

## AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN METANOL DAUN PUCUK MERAH (*Syzygium myrtifolium* Walp.) TERHADAP SEL HELA

## CYTOTOXIC ACTIVITY OF ETHANOL AND METHANOL EXTRACTS OF RED SHOOTS LEAFS (*Syzygium myrtifolium* Walp.) AGAINST HELA CELLS

Devi Puspaningrum<sup>1</sup>, Cita Hanif Muflihah<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Sukoharjo, Indonesia

\*E-mail correspondence : [chm641@ums.ac.id](mailto:chm641@ums.ac.id)

Dikirim : 28 April 2025 ; Disetujui : 22 Mei 2025 ; Diterbitkan : 31 Mei 2025

### Abstrak

Kanker serviks salah satu penyakit penyebab tingginya kasus kematian pada perempuan di dunia dan menempati urutan nomor 2 di Indonesia dengan persentase 10,69%. Daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) merupakan salah satu bahan alam yang memiliki potensi sebagai agen antikanker. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas sitotoksik ekstrak etanol dan metanol dari daun pucuk merah pada sel HeLa dan mengidentifikasi kandungan senyawa dalam ekstrak. Pelarut etanol 96% dan metanol digunakan untuk mengekstraksi daun pucuk merah melalui metode maserasi. Metode uji aktivitas sitotoksik menggunakan MTT assay dengan konsentrasi ekstrak 144; 173; 207; 249; 299; dan 358 µg/mL. Metode kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase gerak n-heksana:etil asetat (6:4) serta fase diam silika gel 60 F<sub>254</sub>, digunakan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa dalam ekstrak. Hasil penelitian didapatkan nilai IC<sub>50</sub> 106,832 µg/mL untuk ekstrak metanol daun pucuk merah yang mempunyai aktivitas sitotoksik yang lebih baik, jika dibandingkan dengan ekstrak etanol daun pucuk merah yang memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 356,459 µg/mL. Golongan senyawa yang ditemukan pada ekstrak etanol dan metanol daun pucuk merah adalah golongan senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin, steroid, dan fenolik, yang diduga bertanggungjawab terhadap aktivitas sitotoksik.

**Kata Kunci:** HeLa, kanker serviks, Kromatografi Lapis Tipis, sitotoksik, *Syzygium myrtifolium* Walp.

### Abstract

Cervical cancer is one of the leading causes of female mortality worldwide and ranks second in Indonesia with a prevalence of 10.69%. Red shoot leaves (*Syzygium myrtifolium* Walp.) are a natural resource with potential anticancer properties. This study aimed to evaluate the cytotoxic activity of ethanol and methanol extracts of red shoot leaves on HeLa cells and to identify the compounds present in the extracts. Extraction was performed using 96% ethanol and methanol solvents through maceration. Cytotoxic activity was assessed using the MTT assay at extract concentrations of 144, 173, 207, 249, 299, and 358 µg/mL. Thin layer chromatography (TLC) with a mobile phase of n-hexane:ethyl acetate (6:4) and silica gel 60 F<sub>254</sub> as the stationary phase was used to identify the compounds in the extracts. The methanol extract showed better cytotoxic activity with an IC<sub>50</sub> value of 106.832 µg/mL compared to the ethanol extract, which had an IC<sub>50</sub> of 356.459 µg/mL. Both ethanol and methanol extracts contained flavonoids, alkaloids, terpenoids, saponins,

steroids, and phenolic compounds, which are suspected to contribute to the cytotoxic effects.

**Keywords:** HeLa, cervical cancer, Thin layer chromatography, cytotoxic, *Syzygium myrtifolium* Walp.

## PENDAHULUAN

Kanker salah satu penyakit dengan penyebab kematian yang umum di dunia. Di Indonesia, kasus kanker mulai menunjukkan peningkatan pada usia di atas 35 tahun dengan kelompok perempuan lebih besar dibandingkan laki-laki (Kemenkes RI, 2019). Salah satu kanker pembunuh utama perempuan di dunia yaitu kanker leher rahim yang dikenal juga sebagai kanker serviks. Kanker serviks menempati urutan nomor 2 di Indonesia dengan persentase 10,69% yang dialami oleh perempuan (Kemenkes RI, 2019). Gejala umum yang terjadi pada pasien dengan kanker serviks seperti perdarahan, keputihan, nyeri pinggang atau perut bagian bawah sampai anuria. Penyebab terjadinya kanker serviks yaitu adanya infeksi yang diakibatkan *Human Papilloma Virus* (Putri *et al.*, 2022). Di Negara berkembang ada beberapa faktor resiko kanker serviks seperti merokok, penyakit menular seksual, aktivitas seksual pada usia muda, dan sosial ekonomi rendah (Kemenkes RI, 2018).

Beberapa metode yang biasanya dilakukan untuk pengobatan kanker adalah pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi. Namun mengingat metode tersebut memerlukan biaya yang mahal serta menyebabkan efek samping yang besar, maka dibutuhkan alternatif lain untuk pengobatan kanker. Salah satu pengobatan alternatif yaitu dengan memanfaatkan tanaman obat alam dengan biaya dan efek samping yang relatif lebih rendah. Saat ini, ada beberapa tanaman dan senyawa aktif tunggal yang diisolasi dari tanaman obat alam yang dapat digunakan sebagai antikanker (Zafrial & Amalia, 2018).

Tanaman hias daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dapat digunakan sebagai obat alami. Kandungan metabolit sekunder dari daun merah dari tanaman pucuk merah dilaporkan seperti triterpenoid, saponin, fenolik, flavonoid, alkaloid, dan steroid. Senyawa-senyawa ini mempunyai sifat antibakteri, antioksidan, sitotoksik, antitumor, dan antiangiogenesis (Haryati *et al.*, 2015). Aktivitas sitotoksik daun pucuk merah telah diteliti pada beberapa sel kanker. Aktivitas antikanker ekstrak etanol daun pucuk merah pada sel kanker kolon (HT-29) mempunyai nilai  $IC_{50}$  sebesar 90,1  $\mu\text{g/mL}$  (Memon *et al.*, 2014). Ekstrak metanol dari daun pucuk merah diketahui mempunyai efek sitotoksik pada sel HCT-116 (kanker kolorektal) dan sel MCF-7 (kanker payudara) (Aisha *et al.*, 2009). Sel HeLa adalah jenis sel kanker serviks atau kanker leher rahim manusia, biasanya ditemukan pada pasien perempuan dan menjadi salah satu penyebab kematian di dunia. Belum ada penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas sitotoksik ekstrak daun pucuk merah pada sel HeLa, oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi dan membandingkan aktivitas sitotoksik ekstrak etanol dan metanol daun pucuk merah terhadap sel HeLa, serta mengidentifikasi golongan senyawa aktif yang berpotensi sebagai antikanker.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Penelitian ini menggunakan almari pengering, peralatan gelas, neraca analitik (Ohaus), *rotary evaporator*, lampu UV, cawan porselen, *centrifuge* (Toho), mikropipet (Socorex), inkubator CO<sub>2</sub> (BINDER), botol Schott Duran, *Cytotoxic Safety Cabinet* (ESCO), *hemocytometer* (Assistent), ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) reader (Elx800 Bio Tech), *inverted microscope* (Olympus CKX41).

### Bahan

Bahan utama daun pucuk merah diperoleh dari Colomadu, akuabides, etanol 96%, metanol, *Wellplate-96* (Iwaki), *Phosphate Buffered Saline* (PBS) (Sigma), *blue tip* (Onemade), dimetil sulfoksida (DMSO) (Gibco), Media Kultur *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) (Gibco), *Fetal Bovine Serum* (FBS) (Sigma), *yellow tip* (Nesco), larutan MTT (*3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyl-tetrazolium bromide*) (Sigma), fungizone (Gibco), tripsin-EDTA (Gibco), *Sodium Dodecyl Sulfat* (SDS) 10% dalam 0,1N HCl (reagen stopper) (Sigma), penisilin-streptomisin (Gibco), alumunium foil, Doxorubicin (Kalbe), *conical tube* (Iwaki), Silika gel 60 F<sub>254</sub> (Merck), akuades, sel HeLa.

### Determinasi Tanaman

Tanaman daun pucuk merah diuji determinasi untuk mengetahui identitas tanamannya. Bagian tanaman yang diuji determinasi meliputi daun, batang, akar, dan buah. Hasil uji determinasi dengan nomor surat 74/DET/UPT-LAB/16.08.2023 menunjukkan bahwa tanaman yang diteliti merupakan spesies *Syzygium myrtifolium* Walp. dari famili Myrtaceae.

### Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Simplisia daun pucuk merah (200 g) direndam dalam etanol 96% dan 200 g simpisia direndam metanol dalam bejana yang berbeda. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam. Hasil maserat diuapkan pada suhu 60°C hingga pekat menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak yang didapatkan dipanaskan diatas *waterbath* yang bersuhu 50°C sampai didapatkan ekstrak etanol dan metanol daun pucuk merah yang kental (Syari *et al.*, 2022).

### Pembuatan Media Kultur Sel

Media kultur sel dibuat dengan mencampur 10 mL FBS (*Fetal Bovine Serum*) dan 1 mL antibiotik penisilin-streptomisin yang sudah dicairkan pada suhu kamar dalam botol duran. Campuran ditambahkan fungizone 500 µL sebagai antijamur dan ditambahkan media cair RPMI sampai 100 mL (CCRC UGM, 2009).

### Cell Thawing

Sel HeLa dari tabung nitrogen dicairkan pada suhu kamar dan disiapkan media kultur sebanyak 3 mL dalam *conical tube* dan ditambahkan 1000 µL suspensi sel yang sudah mencair tetes demi tetes, ditutup dengan rapat disentrifugasi selama 5 menit. Supernatan dari media kultur dibuang dan media kultur baru ditambahkan sebanyak 4 mL, diresuspensi hingga homogen. Suspensi sel dipindahkan ke dalam 2 *dish* sebanyak 2 mL dan ditambahkan media kultur sebanyak 5 mL masing-masing dihomogenkan. Kondisi sel diamati menggunakan mikroskop dan sel disimpan dalam inkubator CO<sub>2</sub> (CCRC, 2009b).

### Panen dan Perhitungan Sel

Kultur sel yang sudah 80% konfluen dipanen. Media dalam dish dibuang, sel dicuci 2x dengan menggunakan 5 mL PBS. Sel ditambahkan 350  $\mu$ L tripsin-EDTA (tripsin 0,25%) yang berfungsi untuk melepaskan sel dari matrik. Sel diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> selama 3 menit kemudian ditambahkan dengan 5 mL media kultur baru untuk menginaktifkan tripsin. Sel diresuspensi untuk melepaskan sel satu per-satu, diamati dengan mikroskop. Sel diamati jika sudah tidak saling menempel dipindahkan ke dalam conical yang steril dan diresuspensi. Sel diambil sebanyak 10  $\mu$ L dari panen sel untuk dihitung dalam hemasitometer (CCRC, 2009a).

### Preparasi Sampel

Sampel ekstrak etanol dan metanol daun pucuk merah ditimbang sebanyak 10 mg di dalam *ependorf*. Sampel ditambahkan 100  $\mu$ L DMSO dilarutkan dengan bantuan vortex. Sampel diencerkan dengan menambahkan media kultur RPMI sampai diperoleh seri konsentrasi 144; 173; 207; 249; 299 dan 358  $\mu$ g/mL (CCRC, 2009c).

### Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT assay. Suspensi sel kanker HeLa ( $1 \times 10^4$  sel/well) dimasukkan ke dalam *Wellplate-96* sebanyak 100  $\mu$ l per sumuran, kecuali 6 sumuran yang digunakan sebagai kontrol media. Sel diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> pada suhu 37°C selama 24 jam. Media dibuang dan sisa media ditiriskan secara perlahan dengan tisu. Sumuran yang berisi sel dicuci dengan 100  $\mu$ L PBS dan ditambahkan sampel dengan seri konsentrasi 144, 173, 207, 249, 299, dan 358  $\mu$ g/mL ke dalam sumuran diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> selama 24 jam. Media sel dibuang, dicuci kembali dengan PBS dan ditambahkan reagen MTT sebanyak 100  $\mu$ L ke dalam masing-masing sumuran dan diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> selama 4 jam sampai kristal formazan terbentuk. Setelah terbentuk kristal formazan, tiap sumuran ditambahkan SDS 10% dalam 0,1 N HCl sebanyak 100  $\mu$ l dan plate dibungkus menggunakan alumunium foil untuk diinkubasi pada suhu kamar ditempat yang gelap selama 24 jam. Tiap sumuran dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 550 nm menggunakan *ELISA reader* (CCRC, 2009d).

Persentase sel hidup dihitung dengan rumus (1) :

$$\% \text{sel hidup} = \frac{\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media}}{\text{Absorbansi kontrol pelarut} - \text{Absorbansi kontrol media}} \times 100\% \quad (1)$$

Selanjutnya persamaan regresi linear didapatkan dari grafik rata-rata persentase sel hidup dengan log konsentrasi sampel. Persamaan regresi linear untuk dapat memenuhi standar pencarian nilai IC<sub>50</sub> nilai maka nilai r perlu lebih besar dari r tabel. Pada persamaan regresi linear nilai y adalah 50% sedangkan nilai x adalah log konsentrasi, dan dihitung antilog dari konsentrasi tersebut sehingga diperoleh nilai IC<sub>50</sub> (CCRC, 2009d).

### Uji Kandungan Senyawa

Identifikasi golongan senyawa dilakukan menggunakan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Silika gel 60 F<sub>254</sub> digunakan untuk fase diam kemudian n-heksana:etil asetat (6:4) sebagai fase gerak. Plat silika kemudian disemprot pereaksi semprot sitroborat, Dragendorff, Liebermann-Burchard (LB), dan FeCl<sub>3</sub>. Perhitungan nilai R<sub>f</sub> dengan rumus (2) :

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh sampel (cm)}}{\text{jarak yang ditempuh fase gerak (cm)}} \quad (2)$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Ekstraksi

Simplisia Daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) diekstraksi dengan menambahkan pelarut metanol dan pelarut etanol 96% menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan yaitu pelarut etanol 96% dan metanol karena pelarut tersebut banyak digunakan untuk proses isolasi senyawa bahan alam. Kedua pelarut tersebut memiliki kelebihan dapat melarutkan seluruh golongan senyawa metabolit sekunder baik polar maupun non polar (Alim *et al.*, 2022). Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 25,770 gram untuk pelarut etanol 96% dan 53,840 gram untuk pelarut metanol. Nilai rendemen yang diperoleh untuk kedua ekstrak daun pucuk merah dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Nilai % rendemen ekstrak daun pucuk merah**

Pelarut	Bobot (gram)		Rendemen (%)
	Simplisia	Ekstrak	
Metanol	200	53,840	26,920
Etanol	200	25,770	12,880

**Tabel 2. Hasil uji organoleptis ekstrak daun pucuk merah**

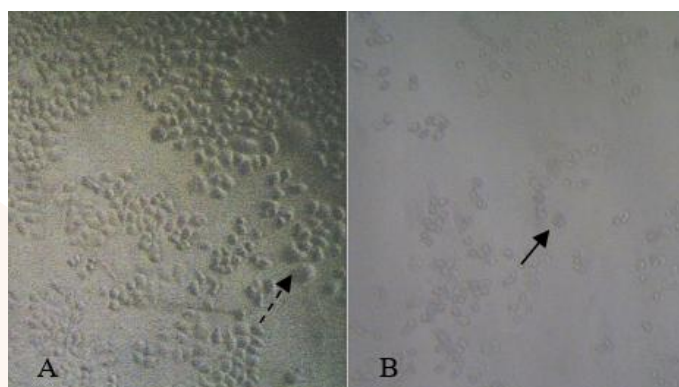
Organoleptis	Sampel	
	Ekstrak etanol	Ekstrak metanol
Rasa	Pahit	Pahit
Bau	Khas	Khas
Bentuk	Ekstrak kental	Ekstrak kental
Warna	Coklat kehitaman	Coklat kehitaman

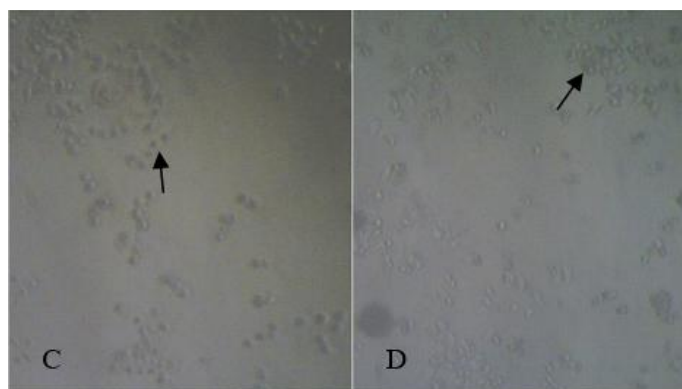
Ekstrak metanol daun pucuk merah memiliki nilai rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol daun pucuk merah. Pada penelitian yang dilakukan oleh Imrawati *et al.* (2023) diketahui nilai %rendemen ekstrak etanol daun pucuk merah sebesar 18,24%. Hasil %rendemen yang berbeda bisa disebabkan karena waktu ekstraksi, ukuran partikel bahan, dan suhu ekstraksi yang berbeda. Nilai %rendemen yang tinggi menunjukkan bahwa pelarut tersebut mampu mengekstrak komponen senyawa dengan sifat kepolaran yang tinggi. Pelarut metanol bersifat lebih polar dari pada pelarut etanol 96% sehingga mampu menyari senyawa yang bersifat polar dan non polar. Ekstrak daun pucuk merah yang diperoleh diuji organoleptis secara objektif dengan sederhana menggunakan panca indra. Pengujian organoleptis ekstrak meliputi rasa, bau, warna serta bentuk dari ekstrak daun pucuk merah dengan hasil tercantum pada Tabel 2.

### Hasil Uji Sitotoksik

Ekstrak daun pucuk merah diuji menggunakan metode MTT assay untuk mengetahui aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker HeLa. Metode MTT terbukti lebih akurat, cepat, dan sensitif (Nurkhasan & Indarwati, 2012). Prinsip metode MTT yaitu terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT oleh sistem reduktase. Suksinat tetrazolium yang terdapat dalam mitokondria sel hidup dapat membentuk kristal formazan berwarna ungu yang tidak larut air. Adanya penambahan *reagen stopper* yang bersifat detergenik akan melarutkan kristal yang berwarna ungu. Intensitas warna ungu yang semakin gelap, menandakan semakin banyak jumlah sel yang hidup (CCRC, 2009d). Dari hasil penelitian intensitas warna yang muncul yaitu warna ungu yang berarti penambahan ekstrak daun pucuk merah masih dapat mempertahankan sel yang hidup. Sampel ekstrak etanol dan metanol daun pucuk merah dilarutkan menggunakan pelarut DMSO. Pelarut ini mampu bercampur dengan air, melarutkan senyawa yang polar maupun yang non polar, serta tidak berwarna. Selain itu pelarut DMSO pada kadar yang rendah kurang dari 3% bersifat tidak toksik terhadap sel kanker (Noviardi *et al.*, 2019). Kadar pelarut DMSO yang digunakan sebagai Kontrol pelarut yaitu 0,179%.

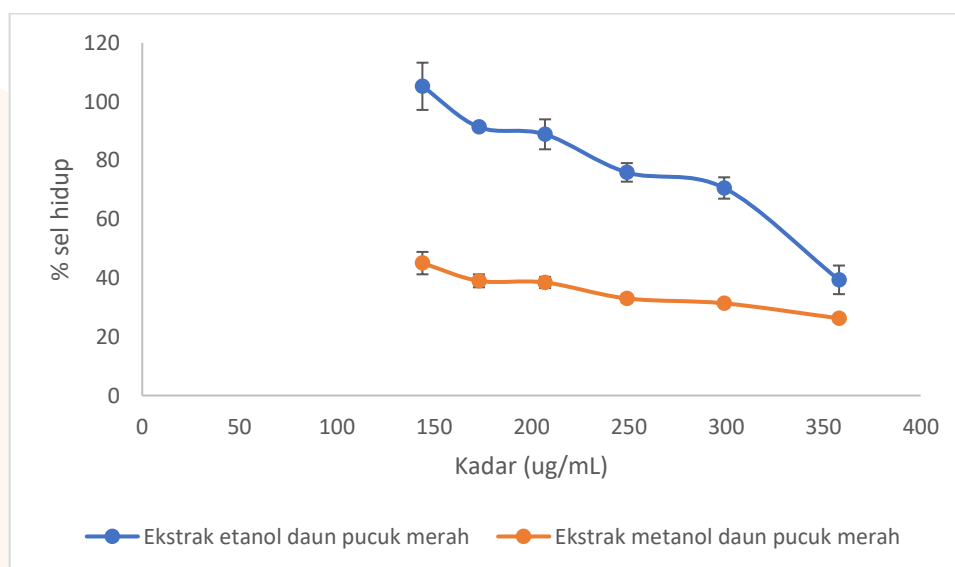
Penelitian ini menggunakan sel HeLa, yaitu sel kanker serviks yang disebabkan oleh infeksi *Human Papilloma Virus* (HPV) tipe 18 (Gaffar *et al.*, 2022). Morfologi sel HeLa yang hidup memiliki karakteristik yang lebih padat, berbentuk bulat atau oval, dan melekat pada dasar flask (Gambar 1A), sedangkan setelah perlakuan sampel ekstrak etanol dan metanol daun pucuk merah serta obat doxorubicin sel cenderung memisah tidak bergerombol, terlihat mengambang atau tidak melekat didasar flask dengan bentuk bulat yang lebih kecil dan sebagian berwarna gelap seperti terlihat pada Gambar 1. Sel yang berwarna gelap setelah diberikan perlakuan menandakan bahwa terjadi kematian sel. Sel diinkubasi selama 24 jam setelah perlakuan selanjutnya ditambahkan reagen MTT.





**Gambar 1. Morfologi sel HeLa setelah inkubasi 24 jam. Sel HeLa sebelum perlakuan (A), Setelah perlakuan doxorubicin konsentrasi 6,455 µg/mL (B), setelah perlakuan ekstrak etanol daun pucuk merah konsentrasi 358 µg/mL (C), setelah perlakuan ekstrak metanol daun pucuk merah konsentrasi 358 µg/mL (D).**

Pada penelitian ini didapatkan data persentase sel hidup sel HeLa yang diberikan perlakuan sampel ekstrak etanol dan metanol daun pucuk merah. Hasil menunjukkan bahwa, konsentrasi sampel yang lebih tinggi menunjukkan persentase sel hidup yang lebih rendah (Gambar 2). Pada konsentrasi tertinggi ekstrak etanol daun pucuk merah 358 µg/mL memiliki rata-rata persen sel hidup sebesar 39,363 %. Ekstrak metanol daun pucuk merah konsentrasi tertingginya pada 358 µg/mL didapatkan rata-rata persen sel hidup sebesar 26,285 % yang nilainya lebih kecil daripada ekstrak etanol daun pucuk merah (Tabel 3). Doxorubicin digunakan sebagai kontrol positif dengan konsentrasi tertinggi 4,303 µg/mL memiliki nilai rata-rata persen sel hidup sebesar 27,601% (Tabel 4).



**Gambar 2. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak daun pucuk merah dan %sel hidup sel HeLa**

**Tabel 3. Data persentase sel HeLa hidup setelah diberikan perlakuan ekstrak daun pucuk merah**

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Sel Hidup rata-rata $\pm$ SD		Absorbansi rata-rata $\pm$ SD	
	Ekstrak etanol	Ekstrak metanol	Kontrol pelarut	Kontrol media
358	39,363 $\pm$ 4,869	26,285 $\pm$ 1,282	0,957 $\pm$ 0,038	0,172 $\pm$ 0,002
299	70,616 $\pm$ 3,635	31,380 $\pm$ 0,195		
249	75,924 $\pm$ 3,154	33,036 $\pm$ 1,338		
207	88,875 $\pm$ 5,096	38,471 $\pm$ 1,902		
173	91,338 $\pm$ 0,775	39,023 $\pm$ 2,197		
144	105,223 $\pm$ 8,038	45,053 $\pm$ 3,810		
Persamaan regresi	$y = -145,92x + 422,39$ $R^2 = 0,9026$	$y = -44,117x + 139,5$ $R^2 = 0,9682$		
Nilai $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	356,459	106,832		
Aktivitas sitotoksik	Lemah	Sedang		

**Tabel 4. Data persentase sel HeLa hidup setelah diberikan perlakuan obat Doxorubicin**

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Sel Hidup			% Sel hidup rata-rata	SD	Nilai $IC_{50}$	Aktivitas sitotoksik
	1	2	3				
4,303	29,172	25,605	28,025	27,601	1,821	0,613	Tinggi
2,869	22,675	25,096	28,790	25,520	3,079		
1,913	31,338	26,752	28,917	29,002	2,294		
1,275	28,535	32,994	31,210	30,913	2,244		
0,85	58,854	53,248	50,955	54,352	4,063		
Absorbansi rata-rata $\pm$ SD	Kontrol pelarut Kontrol media			0,957 $\pm$ 0,038 0,172 $\pm$ 0,002			
Persamaan regresi				$y = -33,448x + 42,898$ $R^2 = 0,6192$			

Parameter uji sitotoksik nilai  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi yang menunjukkan penghambatan sebesar 50% terhadap proliferasi sel. Nilai  $IC_{50}$  yang semakin tinggi menandakan senyawa tersebut semakin tidak toksik (Fanani, 2017). Persamaan regresi linear didapatkan dari grafik antara rata-rata persen sel hidup dengan log konsentrasi sampel. Persamaan regresi linear yang didapatkan seperti pada Tabel 3 dan Tabel 4. Menurut NCI (*National Cancer Institute*) aktivitas sitotoksik suatu senyawa diklasifikasikan menjadi tinggi, sedang, lemah, dan tidak memiliki aktivitas sitotoksik. Suatu senyawa dikatakan tinggi aktivitas sitotoksiknya jika nilai  $IC_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$ , tergolong sedang jika nilai  $IC_{50}$  antara 21-200  $\mu\text{g/mL}$ ,

rentang nilai  $IC_{50}$  antara 201-500  $\mu\text{g/mL}$  tergolong lemah aktivitas sitotoksiknya, serta dikatakan tidak memiliki aktivitas sitotoksik apabila nilai  $IC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$  (Adisty Ridha Damasuri *et al.*, 2020). Ekstrak etanol dari daun pucuk merah mempunyai nilai  $IC_{50}$  356,459  $\mu\text{g/mL}$  yang berarti tergolong aktivitas sitotoksik yang lemah. Hasil berbeda dengan ekstrak metanol daun pucuk merah yang memiliki nilai  $IC_{50}$  lebih rendah yaitu 106,832  $\mu\text{g/mL}$  yang tergolong aktivitas sitotoksik sedang (Tabel 3). Kontrol positif doxorubicin memiliki nilai  $IC_{50}$  0,613  $\mu\text{g/mL}$  yang tergolong aktivitas sitotoksik yang tinggi (Tabel 4). Berdasarkan dari perolehan data nilai  $IC_{50}$  hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari daun pucuk merah mempunyai aktivitas sitotoksik yang lebih tinggi daripada ekstrak etanolnya terhadap sel HeLa.

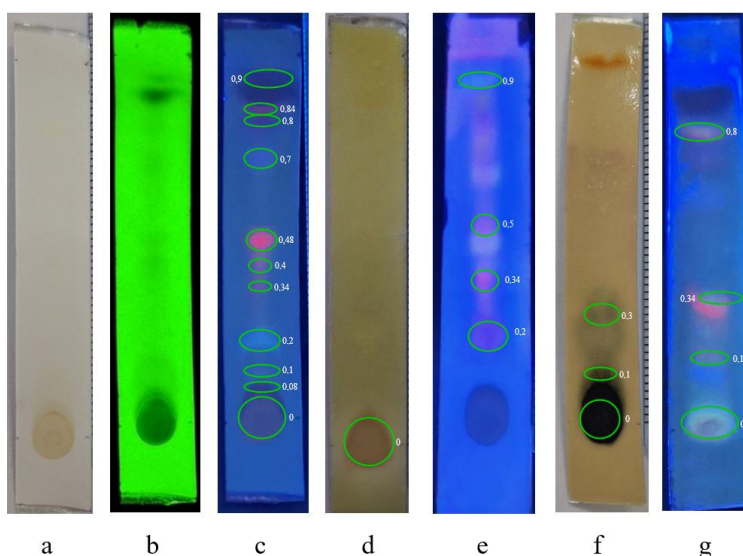
Penelitian ekstrak etanol daun pucuk merah sebelumnya oleh Memon *et al.* (2014) menyebutkan bahwa ekstrak tersebut dapat menghambat proliferasi sel HT-29 yang memiliki nilai  $IC_{50}$  90  $\mu\text{g/mL}$ . Ekstrak etanol daun pucuk merah juga diketahui mempunyai aktivitas antiproliferasi terhadap sel HCT-116 dengan nilai  $IC_{50}$  93,4  $\mu\text{g/mL}$  (Memon *et al.*, 2015). Penelitian terkait ekstrak metanol daun pucuk merah juga telah dilakukan Aisha *et al.* (2009), dilaporkan bahwa ekstrak metanol dan n-heksana daun pucuk merah mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7, HCT-116, HT-29, dan sel T47D. Penelitian lainnya juga dilakukan oleh Jena *et al.* (2021) menyebutkan bahwa aktivitas sitotoksik minyak atsiri daun pucuk merah terhadap sel HCT-116 dan sel Pa-1 memiliki nilai  $IC_{50}$  masing-masing yaitu 59,9  $\mu\text{g/mL}$  dan 47,5  $\mu\text{g/mL}$ . Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa kontrol positif doxorubicin memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 1,82  $\mu\text{g/mL}$  terhadap sel HeLa (Gaffar *et al.*, 2022). Penelitian lain yang dilakukan oleh Savitri *et al.* (2023) didapatkan nilai  $IC_{50}$  doxorubicin sebesar 5,20  $\mu\text{g/mL}$  pada sel HeLa. Perbedaan hasil nilai  $IC_{50}$  tersebut dapat terjadi karena sumber sel, perlakuan sel, waktu inkubasi sel, dan seri konsentrasi yang digunakan berbeda ketika perlakuan sehingga memberikan efek yang berbeda pula terhadap sel.

### Hasil Uji Kandungan Senyawa

Identifikasi kandungan golongan senyawa ekstrak metanol dan etanol daun pucuk merah dilakukan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis. Keuntungan metode Kromatografi Lapis Tipis diantaranya yaitu sederhana, cepat, dan memiliki tingkat ketelitian yang tinggi (Utama & Hananda, 2023). Penelitian ini menggunakan Fase gerak dengan perbandingan 6:4 pelarut n-heksana:etil asetat. Lempong silika gel 60 F<sub>254</sub> digunakan sebagai fase diam dengan jarak elusinya 5 cm. Identifikasi kandungan golongan senyawa dilakukan dengan penambahan pereaksi semprot yang diamati langsung secara sinar tampak, di bawah sinar UV<sub>254</sub>, dan di bawah sinar UV<sub>366</sub>. Pereaksi semprot yang ditambahkan diantaranya pereaksi Sitroborat, Dragendorff, Liebermann-Burchard, dan FeCl<sub>3</sub>.

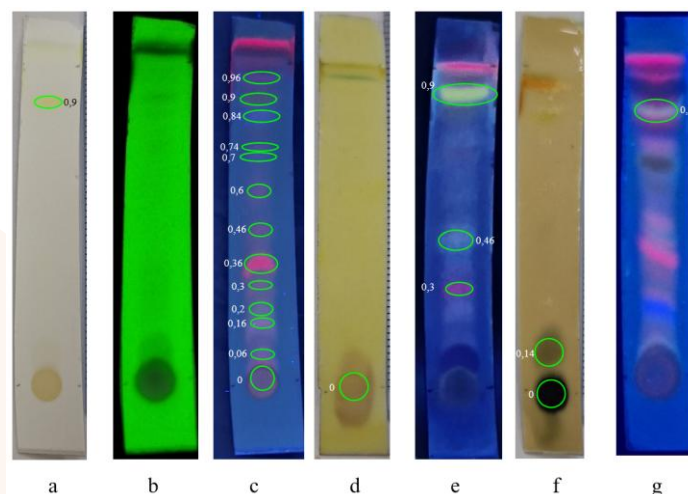
Hasil pengujian KLT didapatkan bahwa kedua ekstrak dari daun pucuk merah terkandung golongan senyawa alkaloid, fenolik, steroid, flavonoid, saponin, dan terpenoid. Hal tersebut ditandai dengan adanya bercak yang timbul dengan warna-warna tertentu setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorff, FeCl<sub>3</sub>, Liebermann-Burchard, dan Sitroborat (Gambar 3 dan Gambar 4). Golongan senyawa alkaloid ditandai adanya bercak warna coklat atau kekuningan yang timbul setelah disemprot pereaksi Dragendorff sedangkan golongan

senyawa fenolik ditandai timbulnya bercak warna hitam atau abu-abu setelah penyemprotan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  yang diamati pada sinar tampak.



**Gambar 3. Hasil KLT ekstrak etanol daun pucuk merah.**

Keterangan: lingkaran hijau menunjukkan adanya bercak yang timbul. Hasil KLT sebelum disemprot reagen pada sinar tampak (a), sebelum disemprot reagen pada sinar UV 254 nm (b), sebelum disemprot reagen pada sinar UV 366 nm (c), setelah disemprot reagen Dragendorff pada sinar tampak (d), setelah disemprot reagen Liebermann-Burchard (LB) pada sinar UV 366 nm (e), setelah disemprot reagen  $\text{FeCl}_3$  pada sinar tampak (f), setelah disemprot reagen sitroborat pada sinar UV 366 nm (g)



**Gambar 4. Hasil KLT ekstrak metanol daun pucuk merah.**

Keterangan: lingkaran hijau menunjukkan adanya bercak yang timbul. Hasil KLT sebelum disemprot reagen pada sinar tampak (a), sebelum disemprot reagen pada sinar UV 254 nm (b), sebelum disemprot reagen pada sinar UV 366 nm (c), setelah disemprot reagen Dragendorff pada sinar tampak (d), setelah disemprot reagen Liebermann-Burchard (LB) pada sinar UV 366 nm (e), setelah disemprot reagen  $\text{FeCl}_3$  pada sinar tampak (f), setelah disemprot reagen sitroborat pada sinar UV 366 nm (g)

pada sinar UV 366 nm (e), setelah disemprot reagen FeCl<sub>3</sub> pada sinar tampak (f), setelah disemprot reagen sitroborat pada sinar UV 366 nm (g).

Golongan senyawa terpenoid saponin ditandai dengan timbulnya bercak merah dan golongan senyawa steroid saponin ditandai dengan bercak biru-kehijauan dan terkadang berwarna kuning dengan pengamatan dibawah sinar UV<sub>366</sub> setelah disemprot dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Golongan senyawa flavonoid yang timbul ditandai adanya bercak kuning setelah disemprot dengan pereaksi semprot sitroborat yang diamati dibawah sinar UV<sub>366</sub>. Rentang nilai Rf yang baik pada uji KLT berada dikisaran 0,2-0,8 (Imrawati *et al.*, 2023). Adapun nilai Rf yang diperoleh lebih rendah dari rentang dikarenakan golongan senyawa tersebut cenderung bersifat yang lebih polar sehingga tertahan pada fase diam yang cenderung non polar, sebaliknya jika nilai Rf lebih tinggi berarti golongan senyawa tersebut memiliki kepolaran yang rendah. Hasil uji KLT ekstrak etanol daun pucuk merah (Tabel 5) dan ekstrak metanol daun pucuk merah (Tabel 6). Nilai Rf 0 yang didapatkan menunjukkan bahwa terdapat bercak yang muncul ditempat totolan, yang berarti bahwa fase gerak yang digunakan belum optimal untuk mengelusi sampel. Hasil penyemprotan dengan menggunakan reagen Dragendorff terdapat bercak berwarna coklat pada tempat totolan, sehingga kemungkinan dari ekstrak yang belum terelusi tersebut memiliki kandungan alkaloid. Golongan senyawa flavonoid diketahui memiliki peran dalam penghambatan proliferasi sel kanker melalui tahap penghambatan aktivitas protein kinase yang menyebabkan jalur transduksi sinyal dari membran sel ke inti sel menjadi terhambat (Fanani, 2017). Salah satu kandungan flavonoid dalam daun pucuk merah yang memiliki sifat sitotoksik yaitu golongan kalkon melalui induksi apoptosis sel dan transduksi sinyal sel (Haryati *et al.*, 2015 dan Memon *et al.*, 2014).

**Tabel 5. Hasil KLT ekstrak etanol daun pucuk merah**

Nilai Rf	Sebelum disemprot			Setelah disemprot reagen				Kandungan
	ST*	UV 254	UV 366	Dragendorff ST*	LB* UV 366	FeCl <sub>3</sub> ST*	Sitroborat UV 366	
0	C-K*	P*	Violet	C-K	-	-	-	Alkaloid
0,2; 0,34; 0,5	-	P*	Biru	-	Merah	-	-	Terpenoid saponin
0,9	-	P*	Merah	-	B-H	-	-	Steroid saponin
0; 0,1; 0,3	-	P*	Violet	-	-	Hitam	-	Fenolik
0; 0,16; 0,34; 0,8	-	P*	kuning	-	-	-	Kuning	Flavonoid
			Merah violet	-	-	-		

Keterangan:

\*ST: Sinar tampak

\*P: Pemandaman

\*C-K: Coklat-kuning

\*B-H: Biru-hijau

\*LB: Liebermann-Burchard

Tabel 6. Hasil KLT ekstrak metanol daun pucuk merah

Nilai Rf	Sebelum disemprot			Setelah disemprot reagen				Kandungan
	ST*	UV 254	UV 366	Dragendorff ST*	LB* UV 366	FeCl <sub>3</sub> ST*	Sitroborat UV 366	
0	C-K	P*	Violet	Coklat	-	-	-	Alkaloid
0,3;					Merah			Terpenoid saponin
0,46;	Kuning	-	Merah	-	B-H,	-	-	Steroid saponin
0,9					Kuning			
0; 0,14	-	P*	P*	-	-	Hitam	-	Fenolik
0,8	-	P*	-	-	-	-	Kuning	Flavonoid

Keterangan:

\*ST: Sinar tampak

\*P: Pemadaman

\*C-K: Coklat-kuning

\*B-H: Biru-hijau

\*LB: Liebermann-Burchard

Golongan senyawa alkaloid memiliki aktivitas sebagai antikanker dengan mengendalikan proses pembelahan sel dengan cara mengaktifkan apoptosis sel kanker. Aktivitas sitotoksik golongan senyawa terpenoid disebabkan karena golongan senyawa tersebut dapat menginduksi kalsium sehingga dapat menstimulasi apoptosis sel kanker (Sari & Rejeki, 2021). Golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol dan metanol daun pucuk merah diantaranya golongan senyawa terpenoid, fenolik, alkaloid, flavonoid, saponin, serta steroid. Kemungkinan golongan senyawa yang bertanggung jawab pada aktivitas antikanker adalah golongan senyawa flavonoid, alkaloid, dan terpenoid. Berdasarkan hasil uji sitotoksik ekstrak metanol memiliki aktivitas antikanker pada sel HeLa yang lebih baik dibandingkan ekstrak etanol daun pucuk merah. Ekstrak metanol memiliki sifat yang lebih polar dibandingkan ekstrak etanol sehingga mampu melarutkan golongan senyawa polar maupun non polar. Golongan senyawa tersebut memiliki aktivitas antikanker yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian uji sitotoksik terhadap sel HeLa dapat disimpulkan aktivitas sitotoksik ekstrak metanol dari daun pucuk merah tergolong sedang yang mempunyai nilai IC<sub>50</sub> sebesar 106,832 µg/mL, nilai tersebut lebih baik daripada ekstrak etanol dari daun pucuk merah yang aktivitas sitotoksiknya tergolong lemah dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 356,459 µg/mL. Golongan senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid, terpenoid, saponin, dan steroid ditemukan dalam ekstrak etanol dan metanol daun pucuk merah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adisty Ridha Damasuri, A. R., Sholikhah, E. N., & Mustofa. (2020). Cytotoxicity of ((E)-1-(4-aminophenyl)-3-phenylprop-2-en-1-one)) on HeLa cell line. *Indonesian Journal of Pharmacology and Therapy*, 1(2), 54–59. <https://doi.org/10.22146/ijpther.v1i2.3237>
- Aisha, A. F. A., Abu-Salah, K. M., Darwis, Y., & Abdul Majid, A. M. S. (2009). Screening of antiangiogenic activity of some tropical plants by rat aorta ring assay. *International Journal of Pharmacology*, 5(6), 370–376. <https://doi.org/10.3923/ijp.2009.370.376>
- Alim, N., Hasan, T., Rusman, R., Jasmiadi, J., & Zulfitri, Z. (2022). Phytochemical screening, relationship of total phenolic with antioxidant activity of ethanol and methanol extracts of kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) Oken) bark. *Jurnal Ilmiah Sains*, 22(2), 118–124. <https://doi.org/10.35799/jis.v22i2.40091>
- Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC). (2009a). Prosedur tetap panen sel. Fakultas Farmasi UGM, 1–3.
- Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC). (2009b). Prosedur tetap penumbuhan sel dari tangki nitrogen cair (cell thawing). Fakultas Farmasi UGM, 1–3.
- Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC). (2009c). Prosedur tetap preparasi sampel. Fakultas Farmasi UGM, 1–3.
- Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC). (2009d). Prosedur tetap uji sitotoksik metode MTT. CCRC UGM. (2009). Prosedur tetap pembuatan media. Cancer Chemoprevention Research Center Fakultas Farmasi UGM, 6–9.
- Fanani, Z. (2017). Sangketan (*Achyranthes aspera*) agen sitotoksik potensial di masa depan. *Indonesia Jurnal Farmasi*, 2(1), 21–27.
- Gaffar, S., Nugraha, M. Y., Hafiz, E., Wiraswati, H. L., & Herlina, T. (2022). Aktivitas antioksidan dan sitotoksik terhadap sel kanker HeLa dari ekstrak daun Vernonia amygdalina (*Asteraceae*). *Chimica et Natura Acta*, 10(1), 6–14. <http://dx.doi.org/10.32522/ujht.v6i2.8736>
- Haryati, N. A., Saleh, C., & Erwin. (2015). Uji toksisitas dan aktivitas antibakteri ekstrak daun merah tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 13(1), 35–40.
- Imrawati, Kursia, S., & Desiana. (2023). Variasi cairan penyari ekstrak daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap bioaktivitas bakteri *Propionibacterium acne*. *Journal of Natural Science and Technology Adpertisi*, 3(2), 12–20. <https://doi.org/10.24843/JBIOUNUD.2023.v27.i01.p09>
- Jena, S., Ray, A., Sahoo, A., Das, P. K., Dash, K. T., Kar, S. K., Nayak, S., & Panda, P. C. (2021). Chemical composition and biological activities of leaf essential oil of *Syzygium myrtifolium* from Eastern India. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 24(3), 582–595. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.1920703>
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2019). Beban kanker di Indonesia. Jakarta Selatan.
- Memon, A. H., Ismail, Z., Aisha, A. F. A., Al-Suede, F. S. R., Hamil, M. S. R., Hashim, S., Saeed, M. A. A., Laghari, M., & Abdul Majid, A. M. S. (2014). Isolation, characterization, crystal structure

- elucidation, and anticancer study of dimethyl cardamonin, isolated from *Syzygium campanulatum* Korth. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2014/853701>
- Memon, A. H., Ismail, Z., Al-Suede, F. S. R., Aisha, A. F. A., Hamil, M. S. R., Saeed, M. A. A., Laghari, M., & Majid, A. M. S. A. (2015). Isolation, characterization, crystal structure elucidation of two flavanones and simultaneous RP-HPLC determination of five major compounds from *Syzygium campanulatum* Korth. *Molecules*, 20(8), 14212–14233. <https://doi.org/10.3390/molecules200814212>
- Menteri Kesehatan Republik Indonesia. (2018). Pedoman nasional pelayanan kedokteran tata laksana kanker serviks. Tersedia di: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7556065>
- Noviardi, H., Ratu, A. P., & Tri, R. D. A. (2019). Sitotoksitas ekstrak etanol 70% kulit jengkol (*Archidendron jiringa* (Jack). I.C. Nielsen) terhadap penghambatan sel kanker payudara MCF-7 dan kanker serviks HeLa. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 5(1), 18–25.
- Nurkhasan, & Indarwati, I. R. (2012). Efek pemacuan apoptosis fraksi etil asetat ekstrak etanol akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) terhadap sel HeLa. *Farmasains: Jurnal Farmasi dan Ilmu Kesehatan*, 2(1). <https://doi.org/10.22219/far.v2i1.1151>
- Putri, N. M., Arisanty, D., & Hilbertina, N. (2022). Potensi ekstrak daun sirsak dalam menginduksi apoptosis sel kanker serviks HeLa. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*, 3(1), 16–21. <https://doi.org/10.25077/jikesi.v3i1.722>
- Sari, G. N. F., & Rejeki, E. S. (2021). Uji sitotoksik ekstrak etanol daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) pada kultur sel HeLa. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(2), 189–199. <https://doi.org/10.31001/jfi.v18i2.875>
- Savitri, R. I., Arifin, N. H., & Febriansah, R. (2023). Antioxidant, cytotoxic activity and protein target inhibition of ethyl acetate fraction melinjo seed (*Gnetum gnemon* L.) by in vitro and in silico studies on HeLa cervical cancer cells. *HAYATI Journal of Biosciences*, 30(5), 864–873. <https://doi.org/10.1016/j.hjb.2023.04.005>
- Syari, J. P., Djohan, H., & Tumpuk, S. (2022). Efek ekstrak metanol daun pucuk merah terhadap kadar glukosa darah. *Jurnal Laboratorium Khatulistiwa*, 6(1), 24–30. <https://doi.org/10.30602/jlk.v6i1.1109>
- Utama, V. K., & Hananda, P. (2023). Identification of hydroquinone content in face whitening cream circulating in Pekanbaru Kodim market using thin layer chromatography (TLC) method. *Jurnal Ilmu Kesehatan Abdurrah*, 1(2), 145–152.
- Zafrial, R., & Amalia, R. (2018). Artikel tinjauan: Antikanker dari tanaman herbal. *Farmaka*, 16(1), 15–23. <https://doi.org/10.24198/jf.v16i1.17332>