

Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol Daun Stevia (*Stevia Rebaudiana* Bertoni) pada Kultur Sel Hela

Cytotoxic Test of Ethanol Extract of Stevia Leaves (*Stevia Rebaudiana* Bertoni) in Hela Cell Culture

Ghani Nurfiiana Fadma Sari, Endang Sri Rejeki
Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
*email : ghani.nurfiana@rocketmail.com

(diterima tanggal 09-07-2020, disetujui tanggal 19-10-2021)

INTISARI

Di Indonesia kanker serviks menempati urutan kedua setelah kanker payudara yang dialami oleh wanita. Stevia secara umum merupakan tanaman yang dimanfaatkan sebagai pemanis rendah kalori. Stevia diduga memiliki beberapa senyawa aktif yang menghasilkan kerja fisiologis pada tubuh manusia salah satunya mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak etanol daun stevia terhadap sel HeLa dengan menentukan nilai IC_{50} .

Ekstraksi daun stevia dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak etanol daun stevia diuji efeknya terhadap sel HeLa menggunakan metode MTT. Cisplastin (Kalbe) digunakan sebagai kontrol positif. Respon serapan uji dikonversikan kedalam rumus viabilitas sel. Nilai IC_{50} dihitung menggunakan persamaan regresi linear hubungan antara log konsentrasi sampel uji dengan persen viabilitas sel HeLa.

Hasil uji efek sitotoksik ekstrak etanol daun stevia terhadap sel HeLa berdasarkan metode MTT diperoleh nilai IC_{50} sebesar 511,07 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun stevia tidak bersifat toksik pada sel HeLa.

Kata kunci : *Stevia rebaudiana*; sel HeLa; sitotoksik

ABSTRACT

In Indonesia, cervical cancer is the second most common cancer among women after breast cancer. Stevia is generally a plant that is used as a low-calorie sweetener. Stevia is believed to contain a number of active compounds that serve physiological functions in the human body, one of which is able to inhibit cancer cell growth. The aim of this study is to determine the cytotoxic effect of ethanol extract of stevia leaves on HeLa cells by determining the IC_{50} value.

The maceration method was carried out to extract the stevia leaves with ethanol 96% as the solvent. The MTT method was utilized to test the effect of an ethanol extract of stevia leaves on HeLa cells. Meanwhile, Cisplastin (Kalbe) was used as a positive control. The test's absorption response was converted into a cell viability formula. The linear regression equation for the relationship between the log of the test sample concentration and the percentage viability of HeLa cells was used to calculate the IC_{50} value.

Based on the MTT method, the result of cytotoxic effect test of ethanol extract of stevia leaves on HeLa cells obtained an IC_{50} value of 511.07 $\mu\text{g}/\text{mL}$. It can be concluded that ethanol extract of stevia leaves was found to be non-toxic to HeLa cells.

Keyword : *Stevia rebaudiana*; HeLa cells; cytotoxicity



1. PENDAHULUAN

Usaha untuk menemukan dan mengembangkan agen antikanker yang aman dan efektif sangat dibutuhkan. Upaya tersebut dapat melalui penelitian-penelitian dengan memanfaatkan bahan dari alam yang berkhasiat untuk antikanker. Stevia adalah tanaman tradisional yang memiliki khasiat sebagai antikanker.

Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) adalah salah satu jenis tumbuhan tahunan dari family Asteraceae yang merupakan tanaman perdu dengan tinggi 60-90 cm dan daun panjangnya sekitar 3-7 cm, mempunyai banyak cabang. Stevia mengandung diterpen, triterpen, tannin, stigmasterol, minyak yang mudah menguap, dan diterpen glikosida. Tingkat kemanisan Stevia 200 sampai 300 x gula sukrosa [1]. Penelitian lain menyebutkan ekstrak daun stevia mengandung senyawa bukan gula yang larut pada pelarut polar yaitu klorofil, alkaloid, tanin, steroid, flavonoid, dan makromolekul [2]. Daun stevia mengandung senyawa glikosida yaitu steviosida 5-10% dan rebaudiosida A 2-4% yang masing-masing mempunyai kemanisan 110-270 dan 140-400 kali dari sukrosa [3]. Daun stevia walau memiliki rasa manis, tapi juga memiliki rasa pahit setelah dikonsumsi. Hal ini sebanding dengan adanya kandungan polifenol sebesar 4,15% dari berat kering daun stevia [4].

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa steviosida yaitu rebaudiosida A, steviol, dan isosteviol selain memiliki rasa manis juga mempunyai khasiat antihiperglikemia, antihipertensi, antiinflamasi, antioksidan, antitumor, antidiare, diuretik, dan immunomodulator [5]. Menurut Tadhani *et al.* [6] daun stevia kering mengandung fenolik total sebesar 25.18 mg/g, senyawa flavonoid 21.73 mg/g, dan antioksidan total (TAC) antara 9.66 - 38.24 mg eq ekstrak dalam pelarut air serta 11.03 - 36.40 mg eq ekstrak dalam pelarut metanol.

Stevia merupakan sumber antioksidan alami yang mengandung senyawa opigenin, kaempferol, dan quereitrin yang dapat menghambat kerusakan rantai DNA. Isosteviol adalah turunan dari stevioside mampu menghambat pembentukan reactive oxygen species (ROS) [7]. Produksi radikal bebas turunan oksigen yang tidak seimbang dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti kanker. Mekanisme perlindungan antioksidan menjadi tidak seimbang karena berbagai faktor misalnya penurunan fungsi fisiologis menyebabkan penyakit kanker. Daun stevia sangat kaya akan senyawa terpenoid dan flavonoidnya sehingga memiliki keefektifan untuk digunakan sebagai pengobatan [8].

Menurut Jayarahman *et al.* [9] ekstrak aceton daun stevia mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker HEP2 tetapi tidak bersifat toksik pada sel normal (Sel Vero). Menurut penelitian sebelumnya [10] senyawa steviol dalam daun stevia mempunyai aktivitas sitotoksik dengan nilai IC₅₀ 185 µM terhadap sel MCF-7, sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan lebih lanjut terhadap sel kanker lain. Mekanisme kerja dari steviol yaitu menghambat pertumbuhan sel kanker dengan cara menekan viabilitas sel dan menghentikan siklus sel. Pada dosis tertentu, senyawa steviol dapat menghambat proliferasi sel MCF-7 dengan cara menginduksi apoptosis dalam mitokondria [10].



Penelitian ini menggunakan etanol pada proses ekstraksi. Menurut Yulianti *et.al* [11] semakin tinggi konsentrasi etanol maka semakin banyak senyawa gula yang terekstraksi. Senyawa gula mudah larut pada pelarut etanol, jika konsentrasi etanol yang digunakan semakin tinggi maka senyawa yang mudah larut dalam etanol lebih banyak yang terekstraksi. Senyawa gula yang dimaksudkan dalam daun stevia ini yaitu stevioside dan rebaudiosida. Menurut Isdianti [2], air dan alkohol adalah pelarut yang paling sesuai untuk mengekstraksi daun stevia.

Beberapa tahun terakhir tidak banyak ditemukan penelitian aktivitas antikanker dari daun stevia ini padahal beberapa senyawa aktif dari daun stevia mempunyai potensi sebagai agen anti kanker. Latar belakang itulah yang menjadi alasan dilakukan penelitian ini. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun stevia terhadap sel kanker serviks menggunakan metode MTT pada kultur sel HeLa yang ditunjukkan dengan parameter IC₅₀. Pengujian sitotoksik ekstrak tersebut terhadap sel HeLa selama ini belum dilakukan.

2. METODE PENELITIAN

2.1. ALAT DAN BAHAN

Bahan penelitian yang digunakan yaitu daun stevia, etanol 96% (Merck), kultur sel HeLa, DMEM (Merck), fungizon (Merck), Dimethyl Sulfoxide (DMSO) (Merck), Phospat Buffer Saline (PBS) (Merck), Fetal Bovine Serum (FBS) (Merck), Methyl-Thiazolyl-Tetrazolium (MTT) (Merck), Tripsin (Merck), Sodium Dodesil Sulfat (SDS) (Merck), 1% HCl 0,1N (Merck), serta Cisplastin (Kalbe).

Alat yang dipakai dalam penelitian ini adalah plate 96 wells (Biologix), inkubator CO₂ (Biobase), inverted microscope (Olympus), serta ELISA reader (Drawel).

2.2. CARA KERJA

Membuat ekstrak daun stevia. Serbuk daun stevia 1 kg dimasukkan alat maserasi, kemudian ditambahkan 10 L etanol 96%. Serbuk direndam 6 jam sambil sekali diaduk, didiamkan selama 18 jam. Hasil maserasi yang diperoleh dipisahkan. Pengendapan, sentrifugasi, dekantasi, atau filtrasi adalah cara pemisahan yang dapat dilakukan. Penyarian diatas diulangi dengan cara yang sama menggunakan pelarut setengah dari pelarut pertama yaitu sebanyak 5 L etanol 96%. Maserat yang diperoleh dikumpulkan jadi satu, kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental [12].

Skrining fitokimia ekstrak daun stevia. Pengujian senyawa kimia ekstrak daun stevia dilakukan adalah senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Pengujian dilakukan menggunakan pereaksi kimia yang sesuai dengan masing-masing uji.

Uji sitotoksik terhadap sel HeLa. Larutan uji sebanyak 100 µL disuspensi dengan 100 µL sel dalam medium DMEM untuk sel HeLa (kepadatan 2 x 10⁴ sel/sumuran). Sampel dimasukkan dalam *microplate* 96. Sel diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5 % selama 24 jam. Sampel dibuat seri konsentrasi 500; 250; 125;



62,5; 31,25; 15,6 µg/mL kemudian dimasukkan dalam *plate*. Kontrol positif yang digunakan adalah Cisplatin. Kontrol positif dibuat seri konsentrasi 100; 50; 25; 12,5; 7,125 µg/mL dan kontrol negatif menggunakan kontrol sel. *Plate* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam inkubator CO₂ 5 %. Sel HeLa yang bereaksi dengan MTT akan membentuk warna ungu (formazan), selanjutnya media sel dibuang dan ditambahkan 100 µL reagen MTT pada setiap sumuran, termasuk kontrol media (tanpa sel). Semua sel yang sudah dilakukan perlakuan selanjutnya diinkubasi selama 4 jam, dan ditambahkan 100 µL SDS 10 % untuk menghentikan reaksi. Selanjutnya serapan dibaca dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 595 nm [13].

Hasil uji sitotoksik pada sel HeLa didapatkan data absorpsi. Persamaan regresi linear $y = bx+a$ diperoleh dari log konsentrasi dengan persen sel hidup. IC₅₀ dapat dihitung dengan cara mensubstitusi nilai 50 pada Y sehingga didapatkan nilai x dimana nilai IC₅₀ adalah antilog x. Persentase inhibisi dapat dihitung menggunakan rumus persamaan 1.

$$\text{Prosentase sel hidup} = \frac{(\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media})}{(\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{Absorbansi kontrol media})} \times 100\%$$

Persamaan 1. Persamaan pengukuran persentase sel hidup aktivitas sitotoksik

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, tujuannya untuk menarik komponen senyawa metabolit sekunder dalam daun stevia yang bersifat polar dan non polar. Steviosida adalah salah satu senyawa dalam daun stevia yang mempunyai kelarutan dalam air-etanol. Hasil rendemen ekstrak daun stevia yang diperoleh sebesar 31,62%. Hasil tersebut tidak jauh berbeda dari hasil penelitian Septiani *et.al* [14], diperoleh rendemen sebesar 33,77% dimana penelitian juga menggunakan cara ekstraksi maserasi serta pelarut etanol 96%. Ekstrak daun stevia memiliki warna ekstrak hijau tua pekat, kental, rasa manis dan berbau khas. Menurut Mahdani *et.al* ekstrak stevia memiliki viskositas 4,5 cP, dan PH 5,46. Hal tersebut sama seperti yang dijelaskan oleh Buchori [15] bahwa range pH ekstrak stevia berkisar antara 5-6.



Gambar 1. Daun stevia



Gambar 2. Ekstrak daun stevia

Maserat serbuk daun stevia berwarna coklat tua. Maserat tersebut kemungkinan masih mengandung senyawa yang bukan gula. Hasil maserasi daun stevia dapat dilihat pada gambar 2.

Uji skrining fitokimia ekstrak daun stevia positif mengandung golongan alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, dan triterpenoid. Dari hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa senyawa bukan gula (aglikon) yang terdapat dalam ekstrak daun stevia yaitu alkaloid, tanin, steroid, flavonoid, dan fenol [16]. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak daun stevia dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak daun stevia

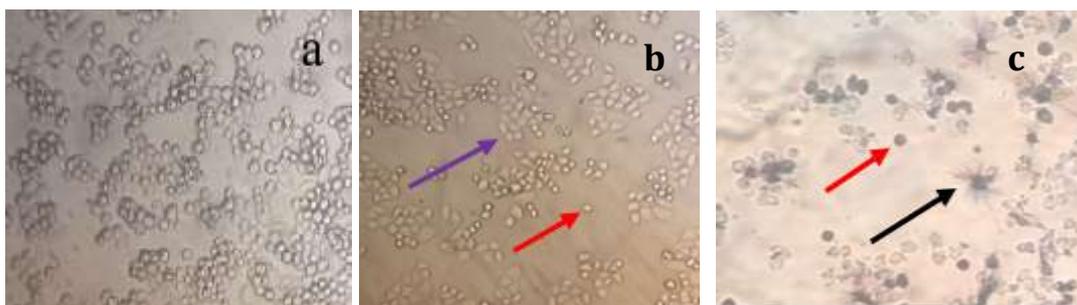
| Golongan senyawa | Prosedur | Hasil uji | Pustaka Sangi <i>et.al</i> [17] | Ket |
|------------------|---|--|---|-----|
| Tanin | 5 ml sampel ditambah etanol ditambah besi (III) klorida | Warna hijau kehitaman | Hasil positif jika warna larutan akan berubah menjadi biru kehitaman atau hijau kehitaman | + |
| Saponin | 0,05 gram Sampel + aquadest panas, kocok kuat | Terbentuk buih | Adanya buih yang stabil | + |
| Alkaloid | Sampel + 5ml aquades + HCl 2M hingga asam, saring. Filtrat + 1mL pereaksi Dragendorff | Endapan jingga | Hasil positif dengan pereaksi mayer terbentuk endapan putih atau dengan pereaksi dragendorff terbentuk endapan berwarna kuning jingga | + |
| Triterpenoid | Sampel + Liebermann Bourchard | Terbentuk warna merah jingga | Hasil positif yaitu terjadinya warna merah jingga atau ungu, sedangkan adanya steroid ditunjukkan dengan adanya warna biru. | + |
| Flavonoid | Sampel + 5 ml air suling + 0,1 serbuk mg + 1 ml larutan alkohol + asam klorida pekat + amil alkohol | Terbentuk warna merah jingga pada lapisan amil alkohol | Terbentuk warna merah jingga atau kuning jingga pada lapisan amil alkohol | + |

Flavonoid secara umum mempunyai peranan menghambat proliferasi sel kanker dengan cara menginhibisi aktivitas protein kinase sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran sel ke inti sel [18]. Golongan Alkaloid juga mempunyai mekanisme kerja sebagai antikanker dengan mengaktifkan apoptosis sel kanker sehingga proses pembelahan sel dapat dikendalikan [19]. Senyawa terpenoid memiliki peranan dalam aktivitas sitotoksik, senyawa tersebut mampu menginduksi kalsium (Ca^{+}) sehingga mampu menstimulasi apoptosis pada sel kanker. Senyawa steroid memiliki aktivitas memblok siklus sel pada fase G2/M dengan menstabilkan benang-benang sponde pada fase mitosis sehingga proses tersebut bisa terhambat [20].

Pada pengujian aktivitas sitotoksik, sel HeLa yang telah konfluen memiliki morfologi yang berbentuk bulat yang menempel rapat pada dasar flask seperti ditunjukkan pada gambar 3a. Ekstrak yang sudah berinteraksi dengan Sel HeLa bentuk morfologinya berubah, terlihat tidak bulat (gambar 3b). Sel HeLa yang telah mati akan berwarna lebih gelap, tidak beraturan dan memiliki kepadatan rendah. Sel HeLa yang hidup memiliki karakteristik lebih padat dan lebih terang. Sel HeLa

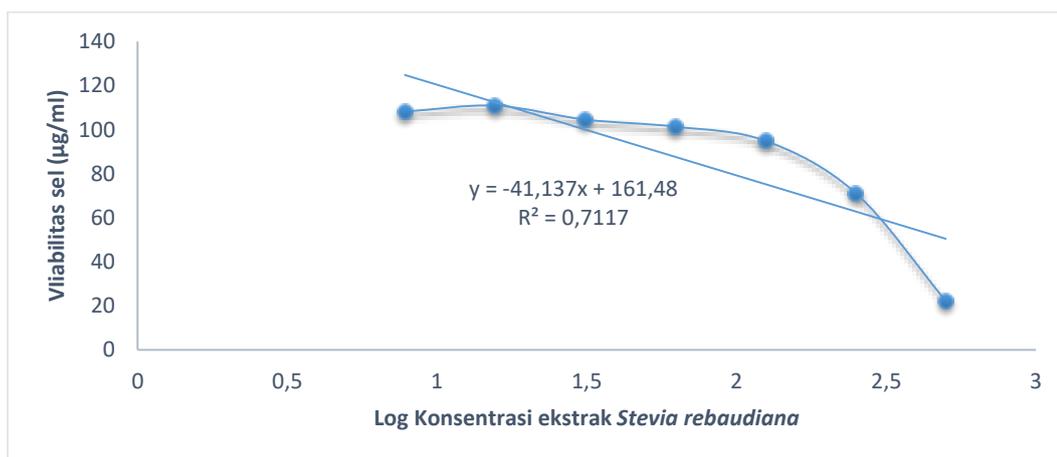


yang telah ditambah MTT akan menghasilkan enzim mitokondria reduktase yang selanjutnya akan bereaksi dengan cara mereduksi MTT sehingga membentuk kristal jarum formazan berwarna ungu yang berarti sel tersebut masih hidup (gambar 3c). Kristal jarum farmazan tidak dapat larut dalam air tetapi larut dalam SDS. Kristal formazan tersebut mampu menembus membran sel dan terakumulasi di dalam sel dan terakumulasi di dalam sel sehat. Sel HeLa yang mati tidak dapat terwarnai oleh MTT sehingga tidak mampu membentuk warna ungu seperti pada sel hidup [21].



Gambar 3. Morfologi Sel HeLa normal tanpa perlakuan (a), Sel HeLa setelah perlakuan dengan konsentrasi 500 µg/mL (b), dan Sel HeLa setelah pemberian MTT membentuk kristal formazan (c). Keterangan : (→) sel hidup, (→) sel Mati, (→) kristal formazan.

Hasil pengujian dengan ELISA reader menunjukkan bahwa persentase sel HeLa yang hidup akan terus menurun berbanding terbalik dengan kenaikan konsentrasi ekstrak yang diberikan yang artinya semakin besar konsentrasi ekstrak yang diberikan maka persentase kematian sel HeLa semakin meningkat (gambar 4). Nilai IC_{50} dapat ditentukan dari nilai absorbansi yang diperoleh dari pembacaan dengan ELISA reader. Hasil dari regresi linier diperoleh persamaan $y = -41,137x + 161,48$ dengan $r^2 = 0,7117$. Dari hasil penelitian diperoleh nilai IC_{50} sebesar 511,07 µg / ml.



Gambar 4. Kurva persen sel hidup sel HeLa vs ekstrak *Stevia rebaudiana* dengan konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15, 6 µg/mL.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, senyawa steviol dalam daun stevia diketahui memiliki nilai IC_{50} 185 μ M beraktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7. Steviol merupakan aglikon dari steviosida yang mempunyai potensi dalam uji sitotoksik. Senyawa steviol memiliki mekanisme kerja dalam menekan viabilitas sel kanker dan induksi apoptosis dalam mitokondria sel kanker. Pada pengujian apoptosis, senyawa steviol pada konsentrasi 10-250 μ M menunjukkan bahwa sel MCF-7 secara bertahap meningkat dalam keadaan fase G2/M yang melibatkan jalur pensinyalan dengan ROS artinya sel dalam fase istirahat dan tidak mengadakan replikasi. Hal tersebut bisa dianggap bahwa sel MCF-7 sedang dalam mengalami proses kematian. Selain itu juga ditemukan kumpulan sel dalam keadaan fase sub-G0/G1, hal tersebut menegaskan bahwa steviol mempunyai peranan dalam menginduksi apoptosis [10].

Senyawa stevioside murni yang terkandung dalam daun stevia juga dilakukan uji sitotoksik terhadap sel kanker payudara pada sel MDA-MB-231 diperoleh sebesar nilai IC_{50} 55 μ M dan 66 μ M SKBR3. Stevioside merupakan glikosida diterpenoid yang terdiri atas aglikon (steviol) dan 3 molekul glukosa. Stevioside mempunyai mekanisme kerja menghambat proliferasi sel kanker dengan cara meningkatkan produksi *Bax* sehingga menginduksi pelepasan Cytochrom C dalam mitokondria yang akan membentuk kompleks dengan APAF-1 (*Apoptotic Protease Activating Factor-1*) yang mengaktifasi caspase 3 dan 9 dan menghasilkan proses apoptosis. Stevioside yang dikombinasi dengan obat 5 fluorouracil juga menunjukkan hasil yg sinergis yaitu memperkuat kerja dari obat kemoterapi pada sel kanker payudara MDA-MB-231 serta SKBR3 [22].

Tabel 2. Hasil rata-rata absorbansi, persentase viabilitas sel HeLa dan nilai IC_{50}

| Konsentrasi sampel (μ g/mL) | Rata-rata absorbansi | Rata-rata viabilitas sel HeLa (%) | IC_{50} (μ g/mL) |
|----------------------------------|----------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| Ekstrak daun stevia | 500 | 0,293 ± 0,01 | 511,07 ± 1.62 |
| | 250 | 0,664 ± 0,02 | |
| | 125 | 0,907 ± 0,03 | |
| | 62,5 | 1,009 ± 0,06 | |
| | 31,25 | 1,024 ± 0,05 | |
| | 15,62 | 1,1048 ± 0,05 | |
| Cisplatin | 100 | 0,154 ± 0,01 | 16,819 ± 1.75 |
| | 50 | 0,135 ± 0,01 | |
| | 25 | 0,208 ± 0,01 | |
| | 12.5 | 0,356 ± 0,01 | |
| | 6.25 | 0,433 ± 0,03 | |
| | 3,12 | 0,480 ± 0,02 | |
| | | 102,57 ± 5,33 | |

Suatu ekstrak yang didalamnya mengandung senyawa yang beragam dan kompleks dapat berinteraksi kuat atau lemah. Interaksi tersebut belum tentu dapat memberikan efek yang sinergis seperti yang diharapkan. Metabolit sekunder yang ada di dalam daun stevia bisa jadi meniadakan atau mengurangi efektifitas dari senyawa aktif yang berpotensi sebagai antikanker. Senyawa pengganggu tersebut seperti senyawa klorofil dan tanin yang terkandung dalam daun stevia. Perbedaan



sel kanker yang diuji dengan penelitian sebelumnya juga menghasilkan aktivitas sitotoksik dari daun stevia yang berbeda-beda. Perbedaan tersebut perlu dilakukan lagi penelitian terkait metode ekstraksi yang lain atau menggunakan pelarut yang berbeda untuk memperoleh hasil yang lebih bagus.

Pada penelitian ini dapat dibuktikan bahwa cisplatin lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan sel HeLa. Berdasarkan hasil dari Tabel 1, ekstrak daun stevia memiliki nilai IC_{50} lebih besar dari kontrol positif (Cisplatin) sehingga cisplatin lebih toksik terhadap sel HeLa daripada ekstrak daun stevia. Nilai IC_{50} cisplatin yang diperoleh hampir sama dengan penelitian sebelumnya. Pada pengujian sitotoksik fraksi temu putih terhadap sel HeLa juga menggunakan kontrol positif cisplatin dengan nilai IC_{50} 20,823 $\mu\text{g/mL}$ [23]. Tujuan menggunakan kontrol positif adalah untuk mengetahui apakah sampel mempunyai efek sitotoksik yang sebanding dengan kontrol positif. Cisplatin merupakan obat sitotoksik dengan efektivitas tinggi yang bekerja tidak selektif karena menyebabkan toksik pada sel kanker dan sel normal, terutama sumsum tulang belakang yang merupakan sel normal dengan tingkat proliferasi tinggi [24].

Penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak acetone daun stevia pada pengenceran pelarut 1:8 yang merupakan konsentrasi efektif mampu menghambat pertumbuhan sel kanker HEp2 lebih dari 50% dan tidak toksik terhadap sel Vero. Pengenceran lebih lanjut membuat ekstrak kurang berpotensi ditandai dengan tingginya nilai viabilitas sel HEp2. Ekstrak acetone menunjukkan aktivitas tertinggi dibandingkan dengan ekstrak etil asetat dan kloroform daun stevia. Pada penelitian tersebut disebutkan bahwa ekstrak air daun stevia tidak mempunyai potensi terhadap sel kanker HEp2 [9].

Dari penelitian tersebut bisa terlihat bahwa perbedaan pelarut dalam proses ekstraksi sangat mempengaruhi hasil uji. Pelarut polar akan menarik senyawa yang bersifat polar. Untuk itu diperlukan beberapa penelitian lanjutan untuk mengetahui efektivitas pelarut pada saat ekstraksi yang memiliki potensi terhadap sel kanker. Berdasarkan klasifikasi aktivitas ekstrak bersifat sitotoksik terhadap sel kanker dapat dikategorikan sebagai berikut : kategori sangat kuat bila nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$, kategori kuat bila nilai IC_{50} adalah 10-100 $\mu\text{g/mL}$, kategori sedang bila nilai IC_{50} adalah 100-500 $\mu\text{g/mL}$ dan lemah bila $> 500 \mu\text{g/mL}$ [25]. Menurut Awik [26] nilai $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ merupakan agen antikanker poten sedangkan nilai $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ adalah agen kemopreventif yang poten.

4. KESIMPULAN

Hasil uji sitotoksik ekstrak etanol daun stevia sebesar 511,07 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} tergolong tidak bersifat toksik terhadap sel HeLa.

5. DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Indra, D. S. (2013). *Empat Teknik Perbanyakan Tanaman Stevia*. Pengawas Benih Tanaman BBPPTP. Surabaya.



- [2]. Isdianti, F. (2007). Penjernihan Ekstrak Daun Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) Dengan Ultrafiltrasi Aliran Silang. [Skripsi]. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- [3]. Contreras, Soledad M. (2013). Anticariogenic properties and effects on periodontal structures of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Journal of Oral Research*. 2(3):158–166. DOI: <https://doi.org/10.17126/joralres.2013.034>
- [4]. Kaushik R, Narayanan P, Vasudevan V, Muthukumaran G, Antony U (2010). Nutrient composition of cultivated Stevia leaves and the influence of polyphenols and plant pigments on sensory and antioxidant properties of leaf extracts. *J. Food Sci. Tech*. 47:27-33
- [5]. Lemus-Mondaca, R., Vega-Galves, A., Zura-Bravo, L., Ah-Hen, K. (2012). *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food chemistry*, 132 (3). 1121–1132.
- [6]. Tadhani, M.B., Patel, V.H., Rema Subhash. (2007). In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20: 323–329. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.08.004>
- [7]. Gupta, R., Yadav, V., Rastogi, M. (2014). A Review on Importance of Natural Sweetener, A Zero Calorie Plant – Stevia – Having Medicinal and Commercial Importance. *International Journal of Food and Nutritional Sciences*, 3(3), 90-94.
- [8]. Sichani MM, Karbasizadeh V, Aghai F, Mofid MR. (2012). Effect of different extracts of *Stevia rebaudiana* leaves on *Streptococcus mutans* growth. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6(32):4731–4734. <https://doi.org/10.5897/JMPR11.1622>
- [9]. Jayaraman Sathishkumar, Muthu Saravanan Manoharan, Seethalakshmi Illanchezian. (2008). In-vitro Antimicrobial and Antitumor Activities of *Stevia Rebaudiana* (Asteraceae) Leaf Extracts. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* ; 7 (4): 1143-1149. DOI: 10.4314/tjpr.v7i4.14700
- [10]. Gupta Ena, Shweta Kaushik, Shalini Purwar, Ramesh Sharma, Anil K. Balapure, Shanthi Sundaram. (2017). Anticancer Potential of Steviol in MCF-7 Human Breast Cancer Cells. *Pharmakognosy Magazine*. 13(51): 345–350. doi: 10.4103/pm.pm_29_17
- [11]. Yulianti Dian, Susilo Bambang, Yulianingsih Rini. (2014). Pengaruh Lama Ekstraksi Dan Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Sifat Fisika-Kimia Ekstrak Daun Stevia (*Stevia Rebaudiana* Bertoni M.) Dengan Metode Microwave Assisted Extraction (Mae). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. 2 (1) : 35-41.
- [12]. Departemen Kesehatan RI. (2013). *Suplemen III Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI



- [13]. Ismiyati N dan Nurhaeni F. (2016). Efek Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L) Sebagai Agen Kemopreventif pada Sel Kaker Leher Rahim Hela Melalui Aktivitas Sitotoksik dan Induksi Apoptosis. *Media Farmasi* 13:35-48. DOI: <http://dx.doi.org/10.12928/mf.v13i1.5741>
- [14]. Septiani Tia, Effendi E.M, Yulianita. (2005). Uji Aktivitas Kombinasi Ekstrak Etanol 96 % Daun Teh Putih (*Camelia Sinensis* L.) Dan Daun Stevia (*Stevia Rebaudiana* B.) Sebagai Antidiabetes Pada Tikus Putih. *Jurnal Farmasi-F. MIPA Universitas Pakuan*.XX
- [15]. Buchori L. (2007). Pembuatan gula non karsinogenik non kalori dari daun stevia. *Reaktor*.11(2):57-60
- [16]. Preethi D, Sridhar, Josthna P and C.V.Naidu. (2011). Studies on Antibacterial Activity, Phytochemical Analysis of *Stevia rebaudiana* (Bert.) - An Important Calorie Free Biosweetner. *Journal of Ecobiotechnology* 2011, 3(7): 05-10
- [17]. Sangi, M. M. R. J., Runtuwene, H. E. I., Simbala, dan Makang, V.M. A. (2008). Analisa fitokimia Tumbuhan Obat Di Minahasa Utara. *Chem Prog*, 1 (1); 47
- [18]. Jacobo-Herrera N, Perez-Plasencia C, Castro-Torres VA, Martinez-Vazquez M, González-Esquinca AR, & Zentella-Dehesa A. (2019). Selective Acetogenins and Their Potential as Anticancer Agents. *Frontiers in Pharmacology*, 10 (July), 1-12. doi.org/10.3389/fphar.2019.00783
- [19]. Berek JS, dan Natarajan S. (2007). Ovarian and Fallopian Tube Cancer, in: *Berek & Novak's Gynecology*. 14th. Ed. California: Lippincott William & Wilkins. p.1457-1531.
- [20]. Pan M, Chen NJ, Lin S, Ho CH, Lin JK. (2007). *Tangeretin Induces Cell Cycle Through Cyclin Dependent Kinase 2& 4 Activies as Wekkas Carsinogenesis*. Oxford University Press. 23: 1677-1684.
- [21]. Djajanegara IRA, and Wahyudi P. (2009). Pemakaian Sel HeLa dalam Uji Sitotoksitas Fraksi Kloroform dan Etanol Ekstrak Daun *Annona squamosa*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 7 (1), 7-11.
- [22]. Khare Noopur, Chandra Sheela. (2018). Stevioside mediated chemosensitization studies and cytotoxicity assay on breast cancer cell lines MDA-MB-231 and SKBR3. *Saudi Journal of Biological Sciences*. XX <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.10.009>
- [23]. Sumantri Apria W. (2018). Efektifitas Antikanker Fraksi (*Curcuma Zedoaria*) Dan Pengaruhnya Terhadap Ekspresi Gen Caspase 3 Pada Sel Hela Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Saelmakers Perdana*. 1 (2).
- [24]. Nissa CK, Oehadin A, Martakusumah AH, Dewi YA. (2015). Accuracy Comparison of Various Formulas for Estimating Glomerular Filtration Rate in Advanced Nasopharyngeal Carcinoma Patients before Cisplatin Administration. *Majalah Kedokteran Bandung*; Vol.47 (1). DOI: 10.15395/mkb.v47n1.396
- [25]. Wzeerapreeyakul N, Nonpunya A. Barusrux S, Thitimetharoch T and Sripanidkulchai B. (2012). Evaluation of the anticancer potential of six herbs



- against a heptomacelline. *J. Chinese Medicine*. 7(15). doi: 10.1186/1749-8546-7-15
- [26]. Awik PDN, Sukardiman, Hani Tenia Fadjri. (2011). Uji Sitotoksitas Dan Efek Ekstrak Spons Laut *Aaptos Suberitoides* Terhadap Sel Kanker Serviks (Hela) Secara In Vitro. [skripsi]. Surabaya: Fakultas matematika dan Ilmu pengetahuan alam, Institut Sepuluh November.

