

Antiproliferatif Ekstrak Metanol Daun *Dianella nemorosa* Lam. (Liliaceae) terhadap Sel Kanker MKN45 dengan Menggunakan Metode WST-1

ADITYA KRISHAR KARIM^{1*} DAN SISMINDARI²

¹Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura-Papua

²Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Diterima: tanggal 3 Agustus 2011 - Disetujui: tanggal 21 Oktober 2011

© 2011 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

Dianella nemorosa Lam. was known containing alkaloids, terpenoid, phenolic compounds and tanin. Antiproliferative effect of *D. nemorosa* leaves methanol extract, which demonstrated to have an in vitro cytotoxic effect on cancer cell line. The aim of research was examined the effect antiproliferative methanol extract of *D. nemorosa* leaves against MKN45 (gastric cancer) cell line. Leaves powder extracted using methanol. Antiproliferative effect was determined by Cell Proliferation Reagents WST-1 ((2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium monosodium salt). Test for 1h, 2h, and 4h after incubated for 72h was done. The result of this research showed that methanol extract from *D. nemorosa* possessed remarkable no had antiproliferative activity against MKN45 cell line. The result indicated methanol extract of *D. nemorosa* leaves selective inhibitory effect or antiproliferative against cell line.

Key words: *Dianella nemorosa*, Antiproliferative, MKN 45, and WST-1

PENDAHULUAN

Kanker Perut (*gastric cancer*) merupakan salah satu penyebab kematian yang disebabkan oleh kanker di seluruh dunia (Hohenberger & Gretschel, 2003) termasuk juga di Asia tenggara (Tsunemitsu *et al.*, 2004). Beberapa laporan penelitian menyebutkan 23,2% kematian di China disebabkan oleh kanker perut (Feng *et al.*, 2002; Sun *et al.*, 2002; Kelley *et al.*, 2003), dan merupakan salah satu tumor ganas yang umum di Jepang (Ikeguchi *et al.*, 2002; Yoshioka *et al.*, 2005).

Pengobatan kanker perut pada umumnya dengan cara pembedahan, kemoterapi dan radioterapi, namun beberapa metode ini tidak

berhasil pada pengobatan stadium lanjut (Ushijima & Sasako, 2004). Oleh karena itu pengobatan sering menggunakan kombinasi dari berbagai metode tersebut (Alberts *et al.*, 2003; Takahira *et al.*, 2004).

Pemanfaatan obat tradisional yang berasal dari tumbuhan sebagai obat kemoterapi dalam pengendalian penyakit kanker semakin meningkat. Tumbuhan merupakan salah satu sumber bahan obat-obatan kemoterapi yang potensial sehingga sampai saat ini usaha pencarian obat-obat kemoterapi yang berasal dari tumbuhan masih terus dilakukan.

Beberapa jenis dari famili Liliaceae diketahui memiliki banyak aktivitas farmakologis sebagai antikanker, antioksidan, immunomodulator dan bersifat antibakteri (Xiao *et al.*, 2000; Ahmad, 2010; Bozcuk *et al.*, 2011, Chawla *et al.*, 2011; Vala *et al.*, 2011).

*Alamat Korespondensi:

Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Cenderawasih,
Jayapura. Jln. Kamp Wolker, Waena, Jayapura.

Tlp: 081344656413, e-mail: krisharkarim@yahoo.com

Dianella nemorosa Lam. atau dikenal dengan nama lokal “pra kepey” (Papua) termasuk ke dalam famili Liliaceae dan merupakan salah satu obat tradisional yang dimanfaatkan oleh beberapa suku di Papua. Penelitian Wahyuningsih dkk., (2009) menunjukkan bahwa pada *D. nemorosa* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker Raji (sel β -limfoma manusia) yang diuji dengan menggunakan *MTT assay* dan berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat kemoterapi.

Beberapa laporan penelitian lainnya juga menyebutkan bahwa pada jenis *Dianella* yang lain seperti *Dianella ensifolia* banyak mengandung senyawa naphthoquinone, plumbagin, stypanrol dan imbricatanol dan polifenol (Lojanapiwatna *et al.*, 1982; Colegate *et al.*, 1986; Byrne *et al.*, 1987). Naphthoquinone, plumbagin dan senyawa turunannya memiliki berbagai macam aktivitas farmakologis, sebagai antikarsinogenik (Srinivas *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2008; Babula *et al.*, 2009).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji antiproliferatif ekstrak metanol daun *D. nemorosa* terhadap sel kanker perut (MKN45 cell line) dengan menggunakan metode *Water Soluble Tetrazolium Salts-1* (WST-1).

METODE PENELITIAN

Persiapan bahan dan ekstraksi

Tumbuhan *D. nemorosa* dikumpulkan dari Kampung Tablasupa, Distrik Sentani, Kabupaten Jayapura, Papua. Tanaman tersebut selanjutnya diidentifikasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada (UGM) dan Herbarium Bogoriensis, Bidang Botani, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) sebagai *Dianella nemorosa*. Daun yang telah dikumpulkan dicuci dengan air, dikeringkan, diblender, dan diayak. Serbuk diekstraksi dengan maserasi menggunakan metanol. Ekstrak dipekatkan dengan menggunakan evaporator.

Preparasi kultur sel kanker

Sel MKN45 (*human gastric cell line*) diperoleh dari Yamamura, Ph.D, Laboratorium Onkologi, Kawasaki Medical School, Jepang. Sel kanker MKN45 pada medium Dulbecco's Modified Eagle

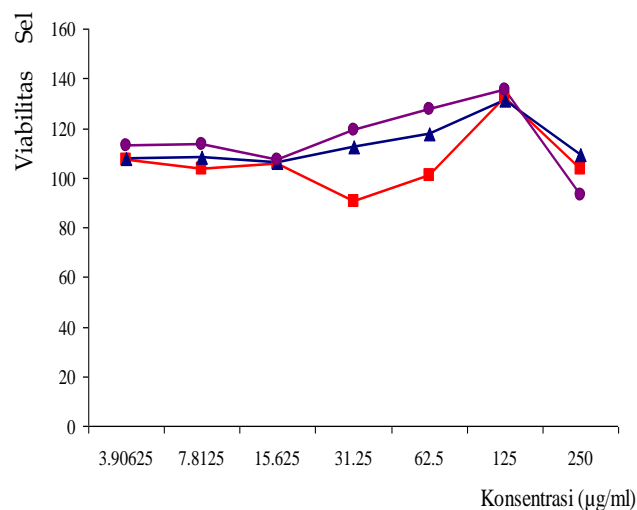
Media (DMEM, Sigma) yang mengandung 10% v/v Fetal Bovine Serum (FBS) (Sigma) and 1% v/v kanamicin (Sigma). Kultur sel kanker diinkubasi pada suhu 37°C dengan 5% CO₂.

Uji aktivitas antiproliferatif pada sel kanker MKN45 secara in vitro

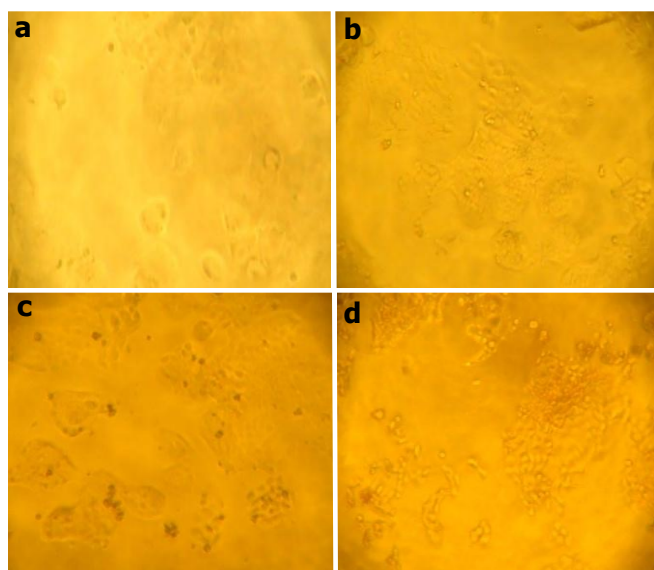
Kultur sel dengan kepadatan $4,0 \times 10^3$ sel/ml sebanyak 100 μ l dimasukkan ke dalam sumuran (96 well microplate, Nunc-Germany) bersama suatu seri konsentrasi kadar uji ekstrak methanol daun *D. nemorosa* (250; 125; 62.50; 31.25; 15.625; 7.8125; 3.906 μ g/ml) dengan 0.1% dimetilsulfoksida (DMSO) sebagai blanko dan sel dalam media sebagai kontrol. Kemudian sumuran diinkubasi didalam inkubator CO₂ pada suhu 37°C dengan 5% CO₂ selama 72 jam. Pada akhir masa inkubasi media dihilangkan dengan aspirator, dan selanjutnya ditambahkan medium dan 10 μ l reagen WST-1. Diinkubasi selama 1, 2 dan 4 jam pada suhu 37°C dengan 5% CO₂. Nilai absorbansi dibaca pada panjang gelombang 450-620 nm menggunakan ELISA reader (Type Varioskan Flash Thermo scientific). Persentasi viabilitas sel MKN45 dihitung dengan cara jumlah sel hidup kontrol dikurangi jumlah sel hidup perlakuan dibagi jumlah sel hidup kontrol dikalikan 100%. Data diolah dengan menggunakan program Microsoft Excell.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji sitotoksik bertujuan untuk mengetahui potensi suatu ekstrak tumbuhan terhadap sel kanker. Data yang diperoleh digunakan untuk perhitungan potensi efek sitotoksik suatu ekstrak tumbuhan yaitu berupa nilai *Inhibition Concentration* (IC₅₀). Uji sitotoksitas diperoleh dosis yang menyebabkan kematian sel sebesar 50% dari populasi sel. Semakin kecil IC₅₀ suatu ekstrak maka semakin toksik ekstrak tersebut terhadap sel kanker yang diuji. Selain persentase kematian, tingkat toksisitas juga dapat diamati dari morfologi sel dengan menggunakan mikroskop (Doyle & Griffiths, 2000).



Gambar 1. Grafik hubungan viabilitas sel MKN45 (%) dengan konsentrasi ekstrak metanol daun *D. nemorosa* setelah inkubasi 72 jam pada suhu 37°C dengan 5% CO₂, dan setelah penambahan reagen WST-1 untuk 1 jam (■-merah), 2 jam (▲-Biru) dan 4 jam (●-ungu).



Gambar 2. Morfologi sel MKN45 (a). kontrol sel (b). konsentrasi ekstrak 3.906 µg/ml, (c). 31.25 µg/ml, (d). 250 µg/ml. Sel diperlakukan dengan ekstrak metanol *D. nemorosa* setelah inkubasi 72 Jam dan pemberian reagen WST1 (4 jam). Formazan yang terbentuk pada perlakuan sel hampir sama dengan kontrol sel.

Aktivitas antiproliferatif ekstrak metanol daun *D. nemorosa* diuji menggunakan reagen WST-1 ((2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitro-phenyl)-5-(2,4-di-sulfophenyl)-2H-tetrazolium monosodium salt). Garam tetrazolium (*tetrazolium salts*) akan diubah menjadi kristal formazan oleh enzim dehidro-genase seluler. Formazan yang terbentuk akibat aktifnya sel ini dapat diukur dengan ELISA reader. Dengan asumsi aktivitas enzim akan meningkatkan pembentukan formazan dimana berhubungan langsung dengan jumlah sel yang aktif secara metabolik di dalam kultur sel. Pada WST-1, kultur sel yang berwarna muda gelap menandakan jumlah sel yang aktif, sedangkan pada kultur sel yang banyak mengandung sel yang hidup akan berwarna kuning terang atau merah muda terang (Francoeur & Assalian, 1996; Roche 2007).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun *D. nemorosa* dengan menggunakan uji WST-1 tidak bersifat sitotoksik terhadap sel kanker MKN45 nilai IC₅₀ lebih besar dari 250µg/ml (Gambar 1). Dari hasil penelitian kemungkinan tanaman ini mengandung berbagai senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik tetapi terdapat dalam jumlah yang sangat sedikit atau bersifat selektif terhadap sel kanker. Beberapa penelitian melaporkan beberapa ekstrak tumbuhan memiliki sifat sitotoksik yang berbeda terhadap sel kanker yang berbeda-beda (Arunpor *et al.*, 2004; Nurhanan *et al.*, 2008; Athima *et al.*, 2009).

Beberapa laporan juga menunjukkan aktivitas berbeda dari beberapa ekstrak tumbuhan terhadap sel kanker yang berbeda seperti yang dilaporkan oleh Arunpor *et al.*, (2004) bahwa ekstrak etanol daun *Siphonodon celastrineus* menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara dan aktivitas sitotoksik yang rendah terhadap sel kanker paru-paru dan tidak bersifat sitotoksik terhadap sel kanker kolon. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kemungkinan ekstrak metanol daun *D. nemorosa* bersifat tidak selektif terhadap sel kanker MKN45 yang diuji dalam penelitian ini.

Banyak faktor yang mempengaruhi sifat sitotoksik salah satunya adalah dalam metode ekstraksi, perbedaan dalam proses ekstraksi juga akan mempengaruhi senyawa yang dihasilkan yang memiliki aktivitas sitotoksik. Hal ini seperti yang dilaporkan oleh Zullies *et al.*, (2006; 2007) bahwa ekstrak kloroform dan ekstrak etanol dari *Erythrina fusca* memiliki perbedaan dalam aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker Raji. Diduga bahwa senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol *D. nemorosa* bersifat sitotoksik yang baik terhadap sel kanker yang lain.

Berdasarkan Gambar 2 terlihat tidak ada perbedaan viabilitas sel antara kontrol dan sel yang diperlakukan dengan ekstrak metanol *D. nemorosa*. Pada kontrol terlihat jumlah sel dan pembentukan formazan hampir sama dengan perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh dari ekstrak terhadap kematian sel kanker MKN45. Hal ini didukung dengan nilai $IC_{50} > 250 \mu\text{g/ml}$ pada grafik konsentrasi ekstrak terhadap viabilitas sel.

Pemilihan daun yang digunakan dalam penelitian ini karena daun yang sering digunakan oleh masyarakat di Kampung Tablasupa, Distrik Sentani, Kabupaten Jayapura, Papua. Kandungan senyawa bioaktif yang bersifat antikanker berbeda-beda pada bagian daun, batang, kulit batang dan akar dari tumbuhan, kemungkinan senyawa bioaktif yang bersifat antikanker terdapat dibagian lain seperti akar dari tanaman ini.

Chee *et al.*, (2001) melaporkan ekstrak dari batang dan daun menunjukkan sitotoksik yang rendah dibandingkan dengan akar atau kulit batang dari *Typonium flagelliforme* pada sel kanker murine P388 leukemia. Hal ini menunjukkan bagian dari tanaman juga sangat mempengaruhi sifat sitotoksik terhadap sel kanker.

Metanol yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan asumsi bahwa metanol sering digunakan dalam skrining senyawa antikanker karena dipercaya berbagai senyawa polar yang memiliki aktivitas antikanker dari tanaman. Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun *D. nemorosa* kemungkinan bersifat selektif terhadap sel kanker yang diuji. Beberapa penelitian melaporkan banyak senyawa dari

ekstrak herbal berbeda dalam aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker yang berbeda demikian pula ekstrak kasar (*crude extract*) tumbuhan lebih aktif secara farmakologis dibandingkan dengan senyawa yang diisolasi dari ekstrak tersebut (Hamburger & Hostettman, 1991; Chee *et al.*, 2001). Hal ini kemungkinan karena ada efek sinergis dari berbagai komponen yang terdapat di dalam ekstrak tumbuhan. Efek antiproliferatif juga sangat ditentukan oleh struktur dan konfigurasi molekul (*stereochemistry*) senyawa sangat penting dalam sifat toksisitas pada sel kanker (Williams *et al.*, 2007).

Beberapa senyawa yang dilaporkan bersifat sitotoksik terhadap sel kanker MKN5 diantaranya adalah Jinlongshe suatu senyawa yang diisolasi dari herbal China diantaranya *Rhizome Arisaemat*, *Rhizoma Pinelliae*, *corium stomachium galli*, *Radix Glycyrrhizae preparata* dimanfaatkan untuk menyembuhkan kanker perut (MKN45) (Yu *et al.*, 2006).

Selain itu menurut laporan Yoshioka *et al.*, (2005), beberapa senyawa inhibitor topoisomerase I seperti SN-38, (*an active metabolite of a topoisomerase I inhibitor, CPT-11*) menunjukkan sifat sitotoksik terhadap sel kanker perut MKN45 dan MKN1 dengan menginduksi proses apoptosis dengan menurunkan P31K-Akt *survival signaling*, yang merupakan suatu signal anti-apoptosis pada sel kanker perut sedangkan studi lain yang dilaporkan oleh Ikeguchi *et al.* (2003) menyebutkan senyawa sisplatin dapat menghambat pertumbuhan sel kanker MKN45.

Penelitian tentang potensi tumbuhan ini masih sangat diperlukan untuk mengetahui potensinya sebagai tumbuhan yang dapat digunakan sebagai agen kemoterapi selain itu perlu dilakukan penelitian lanjut untuk uji sitotoksik pada berbagai sel kanker lainnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan ekstrak metanol daun *D. nemorosa* tidak bersifat antiproliferatif terhadap sel kanker MKN45 dengan nilai $IC_{50} > 250 \mu\text{g/ml}$ secara *in vitro*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Indonesia yang memberikan Dana melalui Beasiswa Sandwich S3 Luar Negeri Tahun Anggaran 2010-2011. Kami juga mengucapkan terima kasih kepada Prof. Tsutomu Nohno, Ph.D dan Yamamura Ph.D dari Department Molecular and Developmental Biology, Kawasaki Medical School, Jepang yang memberikan fasilitas, saran dan masukan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Alberts, S.R., A.Cervantes, and C.J. van de Velde. 2003. Gastric cancer: Epidemiology, pathology and treatment. *Ann.Oncol*, 14 (2):31-36.
- Arunporn, I., J.H. Peter, P.J. Eno-Amooquaye, H.S., Burker, Julia, and R. Amala. 2004. In vitro cytotoxic activity of Thai medicinal plant used traditionally to treat cancer. *J. Ethnopharmacol.* 33-38.
- Athima, S., I. Arunporn, D. Chawaboon, W. Chatchai, K. Niwat, and R. Pranee. 2009. Cytotoxic activity of Thai medicinal plant for cancer treatment. *J. Sci. Technol.* 27(2): 470-478.
- Ahmad, B. 2010. Antioxidant activity and phenolic compounds from *Colchicum luteum* Baker (Liliaceae). *African J. Biotech.* 9(35): 5762-5766.
- Byrne, L.T., S.M. Colegate, P.R. Dorling and C.R. Huxtable. 1987. Imbrica-tonol, a naphthol naphthoquinone dimer isolated from *Stypantra imbricata* and *Dianella revolute*. *Australian J.Chem.* 40(7): 1315- 1320.
- Babula, P., V. Adam, L. Havel and R. Kizek. 2009. Noteworthy secondary metabolites naphthoquinones: Their occurrence pharmacological properties and analysis. *Curr. Pharm. Analys.* 5: 47-68.
- Bozcuk, H., M. Ozdogan, O. Aykurt, F. Topcuoglu, H. Ozturk, D. Ekinci, A. Karadeniz., A. Mutlu, and D. Burgucu. 2011. *Urginea maritima* (L.) Baker (Liliaceae) extract induces more cytotoxicity than standard chemotherapeutics in the A549 Non-small Cell Lung Cancer (NSCLC) cell line. *Turk J Med Sci.* 41(1): 101-108.
- Colegate, S.M., P.R. Dorling, and C.R. Huxtable. 1986. Dianellidin, stypanrol and dianellinone: An oxidation-related series from *Dianella revolute*. *Phytochemistry.* 25(5): 1245-1247.
- Chee, Y.C., Kit, L.C., Koichi, T., and Hideji, I. 2001. Cytotoxic Activity *Typhonium flagelliforme* (Araceae). *Phytother. Res.* 15: 260-262.
- Chawla, A., P. Chawla, and R.C.R Mangalesh. 2011. *Asparagus racemosus* (Willd): Biological activities and its active principles. *Indo-Global J. Pharmac. Scie.* 1(2): 113-120.
- Doyle, A., and J.B. Griffiths. 2000. Cell and tissue culture for medical research. John Willey and Sons.Ltd. New York. pp: 47-50.
- Francoeur, A.M., and A. Assalian. 1996. Microcat: A novel cell proliferation and cytotoxicity assay based on WST-1. *Biochem.* (3): 19-25.
- Feng, R.H., Z.G. Zhu, J.F. Li, B.Y. Liu, M. Yan, H.R. Yin, and Y.Z. Lin. 2002. Inhibition of human telomerase in MKN-45 cell line by antisense hTR expression vector induces cell apoptosis and growth arrest. *World. J. Gastroenterol.* 8(3): 436-440.
- Hamburger, M., and Hostettman. 1991. Bioaktivität in plan: The link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry.* 30: 3864-3874.
- Hohenberger, P., and S. Gretschel. 2003. Gastric cancer. *Lancet*, 362: 305-315.
- Ikeguchi, M., J. Liu, and N. Kaibara. 2002. Expression of survivin mRNA and protein in gastric cancer cell line (MKN-45) during cisplatin treatment. *Apoptosis.* 7: 23-29.
- Kelley, J.R, and J.M Duggan. 2003. Gastric cancer epidemiology and risk factors. *J.Clin. Epidemiol.* 56: 1-9.
- Lojanapivatna, V., C.Kovit, S. Kanchana, and Pichaet. 1982. Chemical constituents of *Dianella ensifolia*. *J. Sci. Soc. Thailand.* 8: 95-102.
- Nurhanan, M.Y., O.Asiah, A. Mohd Ilham, M.M. Siti Syarifah, I. Norhayati, and H. L. Sahira. 2008. Anti-proliferative activities of 32 Malaysian plant species in breast cancer cell lines. *J. Tropic. Forest Scien.* 20: 77-81.
- Roche, 2007. Cell proliferation reagent WST-1. Colorimetric assay (WST-1 based) for the non radioactive quantification of cell proliferation, cell viability and cytotoxicity. Roche Diagnostics GmbH. Roche Applied Science. Germany. Version October 2007: pp 1-4.
- Sun, X.D., R. Mu, Y.S. Zhou, X.D. Dai, Y.L. Qiao, S.W. Zhang, F.X.M. Hang, J. Sun, L.D. Li, and F.Z. Lu. 2002. 1990-1992 Mortality of stomach cancer in China. *Zhonghua Zhongliu Zazhi.* 24: 4-8.
- Srinivas, P., G. Gopinath, A. Banerji, A. Dinakar, and G. Srinivas. 2004. Plumbagin induces reactive oxygen species, which mediate apoptosis in human cervical cancer cells. *Mol. Carcino genesis.* 40: 201-211.
- Tsunemitsu, Y., S. Kagawa, N. Tokunaga, S. Otani, T. Umeoka, J.A. Roth, B. Fang, N. Tanaka, and T. Fujiwara. 2004. Molecular therapy for peritoneal dissemination of xenotransplanted human MKN-45 gastric cancer cells with adenovirus mediated bax gene transfer. *Gut.* 53: 554-560.
- Takahira, K., M. Sano, H. Arai, and H. Hanai. 2004. Apoptosis of gastric cancer cell line MKN45 by photodynamic treatment with photofrin. *Lasers in Medical Science.* 19: 89-94.
- Ushijima, T., and M. Sasako. 2004. Focus on gastric cancer. *Cancer Cell.* 5: 121-125.
- Vala, M.H., J. Asgarpanah, M.H. Hedayati, J. Shirali, and F.B. Bejestani. 2011. Antibacterial and cytotoxic activity of

- Eremurus persicus* (Jaub and Spach) Boiss. *African. J. Microbiol. Res.* 5(16): 2349-2352.
- Williams, L.A.D., J. Conrad, B. Vogler, H. Rösner, R.B.R. Porter, W. Setzer, E.N. Barton, H.G. Levy, S. Mika, I. Klaiber, J.P. Kurunziza, and W. Kraus. 2007. In vitro antiproliferation/cytotoxic activity of epingaione and its derivatives on the human SH-SY5Y neuroblastoma and TE-671 sarcoma cells. *West Indian. Med. J.* 56 (1): 5-10.
- Wang, C.C., Y.M. Chiang, S.C. Sung, Y.L. Hsu, J.K. Chang, and P.L. Kuo. 2008. Plumbagin induces cell cycle arrest and apoptosis through reactive oxygen species/c-Jun N-terminal kinase pathways in human melanoma A375.S2 cells. *Cancer Lett.* 18;259(1): 82-98.
- Wahyuningsih, M.S.H., Sismindari, dan Murti, Y.B. 2009. Potensi Herbal Terpilih Sebagai Agen Antikanker Yang Spesifik. Laporan Hibah Klaster, Klaster Kesehatan dan Kedokteran, Universitas Gadjah Mada.
- Xiao, D.C., Y. Wen Cai, and C.Chun Tao. 2000. A new enolate furostanoside from *Asparagus Filicinus*. *Chinese Chemical Letters.* 11(9): 793-794.
- Yoshioka, S., S. Tatebe, N. Tokuyasu, K. Taniguchi, Y. Ogami, O. Yamamoto, K. Ashida, Y. Gomyo, A. Akira Kondo, S. Tsujitani, and M. Ikeguchi. 2005. The PI3K-Akt pathway in SN-38-induced apoptosis in human gastric cancer cell lines. *Yonago Acta Medica.* 48: 7-16.
- Yu, Z.H., Wei, P.K., Xu, Lu., Qin, Z.F., and Shi, J. 2006. Anticancer Effect of Jinlongshe Granules on In Situ-Transplanted Human MKN-45 Gastric Cancer in Nude Mice and Xenografted Sarcoma 180 in Kunming Mice and Its Mechanism. *World. J. Gastroenterol.* 12(18): 2890-2894.
- Zullies, I., E.N. Agung, dan W. Winda. 2006. Efek ekstrak etanol daun *Erythrina fusca* Lour (cangkring) terhadap penekanan ekspresi enzim siklooksigenase-2 pada kultur sel raji. *Majalah Farmasi Indonesia.* 17(2): 85-90.
- Zullies, I., E.N. Agung, dan A. Widyah. 2007. Penekanan ekspresi COX-2 pada kultur sel raji oleh ekstrak kloroform daun cangkring (*Erythrina fusca* Lour.). *Majalah Obat Tradisional.* 11(39):19-23.