

**UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN BERENUK
(*Crescentia cujete* L.) TERHADAP KULTUR SEL KANKER
SERVIKS (HeLa)**



Oleh:

Dyah Ayu Pitaloka

23175247A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA**

2021

**UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN BERENUK
(*Crescentia cujete* L.) TERHADAP KULTUR SEL KANKER
SERVIKS (HeLa)**

SKRIPSI

 *Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)*

*Program Studi S1 Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

Dyah Ayu Pitaloka

23175247A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA**

2021

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul :

UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN BERENUK (*Crescentia cujete* L.) TERHADAP KULTUR SEL KANKER SERVIKS (HeLa)

Oleh :
Dyah Ayu Pitaloka
23175247A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada Tanggal : 22 Juli 2021

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,



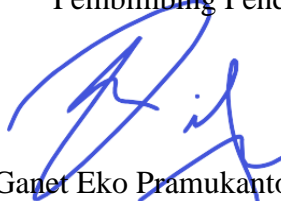
Prof. Dr. apt. R.A. Oetari, S.U., M.M., M.Sc.

Pembimbing Utama



Dr. apt. Opstaria Saptarini, M.Si.

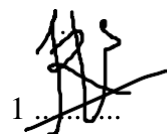
Pembimbing Pendamping



apt. Ganet Eko Pramukantoro, M.Si.

Penguji :

1. Dr. apt. Wiwin Herdwiani, S.Farm., M.Sc.



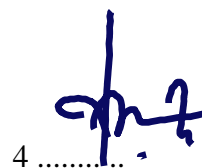
2. Dr. Ana Indrayati, M.Si



3. apt. Jamilah Sarimanah, S.Si., M.Si.



4. Dr. apt. Opstaria Saptarini, M.Si.



HALAMAN PERSEMBAHAN



Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain, dan hanya kepada Allah lah hendaknya kamu berharap.

[Q.S. Al- Insyirah: 6-8]

Dengan memanjatkan puji syukur Alh amdulillah kepada Allah SWT, yang telah memberikan kemudahan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Walaupun karya ini masih jauh dari kata sempurna, namun penulis bersyukur dan bangga karena telah menyelesaikan karya ini dalam waktu yang tepat.

Kupersembahkan karya ku ini kepada :

- ❖ Orang tua dan seluruh keluarga yang telah memberikan do'a dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.
- ❖ Dosen pembimbing Ibu Opstaria Saptarini dan Bapak Ganet Pramukantoro, terimakasih telah meluangkan waktunya dalam memberikan nasehat, ilmu serta bimbingan dalam mengerjakan skripsi ini.
- ❖ Teman-teman GangReng yang telah menjadi tempat keluh kesah, yang sudah membantu, memberikan semangat, motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini.
- ❖ Almamater Universitas Setia Budi Surakarta, Fakultas Farmasi, Bangsa dan Negara.

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu 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 terdapat jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 30 Juni 2021



Dyah Ayu Pitaloka

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kepada Allah SWT atas hidayah dan karunia-Nya sehingga penulis telah menyelesaikan skripsi dengan judul **“UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN BERENUK (*Crescentia cujete* L.) TERHADAP KULTUR SEL KANKER SERVIKS (HeLa)”**, yang merupakan syarat untuk memperoleh derajat sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Keberhasilan penulis dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini tentunya tidak lepas dari dukungan, saran dan bimbingan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. apt. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. apt. Wiwin Herdwiani, S.Farm., M.Sc., selaku Ketua Program Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi.
4. Dr. apt. Opstaria Saptarini, M.Si., selaku pembimbing utama yang telah berkenan meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, motivasi serta ilmunya dalam penyusunan skripsi ini.
5. apt. Ganet Eko Pramukantoro, M.Si., selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan, menasehati dan koreksi dalam penyusunan skripsi ini.
6. Segenap dosen, laboran, serta asisten laboratorium, staff karyawan Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan selama penelitian.
7. Ibu, kakak, adek dan seluruh keluarga serta orang-orang terdekat terimakasih atas doa, bantuan dan dukungan yang telah diberikan.
8. Teman – teman S1 Farmasi yang telah berjuang bersama memberikan semangat, bantuan seperti pikiran dan berbagai informasi yang penulis perlukan sehingga memudahkan dalam penelitian.

9. *Last but not least, I wanna thank me, I wanna thank me for believing in me, I wanna thank me for doing all this hard work, I wanna thank me for having no days off, I wanna thank me for never quitting, I wanna thank me for always being a giver and tryna give more than I receive.*
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam menyusun skripsi ini masih jauh dari sempurna, hal ini karena adanya keterbatasan kemampuan dan pengetahuan dari penulis.

Surakarta, 30 Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Kegunaan Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Tanaman Berenuk (<i>Crescentia Cujete L.</i>)	6
1. Sistematika tanaman.....	6
2. Nama lain.....	6
3. Deskripsi tanaman	7
4. Kandungan kimia.....	7
5. Khasiat.....	8
B. Simplisia	9
1. Pengertian simplisia.....	9

2. Tahap pembuatan simplisia	10
C. Ekstraksi	11
1. Pengertian ekstrak	11
2. Pengertian ekstraksi	11
3. Metode ekstraksi	12
4. Fraksinasi	14
5. Pelarut	14
D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	15
E. Kanker	17
1. Pengertian kanker	17
2. Sifat sel kanker	18
3. Siklus sel	19
4. Kanker serviks	20
5. Terapi kanker	21
F. Sel HeLa	22
G. Uji Sitotoksik	22
H. Metode MTT	23
I. Landasan Teori	24
J. Hipotesis	27
BAB III. METODE PENELITIAN	28
A. Populasi dan Sampel	28
B. Variabel Penelitian	28
1. Identifikasi variabel utama	28
2. Klasifikasi variabel utama	28
3. Definisi operasional variabel utama	29
C. Lokasi Penelitian	30
D. Alat dan Bahan	30
1. Alat	30
2. Bahan	30
E. Jalannya Penelitian	31
1. Determinasi daun berenuk	31
2. Pengumpulan daun berenuk	31

3. Pengeringan daun berenuk	31
4. Pembuatan serbuk daun berenuk	31
5. Karakterisasi serbuk daun berenuk.....	32
6. Pembuatan ekstrak etanol daun berenuk	33
7. Karakterisasi ekstrak daun berenuk.....	33
8. Pembuatan fraksinasi.....	33
9. Penetapan persen rendemen	34
10. Identifikasi kualitatif serbuk dan ekstrak daun berenuk.....	34
11. Identifikasi golongan senyawa kimia secara KLT	35
12. Uji sitotoksik	36
F. Analisis Data	39
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	42
1. Hasil determinasi tanaman berenuk.....	42
2. Pengumpulan, pengeringan, dan pembuatan serbuk simplisia daun berenuk	42
3. Karakterisasi serbuk daun berenuk.....	43
4. Pembuatan ekstrak etanol daun berenuk	46
5. Karakterisasi ekstrak etanol daun berenuk	47
6. Pembuatan fraksi <i>n</i> -heksan dan fraksi etil asetat daun berenuk	48
7. Hasil identifikasi kandungan senyawa pada serbuk dan ekstrak daun berenuk	49
8. Identifikasi golongan senyawa kimia secara KLT	50
9. Uji sitotoksik	59
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	70
A. Kesimpulan.....	70
B. Saran	70
DAFTAR PUSTAKA	71
LAMPIRAN.....	80

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hasil perhitungan rendemen serbuk daun berenuk	43
2. Hasil organoleptis serbuk daun berenuk	43
3. Hasil penetapan susut pengeringan	44
4. Hasil penetapan kadar air serbuk daun berenuk.....	44
5. Hasil penetapan kadar sari larut air serbuk daun berenuk.....	45
6. Hasil penetapan kadar sari larut etanol serbuk daun berenuk	46
7. Rendemen ekstrak etanol daun berenuk.....	47
8. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak daun berenuk	47
9. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun berenuk secara gravimetri	48
10. Hasil rendemen fraksi daun berenuk.....	49
11. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun berenuk	49
12. Hasil identifikasi ekstrak dan fraksi secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	51
13. Hasil identifikasi ekstrak dan fraksi secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	53
14. Hasil identifikasi ekstrak dan fraksi secara KLT	55
15. Hasil identifikasi ekstrak dan fraksi secara KLT	58
16. Hasil perhitungan persentase viabilitas ekstrak dan fraksi daun berenuk.....	63

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tanaman dan daun berenuk (dokumen pribadi).....	6
2. Reaksi reduksi MTT menjadi formazan.....	24
3. Skema bilik hitung dalam hemocytometer.....	38
4. Skema pembuatan ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat daun berenuk (<i>Crescentia cujete</i> L.).....	40
5. Skema uji sitotoksik ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan etil asetat daun berenuk (<i>Crescentia cujete</i> L)	41
6. Kromatogram hasil identifikasi flavonoid	51
7. Kromatogram hasil identifikasi alkaloid.....	53
8. Kromatogram hasil identifikasi tanin	55
9. Kromatogram hasil identifikasi steroid.....	58
10. Morfologi sel HeLa pada media RPMI.....	61
11. Morfologi sel HeLa. a) Sel HeLa normal sebelum diberi MTT, b) Sel HeLa setelah diberi MTT.	62
12. Grafik interpretasi % viabilitas sel HeLa vs Log konsentrasi.....	64

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat keterangan hasil determinasi tanaman berenuk	81
2. Surat keterangan ethical clearance uji sitotoksik	83
3. Alat dan bahan.....	84
4. Hasil identifikasi senyawa dengan metode uji tabung	88
5. Perhitungan rendemen serbuk, ekstrak etanol dan fraksi daun berenuk	90
6. Perhitungan susut pengeringan serbuk daun berenuk	91
7. Perhitungan kadar air sampel daun berenuk	91
8. Hasil kadar sari larut air serbuk daun berenuk.....	93
9. Hasil kadar sari larut etanol serbuk daun berenuk	94
10. Hasil identifikasi senyawa dengan metode KLT	96
11. Perhitungan volume panen sel	102
12. Perhitungan pembuatan larutan stok dan seri konsentrasi	102
13. Morfologi sel HeLa setelah perlakuan ekstrak dan fraksi.....	104
14. Perhitungan nilai IC ₅₀ sampel uji	106

DAFTAR SINGKATAN

KLT	Kromatografi Lapis Tipis
ABS	Absorbansi
IC ₅₀	<i>Inhibitory Concentration 50%</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
MTT	<i>Microtetrazolium</i>
DMSO	<i>Dimethyl Sulfoxide</i>
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
PBS	<i>Phosphate Bovine Serum</i>
FBS	<i>Fetal Bovine Serum</i>
SDS	<i>Sodium Dodecyl Sulphate</i>
BSC	<i>Biological Safety Cabinet</i>
UV	Ultraviolet

ABSTRAK

PITALOKA DA, 2021, UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN BERENUK (*Crescentia cujete* L.) TERHADAP KULTUR SEL KANKER SERVIKS (HeLa), SKRIPSI, PROGRAM STUDI S1 FARMASI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA. Dibimbing oleh Dr. apt. Opstaria Saptarini, M.Si., dan apt. Ganet Eko Pramukantoro, M.Si.

Kanker leher rahim (serviks) merupakan jenis kanker terbanyak nomor dua yang diderita wanita setelah kanker payudara dan menjadi penyebab kematian tertinggi di Indonesia. Alternatif pengobatan kanker saat ini kembali ke bahan alam. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak dan fraksi daun berenuk terhadap aktivitas sitotoksik dengan parameter IC_{50} serta untuk mengetahui komponen senyawa yang berpotensi terhadap kultur sel kanker serviks (HeLa).

Ekstraksi daun berenuk dilakukan dengan metode maserasi yang dilanjutkan fraksinasi cair-cair dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan dilakukan karakterisasi untuk kontrol kualitas ekstrak dan fraksi. Ekstrak dan fraksi di uji efeknya terhadap sel HeLa menggunakan metode MTT dengan seri konsentrasi 250; 125; 62,5; 31,25; 15,75; 7,81; 3,75; 1,875 $\mu\text{g/mL}$. Analisis data dilakukan dengan menghitung parameter nilai IC_{50} dan persen viabilitas sel.

Hasil uji pada fraksi *n*-heksan dan etil asetat menunjukkan aktivitas sitotoksik moderat aktif terhadap sel kanker serviks (HeLa) dengan nilai IC_{50} sebesar 83,56 $\mu\text{g/mL}$ dan 74,13 $\mu\text{g/mL}$, sementara ekstrak etanol daun berenuk tidak memiliki aktivitas sitotoksik yang poten dengan IC_{50} 112,46 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hal tersebut, adanya senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, triterpenoid dalam fraksi etil asetat diduga menghasilkan efek sitotoksik terhadap sel kanker serviks (HeLa).

Kata kunci : sitotoksik, daun berenuk (*Crescentia cujete* L.), MTT assay, HeLa

ABSTRACT

PITALOKA DA., 2021, TEST OF CYTOTOXIC EXTRACT AND FRACTION BERENUK LEAVES (*Crescentia cujete* L.) ON CERVICAL CANCER CULTURE CELL (HeLa), THESIS, BACHELOR OF PHARMACY, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA. Supervised by Dr. apt. Opstaria Saptarini, M.Si., and apt. Ganet Eko Pramukantoro, M.Si.

Cervical cancer is the second most common type of cancer suffered by women after breast cancer and is the highest cause of death in Indonesia. Alternative cancer treatment is currently back to natural ingredients. This study aims to determine the effect of extract and fraction of berenuk leaves on cytotoxic activity with parameter IC_{50} and to determine the components of compounds that have the potential to cervical cancer cells (HeLa).

Extraction of berenuk leaves was carried out by maceration method followed by liquid-liquid fractionation with n-hexane, ethyl acetate and characterization to control the quality of extracts and fractions. Extracts and fractions were tested for their effects on HeLa cells using the MTT method with a concentration series of 250; 125; 62.5; 31.25; 15.75; 7.81; 3.75; 1.875 g/mL. Data analysis was carried out by calculating the parameter IC_{50} value and percent cell viability.

The test results on the n-hexane and ethyl acetate fractions showed moderate active cytotoxic activity against cervical cancer cells (HeLa) with IC_{50} values of 83.56 g/mL and 74.13 g/mL, while the ethanol extract of berenuk leaves didn't have significant cytotoxic activity potent with IC_{50} 112.46 g/mL. Based on this, the presence of flavonoid, alkaloids, tannins, triterpenoids compounds in ethyl acetate fraction is expected to produce a cytotoxic effect on cervical cancer cells (HeLa).

Keywords : cytotoxic, leaf of berenuk (*Crescentia cujete* L.), MTT assay, HeLa cell lines

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kanker adalah suatu kondisi dimana terjadi pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal, sehingga sel menjadi kehilangan pengendalian dari mekanisme normalnya secara cepat dan tidak terkendali. Penyakit kanker menjadi salah satu penyebab kematian utama setelah penyakit kardiovaskular di seluruh dunia. Menurut laporan *International Agency for Research on Cancer (IARC)* tahun 2012, sekitar 8,2 juta orang meninggal akibat penyakit kanker. Berdasarkan data GLOBOCAN, bahwa pada tahun 2018 terdapat kasus baru kanker sebanyak 18,1 juta dan nilai angka kematian akibat kanker di seluruh dunia sebesar 9,6 juta (Kemenkes, 2015).

Berdasarkan data Riskesdas tahun 2018, prevalensi kanker di Indonesia meningkat dari tahun 2013 sebanyak 1,4 per 1000 penduduk menjadi 1,79 per 1000 penduduk. Prevalensi kejadian tertinggi terdapat pada daerah Yogyakarta sebanyak 4,86 per 1000 penduduk, Sumatera Barat 2,47 per 1000 dan diikuti Gorontalo 2,44 per 1000 penduduk. Angka kejadian kanker serviks di Indonesia tahun 2013 menempati urutan kedua setelah kanker payudara yaitu 0,5 % dari 220.000 penduduk dengan jumlah angka kejadian 61.682 jiwa (Kemenkes, 2015).

Kanker serviks atau kanker leher rahim adalah jenis kanker terbanyak nomor dua yang diderita wanita setelah kanker payudara dan menjadi penyebab kematian tertinggi Indonesia. Ada beberapa faktor yang memicu munculnya kanker serviks, baik faktor internal maupun faktor eksternal. Faktor internal utama yang menjadi pusat perhatian pertumbuhan tumor ialah keberadaan gen-gen yang berperan pada siklus sel. Hubungan antara pertumbuhan tumor tersebut, ada dua kelompok gen, pertama adalah pemicu tumorigenesis yang biasa disebut onkogen, kedua adalah kelompok yang menghambat tumorigenesis yaitu tumor *suppressor gene* dan apoptosis (Prayitno *et al.*, 2005).

Faktor eksternal penyebab kanker serviks diantaranya ada yang terbukti dan yang diprediksi. Faktor-faktor yang sudah terbukti termasuk: wanita yang sering berganti-ganti pasangan dan wanita yang memulai hubungan seksual pada usia muda, pasangan seksual yang beresiko, kehamilan di usia yang terlalu muda dan kehamilan atau manajemen persalinan yang tidak tepat, infeksi HPV dan merokok. Faktor yang diprediksi/ diperkirakan diantaranya kontrasepsi oral, diet karotenoid dan folat, ras, faktor sosial dan pekerjaan (Rasjidi, 2009).

Telah banyak terapi yang dilakukan untuk kanker serviks diantaranya terapi bedah, radioterapi, kemoterapi maupun kombinasi antara ketiganya. Obat antikanker modern ini secara umum bukan hanya menekan pertumbuhan sel tetapi juga mengakibatkan toksisitas karena menghambat pembelahan sel normal dengan proliferasinya yang sangat cepat. Pengobatan antikanker yang ideal merupakan pengobatan dengan toksisitas selektif yang tinggi artinya hanya menghancurkan sel kanker tanpa merusak sel normal. Penggunaan obat tradisional pada masyarakat akhir - akhir ini mengalami peningkatan. Hal ini terjadi karena kekhawatiran masyarakat akan efek samping yang timbul dari penggunaan obat konvensional yang digunakannya. Selain itu alasan penggunaan obat tradisional karena mudah didapat serta dengan harga murah. Berdasarkan hal tersebut perlu pengembangan terapi antikanker yang ideal untuk meminimalkan efek samping, mencegah resistensi serta menekan angka kematian (Kurnijasanti *et al.*, 2008).

Salah satu tanaman yang dikembangkan untuk menjadi agen antikanker adalah daun berenuk. Tumbuhan berenuk (*Crescentia cujete* L.) banyak ditemukan di daerah tropis seperti Indonesia. Tumbuhan berenuk dalam bahasa Inggris sering disebut "Calabash" merupakan tumbuhan asli dari Amerika Tengah, Kamerun, Senegal, serta beberapa Negara di bagian Afrika. Das *et al.* (2014) dalam penelitiannya melaporkan bahwa kandungan kimia dalam ekstrak etanol daun berenuk antara lain flavonoid, saponin, tanin, steroid, glikosida dan terpenoid. Arel *et al.* (2018) melaporkan kandungan kimia dalam ekstrak etanol daun berenuk yaitu flavonoid, fenolik, steroid dan alkaloid.

Penelitian tentang tumbuhan berenek terkait dengan potensinya sebagai senyawa antikanker telah dilakukan. Pada penelitian Arel *et al.* (2018) dalam jurnal penelitian dengan judul Profil Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Berenek (*Crescentia Cujete* L.) dan Uji Sitotoksik dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun berenek (*Crescentia cujete* L.) dengan nilai LC_{50} 30,54 $\mu\text{g/mL}$ memiliki potensi aktif terhadap *brine shrimps* dengan tingkat sitotoksik yaitu bersifat toksik.

Jurnal penelitian lain menunjukkan bahwa dalam ekstrak etanol daun berenek menghasilkan efek sitotoksik pada sel MCF-7 dengan nilai IC_{50} sebesar 643 $\mu\text{g/mL}$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun berenek memiliki aktivitas sitotoksik namun aktivitas tersebut belum sangat aktif sebagai agen sitotoksik (Hidayanti *et al.*, 2020). Penelitian oleh Seetharaman *et al.* (2017) menunjukkan hasil uji aktivitas sitotoksik secara *in vitro* menggunakan ekstrak daun encer *Crescentia cujete* L. terhadap sel HeLa diperoleh nilai IC_{50} 316 $\mu\text{g/mL}$. Jika pada uji toksisitas menghasilkan nilai LC_{50} dibawah 1000 $\mu\text{g/mL}$ artinya bahan tersebut memiliki potensi sebagai agen antikanker (Mardany, 2016).

Pemanfaatan daun berenek untuk agen antikanker perlu diteliti lebih jauh lagi. Metode yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 96% dan di fraksinasi dengan *n*-heksan dan etil asetat. Penggunaan jenis pelarut yang memiliki kepolaran yang berbeda ditujukan karena senyawa kimia yang terkandung dalam daun memiliki tingkat kepolaran yang berbeda - beda sehingga fraksinasi ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui fraksi mana yang lebih kuat terhadap aktivitas sitotoksiknya.

Metode yang digunakan untuk pengujian sitotoksik pada kultur sel HeLa menggunakan metode 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida (MTT) yang ditunjukkan dengan parameter IC_{50} . Berdasarkan dari latar belakang diatas, penulis tertarik melakukan pengujian terhadap daun berenek untuk mengetahui efek sitotoksik pada kultur sel HeLa.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan maka dapat dirumuskan permasalahan penelitian yaitu :

Pertama, apakah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat daun berenuk (*Crescentia Cujete* L.) memiliki aktivitas sitotoksik serta berapa nilai IC₅₀ terhadap kultur sel HeLa ?

Kedua, manakah diantara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat daun berenuk (*Crescentia Cujete* L.) yang memiliki efek sitotoksik paling kuat terhadap kultur sel HeLa ?

Ketiga, golongan senyawa apakah yang terkandung dalam ekstrak atau fraksi daun berenuk (*Crescentia Cujete* L.) yang memiliki potensi sitotoksik terhadap kultur sel HeLa ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

Pertama, untuk mengetahui efek sitotoksik dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat daun berenuk (*Crescentia Cujete* L.) serta mengetahui nilai IC₅₀ terhadap kultur sel HeLa.

Kedua, untuk mengetahui efek sitotoksik yang paling kuat antara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat daun berenuk (*Crescentia Cujete* L.) terhadap kultur sel HeLa.

Ketiga, untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak atau fraksi daun berenuk (*Crescentia Cujete* L.) yang memiliki potensi sitotoksik terhadap kultur sel HeLa.

D. Kegunaan Penelitian

Berdasarkan tujuan yang hendak dicapai, peneliti berharap dapat memberikan informasi sesuai dari hasil penelitian bahwa daun berenuk dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan salah satunya sebagai antikanker, memberikan landasan empiris yang dapat digunakan dalam pengembangan penelitian selanjutnya serta memberikan ilmu pengetahuan dan tambahan informasi ilmiah khususnya bidang kesehatan.