

## Efek Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Delile.) Terhadap Sel WiDr

### *Cytotoxic Effects of Extract and Fractions of African Leaves (Vernonia amygdalina Delile.) Against WiDr Cells*

Ezra Azarya Simanjuntak<sup>1</sup>, Denny Satria<sup>2\*</sup>, Poppy Anjelisa Zaitun Hasibuan<sup>3</sup>

<sup>1,2</sup>Departemen Biologi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara

<sup>3</sup>Departemen Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara  
Jalan Tri Dharma No.9, Padang Bulan, Kecamatan Medan Baru, Kota Medan, Sumatera Utara 20155

Email: dennysatria@usu.ac.id

#### Abstrak

**Latar Belakang:** Kanker kolon menjadi masalah kesehatan utama di dunia, menempati posisi ketiga sebagai penyebab kematian. Daun afrika (*Vernonia amygdalina*) salah satu tanaman yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional. Berbagai penelitian telah mengidentifikasi fitokonstituen termasuk flavonoid, sesquiterpen laktone, dan saponin bakterisida yang memiliki sifat farmakologis antikanker. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi daun afrika terhadap sel WiDr. **Metode:** Ekstrak daun Afrika dihasilkan dengan ekstraksi refluks menggunakan pelarut metanol, kemudian dilakukan fraksinasi cair-cair menggunakan pelarut n-heksana, kloroform, dan etil asetat. Analisis kadar total flavonoid dan fenol dilakukan dengan metode kolorimetri menggunakan pereaksi  $AlCl_3$  dan reagen Folin-Ciocalteu. Aktivitas antioksidan diuji dengan metode DPPH. Aktivitas sitotoksik diuji dengan metode MTT terhadap sel WiDr. Kemudian data dianalisis dengan nilai  $IC_{50}$ . **Hasil:** Uji sitotoksik menunjukkan bahwa fraksi kloroform memiliki aktivitas terkuat dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $(78,45 \pm 8,95) \mu g/mL$ , diikuti fraksi n-heksana  $(119,07 \pm 3,98 \mu g/mL)$ , fraksi etil asetat  $(126,39 \pm 3,28 \mu g/mL)$ , ekstrak metanol  $(430,70 \pm 31,92 \mu g/mL)$ , dan fraksi air  $(1607,71 \pm 89,85 \mu g/mL)$ . **Kesimpulan:** Fraksi kloroform daun afrika menunjukkan aktivitas sitotoksik yang kuat terhadap sel WiDr.

**Kata kunci:** Ekstrak; Fraksi; Kanker kolon; Sitotoksik; *Vernonia amygdalina*

#### Abstract

**Background:** Colon cancer remains a major unresolved health problem worldwide, ranking as the third leading cause of death. African leaf (*Vernonia amygdalina*) is one of the plants widely used in traditional medicine. Several studies have identified phytoconstituents, including flavonoids, sesquiterpene lactones, and bactericidal saponins, with diverse pharmacological properties, including anticancer effects. **Objective:** This study aimed to determine cytotoxic activity of the extract and fraction of African leaf against WiDr cells. **Method:** African leaf extract was produced by reflux extraction with methanol, then fractionated using n-hexane, chloroform, and ethyl acetate. The analysis of total flavonoid and phenolic contents was carried out using a colorimetric method with  $AlCl_3$  and Folin-Ciocalteu reagent. Antioxidant activity was assessed using the DPPH method. Cytotoxic activity was tested using the MTT method against WiDr cells. Then, the data were analysed using the  $IC_{50}$  value. **Results:** The cytotoxicity test shows that the chloroform fraction has the strongest activity, with an  $IC_{50}$  value of  $78.45 \pm 8.95 \mu g/mL$ , followed by the n-hexane fraction of  $(119.07 \pm 3.98 \mu g/mL)$ , ethyl acetate fraction of  $(126.39 \pm 3.28 \mu g/mL)$ , methanol extract of  $(430.70 \pm 31.92 \mu g/mL)$ , and water fraction of  $(1607.71 \pm 89.85 \mu g/mL)$ . **Conclusion:** The chloroform fraction of African leaves shows strong cytotoxic activity against WiDr cells.

**Keywords:** Extract; Fractions; Colon cancer; Cytotoxic; *Vernonia amygdalina*

\*Corresponding author: Denny Satria., Departemen Biologi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara.

E-mail : dennysatria@usu.ac.id

Doi : 10.35451/tf07jx42

Received : March 24, 2026, Accepted: April 20, 2026, Published: April 30, 2026

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

## 1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit dengan tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi, membutuhkan biaya penanganan yang besar, serta memberikan dampak serius terhadap kualitas hidup penderita [1]. Kanker menempati posisi sebagai penyebab kematian kedua terbanyak di dunia dengan jumlah kematian mencapai 9,7 juta jiwa. Sebanyak 408 ribu kematian akibat kanker terjadi di negara Asia, termasuk Indonesia [2]. Kanker kolon menempati posisi ketiga sebagai penyebab kematian akibat kanker di dunia, dengan jumlah lebih dari 1,9 juta kasus baru dan sekitar 0,9 juta kematian pada tahun 2022 [3]. Data *Global Burden of Cancer Study* (GLOBOCAN) tahun 2022 melaporkan bahwa Indonesia mencatat 18.693 kasus baru dan 10.212 kematian akibat kanker kolon [4]. Kanker kolon merupakan keganasan yang berasal dari sel epitel yang melapisi usus besar atau rektum pada saluran pencernaan, akibat pertumbuhan abnormal sel-sel epitel kelenjar [3]. Terdapat dua metode utama dalam pengobatan penyakit kanker kolon. Jika kanker masih bisa dioperasi, maka pengobatan yang dilakukan yaitu dengan pembedahan. Sementara untuk kanker kolon yang sudah tidak bisa dioperasi, pengobatan dapat berupa kemoterapi, radioterapi, dan imunoterapi. Namun beberapa pengobatan untuk kanker kolon yang telah dikembangkan memiliki kekurangan seperti tidak mampu secara selektif membedakan antara sel kanker dari sel normal sehingga berpotensi merusak sel normal dan menimbulkan berbagai efek samping [5]. Selain itu, perkembangan resistensi obat pada pasien dari waktu ke waktu juga menjadi masalah serius. Selama kekambuhan, seringkali ditemukan bahwa sel kanker mencapai resistensi setelah paparan obat yang lebih lama sehingga efektivitas kemanjuran pengobatan menurun [6]. Akibatnya, menemukan obat kanker baru yang memiliki efek selektif pada sel kanker dengan khasiat, keamanan, efek samping yang lebih sedikit, aksesibilitas, dan penerimaan yang terbukti merupakan prioritas utama yang harus dilakukan [7][8].

Tanaman herbal telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai salah satu sumber pengobatan tradisional. Tumbuhan sebagai sumber obat semakin banyak dimanfaatkan karena asalnya yang alami, mudah diakses oleh masyarakat, dapat diolah dan digunakan secara praktis serta harga yang relatif terjangkau. Selain itu, pengobatan herbal juga dianggap sebagai alternatif yang potensial terutama dalam menghadapi efek samping dan resistensi obat [9]. Salah satu tumbuhan yang banyak diteliti adalah *Vernonia amygdalina*, yang secara tradisional telah digunakan dalam pengobatan antioksidan, antimalaria, analgesik, antiinflamasi, dan antikanker [10]. Tumbuhan yang dikenal *bitter leaf* ini mengandung senyawa bioaktif termasuk flavonoid, seskuiterpen lakton, asam lemak, dan saponin bakterisida yang memiliki berbagai sifat farmakologis, diantaranya adalah sifat antioksidan, antimalaria, antiinflamasi, antiobesitas, antitumor dan antikanker [11]. Flavonoid dan seskuiterpen lakton merupakan senyawa metabolit sekunder yang diketahui memiliki aktivitas sitotoksik [12]. *Vernonia amygdalina* mengandung senyawa flavonoid dan fenol yang berperan dalam melindungi sel dari radikal bebas dan spesies oksigen reaktif [32].

Beberapa penelitian menyatakan bahwa ekstrak metanol *V. amygdalina* menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel WiDr dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 26,92  $\mu\text{g/mL}$  [15]. Sementara itu, studi lain melaporkan bahwa ekstrak etanol memiliki potensi sitotoksik yang sangat tinggi terhadap sel WiDr dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 9,07  $\mu\text{g/mL}$  [18]. Selain itu, dilaporkan bahwa ekstrak etanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat dari *Vernonia amygdalina* Delile. memiliki potensi sebagai antikanker terhadap lini sel MCF7/HER2, dengan nilai  $IC_{50}$  berturut turut sebesar 130  $\mu\text{g/mL}$ ; 168  $\mu\text{g/mL}$ ; dan 66  $\mu\text{g/mL}$ . Aktivitas tersebut berkaitan dengan kemampuannya dalam menghambat proliferasi dan siklus sel serta menginduksi apoptosis pada sel MCF7/HER2 [11].

## 2. METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun afrika segar (*Vernonia amygdalina*), akuades, doksorubisin, metanol p.a (Merck), n-heksan (SmartLab), kloroform (SmartLab), etil asetat (SmartLab), sel WiDr, media *Roswell Park Memorial Institute* (Procell), natrium bikarbonat (Merck), *sodium dodecyl sulfate* (Sigma-Aldrich), MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium Bromide] (Himedia), DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Aldrich), *Phosfat Buffer Saline* (Sigma-Aldrich), aluminium klorida (Sigma-Aldrich), natrium asetat (Merck), kuersetin (Sigma), *folin-ciocalteu* (Merck), dan asam galat (Sigma).

## Alat

Alat yang digunakan adalah autoklaf (FALC), cawan petri (IWAKI), corong pisah (Pyrex), inkubator CO<sub>2</sub> (Thermo Scientific), *inverted microscope* (Olympus), *laminar air flow* (AIRTECH), *microplate reader* (Benchmark Biorad), mikropipet (Microlite), neraca analitik (Joanlab), oven (Memmert), rangkaian alat refluks, *rotary evaporator* (Heidolph), spektrofotometer UV-Vis (Scitek), sonikator (B-one), *vortex* (Biosan), dan *96-well plate* (IWAKI).

## Prosedur

### Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Afrika

Sebanyak 300 g serbuk simplisia daun afrika diekstraksi dengan 3 L pelarut metanol absolut (1:10) menggunakan metode *reflux* selama 5 jam. Filtrat dikumpulkan dan dilakukan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental yang dikeringkan dalam penangas air. Ekstrak metanol selanjutnya dipisahkan menjadi fraksi menggunakan teknik cair cair dengan pelarut n-heksana, kloroform, dan etil asetat [20].

### Uji Kadar Total Flavonoid

Sebanyak 10 mg sampel dilarutkan dalam 10 mL metanol (1000 µg/mL) kemudian diencerkan menjadi (100 µg/mL). Dipipet 2 mL larutan konsentrasi 100 µg/mL dan ditambahkan 0,1 mL AlCl<sub>3</sub> 10%, 0,1 mL CH<sub>3</sub>COONa, serta 2,8 mL akuades. Larutan diinkubasi selama 30 menit, lalu diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis [21].

### Uji Kadar Total Fenol

Sebanyak 10 mg sampel dilarutkan dalam 10 mL metanol (1000 µg/mL). Dipipet 0,1 mL larutan konsentrasi 1000 µg/mL dan ditambahkan 0,5 mL reagen Folin–Ciocalteu, 1,5 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, serta 7,4 mL akuades. Larutan diinkubasi selama 90 menit, lalu diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis [21].

### Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Sebanyak 10 mg sampel dilarutkan dalam 10 mL metanol (1000 µg/mL) kemudian diencerkan menjadi (500 µg/mL). Selanjutnya, larutan 500 µg/mL dibuat serangkaian konsentrasi 400; 200; 100; 50; dan 25 µg/mL dengan memipet masing-masing 4; 2; 1; 0,5; dan 0,25 mL. Masing masing larutan ditambahkan 1 mL DPPH dan dicukupkan dengan metanol hingga volume 5 mL dan dihomogenkan. Setelah diinkubasi selama 36 menit, diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm [23].

### Uji Aktivitas Sitotoksik dengan Metode MTT

Sel diambil dari inkubator CO<sub>2</sub> 5% dan diamati kondisinya. Jumlah sel yang digunakan dalam uji sitotoksik metode MTT adalah  $5 \times 10^4$  sel per sumuran. Sel didistribusikan ke setiap sumuran sebanyak 100 µL dan kondisi sel diamati menggunakan mikroskop *inverted*, kemudian diinkubasi kembali selama minimal 4 jam. Setelah inkubasi, kondisi sel diperiksa kembali. Apabila sel telah mencapai kondisi konfluen, selanjutnya disiapkan seri konsentrasi sampel yaitu 500; 250; 125; 62,5; dan 31,25 µg/mL. Sampel ditambahkan ke dalam sumuran secara triplo dan sel diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu, media dibuang dan sel dicuci menggunakan PBS. Reagen MTT 100 µL ditambahkan ke masing masing sumuran, kemudian sel diinkubasi kembali selama 2-4 jam dalam inkubator CO<sub>2</sub>. Selanjutnya, diamati menggunakan mikroskop *inverted* dan diakhiri dengan penambahan 100 µL larutan SDS 10% dalam 0,01 N HCl. *Plate* kemudian ditutup menggunakan kertas atau aluminium foil dan diinkubasi dalam kondisi gelap pada suhu ruang selama 24 jam. Terakhir, nilai absorbansi diukur pada panjang gelombang 595 nm menggunakan *microplate reader* [11].

### Analisis Nilai IC<sub>50</sub>

Aktivitas antioksidan diukur menggunakan nilai IC<sub>50</sub>, yang diperoleh dari persamaan regresi berdasarkan hubungan antara persentase peredaman dan konsentrasi sampel uji [22]. Aktivitas sitotoksik dianalisis dengan menghitung persentase sel hidup serta menentukan nilai IC<sub>50</sub> dengan SPSS metode probit [20].

## HASIL

### Uji Kadar Total Flavonoid Ekstrak dan Fraksi Daun Afrika

Analisis kadar total flavonoid dilakukan dengan metode kolorimetri menggunakan pereaksi  $AlCl_3$  dan  $CH_3COONa$ . Hasil persamaan regresi kuersetin didapatkan  $y = 0,0271x + 0,0276$  dengan koefisien korelasi sebesar  $R^2 = 0,9979$  pada panjang gelombang 432 nm.

**Tabel 1.** Kadar total flavonoid ekstrak dan fraksi daun afrika

No.	Sampel	Kadar total flavonoid (mg QE/g sampel)
1.	Ekstrak methanol	77,64 ± 3,21
2.	Fraksi n-heksana	55,63 ± 0,26
3.	Fraksi kloroform	86,21 ± 2,04
4.	Fraksi etil asetat	149,74 ± 1,37
5.	Fraksi air	74,98 ± 1,34

### Uji Kadar Total Fenol Ekstrak dan Fraksi Daun Afrika

Analisis kadar total fenol dilakukan dengan metode kolorimetri menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu* dan  $Na_2CO_3$ . Hasil persamaan regresi asam galat didapatkan  $y = 0,01506x + 0,02179$  dengan koefisien korelasi sebesar  $R^2 = 0,9971$  pada panjang gelombang 775 nm.

**Tabel 2.** Kadar total fenol ekstrak dan fraksi daun afrika

No.	Sampel	Kadar total fenol (mg QAE/g sampel)
1.	Ekstrak methanol	103,76 ± 0,10
2.	Fraksi n-heksana	158,31 ± 0,03
3.	Fraksi kloroform	152,89 ± 0,13
4.	Fraksi etil asetat	336,22 ± 0,20
5.	Fraksi air	237,96 ± 0,42

### Uji Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Afrika

Analisis aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun afrika dilakukan dengan metode DPPH

**Tabel 3.** Kategori antioksidan nilai  $IC_{50}$  bahan uji

No.	Sampel	Rerata $IC_{50}$ ( $\mu g/mL$ ) ± SD	Kategori antioksidan
1.	Ekstrak metanol	186,86 ± 1,06	Sedang
2.	Fraksi n-heksana	113,69 ± 4,16	Sedang
3.	Fraksi kloroform	128,26 ± 0,08	Sedang
4.	Fraksi etil asetat	92,01 ± 0,07	Kuat
5.	Fraksi air	192,93 ± 0,14	Sedang
6.	Kuersetin	4,77 ± 0,03	Sangat kuat

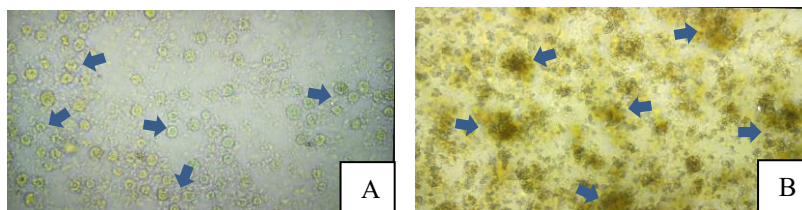
### Uji Sitotoksik Ekstrak dan Fraksi Daun Afrika terhadap Sel WiDr

Analisis aktivitas sitotoksik dilakukan menggunakan metode MTT terhadap sel WiDr.

**Tabel 4.** Kategori sitotoksik nilai  $IC_{50}$  bahan uji

Sel Kanker	Bahan Uji	Rerata $IC_{50}$ ( $\mu g/mL$ ) ± SD	Kategori sitotoksik
WiDr	Ekstrak metanol	430,70 ± 31,92	Aktif sedang
	Fraksi n-heksana	119,07 ± 3,98	Aktif sedang
	Fraksi kloroform	78,45 ± 8,95	Aktif
	Fraksi etil asetat	126,39 ± 3,28	Aktif sedang
	Fraksi air	1607,71 ± 89,85	Tidak toksik
	Doksorubisin	0,032 ± 0,005	Aktif

Selain penentuan nilai  $IC_{50}$ , dilakukan pula pengamatan mikroskopik terhadap sel WiDr sebelum dan setelah perlakuan menggunakan mikroskop inverted. Perubahan morfologi sel diamati secara visual sebagai indikator adanya efek sitotoksik. Hasil pengamatan morfologi sel WiDr tersebut disajikan pada **Gambar 1**.



**Gambar 1.** Morfologi mikroskopik sel WiDr menunjukkan (a) sel hidup (b) sel mati

Sel WiDr hidup memiliki morfologi poligonal atau bulat dengan sitoplasma yang luas dan tampak jelas (**Gambar 1A**). Pada kondisi tertentu, sel mengalami penyusutan (*shrinkage*) serta kehilangan kontak dengan sel di sekitarnya. Sebagian sitoplasma juga menghilang sehingga ukuran sel menjadi lebih kecil dan rasio sitoplasma terhadap nukleus menurun. Kerusakan sel ditandai oleh perubahan morfologi menjadi lebih bulat disertai peningkatan intensitas warna sehingga sel tampak lebih gelap (**Gambar 1B**). Kematian sel WiDr pada **Gambar 1B** dapat disebabkan oleh kontaminasi. Sumber kontaminasi bisa berasal dari peralatan yang terbuat dari kaca maupun plastik, media kultur, alat yang digunakan untuk memindahkan sel ke media, sel yang digunakan, serta ruang penanaman dan pertumbuhan sel [36].

#### 4. PEMBAHASAN

Analisis kadar total flavonoid diawali dengan pembuatan larutan standar pada beberapa konsentrasi yaitu 3,125; 6,25; 12,5; 25; dan 50 ppm. Rentang konsentrasi tersebut digunakan karena metode penentuan kadar flavonoid dan fenol total didasarkan pada kurva baku [24]. Kuersetin dipilih sebagai larutan induk baku (LIB) karena mampu berikatan membentuk senyawa kompleks dengan  $AlCl_3$  melalui interaksi pada gugus karbonil di posisi C-4 serta gugus hidroksil pada posisi C-3 atau C-5. Penambahan  $AlCl_3$  menyebabkan pergeseran panjang gelombang ke daerah tampak, sedangkan natrium asetat berperan dalam menjaga kestabilan panjang gelombang tersebut [13][25].

Analisis kadar total fenol dilakukan dengan pembuatan larutan standar pada beberapa konsentrasi, yaitu 15; 20; 30; 40; dan 50 ppm, kemudian diukur absorbansinya untuk membentuk kurva kalibrasi linear antara absorbansi dan konsentrasi. Kurva ini mematuhi hukum Lambert-Beer jika menghasilkan garis lurus. Asam galat digunakan sebagai larutan standar karena stabilitas dan sensitivitasnya sebagai senyawa fenolik alami [14]. Reaksi yang terjadi merupakan reaksi oksidasi-reduksi, di mana dalam kondisi basa, pereaksi *Folin-Ciocalteu* mengoksidasi senyawa fenolat sekaligus mereduksi asam heteropoli membentuk kompleks berwarna biru [31].

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan kadar flavonoid dan fenol total tertinggi terdapat pada fraksi etil asetat dibandingkan ekstrak dan fraksi yang lainnya, masing masing sebesar  $149,74 \pm 1,37$  mg QE/g dan  $336,22 \pm 0,20$  mg QAE/g. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelarut semipolar mampu mengekstraksi senyawa flavonoid dan fenol dibandingkan pelarut polar maupun nonpolar [14]. Etil asetat secara efektif mengekstraksi senyawa semipolar yang terdapat pada struktur dinding sel, seperti flavonoid dalam bentuk aglikon, yang termasuk senyawa polifenol dengan sifat kimia mirip fenol. Variasi kepolaran pelarut mempengaruhi karakteristik dan macam senyawa fenolik yang berhasil diekstrak, memungkinkan isolasi spesifik senyawa sesuai pelarut terpilih. Besarnya kadar total polifenol yang diperoleh pada fraksi etil asetat disebabkan oleh adanya senyawa polifenol dengan polaritas sesuai seperti xanton dan flavonoid [19]. Temuan ini sesuai dengan hasil penelitian Khoirunnisa (2019), di mana dilaporkan bahwa fraksi etil asetat menunjukkan kadar total flavonoid dan fenol tertinggi dibandingkan dengan fraksi lainnya seperti fraksi petroleum eter, kloroform, etil asetat, aseton, dan air pada rimpang tanaman jeringau putih [16].

Berdasarkan hasil penelitian, fraksi etil asetat menunjukkan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $92,01 \pm 0,07$   $\mu$ g/mL, yang mengindikasikan bahwa fraksi tersebut memiliki aktivitas antioksidan kuat. Suatu senyawa dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai  $IC_{50} < 50$  ppm, kuat pada rentang 50-100 ppm, sedang pada rentang 100-250 ppm, lemah pada rentang 250-500 ppm, dan tidak aktif jika  $IC_{50} > 500$  ppm [27]. Kuatnya aktivitas antioksidan

fraksi etil asetat daun afrika diduga berkaitan dengan kandungan flavonoid dan fenol yang tinggi di dalamnya. Senyawa fenolik diketahui memiliki hubungan linear yang kuat dengan aktivitas antioksidan, di mana peningkatan kadar fenolik total akan diikuti oleh peningkatan kemampuan dalam menangkal radikal bebas. Sebagai antioksidan, senyawa fenolik mampu menghentikan reaksi berantai dengan langsung menetralkan radikal bebas serta menetralkan berbagai spesies yang bersifat reaktif [28].

Besarnya kemampuan donor elektron sebanding dengan intensitas perubahan warna dan penurunan nilai absorbansi. Metode DPPH memiliki keunggulan yaitu proses pengukurannya lebih cepat, sederhana, dan ekonomis [26]. Peningkatan konsentrasi ekstrak menghasilkan persentase inhibisi yang lebih besar, ditunjukkan oleh perubahan warna yang semakin kuning. Kondisi ini terjadi karena semakin tinggi konsentrasi, semakin banyak senyawa aktif berperan dalam aktivitas antioksidan [22]. Mekanisme kerja senyawa antioksidan adalah dengan menekan terbentuknya radikal bebas melalui penghambatan reaksi oksidasi, yaitu dengan mendonorkan atom hidrogen sehingga radikal bebas dapat berubah menjadi senyawa yang lebih stabil dan tidak lagi bersifat radikal. Mekanisme tersebut berpotensi mencegah terjadinya mutasi sel sebagai tahap awal perkembangan kanker [35].

Berdasarkan hasil penelitian, pengujian *in vitro* menggunakan metode MTT pada sel WiDr menunjukkan bahwa fraksi kloroform daun afrika memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar  $78,45 \pm 8,95 \mu\text{g/mL}$  berarti aktivitas sitotoksik tergolong cukup aktif. Senyawa diklasifikasikan sebagai aktif apabila nilai  $IC_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$ , aktif sedang jika  $IC_{50} 20\text{--}100 \mu\text{g/mL}$ , lemah jika  $IC_{50}$  antara  $100\text{--}1000 \mu\text{g/mL}$ , dan tidak toksik apabila  $IC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ . Hasil ini sebanding dengan penelitian lain yang menunjukkan penghambatan pertumbuhan sel tumor yang signifikan oleh partisi berbasis kloroform dari ekstrak metanol bakteri endofit *B.subtilis* yang memberikan  $IC_{50}$  sebesar  $34,62 \pm 0,18 \mu\text{g/mL}$  [31]. Efek sitotoksik terhadap sel kanker kolon maupun berbagai tipe sel kanker lainnya dapat ditunjukkan oleh daun afrika, yang dipengaruhi oleh keberadaan senyawa bioaktif utama dalam menghambat pertumbuhan sel kanker melalui beragam jalur mekanisme [18]. Fraksi kloroform memiliki kemampuan dalam mengekstraksi senyawa semipolar hingga nonpolar seperti terpenoid, asetogenin, dan flavonoid. Fraksi kloroform bertindak sebagai pelarut yang efektif untuk memisahkan senyawa aktif yang dapat menghambat proliferasi sel kanker, memicu apoptosis, atau menyebabkan efek antiproliferatif. Berdasarkan hasil penyaringan, ditemukan bahwa fraksi kloroform mengandung metabolit sekunder yang diklasifikasikan sebagai zat antikanker, misalnya seskuiterpen lakton [30]. Hasil penelitian ini sejalan dengan dilakukan Looi (2013), fraksi kloroform dari genus *Vernonia* diduga memiliki suatu senyawa khas vernodalin. Vernodalin merupakan turunan dari seskuiterpen lakton yang dominan dalam fraksi kloroform, yang dapat menghambat sitotoksik secara signifikan terhadap lini sel melanoma (SK-Mel28) dan kanker ovarium (CAOV-3). Vernodalin juga merupakan senyawa sitotoksik yang bertanggungjawab atas penghambatan pertumbuhan sel melanoma akibat induksi fraksi kloroform [32]. Berdasarkan penelitian Zhang (2019), bioaktif seskuiterpen lakton dari tanaman genus *Vernonia* dapat diisolasi dengan fraksi kloroform sehingga mempunyai aktivitas sitotoksik yang kuat [33].

## 5. KESIMPULAN

Fraksi kloroform daun afrika memiliki  $IC_{50}$  sebesar  $78,45 \pm 8,95 \mu\text{g/mL}$  yang berada pada kategori efek sitotoksik cukup aktif. Untuk penelitian lebih lanjut disarankan untuk dilakukan uji isolasi dan elusidasi struktur senyawa aktif daun afrika seperti seskuiterpen lakton yang berpotensi memiliki efek antikanker.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar besarnya kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam penelitian ini, terkhususnya kepada Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Maharani A, Jalaluddin M, Chalil A. Pengaruh Faktor Fisik Kanker Dan Faktor Sosial Terhadap Intensitas Nyeri Kanker Pada Pasien Kanker Di Rumah Sakit Haji Medan. Pandu Husada. 2026;7(1):34–47.
- [2] Alita R, Safari U, Riani N, Khoerunisa F, Sulistiani D. Peningkatan Pengetahuan Tentang Pencegahan Kanker Payudara Melalui “SADARI” Pada Remaja Di SMK Pelita Alam. J Med Utama. 2020;2(1):434–40.

- [3] Adebayo AS, Agbaje K, Adesina SK, Olajubutu O. Colorectal Cancer : Disease Process, Current Treatment Options, and Future Perspectives. *Pharmaceutics*. 2023;1–29.
- [4] Supono EA, Jayadi T, Hariatmoko, Siagian JW. Profil dan Kesintasan Penderita Kanker Kolorektal RS Bethesda Yogyakarta. *J Kedokt Meditek*. 2023;29(3):236–42.
- [5] Ganesan K, Jayachandran M, Xu B. Diet-Derived Phytochemicals Targeting Colon Cancer Stem Cells and Microbiota in Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci*. 2020;21(6).
- [6] Anand U, Dey A, Singh AK, Sanyal R, Mishra A, Kumar D. Cancer chemotherapy and beyond : Current status, drug candidates, associated risks and progress in targeted therapeutics. *Genes and Diseases*. 2023; 10(1).
- [7] Dhyani P, Sati P, Sharma E, Attri DC, Bahukhandi A, Tynybekov B, et al. Sesquiterpenoid lactones as potential anti - cancer agents : an update on molecular mechanisms and recent studies. *Cancer Cell Int*. 2022;22(305):1–18.
- [8] Ovcharenko D, Mukhin D, Ovcharenko G. Alternative Cancer Therapeutics : Unpatentable Compounds and Their Potential in Oncology. *Pharmaceutics*. 2024;16(1237).
- [9] Abubakar AR, Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. 2020;1–10.
- [10] Chatri M, Hasibuan PA, Meiyanto E, Putra D, Septisetyani E, Satria D, et al. Effect of African Leaves (*Vernonia amygdalina* Delile) on the Development of T47D Breast Cancer Cells. *Trop J Nat Prod Res*. 2024;8(7):7740–6.
- [11] Hasibuan PAZ, Sitorus RKUA, Hermawan A, Huda F, Waruwu S, Satria D. Anticancer activity of the ethylacetate fraction of *Vernonia amygdalina* Delile towards overexpression of HER-2 breast cancer cell lines. *Pharmacia*. 2024;71(1):1–8.
- [12] Atolani O, Banerjee P, Ayeni AE, Usman MA, Adejumo OJ, Erukainure OL, Preissner R, Sokoudjou JB, Ologe MO, Islam MT, Adeyemi OS, Adedotun I. Phytochemical, Pharmacological, Phyto-cosmeceutical, Toxicity, and In silico Toxicological Evaluations of *Vernonia amygdalina* Delile – A Review. *J Turkish Chem Soc Chem*. 2024;11(2):775–802.
- [13] Lovena TN, Hari DG, Arief EJ. Penetapan Kadar Flavonoid Total Infusa Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni*) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis Determination of Total Flavonoid Levels Of Cinnamon Leaf Infusion (*Cinnamomum burmanni* ( Nees & T Nees ) Blume .) Using UV-Vis Spectrofotometry. *Jurnal Farmasimed*. 2025;184–90.
- [14] Maulida M, Nurhasnawati H, Sundu R, Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe). *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*. 2025;7(1):65–81.
- [15] Burhan A, Kamaruddin M, Ahmad R, Marzuki I, Misriyani. Anticancer and Cytotoxic Potentials of *Vernonia amygdalina* Delile on WiDr Cell Lines, *Phytopharmacology Research Journal (PRJ)*. 1(18):1–7.
- [16] Khoirunnisa R, Susanti R, Purwanti NU. Penetapan Kadar Total Flavonoid dan Fenol Fraksi Etil Asetat dari Ekstrak Etanol Rimpang *Acorus* sp. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*. 2019;4(1):3-14.
- [17] Lubis IA, Bestari R. Evaluasi Aktivitas Sitotoksik Dan Indeks Selektivitas Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) Terhadap Model Sel Kanker Kolon Secara In Vitro. *Biology Education Science and Technology*. 2023;6(2): 679.
- [18] Rahayu MP, Inanda, LV. Penetapan Kadar Fenol Total Ekstrak Etil Asetat dan Fraksi Diklorometana-Etil Asetat Kulit Batang Mundu. *Biomedika*. 2015;8(2):43.
- [19] Satria D, Hasibuan PAZ, Muhammad M, Waruwu SB, Utomo RY, Ghoran S. Cytotoxic and apoptotic effect of *Vernonia amygdalina* Delile. fractions against Hs578 T triple-negative breast cancer cell lines. *Phytomedicine Plus*. 2024; 4(4)
- [20] Satria D, Silalahi J, Haro G, Ilyas S, Anjelisa P. Antioxidant and Antiproliferative Activities of an Ethylacetate Fraction of *Picria Fel-Terrae* Lour. Herbs. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2017;18:399–403.
- [21] Kusuma AE, Yolanda A. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia arborea* Buch-Ham ) Dengan Metode DPPH. *J Farm Sains dan Obat Tradis*. 2022;1(1).

- [22] Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl ( DPPH ) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J Sci Technol. 26AD;2(June 2003).
- [23] Febrianti S, Sahidin, Pusmarani J. Penetapan Kadar Fenolik Total Dan Flavonoid Total Dari Ekstrak Akar Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) Serta Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH. J Pharm Mandala Waluya. 2023;2(6):325–33.
- [24] Hari DG, Lovena TN, Khairiah U. Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Daun Labu Kuning (*Cucurbita moschata* Dulchesne) Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis Determination of Flavonoid Content of Ethanol Extract of Yellow Pumpkin Leaves (*Cucurbita moschata* Dulchesne) Using Uv-Vis Spectrophotometry. Jurnal Farmasimed. 8(1):191–7.
- [25] Erwin, Rahmadani IA, Alimuddin, Ridhay A. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun, Kulit Batang, Dan Batang Tumbuhan Afrika (*Vernonia amygdalina* Del). J Hutan Trop. 2022;2(1):197–203.
- [26] Masaenah E, Putri DA. Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Etanol Daun Afrika Dengan Metode DPPH Terhadap Sediaan Kosmetik Pembersih. Jurnal Farmamedika. 2024;9(1): 88-96.
- [27] Wardani YK, Kristiani EBE, Sucahyo. Korelasi Antara Aktivitas Antioksidan dengan Kandungan Senyawa Fenolik dan Lokasi Tumbuh Tanaman *Celosia argentea* Linn. Bioma. 2020;22(2): 1-5.
- [28] Zakaria NH, Saad N, Abdullah CAC, Esa NM. The Antiproliferative Effect of Chloroform Fraction of *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. on 2D- and 3D-Human Lung Cancer Cells (A549) Model. Pharmaceuticals. 2023;16(7): 3-4.
- [29] Romero-Arguelles R, Romo-Sáenz C. I, Tamez-Guerra P, Fonseca-Rivera D, Elizondo-Luevano JH, Rodriguez-Garza NE, et al. In vitro and in vivo antitumor activity of a chloroform partition from *Ibervillea sonorae* (S. Watson) Greene endophytic *Bacillus subtilis* extracts. Plants. 2025;14(10), 1474.
- [30] Looi CY, Moharram B, Paydar M, Wong YL, Leong KH, Mohamad K, Arya A, Wong WF, Mustafa MR. Induction of apoptosis in melanoma A375 cells by a chloroform fraction of *Centrathrum anthelminticum* (L.) seeds involves NF-kappaB, p53 and Bcl-2-controlled mitochondrial signaling pathways. BMC complementary and alternative medicine. 2013;13(1), 166.
- [31] Zhang M, Yang X, Wei Y, Wall M, Songsak T, Wongwiwatthananut S, Chang LC. Bioactive sesquiterpene lactones isolated from the whole plants of *Vernonia cinerea*. Journal of natural products. 2019;82(8): 2124-2131.
- [32] Hutomo S, Susilowati H, Suryanto YI, Kurniawan C. Perubahan morfologi sel HeLa setelah paparan ekstrak etanolik *Curcuma longa*. Majalah Kedokteran Gigi Indonesia. 2017;2(1): 180328.
- [33] Winanta A, Sari WY. Aktivitas antikanker ekstrak etanol, fraksi n-heksan, dan etil asetat daun tin (*Ficus carica* L.) pada sel kanker payudara MCF-7. Jurnal Ilmiah Farmasi, 2023;19(1), 44-51.
- [34] Wulandari S, Nisa YS, Taryono T, Indarti S, Sayekti RS. Sterilisasi peralatan dan media kultur jaringan. Agrotechnology Innovation (Agrinova). 2022;4(2), 16.
- [35] Verawati V, Almahdy A, Febriyenti F, Putra DP. Isolasi Dan Analisa Struktur Senyawa Fenolik Aktif Antioksidan Dari *Elephantopus mollis* Kunth. Jurnal Farmasimed. 2025;8(1): 456.