

## Potensi Antikanker Ekstrak Metanol dan Fraksi Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa

### *Anticancer Potential of Methanol Extract and Fractions of African Leaf (*Vernonia amygdalina* Del.) Against HeLa Cervical Cancer Cells*

Suryati Cintia Gultom<sup>1</sup>, Poppy Anjelisa Zaitun Hasibuan<sup>2\*</sup>, Denny Satria<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pharmacy Undergraduate Student, Faculty of Pharmacy, University of Sumatera Utara, Medan 20155, Indonesian.  
[suryaticintia@students.usu.ac.id](mailto:suryaticintia@students.usu.ac.id)

<sup>2</sup>Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, University of Sumatera Utara, Medan 20155, Indonesian. [poppyanjelisa@usu.ac.id](mailto:poppyanjelisa@usu.ac.id)

<sup>3</sup>Department of Pharmaceutical Biology, Faculty of Pharmacy, University of Sumatera Utara, Medan 20155, Indonesian.  
[dennysatria@usu.ac.id](mailto:dennysatria@usu.ac.id)

#### Abstrak

Secara global, kanker serviks menjadi salah satu kontributor mortalitas tertinggi akibat kanker pada perempuan. Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) diketahui mengandung senyawa terpenoid aktif seperti sesquiterpen lakton yang dapat dimanfaatkan untuk terapi kanker. Tujuan penelitian ini untuk mengevaluasi potensi sitotoksik ekstrak metanol dan fraksi daun Afrika sebagai agen antikanker terhadap lini sel kanker serviks HeLa secara *in vitro*. Simplisia daun Afrika diekstraksi dengan metode refluks menggunakan metanol, kemudian dilakukan fraksinasi cair-cair untuk memperoleh fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat dan fraksi sisa. Uji sitotoksik dilakukan menggunakan metode MTT Assay pada lini sel kanker serviks HeLa, kemudian sampel dengan aktivitas sitotoksik terkuat dilakukan pengujian lanjutan meliputi uji siklus sel dan apoptosis sel menggunakan instrumen *flow cytometry*. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan fraksi dari daun Afrika memiliki efek sitotoksik dengan IC<sub>50</sub> 25,45 – 4163,63 µg/mL, dimana fraksi kloroform (IC<sub>50</sub> = 25,45 ± 0,97 µg/mL) memiliki aktivitas sitotoksik terkuat. Hasil uji siklus sel menunjukkan bahwa fraksi kloroform dapat menghambat proliferasi sel HeLa di fase G0-G1. Hasil apoptosis sel menunjukkan bahwa fraksi kloroform dapat meningkatkan apoptosis total sebesar 3,4%. Oleh karena itu, daun Afrika memiliki potensi sebagai kandidat antikanker, dengan senyawa aktif antikanker cenderung terkonsentrasi dalam fraksi kloroform. Studi lanjutan sangat diperlukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa murni dari fraksi kloroform daun Afrika.

**Kata kunci:** Antikanker, daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.), kanker serviks, sel HeLa, IC<sub>50</sub>

#### Abstract

Globally, cervical cancer is one of the leading causes of cancer-related mortality among women. African leaves (*Vernonia amygdalina* Del.) are known to contain active terpenoid compounds, such as sesquiterpene lactones, which can be utilized for cancer therapy. The aim of this study is to evaluate the cytotoxic potential of methanol extracts and leaf fractions from the African plant as anticancer agents against the HeLa cervical cancer cell line *in vitro*. The crude African leaf extract was prepared using a reflux method with methanol, followed by liquid-liquid fractionation to obtain n-hexane, chloroform, ethyl acetate, and residual fractions. Cytotoxicity testing was performed using the MTT Assay on HeLa cervical cancer cell lines; samples exhibiting the strongest cytotoxic activity underwent further testing, including cell cycle analysis and apoptosis assays using flow cytometry. The cytotoxicity test results showed that the methanol extract and fractions from African leaves exhibited cytotoxic effects with IC<sub>50</sub> values ranging from 25.45 to 4163.63 µg/mL, with the chloroform fraction (IC<sub>50</sub> = 25.45 ± 0.97 µg/mL) demonstrating the strongest cytotoxic activity. Cell cycle assay results showed that the chloroform fraction could inhibit HeLa cell proliferation in the G0-G1 phase. Cell apoptosis results indicated that the chloroform fraction could increase total apoptosis by 3.4%. Therefore, African leaves have potential as anticancer candidates, with anticancer active compounds tending to be concentrated in the chloroform fraction. Therefore, African leaves show potential as anticancer agents, with the active anticancer compounds tending to be concentrated in the chloroform fraction. Further studies are urgently needed to isolate and identify the pure compounds from the chloroform fraction of African leaves.

**Keywords:** Anticancer, African leaf (*Vernonia amygdalina* Del.), cervical cancer, HeLa cells, IC<sub>50</sub>

\*Corresponding author: Poppy Anjelisa Zaitun Hasibuan, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan, Sumatera Utara, Indonesia  
E-mail : [poppyanjelisa@usu.ac.id](mailto:poppyanjelisa@usu.ac.id)  
Doi : 10.35451/yd7znx87  
Received : March 29, 2026, Accepted: April 9, 2026, Published: April 30, 2026  
Copyright: © 2026 Poppy Anjelisa Zaitun Hasibuan (s). Creative Commons License This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

## 1. PENDAHULUAN

Kanker didefinisikan sebagai penyakit yang muncul akibat proliferasi dan penyebaran sel abnormal yang tidak terkendali, yang dapat menyerang jaringan sekitarnya maupun area tubuh yang lain. Berdasarkan laporan dari *World Health Organization*, kanker menjadi salah satu kontributor mortalitas tertinggi secara global, dengan sekitar 10 juta kasus kematian pada tahun 2020 (WHO, 2022). Kondisi ini muncul ketika sel normal mengalami perubahan menjadi ganas melalui proses karsinogenesis, yang berkaitan dengan kerusakan genetik dan gangguan sistem pengaturan siklus sel [1].

Kanker serviks merupakan keganasan yang muncul pada jaringan epitel penyusun dinding rahim (serviks). Menurut *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN), kanker serviks menempati peringkat keempat dalam insiden dan mortalitas kanker pada perempuan di seluruh dunia, dengan perkiraan 662 ribu kasus baru dan 348 ribu kematian pada tahun 2022. Data dari GLOBOCAN, kanker serviks menempati posisi kedua dibawah kanker payudara untuk jenis kanker yang paling dominan didiagnosis pada populasi wanita di Indonesia, dengan perkiraan 20 ribu kematian dan 36 ribu kasus baru pada tahun 2022 [2]. Berdasarkan laporan dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, indeks kejadian kanker serviks yang terjadi di Indonesia sebesar 23,3 per 100 ribu jiwa dengan angka kematian rata-rata 13,2 per 100 ribu jiwa [3].

Pengobatan kanker serviks pada umumnya dilakukan dengan terapi konvensional seperti kemoterapi, radioterapi, dan pembedahan yang menjadi standar penanganan penyakit ini. Namun terapi ini sering kali disertai dengan efek samping seperti kerontokan rambut (alopesia), mual muntah, kelelahan, menurunnya kekebalan tubuh, kerusakan mukosa, anemia dan trombositopenia. Keterbatasan terapi konvensional ini mendorong pencarian obat antikanker yang lebih aman dan efektif untuk meningkatkan kualitas hidup pasien [4].

Tumbuhan sebagai tanaman obat tradisional telah digunakan masyarakat untuk mengatasi penyakit dan mendukung kebutuhan lainnya yang berhubungan dengan kesehatan masyarakat [5]. Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) merupakan tanaman asli Afrika yang tumbuh subur di sebagian besar Afrika dan tersebar luas di Asia, memiliki rasa yang pahit sehingga sering disebut “daun pahit” dan telah digunakan secara medis maupun sebagai sayuran [6]. Daun Afrika memiliki berbagai aktivitas, termasuk aktivitas antioksidan, antikanker, antimutagenik, antidiabetik, antibakteri dan analgesik [7]. Daun Afrika telah terbukti memiliki potensi sebagai antikanker karena mengandung banyak senyawa, termasuk flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, terpena, glikosida steroid, triterpenoid dan seskuiterpen lakton. Daun Afrika memiliki aktivitas antikanker karena menghambat proliferasi, menghambat siklus sel serta menginduksi aktivitas apoptosis [8].

Aktivitas antikanker daun Afrika kini menjadi fokus utama dalam studi biomedis karena potensi terapeutiknya yang luas dan minimnya efek samping. Beberapa penelitian terdahulu telah memberikan bukti ilmiah yang mendukung potensi antikanker dari daun Afrika. Studi metabolomik dan proteomic oleh (Samutrtai dkk., 2024) menunjukkan efek sitotoksik daun Afrika pada sel kanker HeLa dengan mekanisme meningkatkan protein yang berfungsi dalam apoptosis dan respon sel [9]. Penelitian (Dejene dkk., 2025) mengungkapkan bahwa ekstrak kasar daun Afrika dapat menghambat pertumbuhan sel HeLa dengan mengurangi persentase kelangsungan hidup sel selama 24 jam [10]. Penelitian (Chatrri dkk., 2024) menunjukkan bahwa fraksi diklorometan daun Afrika menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan sel T47D [11]. Penelitian (Hasibuan dkk., 2024) menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun Afrika menunjukkan efek sitotoksik pada sel MCF-7/HER-2 melalui penghambatan proliferasi sel dan menurunkan viabilitas sel [8].

Meskipun studi mengenai potensi antikanker daun Afrika telah banyak dilaporkan, sebagian besar penelitian terdahulu masih berfokus pada pengujian ekstrak kasar atau fraksi tunggal secara terpisah. Hingga saat ini, informasi mengenai perbandingan aktivitas sitotoksik antara ekstrak metanol dan fraksi turunannya terhadap lini sel kanker serviks HeLa masih terbatas. Hal ini menyebabkan sulitnya mengidentifikasi pada fraksi mana senyawa bioaktif antikanker dari daun Afrika terakumulasi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi sitotoksik ekstrak metanol dan fraksi daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) sebagai agen antikanker terhadap lini sel kanker serviks HeLa secara *in vitro*. Kebaruan penelitian ini terletak pada pendekatan fraksinasi

bertingkat untuk membandingkan potensi sitotoksik berdasarkan tingkat kepolaran pelarut, yang krusial sebagai landasan pengembangan kandidat agen antikanker spesifik untuk kanker serviks di masa depan.

## 2. METODE

### Bahan

*Aquadest*, daun Afrika segar, cisplatin, etanol 70%, etil asetat (Smart Lab), Fetal Bovine Serum (FBS), Fungizone (Amphotericin B), hepes, kloroform (Smart Lab), larutan dimetilsulfoksida/DMSO, media *Rosswel Park Memorial Institute* (RPMI), metanol p.a. (Merck), n-heksana (Smart Lab), *Phosphate Buffer Saline* (PBS), reagen MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida), sel kanker serviks HeLa, Tripsin EDTA 0,25%.

### Alat

Alat-alat gelas laboratorium, autoklaf, *cell culture flask*, corong pisah (Duran), *heating mantle* (B-One), hemositometer (Assistent), inkubator CO<sub>2</sub> (NAPCO), kondensor, *Laminar Air Flow*, lemari pengering, *microplate reader* (Bio-rad iMark), mikropipet (Dragonlab), *inverted microscope*, neraca analitik (Joanlab), *rotary evaporator* (Heidolph), sentrifugasi, *waterbath*, tabung konikel, *96 well cell culture plate*

### Prosedur

#### Pengambilan dan pengumpulan sampel

Sampel daun Afrika yang digunakan berasal dari satu sumber lokasi dan tidak dibandingkan dengan tumbuhan serupa yang berasal dari letak geografis berbeda. Sampel diperoleh dari Jl. Bandrek, Kelurahan Lantasan Baru, Patumbak, Deli Serdang, Sumatera Utara.

#### Pembuatan simplisia

Daun Afrika dibersihkan dan dicuci dibawah aliran air bersih dan ditiriskan. Dimasukkan ke dalam alat pengering dengan suhu sebesar  $\pm 50^{\circ}\text{C}$  dan ditunggu hingga kering sempurna. Daun Afrika yang sudah kering bertekstur rapuh dan mudah hancur saat diremas. Setelah kering, simplisia daun Afrika dihaluskan dan diayak hingga menjadi bentuk serbuk. Serbuk daun Afrika disimpan di wadah tertutup dan dimasukkan silica gel. Serbuk ditempatkan di lingkungan yang kering dan gelap (terlindung cahaya matahari langsung) untuk menjaga kestabilan dan mencegah kontaminasi [12].

#### Karakterisasi simplisia daun Afrika

##### a. Penetapan kadar air

Penentuan kadar air dalam simplisia dilakukan menggunakan prinsip termogravimetri dengan bantuan alat oven. Ditimbang 2 gram serbuk daun Afrika menggunakan botol timbang yang sudah melalui proses penaraan sebelumnya. Dikeringkan di dalam oven pada suhu konstan sebesar  $105^{\circ}\text{C}$  dengan durasi 5 jam. Kemudian dipindahkan ke dalam desikator untuk proses pendinginan, kemudian dilakukan penimbangan. Diulangi sampai tercapai berat tetap atau konstan [12].

##### b. Penetapan kadar sari larut air

Serbuk daun Afrika ditimbang sebanyak  $\pm 5$  gram, dilakukan ekstraksi dalam labu tersumbat menggunakan 100 mL air yang dijenuhkan terlebih dahulu menggunakan kloroform. Pada 6 jam pertama dilakukan proses pengocokan berkala, kemudian dидiamkan selama interval waktu 18 jam. Dilakukan filtrasi dan sebanyak 20 mL hasil filtrasi diambil, dikeringkan menggunakan cawan alas datar yang telah melalui proses penaraan sebelumnya. Proses dilanjutkan dengan memasukkan cawan ke dalam oven dengan temperatur  $105^{\circ}\text{C}$  sampai tercapai berat konstan [12].

##### c. Penetapan kadar sari larut etanol

Serbuk daun Afrika ditimbang sebanyak  $\pm 5$  gram, dilakukan ekstraksi dalam labu tersumbat menggunakan 100 mL etanol 96%. Pada 6 jam pertama dilakukan proses pengocokan berkala, kemudian dидiamkan selama interval waktu 18 jam. Dilakukan filtrasi dan sebanyak 20 mL hasil filtrasi diambil, dikeringkan menggunakan cawan alas datar yang telah melalui proses penaraan sebelumnya. Proses dilanjutkan dengan memasukkan cawan ke dalam oven dengan temperatur  $105^{\circ}\text{C}$  sampai tercapai berat konstan [12].

##### d. Penetapan kadar abu total

Serbuk daun Afrika ditimbang 2-3 gram, dimasukkan ke dalam wadah kurs yang sebelumnya sudah melalui

proses pemijaran serta penaraan. Kurs dipijar secara perlahan sampai seluruh arang hilang, lalu dilakukan pendinginan dalam desikator dan ditimbang. Apabila arang masih tersisa, dilakukan penambahan air panas serta penyaringan menggunakan kertas saring *ashless*. Sisa pijar dan kertas saring ditempatkan kembali dalam wadah semula untuk dipijar. Filtrat di dalam kurs diuapkan hingga kering, lalu dipanaskan menggunakan tanur pada suhu  $(800 \pm 25)^{\circ}\text{C}$  sampai tercapai berat konstan [12].

**c. Penetapan kadar abu tidak larut asam**

Dididihkan hasil abu total dengan 25 mL asam kloroda encer selama 5 menit. Dikumpulkan material yang tidak larut, disaring menggunakan kertas saring *ashless*. Kemudian dilakukan pencucian dengan menggunakan air panas dan dipijarkan pada suhu  $(800 \pm 25)^{\circ}\text{C}$  hingga diperoleh bobot tetap [12].

**Pembuatan ekstrak metanol dari daun Afrika**

Proses penyarian simplisia daun Afrika dilakukan dengan teknik ekstraksi panas menggunakan refluks. Simplisia daun Afrika ditempatkan ke dalam labu alas bulat setelah proses penimbangan untuk proses ekstraksi menggunakan pelarut metanol p.a (merck) dimana perbandingan sampel dengan pelarut 1: 10. Direfluks selama 4-5 jam, kemudian disaring untuk memisahkan filtrat dan residu. Proses refluks dilakukan dalam tiga kali siklus pengulangan. Hasil filtratras di tampung dan dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator*. Sisa pelarut dihilangkan melalui proses penguapan menggunakan alat *waterbath* untuk memperoleh ekstrak metanol kental dari daun Afrika [12].

**Pembuatan fraksi dari ekstrak metanol daun Afrika**

Fraksinasi daun Afrika dilakukan dengan teknik ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut yang mempunyai tingkat polaritas bertingkat (n-heksana, kloroform dan etil asetat). Ekstrak metanol daun Afrika dilarutkan dengan metanol (*co-solvent*) dan air. Ekstrak yang telah dilarutkan dituangkan ke dalam corong pemisah dan ditambahkan n-heksana. Kemudian dilakukan pengocokan, campuran dibiarkan hingga terbentuk batas pemisahan yang jelas antara dua lapisan pelarut. Setelah terbentuk batas pemisahan, lapisan n-heksana diambil. Lapisan air dikembalikan ke dalam corong pisah dan dicampurkan pelarut n-heksana, dilakukan secara berulang sampai lapisan n-heksana bening. Setelah lapisan n-heksana bening, fraksinasi dilanjutkan menggunakan kloroform dan etil asetat sesuai dengan tahapan yang sebelumnya. Seluruh pelarut organik dipekatkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator*. Sisa pelarut dihilangkan melalui proses penguapan menggunakan alat *waterbath* untuk memperoleh fraksi n- heksana, kloroform, etil asetat dan fraksi sisa daun Afrika [12,13].

**Uji sitotoksik**

Potensi sitotoksik dari sampel diuji menggunakan metode MTT *assay* terhadap sel kanker serviks, lini sel HeLa. Sel HeLa ditanam pada 96 *well cell culture plate* untuk memperoleh kepadatan sel  $5 \times 10^3$  sel/sumur dan diinkubasi pada temperatur konstan  $37^{\circ}\text{C}$  di dalam inkubator  $\text{CO}_2$  dengan interval waktu 24 jam. Setelah diinkubasi, media kultur diganti kemudian diberikan *treatment* dengan larutan uji berbagai konsentrasi yang telah dilarutkan dengan DMSO (*co-solvent*), diinkubasi selama 48 jam. Kemudian, sel dibilas menggunakan larutan PBS steril. Dilakukan penambahan media kultur dan reagen MTT (5 mg per mL) ke dalam setiap sumur, kemudian dilakukan inkubasi lanjutan selama rentang waktu 4-6 jam. Reaksi enzimatik dihentikan dengan penambahan larutan penghenti berupa campuran SDS 10% dalam medium HCl 0,01 N, kemudian dilakukan pembungkusan dan dibiarkan selama 24 jam. Absorbansi diukur menggunakan alat *microplate reader*. Hasil akhir berupa nilai  $\text{IC}_{50}$  yaitu persentase kadar sampel yang dapat menekan pertumbuhan sebanyak 50% dari populasi awal, yang ditentukan melalui pendekatan analisis probit pada aplikasi IBM SPSS Statistics 22 [8,14,15].

**Analisis mekanisme hambatan siklus sel (*cell cycle*) dan pemacuan apoptosis dengan metode *flow cytometry***

Sel HeLa dengan kepadatan sel  $5 \times 10^3$  sel/sumur dimasukkan ke dalam 6 sumur, diinkubasi dalam rentang waktu 24 jam. Sel diberikan *treatment* dengan larutan uji berbagai seri konsentrasi dan diinkubasi kembali selama interval waktu 48 jam. Sel yang mengapung dan melekat dikumpulkan dengan cara memberikan tripsin EDTA 0,25% kemudian dipindahkan kedalam tabung konikel. Sel dibilas dengan menggunakan PBS 1 mL sebanyak dua kali dan dilakukan sentrifugasi (2500 rpm dengan durasi waktu 5 menit). Supernatan dibuang, sedangkan endapan dikumpulkan dan diresuspensi dalam PBS, kemudian disentrifugasi kembali (3000 rpm dengan durasi waktu 3 menit). Supernatan dibuang, sedangkan endapan ditambahkan larutan pewarna RNase/PI kit (siklus sel), Annexin V + PI (apoptosis) kemudian didiamkan selama 10 menit di tempat gelap pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Kemudian sampel dianalisis dengan menggunakan flow sitometer FACScan. Berdasarkan kandungan DNA dibitung persentase sel

pada setiap fase siklus sel dan persentase apoptosis yang dihitung dengan menggunakan Modfit Lt 3.0.s [8,16].

### 3. HASIL

Karakterisasi simplisia daun Afrika meliputi penetapan kadar air, penentuan persentase sari yang larut dalam air dan etanol, serta pengukuran kadar abu total beserta fraksi abu yang tidak larut dalam asam. Hasil karakterisasi tersebut dapat dilihat pada tabel berikut.

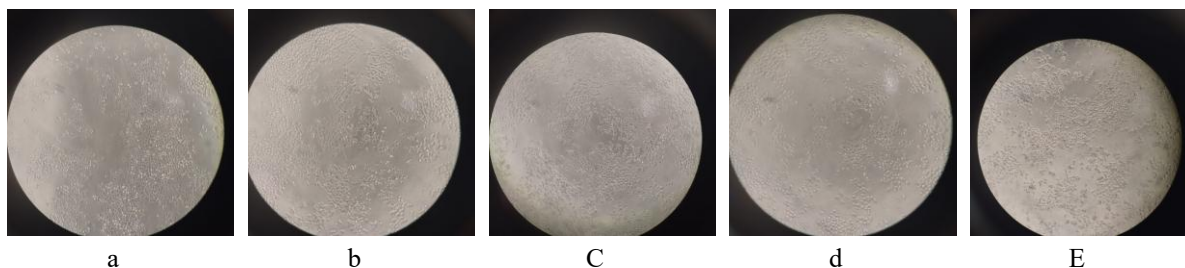
Tabel 1. Hasil karakterisasi simplisia

Parameter	Temuan penelitian	Standar FH II
Kadar air	5,11%	< 10%
Kadar sari larut air	22,69%	> 18,8%
Kadar sari larut etanol	13,47%	> 11,8%
Kadar abu total	9,94%	< 11,5%
Kadar abu tidak larut asam	0,64%	< 0,7%

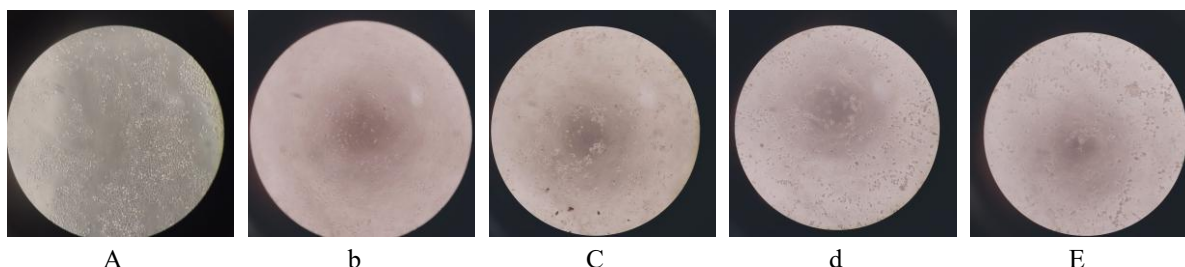
Uji aktivitas antikanker dilakukan terhadap sel HeLa dengan menggunakan kontrol positif cisplatin. Adapun sampel yang diuji yaitu ekstrak metanol, fraksi n-heksana, kloroform, etil asetat dan fraksi sisa daun Afrika. Hasil uji sitotoksik ekstrak metanol dan fraksi dari daun Afrika disajikan secara rinci pada tabel dibawah ini.

Tabel 2. Hasil uji sitotoksik (IC<sub>50</sub>) ekstrak dan fraksi daun Afrika

Nama sampel	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	Aktivitas antikanker
Ekstrak metanol	208,71 ± 8,74	Lemah
Fraksi n-heksana	80,78 ± 1,79	Kuat
Fraksi kloroform	25,45 ± 0,97	Kuat
Fraksi etil asetat	364,73 ± 13,34	Lemah
Fraksi sisa	4163,63 ± 2123,13	Sangat lemah
Cisplatin	7,90 ± 1,13	Sangat kuat



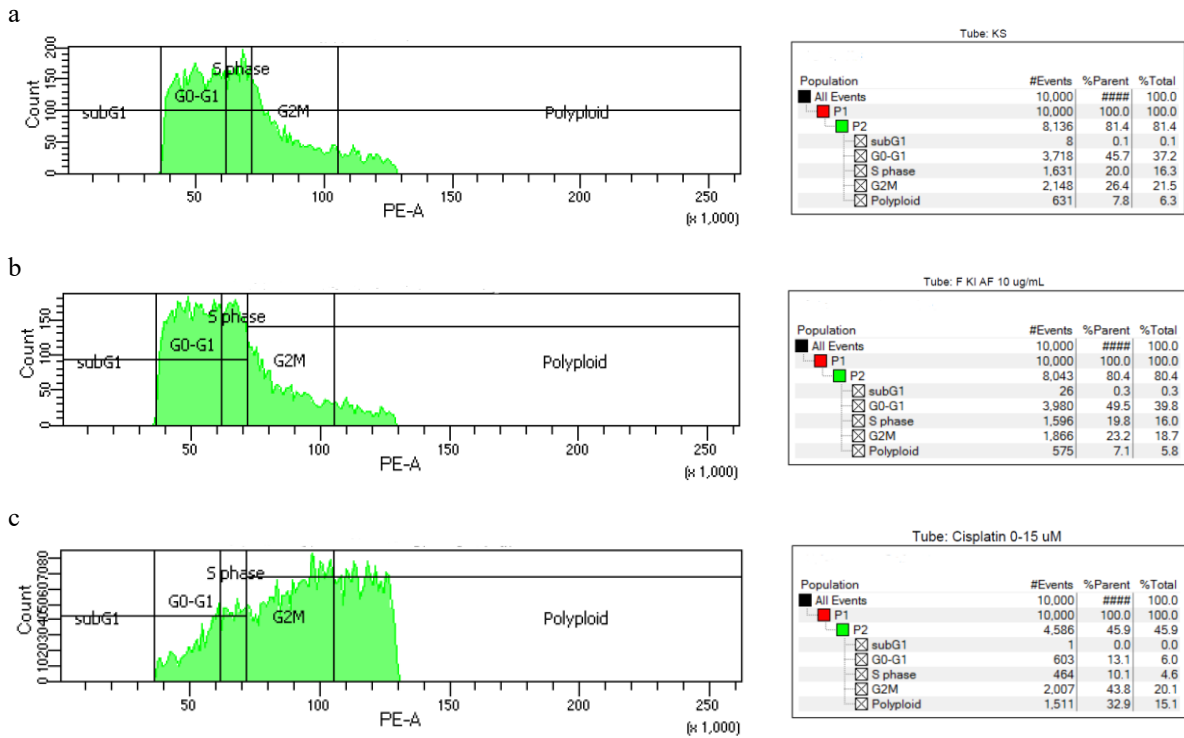
Gambar. 1. Mikroskopis sel HeLa setelah pemberian perlakuan dengan konsentrasi terendah (a) Kontrol sel; (b) Ekstrak metanol; (c) Fraksi n-heksana; (d) Fraksi kloroform; (e) Cisplatin



Gambar. 2. Mikroskopis sel HeLa setelah pemberian perlakuan dengan konsentrasi tertinggi (a) Kontrol sel; (b) Ekstrak metanol; (c) Fraksi n-heksana; (d) Fraksi kloroform; (e) Cisplatin

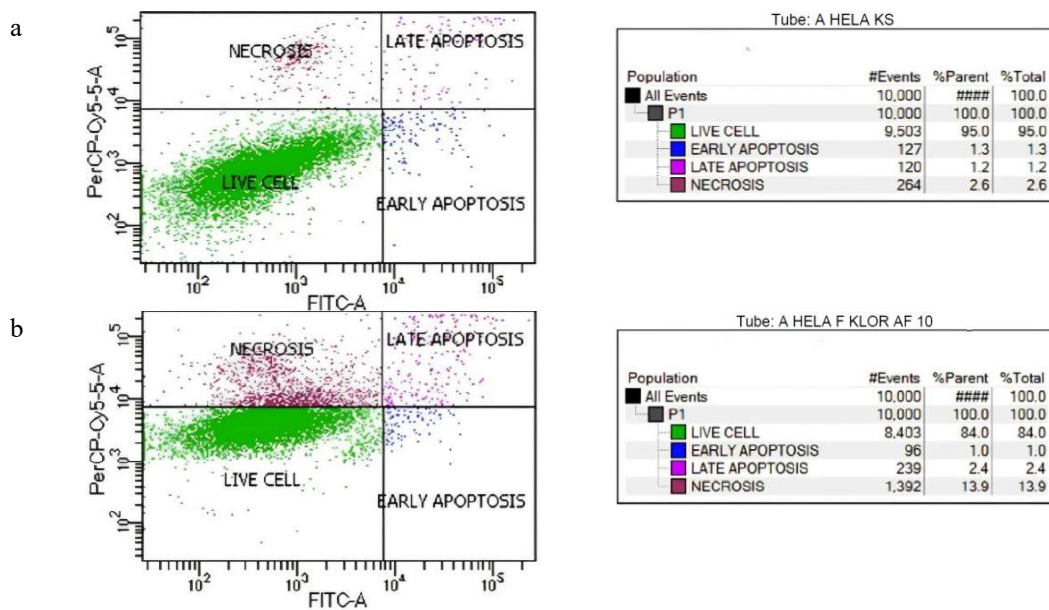
Fraksi kloroform daun Afrika dilakukan pengujian lanjutan, yaitu uji siklus sel. Pengujian siklus sel HeLa menggunakan *flow cytometry* yang kemudian dianalisis menggunakan program *cell quest* sehingga menunjukkan

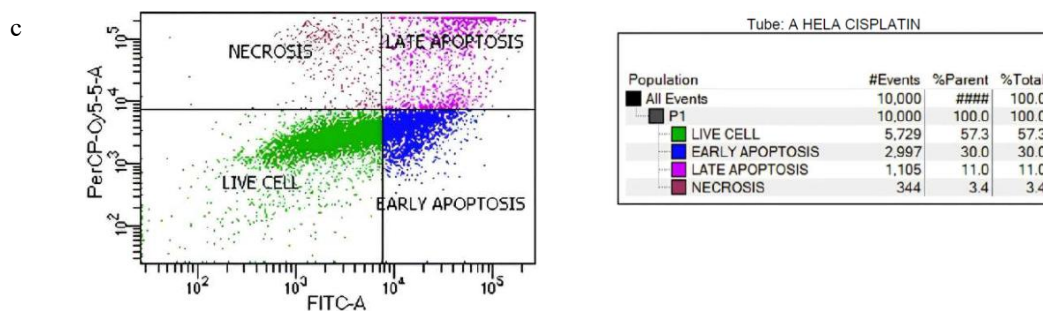
persentase akumulasi sel pada setiap fase dalam tahapan siklus sel. Persentase akumulasi sel pada setiap fase dalam tahapan siklus sel dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar. 3. Analisis *flow cytometry* siklus sel HeLa (a) Kontrol sel; (b) Fraksi kloroform; (c) Cisplatin

Pengujian apoptosis sel HeLa menggunakan *flow cytometry* yang kemudian dianalisis menggunakan program *cell quest* sehingga menunjukkan persentase sel hidup, apoptosis dan nekrosis, yang dapat dilihat pada gambar berikut.





Gambar. 4. Analisis *flow cytometry* apoptosis sel HeLa (a) Kontrol sel; (b) Fraksi kloroform; (c) Cisplatin

#### 4. PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, karakteristik simplisia daun Afrika diperiksa terlebih dahulu untuk menjamin kualitas sampel sebelum dilakukan proses ekstraksi. Adapun tujuan dilakukan pemeriksaan karakteristik simplisia adalah untuk menjamin mutu bahwa simplisia yang digunakan telah sesuai dengan standar [17]. Berdasarkan hasil karakterisasi simplisia daun Afrika, diperoleh kadar air sebesar 5,11%. Berdasarkan FHI (2017), persyaratan kadar air untuk simplisia kering adalah dibawah 10% (<10%) [12]. Tingkat kadar air simplisia berkaitan dengan kemurnian ekstrak yang akan diperoleh, semakin tinggi persentase kadar air simplisia maka semakin besar risiko kontaminasi biologis oleh bakteri maupun jamur [18]. Penetapan persentase sari yang larut dalam air simplisia daun Afrika diperoleh sebesar 22,69% dan persentase sari yang larut dalam etanol sebesar 13,47%, dimana kadar sari tersebut memenuhi syarat FHI (2017) yaitu kadar sari larut air >18,8% dan kadar sari larut etanol > 11,8% [12]. Tingginya persentase sari yang larut dalam air pada simplisia daun Afrika dibandingkan dengan persentase sari yang larut dalam etanolnya menunjukkan bahwa kadar senyawa polar lebih tinggi dibandingkan dengan kadar senyawa yang kurang polar [19]. Kadar abu total simplisia daun Afrika diperoleh sebesar 9,94% sedangkan kadar abu yang tidak larut dalam asam sebesar 0,64%, dimana kadar abu tersebut memenuhi syarat FHI (2017) yaitu kadar abu total dibawah 11,5% dan kadar abu yang tidak larut dalam asam dibawah 0,7% [12]. Hal tersebut mengindikasikan bahwa simplisia daun Afrika memiliki komponen anorganik dan mineral dalam konsentrasi rendah, yang mengindikasikan tingkat kemurnian sampel yang baik [19–21].

Pengujian aktivitas antikanker ekstrak metanol dan fraksi daun Afrika terhadap lini sel HeLa melalui teknik kolorimetri MTT. Metode ini memanfaatkan garam tetrazolium (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide). Uji sitotoksik merupakan pengujian aktivitas sitotoksik paling umum dilakukan untuk memprediksi toksisitas suatu zat terhadap jaringan atau sel berdasarkan nilai IC<sub>50</sub>. Metode MTT assay sederhana, memiliki reabilitas yang tinggi, serta mudah dilakukan pada berbagai model lini sel kanker, salah satunya sel kanker serviks HeLa. Prinsip pengujian ini didasarkan pada reaksi kolorimetri dimana aktivitas enzim dehidrogenase pada sel hidup akan mereduksi garam MTT dan mengubahnya menjadi endapan kristal formazan atau secara kimiawi disebut (E-Z)-5-(4-5-dimethylthiazol-2-yl)-1,3-diphenylformazan yang memiliki warna biru keunguan dan tidak larut air yang menunjukkan jumlah sel yang hidup [22]. Suatu senyawa memiliki efek antikanker apabila memiliki kemampuan menyebabkan kematian sel kanker. Hal ini dapat diukur dan ditentukan melalui uji sitotoksik senyawa pada kultur sel. Parameter yang digunakan yaitu nilai IC<sub>50</sub> yang menunjukkan persentase kadar senyawa yang dibutuhkan untuk menekan pertumbuhan populasi sel kanker hingga 50% dari kondisi awal. Aktivitas sitotoksik suatu senyawa berbanding terbalik dengan nilai IC<sub>50</sub> yang dihasilkan, dimana semakin rendah nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan potensi sitotoksik yang semakin kuat terhadap sel kanker [23].

Dalam penelitian ini, sampel uji dibuat sebanyak lima variasi konsentrasi yaitu dari 500 µg/mL hingga 31,25 µg/mL dengan faktor pengenceran dua kali [7], sedangkan pembanding cisplatin dibuat pada tingkat konsentrasi 1 µg/mL hingga 0,0625 µg/mL [24]. Berdasarkan uji sitotoksik yang dilakukan, fraksi kloroform merupakan komponen paling aktif terhadap sel HeLa (IC<sub>50</sub> = 25,45 ± 0,97 µg/mL), disusul oleh fraksi n-heksana (IC<sub>50</sub> = 80,78 ± 1,79 µg/mL, ekstrak metanol (IC<sub>50</sub> = 208,71 ± 8,74 µg/mL), fraksi etil asetat (IC<sub>50</sub> = 364,73 ± 13,34 µg/mL) dan fraksi sisa (IC<sub>50</sub> = 4163,63 ± 2123,13 µg/mL), dimana nilai IC<sub>50</sub> pembanding cisplatin sebesar 7,90 ± 1,13 µg/mL. Potensi penghambatan sel kanker dibagi menjadi empat tingkatan berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> yaitu sangat kuat (<20 µg/mL), kuat (20-100 µg/mL), lemah (100-1000 µg/mL) dan sangat lemah (>1000 µg/mL) [25]. Maka berdasarkan

hasil uji, fraksi kloroform memiliki aktivitas sitotoksik kuat dan cisplatin sebagai pembanding memiliki aktivitas sitotoksik sangat kuat. Berdasarkan hasil pengamatan sel di bawah mikroskop inverted, morfologi sel HeLa tampak berubah secara signifikan setelah perlakuan fraksi kloroform, ekstrak metanol dan fraksi n-heksana. Sel yang diberi perlakuan terjadi perubahan morfologi signifikan yang ditandai dengan pengerutan sel, perubahan bentuk menjadi bulat dan pelepasan sel dari permukaan; sedangkan pada kontrol sel, sel tampak sehat dengan morfologi berbentuk gelendong (*spindle-shaped*) dan melekat kuat pada substrat [9].

Pengaruh senyawa uji terhadap siklus sel diselidiki dengan *flow cytometry* setelah diinkubasi selama 48 jam. Hasil analisis siklus sel menunjukkan bahwa perlakuan fraksi kloroform berdampak pada perkembangan siklus sel HeLa. Peningkatan populasi sel HeLa pada fase G0-G1 sedikit meningkat daripada sel normal (kontrol sel). Hal ini menunjukkan bahwa fraksi kloroform dapat menekan laju proliferasi lini sel HeLa di fase G0-G1. Peningkatan sebesar 3,8 % ini menunjukkan bahwa fraksi kloroform daun Afrika memberikan efek G1 *arrest*. Senyawa dalam fraksi kloroform menghambat sel HeLa untuk masuk ke fase S (sintesis DNA). Sel tertahan di fase persiapan, sehingga proses penggandaan materi genetik sel terhambat. Hasil siklus sel ini mengindikasikan bahwa fraksi kloroform daun Afrika berpotensi sebagai agen antikanker melalui jalur penghambatan siklus sel [26].

Hasil uji apoptosis sel, menunjukkan bahwa pada kontrol sel mayoritas sel dalam kondisi sehat dengan persentase sel hidup 95%. Hasil ini menunjukkan bahwa tanpa perlakuan, sel HeLa memiliki viabilitas yang sangat tinggi dan tingkat kematian sel alami sangat minimal. Perlakuan dengan fraksi kloroform menunjukkan bahwa terjadi penurunan sel hidup menjadi 84%, terjadi peningkatan signifikan pada nekrosis menjadi 13,9% sementara total sel yang mengalami apoptosis akhir sebesar 3,4%. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi kloroform cenderung bersifat toksik yang dapat memicu kerusakan membran sel secara tidak langsung (nekrosis) daripada memicu jalur kematian sel yang terprogram. Sementara pada kontrol positif cisplatin, sel hidup menurun signifikan hingga 57,3% dan apoptosis awal meningkat menjadi 30% sedangkan apoptosis akhir meningkat menjadi 11%. Berdasarkan hasil penelitian, fraksi kloroform memiliki potensi sitotoksik terhadap sel HeLa, namun mekanismenya didominasi oleh jalur nekrosis (13,9%) daripada jalur apoptosis (3,4%) [26,27].

Fraksi kloroform terbukti yang paling efektif dalam penghambatan pertumbuhan lini sel kanker serviks HeLa dibandingkan dengan ekstrak metanol dan fraksi dari daun Afrika lainnya. Keunggulan fraksi kloroform ini berkaitan erat dengan tingkat selektivitas pelarut kloroform yang memiliki sifat semi-polar. Pelarut ini secara selektif mampu menarik senyawa metabolit sekunder semi-polar yang memiliki potensi antikanker dari dalam ekstrak metanol daun Afrika. Ditinjau dari kandungan kimianya, efektivitas fraksi ini didorong oleh keberadaan senyawa terpenoid aktif, terutama senyawa seskuiterpen lakton, yang dikenal memiliki efek terapeutik terhadap kanker. Selain seskuiterpen lakton, keberadaan metabolit sekunder lain seperti flavonoid, saponin dan glikosida steroid juga berkontribusi pada aktivitas sitotoksik secara keseluruhan dengan cara mengganggu integritas sel kanker [7,8].

## 5. KESIMPULAN

Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) menunjukkan bioaktivitas sebagai agen antikanker dalam menghambat laju pertumbuhan sel kanker serviks HeLa secara *in vitro*. Hasil uji aktivitas sitotoksik mengonfirmasi adanya aktivitas sitotoksik pada ekstrak metanol dan fraksi dari daun Afrika ( $IC_{50}$  rentang 25,45 – 4163,63  $\mu\text{g/mL}$ ), dimana aktivitas sitotoksik terkuat pada fraksi kloroform dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $25,45 \pm 0,97 \mu\text{g/mL}$  yang dikategorikan dalam tingkat aktivitas sitotoksik kuat. Mekanisme kerja fraksi kloroform yaitu dengan menghambat proliferasi sel pada fase G0-G1 (G1 *arrest*) serta meningkatkan kematian sel, meskipun mekanismenya lebih didominasi oleh jalur nekrosis (13,9%) dibandingkan jalur apoptosis (3,4%). Studi lanjutan sangat diperlukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa murni dari fraksi kloroform daun Afrika.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah berkontribusi memberikan dukungan, bantuan dan bimbingan selama proses penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Weinberg, Robert A. *The Biology of Cancer*. New York: Garland Science, Taylor & Francis Group, LCC; 2014. 31–32 p.
- [2] Sung H, Ferlay J, Ervik M, Lam F, Laversanne, M Colombet M, Mery L, et al. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. 2024. *Global Cancer Observatory: Cancer Today*. Available from: <https://gco.iarc.who.int/today>
- [3] Kemenkes RI. *Rencana kanker nasional 2024-2034 Strategi Indonesia dalam Upaya Melawan Kanker*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2024. 93–94 p.
- [4] Digambiro RA, Parwanto E. *Prinsip Terapi Kanker*. Jakarta: Penerbit Underline; 2024. 20–21 p.
- [5] Alang H, Hastuti, Yusal MS. Investarisasi Tumbuhan Obat Sebagai Upaya Swamedikasi Oleh Masyarakat Suku Tolaki Desa Puundoho, Kabupaten Kolaka Utara, Sulawesi Tenggara. *J Ilm Farm*. 2021;17(1):20.
- [6] Degu S, Meresa A, Animaw Z, Jegnie M, Asfaw A, Tegegn G. *Vernonia amygdalina*: a Comprehensive Review of the Nutritional Makeup, Traditional Medicinal Use, and Pharmacology of Isolated Phytochemicals and Compounds. *Front Nat Prod*. 2024;3(1):2,12-14.
- [7] Hapsari NP, Rahmawati DR, Nugraheni N, Hanifa M, Satria D, Zaitun PA. Africa Leaf (*Vernonia amygdalina* Delille.) DCM Extract Synergistically Supports Growth Suppression Effect of Doxorubicin on MCF7 and MCF7 / HER2 with Different Effects on Cell Cycle Progression and Apoptosis Evidence. *J Appl Pharm Sci*. 2024;14(07):76.
- [8] Hasibuan APAZ, Sitorus RUA, Hermawan A, Huda F, Waruwu SB, 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):2,7.
- [9] Samutrtai P, Yingchutrakul Y, Faikhruea K, Vilaivan T. *Vernonia amygdalina* Leaf Extract Induces Apoptosis in HeLa Cells : A Metabolomics and Proteomics Study. *Pharmaceuticals*. 2024;17(1079):12.
- [10] Dejene M, Dekebo A, Jemal K, Murthy HCA. Green Chemistry Letters and Reviews Phytochemical Screening and Evaluation of *Otostegia integrifolia* and *Salvia rosmarinus*. *Green Chem Lett Rev* [Internet]. 2025;18(1):12. Available from: <https://doi.org/10.1080/17518253.2024.2438069>
- [11] Chatri M, Hasibuan PAZ, Meiyanto E, Putra DP, Septisetyani EP, 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.
- [12] Kemenkes RI. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2017. 531 p.
- [13] Luo X, Jiang Y, Fronczek FR, Lin C, Izevbigie EB, Lee KS. Isolation and Structure Determination of a Sesquiterpene Lactone (Vernodalinol) from *Vernonia amygdalina* Extracts. *Pharm Biol*. 2011;49(5):464–70.
- [14] Amrullah F. Sitotoksitas Ekstrak n-Heksane Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* Linn.) Pada Sel HeLa (Studi Eksperimental Invitro pada Kultur Sel HeLa Kanker Serviks). Universitas Islam Sultan Agung; 2021.
- [15] CCRC (Cancer Chemoprevention Research Centre). *Uji Sitotoksik Metode MTT*. Yogyakarta: Cancer Chemoprevention Research Centre; 2012. 1–7 p.
- [16] Dalimunthe NK, Astuti DW. Implementasi Interprofesional Education Terhadap Penyakit Hipertensi dan Diabetes Melitus di Kabupaten Pesawaran, Lampung. *J Mandala Pengabdian Masyarakat*. 2022;3(2):64–71.
- [17] Suhendy H, Alif A, Rahmiyani I. Korelasi Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Terhadap Aktivitas

- Antioksidan Beberapa Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Delile .) Menggunakan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) Correlation of Total Phenolic and Flavonoid Content Againsts A. *Med Sains J Ilm Kefarmasian*. 2022;7(2):225–36.
- [18] Situmorang NB. Uji Efektivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Bangun-bangun (*Coleus amboinicus*) Terhadap Jamur *Candida albicans*. *J Farm*. 2022;4(2).
- [19] Putri IE, Sayfnir L, Mulkiya K. Pengaruh Tempat Tumbuh Terhadap Parameter Mutu Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Gymnanthemum amygdalinum* (Delile) Sch.Bip.) yang Tumbuh di Kabupaten Bandung dan Kota Samarinda. *Bandung Conf Ser Pharm*. 2023;3(2):92.
- [20] Lika LCR, Liandhajani. Formulasi Gel Sabun Wajah dari Ekstrak Kulit Jeruk Kalamansi (*Citrus microcarpa*) Sebagai Antioksidan untuk Perawatan Kulit Wajah. *J Farm*. 2025;8(1):80–90.
- [21] Hita IPGAP, Setiawan PYB, Anggarini NPD, Wintariani NP. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kenanga (*Cananga odorata* (Lam.) Hook.F. & Thomson) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* dan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. *J Farm*. 2025;1(1):122–30.
- [22] Achmad AB. In Vitro Cytotoxic Test of Red Okra (*Abelmoschus esculentus*) Fruit Ethanolic Extract on HeLa Cells. *J Appl Vet Sci Technol*. 2022;03(2022):22–6.
- [23] Widiandani T, Tandian T, Zufar BD, Suryadi A, Purwanto BT, Hardjono S. In Vitro Study of Pinostrobin Propionate and Pinostrobin Butyrate: Cytotoxic Activity Against Breast Cancer Cell T47D and its Selectivity Index. *J Public Health Africa*. 2023;14(s1):97–102.
- [24] Tchounwou PB, Dasari S, Noubissi, Felicite K, Ray P, Kumar S. Advances in Our Understanding of the Molecular Mechanisms of Action of Cisplatin in Cancer Therapy. *J Exp Pharmacol*. 2021;13(2021):303–28.
- [25] Hidayati DN, Safitri IE, Surayya A, Alviani DL, Putri MNA. Cytotoxic: Activity and Apoptosis by Extract and Ethyl Acetate Fraction of *Hibiscus tiliaceus* Linn in 4T1 Cell Line. *J Kefarmasian Indones*. 2024;14(1):32–8.
- [26] Nagy V, Mounir R, Szebeni GJ, Szakonyi Z, Gemes N, Minorics R, et al. Investigation of Anticancer Properties of Monoterpene-Aminopyrimidine Hybrids on A2780 Ovarian Cancer Cells. *Int J Mol Sci*. 2023;24(2023):1–17.
- [27] Bawadud RS, Alkhatib MH. Growth and Invasion Inhibition of T47D Ductal Carcinoma Cells by the Association of Docetaxel with a Bioactive Agent in Neutral Nanosuspension. *BioImpacts* [Internet]. 2023;13(2):145–57. Available from: <https://doi.org/10.34172/bi.2023.23515>