

AKTIVITAS APOPTOSIS SEL HELA OLEH FRAKSI AKTIF MAHONI: STUDI FLOWCYTOMETRY

Diah Komala Sari¹, Gusti Ayu Widayanti², Nur Arifah³

^{1,2,3}Program Studi Biologi, Universitas Indo Global Mandiri Palembang.

Jalan Jendral Sudirman KM. 4 No. 629, 20 Ilir D. IV, Ilir Tim. I, Kota Palembang, Sumatera Selatan 30129.

Email : diahkomalasari@uigm.ac.id¹, gustiah@uigm.ac.id², nura@uigm.ac.id³

ABSTRAK

Kanker serviks merupakan salah satu penyebab utama kematian wanita, terutama di negara berkembang dengan akses terbatas terhadap pengobatan konvensional (Sung, 2021). Pendekatan terapeutik modern diarahkan pada induksi apoptosis, yaitu kematian sel terprogram, sebagai upaya menekan pertumbuhan sel kanker (Elmore, 2022). Salah satu sumber agen proapoptotik potensial adalah tanaman obat seperti *Swietenia mahagoni*, yang mengandung flavonoid dan limonoid dengan efek sitotoksik (Abotaleb, 2018; Syame, 2022). Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas apoptosis fraksi etil asetat daun *Swietenia mahagoni* terhadap sel kanker serviks HeLa secara *in vitro* menggunakan metode flowcytometry (Shapiro, 2024). Sel HeLa diberi perlakuan fraksi aktif berdasarkan IC₅₀ dan dianalisis menggunakan pewarnaan Annexin V-FITC/PI. Hasil menunjukkan apoptosis total sebesar 62,44%, mendekati cisplatin (71,28%) dan jauh lebih tinggi dari kontrol negatif (8,35%). Temuan ini menunjukkan potensi fraksi etil asetat sebagai agen antikanker alami. Penelitian lanjutan disarankan untuk identifikasi senyawa aktif, konfirmasi jalur molekuler apoptosis, serta uji *in vivo* guna pengembangan sebagai fitofarmaka.

Kata kunci : Aktivitas apoptosis, Fraksi etil asetat, Sel HeLa

ABSTRACT

Cervical cancer is a leading cause of death among women, particularly in developing countries with limited access to conventional treatment (Sung, 2021). Modern cancer therapy strategies focus on inducing apoptosis, a programmed cell death process that suppresses tumor progression (Elmore, 2022). Medicinal plants such as Swietenia mahagoni, which contain flavonoids and limonoids with cytotoxic effects, are promising sources of pro-apoptotic agents (Abotaleb, 2018; Syame, 2022). This study aimed to evaluate the apoptotic activity of the ethyl acetate fraction of Swietenia mahagoni leaves against HeLa cervical cancer cells in vitro using flow cytometry (Shapiro, 2024). HeLa cells were treated at the IC₅₀ concentration and stained with Annexin V-FITC/PI to detect apoptosis. Results showed 62.44% total apoptosis, close to that of cisplatin (71.28%) and significantly higher than the negative control (8.35%). These findings indicate strong pro-apoptotic potential of the fraction as a natural anticancer agent. Further research is recommended to identify the active compounds, confirm the molecular apoptosis pathway, and conduct in vivo tests for phytopharmaceutical development.

Keywords : Apoptotic activity, Ethyl acetate fraction, HeLa cells

PENDAHULUAN

Swietenia mahagoni (mahoni) merupakan salah satu tanaman obat yang telah banyak digunakan dalam pengobatan tradisional di berbagai negara, termasuk Indonesia. Berbagai bagian tanaman ini—terutama biji dan daun—diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, limonoid, saponin, dan triterpenoid yang memiliki aktivitas farmakologis penting, antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri, serta antikanker (Syame et al., 2022). Senyawa limonoid dan flavonoid dari daun *Swietenia mahagoni* khususnya dilaporkan mampu menginduksi apoptosis dan menghambat proliferasi sel kanker melalui berbagai mekanisme molekuler.

Dalam konteks penelitian ini, bagian tanaman yang digunakan adalah daun dari *Swietenia mahagoni*, yang diekstraksi dan difraksinasi untuk mengisolasi senyawa aktif, terutama dalam fraksi etil asetat, yang sebelumnya dilaporkan menunjukkan aktivitas sitotoksik yang signifikan terhadap beberapa jenis sel kanker.

Kanker serviks sendiri merupakan salah satu masalah kesehatan utama pada wanita di dunia, terutama di negara berkembang. Berdasarkan data *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN) 2020, terdapat lebih dari 600.000 kasus baru dan lebih dari 340.000 kematian akibat kanker serviks secara global. Sekitar 90% kematian tersebut terjadi di negara berpenghasilan rendah dan menengah, termasuk Indonesia (Sung et al., 2021).

Sebagian besar kasus kanker serviks disebabkan oleh infeksi Human Papillomavirus (HPV) risiko tinggi,

terutama tipe 16 dan 18. Onkogen dari virus ini mengekspresikan protein E6 dan E7 yang mampu menonaktifkan protein p53 dan Rb, yang merupakan regulator penting dalam siklus sel dan apoptosis. Ketika fungsi-fungsi pengendalian ini terganggu, sel-sel dapat berkembang menjadi ganas dan tidak lagi merespon sinyal kematian sel (apoptosis) (Chumduri, 2021).

Apoptosis, atau kematian sel terprogram, adalah mekanisme penting dalam menjaga keseimbangan pertumbuhan dan kematian sel. Ketika proses ini terganggu, sel abnormal dapat berkembang menjadi kanker. Oleh karena itu, banyak terapi antikanker modern yang diarahkan untuk menginduksi apoptosis sebagai strategi menekan perkembangan tumor (Elmore, 2022).

Studi praklinis telah menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dari tanaman obat berpotensi menghambat jalur transduksi sinyal proliferasi dan mengaktifkan jalur apoptosis, seperti aktivasi caspase, peningkatan ekspresi Bax, dan penurunan Bcl-2. Mekanisme ini penting untuk menginisiasi kematian sel kanker melalui jalur intrinsik maupun ekstrinsik (Abotaleb, et al., 2019).

Meskipun berbagai studi telah menunjukkan bahwa senyawa bioaktif dari tanaman obat memiliki potensi sebagai agen antikanker, masih terbatas penelitian yang secara spesifik mengevaluasi aktivitas apoptosis dari fraksi aktif daun *Swietenia mahagoni* terhadap sel kanker serviks menggunakan metode kuantitatif dan presisi seperti flowcytometry. Flowcytometry merupakan teknik analisis berbasis laser yang mampu mendeteksi karakteristik sel secara individual dalam

populasi besar, termasuk perubahan membran sel yang menjadi indikator awal apoptosis. Teknik ini banyak digunakan dalam penelitian biomedis modern karena kemampuannya dalam mengidentifikasi populasi sel apoptosis awal dan lanjut secara akurat (Shapiro, 2022).

Permasalahan dalam penelitian ini terletak pada belum tersedianya data terverifikasi yang menunjukkan seberapa besar pengaruh fraksi aktif mahoni dalam menginduksi apoptosis pada sel HeLa secara spesifik. Padahal, dalam konteks terapi kanker modern, kemampuan senyawa untuk menginisiasi kematian sel terprogram menjadi parameter penting dalam seleksi agen antikanker berbasis herbal (Abotaleb, et al., 2019). Mengingat daun *Swietenia mahagoni* diketahui mengandung senyawa flavonoid dan limonoid yang bersifat sitotoksik dan proapoptotik, maka perlu dilakukan pembuktian lebih lanjut secara eksperimental menggunakan pendekatan berbasis flowcytometry.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi aktivitas apoptosis yang diinduksi oleh fraksi aktif daun *Swietenia mahagoni* terhadap sel kanker serviks HeLa secara *in vitro* menggunakan metode flowcytometry. Penelitian ini bertujuan mengukur proporsi sel yang mengalami apoptosis awal (Annexin V⁺ / PI⁻), apoptosis lanjut (Annexin V⁺ / PI⁺), sel nekrotik (Annexin V⁻ / PI⁺), dan sel hidup (Annexin V⁻ / PI⁻) setelah perlakuan dengan fraksi aktif tersebut. Evaluasi ini penting dilakukan guna mendukung pengembangan terapi alternatif kanker berbasis bahan alam yang memiliki efikasi tinggi dan efek samping rendah.

Definisi operasional di penelitian ini adalah Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun *Swietenia mahagoni*, yang dipilih berdasarkan hasil studi pendahuluan. Uji sitotoksitas MTT menunjukkan bahwa fraksi ini memiliki nilai IC₅₀ terendah terhadap sel HeLa, yaitu sebesar 63,5 µg/mL, dibandingkan fraksi lainnya (Sari., 2018). Aktivitas apoptosis didefinisikan sebagai persentase sel HeLa yang mengalami apoptosis awal maupun lanjut setelah 24 jam perlakuan. Analisis dilakukan dengan pewarnaan Annexin V-FITC dan Propidium Iodide, lalu dibaca menggunakan flowcytometry. Sel diklasifikasikan sebagai apoptosis awal (Annexin V⁺/PI⁻), lanjut (Annexin V⁺/PI⁺), nekrosis (Annexin V⁻/PI⁺), dan sel hidup (Annexin V⁻/PI⁻).

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan kuantitatif dengan desain penelitian yaitu eksperimental laboratorium *in vitro*.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Universitas Sriwijaya (UNSRI) untuk proses ekstraksi dan fraksinasi, serta di Laboratorium Parasitologi dan Kultur Sel, Universitas Gadjah Mada (UGM) untuk pengujian sitotoksik dan analisis apoptosis menggunakan flowcytometry.

Target/Subjek Penelitian

Sasaran penelitian adalah sel kanker HeLa (*Human Cervical Cancer Cell Line*), yang diperoleh dari koleksi Laboratorium

Parasitologi UGM. Subjek penelitian berupa kultur sel HeLa yang telah tumbuh konfluensi dan siap untuk diberi perlakuan.

Prosedur

Prosedur penelitian diawali dengan proses preparasi dan kultur sel HeLa. Sel HeLa dicairkan dari tangki nitrogen cair, dikultur dalam medium RPMI 1640 yang diperkaya dengan FBS 10%, penicillin-streptomycin 1%, dan fungizone 0,5%, serta diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator CO₂ 5%. Setelah mencapai tingkat konfluensi, sel dipanen dan dihitung menggunakan hemocytometer. Sebanyak 5×10^5 sel ditanam ke dalam 6-well plate dan diinkubasi selama 24 jam sebelum perlakuan.

Setelah itu, sel diberi perlakuan fraksi aktif dengan konsentrasi berdasarkan nilai IC₅₀ yang telah ditentukan sebelumnya. Sebagai kontrol positif digunakan cisplatin, dan sebagai kontrol negatif digunakan media tanpa perlakuan. Setelah perlakuan, sel diinkubasi kembali selama 24 jam.

Untuk analisis apoptosis, sel dipanen dan disuspensikan dalam PBS, kemudian diberi penambahan reagen Annexin V-FITC dan Propidium Iodide (PI) sesuai protokol dari *Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit*. Pewarnaan ini memungkinkan deteksi sel berdasarkan fase apoptosis: apoptosis awal (Annexin V+/PI-), apoptosis lanjut (Annexin V+/PI+), sel nekrotik (Annexin V-/PI+), dan sel hidup (Annexin V-/PI-). Selanjutnya, sampel dianalisis menggunakan alat flowcytometer dan data dikumpulkan dalam bentuk persentase jumlah sel dalam tiap kategori apoptosis.

Data, Instrumen, dan Teknik Pengumpulan Data

Instrumen utama yang digunakan dalam penelitian ini meliputi mikroskop inverted, inkubator CO₂, flowcytometer, dan alat kultur sel (laminar air flow, centrifuge, hemocytometer, micropipette). Sedangkan untuk bahan utama terdiri dari fraksi aktif mahoni, media kultur (RPMI 1640), tripsin-EDTA, Annexin V-FITC/PI kit, DMSO, serta reagen lainnya.

Teknik pengumpulan data dilakukan dengan cara mencatat hasil pembacaan flowcytometry berupa jumlah dan persentase sel dalam setiap fase apoptosis. Data dikumpulkan dari tiga kali replikasi untuk setiap perlakuan.

Teknik Analisis Data

Teknik analisis data dilakukan secara deskriptif kuantitatif. Persentase apoptosis yang terjadi pada setiap perlakuan dianalisis untuk mengetahui perbedaan aktivitas apoptosis antara fraksi aktif dan kontrol, serta dibandingkan dengan perlakuan cisplatin sebagai pembanding. Data dapat disajikan dalam bentuk grafik pie atau scatter plot, serta dianalisis menggunakan perangkat lunak statistik dasar seperti Microsoft Excel atau SPSS untuk uji deskriptif dan visualisasi.

Dengan desain penelitian dan pendekatan laboratorium yang sistematis ini, diharapkan diperoleh data empiris yang valid mengenai potensi fraksi aktif daun mahoni sebagai agen proapoptotik terhadap sel kanker serviks.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pengamatan terhadap aktivitas apoptosis sel HeLa dilakukan setelah

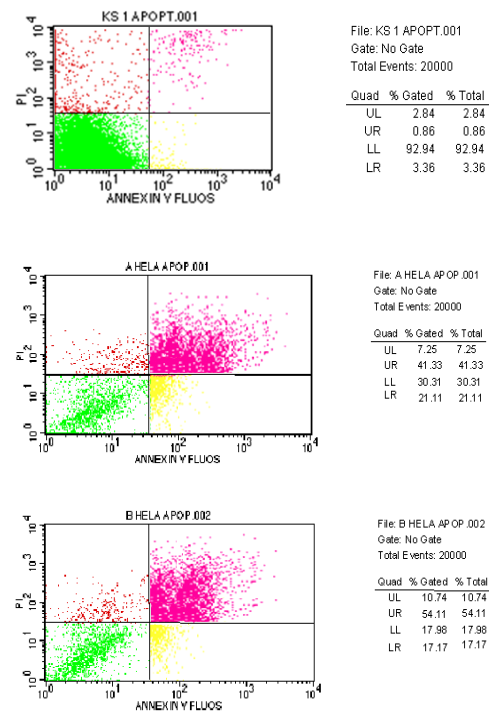
perlakuan fraksi aktif daun *Swietenia mahagoni* selama 24 jam, menggunakan metode pewarnaan Annexin V-FITC dan Propidium Iodide (PI), yang kemudian dianalisis melalui flowcytometry. Pengukuran dilakukan terhadap empat kelompok sel, yaitu sel hidup, apoptosis awal, apoptosis lanjut, dan sel nekrotik. Hasil pengamatan disajikan dalam bentuk rerata persentase dari tiga kali replikasi.

Hasil menunjukkan bahwa fraksi etil asetat sebagai fraksi aktif mampu menginduksi apoptosis secara signifikan dibandingkan kontrol negatif (tanpa perlakuan). Persentase sel HeLa yang mengalami apoptosis setelah perlakuan fraksi aktif mencapai lebih dari 60%, terdiri dari apoptosis awal maupun lanjut. Sebagai pembanding, cisplatin sebagai kontrol positif menunjukkan potensi apoptosis yang lebih tinggi, namun tidak berbeda jauh dari fraksi aktif tersebut.

Berikut adalah hasil lengkap distribusi persentase sel berdasarkan klasifikasi kematian sel:

Tabel 1. Distribusi Persentase Sel HeLa Berdasarkan Status Apoptosis Setelah Perlakuan selama 24 jam

Perlakuan	Sel Hidup (%)	Apoptosis Awal (%)	Apoptosis Lanjut (%)	Sel Nekrotik (%)
Kontrol Negatif	87,35 ± 2,1	5,12 ± 1,8	3,23 ± 1,5	4,30 ± 0,7
Fraksi Etil Asetat	26,74 ± 3,5	25,66 ± 2,2	36,78 ± 2,9	10,82 ± 1,2
Cisplatin	18,02 ± 1,9	22,31 ± 2,4	48,97 ± 3,1	10,70 ± 1,1



Gambar 1. Hasil analisis *flowcytometry*,

- Kontrol sel
- Fraksi etil asetat
- Cisplatin

Keterangan:

Hijau (LL) : Sel hidup
Kuning (LR) : Apoptosis awal
Merah muda (UR) : Apoptosis akhir
Merah (UL) : Nekrosis

Hasil ini menunjukkan bahwa perlakuan fraksi etil asetat terhadap sel HeLa mampu meningkatkan kejadian apoptosis total (awal + lanjut) hingga 62,44%, dibandingkan kontrol negatif hanya sekitar 8,35%, dan mendekati efektivitas cisplatin (71,28%). Ini mengindikasikan bahwa fraksi aktif daun mahoni memiliki potensi sitotoksik kuat melalui mekanisme kematian sel terprogram.

Peningkatan apoptosis awal dan lanjut pada kelompok perlakuan menunjukkan bahwa fraksi aktif dapat mengaktifasi jalur apoptosis secara bertahap. Apoptosis awal ditandai oleh

ekspresi phosphatidylserine pada permukaan sel yang dikenali oleh Annexin V, sedangkan apoptosis lanjut menunjukkan masuknya PI akibat kerusakan membran sel yang lebih lanjut. Adanya peningkatan sel nekrotik dalam jumlah kecil kemungkinan disebabkan oleh efek samping toksik ringan atau keterlambatan proses apoptosis menjadi nekrosis sekunder, sebagaimana juga dilaporkan dalam studi serupa menggunakan senyawa herbal (Abotaleb et al., 2019).

Mekanisme apoptosis yang terjadi kemungkinan besar disebabkan oleh senyawa flavonoid dalam fraksi etil asetat, yang telah dilaporkan sebelumnya mampu mengaktivasi jalur intrinsik melalui ekspresi protein Bax, inhibisi Bcl-2, serta aktivasi caspase-9 dan caspase-3. Flavonoid juga diketahui dapat mengganggu siklus sel dan meningkatkan sensitivitas sel kanker terhadap stres oksidatif, yang akhirnya memicu apoptosis.

Perbandingan antara fraksi etil asetat dan cisplatin memperlihatkan bahwa meskipun cisplatin memiliki efek apoptosis lebih tinggi, perbedaan yang tidak terlalu signifikan menunjukkan bahwa fraksi herbal ini berpotensi dikembangkan sebagai alternatif terapi kanker berbasis tanaman. Efek samping dan toksisitas sistemik dari kemoterapi konvensional seperti cisplatin menjadi alasan kuat untuk mempertimbangkan terapi berbasis fitokimia dalam jangka panjang (Elmore, 2022)(Sung, et al., 2021).

Dengan demikian, hasil penelitian ini mendukung hipotesis bahwa fraksi etil asetat dari daun *Swietenia mahagoni* memiliki potensi sebagai agen antikanker

alami melalui mekanisme induksi apoptosis, dan berpotensi sebagai kandidat terapi alternatif kanker serviks berbasis bahan alam.

KESIMPULAN

1. Fraksi etil asetat daun *Swietenia mahagoni* terbukti memiliki aktivitas proapoptotik terhadap sel kanker serviks HeLa, dengan total apoptosis sebesar 62,44% berdasarkan analisis *flowcytometry*, yang terdiri dari apoptosis awal sebesar 21,11% dan apoptosis lanjut sebesar 41,33%.
2. Aktivitas apoptosis fraksi etil asetat mendekati efektivitas cisplatin sebagai kontrol positif yang menunjukkan total apoptosis sebesar 71,28%, dengan dominasi apoptosis lanjut sebesar 54,11%, menunjukkan bahwa fraksi mahoni memiliki potensi kuat sebagai agen antikanker alami.
3. Dibandingkan dengan kontrol negatif, yang hanya menunjukkan apoptosis sebesar 4,22%, perlakuan fraksi etil asetat menunjukkan peningkatan signifikan dalam kematian sel terprogram, yang mengindikasikan bahwa kandungan senyawa aktif dalam fraksi ini (seperti flavonoid dan limonoid) berperan penting dalam menginduksi apoptosis.
4. Kelebihan penelitian ini terletak pada penggunaan metode *flowcytometry*, yang memungkinkan analisis yang akurat dan kuantitatif terhadap fase-fase apoptosis secara langsung pada tingkat sel.
5. Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dilakukannya konfirmasi terhadap jalur molekuler spesifik apoptosis (misalnya ekspresi caspase, Bax/Bcl-2), serta belum dilakukan analisis spektrum

senyawa aktif secara detail dalam fraksi yang digunakan.

6. Pengembangan penelitian selanjutnya dapat diarahkan pada:
 - a. Isolasi dan identifikasi senyawa aktif utama dari fraksi etil asetat.
 - b. Uji ekspresi gen atau protein apoptosis menggunakan RT-PCR atau Western blot.
 - c. Uji in vivo pada model hewan kanker serviks untuk melihat efektivitas sistemik dan toksisitas fraksi mahoni secara keseluruhan.

SARAN

1. Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan identifikasi senyawa aktif spesifik dalam fraksi etil asetat daun *Swietenia mahagoni* menggunakan metode kromatografi dan spektrometri, guna mengetahui komponen fitokimia utama yang bertanggung jawab terhadap aktivitas apoptosis.
2. Perlu dilakukan pengujian mekanisme molekuler lebih lanjut melalui analisis ekspresi gen atau protein apoptosis seperti caspase-3, caspase-9, Bax, dan Bcl-2, untuk memastikan jalur apoptosis yang dominan (jalur intrinsik atau ekstrinsik) akibat perlakuan fraksi aktif.
3. Riset lanjutan juga direkomendasikan untuk menguji aktivitas fraksi etil asetat secara in vivo pada model hewan kanker serviks guna mengevaluasi efektivitas biologis dan potensi toksisitas sistemik sebelum dikembangkan sebagai kandidat fitofarmaka.
4. Mengingat efektivitas apoptosis fraksi etil asetat mendekati cisplatin namun berasal dari bahan alam, fraksi ini memiliki potensi besar sebagai alternatif terapi kanker berbasis herbal yang lebih

aman dan ekonomis, sehingga perlu dukungan lebih lanjut dari kalangan akademik, klinis, dan industri.

5. Penelitian dengan pendekatan kombinasi terapi (fraksi mahoni + agen kemoterapi rendah dosis) juga dapat dipertimbangkan sebagai strategi untuk mengurangi efek samping obat konvensional dan meningkatkan efikasi terapi kanker.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Sriwijaya Fakultas Kedokteran dan Universitas Gadjah Mada yang telah memberi dukungan terhadap penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abotaleb M, Samuel SM, Varghese E, Varghese S, Kubatka P, Liskova A, et al. Flavonoids in cancer and apoptosis. Vol. 11, Cancers. MDPI AG; 2019. <https://doi.org/10.3390/cancers11010028>
- Chumduri, C., Turco, M.Y., 2021. Organoids of the female reproductive tract. *Journal of molecular medicine*. 99(4):531-553. <https://doi.org/10.1007/200109-020-02028-0>
- Elmore, S., 2022. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Sage Journals*. Vol.35, Issue 4:495-516. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>
- Sari, DK., Aktivitas Ekstrak dan Fraksi Daun Mahoni (*Swietenia Mahagoni* (L.) jacq pada Sel HeLa. *JPP (Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang)*. 2018 Dec 19;13(1):1–8.
DOI: [10.36086/jpp.v13i1.85](https://doi.org/10.36086/jpp.v13i1.85)
- Shapiro HM. Practical Flow Cytometry. 4th

ed. Wiley; 2003.

DOI: 10.1002/0471722731

Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2021 May;71(3):209–49.

<https://doi.org/10.3322/caac.21660>

Syame, S. M., Mohamed, S. M., Elgabry, E. A., Darwish, Y. A. A., Mansour, A. S., 2022. Chemical characterization, antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic potentials of *Swietenia mahagoni*. *SpingerOpen Journal*. 12:77.

<https://doi.org/10.1186/s13568-01406-w>