

Kajian Farmakognosi dan Uji Sitotoksitas Ekstrak Daun Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* (Miers.) Diels) Terhadap Sel RAW 264.7

Pharmacognosy Study and Cytotoxicity of Sengkubak Leaf Extract (Pycnarrhena cauliflora (Miers.) Diels) Against RAW 264.7 Cells

Ema Dewanti¹, Vera Ladeska^{2*}, Wahyu Hidayati³, Dia Parascaya Kemuning⁴, Rini Prastiwi⁵,

¹Department of Biology, Faculty of Pharmacy and Science, Muhammadiyah University Prof.Dr.Hamka, Jakarta 13460, Indonesia

^{2,4,5}Department of Pharmacognosy and Phytochemistry, Faculty of Pharmacy and Science, Muhammadiyah University Prof.Dr.Hamka, Jakarta 13460, Indonesia. Email: vera_ladeska@uhamka.ac.id

³Department of Biotechnology, Faculty of Pharmacy and Science, Muhammadiyah University Prof.Dr.Hamka, Jakarta 13460, Indonesia.

Abstrak

Indonesia adalah negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang sangat berlimpah dan dapat dikembangkan sebagai alternatif pengobatan penyakit. Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* (Miers.) Diels) merupakan tumbuhan liar yang hidup di Kalimantan Barat dan Jambi. Tanaman ini potensial dikembangkan sebagai bahan baku obat herbal. Tujuan penelitian ini untuk mengevaluasi beberapa parameter farmakognosi serta uji sitotoksik menggunakan metode MTT Assay. Metode penelitian menggunakan pengujian eksperimental berupa analisa kandungan senyawa, pengujian susut pengeringan, kadar abu, pengukuran nilai TPC dan TFC pada ekstrak etil asetat serta etanol 70%. Metode MTT assay dipilih untuk uji sitotoksik terhadap sel RAW 264.7 dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 570 nm dengan ELISA reader. Hasil penelitian KLT ekstrak daun sengkubak mengandung senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, tanin, steroid, dan terpenoid. Susut pengeringan ekstrak etil asetat 0,97±0,03% dan ekstrak etanol 70% sebesar 1,62±0,27%. Kadar abu dari ekstrak etil asetat dan etanol 70% secara berurutan adalah 1,76±0,05% dan 9,840±0,145%. Nilai TPC dari ekstrak etil asetat dan etanol 70% secara berurutan adalah 49,125±1,253 dan 52,481±1,864 mgGAE/g. Kandungan flavonoid pada ekstrak etil asetat dan etanol 70% masing-masing adalah 42,526±0,002 mgQE/g dan 28,029±1,002 mgQE/g. Aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP dari ekstrak etil asetat daun sengkubak adalah 532,43±0,427 mol/g, sedangkan ekstrak etanol mencapai 1123,70±2,56 mol/g. Hasil ini masih dibawah nilai aktivitas antioksidan kuersetin dan asam galat. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dari daun sengkubak memiliki efek sitotoksik yang lemah terhadap sel RAW 264.7 dengan nilai IC₅₀ sebesar 302,513 µg/mL, sedangkan ekstrak etanol 70% menunjukkan efek sitotoksik yang lemah terhadap sel tersebut dengan nilai IC₅₀ sebesar 813,807 µg/mL. **Kesimpulan** penelitian ini menegaskan bahwa konsentrasi aman ekstrak etil asetat adalah dibawah 62,5 µg/mL terhadap sel RAW 264.7, sedangkan ekstrak etanol 70% berada pada konsentrasi dibawah 250 µg/mL. Hasil uji sitotoksik yang lemah terhadap sel makrofag RAW 264.7 ini menjadi data awal untuk pengujian metode antiinflamasi berikutnya.

Kata kunci: Kajian Farmakognosi; Sitotoksik; Sel RAW 264.7; *Pycnarrhena cauliflora*

Abstract

Indonesia possesses abundant biodiversity with considerable potential for the development of alternative treatments for various diseases. Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* (Miers.) Diels) is a wild plant found in West Kalimantan and Jambi. This plant has potential as a raw material for herbal medicine development. The objective of this study was to evaluate specific pharmacognostic parameters and cytotoxic activity using the MTT assay. An experimental study was conducted, including phytochemical screening, determination of loss on drying and ash content, and determination of the Total Phenolic Content (TPC) and Total Flavonoid Content (TFC) of ethyl acetate and 70% ethanol extracts. Cytotoxicity against RAW 264.7 cells was evaluated using the MTT assay, with absorbance measured at 570 nm using an ELISA reader. Thin-layer chromatography (TLC) analysis of the sengkubak leaf extracts revealed the presence of alkaloids, phenols, flavonoids, tannins, steroids, and terpenoids. The loss on drying values were 0.97 ± 0.03% for the ethyl acetate extract and 1.62 ± 0.27% for the 70% ethanol extract. The ash content values were 1.76 ± 0.05% and 9.840 ± 0.145% for the ethyl acetate and

*Corresponding author: Vera Ladeska, Muhammadiyah University Prof. Dr. Hamka, Jakarta, Indonesia.

E-mail : vera_ladeska@uhamka.ac.id

Doi : 10.35451/jfm.v9i1.3425

Received : Februari 16, 2026, Accepted: October 27, 2026, Published: October 30, 2026

Copyright: © 2026 Vera Ladeska (s). Creative Commons License This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

70% ethanol extracts, respectively. The TPC values were 49.125 ± 1.253 and 52.481 ± 1.864 mg GAE/g for the ethyl acetate and 70% ethanol extracts, respectively. The TFC values were 42.526 ± 0.002 mg QE/g for the ethyl acetate extract and 28.029 ± 1.002 mg QE/g for the 70% ethanol extract. The antioxidant activity of the sengkubak leaf extracts, determined using the FRAP method, was 532.43 ± 0.427 mol/g for the ethyl acetate extract and 1123.70 ± 2.56 mol/g for the 70% ethanol extract. These values were lower than those observed for quercetin and gallic acid. Cytotoxicity testing showed that the ethyl acetate extract exhibited weak cytotoxic activity against RAW 264.7 cells, with an IC_{50} value of $302.513 \mu\text{g/mL}$, whereas the 70% ethanol extract exhibited very weak cytotoxic activity, with an IC_{50} value of $813.807 \mu\text{g/mL}$. Based on the cytotoxicity results, the safe concentration of the ethyl acetate extract for RAW 264.7 cells was below $62.5 \mu\text{g/mL}$, whereas that of the 70% ethanol extract was below $250 \mu\text{g/mL}$. In conclusion, the relatively low cytotoxicity of the sengkubak leaf extracts toward RAW 264.7 macrophage cells provides preliminary data supporting further investigation of their potential anti-inflammatory activity.

Keywords: Pharmacognosy Study; Cytotoxic; RAW 264.7 Cells; *Pycnarrhena cauliflora*

1. PENDAHULUAN

Indonesia memiliki beragam tanaman yang dapat digunakan sebagai pengobatan, di antaranya adalah tanaman sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* (Miers.) Diels). Tanaman sengkubak umumnya digunakan oleh masyarakat Dayak dan Melayu sebagai pencipta rasa alami dikarenakan memiliki kandungan senyawa MSG (*Monosodium Glutamate*), daunnya dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional untuk mengatasi seperti sakit kepala, perut kembung, dan demam [1]. *Pycnarrhena cauliflora* adalah salah satu spesies dari famili Menispermaceae, famili tanaman ini dikenal kaya akan alkaloid *bisbenzylisoquinoline* [2]. Hasil penelitian Masriani *et al.*, (2019) menunjukkan bahwa alkaloid *bisbenzylisoquinoline* merupakan metabolit sekunder mayoritas yang ditemukan pada genus *Pycnarrhena*. Senyawa ini diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk kemampuan untuk merusak sel tertentu atau bersifat sitotoksik terhadap T47D cell line. Daunnya mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, fenolik dan tanin [3,4]. Beberapa senyawa fenol dan flavonoid dilaporkan memiliki banyak aktivitas farmakologis diantaranya sebagai antioksidan, antiinflamasi dan imunomodulator [5,6].

Kemampuan tanaman sengkubak dalam proses kematian sel sangat penting diteliti karena tanaman ini banyak digunakan untuk pencegahan dan pengobatan berbagai penyakit termasuk sebagai bumbu masakan oleh masyarakat lokal Indonesia. Meskipun famili Menispermaceae dikenal kaya akan alkaloid *bisbenzylisoquinoline* yang bersifat sitotoksik [2]. Laporan ilmiah mengenai nilai IC_{50} spesifik dari ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol 70% daun sengkubak pada sel RAW 264.7 masih sangat terbatas. Validasi keamanan ini sangat penting sebelum sengkubak dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai agen terapi.

Sel RAW 264.7 merupakan sel monosit yang sering digunakan untuk menguji viabilitas sel atau sitotoksitas terhadap ekstrak tanaman. Sel ini berasal dari mencit Balb/c yang diinduksi oleh virus leukemia murine abelson [7]. Sel ini sering digunakan untuk pengujian parameter inflamasi seperti IL-10, TNF- α , dan LOX pada konsentrasi yang tidak bersifat toksik secara *in vitro*. Metode sitotoksik yang digunakan adalah uji MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2-5-difeniltetrazoliumbromida) yang merupakan uji kolorimetrik paling umum dipakai untuk menganalisis viabilitas atau sitotoksitas sel [8,22]. Jumlah sel hidup akan setara dengan kekuatan warna ungu yang terbentuk. Maka semakin banyak jumlah sel yang hidup, akan menghasilkan kekuatan warna ungu yang semakin tinggi [14,28]. Nilai IC_{50} adalah parameter penting dalam uji sitotoksitas, semakin besar nilai IC_{50} , semakin kecil toksisitas senyawa tersebut terhadap sel [9]. Karena itu untuk mengevaluasi tingkat viabilitas ekstrak tanaman ini dilakukan uji sitotoksitas secara *invitro* dengan metode MTT assay. Konsentrasi yang tidak bersifat toksik dijadikan dasar untuk pengujian parameter inflamasi seperti IL, TNF- α , LOX, COX dll.

2. METODE

Bahan

Daun sengkubak diperoleh dari Dusun Korma Raya Kecamatan Kalis, Kabupaten Kapuas Hulu, Kalimantan Barat, sel RAW 264.7 (diperoleh dari Laboratorium Pengembangan Teknik Agro Industri dan

Biomedika, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Tangerang Selatan), *n*-heksana, etil asetat, etanol 70%, plat KLT silika gel 60 GF254, kloroform p.a, metanol p.a diperoleh dari Merck, berbagai pereaksi semprot KLT, *Fetal Bovine Serum* (FBS) (ExcellBio), Penisillin-Streptomisin- Amphotericin (Elabscience), dimetilsulfoksida (DMSO) (Merck), *Phospat Buffer Saline* (PBS) (Solarbio), Serbuk MTT (Solarbio), *Dulbecco's Modified Eagle Medium Hight Glucose* (DMEM HG) (Solarbio), *tryphan blue* (TCI), *acidified* isopropanol, tripsin EDTA (Solarbio).

Alat

Vacuum rotary evaporator (Eyela), *moisture balance* (Mettler Toledo HB43S), tanur, chamber, UV box (CAMAG), *Biosafety Cabinet* (BSC) (ESCO), inkubator CO₂ 5% (Biobase), mikropipet, *microplate 96 well* (Jetbiofil), *haemocytometer* (Neubauer), mikroskop *inverted* (Zeiss Axiofert 40 CFL), dan *ELISA reader* (Accureader M965).

Prosedur

2.1 Ekstraksi

Daun sengkubak sebanyak 770 gram dimaserasi secara bertingkat dengan pelarut yang ditingkatkan kepolarannya secara bertahap yaitu *n*-heksana, etil asetat dan etanol 70%. Maserasi dengan pelarut pertama dilakukan selama 3x24 jam, disaring dan dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* dan waterbath suhu 50°C. Ekstrak yang diperoleh, dihitung rendemennya dengan menghitung persentase bobot (b/b) antara berat ekstrak yang didapat terhadap jumlah simplisia daun sengkubak [10].

2.2 Pemeriksaan Karakteristik Mutu Ekstrak

Pemeriksaan karakteristik ekstrak meliputi uji organoleptis seperti bentuk, warna, bau dan rasa. Pengujian susut pengeringan dengan *moisture balance*, kadar abu total dan analisa kualitatif dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis) menggunakan fase diam plat silika gel 60 F₂₅₄, dengan fase gerak campuran kloroform:metanol (9:1) Penampak noda yang digunakan seperti dragendorff, FeCl₃ 5%, AlCl₃ 5%, vanillin-asam sulfat pekat, dan Liebermann burchard [10,11].

2.3 Pengujian Total Phenol Content (TPC)

Penetapan kadar fenol menggunakan asam galat sebagai standar. Larutan sampel 1000 ppm dipipet 20 µL, ditambahkan 100 µL Folin-ciocalteu ke dalam 96-well microplate, lakukan inkubasi selama 4 menit pada tempat gelap. Tambahkan Na₂CO₃ 7,5% sebanyak 80 µL, campuran dishaker agar homogen. Sebagai blanko dipipet 200 µL metanol pa. Semua sampel diinkubasi pada suhu kamar selama 2 jam ditempat gelap, ukur absorbansi pada panjang gelombang 750 nm. Kadar fenol dinyatakan sebagai mg GAE (*Gallic Acid Equivalent*) /g ekstrak [23].

2.4 Pengujian Total Flavonoids Content (TFC)

Metode kolorimetri dipilih untuk pengujian kadar flavonoid total dengan dengan kuersetin sebagai standar. Buat larutan stok sampel 1000 ppm dalam metanol. Dipipet 20 µL larutan stok ke dalam 96 well microplate tambahkan dengan 20 µL AlCl₃, 20 µL kalium asetat 1M, dan 180 µL aquadest [24,25]. Campuran dishaker 60 detik, kemudian diinkubasi 30 menit ditempat gelap. Sebagai blanko digunakan pelarut metanol dan larutan kontrol tanpa sampel. Ukur serapan absorbansi menggunakan *microplate reader* dengan λ 415 nm. Kadar flavonoid dinyatakan sebagai mgQE (*Quercetin Equivalent*) per gram ekstrak [24].

2.5 Pengujian Antioksidan

Timbang ekstrak etanol 70% daun sengkubak sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan metanol pro analisa dalam labu ukur 10mL sehingga didapatkan konsentrasi larutan baku 1000 ppm. Kemudian larutan baku diencerkan menjadi 500 ppm, dipipet larutan ekstrak sebanyak 30 µL, tambahkan 270 µL reagen FRAP. Pengujian dilakukan triplo, dihomogenkan selama 60 detik. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 595 nm setelah diinkubasi selama 30 menit dengan suhu 37 pada tempat gelap [24].

2.6 Uji Sitotoksitas

Suspensi sel dengan kepadatan 5×10^4 sel/well dipipet ke 96 well plate dalam medium komplit (DMEM, FBS 10%, Penisillin-Streptomisin-Amphoterasin 1%) kemudian diinkubasi pada inkubator CO₂ 5%, 37°C selama 2 x 24 jam. Medium pertumbuhan diganti setiap 2 hari sekali. Larutan uji dengan seri konsentrasi yaitu 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; dan 15,626 µg/mL dipipet 100 µL ke dalam well dan diinkubasi selama 1 x 24 jam [22]. Tambahkan reagen MTT 100 µL ke masing – masing well, campuran dishaker dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5%, 37°C selama 3 jam. Tambahkan *acidified* isopropanol (HCl 4M dan isopropanol; 1:100), dihomogenkan dengan *orbital shaker* selama ± 10 menit. Pengukuran viabilitas sel dilakukan dengan ELISA reader pada panjang gelombang 600 nm [12,13,14].

3. HASIL

3.1 Ekstraksi Daun Sengkubak

Ekstraksi dengan maserasi bertingkat memiliki keunggulan dapat memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Selain itu metode ini sederhana, mudah, dan relatif murah, tidak memerlukan pemanasan, sehingga tidak ada risiko kerusakan atau penguraian bahan alam [22]. Hasil maserasi bertingkat diuapkan pelarutnya sehingga diperoleh ekstrak kental n-heksana, ekstrak etil asetat sengkubak (EEAS) dan ekstrak etanol sengkubak (EES). Hasil ekstraksi dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Daun Sengkubak

Jenis ekstrak	Daun segar	Daun kering	Serbuk	Berat Ekstrak	Rendemen
EEAS	5 kg	1,259 kg	770 g	15,0165 g	1,95%
EES				49,4001 g	6,42%

3.2 Pemeriksaan Karakteristik Mutu Ekstrak, TPC dan TFC

Uji non spesifik meliputi organoleptik, susut pengeringan, kadar abu, kadar fenol (TPC) dan flavonoid total (TFC). Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak sengkubak berupa bau dan rasa tidak berbeda jauh dengan bentuk serbuk daun sengkubak yaitu berbau khas dan rasa sedikit pahit. Sedangkan hasil susut pengeringan dan persentase kadar abu ekstrak etil asetat maupun ekstrak etanol daun sengkubak memenuhi persyaratan aman yaitu berada di bawah 10%. Kandungan fenol dan flavonoid kedua ekstrak cukup tinggi dan ekstrak etanol 70% (EES) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etil asetat (EEAS) (**Tabel 2** dan **Tabel 3**). Sementara hasil pengujian kandungan senyawa dengan KLT baik EEAS dan EES positif mengandung senyawa fenol, flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid dan steroid (**Tabel 4**).

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Organoleptis Daun Sengkubak

Jenis	Bentuk	Warna	Bau	Rasa
Serbuk Daun Sengkubak	Serbuk	Hijau Kecokelatan	Khas	Pahit
EEAS	Kental	Cokelat Kehitaman	Khas	Pahit
EES	Kental	Kecokelatan	Khas	Pahit

Pengujian kualitatif kandungan senyawa dilakukan dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis) menggunakan plat silica gel 60 F₂₅₄, dengan pelarut campuran kloroform:metanol (9:1) dan penampak noda yang sesuai. Hasil pengamatan dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 3. Hasil Susut Pengeringan, Kadar Abu, TPC, TFC, Antioksidan dan Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Daun Sengkubak

Sampel	Susut pengeringan Rata-rata (%) $\pm$ SD	Kadar Abu Rata-rata (%) $\pm$ SD	TPC (mgGAE/g)	TFC (mgQE/g)	Antioksidan (mol/g)
EEAS	0,97 $\pm$ 0,03	1,76 $\pm$ 0,06	49,125 $\pm$ 1,253	42,526 $\pm$ 0,002	532,43 $\pm$ 0,427
EES	1,62 $\pm$ 0,28	9,82 $\pm$ 0,15	52,481 $\pm$ 1,864	28,029 $\pm$ 1,002	1123,70 $\pm$ 2,56
Kuersetin	-	-	-	-	43762 $\pm$ 0,34
Asam galat	-	-	-	-	52555,56 $\pm$ 0,71

Ket: - (tidak diuji)

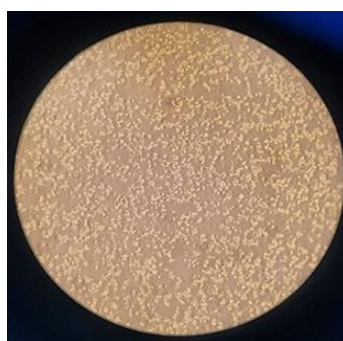
Tabel 4. Hasil KLT Ekstrak Daun Sengkubak

Senyawa	Pereaksi Semprot	Standar	Warna	Hasil	
				EEAS	EES
Alkaloid	Dragendorff	-	Merah jingga (Izzah dkk., 2019)	(+) Jingga	(+) Jingga
Flavonoid	AlCl ₃ 5%	Kuersetin	Kuning (Ahmad dkk., 2015)	(+) Kuning	(+)Kuning
Fenolik	FeCl ₃ 5%	Asam Galat	Biru, hitam pekat (Ahmad dkk., 2015)	(+) Hitam	(+) Hitam
Steroid	Vanilin-Asam sulfat	-	Biru, Hijau (Fasya dkk., 2020; Sari dkk., 2023)	(+) Biru dan Hijau	(+) Biru
Terpenoid	Liebermann burchard	-	Biru-violet; merah-violet (Ramadhan dkk., 2023)	(+) Merah dan Biru-violet	(+) Biru-violet
Tanin	FeCl ₃ 5%	-	Biru Kehitaman (Sari dkk., 2023)	(+) Hitam	(+) Hitam

Keterangan: (+) positif mengandung senyawa

3.3 Pengujian Sitotoksik

Sel RAW 264.7 dijadikan sebagai model uji sitotoksik yang diperoleh dari ATCC (*American Type Culture Collection*) dan dikultur di BRIN LAPTIAB Serpong. Dibuat enam seri konsentrasi diukur persentase viabilitas, penghambatan proliferasi dan IC₅₀ (**Tabel 5**).

Gambar 1. Kondisi *Confluent* Sel RAW 264.7 dilihat dengan mikroskop *inverted* dengan perbesaran 100x

Tabel 5. Hasil Uji Sitotoksitas dan Nilai IC₅₀ Ekstrak Etil Asetat (EEAS) dan Ekstrak Etanol 70% (EES)

Konsentrasi (µg/mL)	Log Konsentrasi (µg/mL)	EEAS			EES		
		Rata-rata Viabilitas Sel (%)	Rata-rata Penghambatan proliferasi (%)	Nilai IC ₅₀ (µg/mL)	Rata-rata Viabilitas Sel (%)	Rata-rata Penghambatan Proliferasi (%)	Nilai IC ₅₀ (µg/mL)
62,5	1,796	87,614	12,386	302,513	98,871	1,129	813,807
125	2,097	79,712	20,288		88,931	11,069	
250	2,398	53,434	46,566		80,872	19,128	
500	2,699	35,748	64,252		44,653	55,347	
1000	3000	18,532	81,468		52,807	47,193	

4. PEMBAHASAN

Maserasi bertingkat dipilih sebagai metode ekstraksi karena sederhana, mudah, dan relatif murah. Metode ini dapat memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya, tidak memerlukan pemanasan, sehingga tidak ada risiko kerusakan atau penguraian bahan alam [15]. Pelarut yang digunakan dinaikkan kepolarannya secara bertahap sehingga diperoleh ekstrak kental n-heksana, ekstrak etil asetat (EEAS) dan ekstrak etanol (EES). Ekstrak n-heksana tidak dilanjutkan pengujiannya karena banyak mengandung senyawa non polar. Ekstrak etanol memiliki rendemen paling tinggi karena kemampuannya membentuk ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil atau amin. Etanol juga memiliki gugus etil yang bisa menarik senyawa non polar sehingga sifat inilah yang menyebabkan etanol bisa menarik senyawa organik lebih banyak [24,26].

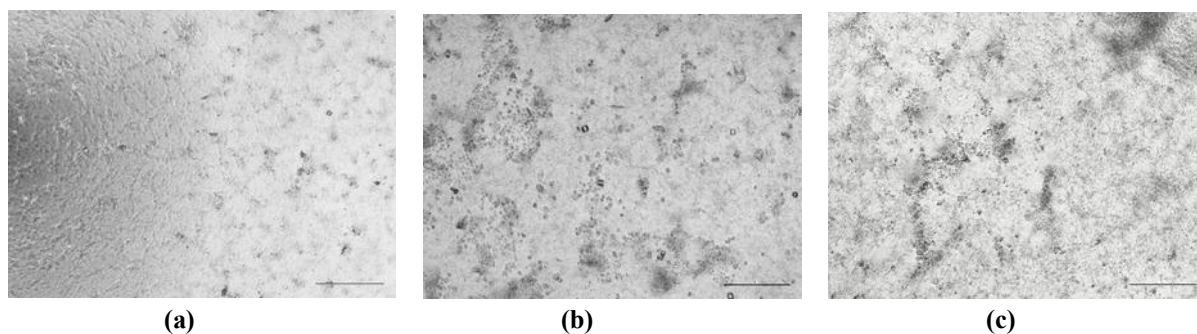
Pemeriksaan karakterisasi mutu ekstrak untuk memastikan ekstrak yang diperoleh terjaga konsistensinya, keamanan dan mempertegas kualitas ekstrak sehingga layak untuk diujikan aktivitas farmakologinya. Hasil persentase susut pengeringan EEAS sebesar 0,97±0,03 dan EES 1,62±0,28. Penentuan susut pengeringan ini sebagai acuan jumlah air dan minyak atsiri yang menguap. Persentase ini masih memenuhi syarat dibawah 10% sehingga kualitas ekstrak dikategorikan baik dan dapat disimpan lama. Demikian juga halnya dengan kadar abu masih dibawah 10% sehingga bisa dipastikan tingkat kontaminan sampel ini masih relatif aman [10,11,27].

Analisis fitokimia menggunakan metode KLT mengungkapkan adanya metabolit sekunder dalam EEAS dan EES meliputi alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid, terpenoid, dan tanin. Senyawa fenol, flavonoid dan terpenoid adalah tiga senyawa utama yang sering berperan dalam aktivitas farmakologi [2]. Penelitian Hortelano et al., (2020) menunjukkan bahwa terpenoid adalah senyawa dengan sifat antiinflamasi dan imunomodulator yang kuat, efektif dalam mengatasi berbagai gangguan inflamasi. Selain terpenoid, triterpenoid dan flavonoid juga menunjukkan potensi sebagai agen antiinflamasi. Kemampuannya untuk menstabilkan membran sel darah dapat mengganggu tahapan awal proses inflamasi [20].

Hasil uji sitotoksik untuk mengetahui potensi toksik daun sengkubak terhadap sel RAW 264,7 dengan nilai parameter IC₅₀. Sel RAW 264.7 adalah jenis sel monosit/makrofag yang berbentuk kubus atau gelendong, melekat secara longgar, dan cenderung membulat saat berkelompok (**Gambar 1**). Saat populasi sel padat (konfluen), sel hidup dapat terlepas dan mengapung [8]. Dalam uji sitotoksik ini, menggunakan nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration* 50%) sebagai parameter. Nilai IC₅₀ ini menunjukkan potensi ketoksikan zat tersebut dimana semakin kecil nilai IC₅₀, semakin kuat efek toksiknya terhadap sel, dan begitu juga sebaliknya [16].

Aktivitas sitotoksik EEAS diuji menggunakan 3-(4,4-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT). Prinsip kerja MTT adalah mendeteksi aktivitas sel yang hidup melalui enzim suksinat dehidrogenase. Enzim ini mengubah zat MTT berwarna kuning menjadi kristal formazan berwarna ungu. Jadi, semakin tinggi efek racun suatu senyawa, semakin sedikit kristal formazan yang terbentuk. Peningkatan konsentrasi ekstrak berbanding terbalik dengan intensitas warna ungu kristal formazan yang terbentuk. Ini mengindikasikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin kuat aktivitas sitotoksiknya [22]. Dalam

pengujian sitotoksik ini, setiap perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Sampel uji dibuat dalam 7 konsentrasi yang berbeda yaitu 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 dan 15,626 $\mu\text{g/mL}$. Penggunaan berbagai konsentrasi ini bertujuan untuk mengevaluasi konsentrasi mana yang paling toksik. Dari beberapa konsentrasi tersebut, yang menunjukkan aktivitas sitotoksik paling tinggi adalah konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ (**Gambar 2**). Dari 7 konsentrasi tersebut, dipilih 5 konsentrasi yaitu 62,5 $\mu\text{g/mL}$ 125 $\mu\text{g/mL}$; 250 $\mu\text{g/mL}$; 500 $\mu\text{g/mL}$; dan 1000 $\mu\text{g/mL}$, tujuannya untuk memperoleh nilai R^2 mendekati 1. Nilai R^2 yang mendekati 1 menandakan pengaruh signifikan variabel bebas pada variabel terikat dan kesesuaian model yang tinggi dengan data [17].



Gambar 2. Kondisi kepadatan Sel RAW 264.7 pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ dilihat menggunakan mikroskop *inverted* perbesaran 1000x (Dokumentasi Pribadi, 2025)

Kondisi sel pada ekstrak etil asetat dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ setelah ditambahkan reagen MTT dan *acidified* isopropanol (a), Kontrol sel setelah ditambahkan reagen MTT dan *acidified* isopropanol (b), Kondisi sel pada ekstrak etanol 70% dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/mL}$ setelah ditambahkan reagen MTT dan *acidified* isopropanol (c)

Berdasarkan data pada **Tabel 5** peningkatan konsentrasi ekstrak yang diberikan, terjadi peningkatan persentase sel yang mengalami hambatan proliferasi. Penghambatan proliferasi yang tinggi cenderung memiliki persentase viabilitas yang rendah. Dalam uji MTT viabilitas sel diukur berdasarkan kemampuan sel untuk menghasilkan energi yang merupakan indikator kemampuan proliferasi sel. Peningkatan konsentrasi ekstrak berbanding terbalik dengan intensitas warna ungu kristal formazan yang terbentuk. Ini mengindikasikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin kuat aktivitas sitotoksiknya. Hal ini sejalan dengan prinsip kerja uji MTT, yaitu enzim dehidrogenase mitokondria pada sel hidup mereduksi MTT (berwarna kuning) menjadi kristal formazan (berwarna ungu) yang larut dalam pelarut organik seperti dimetil sulfoksida [18]. Hal ini mengindikasikan bahwa pada konsentrasi tinggi, ekstrak secara efektif menekan pertumbuhan sel RAW 264.7, dengan nilai IC_{50} ekstrak etil asetat sebesar 302,513 $\mu\text{g/mL}$ dan ekstrak etanol 70% sebesar 813,807 $\mu\text{g/mL}$ (**Tabel 5**).

Menurut *National Cancer Institute* (NCI) Amerika Serikat (2017), mengklasifikasikan aktivitas sitotoksik ekstrak menjadi empat kelompok yaitu aktivitas tinggi jika nilai $\text{IC}_{50} \leq 20$ $\mu\text{g/mL}$, aktivitas sedang jika nilai IC_{50} berada pada kisaran 21-200 $\mu\text{g/mL}$, aktivitas lemah jika IC_{50} berada pada kisaran 201-500 $\mu\text{g/mL}$, dan aktivitas rendah jika nilai $\text{IC}_{50} > 500$ $\mu\text{g/mL}$ [18,19]. Sehingga, ekstrak etil asetat daun sengkubak (EEAS) dapat dikatakan memiliki aktivitas sitotoksik yang lemah, sedangkan ekstrak etanol 70% (EES) menunjukkan aktivitas tidak toksik. Oleh karena itu, ekstrak ini dapat digunakan untuk pengujian antiinflamasi secara *in vitro* pada dosis yang viabilitasnya tinggi.

5. KESIMPULAN

Ekstrak etil asetat (EEAS) dan etanol daun sengkubak (EES) memenuhi persyaratan kualitas bahan alam terkait kadar air dan kadar abu. Ekstrak etil asetat daun sengkubak memiliki aktivitas sitotoksik yang lemah terhadap sel RAW 264.7, dengan nilai IC_{50} sebesar 302,513 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan, ekstrak etanol 70% menunjukkan aktivitas tidak toksik terhadap sel RAW 264.7 dengan nilai IC_{50} sebesar 813,807 $\mu\text{g/mL}$. Konsentrasi yang tidak bersifat toksik akan digunakan untuk pengujian parameter antiinflamasi secara *in vitro* pada riset berikutnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih atas pelaksanaan dan pendanaan Program Hibah Riset Nasional Muhammadiyah Angkatan IX Tahun 2025. Peneliti juga mengucapkan terimakasih kepada LPPMP UHAMKA atas kesempatan mengikuti Hibah RisetMu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Tritsari A dan Maryam A. Pengembangan Penyedap Bubuk Daun Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels.) Sebagai Upaya Pemberdayaan Masyarakat Di Wilayah Perbatasan Indonesia. Seminar Nasional Hasil Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat. 2022;1(1):543–54.
- [2]. Masriani M, Mustofa M, Jumina J, Sunarti S, Enawaty E. Cytotoxic and pro-apototic activities of crude alkaloid from root of sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* (Miers) Diels) in human breast cancer T47D cell line. Sch Acad J Biosci. 2014;2(5):336–40.
- [3]. Masriani M, Rudiyanasyah R, Muharini R, Enawaty E. Cytotoxic Activity of Stem of *Pycnarrhena cauliflora* through Apoptosis Induction on Human Breast Cancer Cell Line T47D. Pharm Sci Res. 2019;6(3):164–9.
- [4]. Pamuji RW. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels) Terhadap Tikus Betina Galur Wistar Dengan Metode OECD 425. Naskah Publ. 2015;1–11.
- [5]. Patel S, Vajdy M. Induction of cellular and molecular immunomodulatory pathways by vitamin A and Flavonoids. Expert Opin Biol Ther. 2015;15(10):1–32.
- [6]. Lestari F, Susanti I. Tumbuhan obat berpotensi imunomodulator di suku anak dalam bendar bengkulu. JP BIO (Jurnal Pendidik Biol). 2020;5(1):64–72.
- [7]. Laksmiawati DR, Prasanti AP, Larasinta N, Syauta GA, Hilda R, Ramadaniati HU, et al. Anti-inflammatory potential of gandarusa (*Gendarussa vulgaris* nees) and soursoup (*Annona muricata* L) extracts in LPS stimulated-macrophage cell (RAW264.7). J Nat Remedies. 2016;16(2):73–81.
- [8]. Novilla A, Khairinisa G, Rihibiha DD, Syahrian H, Shabri S. Sitotoksitas Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) Dari Gambung, Jawa Barat Terhadap Sel Makrofag Raw 264.7. Metamorf J Biol Sci. 2023;10(1):23–7.
- [9]. Arel A, Wardi ES, Oktaviani Y. Profil Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Berenuk (*Crescentia cujete* L.) Dan Uji Sitotoksik Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test. J Katalisator. 2018;3(2):82–8.
- [10]. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. 2017. Jakarta.
- [11]. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia . Farmakope Indonesia Edisi VI 2020. Jakarta
- [12]. CCRC UGM. Subkultur Sel. Cancer Chemoprevention Res Cent Fak Farm UGM. 2009;1–3.
- [13]. CCRC UGM. Panen Sel. Cancer Chemoprevention Res Cent Fak Farm UGM. 2009;1–3.
- [14]. CCRC UGM. Uji Sitotoksik Metode MTT. Cancer Chemoprevention Res Cent Fak Farm UGM. 2013;1–8.
- [15]. Susanty S, Bachmid F. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). J Konversi. 2016;5(2):87–93.
- [16]. Malik F, Malaka MH, Fristiohady A, Wahyuni W, Hamsidi R, Sahidin S, et al. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Bunga Kasumba Turate (*Carthamus tinctorius* Linn.) Terhadap Lini Sel Kanker Payudara T47D. J Farm Sains dan Prakt. 2021;7(3):384–92.
- [17]. Supriyadi E, Mariani S, Sugiman S. Perbandingan Metode Partial Least Square (PLS) dan Principal Component Regression (PCR) untuk Mengatasi Multikolinearitas pada Model Regresi Linear Berganda. Unnes J Math. 2017;6(2):117–28.
- [18]. Renggana H, Sadino A, Susanti R, Rahmi R, Sujana D. Sitotoksik Ekstrak Etanol dan Fraksi-Fraksi Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Sel Kanker Prostat DU 145 Dengan Metode MTT Assay. Med Sains J Ilmu Kefarmasian. 2022;7(2):273–82.
- [19]. Suwarman A, Astuti I, Pratiwi WR, Yahya SAS. Cytotoxicity of hantap (*Sterculia oblongata* Mast) leaves extracts against breast cancer cell line (T47D): effect on apoptosis and caspase-3 mRNA expression. Indones J Pharmacol Ther. 2024;5(2):98–106.
- [20]. Hortelano S, González-Cofrade L, Cuadrado I, de las Heras B. Current status of terpenoids as inflammasome inhibitors. Biochem Pharmacol. 2020; 172:1–8.

- [21]. Irwanto R., Novia R., Rantika W. Organoleptic Tests And Antioxidant Activity Of Black Soybean (Glycine soja L) Supplemented Tamarillo (*Solanum betaceum* Cav). Jurnal Farmasimed (JFM). 2023; 6(1), 84-90. <https://doi.org/10.35451/Jfm.V6i1.1952>
- [22]. Ladeska, V., Elya, B., Hanafi, M., Prastiwi, R., Dewanti, E., & Firmansyah, A. Z. In Silico and In Vitro Anti-Inflammatory Studies on Lipoxygenase Inhibitor from *Tetracera indica* Leaves. International Journal of Agriculture and Biology. 2024; 32(1), 71-78. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.2178>
- [23]. Ladeska, V., Elya, B., & Hanafi, M. Pharmacognostic evaluation and antioxidant capacity of *Tetracera macrophylla* Hook. F. & Thoms twigs. Journal of Pharmacy and Pharmacognosy Research. 2023; 11(3), 523-536. https://doi.org/10.56499/jppres23.1613_11.3.523
- [24]. Lovena, T.N., Hari, D.G., Arief, E.J. Determination of Total Flavonoid Levels Of Cinnamon Leaf Infusion (*Cinnamomum burmanni* (Nees & T.Nees) Blume.) Using UV-Vis Spectrofotometry. JURNAL FARMASIMED (JFM). 2025; 8(1), 184-190. <https://doi.org/10.35451/x2vajr20>
- [25]. Ladeska, V., Elya, B., Hanafi, M., & Rohmat, S. S. Pharmacognostic Evaluation and Antioxidant Activities of *Tetracera indica* (Christm. and Panz.) Merr. HAYATI Journal of Biosciences. 2024; 31(5), 836-853. <https://doi.org/10.4308/hjb.31.5.836-853>
- [26]. Hari, D.G., Lovena, T.N., Khairiah, U. Determination of Flavonoid Content of Ethanol Extract of Yellow Pumpkin Leaves (*Cucurbita moschata* Dulchesne) Using Uv-Vis Spectrophotometry. JURNAL FARMASIMED (JFM). 2025; 8(1), 191-197. <https://doi.org/10.35451/3rps7m67>
- [27]. Amin, A., Waris, R., Kurnia, N., Fadilla, N. Pharmacognostic Identification and Specific Quality Parameters of Blue Porterweed (*Stachytarpheta jameicensis*) Leaf Extract from Enrekang Regency, South Sulawesi. JURNAL FARMASIMED (JFM). 2025; 7(2), 220-228. <https://doi.org/10.35451/jfm.v7i2.2477>
- [28]. Aslantürk, Özlem Sultan. In vitro cytotoxicity and cell viability assays: principles, advantages, and disadvantages. *Genotoxicity-A predictable risk to our actual world* 2 .2018; 64-80. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71923>