

**UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH
(*Piper crocatum* Ruiz & Pav) DAN PENGARUHNYA TERHADAP
EKSPRESI CASPASE-3 PADA KULTUR SEL
KANKER HATI (*HepG2*)**



Oleh:

Muhammad Risky Hermawan

21154523A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

**UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH
(*Piper crocatum* Ruiz & Pav) DAN PENGARUHNYA TERHADAP
EKSPRESI CASPASE-3 PADA KULTUR SEL
KANKER HATI (*HepG2*)**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Muhammad Risky Hermawan
21154523A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2019**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

**UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH
(*Piper crocatum* Ruiz & Pav) DAN PENGARUHNYA TERHADAP
EKSPRESI CASPASE-3 PADA KULTUR SEL
KANKER HATI (*HepG2*)**

Oleh :

Muhammad Risky Hermawan
21154523A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 10 April 2019

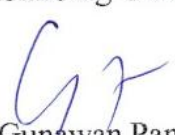
Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan

Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing Utama,

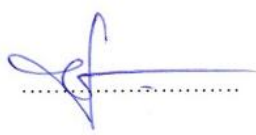
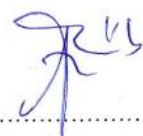
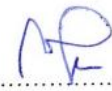


Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping


Ghani Nurfiana F.S., M.Farm., Apt

Penguji :

1. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt
2. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt
3. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt
4. Dr. Gunawan Pamudji W., M.Si., Apt


.....

.....

.....

.....

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum

Surakarta, 10 April 2019



Muhammad Risky Hermawan

HALAMAN PERSEMBAHAN

Ilmu itu lebih baik daripada harta. Ilmu akan menjaga engkau dan engkau menjaga harta. Jika harta itu akan berkurang apabila dibelanjakan, tetapi ilmu akan bertambah apabila dibelanjakan.

(Sayyidina Ali bin Abi Thalib)

~Khalifah Islam 599-661 M~

Menuntut ilmu adalah ketaqwaan, menyampaikan ilmu adalah suatu ibadah, mengulang-ulang ilmu adalah suatu zikir, dan mencari ilmu adalah suatu jihad di

jalan Allah SWT

(Abu Hamid Al Ghazali)

~Filsuf dari Persia 1058-1111 M~

Dengan cinta, yang pahit menjadi manis. Dengan cinta, keruh menjadi jernih. Dengan cinta, yang mati menjadi hidup. Dan cinta dapat tumbuh di dalam jiwa

karena adanya ilmu

(Jalaluddin Rumi)

~Penyair sufi dan Teologi dari Persia 1207-1273 M~

Skripsi ini kupersembahkan untuk Ayah & Ibu tercinta, seluruh keluargaku tersayang, kekasihku dan juga sahabat-sahabatku yang selalu memberikan dukungan serta doa dalam setiap langkahku mencapai kesuksesan.

Dan skripsi ini kupersembahkan untuk nusa dan bangsa

sebagai wujud baktiku untuk

INDONESIAKU

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat, kasih dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) dari Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Skripsi ini berjudul **“Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Dan Pengaruhnya Terhadap Ekspresi Caspase-3 Pada Kultur Sel Kanker Hati (*HepG2*)”** dengan harapan dapat memberikan sumbangan terhadap kemajuan dunia pendidikan, khususnya di bidang farmasi.

Berkat dorongan, bimbingan dan bantuan berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bpk. Dr. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Ibu Prof. Dr. R.A Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Bpk. Dr. Gunawan Pamudji W, M.Si., Apt., selaku pembimbing utama yang telah menuntun dan memberi pengarahan serta semangat dalam penyusunan skripsi.
4. Ibu Ghani Nurfiana F.S, M.Farm., Apt., selaku pembimbing pendamping yang telah menuntun dan memberi pengarahan serta semangat dalam penyusunan skripsi.
5. Kepada para dosen, saya ucapkan terima kasih yang paling dalam atas ilmu berharga yang telah bapak dan ibu berikan selama ini.
6. Kepada seluruh jajaran civitas akademika Universitas Setia Budi khususnya kepada Bu Chinta Prihanti dan Pak Edy Sutikno yang telah banyak membantu dalam kelancaran praktikum penelitian ini.
7. Kepada seluruh jajaran civitas Departemen Parasitologi UGM dan lembaga Cancer Chemoprevention Research Center UGM khususnya kepada Bpk. Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., Ph.D., Sp.Park selaku supervisor penelitian saya dan kepada Bu Suprihatin, MBA selaku teknisi dalam

penelitian, saya ucapkan terima kasih atas ketersediaanya dalam menerima, menasehati, dan membantu dalam praktikum.

8. Kepada Ayah dan Ibuku, seluruh keluargaku yang selalu memberikan dukungan, doa dan restu dalam setiap usahaku selama ini.
9. Kepada kekasihku Nendika Tyas Wandani yang selalu meluangkan waktu untuk selalu menemaniku dalam hari-hari penelitianku dan juga sudah mau mendengarkan seluruh keluh dan kesahku selama penelitian ini.
10. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu. Semua ini merupakan anugerah dan pengalaman yang tidak dapat terlupakan.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak. Semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas semua bantuan yang telah diiberikan dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan dan kemajuan bidang farmasi serta untuk nusa dan bangsa Indonesia.

Surakarta, 10 April 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tanaman Sirih Merah	4
1. Klasifikasi tanaman	4
2. Nama daerah	4
3. Morfologi tanaman	4
4. Kandungan kimia tanaman daun sirih merah	5
5. Khasiat tanaman daun sirih merah	5
B. Simplisia	6
1. Sortasi basah	6
2. Pencucian simplisia	6
3. Pengeringan simplisia	7
4. Sortasi kering	7
C. Metode Penyarian	7

1. Ekstraksi	7
2. Maserasi	7
3. Pelarut Penyari.....	8
3.1 Pelarut.	8
3.2 Air.	8
3.3 Etanol.	8
3.4 Etanol-Air.....	8
D. Penyakit Kanker.....	9
1. Definisi kanker	9
2. Sifat Kanker.....	9
E. Kanker Hati.....	10
F. Terapi Kanker Hati.....	11
1. Penatalaksanaan secara bedah	11
2. Penatalaksanaan secara non bedah.....	11
2.1 <i>Percutaneous ethanol injection</i> (PEI).....	11
2.2 Transarterial Cemoembolism (TACE).....	11
2.3 Kemoterapi sistemik	12
G. Uji Sitotoksitas	12
H. Metode MTT.....	13
I. Uji Indeks Selektivitas.....	14
J. Sel Vero	14
K. Uji Imunositokimia	15
L. Apoptosis	15
M. Landasan Teori.....	17
N. Hipotesis	18
BAB III METODE PENELITIAN.....	19
A. Populasi dan Sampel	19
B. Variabel Penelitian.....	19
1. Identifikasi variabel utama	19
2. Klasifikasi operasional variabel utama	19
3. Definisi operasional variabel utama.....	20
C. Bahan dan Alat.....	21
1. Bahan	21
2. Alat.....	21
D. Jalannya Penelitian.....	22
1. Determinasi tanaman sirih merah	22
2. Pengumpulan, pengeringan bahan dan pembuatan serbuk.....	22
3. Penetapan kandungan lembab	22
4. Pembuatan ekstrak etanol.....	22
5. Uji kadar air ekstrak.....	23
6. Uji fitokimia	23
6.1 Identifikasi flavonoid	23
6.2 Identifikasi alkaloid	24
6.3 Identifikasi saponin.....	24
6.4 Identifikasi tanin	24

6.5	Identifikasi minyak atsiri	Error! Bookmark not defined.
6.6	Identifikasi triterpenoid	24
7.	Uji sitotoksik	24
7.1	Sterilisasi alat.....	24
7.2	Pembuatan media stok (DMEM) dan media penumbuh HepG2.....	24
7.3	Pembuatan media stok (M199) dan media penumbuh sel vero.....	25
7.4	Pembuatan larutan uji	25
8.	Preparasi sel.....	25
8.1	Pengaktifan sel HepG2.....	25
8.2	Pengaktifan sel vero.....	26
8.3	Panen dan perhitungan sel.....	26
9.	Uji Indeks Selektivitas	28
10.	Uji Imunositokimia	28
E.	Analisa Data.....	29
1.	Uji sitotoksik	29
2.	Indeks selektivitas.....	30
3.	Uji Imunositokimia	30
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	31
1.	Determinasi dan Identifikasi Tanaman	31
2.	Pengmpulan simplisia, pengeringan simplisia, dan pembuatan ekstrak	31
3.	Hasil penetapan kandungan lembab pada serbuk daun sirih merah.....	32
4.	Pembuatan ekstrak etanol 70% daun sirih merah	32
5.	Uji kadar air	33
6.	Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol daun sirih merah	34
7.	Uji sitotoksik ekstrak daun sirih merah dengan metode MTT assay.....	34
8.	Uji indeks selektivitas ekstrak etanol daun sirih merah.....	39
9.	Uji imunositokimia ekstrak etanol daun sirih merah	40
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	44
A.	Kesimpulan.....	44
B.	Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	49

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman daun sirih merah.....	4
Gambar 2. Reaksi Reduksi MTT <i>assay</i>	13
Gambar 3. Mekanisme apoptosis	16
Gambar 4. Hemositometer	26
Gambar 5. Morfologi sel HepG2 pada perbesaran 400x setelah pemberian tripsin 0,1 %	36
Gambar 6. Grafik hubungan % viabilitas sel dengan konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah.....	37
Gambar 7. Morfologi sel HepG2 pada perbesaran 400x setelah pemberian ekstrak.....	39
Gambar 8. Jalur apoptosi sel	41
Gambar 9. Mikroskopis imunositokimia caspase-3 pada sel HepG2.....	43

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Rendemen berat daun kering terhadap berat daun basah	31
Tabel 2. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk daun sirih merah	32
Tabel 3. Hasil penetapan kandungan lembab daun sirih merah	32
Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak etanol daun sirih merah	33
Tabel 5. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak etanol daun sirih merah	33
Tabel 6. Hasil kadar air ekstrak daun sirih merah	34
Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa ekstrak etanol daun sirih merah .	34
Tabel 8. % Ekspresi Caspase-3	42

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat ethical clearance	50
Lampiran 2. Surat keterangan hasil determinasi	51
Lampiran 3. Daun sirih merah segar, daun kering, dan hasil serbuk.....	52
Lampiran 4. Perhitungan rendemen daun kering dan ekstrak etanol daun sirih merah	53
Lampiran 5. Hasil identifikasi kandungan senyawa	54
Lampiran 6. Pola <i>microplate</i> uji MTT	56
Lampiran 7. Perhitungan volume panen sel	57
Lampiran 8. Perhitungan pembuatan larutan stok dan seri konsentrasi.....	58
Lampiran 9. Degradasi warna setelah pemberian ekstrak, setelah pemberian MTT dan setelah pemberian SDS	60
Lampiran 10. Gambar kristal formazan pada sel HepG2.....	62
Lampiran 11. Gambar kristal formazan pada sel vero	64
Lampiran 12. Perhitungan IC ₅₀ ekstrak etanol daun sirih merah	66
Lampiran 13. Perhitungan nilai Indeks Selektivitas ekstrak etanol daun sirih merah.....	74
Lampiran 14. Hasil perhitungan ekspresi caspase-3.....	75

DAFTAR SINGKATAN

B2P2TOOT	: <i>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional</i>
IC ₅₀	: <i>Inhibitory Concentration 50%</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
DMSO	: <i>Dimetil sulfoksida</i>
MTT	: <i>Microculture Tetrazolium Technique</i>
SDS	: <i>Sodium Dodecyl Sulphate</i>
DMEM	: <i>Dulbeccos Modified Eagle Medium</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
HEPES	: <i>(4-(2-hydroxyethyl)-1piperazinethanesulfonic acid)</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
FADD	: <i>Fas receptor Associated Death Domain</i>
DISC	: <i>Death Inducing Signaling Complex</i>
BAK	: <i>BCL-2 homologous Antagonist Killer</i>
BAD	: <i>BCL-2 Associated Death Promotor</i>
BCL-2	: <i>B-Cell Lymphoma 2</i>
FasL	: <i>FasLigand</i>

INTISARI

HERMAWAN, R.M., 2019, UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) DAN PENGARUHNYA TERHADAP EKSPRESI CASPASE-3 PADA KULTUR SEL KANKER HATI (*HepG2*).

Sirih merah merupakan salah satu tanaman yang banyak diteliti karena secara empiris memiliki khasiat menyembuhkan berbagai penyakit dan terbukti secara ilmiah sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik, selektivitas, dan imunositokimia ekstrak etanol daun sirih merah terhadap kultur sel kanker hati (*HepG2*).

Penelitian ini meliputi ekstraksi daun sirih merah menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Uji sitotoksik ekstrak etanol daun sirih merah dilakukan dengan metode MTT menggunakan seri konsentrasi (2000; 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,2; 15,6) $\mu\text{g/ml}$ dan dihitung nilai IC_{50} menggunakan regresi linier. Indeks selektivitas untuk menentukan selektivitas sitotoksik diketahui dengan menghitung antara nilai IC_{50} sel vero berbanding dengan nilai IC_{50} sel *HepG2*. Reaksi imunositokimia untuk mengetahui ekspresi protein Caspase-3 pada jalur apoptosis sel kanker dilakukan dengan menggunakan seri konsentrasi IC_{50} (2000 $\mu\text{g/ml}$), $\frac{1}{2}\text{IC}_{50}$ (1000 $\mu\text{g/ml}$), dan $\frac{1}{4}\text{IC}_{50}$ (500 $\mu\text{g/ml}$) dan dihitung persentase ekspresi sel pada masing-masing konsentrasi.

Hasil uji sitotoksik ekstrak etanol daun sirih merah menunjukkan aktivitas yang kurang poten terhadap sel *HepG2* dengan nilai IC_{50} 443,250 $\mu\text{g/ml}$, tetapi memiliki selektivitas sitotoksik yang tinggi dengan nilai indeks selektivitas 3,323. Pada uji imunositokimia ekstrak etanol daun sirih merah mampu meningkatkan ekspresi caspase-3 untuk menginduksi proses apoptosis sel kanker.

Kata kunci : Daun sirih merah, sitotoksik, sel *HepG2*, Caspase-3, IC_{50}

ABSTRACT

HERMAWAN, R.M., 2019, CYTOTOXICITY TEST OF RED BETEL LEAF (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) ETHANOL EXTRACT AND ITS EFFECT ON CASPASE-3 EXPRESSION IN LIVER CANCER CELL CULTURE (*HepG2*).

Red Betel is one of the plants that has been widely studied because it empirically has the properties of curing various diseases and is scientifically proven as an anticancer. This study aimed to determine the cytotoxic activity, selectivity, and immunocytochemistry of red betel leaf ethanol extract against liver cancer cell culture (*HepG2*).

This study included extraction of red betel leaf using maceration method with 70% ethanol. Cytotoxic test of red betel leaf ethanol extract was carried out by MTT method using concentration series (2000; 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,2; 15,6) $\mu\text{g} / \text{ml}$ and IC_{50} values were calculated using linear regression. The selectivity index to determine cytotoxic selectivity is known by calculating between the IC_{50} values of vero cells compared with the IC_{50} value of HepG2 cells. Immunocytochemical reactions to determine the expression of Caspase-3 protein in the cancer cell apoptosis pathway were carried out using a series of IC_{50} concentrations (2000 $\mu\text{g} / \text{ml}$), $\frac{1}{2}\text{IC}_{50}$ (1000 $\mu\text{g} / \text{ml}$), and $\frac{1}{4}\text{IC}_{50}$ (500 $\mu\text{g} / \text{ml}$) and calculated percentage of cell expression in each -one concentration.

Cytotoxic test results of red betel leaf ethanol extract showed less potent activity on HepG2 cells with IC_{50} value 443,250 $\mu\text{g} / \text{ml}$, but had high cytotoxic selectivity with selectivity index value 3,323. In the immunocytochemistry test the red betel leaf ethanol extract was able to increase the expression of caspase-3 to induce cancer cell apoptosis.

Keywords : Red betel leaf, cytotoxic, HepG2 cell, Caspase-3, IC_{50}

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian terbesar kedua di dunia dan jumlahnya semakin meningkat setiap tahunnya. Salah satu jenis penyakit kanker yang kian meningkat kasusnya di dunia dan khususnya di Indonesia adalah penyakit kanker hati. Peningkatan ini diperkirakan terkait dengan peningkatan penularan virus hepatitis B dan C. Proses penyembuhan dengan pengobatan kemoterapi dan obat-obatan sintetik secara umum masih belum memberikan hasil yang memuaskan, karena obat-obatan tersebut bersifat tidak selektif sehingga menimbulkan efek samping kepada sel normal (Susi *et al.* 2009).

Berdasarkan data dari *International Agency for Research on Cancer* (IARC), pada tahun 2012 diketahui bahwa terdapat 14.067.894 kasus terbaru tentang kanker dan 8.201.575 kematian akibat kanker di seluruh dunia. Kanker hati memiliki persentase 9,5 % dari penyebab kematian di seluruh dunia dan memiliki persentase 10,1 % dari kasus terbaru yang dialami (Kemenkes 2015).

Karsinoma hepatoseluler atau hepatoma merupakan salah satu penyakit yang sangat berbahaya, dimana sel kanker ini berasal dari sel-sel hati dan sering kali terlambat mengetahui saat penyakit ini sudah berkembang semakin parah menyerang tubuh penderita. Penyakit ini memiliki prevalensi yang tinggi pada daerah Asia dan Afrika dan mencapai 500 kasus per 100.000 populasi. Penyakit ini empat kali lebih sering terjadi pada laki-laki dibandingkan perempuan dan biasanya timbul pada hati yang mengalami sirosis atau kerusakan hati (Sunanda *et al.* 2010).

Berbagai usaha pengobatan telah dilakukan dalam terapi kanker hati terutama kemoterapi yang dinyatakan sebagai langkah yang paling efektif untuk pengobatan sel kanker yang sudah mengalami metastasis namun demikian kemoterapi masih dianggap kurang efektif di kalangan medis karena menimbulkan efek samping terhadap sel normal penderita, sehingga perlu dilakukannya usaha pencarian zat sitotoksik yang berpotensi mengobati sel kanker

hati. Salah satu usaha tersebut adalah menggunakan senyawa alami yang berasal dari tanaman obat yang dapat mengontrol pertumbuhan sel sehingga dapat mengurangi angka kematian penderita akibat kanker hati atau hepatoma (Handayani 2008).

Salah satu tanaman obat yang kini telah dipopulerkan kembali dalam dunia herbal adalah sirih merah. Daun sirih merah sering digunakan oleh masyarakat untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit, dan telah dibuktikan secara ilmiah dalam beberapa penelitian bahwa tanaman sirih merah dapat berfungsi sebagai antikanker seperti kanker serviks, payudara, dan kanker leukimia (Ermin *et al.* 2013).

Penelitian dari Ermin (2013) menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah memiliki nilai IC_{50} 13,12 $\mu\text{g/ml}$ terhadap sel kanker leukimia (L1210). Penelitian dari Wicaksono (2015) menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah memiliki nilai IC_{50} 27,42 $\mu\text{g/ml}$ terhadap kanker serviks. Penelitian dari Emrizal *et al* (2018) menyebutkan bahwa fraksinasi dari daun sirih merah memiliki nilai IC_{50} 1,34 $\mu\text{g/ml}$ pada fraksi etil asetat dan 2,04 $\mu\text{g/ml}$ pada fraksi n-heksan dan penelitian terbaru yang dilakukan oleh Wulandari (2018) menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah memiliki nilai IC_{50} 100 $\mu\text{g/ml}$ terhadap sel kanker kolon. Penelitian mengenai aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun sirih merah terhadap kultur sel kanker hati HepG2 perlu dilakukan lebih lanjut dengan penelusuran mekanisme jalur kematian sel HepG2 melalui induksi protein Caspase-3 pada proses apoptosis menggunakan metode imunositokimia.

Oleh karena itu, untuk mengetahui apakah tanaman tersebut memiliki khasiat aktivitas sebagai antikanker, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Penelitian ini menggunakan kultur sel kanker hati HepG2 untuk mengetahui apakah ekstrak etanolik dari daun sirih merah memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker dan apakah memiliki kemampuan dalam menginduksi ekspresi protein Caspase-3 untuk menstimulasi terjadinya apoptosis pada sel kanker. Sitotoksisitas ekstrak etanolik daun sirih merah ini selanjutnya dapat digunakan sebagai dasar untuk mengembangkan suatu senyawa antikanker terutama pada sel HepG2.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol daun sirih merah memiliki nilai IC_{50} yang poten terhadap kultur sel kanker hati HepG2 ?
2. Bagaimana selektivitas sitotoksik ekstrak etanol daun sirih merah terhadap kultur sel kanker hati HepG2 dan sel vero ?
3. Apakah ekstrak etanol daun sirih merah dapat menginduksi ekspresi Caspase-3 pada sel kanker hati HepG2 ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui nilai IC_{50} ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) yang poten terhadap kultur sel kanker hati HepG2
2. Untuk mengetahui selektivitas sitotoksik dari ekstrak etanol daun sirih merah terhadap kultur sel kanker hati HepG2 dan sel vero
3. Untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun sirih merah dalam menginduksi ekspresi Caspase-3 pada sel kanker hati HepG2

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang efek sitotoksik ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dan pengaruhnya terhadap ekspresi protein Caspase-3 pada kultur sel kanker hati HepG2 sehingga dapat dilakukan penelitian selanjutnya serta diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang terapi alternatif antikanker.