

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI TANAMAN *Hopea mengarawan* SERTA UJI AKTIVITAS
ANTIANKER TERHADAP SEL HeLa**

(Tesis)

Oleh

RISTA ANGGI PRAMUDIA



**PROGRAM PASCASARJANA KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

ABSTRACT

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITES FROM THE *Hopea mengarawan* PLANT AND ANTICANCER ACTIVITY TESTING ON HeLa CELLS

By

Rista Anggi Pramudia

The *Hopea mengarawan* plant from the Dipterocarpaceae family is known to be rich in secondary metabolite compounds that have the potential as anticancer agents. This study aims to isolate and identify secondary metabolite compounds from the bark of *H. mengarawan* and evaluate their anticancer activity against HeLa cervical cancer cells *in vitro*.

The extraction process was carried out using methanol solvent, followed by partition and fractionation of the ethyl acetate extract using vacuum liquid chromatography, column chromatography, and thin layer chromatography to obtain pure compounds. Identification of the structure of the isolated compounds was carried out using ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectrophotometers, as well as LC-MS.

Two isolated compounds, coded NV49 and NV50, were successfully identified, where compound NV49 is *heptanoylcholine* and compound NV50 is known as *esculetin* from coumarin derivatives. The anticancer activity test against HeLa cells was carried out using the resazurin method to determine the IC₅₀ value. The test results showed that both compounds have anticancer activity with different levels of activity, where each compound has an IC₅₀ value of 228.50 µg/mL and 49.69 µg/mL. The results of this study provide additional information regarding the secondary metabolite compound content of *H. mengarawan* and support the potential of this plant as a source of natural compounds that have the opportunity to be further developed as anticancer candidates.

Key words: *H. mengarawan*, Anticancer, *heptanoylcholine*, *esculetin*, HeLa

ABSTRAK

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI TANAMAN *Hopea mengarawan* SERTA UJI AKTIVITAS ANTIANKER TERHADAP SEL HeLa

Oleh

Rista Anggi Pramudia

Tanaman *Hopea mengarawan* dari famili Dipterocarpaceae diketahui kaya akan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai agen antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari kulit batang *H. mengarawan* serta mengevaluasi aktivitas antikankernya terhadap sel kanker serviks HeLa secara *in vitro*.

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut metanol, dilanjutkan dengan partisi dan fraksinasi ekstrak etil asetat menggunakan kromatografi cair vakum, kromatografi kolom, dan kromatografi lapis tipis hingga diperoleh senyawa murni. Identifikasi struktur senyawa hasil isolasi dilakukan menggunakan spektrofotometer $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$, serta LC-MS.

Dua senyawa hasil isolasi diberi kode NV49 dan NV50, berhasil diidentifikasi, di mana senyawa NV49 sebagai *heptanoylcholine* dan senyawa NV50 diketahui sebagai esculetin dari turunan kumarin. Uji aktivitas antikanker terhadap sel HeLa dilakukan menggunakan metode resazurin untuk menentukan nilai IC_{50} . Hasil pengujian menunjukkan bahwa kedua senyawa memiliki aktivitas antikanker dengan tingkat aktivitas yang berbeda, di mana masing-masing senyawa memiliki nilai IC_{50} sebesar 228,50 $\mu\text{g/mL}$ dan 49,69 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penelitian ini memberikan informasi tambahan mengenai kandungan senyawa metabolit sekunder dari *H. mengarawan* serta mendukung potensi tanaman ini sebagai sumber senyawa alami yang berpotensi dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat antikanker.

Kata kunci: *H. mengarawan*, Antikanker, *heptanoylcholine*, esculetin, HeLa

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI TANAMAN *Hopea mengarawan* SERTA UJI AKTIVITAS
ANTIANKER TERHADAP SEL HeLa**

Oleh

Rista Anggi Pramudia

TESIS

**Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
MAGISTER SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

Judul Tesis

: **ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA
METABOLIT SEKUNDER DARI TANAMAN
Hopea mengarawan SERTA UJI AKTIVITAS
ANTIANKER TERHADAP SEL HeLa**

Nama

: ***Rista Anggi Pramudia***

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2327011004

Program Studi

: Kimia

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si
NIP. 197311191998022001



Prof. Sutopo Hadi, M.Sc. Ph.D.
NIP. 197104151995121001

2. Ketua Program Studi Magister Kimia

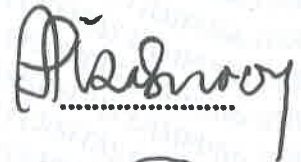


Prof. Dr. Ilim, M.S.
NIP. 196505251990032002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.



Sekretaris : Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc.



Anggota : Prof. Drs. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.



Prof. Dr Ir. Yandri A.S, M.S



Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, S.Si., M.Si



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Dr. Luh Heri Satria, M.Si.
NIP 19711001 200501 1 002

3. Direktur Program Pascasarjana




Prof. Dr. Ir. Murhadi, M.Si.
NIP 19640326 198902 1 001

Tanggal Lulus Ujian Tesis : 22 Januari 2026

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Rista Anggi Pramudia
Nomor Pokok Mahasiswa : 2327011004
Program Studi : Magister Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa tesis saya yang berjudul “Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Tanaman *Hopea mengarawan* Serta Uji Aktivitas Antikanker Terhadap Sel HeLa” adalah benar karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan (*plagiarism*) atas karya penulis lain dengan cara yang tidak sesuai dengan tata etika ilmiah yang berlaku. Hak intelektual karya ilmiah ini saya serahkan kepada Universitas Lampung dan saya tidak keberatan jika data tesis ini di kemudian hari dipergunakan oleh pihak dosen atau prodi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya dicantumkan.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran maka saya bersedia menerima sanksi hukum yang berlaku.

Bandar Lampung, 28 Januari 2026
Yang menyatakan



Rista Anggi Pramudia
NPM. 2327011004

RIWAYAT HIDUP

Rista Anggi Pramudia lahir di Belitang, Kecamatan Belitang, Kabupaten OKU Timur, Sumatera Selatan pada tanggal 27 Agustus 2000 sebagai anak pertama dari 2 bersaudara, putri bapak Sutino dan ibu Sri Rohani. Penulis menyelesaikan pendidikan di TK Al-Ma'arif pada tahun 2006, Sekolah Dasar di SDN Ganjar Agung tahun 2006-2012, kemudian penulis menyelesaikan pendidikan sekolah menengah pertama di SMP PGRI Sumber Agung pada tahun 2015, dan menyelesaikan pendidikan sekolah menengah atas di SMA Negeri 1 Buay Madang tahun 2015-2018. Selanjutnya pada tahun 2018 penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN), serta menyelesaikan studinya pada Juli 2023. Pada bulan Agustus 2023 penulis diterima di Magister Kimia, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Lampung. Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten praktikum Kimia Organik II Jurusan Kimia, dan Praktikum Kimia Organik III Jurusan Kimia.



*Puji syukur kepada Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya
Penulis mempersembahkan karya ini teruntuk:*

*Kedua orang tuaku dan Mertuaku
Yang telah sabar mendidik, mendoakan, memberikan kasih
sayang, dukungan dan motivasi kepada penulis. Semoga Allah
SWT membalas semua kebaikan yang selalu diberikan kepada
penulis*

*Suamiku
Terima kasih atas cinta, pengertian, doa, dan dukungan yang tak
pernah putus, sehingga penulis mampu menyelesaikan karya ini
dengan baik, serta ketulusan yang menjadi kekuatan penulis.
Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang selalu
diberikan kepada penulis*

*Adik penulis, mbak penulis dan keluarga besar
Yang telah memberikan dukungan dan semangat*

*Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si., Prof. Sutopo Hadi, M.Sc., Ph.D.,
Prof. Drs. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D., Prof. Dr. Ir. Yandri A.S.,
M.S., dan Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, S.Si., M.Si.
Yang telah sabar membimbing, memberikan ilmu, serta saran dan
masukannya selama menempuh pendidikan dan penelitian di
Universitas Lampung*

*Sahabat-sahabatku tercinta yang selalu sabar menemani,
memberikan keceriaan, motivasi, dan semangat*

*Almamater tercinta
Universitas Lampung*

MOTTO

*"Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya."
(Q.S. Al-Baqarah : 286)*

*"...Dan berikanlah kabar gembira kepada orang-orang yang sabar. (yaitu) orang-orang yang apabila ditimpa musibah, mereka mengucapkan: Inna lillaahi wa innaa ilaihi raaji'uun"
(QS. Al-Baqarah Ayat 155-157)*

*Allahumma yassir wala tu'assir
"Ya Allah, mudahkanlah dan janganlah Engkau persulit"*

*"Allah melapangkan rezeki bagi siapa yang Dia kehendaki di antara hamba-hamba-Nya dan Dia (pula) yang menyempitkan"
(Q.S Al-Ankabut : 62)*

*"Wanita mana saja yang meninggal dunia lantas suaminya ridha padanya, maka ia akan masuk surga"
(HR. Tirmidzi)*

*Tidak harus selesai hari ini, tetapi tidak boleh berhenti; besok hari akan diselesaikan
Rista Anggi Pramudia*

*"Alon-alon asal kelakon"
Agung Dwi Setiawan*

SANWACANA

Alhamdulillah rabbil 'alamin. Puji syukur kehadirat Allah SWT, atas segala nikmat dan karunia-Nya yang tak terhingga serta kasih sayang yang selalu diberikan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Tanaman *Hopea mengarawan* Serta Uji Aktivitas Antikanker Terhadap Sel HeLa”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains di Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Tentunya selama penulisan dan pelaksanaan tesis ini tak terhitung berapa banyak kesulitan yang menghadang, namun semua itu dapat dilalui berkat pertolongan dari Allah dan tentunya dari doa tiada henti yang selalu diucapkan oleh orang tua penulis. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Kedua orangtua tercintaku, Bapak Sutino dan Ibu Sri Rohani, serta Ayah Amir Mahmud dan Ibu Sri Wahyuni atas seluruh doa, kasih sayang, dukungan dan motivasi kepada penulis serta semua pengorbanan yang sudah diberikan kepada penulis, semoga Allah selalu memberikan kesehatan, kemudahan, kelancaran, perlindungan di setiap langkahnya, *Aamiin Yaa Robbal Alamiin.*
2. Suamiku tercinta Agung Dwi Setiawan, telah menjadi tiang penyangga terkuatku selama penyusunan tesis ini, atas kesabaranmu menghadapi keluh kesahku, doa-doa tulus yang kau panjatkan di setiap sujudmu, pengorbanan dan motivasi kepada penulis serta kasih sayang yang tak pernah putus. Gelar ini bukan hanya milikku, melainkan buah dari kesabaran dan dukunganmu yang luar biasa.
3. Ibu Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si., selaku pembimbing akademik dan pembimbing I yang telah membimbing dengan penuh kesabaran, keikhlasan,

memberikan arahan, dan motivasi sehingga dapat menyelesaikan tesis ini. Semoga Allah membalas kebaikan beliau dengan kebaikan, diberikan kesehatan, kelancaran setiap langkahnya serta keberkahan yang tak terhingga.

4. Bapak Prof. Sutopo Hadi, M.Sc., Ph.D., selaku pembimbing II yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan sehingga tesis penulis dapat terselesaikan dengan baik. Semoga Allah membalas kebaikannya.
5. Bapak Prof. Drs. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D., Bapak Prof. Dr. Ir. Yandri A S., M.S., dan Ibu Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, S.Si., M.Si., selaku pembahas dalam penelitian yang telah memberikan nasihat, bimbingan dengan kesabaran sehingga tesis ini dapat terselesaikan. Semoga Allah membalas dengan kebaikan-kebaikan yang dimudahkan dalam segala urusan dan rezeki yang berlimpah.
6. Bapak Ibu dosen jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung atas seluruh ilmu dan ilmu yang diberikan selama penulis menjalani perkuliahan. Semoga Allah melimpahkan keberkahan yang tak terhingga kepada Bapak dan Ibu.
7. Adikku Ervika Arum Dwiningtyas, Mbak Yunita Amriana, Mas M. Ridho, Adik Hafsha, Mbak Fatmasari, yang selalu memberikan kasih sayang, motivasi, semangat serta dukungannya kepada penulis. Semoga Allah memberikan kesehatan, kemudahan disetiap langkahnya, dan rejeki yang berlimpah.
8. *Noviany's Research Group*, Diah Vio, Inggit, Govin, Julia, Rita, Prabu, Bemby, dan Asti terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya selama ini.
9. Rekan-rekan peneliti di Laboratorium Organik dan Biokimia, Armidla, mbak Kartika, Inggit Pratiwi, Diah Vio, Julia, Govin, Rita, Bayu Anggara, Virginia, Nindy, Sayyid, Alif, Titis, Mbak wiwit, Kak Pendi, Ibnu, semoga Allah selalu memudahkan segala urusannya.
10. Sahabat-sahabatku, Ofriani fatrika, Ramah Nia Faliha, Olivia Novianti, Armidla Nadya Kurniati, Nindy Novita Sari, Widya Hadi, semoga Allah Selalu melindungi, melipatgandakan rezeki, serta memudahkan segala urusannya.

11. Teman-teman angkatan Magister Kimia 2023 serta teman-teman Magister Kimia terima kasih atas bantuan, motivasi, dan kerjasamanya yang telah diberikan kepada penulis selama ini.
12. Almamaterku tercinta Universitas Lampung.
13. Kepada jajaran oppa dan eonni di layar kaca yang menjadi penyemangat visual dan mental. Tanpa asupan hiburan dari drama Korea, mungkin perjalanan menyelesaikan karya ini akan terasa jauh lebih sunyi dan membosankan.
14. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini baik berupa dukungan moril maupun materi.

Semoga segala kebaikan dan pertolongan yang diberikan kepada penulis dapat dibalas oleh Allah SWT dengan limpahan nikmat dan pahala. Penulis sangat menyadari bahwa penulisan tesis ini masih jauh dari kesempurnaan. Namun penulis berharap semoga tesis ini dapat memberikan manfaat baik bagi penulis secara pribadi maupun bagi pembaca. *Aamiin Ya Robbal Alamin.*

Bandar Lampung, 28 Januari 2026

Rista Anggi Pramudia

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Tinjauan Botani Tanaman Genus <i>Hopea</i>	5
2.2. Kedudukan <i>Hopea</i> dalam Taksonomi Tanaman.....	5
2.3. Efek Farmakologi Tanaman Dipterocarpaceae.....	6
2.4. Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder dari Tanaman Dipterocarpaceae.....	7
2.5. Kandungan Senyawa <i>H. mengarawan</i>	12
2.6. Isolasi.....	13
2.6.1. Ekstraksi	13
2.6.2. Kromatografi.....	14
2.7. Karakterisasi Senyawa Murni	17
2.7.1. Spektrofotometer Ultraviolet-Visible (UV-Vis).....	18
2.7.2. Spektrofotometer <i>Infra Red</i> (IR).....	20
2.7.3. Spektrofotometer <i>Nuclear Magnetic Resonance</i> (NMR)	21
2.7.4. <i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry</i> (LC-MS)	25
2.8. Kanker	27
2.8.1. Kanker Serviks.....	28
2.9. Uji Antikanker Secara <i>In Vitro</i>	30
2.9.1. Reagen Resazurin.....	30
2.9.2. Cisplatin.....	31
2.9.3. Sel HeLa	33
2.9.4. Perhitungan Persentase Jumlah Sel yang Hidup	34
III. METODE PENELITIAN	36
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	36
3.2. Alat dan Bahan.....	36
3.2.1. Alat-alat yang digunakan.....	36
3.2.2. Bahan-bahan yang digunakan	36

3.3. Prosedur Penelitian.....	37
3.3.1. Persiapan Sampel	37
3.3.2. Ekstraksi dengan berbagai pelarut	37
3.3.3. Kromatografi Cair Vakum (KCV)	38
3.3.4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	38
3.3.5. Kromatografi Kolom (KK)	39
3.3.6. Analisis Kemurnian.....	39
3.3.7. Identifikasi Senyawa dengan Spektrofotometer Resonansi Magnetik Nuklir (NMR).....	40
3.3.8. Identifikasi Senyawa dengan Spektrofotometer LC-MS.....	40
3.3.9. Uji Antikanker terhadap Sel HeLa	41
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	42
4.1. Ekstraksi	42
4.2 Kromatografi Cair Vakum (KCV)	44
4.2. Kromatografi Kolom (KK)	48
4.3. Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi	49
4.3.1. Identifikasi Senyawa NV49	49
4.3.2. Identifikasi Senyawa NV50	56
4.4. Pengujian Antikanker terhadap Sel HeLa	61
V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	66
5.1. Kesimpulan	66
5.2. Saran.....	66
DAFTAR PUSTAKA.....	68
LAMPIRAN	75

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Letak pergeseran kimia dalam spektrum ^1H -NMR.....	22
2. Letak pergeseran kimia dalam spektrum ^{13}C -NMR.....	23
3. Fraksi hasil KCV	47
4. Puncak kromatogram senyawa NV49	52
5. Perbandingan spektrum ^1H -NMR senyawa NV49 dan <i>heptanoylcholine</i> dari basis data <i>hmdb</i>	55
6. Perbandingan δ_{H} senyawa NV50 dengan senyawa esculetin pada beberapa literatur	58
7. Perbandingan pergeseran kimia dari ^{13}C -NMR senyawa NV50 dengan literatur	59
8. Perbandingan nilai IC_{50} dari senyawa NV49, NV50, esculetin, $[\text{Ph}_2\text{Sn}(3\text{-HBz})_2]$, dan $[\text{Ph}_2\text{Sn}(4\text{-HBz})_2]$	64
9. Absorbansi hasil perlakuan NV49	82
10. Absorbansi hasil perlakuan NV50	83

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman <i>H. mengarawan</i>	6
2. Senyawa-senyawa flavonoid dari tanaman <i>D. cornutus</i>	8
3. Lima triterpen baru dari batang <i>D. obtusifolius</i>	9
4. Senyawa-senyawa steroid dari kulit batang <i>D. oblongifolia</i>	10
5. Senyawa-senyawa yang termasuk stilbenoid	11
6. Senyawa-senyawa hasil isolasi dari tanaman <i>H. mengarawan</i>	13
7. Ilustrasi proses kromatografi kolom	16
8. Ilustrasi proses kromatografi lapis tipis	17
9. Skema kerja spektrofotometer UV-Vis.....	19
10. Skema kerja spektrofotometer <i>Infra Red</i>	21
11. Struktur senyawa ampelopsin-E	25
12. Anatomi organ reproduksi wanita.....	29
13. Struktur senyawa cisplatin.....	31
14. Mekanisme kerja cisplatin sebagai agen kemoterapi	32
15. Preparasi sampel sampai menjadi ekstrak kasar: a. Kulit batang	43
16. KLT Ekstrak MeOH (M), <i>n</i> -heksana (H), etil asetat (Ea), dan MeOH-air (Ma): a) UV 243 dan b) setelah disemprot serum sulfat.....	43
17. Fraksinasi ekstrak etil asetat menggunakan KCV	44
18. Fraksi utama hasil KCV dengan eluen <i>n</i> -heksana:etil asetat (7:3)	45
19. Senyawa NV49	45
20. Hasil KLT senyawa NV49 dengan fase gerak a) aseton:kloroform (6:4), b) etil asetat:kloroform (8:2), c) etil asetat: <i>n</i> -heksana (9:1)	46
21. Senyawa NV50	46
22. Hasil KLT senyawa NV50 dengan fase gerak a) <i>n</i> -heksana:MeOH (7:3); b) kloroform:MeOH (8:2); c) etil asetat: <i>n</i> -heksana (6:4).....	47
23. Kromatografi kolom.....	48

24. Kromatogram hasil KK FE13	48
25. Kromatogram hasil KK FE10 dan FE11	49
26. Spektrum ^1H -NMR senyawa NV49	50
27. Kromatogram LC-MS senyawa NV49	51
28. Spektrum senyawa NV49 waktu retensi 7,78	53
29. Informasi spektrum senyawa <i>heptanoylcholine</i> dari basis data <i>hmdb</i>	54
30. Struktur senyawa NV49	55
31. Spektrum ^1H -NMR senyawa NV50	56
32. Spektrum ^{13}C -NMR senyawa NV50	57
33. Struktur <i>esculetin</i> (NV50)	60
34. Jalur biosintesis senyawa <i>esculetin</i> dan <i>resveratrol</i>	61
35. Kurva hubungan antara konsentrasi dan efek sitotoksik: a) NV49 dan b) NV50	62
36. Hasil Determinasi Tanaman	776
37. Diagram alir hasil penelitian	77
38. Diagram alir hasil fraksinasi kromatografi kolom	78
39. Pembesaran spektrum ^1H -NMR dari 0,60-1,75 ppm	79
40. Pembesaran spektrum ^1H -NMR dari 1,8-3,3 ppm	79
41. Pembesaran spektrum ^1H -NMR dari 3,55-4,55 ppm	80
42. Pembesaran spektrum ^1H -NMR dari 4,55-5,65 ppm	80
43. Spektrum ^1H -NMR senyawa <i>heptanoylcholine</i> dari basis data <i>hmdb</i>	81
44. Dokumentasi <i>well plate</i> hasil perlakuan NV49	82
45. Dokumentasi <i>well plate</i> dari perlakuan NV50	803
46. Morfologi sel HeLa diberi perlakuan dari senyawa NV49	824
47. Morfologi sel HeLa diberi perlakuan dari senyawa NV50	824

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Determinasi Tanaman <i>H.mengerawan</i>	76
2. Bagan Alir Penelitian	77
3. Perbesaran spektrum ^1H -NMR senyawa NV49.....	79
4. Spektrum ^1H -NMR senyawa <i>heptanoylcholine</i> dari basis data <i>hmdb</i>	81
5. <i>Well plate</i> dan Absorbansi dari variasi konsentrasi senyawa NV49 pengujian antikanker terhadap sel HeLa.....	82
6. <i>Well plate</i> dan Absorbansi dari variasi konsentrasi senyawa NV50 pengujian antikanker terhadap sel HeLa.....	83
7. Dokumentasi morfologi sel HeLa hasil uji dari NV49 dans NV50	824

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Selama bertahun-tahun, kanker dapat menyerang orang dari segala usia dan jenis kelamin di seluruh dunia. Menurut WHO, 10 juta orang meninggal pada tahun 2020 karena kanker, dan jumlah ini diperkirakan akan meningkat sebesar 70% dalam dua puluh tahun ke depan (Ali *et al.*, 2024). Kanker serviks adalah salah satu jenis kanker yang paling umum menyerang wanita di seluruh dunia, menduduki peringkat keempat setelah kanker payudara, kanker kolorektal, dan kanker paru-paru.

Berdasarkan data dari *International agency for research on cancer*, jumlah penderita kanker serviks meningkat sebesar 7,8% selama sepuluh tahun terakhir hingga tahun 2018. Pada tahun 2020, terdeteksi 604.100 kasus baru kanker serviks di seluruh dunia, dengan jumlah kematian mencapai 341.800 (Volkova *et al.*, 2021).

Penyebab utama kanker serviks adalah *human papillomavirus* (HPV) dan dipengaruhi oleh faktor-faktor lain seperti merokok, sistem kekebalan tubuh yang lemah, dan memiliki banyak pasangan seksual (Burmeister *et al.*, 2022). Saat ini, pilihan pengobatan kanker serviks meliputi reseksi bedah, terapi radikal, kemoterapi atau terapi kombinasi, dan imunoterapi. Namun, tingkat kelangsungan hidup 5 tahun secara keseluruhan hanya 68% untuk pasien kanker serviks stadium lanjut, yang menunjukkan bahwa pengobatan tersebut masih belum memuaskan. Kemoterapi telah dianggap sebagai pengobatan standar untuk pasien kanker serviks stadium lanjut atau kambuhan, tetapi obat terapeutik lini pertama cisplatin tampaknya menimbulkan resistensi kemoterapi, sehingga mengurangi kemanjuran terapi (Chen *et al.*, 2022).

Data epidemiologi menunjukkan adanya korelasi antara pola makan, berbagai jenis kanker, dan peningkatan kasus kanker dari tahun ke tahun di seluruh dunia akibat perubahan gaya hidup modern dan kebiasaan makan. Akhir-akhir ini, minat terhadap penggunaan obat herbal atau obat alami dari tumbuhan semakin meningkat dalam bidang kesehatan karena efek sampingnya yang lebih rendah (Zhang *et al.*, 2019).

Studi fitokimia tentang tanaman obat telah dilakukan untuk memverifikasi potensinya sebagai obat dalam terapi modern. Kemampuan senyawa alami yang dihasilkan oleh tanaman sebagai bahan pengobatan menjadikannya salah satu alternatif untuk menyembuhkan penyakit tertentu. Senyawa fitoestrogen diketahui mengandung beberapa molekul bioaktif yang diklasifikasikan menjadi empat kelompok utama: isoflavonoid, flavonoid, stilbenoid, dan lignan, banyak ditemukan pada tanaman Dipterocarpaceae dan bentuk glukosidanya (Salehi *et al.*, 2018), yang mana memiliki berbagai bioaktivitas seperti antikanker, larvasida, antihiperurisemik, antiinflamasi, antiasetilkinesterase (Lulan *et al.*, 2020), penyakit neurodegeneratif, antidiabetes, penyakit kardiovaskular (Koushki *et al.*, 2018), antioksidan, antifungi (Atun, 2006), antibakteri, dan antivirus (Juliawaty *et al.*, 2009).

Kajian kandungan oligomer resveratrol dari tanaman famili Dipterocarpaceae terutama genus *Hopea* telah dilaporkan kandungan oligomer resveratrolnya adalah *H. sangal*, *H. bancana*, *H. dryobalanoides*, *H. mengarawan*, *H. odorata*, *H. cardifolia*, *H. jucunda*, *H. malibato*, *H. parviflora* dan *H. utilis*. Evaluasi fitokimia yang telah diisolasi dari tanaman-tanaman tersebut, memperlihatkan bahwa tanaman *Hopea* cenderung menghasilkan dimer resveratrol (Sahidin *et al.*, 2008). Salah satu tanaman yang akan digunakan dalam penelitian adalah tanaman *H. mengarawan*.

Tanaman *H. mengarawan* termasuk dalam famili Dipterocarpaceae, terdiri dari kurang lebih 100 spesies dan tersebar luas di Indonesia khususnya di Kalimantan dan hingga saat ini hanya sedikit spesies yang diteliti (Atun, 2006). Sahidin dkk., (2006), telah mengisolasi senyawa dari kulit batang *H. mengarawan* yang terdiri dari jenis dimer resveratrol termodifikasi yaitu, diptoindonesin D, balanokarpol, ampelopsin A,

hopeafuran, heimiol A, parviflorol, dan trimer resveratrol, yaitu α -viniferin, serta tetramer resveratrol, yaitu isohopeafenol dan vatikanol B. Senyawa Diptoindonesin G diisolasi dari tanaman yang sama dan memiliki sifat sitotoksik terhadap sel murin leukemia P-388 (Juliawaty *et al.*, 2009).

Atun *et al.* (2008), juga telah melakukan penelitian pada kulit batang *H. mengarawan* dari ekstrak aseton mendapatkan senyawa turunan resveratrol yang terdiri dari dimer, trimer dan tetramer resveratrol. Hopeaphenol menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 61,8 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan ampelopsin H dan vatikanol B memberikan efek sitotoksik terhadap sel HeLa-S3 dengan nilai LC_{50} sebesar 129,72 $\mu\text{g/mL}$ dan 92,81 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan pada sel Raji memiliki nilai LC_{50} sebesar 34,69 $\mu\text{g/mL}$ dan 34,45 $\mu\text{g/mL}$.

Berdasarkan hal tersebut, belum banyak dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap ekstrak etil asetat dari hasil partisi ekstrak kasar metanol tanaman *H. mengarawan*, yang mana senyawa-senyawa polar lebih banyak memiliki bioaktivitas tinggi. Sehingga perlu dilakukan pengujian aktivitas antikanker pada senyawa yang akan diisolasi terhadap sel HeLa dari kulit batang tanaman *H. mengarawan*.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah mendapatkan senyawa metabolit sekunder dari kulit batang *H. mengarawan* serta menguji aktivitas antikanker terhadap sel HeLa.

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang kandungan senyawa metabolit dari kulit batang *H. mengarawan* serta dapat

digunakan sebagai *database* tambahan sumber alami tanaman yang berpotensi sebagai antikanker.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Botani Tanaman Genus *Hopea*

Dipterocarpaceae atau meranti, keruing, selangan (Sahidin dkk., 2006) merupakan salah satu kelompok tanaman hutan tropis yang banyak terdapat di Indonesia. Dipterocarpaceae terdiri dari 16 genus dan sekitar 600 spesies, sembilan di antaranya ditemukan di Indonesia, yaitu *Anisoptera*, *Cotylelobium*, *Dipterocarpus*, *Dryobalanops*, *Hopea*, *Parashorea*, *Shorea*, *Upuna*, dan *Vatica*. Kesembilan genus ini tersebar dari Aceh hingga Papua, dengan populasi terbesar di Kalimantan. *Hopea* adalah salah satu genus utama dari famili Dipterocarpaceae, terdiri dari sekitar 100 spesies dan tersebar luas di Indonesia, khususnya di Kalimantan. Hingga saat ini, hanya sedikit spesies yang telah diteliti. Famili tanaman ini diketahui menghasilkan berbagai oligomer resveratrol (Atun, 2006).

2.2. Kedudukan *Hopea* dalam Taksonomi Tanaman

Penelitian ini menggunakan spesies tanaman *H. mengarawan* (Gambar 1), dengan nama lokal merawan. Tanaman ini tersebar luas di hutan hujan tropis Sumatera, Malaysia dan hingga kepulauan Andaman (Atun *et al.*, 2008). Dari hasil determinasi tinggi pohon hingga 50 cm, garis tengah hingga 75 cm. Bulung lurus, banir terbang tinggi 1–3 m. Pepagan berlekah, berwarna coklat tua, keabuan hingga hitam, pepagan dalam tebal, berbilah, pepagan dalam coklat muda, bersemu merah jambu, kayu gubal pucat. Ranting menggalah, halus. Penumpu luruh awal, terlengkung balik jelas

sebelum luruh. Tangkai daun panjang 9–20 mm. Daun menjorong hingga membundar telur, panjang 10–15 cm, lebar 5–7 cm, menjangat, jika kering berwarna coklat kekuningan, pangkal membaji melebar, bagian runcing panjang hingga 1,5 cm, pertulangan dryobalanoid, tulang daun sekunder banyak (>20). Sehingga kedudukan tanaman *H. mengarawan* dalam taksonomi tanaman sebagai berikut:

Regnum :Plantae
 Divisi :Magnoliophyta
 Kelas :Magnoliopsida
 Bangsa :Malvales
 Suku :Dipterocarpaceae
 Marga :*Hopea*
 Jenis :*Hopea mengarawan* Miq.



Gambar 1. Tanaman *H. mengarawan*

2.3. Efek Farmakologi Tanaman Dipterocarpaceae

Ekstrak metanol kulit batang lebih aktif dibandingkan ekstrak daun *Monotes kerstingii* Gilg, yang menunjukkan aktivitas anthelmintik dengan persentase mortalitas sebesar $14,87 \pm 0,56\%$ dan $4,32 \pm 1,83\%$ (Fotso *et al.*, 2019). Sasikumar *et al.* (2019) juga telah melakukan penelitian pada *H. ponga* dari famili

Dipterocarpaceae, ekstrak aseton dan etanol menunjukkan penghambatan α -glukosidase dengan nilai IC_{50} sebesar $11,21 \pm 0,47$ dan $22,42 \pm 0,24$ $\mu\text{g/mL}$ lebih tinggi dari standar akarbosa dan menunjukkan aktivitas antiglikasi dengan nilai IC_{50} sebesar $8,94 \pm 0,02$ dan $19,36 \pm 0,15$ $\mu\text{g/mL}$ juga lebih tinggi dari asam askorbat.

Aktivitas antibakteri pada tanaman *D. intricatus* ditemukan bahwa mempunyai bioaktivitas sebagai antibakteri dengan zona hambat, pada ekstrak etil asetat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai sebesar $12,5 \pm 0,5$ mm, yang paling rendah pada ekstrak heksana untuk bakteri *Salmonella enteritidis* dan ekstrak etil asetat untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan nilai hambat sebesar $7,3 \pm 0,6$ mm (Le *et al.*, 2021). Dari hasil perhitungan nilai IC_{50} yang dilakukan oleh Atun (2006), menunjukkan bahwa balanokarpol, vatikanol G, dan vatikanol B yang diisolasi dari *H. mengarawan* bersifat aktif sebagai penangkap radikal hidroksil, dengan nilai IC_{50} berturut-turut 3.83, 2.01, dan 4.71 μM .

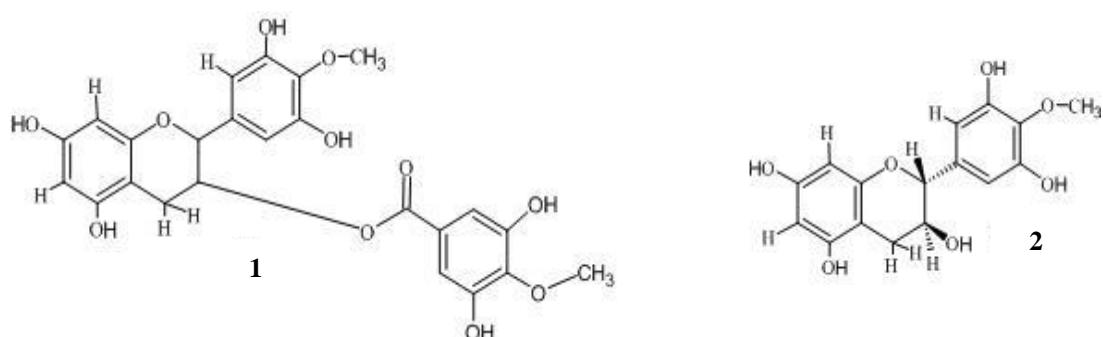
2.4. Kandungan Senyawa Metabolit Sekunder dari Tanaman Dipterocarpaceae

Senyawa metabolit dibagi menjadi dua kategori, yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer adalah senyawa yang diproduksi dalam jumlah terbatas dan penting untuk pertumbuhan tanaman. Sebaliknya, metabolit sekunder adalah senyawa yang tidak digunakan untuk pertumbuhan tetapi diproduksi dalam jumlah lebih banyak saat tanaman mengalami stres (Yuhernita dan Juniarti, 2011).

Senyawa metabolit sekunder dari tanaman Dipterocarpaceae sangat beragam dan memiliki aktivitas biologis yang luas, termasuk antidiabetes, antiplasmodial, antibakteri, antioksidan, antifilaria, sitotoksik, antikolinesterase, antiproliferasi, dan antiinflamasi. Beberapa senyawa yang diidentifikasi meliputi α -viniferin, hopeafenol, dan asam-3-fenil akrilat yang menunjukkan aktivitas sitotoksik dan antikanker (Nalle *et al.*, 2021).

A. Flavonoid

Flavonoid adalah kelompok senyawa polifenol yang paling banyak ditemukan di tanaman dan memiliki struktur dasar berupa kerangka karbon 15 atom (C₆-C₃-C₆), terdiri dari dua cincin benzena (A dan B) yang dihubungkan oleh cincin heterosiklik yang mengandung oksigen. Flavonoid dibagi menjadi enam kelompok berdasarkan tingkat oksidasi dan ikatan heterosiklik, termasuk flavonol, flavon, flavanon, flavanol, antosianin, dan isoflavon (Grgic *et al.*, 2020). Senyawa flavonoid dari kulit batang *D. cornutus* telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi, di antaranya 4-methoxy epigallocatechin-3-O-(3-methyl) gallate (**1**) dan 4-O'-methylgallocatechin (**2**) (Gambar 2) (Wan Mohd Zain *et al.*, 2021).

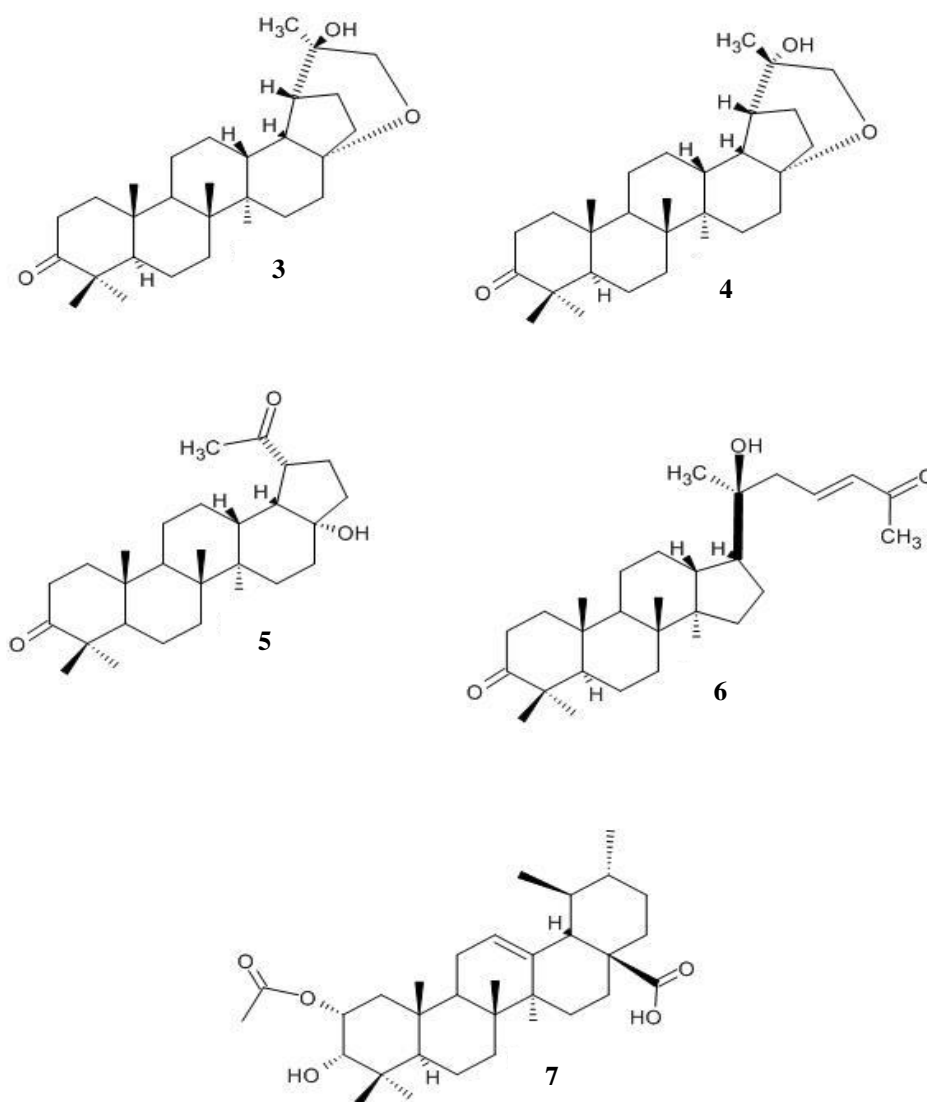


Gambar 2. Senyawa-senyawa flavonoid dari tanaman *D. cornutus*

B. Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa yang tulang punggung karbonnya berasal dari enam unit isoprena (2-metilbutil-1,3 diena), yaitu tersusun dari enam unit C₅ Kerangka karbonnya berasal dari hidrokarbon C₃₀ asiklik, yaitu skualena, bersifat siklik atau asiklik dan sering memiliki gugus alkohol, aldehida atau asam karboksilat (Hidayah *et al.*, 2023). Lima triterpen baru berhasil diisolasi dan dikarakterisasi oleh Khiev *et al.* (2012) dari batang *D. obtusifolius*. Senyawa tersebut meliputi 3-oxo-20-hydroxy-

30 α -methyl-17(29) α -epoxy-28-norlupane (**3**), 3-oxo-20-hydroxy-30 β -methyl-17(29) α -epoxy-28-norlupane (**4**), 3,20-dioxo-28,29-norlupan-17 α -ol (**5**), 27-demethyl-20(S)-dammar-23-ene-20-ol-3,25-dione (**6**), dan 3-epi-cecropic acid (**7**) (Gambar 3).

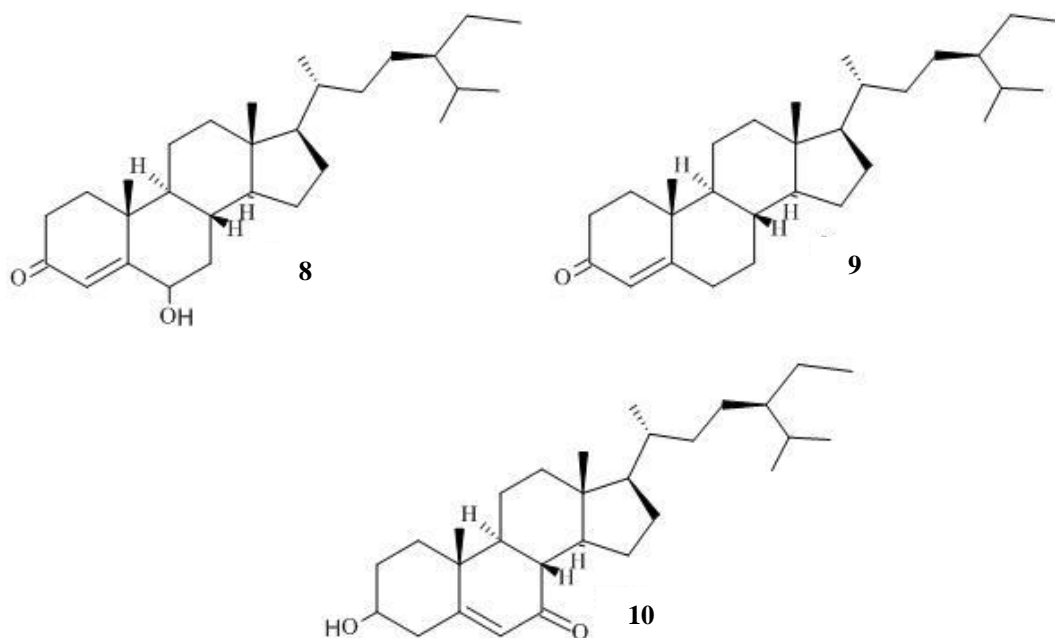


Gambar 3. Lima triterpen baru dari batang *D. obtusifolius*

C. Steroid

Steroid adalah senyawa organik yang termasuk dalam kelompok terpenoid lipid dan dikenal dengan struktur dasar yang terdiri dari empat cincin karbon yang saling menyatu. Senyawa ini memiliki fungsi penting dalam tubuh manusia, termasuk menjaga keseimbangan garam, mengatur metabolisme, meningkatkan fungsi organ seksual, serta berperan dalam berbagai proses biologis (Nasrudin *et al.*, 2017).

Senyawa steroid yang telah diisolasi dari ekstrak aseton kulit batang *Dryobalanops oblongifolia* adalah 6-hidroksistigmast-4-en-3-one (**8**), stigmast-4-en-3-one (**9**), dan 3-hidroksistigmast-5-en-7-one (**10**) (Indriani *et al.*, 2020), yang mana strukturnya dapat dilihat pada Gambar 4.

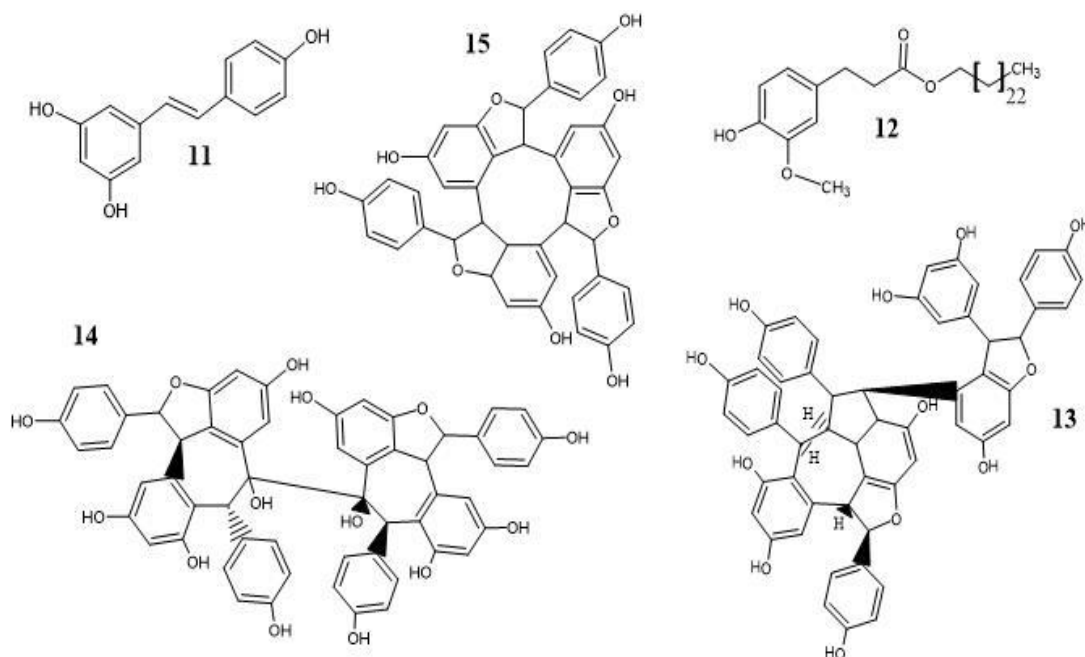


Gambar 4. Senyawa-senyawa steroid dari kulit batang *D. oblongifolia*

D. Stilbenoid

Stilbenoid adalah kelas senyawa polifenolik yang dikenal memiliki berbagai aktivitas biologis, terutama pada pencegahan penyakit kronis terkait penuaan, seperti penyakit kardiovaskular, kanker, dan gangguan neurodegeneratif. Sifat antikanker yang bekerja dengan menghambat proliferasi sel kanker dan merangsang apoptosis (kematian sel). Senyawa ini, termasuk resveratrol, piceatannol, viniferin, dan oligomer resveratrol, terutama ditemukan dalam tanaman dari keluarga Dipterocarpaceae dan Vitaceae. Stilbenoid berfungsi sebagai phytoalexin, yaitu senyawa pelindung yang diproduksi oleh tanaman sebagai respons terhadap stres biotik dan abiotik, termasuk serangan patogen dan paparan UV (Pawlus *et al.*, 2012).

Dari kulit batang *H. ponga*, telah diisolasi senyawa α -viniferin (**15**) beserta senyawa lainnya sebagaimana tertera pada Gambar 5, meliputi *E*-resveratrol (**11**), *tetracosyl ferulate* (**12**), *vaticaphenol* A (**13**), dan $(-)$ -*hopeaphenol* (**14**) (Sasikumar *et al.*, 2019)

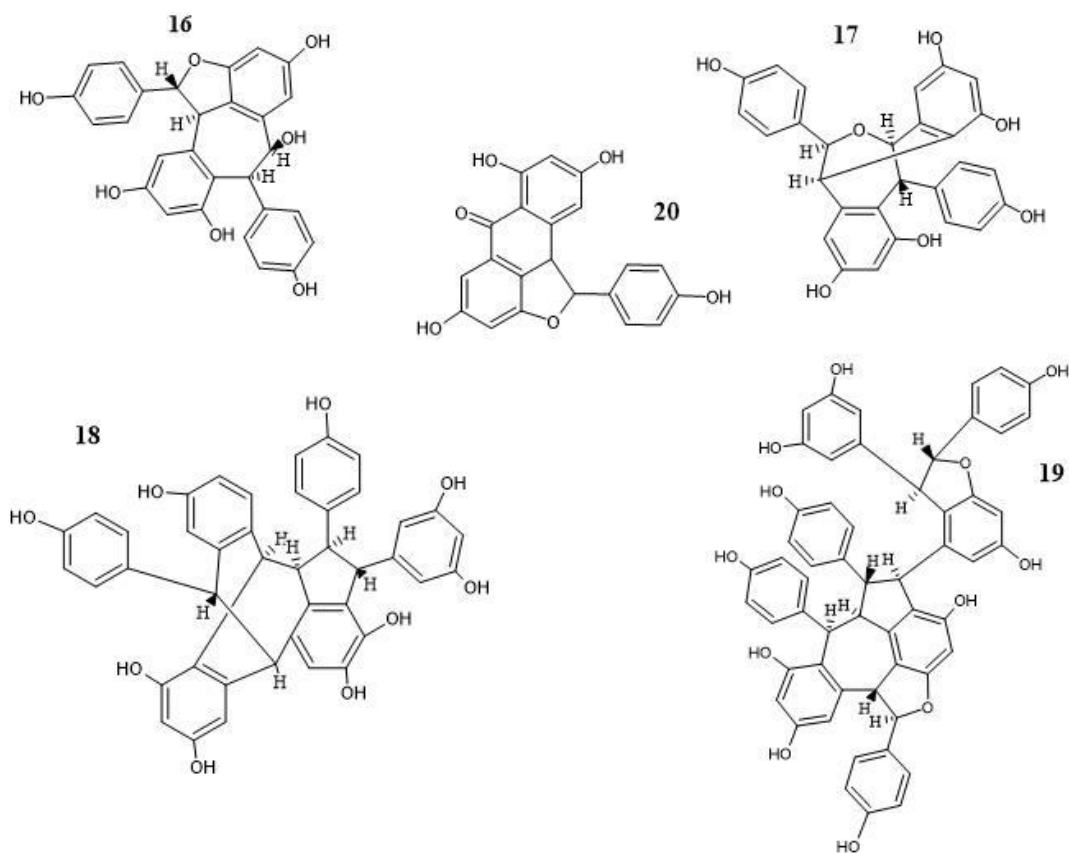


Gambar 5. Senyawa-senyawa yang termasuk stilbenoid

Sedangkan, Lulan *et al.* (2020), juga telah berhasil mengisolasi senyawa oligostilben yakni α -viniferin (**15**) pada ekstrak etil asetat kulit batang *Dipterocarpus littoralis*. Yang mana menunjukkan aktivitas penghambatan α -glukosidase dan α -amilase dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 256,17 (nilai hambat 38,7%) dan 212,79 $\mu\text{g/mL}$ (nilai hambat 38,18%). Memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 3,34 $\mu\text{g/mL}$ yang dikategorikan kuat, aktivitas antiplasmodium *in vitro* terhadap *Plasmodium falciparum* strain 3D7 pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ dengan nilai IC_{50} sebesar 2,76 $\mu\text{g/mL}$ yang dikategorikan kuat.

2.5. Kandungan Senyawa *H. mengarawan*

Berdasarkan penelitian Sahidin, dkk., (2006), tanaman *Hopea* cenderung menghasilkan dimer resveratrol, dan paling banyak ditemukan senyawa balanokarpol (**16**) dan vatikanol B (**19**), sehingga dapat disarankan bahwa kedua senyawa tersebut merupakan *chemical marker* untuk *Hopea*. Beberapa senyawa juga telah berhasil diisolasi dari tanaman *H. mengarawan* balanokarpol (**16**), heimiol A (**17**), vatikanol G (**18**), dan vatikanol B (**19**) (Atun, 2006), yang strukturnya ditunjukkan pada Gambar 6. Juliawaty *et al.* (2009) juga telah mengisolasi turunan 2-arilbenzofuran (diptoindonesin G) (**20**) dan diidentifikasi dari ekstrak aseton kulit pohon *H. mengarawan*, serta bersifat sitotoksik terhadap sel murin leukemia P-388, paling kuat dalam menghambat pertumbuhan sel.



Gambar 6. Senyawa-senyawa hasil isolasi dari tanaman *H. mengarawan*

2.6. Isolasi

2.6.1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah salah satu metode pemisahan yang digunakan untuk memisahkan senyawa aktif atau komponen tertentu dari komponen lain yang tidak diinginkan. Proses ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut, dimana perpindahan dimulai pada lapisan antar muka dan kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Fitria, 2021). Proses pengekstrakan komponen kimia dalam sel tanaman melibatkan pelarut organik yang menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif tersebut akan larut dalam pelarut organik di luar sel, sehingga larutan terpekat berdifusi keluar dari sel. Proses ini

berulang terus sampai tercapai keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel. Faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi meliputi tipe persiapan sampel, waktu ekstraksi, kuantitas pelarut, suhu pelarut, dan tipe pelarut (Hambali dkk., 2014).

Metode ekstraksi menggunakan pelarut dapat dilakukan dengan cara dingin dan panas. Ekstraksi dingin melibatkan maserasi dan perkolasi, sementara ekstraksi panas melibatkan refluks, sokletasi, digesti, infusa, dan dekokta. Selain metode tradisional tersebut, terdapat juga metode ekstraksi modern seperti *Supercritical Fluid Extraction* (SFE), *Pressurized Liquid Extraction* (PLE), dan *Microwave Assisted Extraction* (MAE). Pemilihan metode ekstraksi bergantung pada beberapa faktor, termasuk tujuan ekstraksi, skala ekstraksi, sifat komponen yang akan diekstrak, dan sifat pelarut yang digunakan (Fitria, 2021).

2.6.2. Kromatografi

Kromatografi adalah metode pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kecepatan pergerakan komponen dalam medium tertentu. Dalam kromatografi, komponen-komponen campuran dipisahkan antara dua fase: fase diam dan fase gerak. Fase diam bertindak untuk menahan komponen campuran, sedangkan fase gerak melarutkan komponen-komponen tersebut. Komponen yang lebih mudah tertahan oleh fase diam akan bergerak lebih lambat, sementara komponen yang lebih mudah larut dalam fase gerak akan bergerak lebih cepat (Atun, 2014).

Berdasarkan sifat instrumen yang digunakan, metode analisis kromatografi dapat dibagi menjadi dua jenis: konvensional dan modern. Kromatografi modern adalah teknik pemisahan komponen zat atau zat aktif dari suatu senyawa yang memiliki berat molekul tinggi dengan menggunakan instrumen canggih. Alat yang sering digunakan termasuk HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) dan GC-MS (*Gas Chromatography – Mass Spectrometry*). Di sisi lain, kromatografi konvensional

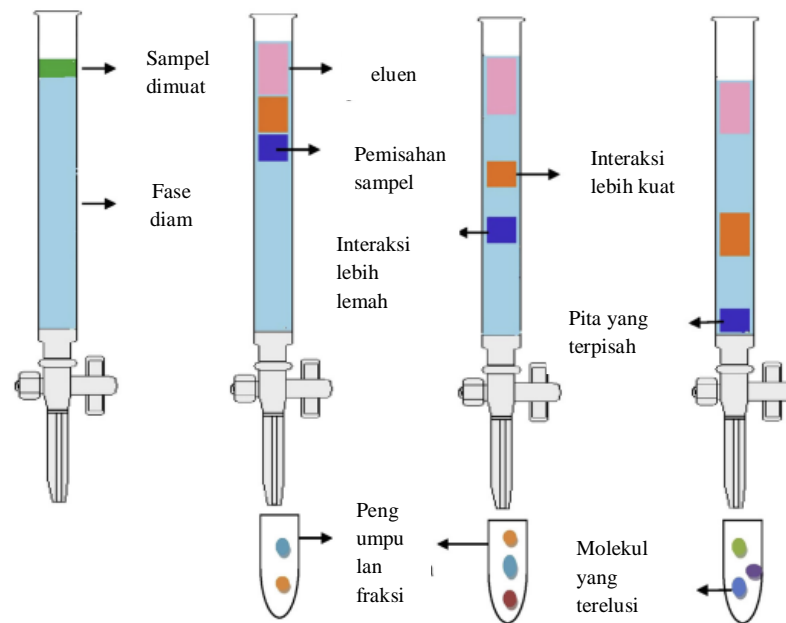
merupakan teknik pemisahan yang dilakukan dengan menggunakan instrumen yang lebih sederhana, seperti kromatografi kertas, kromatografi kolom, dan kromatografi lapis tipis (Nurdiani, 2018).

a) Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Kromatografi cair vakum (KCV) adalah metode fraksinasi yang digunakan untuk memisahkan *crude extract* menjadi fraksi-fraksi yang lebih sederhana. Proses pemisahan ini menggunakan kolom yang berisi fase diam, dengan aliran fase geraknya dibantu oleh pompa vakum. Fase diam yang sering digunakan adalah silika gel atau aluminium oksida (Ghisalberti, 2008). Sampel bergerak cepat terhadap fase diam dan fase gerak dalam kromatografi cair vakum karena proses tersebut terjadi dalam lingkungan vakum. Prinsip kerja kromatografi cair vakum melibatkan partisi dan adsorpsi komponen senyawa, dimana pemisahannya diperkuat oleh tekanan dari alat vakum (Mutmainnah *et al.*, 2017).

b) Kromatografi Kolom (KK)

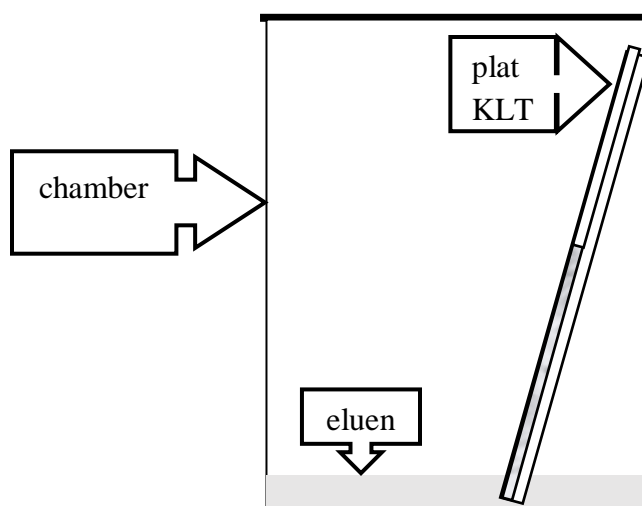
Prinsip pemisahan dalam kromatografi kolom melibatkan kompetisi antara zat terlarut (sampel) dan fase gerak dengan permukaan fase diam. Proses kromatografi kolom ditunjukkan pada Gambar 7 (Srivastava *et al.*, 2021). Sampel, yang dibawa oleh pembawa atau fase gerak (*mobile phase*), bersaing dengan fase diam yang mengandung bahan yang disebut fase diam (*stationary phase*) untuk memisahkan komponen-komponen sampel. Kekuatan adsorpsi terutama dipengaruhi oleh sifat gugus fungsional, yang menentukan tingkat kepolaran. Proses adsorpsi dipengaruhi oleh kekuatan ikatan antara larutan dan adsorben, serta kekuatan untuk memisahkan larutan dari adsorben (Wati, 2014).



Gambar 7. Ilustrasi proses kromatografi kolom

c) Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) termasuk dalam kategori kromatografi planar dan merupakan salah satu teknik pemisahan komponen-komponen campuran suatu senyawa. Proses ini melibatkan partisi senyawa di antara padatan penyerap (adsorben atau fase diam), yang diletakkan pada plat kaca atau aluminium, dengan pelarut (fase gerak) yang mengalir melewati adsorben, ditunjukkan pada Gambar 8. KLT efektif digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang memiliki sifat hidrofobik, seperti lipida dan hidrokarbon, yang sulit dipisahkan menggunakan kromatografi kertas (Nurdiani, 2018).



Gambar 8. Ilustrasi proses kromatografi lapis tipis

Secara umum, kemampuan suatu pelarut pengembang (kekuatan elusi) untuk menggerakkan senyawa pada suatu adsorben berkaitan dengan polaritas pelarut. Urutan kekuatan elusi beberapa pelarut adalah sebagai berikut: air > metanol > etanol > aseton > etil asetat > kloroform > dietil eter > metilen diklorida > benzena > toluena > karbon tetraklorida > heksan > petroleum eter (Atun, 2014).

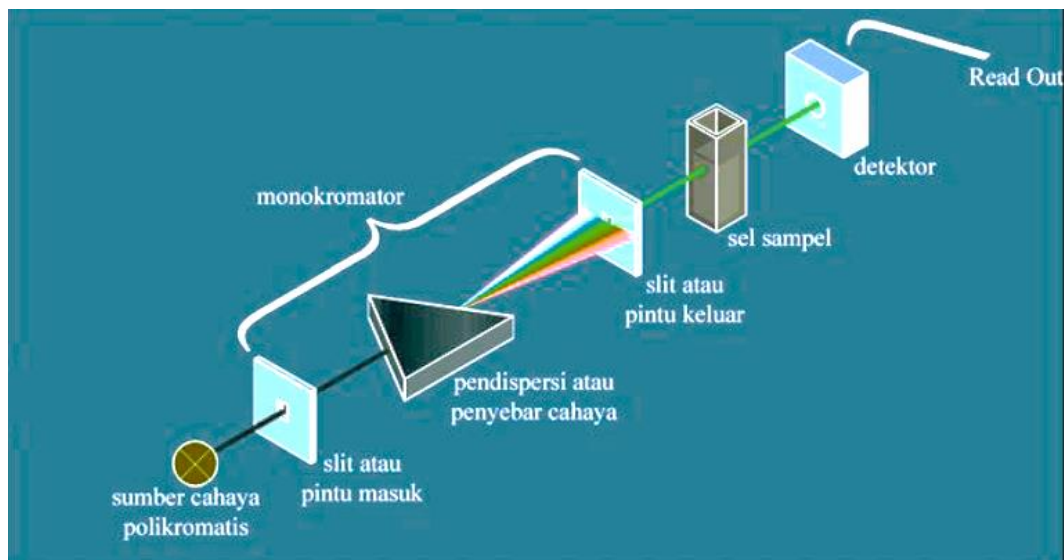
2.7. Karakterisasi Senyawa Murni

Dalam penelitian ini, karakterisasi senyawa murni dilakukan menggunakan spektrofotometer dengan tujuan untuk menentukan struktur dari senyawa hasil isolasi. Teknik spektrofotometer ini bergantung pada radiasi elektromagnetik, yang merupakan energi yang dipancarkan dan menembus ruang dalam bentuk gelombang-gelombang (Fessenden dan Fessenden, 1982). Adapun metode spektrofotometer yang akan digunakan adalah spektrofotometer ultraviolet-visible (UV-Vis), spektrofotometer *Infra Red* (IR), dan spektrofotometer *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR).

2.7.1. Spektrofotometer Ultraviolet-Visible (UV-Vis)

Spektrofotometer UV-Vis merupakan pengukuran panjang gelombang, intensitas sinar ultraviolet serta cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektrofotometer UV-Vis adalah salah satu teknik analisis spektrofotometer yang memakai sumber REM (radiasi elektromagnetik), ultraviolet dekat (190-380 nm), dan sinar tampak (380-78 nm) (Yulianti, 2020).

Absorpsi cahaya ultraviolet atau cahaya tampak mengakibatkan transisi elektronik, yaitu promosi elektron-elektron dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke keadaan tereksitasi berenergi lebih tinggi. Transisi ini memerlukan 40-300 kkal/mol. Energi yang terserap selanjutnya terbuang sebagai kalor, sebagai cahaya atau tersalurkan dalam reaksi. Panjang gelombang cahaya UV atau tampak bergantung pada mudahnya promosi elektron. Molekul-molekul yang memerlukan lebih banyak energi untuk promosi elektron akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih pendek. Molekul yang memerlukan energi lebih sedikit akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih panjang. Senyawa yang menyerap cahaya dalam daerah tampak (senyawa berwarna) mempunyai elektron yang lebih mudah dipromosikan daripada senyawa yang menyerap pada panjang gelombang UV yang lebih pendek (Fessenden dan Fessenden, 1982). Skema proses spektrofotometer UV-Vis ditunjukkan pada Gambar 9 (Suhartati, 2017).



Gambar 9. Skema kerja spektrofotometer UV-Vis

Spektrum UV senyawa dalam pelarut metanol menghasilkan serapan maksimum pada $\lambda_{\text{maks}} (\log \epsilon) = 228 (\text{sh}, 4.11), 284 (\text{sh}, 3.47), 323 (3.64) \text{ nm}$. Data tersebut menunjukkan bahwa senyawa ini adalah senyawa aromatik. Spektrum UV dengan puncak-puncak serapan yang khas untuk senyawa-senyawa turunan fenol dan puncak serapan pada 323 nm menunjukkan adanya konjugasi dan senyawa turunan fenol (Jayuska, 2001).

Data diatas diperkuat dengan penambahan pereaksi larutan NaOH dengan bertujuan untuk mengetahui adanya kromofor fenol yang terkonjugasi pada $\lambda_{\text{maks}} (\log \epsilon) = 248 (\text{sh}, 3.72), 345 (3.67)$. Puncak serapan 248 dan 345 nm menunjukkan pergeseran batokromik, yakni dari 228 nm menjadi 248 bergeser sebesar 20 nm dan dari 323 nm menjadi 345 nm bergeser sebesar 23 nm. Data ini menunjukkan bahwa kromofor fenol mengalami konjugasi (Jayuska, 2001).

2.7.2. Spektrofotometer *Infra Red* (IR)

Radiasi inframerah mengacu pada spektrum elektromagnetik yang berada pada daerah gelombang sinar tampak dan *microwave*. Batasan panjang gelombang yang umum digunakan untuk pendeteksian senyawa organik berkisar dari 4000 cm^{-1} sampai 400 cm^{-1} . Posisi pita serapan IR ditentukan dengan menggunakan satuan cm^{-1} (Silverstein *et al.*, 2005).

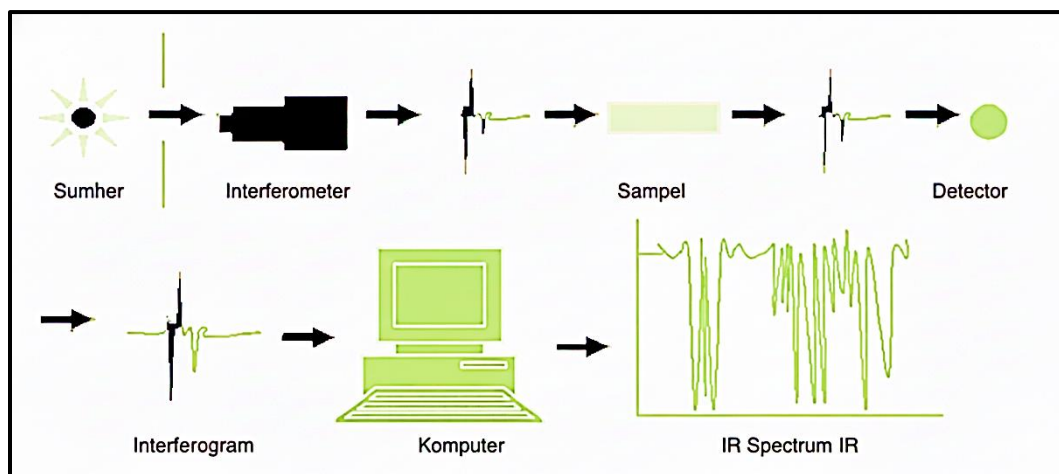
Bila molekul menyerap radiasi inframerah, energi yang diserap menyebabkan kenaikan dalam amplitudo getaran atom-atom yang terikat itu. Jadi molekul ini berada dalam keadaan vibrasi tereksitasi (energi yang terserap ini akan dibuang dalam bentuk panas bila molekul itu kembali ke keadaan dasar). Keadaan vibrasi dari ikatan terjadi pada keadaan tetap, atau terkuantifikasi, tingkat-tingkat energi. Panjang gelombang eksak absorpsi oleh suatu tipe ikatan tertentu, bergantung pada macam getaran dari ikatan tersebut. Oleh karena itu, tipe ikatan yang berlainan (C-H, C-C, O-H, dan sebagainya) menyerap radiasi inframerah pada panjang gelombang karakteristik yang berlainan.

Ikatan dalam sebuah molekul dapat menjalani berbagai macam osilasi; oleh karena itu, suatu ikatan tertentu dapat menyerap energi lebih daripada satu panjang gelombang. Banyaknya energi yang diabsorpsi oleh suatu ikatan tergantung pada perubahan dalam momen ikatan seperti vibrasi atom-atom yang saling berikatan lebih besar perubahan dalam momen ikatan mengakibatkan absorpsi sejumlah energi juga lebih besar. Ikatan non-polar tidak mengabsorpsi radiasi inframerah karena tidak ada perubahan momen ikatan apabila atom-atom saling berosilasi. Ikatan non-polar relatif menyebabkan absorpsi yang lemah. Pada ikatan polar menunjukkan absorpsi yang kuat (Fessenden dan Fessenden, 1982).

Skema instrumen spektrofotometer inframerah dapat dilihat pada Gambar 10. Radiasi dari sumber sinar melewati celah dan diteruskan ke dalam interferometer.

Selanjutnya, radiasi akan melewati sampel dan diteruskan ke detektor. Sinyal yang

terbaca oleh detektor didigitalisasi dan dikirim ke komputer tempat proses transformasi fourier dilakukan sehingga dihasilkan spektrum inframerah (Alauhdin dkk., 2021).



Gambar 10. Skema kerja spektrofotometer *infra red*

Spektrum inframerah dengan pelet KBr menghasilkan puncak-puncak serapan pada bilangan gelombang $\nu_{\text{maks}} = 3400, 1605, 1513, 1450, 833 \text{ cm}^{-1}$, dan puncak-puncak pada daerah sidik jari. Puncak serapan pada 3400 cm^{-1} menunjukkan serapan vibrasi ulur OH, sedangkan serapan pada $1605, 1513, \text{ dan } 1450 \text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan C=C aromatik dan serapan pada 833 cm^{-1} menunjukkan serapan untuk benzen yang tersubstitusi. Data spektrum UV diatas dan inframerah tersebut memberi petunjuk bahwa senyawa ini adalah suatu senyawa turunan fenol yang tak terkonjugasi berupa resveratrol oligomer (Jayuska, 2001).

2.7.3. Spektrofotometer *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR)

Spektrofotometer NMR adalah teknik yang digunakan untuk menentukan struktur senyawa yang tidak diketahui. NMR dapat digunakan untuk menjelaskan dinamika dan mekanisme transformasi metabolit serta untuk mengeksplorasi

kompartementalisasi jalur metabolisme (Markley *et al.*, 2017). Spektrofotometer NMR memanfaatkan interaksi antara nukleus yang bertindak sebagai magnet kecil dan medan magnetik eksternal, sehingga dapat diterapkan untuk mengevaluasi ikatan kimia dan lingkungan nuklir. Sinyal yang diperoleh dari spektrofotometer NMR memberikan informasi tentang interaksi antara inti dan elektron serta interaksi inti, yang dapat membantu menentukan struktur senyawa kimia. Spektrum NMR yang dihasilkan adalah kumpulan satu atau lebih puncak resonansi pada frekuensi tertentu. Ada dua jenis spektrofotometer NMR, yaitu ^1H -NMR yang memberikan informasi pergeseran kimia dari berbagai jenis proton (Ismail *et al.*, 2022). Tabel 1 menunjukkan letak pergeseran kimia beberapa senyawa organik dalam spektra ^1H -NMR (Sudjadi, 1985).

Tabel 1. Letak pergeseran kimia dalam spektrum ^1H -NMR

Senyawa Proton	^1H (δ) ppm
C-CH ₃ (alkana)	0,5-2
C \equiv C-H (alkuna)	2,5-3,5
H ₃ C-O- (eter)	3,5-3,8
H ₂ C=C (alkena)	4,5-7,5
Ar-OH (fenol)	4-8
R-OH (alkohol)	5-5,5
Ar-H (aromatik)	6-9
-CO-H (aldehid)	9,8-10,5
-CO-OH	11,5-12,5

Di spektra ^{13}C -NMR, terlihat pergeseran kimia untuk jenis-jenis atom karbon yang terkandung dalam suatu senyawa organik. Pergeseran kimia ini memberikan informasi tentang lingkungan kimia dari atom karbon tersebut dalam molekul. Letak pergeseran kimia dalam spektrum ^{13}C -NMR bervariasi tergantung pada struktur senyawa organik yang sedang dianalisis (Sudjadi, 1985) ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Letak pergeseran kimia dalam spektrum ^{13}C -NMR

Jenis-Jenis Gugus Fungsional	^{13}C (δ) ppm
C=O (keton)	205-220
C=O (aldehid)	190-200
C=O	170-185
C aromatik	125-150
C=C (alkena)	115-140
RCH ₂ OH	50-65
RCH ₂ Cl	40-45
RCH ₂ NH ₂	37-45
R ₃ CH	25-35
CH ₃ CO-	20-30
R ₂ CH ₂	16-25

Pada spektrum ^1H -NMR dengan menggunakan pelarut aseton-d₆ memberikan pergeseran kimia pada (δ , ppm) 8,4, 8,3 (7H, br, s); 7,23 (4H, d, J = 8,6 Hz); 6,93 (2H, d, J = 8,6 Hz); 6,93 (2H, d, J = 8,6 Hz); 6,83 (4H, d, J = 8,6 Hz); 6,65 (1H, d, J = 16,7 Hz); 6,60 (2H, d, J = 8,6 Hz); 6,55 (1H, d, J = 16,7 Hz); 6,46 (1H, s), 6,25 (4H, d, J = 2,1 Hz); 6,18 (2H, t, J = 2,1 Hz); 5,43 (2H, d, J = 5,1 Hz) dan 4,54 (2H, d, J = 5,1 Hz). Pada spektrum ^1H -NMR adanya proton-proton alifatik, daerah aromatik dan hidroksi yang jumlah protonnya 32 atom H (Jayuska, 2001).

Pada ^{13}C -NMR dengan adanya pelarut aseton-d₆ adanya karbon-karbon daerah sp^3 dan daerah sp^2 berjumlah 19 sinyal, memberikan pergeseran kimia pada (δ , ppm) = 162,6; 159,8; 158,2; 158,1; 147,3; 133,9; 133,4; 130,1; 128,5; 127,9; 122,2; 119,9; 116,14; 116,09; 106,9; 102,1; 94,1; 91,3; dan 57,9 dari DEPT 135 dan 90 adanya 11 sinyal metin dan tidak adanya sinyal metil serta metilen. Berarti 8 sinyal atom karbon kuartener, 5 sinyal dalam bentuk oksiaril dengan 9 atom karbon ini menyatakan adanya 9 atom yang terikat pada atom karbon dari 3 sinyal dalam bentuk karbon kuartener yang lainnya (Jayuska, 2001).

Pada spektrum ^1H -NMR senyawa ini menunjukkan adanya 6 sinyal proton aromatik kopling orto dari tiga *p*-hidroksifenil pada δ_{H} 7,23 (2H, d, J=8,6 Hz)/6,83 (2H, d,

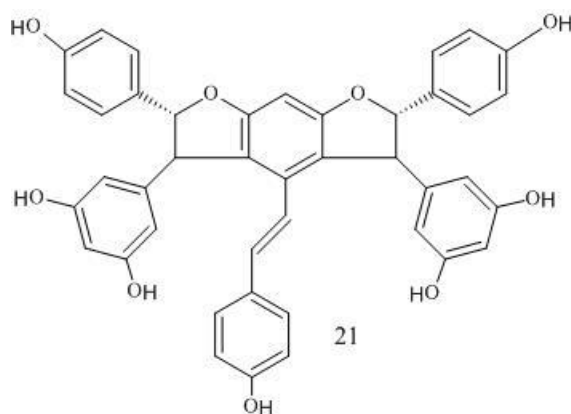
$J=8,6$ Hz); 7,23 (2H, *d*, $J=8,6$ Hz)/6,83 (2H, *d*, $J=8,6$ Hz), dan 6,93 (2H, *d*, $J=8,6$ Hz)/6,60 (2H, *d*, $J=8,6$ Hz), yang bersesuaian dengan sinyal spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ 127,9 (C-2 dan C-9)/116,1 (C-3 dan C-5), 127,9 (C-2'' dan C-6'')/116,1 (C-3'' dan C-5''), dan 128,5 (C-2' dan C-6')/116,1 (C-3' dan C-5'). Dari data diatas menyatakan adanya gugus *p*-hidroksifenil identik yang mempunyai konfigurasi sama dan satu lagi dalam posisi yang lain (Jayuska, 2001).

Selanjutnya pada spektrum $^1\text{H-NMR}$ juga menunjukkan adanya 4 sinyal proton aromatik kopling meta dari dua gugus 3,5-*m*-dihidroksifenil pada δ_{H} 6,25 (4H, *d*, $J=2,1$ Hz) dan 6,18 (2H, *t*, $J=2,1$ Hz). Didukung adanya dua pasang sinyal spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ pada δ_{C} 106,9 (C-10 dan C-14)/102,1 (C-12). Dari data diatas menyatakan adanya 2 gugus 3,5-*m*-dihidroksifenil yang identik (Jayuska, 2001).

Karakteristik untuk sinyal proton benzik dalam bentuk gugus diaril-dihidrobenzofuran adanya δ_{H} pada 5,43 (2H, *d*, $J=5,1$ Hz), dan 4,54 (2H, *d*, $J=5,1$ Hz) dalam spektrum $^1\text{H-NMR}$ dan ditunjang oleh resonansi sinyal spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ menunjukkan adanya ikatan tunggal karbon pada δ_{C} 94,1 (C-7 atau C-7'') dan 57,9 (C-8 atau C-8''). Konstanta kopling ($J=5,1$ Hz) dari dua pasang proton dengan multiplisitas *doublet* ini menyatakan dua pasang proton posisi α,β diaksial (Jayuska, 2001).

Pada $^1\text{H-NMR}$ ada pasangan multiplisitas *doublet* pada 6,65 dan 6,55 ppm (masing-masing 1H, $J=16,7$ Hz, H-7' dan H-8'), dua *doublet* sinyal karbon pada 122,2 (C-7'') dan 130,1 (C-8'), ini menunjukkan adanya vinil dengan konfigurasi *trans*.

Memperhatikan data spektrum ultraviolet, inframerah, $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ yang menggunakan pelarut aseton- d_6 dari senyawa yang ditemukan ini ternyata sangat mirip sekali dengan ampelopsin-E (**21**) (Gambar 11).



Gambar 11. Struktur senyawa ampelopsin-E

2.7.4. *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS)*

Kromatografi cair-spektrometri massa (LC-MS) adalah teknik kimia analitik yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik kromatografi cair (atau HPLC) dengan kemampuan analisis spektrometri massa, umumnya digunakan di laboratorium untuk analisis kualitatif dan kuantitatif obat zat, produk obat, dan sampel biologis (Kumar *et al.*, 2016). Prinsip LC-MS adalah proses yang menggabungkan pemisahan zat dalam sampel menggunakan *liquid chromatography* (LC) dengan deteksi dan identifikasi berdasarkan massa menggunakan *mass spectrometry* (MS). Sampel terlebih dahulu dipisahkan dalam kolom kromatografi berdasarkan sifat fisikokimia, kemudian ionisasi dan dianalisis oleh MS untuk menentukan massa dan struktur molekulnya (Zhou *et al.*, 2012).

Spektrofotometer massa biasanya terdiri dari tiga bagian utama: sumber ion, penganalisis massa, dan detektor. Sumber ion mengubah molekul sampel menjadi ion, sementara penganalisis massa memisahkan ion-ion ini baik dalam tabung *time-of-flight* maupun medan elektromagnetik sebelum diukur oleh detektor. Beberapa pilihan sumber ion tersedia, termasuk ionisasi elektropray (ESI), ionisasi kimia

tekanan atmosfer (APCI), fotoionisasi tekanan atmosfer (APPI), dan pemboman atom cepat (FAB). Karena sifat kimia metabolit yang beragam, analisis sampel biologis seringkali diperlukan dalam mode ionisasi +ve (positif) dan -ve (negatif) pada rentang pemindaian m/z 50-1000 hingga untuk memaksimalkan cakupan metabolom. ESI, sejauh ini merupakan metode pilihan dalam studi metabolomik berbasis LC-MS, karena kemampuan ionisasi lunaknya menghasilkan sejumlah besar ion melalui pertukaran muatan dalam larutan dan seringkali membentuk ion molekul utuh yang membantu identifikasi awal. APCI dan APPI juga biasanya menginduksi sedikit atau tidak ada fragmentasi *in-source* dan dianggap relatif toleran terhadap konsentrasi buffer yang tinggi. Pendekatan ionisasi ini melengkapi ESI untuk analisis senyawa non-polar dan stabil secara termal seperti lipid (Zhou *et al.*, 2012).

Metode deteksi dalam instrumen LC-MS biasanya menggunakan berbagai jenis detektor, diantaranya adalah detektor indeks refraktif, elektrokimia, floresens, UV-tampak, dan yang paling banyak digunakan adalah spektrofotometer massa. Detektor jenis spektrofotometer massa ini merupakan salah satu detektor yang mampu menghasilkan data dalam bentuk 3D dengan penggambaran kekuatan sinyal dan spektrum massa. Spektrum massa yang dihasilkan akan menyajikan informasi berupa berat molekul, identitas, kuantitas, dan kemurnian sampel sehingga dapat meningkatkan kualitas hasil yang diperoleh pada analisis kuantitatif dan kualitatif (Ramadhan, 2019).

Saat ini, telah digunakan dalam industri obat-obatan pengembangan pada berbagai tahap termasuk penyaringan, stabilitas metabolik, identifikasi metabolit, skrining obat *in vivo*, identifikasi pengotor, pemetaan peptida, pemetaan glikoprotein, dereplikasi produk alami, dan skrining bioafinitas. Ada beberapa keuntungan LCMS dibandingkan metode kromatografi lainnya, diantaranya adalah sebagai berikut:

1. Selektivitas: puncak yang keluar bersama dapat diisolasi dengan selektivitas massa dan tidak dibatasi dengan resolusi kromatografi.

2. Penugasan puncak: sidik jari molekuler untuk senyawa yang diteliti dihasilkan, memastikan penugasan puncak yang benar dalam keberadaan matriks yang kompleks.
3. Informasi berat molekul: konfirmasi dan identifikasi molekul yang diketahui.
4. Informasi struktural: fragmentasi terkendali memungkinkan penjelasan struktural suatu kimia.
5. Pengembangan metode yang cepat: memberikan identifikasi analit yang dielusi dengan mudah tanpa validasi waktu retensi.
6. Kemampuan beradaptasi matriks sampel: mengurangi waktu persiapan sampel dan dengan demikian menghemat waktu.
7. Kuantisasi: data kuantitatif dan kualitatif dapat diperoleh secara mudah dengan keterbatasan optimasi instrumen (Kumar *et al.*, 2016).

2.8. Kanker

Kanker terjadi ketika sel-sel dalam tubuh tumbuh secara abnormal dan tidak terkendali, kemudian menyebar dari tempat asalnya ke bagian tubuh lainnya. Proses ini dikenal sebagai metastasis dan sering terjadi melalui aliran darah atau sistem limfatik. Namun, sayangnya, dalam banyak kasus, kanker metastasis sulit diobati dengan pengobatan yang tersedia saat ini (Jiramongkol *and* Lam, 2020).

Adapun sifat umum dari kanker adalah sebagai berikut:

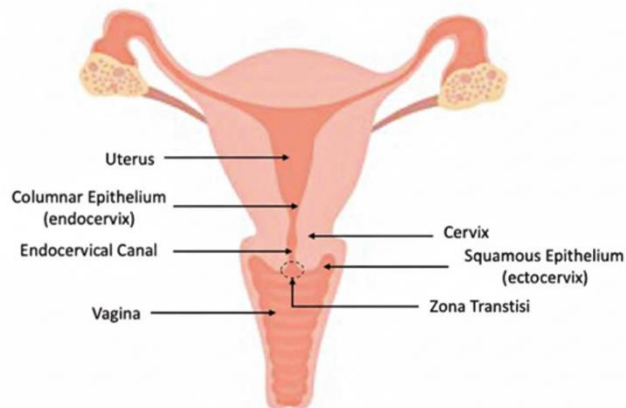
- a. Pertumbuhan berlebihan.
- b. Gangguan diferensiasi dari sel dan jaringan sehingga mirip jaringan mudigah.
- c. Bersifat invasif, mampu tumbuh di jaringan sekitarnya.
- d. Bersifat metastasis, menyebarkan pertumbuhan baru.
- e. Memiliki hereditas bawaan, yaitu turunan sel kanker juga dapat menyebabkan kanker.

- f. Pergeseran metabolisme ke arah pembentukan makromolekul dari nukleosida dan asam amino serta peningkatan katabolisme karbohidrat untuk energi sel (Agustini, 2004).

2.8.1. Kanker Serviks

Kanker serviks muncul di area serviks, yang merupakan saluran sempit menuju rahim dan berhubungan dengan vagina melalui saluran endoserviks (Gambar 12). Serviks dibagi menjadi ektoserviks yang dilapisi oleh sel epitel skuamosa berlapis, sementara endoserviks terdiri dari sel epitel kolumnar sederhana. Pertemuan antara epitel skuamosa berlapis dan kolumnar membentuk zona transisi di saluran endoserviks. Daerah ini, disebut zona transformasi, terdiri dari epitel metaplastik yang menggantikan epitel berlapis kolumnar pada endoserviks. Daerah ini merupakan tempat yang paling mungkin berkembang menjadi kanker serviks karena kemungkinan transformasi pramaligna melalui infeksi HPV (Burmeister *et al.*, 2022).

Dua sub tipe histologis utama dari kanker serviks adalah karsinoma sel skuamosa (SCC) dan adenokarsinoma. SCC berkembang dari sel skuamosa di ektoserviks dan merupakan penyebab sekitar 75% kasus karsinoma serviks, sementara adenokarsinoma berasal dari sel kelenjar yang memproduksi lendir di endoserviks. Wanita yang terinfeksi HIV memiliki risiko enam kali lebih tinggi untuk mengalami infeksi persisten dengan berbagai jenis HPV, meningkatkan risiko mereka terkena kanker serviks (Burmeister *et al.*, 2022).



Gambar 12. Anatomi organ reproduksi wanita

Kanker serviks pada stadium awal sering kali tidak menunjukkan gejala dan biasanya didiagnosis melalui pemeriksaan rutin atau pemeriksaan panggul. Gejala yang umumnya muncul meliputi pendarahan vagina yang berat atau tidak normal, terutama setelah hubungan seksual, mungkin juga disertai dengan keputihan yang encer, berlendir, atau bernanah dan berbau tidak sedap, walaupun hal ini jarang terjadi. Pada tahap lanjut, pasien dapat mengalami pembengkakan pada ekstremitas bawah, nyeri panggul atau punggung bagian bawah. Selain itu, keluhan yang terkait dengan usus dan/atau kandung kemih seperti perubahan tekanan atau keluarnya urin dan/atau feses melalui vagina menunjukkan kemungkinan invasi kandung kemih dan rektum (Burmeister *et al.*, 2022).

Pemeriksaan panggul dilakukan pada pasien yang mengalami gejala kanker serviks dan biasanya mencakup visualisasi serviks dan mukosa vagina serta biopsi jika ada kelainan yang terlihat. Serviks mungkin tampak normal jika penyakitnya bersifat mikro-invasif atau terlokasi di dalam saluran endoserviks. Namun, jika tumor besar, seluruh serviks mungkin tergantikan, dan lesi metastasis dapat diidentifikasi melalui pembesaran kelenjar getah bening yang teraba (Burmeister *et al.*, 2022).

2.9. Uji Antikanker Secara *In Vitro*

2.9.1. Reagen Resazurin

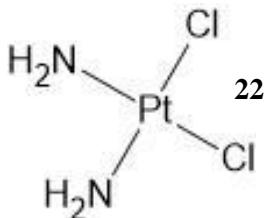
Resazurin dengan rumus molekul $C_{12}H_7NO_4$ yang memiliki nama IUPAC yaitu 7-*hydroxy-10-oxidophenoxazin-10-ium-3-one*, dengan bobot molekul 229,18828 g/mol. Resazurin merupakan senyawa aktif dari Alamar Blue diketahui sebagai indikator reaksi reduksi oksidasi (redoks) yang digunakan untuk menilai fungsi metabolisme sel sejak lama. Resazurin juga dikenal sebagai diazol-resorcinol, azoresorcin, resazoin, resazurine, yang larut dalam air, tidak beracun, dan mudah masuk kedalam membran sel. Resazurin memiliki warna biru yang tidak berfluoresensi dan dapat tereduksi menjadi warna pink yang berfluoresensi dalam bentuk resorufin. Mekanisme perubahan warna dari biru (resazurin) menjadi warna pink (resorufin) merupakan indikator terjadinya reduksi oleh sel yang ditunjukkan pada (Syahputra, 2015).

Uji tersebut memiliki sensitivitas tinggi, tidak beracun, kesederhanaan, permeabel terhadap sel, stabil untuk beberapa bulan pada suhu ruangan jika terlindungi dari cahaya dan fleksibilitasnya yang tinggi dalam hal metode pengukuran, serta dapat diterapkan untuk mempelajari sel mamalia, bakteri, tumbuhan, dan ikan. Uji ini mengukur kemampuan sel yang aktif secara metabolik untuk mereduksi resazurin secara enzimatis menjadi resorufin. Jumlah resorufin yang dihasilkan setelah inkubasi sel dengan resazurin sebanding dengan jumlah sel yang hidup, yang dapat diukur secara kolometrik atau fluorometrik. Namun, metode pilihan untuk mencapai tingkat sensitivitas yang cukup adalah deteksi fluoresensi (Luzak *et al.*, 2022).

Pengujian ini menggunakan larutan Dimetil Sulfoksida (DMSO) sebagai kontrol negatif dan sebagai pelarut sampel karena dapat larut dengan baik dalam berbagai pelarut organik, yang bersifat polar maupun nonpolar sehingga dapat meningkatkan kelarutan sampel. Adapun cisplatin sebagai kontrol positif yang merupakan zat murni agen antikanker dan biasanya digunakan sebagai pembanding (Hamzah, 2018).

2.9.2. Cisplatin

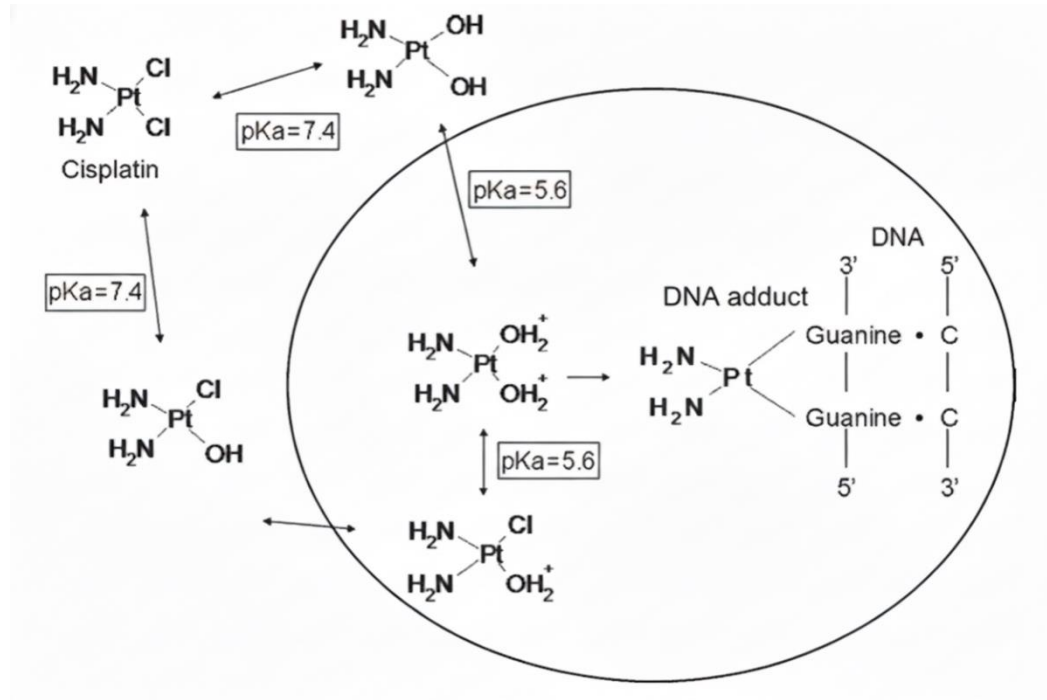
Nama kimia dari cisplatin adalah *cis-diamminedichloroplatinum(II)*, yang memiliki struktur kimia kompleks Pt(II) bergeometri *square* planar dengan dua ligan amonia dan dua klorida dalam konfigurasi cis (Gambar 13). Cisplatin merupakan agen kemoterapi berbasis platinum yang digunakan secara luas sebagai obat antikanker, dengan aktivitas antineoplastik utama melalui pembentukan ikatan silang (*cross-link*) dan *adduct* pada DNA, serta kontribusi pembentukan radikal superoksida yang memperkuat efek antikanker (Barabas *et al.*, 2008).



Gambar 13. Struktur senyawa cisplatin

Mekanisme kerja cisplatin sebagai agen antikanker ditunjukkan pada Gambar 14, yang diawali dengan proses aktivasi melalui reaksi *aquation* di dalam sel, yaitu ketika ligan klorida pada cisplatin digantikan oleh molekul air akibat rendahnya konsentrasi ion klorida intraseluler. Bentuk teraktivasi ini kemudian bersifat sangat reaktif dan berikatan secara kovalen dengan DNA, terutama pada atom N7 basa purin, khususnya guanin. Ikatan tersebut menghasilkan DNA *adduct* dan ikatan silang (*cross-link*), terutama ikatan intraranta, yang menyebabkan distorsi struktur heliks DNA. Perubahan struktur DNA ini menghambat proses replikasi dan transkripsi DNA, sehingga mengganggu pembelahan sel. Akumulasi kerusakan DNA selanjutnya memicu respons kerusakan DNA dan aktivasi jalur apoptosis, yang berujung pada kematian sel kanker. Konfigurasi cis dan geometri *square* planar merupakan prasyarat penting bagi pembentukan *adduct* DNA yang stabil dan toksik, sehingga menentukan efektivitas aktivitas antikanker cisplatin. Selain melalui kerusakan DNA, cisplatin

dengan DNA dapat memicu pembentukan radikal superoksida, yang berkontribusi terhadap efek sitotoksik cisplatin pada sel kanker (Barabas *et al.*, 2008).



Gambar 14. Mekanisme kerja cisplatin sebagai agen kemoterapi

Selain kegunaannya sebagai obat kemoterapi, cisplatin juga memiliki beberapa kekurangan utama yang membatasi penggunaannya secara klinis, terkait dengan tingginya toksisitas sistemik. Efek samping yang paling signifikan adalah nefrotoksistas, yaitu kerusakan ginjal yang bersifat *dose-dependent* dan terutama terjadi pada tubulus proksimal, sehingga pemberian cisplatin harus disertai dengan hidrasi dan diuresis yang ketat. Selain itu, cisplatin juga dapat menimbulkan mual dan muntah berat, ototoksistas berupa gangguan pendengaran yang sering kali bersifat irreversibel, serta neurotoksistas yang ditandai dengan neuropati perifer pada penggunaan dosis tinggi atau jangka panjang. Efek samping lain yang dilaporkan meliputi mielosupresi dan gangguan elektrolit. Di samping masalah toksisitas, penggunaan cisplatin juga menghadapi kendala berupa resistensi sel kanker, yang dapat terjadi melalui penurunan akumulasi obat di dalam sel, inaktivasi oleh

glutation, peningkatan perbaikan DNA, serta gangguan jalur apoptosis, sehingga efektivitas terapinya dapat menurun (Barabas *et al.*, 2008)

2.9.3. Sel HeLa

Sel HeLa adalah lini sel manusia pertama yang dikulturkan dan menjadi lini sel manusia yang paling banyak digunakan dalam penelitian biologi. Aplikasinya sebagai organisme model telah berkontribusi pada karakterisasi berbagai proses biologi penting dan lebih dari 70.000 publikasi. Lini sel ini berasal dari tumor kanker serviks seorang pasien bernama Henrietta Lacks, yang kemudian meninggal karena kankernya pada tahun 1951 (Landry *et al.*, 2013). Awalnya, garis sel ini disebut-sebut diberi nama Helen Lane untuk menjaga anonimitas Lacks (Patel *et al.*, 2009).

Selama bertahun-tahun, sel-sel lain telah menjadi bagian integral dari penelitian biomedis, digunakan untuk mempelajari jalur biokimia berbagai jaringan. Sel HeLa merupakan kanker tingkat tinggi dengan mutasi spesifik yang memungkinkan pertumbuhan berkelanjutan, menjadikannya sumber daya yang langka dan berharga. Meskipun banyak lini sel manusia telah dikembangkan sejak saat itu, HeLa tetap paling banyak digunakan karena kualitasnya yang unik (Masters, 2002).

Salah satu penggunaan sel HeLa yang paling awal adalah dalam pengembangan vaksin melawan virus polio (Landry *et al.*, 2013). George Gey dan timnya menemukan bahwa sel HeLa dapat dengan mudah terinfeksi dan dihancurkan oleh virus polio, sehingga menyediakan metode pengujian yang sederhana. Hal ini mengarah pada terciptanya fasilitas produksi sel HeLa di Tuskegee *Institute*, yang mendistribusikan sekitar 600.000 kultur meskipun dalam kondisi suhu yang menantang (Masters, 2002).

2.9.4. Perhitungan persentase jumlah sel yang hidup

Data uji aktivitas sitotoksitas yang diperoleh adalah nilai absorbansi. Data ini digunakan untuk menghitung persentase jumlah sel yang hidup menggunakan Persamaan 1.

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media}}{\text{absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media}} \times 100\% \quad (1)$$

Setelah didapatkan persentase sel hidup dari sampel, selanjutnya digunakan untuk menentukan nilai *Inhibitory Concentration* 50% (IC₅₀) terhadap lini sel HeLa. Data yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan data yang dimasukkan merupakan data hubungan antara konsentrasi dengan persentase sel hidup serta nilai maksimum sebesar 100. Selanjutnya, dilakukan analisis regresi linear yang akan memunculkan nilai IC₅₀ dari sampel dan bentuk grafik (Bafadal *et al.*, 2021).

Metode analisis yang digunakan untuk menguji hipotesis adalah model analisis regresi linier berganda. Regresi berganda merupakan persamaan dengan menggunakan dua atau lebih variabel independen. Pada model linear berganda ini, akan dilihat besarnya kontribusi untuk variabel bebas terhadap variabel terikatnya dengan melihat besarnya koefisien determinasi totalnya (R). Nilai R mempunyai interval antara 0 sampai 1 ($0 \leq R \leq 1$). Semakin besar R (mendekati 1), semakin baik hasil untuk model regresi tersebut dan semakin mendekati 0, maka variabel independen secara keseluruhan tidak dapat menjelaskan variabel independen. Jika (R) yang diperoleh mendekati 1 (satu) maka dapat dikatakan semakin kuat model tersebut menerangkan hubungan variabel bebas terhadap variabel terikat. Sebaliknya jika (R) makin mendekati 0 (nol) maka semakin lemah pengaruh variabel-variabel bebas terhadap variabel terikat (Hasania dkk., 2016).

Gusungi *et al.* (2020) menyatakan bahwa berdasarkan nilai IC₅₀ ada empat kategori aktivitas sitotoksik suatu ekstrak terhadap sel kanker yaitu, sangat aktif jika IC₅₀ < 10

$\mu\text{g/mL}$, aktif jika IC_{50} 10-100 $\mu\text{g/mL}$, cukup aktif jika IC_{50} 100-500 $\mu\text{g/mL}$, dan kurang aktif jika nilai IC_{50} >500 $\mu\text{g/mL}$.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian telah dilakukan mulai Desember 2024 hingga November 2025, berlokasi di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.

Determinasi tanaman dilakukan di Generasi Biologi Indonesia, Gresik. Analisis menggunakan spektrofotometer *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) dilaksanakan di Laboratorium Kimia Terpadu FMIPA Institut Teknologi Bandung. Analisis LC-MS dilakukan di Laboratorium Forensik, Sentul, Bogor. Pengujian antikanker dilaksanakan di Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat-alat yang digunakan

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan gelas, *rotary evaporator* IKA RV 8 V, satu set peralatan kromatografi cair vakum, satu set peralatan kromatografi kolom, lampu UV, satu set peralatan kromatografi lapis tipis, pipet kapiler, neraca analitik M5-HPB-1004Ai-ION, spektrofotometer LC-MS dan spektrofotometer NMR.

3.2.2. Bahan-bahan yang digunakan

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah serbuk kulit batang *H. mengarawan* yang diambil di Baturaja, Kabupaten OKU, Sumatera Selatan. Pelarut yang

digunakan untuk ekstraksi dan fraksinasi berkualitas teknis yang telah didestilasi. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain metanol (MeOH), *n*-heksana (*n*-C₆H₁₄), etil asetat (EtOAc), aseton (C₃H₆O), akuades (H₂O), etanol (C₂H₅OH), silika gel Merk G 60 untuk impregnasi, silika gel 60 GF₂₅₄ (35-70 Mesh), plat KLT, sel kanker HeLa, dimetil sulfoksida (DMSO), cisplatin, Trypsin-EDTA, Trypan Blue, *Roswell Park Memorial Institute Medium* (RPMI), dan reagen resazurin.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Persiapan Sampel

Identifikasi tanaman *H. mengarawan* telah dilakukan di Generasi Biologi Indonesia, Gresik. Sebanyak 2,4 kg kulit batang telah dibersihkan dengan air mengalir dan kemudian dikeringkan kurang lebih selama satu minggu tanpa terkena paparan sinar matahari langsung sebelum proses penggilingan. Setelah dikeringkan, kulit batang digiling hingga menjadi serbuk halus yang akan digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini.

3.3.2. Ekstraksi dengan berbagai pelarut

Serbuk halus kulit batang *H. mengarawan* sebanyak 2,4 kg direndam dalam metanol sebagai pelarut. Proses maserasi dilakukan selama 24 jam, yang diulang sebanyak 3 kali untuk setiap jenis pelarut yang digunakan. Setelah itu, maserat disaring menggunakan kertas saring, kemudian dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Berat ekstrak pekat metanol yang dihasilkan kemudian ditentukan. Selanjutnya, ekstrak pekat metanol dipartisi menggunakan pelarut *n*-heksana, menghasilkan fraksi *n*-heksana dan fraksi metanol. Fraksi *n*-heksana diuapkan untuk mendapatkan ekstrak *n*-heksana, sementara fraksi metanol diuapkan setelah ditambahkan etil asetat untuk menghasilkan fraksi etil asetat dan fraksi metanol.

Fraksi-fraksi hasil partisi tersebut kemudian dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak pekatnya.

3.3.3. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Ekstrak kasar etil asetat *H. mengarawan* kemudian di fraksinasi menggunakan kromatografi cair vakum. Pada tahap pertama, sampel dilarutkan dengan aseton. Setelah larut, sampel diimpregnasi pada silika gel 60 GF₂₅₄. Massa silika yang digunakan adalah dua kali berat sampel. Persiapan kolom KCV dilakukan dengan menambahkan adsorben berupa silika gel Merk (35-70 Mesh) ke dalam kolom KCV, sebanyak 10 kali berat sampel. Kolom tersebut kemudian dipadatkan, ditekan, dan dipompa vakum.

Sampel kulit batang *H. mengarawan* yang telah diimpregnasi dimasukkan ke dalam kolom KCV dan ditekan menggunakan gelas penekan dalam kondisi vakum untuk menghilangkan rongga dalam sampel. Setelah pengemasan selesai, kertas saring ditempatkan di atas sampel untuk menjaga kestabilan permukaan saat eluen ditambahkan. Eluen yang digunakan adalah *n*-heksana 100%, diikuti oleh campuran *n*-heksana:etil asetat dengan gradien (0-100% etil asetat). Hasil elusi dari setiap pelarut dikumpulkan dan dimonitoring menggunakan metode KLT. Fraksi-fraksi dengan nilai *R_f* yang sama digabungkan dalam satu wadah (Pramudia *et al.*, 2023).

3.3.4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Dalam penelitian ini, KLT dilakukan pada fraksi-fraksi sebelum dan sesudah proses fraksinasi. KLT menggunakan campuran eluen yang terdiri dari *n*-heksana dan etil asetat. Kromatogram yang dihasilkan disemprot dengan larutan serum sulfat untuk menampakkan noda komponen senyawa. Pemisahan terbaik dengan jumlah bercak yang paling sedikit diamati di bawah lampu UV setelah elusi pada plat KLT. Fraksi-

fraksi yang menunjukkan pola pemisahan dengan nilai R_f (*Retention factor*) yang sama pada kromatogram digabung dan dipekatkan, menghasilkan beberapa fraksi gabungan untuk fraksinasi lebih lanjut.

3.3.5. Kromatografi Kolom (KK)

Setelah fraksi-fraksi yang dihasilkan memiliki jumlah lebih sedikit dan pola pemisahan terbaik, tahap fraksinasi selanjutnya dilakukan dengan teknik kromatografi kolom. Adsorben silika gel Merck (35-70 Mesh) dilarutkan dalam pelarut yang digunakan untuk elusi. Slurry silika gel dimasukkan terlebih dahulu ke dalam kolom, dan fase diam diatur agar rapat dan rata tanpa rongga. Selanjutnya, sampel yang telah diimpregnasi dimasukkan ke dalam kolom berisi fase diam silika gel. Selama proses ini, kolom harus tetap basah dan tidak kekurangan pelarut untuk menjaga integritas fase diam dan memastikan elusi berjalan lancar. Eluat yang diperoleh dikumpulkan dalam botol vial yang sesuai. Fraksi-fraksi yang menunjukkan zat yang sama berdasarkan hasil uji KLT digabungkan menjadi fraksi baru.

3.3.6. Analisis Kemurnian

Uji kemurnian dilakukan dengan metode KLT menggunakan beberapa campuran eluen. Kemurnian senyawa ditunjukkan dengan timbulnya satu noda dengan berbagai campuran eluen yang digunakan, kemudian disemprot menggunakan larutan serum sulfat untuk menampakkan bercak/noda dari komponen senyawa tersebut. Isolat murni dapat disebut murni secara uji KLT jika isolat tetap menunjukkan noda tunggal, hal tersebut dikarenakan isolat atau senyawa murni yang didapat mengandung satu jenis senyawa (Pramudia, 2023).

Untuk identifikasi titik leleh, sebelum dilakukan pengukuran, alat pengukur titik leleh tersebut dibersihkan terlebih dahulu dari pengotor, karena pengotor akan menaikkan

atau menurunkan titik leleh dari kristal hasil isolasi. Untuk kristal yang berukuran besar, kristal terlebih dahulu digerus hingga terbentuk serbuk kemudian kristal yang akan ditentukan titik lelehnya diletakkan pada lempeng kaca, diambil sedikit dengan menggunakan pipa kapiler, alat dihidupkan, diatur suhu minimum melelehnya kristal yang telah diketahui, setelah sesuai ditekan tombol *start*, ditunggu sampai instrumen meminta pipa kapiler dimasukan, kemudian setelah kristal telah meleleh semua instrumen akan berbunyi dan suhu titik leleh tertera pada layar monitor instrumen.

3.3.7. Identifikasi Senyawa dengan Spektrofotometer Resonansi Magnetik Nuklir (NMR)

Sampel berupa kristal murni yang akan diidentifikasi dilarutkan ke dalam pelarut yang melarutkan sampel, kemudian ditambahkan sedikit senyawa acuan. Larutan ditempatkan dalam tabung gelas tipis dengan tebal 5 mm di tengah-tengah kumparan frekuensi radio (rf) diantara dua kutub magnet yang sangat kuat kemudian energi dari kumparan rf ditambah secara terus menerus. Energi pada frekuensi terpasang dari kumparan rf yang diserap cuplikan direkam dan memberikan spektrum NMR. Hasil karakterisasi menggunakan NMR didapatkan spektrum NMR yang selanjutnya diinterpretasikan menggunakan *software Mestrenova* (Mnova).

3.3.8. Identifikasi Senyawa dengan Spektrofotometer LC-MS

Sampel dilarutkan dalam 20 μ L metanol, diambil 10 μ L dan diinjeksikan ke dalam LC-MS melalui kolom ACQUITY UPLC® BEH C18 dengan laju alir 0,2 mL/menit. Campuran metanol: aquades digunakan sebagai fase gerak (Rudiana *et al.*, 2019).

3.3.9. Uji Antikanker terhadap Sel HeLa

Pengujian antikanker ini akan dilakukan seperti penelitian sebelumnya (Farabi *et al.*, 2022) dan telah dimodifikasi, dengan reagen resazurin untuk menganalisis proliferasi berbagai jenis sel berbasis resazurin secara cepat dan kuantitatif dengan menggunakan kemampuan reduksi sel hidup. Sel yang hidup dan sehat memiliki lingkungan sitosol yang tereduksi, sehingga dapat mereduksi resazurin (berwarna biru) menjadi resorufin (berwarna ungu). Perubahan warna ini menunjukkan tingkat aktivitas metabolik sel dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup.

Disiapkan kultur sel kanker seperti sel HeLa yang dikultur hingga mencapai 70% pertumbuhan. Sel-sel tersebut ditanam dalam mikroskopis:96 sumur (170.000 sel/sumur) dan diberi perlakuan dengan berbagai konsentrasi senyawa 1–2 (3,91–5000 µg/mL) menggunakan 2% DMSO sebagai kosolven, sedangkan kontrol positif seperti cisplatin selama 48 jam pada suhu 37°C dan 5% CO₂. Setelah itu, reagen kerja seperti resazurin ditambahkan dan pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan *multimode reader* untuk menilai viabilitas sel, yang kemudian dianalisis untuk menentukan IC₅₀ dan aktivitas antikanker sampel. Sebelum perlakuan, sel yang telah mencapai konfluensi minimal 70% dibersihkan dan disiapkan melalui proses pencucian dan penambahan trypsin-EDTA. Sampel diencerkan dalam pelarut yang tidak toksik, lalu dipindahkan ke dalam *microtube* dan selanjutnya diinkubasi kembali. Setelah perlakuan, media dihapus dan reagen resazurin ditambahkan, kemudian absorbansi diukur untuk menilai efek antiproliferasi sampel terhadap sel kanker. Penghitungan sel dilakukan menggunakan *hemacytometer* dan *trypan blue* untuk memastikan jumlah sel viabel, serta data diolah untuk mendapatkan kurva hubungan konsentrasi dan aktivitas antikanker. Hasil pengujian biasanya disajikan dalam tabel IC₅₀ dan absorbansi, serta observasi morfologi sel melalui mikroskop untuk mendukung analisis aktivitas antikankernya.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Pada penelitian ini, dua senyawa metabolit sekunder berhasil diisolasi dari kulit batang *H. mengarawan*, yang pertama diidentifikasi sebagai *heptanoylcholine* (kode NV49), diperoleh sebanyak 3 mg dalam bentuk kristal jarum berwarna putih, sedangkan senyawa kedua adalah esculetin (kode NV50), yang diperoleh sebanyak 10 mg dalam bentuk kristal jarum berwarna kuning kecoklatan.
2. Hasil uji antikanker menunjukkan bahwa senyawa NV49 memiliki potensi cukup aktif dengan nilai IC_{50} 228,50 $\mu\text{g/mL}$ yang ditandai adanya perubahan morfologi signifikan, meskipun masih ada bagian sel yang berdekatan, sementara itu senyawa NV50 menunjukkan aktivitas antikanker yang lebih kuat daripada NV49 dengan nilai IC_{50} sebesar 49,69 $\mu\text{g/mL}$, diperkuat oleh kerusakan sel yang sangat jelas dan kematian sel yang lebih luas.

5.2. Saran

Saran yang berkaitan dengan penelitian ini adalah tidak menggunakan metode yang sama jika melakukan penelitian dengan bagian tanaman *H. mengarawan* yang sama agar diperoleh senyawa metabolit sekunder lainnya, melakukan proses isolasi secara optimal dengan meningkatkan jumlah serbuk tanaman agar didapatkan senyawa hasil isolasi dalam jumlah besar, melakukan modifikasi senyawa hasil isolasi untuk

mendapatkan senyawa yang lebih berpotensi, serta dilakukan karakterisasi yang lebih lengkap.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, R. 2004. Uji aktivitas antikanker ekstrak eter dan ekstrak metanol lumut hati (*Marchantia nitida lehn.* Et. Lindenb.) terhadap kultur sel mieloma mencit dengan metode viabilitas sel. *Skripsi*. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Alauhdin, M., Eden, W. T., dan Alighiri, D. 2021. *Inovasi sains dan Kesehatan*. Universitas Negeri Semarang. Semarang.
- Ali, M., Benfante, V., Raimondo, D., Salvaggio, G., Tuttolomondo, A., and Comelli, A. 2024. Recent developments in nanoparticle formulations for resveratrol encapsulation as an anticancer agent. *Pharmaceuticals*. **17**(126):38.
- Atun, S. 2006. Aktivitas oligoresveratrol dari kulit batang *H. mengarawan* (Dipterocarpaceae) sebagai penangkap radikal hidroksil. *Hayati*. **13**(2):68.
- Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan identifikasi struktur senyawa organik bahan alam. *Jurnal Borobudur*. **8**(2):61.
- Atun, S., Azman, N., Ariningrum, R., Takaya, Y., and Masatake, N. 2008. Resveratrol derivatives from stem bark of *Hopea* and their biological activity test. *J. Phys Sci*. **19**(9):21.
- Bafadal, M., Mutiara, W.O., Malaka, M.H., Fristiohady, A., Yodha, A.W.M., Sadarun, B., and Sahidin, S. 2021. Cytotoxic activity of ethanol extract *Petrosia sp.* *in vitro* against cancer cells HeLa. *JFSP*. **7**(3):288.
- Barabas, K., R. Milner, D. Lurie, and C. Adin. 2008. Cisplatin: a review of toxicities and therapeutic applications. *VCO*. **6**(1): 15.
- Burmeister, C.A., Khan, S.F., Schafer, G., Mbatani, N., Adams, T., Moodley, J., and Prince, S. 2022. Cervical cancer therapies: current challenges and future perspectives. *Tumour Virus Res*. **13**:14.
- Butler, M., Spearman, M., and Braasch, K. 2014. monitoring cell growth, viability, and apoptosis. *Animal Cell Biotechnology Methods in Molecular Biology*. 1104.

- Chen, Y., Wu, J., Yang, S., Yang, C., Chen, T., and Hsiao, Y. 2022. Anticancer effects and molecular mechanisms of apigenin in cervical cancer cells. *Cancers*. **14**(7):20.
- Darwati, A.A. dan Adisumiwi, S. 2015. Santon dari kulit batang tumbuhan asam kandis (*Garcinia cowa*). *Chempublish*. **1**(1) : 25.
- Elgamal, A. M., El Raey, M. A., Gaara, A., Abdelfattah, M. A. O., and Sobeh, M. 2021. Phytochemical profiling and anti-aging activities of euphorbia retusa extract: *in silico* and *in vitro* studies. *Arabian J. Chem*. **14**(6):103.
- Farabi, K., Harneti, D., Darwati, Maryanti, T., Nurlelasari, Maharani, R., Sari, A.P., Herlina, T., Hidayat, A.T., Supratman, U., Fajriah, S., Azmi, M.N., and Shiono, Y. 2022. Dammarane-type triterpenoid from the stem bark of *Aglaia elliptica* (Meliaceae) and its cytotoxic activities. *Molecules*. **27**(19):11.
- Fessenden, R.J., dan Fessenden, J.S. 1982. Kimia organik. Erlangga. Jakarta.
- Fitria, A. 2021. Karakterisasi dan uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak non polar, semi polar, dan polar dari daun sungkai. *Skripsi*. Universitas Perintis Indonesia. Padang.
- Fotso, G.W., Kamdem, L.M., Dube, M., Fobofou, S.A., Ebne, A.N., Arnold, N., and Ngadjui, B.T. 2019. Antimicrobial secondary metabolites from the stem barks and leaves of *Monotes kerstingii* Gilg (Dipterocarpaceae). *Fitoterapia*. **137**:239.
- Ghisalberti, E.L. 2008. *Detection and Isolation of Bioactive Natural Products in Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination*. Taylor and Francis Group. Inc. USA. Hal. 27.
- Grgic, J., Selo, G., Planinic, M., Tisma, M., and Bucic-Kojic, A. 2020. Role of the encapsulation in bioavailability of phenolic compounds. *Antioxidants*. **9**(10):923.
- Gusungi, D.E., Maarisit, W., and Potalangi, N.O. 2020. Studi Aktivitas Antioksidan dan Antikanker Payudara (MCF-7) Ekstrak etanol daun benalu langsung *Dendrophthoe pentandra*. *Trop. J. Biopharm*. **3**(1):174.
- Hadi, S., Winarno, E. K., Winarno, H., Susanto, S., Thian, D. A. S., Fansang, M. D., Berawi, K. N., and Suhartati, T. 2024. Synthesis, characterization and antiproliferative activity test of some diphenyltin(IV) hydroxybenzoates against A549, MCF-7 and HeLa human cancer cell lines. *JiOPM*. **34**(7): 2980.

- Hambali, M., Mayasari, F., dan Noermansyah, F. 2014. Ekstraksi antosianin dari ubi jalar dengan variasi konsentrasi solven, dan lama waktu ekstraksi. *J. Chem. Eng.* **20**(2):35.
- Hamzah, S. 2018. Isolasi senyawa metabolit sekunder ekstrak etil asetat spons *Stylotella* Sp. asal kepulauan selayar dan uji aktivitas terhadap sel kanker payudara MCF-7. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Alaudin. Makasar.
- Hasania, Z., Murni, S., dan Mandagie, Y. 2016. Pengaruh *current ratio*, ukuran perusahaan struktur modal, dan roe terhadap nilai perusahaan farmasi yang terdaftar di bursa efek indonesia periode 2011 – 2014. *JBIE*. **16**(03).
- Hidayah, H., Nurfirzatulloh, I., Insani, M., and Shafira, R.A. 2023. Literature review article : aktivitas triterpenoid sebagai senyawa antiinflamasi. *JiWP*. **9**(16):436.
- Hossain, R. Md., Shova, F. T. Z., Akter, M., Shuvo, S., Ahmed, N., Akter, A., and Haque, M. 2024. Esculetin unveiled: decoding its anti-tumor potential through molecular mechanisms: a comprehensive review. *Cancer Reports*. **7**(1).
- Indriani, I., Aminah, N.A., and Puspaningsih, N.N.T. 2020. Antiplasmodial activity of stigmastane steroids from *Dryobalanops oblongifolia* stem bark. *Open Chem.* **18**(1):264.
- Ismail, I.A., Riga, R., Suryani, O., Insani, M., Pernadi, N.L., and Febriyanti, A. 2022. Analisis spektrum ¹H-NMR: penjelasan sederhana. *IJAMR*. **6**(12):8.
- Jiang, S., and Bao, H. 2025. Exploring the mechanism of esculetin extracted from *Chroogomphus Rutilus* in treating liver cancer based on network pharmacology, molecular docking, and *in vivo* experimental validation. *J. Ethnopharmacol.* **348**:119.
- Jayuska, A. 2001. senyawa baru hasil degradasi ampelopsin E dan resveratrol oligomer lainnya dari kulit batang *Shorea pinanga* Scheff. *Tesis*. Program Pasca Sarjana ITB. Bandung.
- Jiramongkol, Y., and Lam, E.W. 2020. Foxo transcription factor family in cancer and metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* **39**:709.
- Juliawaty, L.D., Sahidin, Hakim, E.H., Achmad, S.A., Syah, Y.M., Latip, J., and Said, I.M. 2009. A 2-arylbenzofuran derivative from *H. mengarawan*. *Nat. Prod. Commun.* **4**(7):950.
- Khiev, P., Kwon, O., Song, H., Oh, S., Ahn, K., Lee, H., and Chin, Y. 2012. Cytotoxic terpenes from the stems of *Dipterocarpus obtusifolius* collected in Cambodia. *Chem. and Pharm. Bull.* **60**(8):961.

- Koushki, M., Amiri-Dashatan, N., Ahmadi, N., Abbaszadeh, H., and Rezaei-Tavirani, M. 2018. Resveratrol: a miraculous natural compound for diseases treatment. *FSN*. **6**:2490.
- Kumar P.R., Dinesh S.R., and Rini R. 2016. LCMS- A review and a recent update. *WJPS*. **5**(5):2278.
- Landry, J.J.M., Pyl, P.T., Rausch, T., Zichner, T., Tekkedil, M.M., Stütz, A.M., Jauch, A., Aiyar, R.S., Pau, G., Delhomme, N., Gagneur, J., Korbel, J.O., Huber, W., and Steinmetz, L.M. 2013. The genomic and transcriptomic landscape of a HeLa cell line. *G3*. **3**(8):1224.
- Le, H.T., Luu, T.N., Nguyen, H.M.T., Nguyen, D.H.T., Le, P.T.Q., Trinh, N.M., Le, V.S., and Van, H.D.N. 2021. Antibacterial, antioxidant and cytotoxic activities of different fractions of acetone extract from flowers of *Dipterocarpus intricatus* dyer (Dipterocarpaceae). *Plant Sci. Today*. **8**(2):277
- Liu, R., Sun, Q., Sun, A., and Cui, J. 2005. Isolation and purification of coumarin compounds from cortex fraxinus by high-speed counter-current chromatography. *J. Chromatogr. A*. **1072**(2):195.
- Lulan, T.Y.K., Fatmawati, S., Santoso, M., and Ersam, T. 2020. α -Viniferin as a potential antidiabetic and antiplasmodial extracted from *Dipterocarpus littoralis*. *Heliyon*. **6**:6.
- Luzak, B., Siarkiewicz, P., and Boncler, M. 2022. An evaluation of a new high-sensitivity prestoblue assay for measuring cell viability and drug cytotoxicity using EA.Hy926 Endothelial Cells. *Toxicol in Vitro*. **83**:9.
- Markley, J.L., Bruschiweiler, R., Edison, A.S., Eghbalnia, H.R., Powers, R., Raftery, D., and Wishart, D.S. 2017. The future of NMR-based metabolomics. *COBIOT*. **43**:40.
- Masters, J.R. 2002. HeLa Cells 50 Years on: the good, the bad and the ugly. *Nat. Rev. Cancer*. **2**(4):319.
- Mutmainnah, P.A., Hakim, A., and Savalas, L.R.T. 2017. Identifikasi senyawa turunan hasil fraksinasi kayu akar *Artocarpus odoratissimus*. *JPPI*. **3**(2):32.
- Nalle, H.A., Lulan, T.Y.K., Rozari, P., and Ola, A.R.B. 2021. Bioaktivitas metabolit sekunder dari genus *Dipterocarpus*. *Chem. Notes*. **1**(2):1.
- Nasrudin, W., Mustofa, and Susidarti, R.A. 2017. Isolasi senyawa steroid dari kulit akar senggugu (*Clerodendrum serratum* L.moon). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. **6**(3):340.

- Nurdiani, D. 2018. Buku Informasi melaksanakan analisa secara kromatografi konvensional mengikuti prosedur. *Kemendikbud*. (9):80.
- Octavia, M., Amin, A., Waris, R., and Yuliana, D. 2023. Identifikasi organoleptik, dan kelarutan ekstrak etanol daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl) pada pelarut dengan kepolaran berbeda. *MNPJ*. **1**(4):203.
- Patel, S., Gheewala, N., Suthar, A., and Shah, A. 2009. *In-vitro* cytotoxicity activity of *Solanum nigrum* extract against HeLa cell line and Vero cell line. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **1**(1):40.
- Pawlus, A.D., Waffo-Teguo, P., Shaver, J., and Merillon, J. 2012. Stilbenoid chemistry from wine and the genus *Vitis*. a review. *J. int. sci. vigne vin*. **46**(2):57.
- Pinalia, A. 2011. Kajian Metode filtrasi gravitasi dan filtrasi sistem vakum untuk proses penyempurnaan rekristalisasi amonium perklorat. *Majalah Sains dan Teknologi Dirgantara*. **6**(3).
- Pramudia, R.A. 2023. Isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) serta uji aktivitas antioksidan. *Skripsi*. Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Pramudia, R.A., Noviany, N., Hadi, S., Suwandi, J. F., and Aminah, N.S. 2023. Antioxidant activity of ethyl acetate extract of sungkai leaves (*Peronema canescens* Jack). *Proceeding of ICOMESH*. **1**(1):76.
- Pratibha, M.G.I., Rahmadanti, D.V., Elviana, D., Farras, M., Pratma, N.P.A.D., and Noviany, N. 2024. Phytochemical study and total phenolic content analysis of methanol extract of stem bark of Merawan (*Hopea mengarawan* Miq.). *J. Pharm. Sci.* **8**(2):755.
- Ramadhan, R. 2019. Aktivitas antioksidan dan potensi obat oral senyawa nanopartikel ekstrak pegagan (*Centella asiatica*) tersalut kitosan berdasarkan hasil analisis LCMS. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Riyadi, S. A., Abdullah, F. F., dan Fadhillah, F. 2022. Anticancer Activity of Curcuminoids against B16-F10 melanoma Cell Lines. *JFB*. **13**(2).
- Rudiana, T., Suryani, N., Indriatmoko, D. D., Yusransyah, Amelia, A., Noviany, and Hadi, S. 2019. Characterization of antioxidative fraction of plant stem bouea *Macrophylla* Griff. *J. Phys.: Conf. Ser.* **1341**(7): 07.

- Sahidin, Hakim, E.H., Syah, Y.M., Juliawaty, L.D., Achmad, S.A., Din, L.B., and Latip, J. 2008. Resveratrol IOC-Glucopyranoside and heimiol A, chemotaxonomic character of *Hopea gregaria*. *Ber. Biologi*. **9**(3):7.
- Sahidin, Hakim, E.H., Syah, Y.M., Juliawaty, L.D., Achmad, S.A., Din, L.B., dan Latip, J. 2006. Kajian fitokimia *Hopea mengarawan* dan implikasinya pada kemotaksonomi hopea. *Ber. Biologi*. **8**(2):111.
- Salehi, B., Mishra, A.P., Nigam, M., Sener, B., Kilic, M., Sharifi-rad, M., Folou, P.V.T., Martins, N., and Sharifi-rad, J. 2018. Resveratrol: a double-edged sword in health benefits. *Biomedicines*. **6**(91):20.
- Saputra, T. R., Ngatin, A., dan Sarungu, Y. T. 2018. Penggunaan metode ekstraksi maserasi dan partisi pada tumbuhan cocor bebek (*Kalanchoe pinnata*) dengan kepolaran berbeda. *FJC*. **3**(1):5.
- Sasikumar, P., Lekshmy, K., Sini, S., Prabha, B., Kumar, N.A., Sivan, V.V., Jithin, M.M., Jayamurthy, P., Shibi, I.G., and Radhakrishnan, K.V. 2019. Isolation and characterization of resveratrol oligomers from the stem bark of *Hopea ponga* (Dennst.) Mabb. and their antidiabetic effect by modulation of digestive enzymes, protein glycation and glucose uptake in L6 myocytes. *J. Ethnopharmacol*. **236**:234.
- Setaviani, P., Suryani, N., Kamila, Z. K., Amaliya, S., Ernawati, E. E., Rudiana, T., and Khaerunnisa, A. 2024. Standardisasi ekstrak khaya (*Khaya anthotheca*) sebagai antikanker payudara MCF-7 (Michigan Cancer Foundation-7). *JFI*. **21**(2):156.
- Sharma, K., Zha, J., Chouhan, S., Guleria, S., and Koffas, M. A. G. 2019. *Recent Advances in Polyphenol Research*. Published John Wiley and Sons Ltd
- Silverstein, R.M., Webster, F.X., and Kiemle, D.J. 2005. *Spectrometric identification of organic compound, 7th edition*. State University of New York, John Wiley & Sons.
- Srivastava, N., Singh, A., Kumari, P., Nishad, J.H., Gautam, V.S., Yadav, M., Bharti, R., Kumar, D., and Kharwar, R.N. 2021. Advances in extraction technologies: isolation and purification of bioactive compounds from biological materials. *Natural Bioactive Compounds*. Hal:433.
- Sudjadi. 1985. *Penentuan struktur senyawa organik*. Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Suhartati, T. 2017. *Dasar-dasar spektrofotometri UV-Vis dan spektrometri massa untuk penentuan struktur senyawa organik*. Bandar Lampung: Aura.
- Syahputra, G. 2015. Resazurin Si indikator aktivitas sel. *bio trends*. **6**(2):26.

- Volkova, L.V., Pashov, A.I., and Omelchuk, N.N. 2021. Cervical carcinoma: oncobiology and biomarkers. *Int. J. Mol. Sci.* **22**(22):22.
- Wan Mohd Zain, W.Z., Nawi, L., Ahmat, N., Osman, C.P., and Rukayadi, Y. 2021. A new flavonoid from Malaysian *Dipterocarpus cornutus*. *Indones. J. Chem.* **21** (5): 1132.
- Wang, Q., Qin, S., and Jiang, J. 2022. Improvement effects of esculetin on the formation and development of atherosclerosis. *Biomed Pharmacother.* **150**:113.
- Wang, Y., Guan, T., Yue, X., Yang, J., Zhao, X., Chang, A., Yang, C., Fan, Z., Liu, K., and Li, Y. 2025. The biosynthetic pathway of coumarin and its genetic regulation in response to biotic and abiotic stresses. *Front. Plant Sci.* **16**:4.
- Wati, N.F.N. 2014. Peningkatan kualitas minyak nilam melalui proses adsorpsi menggunakan adsorben Γ -alumina dengan sistem flow. *Indo. J. Chem. Res.* **2**(1):95.
- Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun surian yang berpotensi sebagai antioksidan. *Makara J. Sci.* **15**(1):52.
- Yulianti, K. 2020. *Senyawa flavonoid dari ekstrak kloroform daun akar bulu (Merremia Vitifolia)*. Skripsi. Universitas Cokroaminoto Palopo.
- Zhang, Q., Bao, J., and Yang, J. 2019. Genistein-triggered anticancer activity against liver cancer cell line hepG2 involves ROS generation, mitochondrial apoptosis, G2/M cell cycle arrest and inhibition of cell migration. *Arch. Med. Sci.* **15**(4):1009.
- Zhang, Q., Lin, L., and Ye, W. 2018. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chinese Medicine.* **13**(1):20.
- Zhou, B., Xiao, J. F., Tuli, L., and Ransom, H. W. 2012. LC-MS-Base metabolomics. *Mol. Bio Syst.* **8**(2):470.