yang menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa. Semakin besar harga  $IC_{50}$  maka senyawa tersebut semakin tidak toksik. Senyawa sitotoksik adalah senyawa yang bersifat toksik pada sel. Uji sitotoksik dapat memberikan informasi konsentrasi obat yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup. Akhir dari uji sitotoksik adalah memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Amalina, 2008).

#### H. Kerangka Konsep

Kanker adalah penyakit yang ditandai dengan pembelahan sel yang tidak terkendali dan kemampuan sel-sel tersebut untuk menyerang jaringan biologis lainnya. Pertumbuhan yang tidak terkendali tersebut disebabkan kerusakan DNA. Kerusakan DNA dapat disebabkan oleh serangan *Reactive Oxygen Species* (ROS) baik bersumber dari endogenus maupun eksogenus.

Tumbuhan memiliki komponen antitumor berupa senyawa fitokimia yang dikenal dengan pencegah kanker (*cancer chemoprevention*). Agen kemopreventif merupakan agen yang dapat mencegah dan memiliki aktivitas menghambat perkembangan sel kanker serta dapat meningkatkan kemungkinan kesembuhan pada penderita kanker (Artanti *et al.*, 2009).

Kandungan kimia daun waru (*Hibiscus tiliaceus* L.) adalah saponin, flavonoid dan polifenol. Senyawa flavanoid memiliki aktivitas antioksidan dengan sifat ini flavonoid memiliki potensi untuk menghambat proses inisiasi karsinogenesis dengan cara menghambat aktivasi karsinogen (Meiyanto, 2007). Dikarenakan aktivitas antioksidannya, maka daun waru diduga dapat digunakan sebagai agen kemopreventif.

Studi molekuler lebih lanjut mengenai aktivitas suatu senyawa perlu dilakukan dimana seperti diketahui kebanyakan sel-sel kanker secara molekuler sering dihubungkan oleh aktivasi berlebih atau ekspresi dari protein atau hilangnya inhibitor sel. Dimana overekspresi protein Bcl-xl telah dicatat dalam sel kanker serviks (Liang *et al.*, 1995). Rutin (quercetin 3-O rutinose) salah satu wakil utama dari flavonoid terkandung dalam daun waru (Zhen *et al.*, 2008). Rutin telah terbukti menyebabkan *cell cycle arrest* dan menginduksi apoptosis dalam berbagai jenis jalur sel kanker manusia (Kamalakkannan dan Stanely, 2006; Koda *et al.*, 2008; La Casa *et al.*, 2000). Sehingga blokade fungsional Bcl-2 family seperti Bcl-xl diharapkan bisa mengembalikan proses apoptosis pada sel tumor atau membuat peka tumor untuk kemoterapi dan radioterapi.

## **I. Hipotesis atau Keterangan Empirik**

Hipotesis pada penelitian ini:

1. Terdapat kandungan senyawa golongan flavonoid dalam FEDW.
2. FEDW memiliki aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.



3. FEDW memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker serviks HeLa.
4. Senyawa *rutin* berpotensi sebagai agen kemopreventif dengan menginduksi apoptosis melalui penghambatan protein Bcl-xl berdasarkan metode *molecular docking*.