

Chimica et Natura Acta

p-ISSN: 2355-0864 e-ISSN: 2541-2574

Homepage: <http://jurnal.unpad.ac.id/jcena>

Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etil Asetat Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) Terhadap Sel Kanker Leukemia L1210

Susanto, Ermin Katrin Winarno

Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Jalan Lebak Bulus Raya No 49, Pasar Jumat, Jakarta Selatan 12440

*Penulis korespondensi: susanto@batan.go.idDOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v8.n1.26254>

Abstrak: Kanker merupakan penyakit yang menyebabkan tingkat kematian paling tinggi di dunia. Sel kanker merupakan sel yang pertumbuhannya tidak terkontrol dan berkembang di dalam jaringan sel tubuh. Kandungan flavonoid dan sifat antioksidan yang tinggi dari daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) dapat digunakan sebagai pengobatan terapi kanker. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan aktivitas sitotoksik *G. ulmifolia* Lamk terhadap sel leukemia L1210. Daun *G. ulmifolia* kering dimaserasi secara bertahap menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan etanol. Masing-masing ekstrak yang diperoleh dievaluasi aktivitas sitotoksitasnya terhadap sel leukemia L1210. Ekstrak paling aktif difraksinasi menggunakan kromatografi kolom dengan berbagai pelarut yang sesuai. Selanjutnya semua subfraksi yang diperoleh diuji aktivitas sitotoksiknya dan dianalisis dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) untuk mengetahui bentuk kromatogramnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil setat memiliki nilai IC_{50} paling kecil diantara ekstrak yang lain, yaitu sebesar 6,23 $\mu\text{g/mL}$. Fraksinasi ekstrak etil asetat diperoleh (1-8) fraksi dengan fraksi 4 memiliki aktivitas paling tinggi yang berpotensi sebagai anti kanker dengan nilai IC_{50} sebesar 2,67 $\mu\text{g/mL}$. Analisis fraksi 4 etil asetat *G. ulmifolia* menggunakan KCKT menunjukkan bahwa kandungan utama adalah flavonoid.

Kata kunci: *Guazuma ulmifolia* Lamk., L1210, anti kanker, flavonoid

Abstract: Cancer is a disease that causes the highest mortality in the world. Cancer cells are cells whose growth is uncontrolled and develops in the body's tissue. Flavonoid content and high antioxidant properties of *Guazuma ulmifolia* Lamk leaves can be used as a cancer therapy treatment. This research was conducted to determine the cytotoxic activity of leaves of *G. ulmifolia* Lamk against L1210 leukemia cells. Dry leaves were macerated using *n*-hexane, ethyl acetate and ethanol. Each extract obtained was evaluated for its cytotoxicity activity against L1210 leukemia cells. The most active extract is fractionated by column chromatography with various suitable solvents. Furthermore, all the fractions obtained were tested for cytotoxic activity and analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) to determine the shape of the chromatogram. The results showed that ethyl acetate extract has the lowest IC_{50} value among the extracts tested in this study, which is 6.23 $\mu\text{g/mL}$. Fractionation of ethyl acetate extract obtained 8 fractions with fraction 4 had the most potential properties as anti-cancer with IC_{50} 2.67 $\mu\text{g/mL}$. Analysis ethyl acetate fraction of *G. ulmifolia* using HPLC showed that the main content was flavonoids.

Keywords: *Guazuma ulmifolia* Lamk, L1210, leukemia, anti cancer, cytotoxic

PENDAHULUAN

Salah satu penyakit dengan tingkat kematian paling tinggi di dunia adalah kanker. Sel kanker merupakan sel yang pertumbuhannya tidak terkontrol dan berkembang di dalam jaringan sel tubuh yang berubah menjadi sel yang ganas (Da'i dkk 2015). Kanker berasal dari kerusakan atau mutasi sel protoonkogen yang terikat dengan protein dan terlibat dalam induksi proliferasi sel sehingga akan menghambat pertumbuhan sel normal (Wijaya & Muchtaridi 2017). Di Indonesia, pada tahun 2012 sekitar 8,2 juta jiwa mengalami kematian akibat

penyakit kanker dan 30% disebabkan oleh pola makan dan gaya hidup yang tidak baik (Kementerian Kesehatan RI Pusat Data dan Informasi Kesehatan 2015)

Pengobatan penyakit kanker masih belum memuaskan bahkan kemataian sel kanker di ikuti dengan perusakan sel-sel normal dalam pengobatannya (Wijaya & Muchtaridi 2017). Terapi kanker yang biasa dilakukan diantaranya melalui operasi, kemoterapi, radiasi, modulasi hormon, pengobatan alternatif dan dengan meningkatkan sistem imun tubuh. Dewasa ini penggunaan obat

herbal banyak digunakan untuk pengobatan penyakit kanker. Selain aman, obat herbal juga sudah banyak terbukti khasiatnya melalui uji klinis (Da'i 2015). Mahalnya biaya pengobatan kanker mendorong masyarakat Indonesia memilih cara pengobatan yang terjangkau. Selain itu, pengobatan dengan herbal akhir-akhir ini banyak didukung oleh tenaga kesehatan untuk menggabungkan terapi dengan penggunaan obat herbal karena pasien yang pengobatannya dikombinasikan dengan obat herbal memiliki daya tahan tubuh yang lebih kuat dibandingkan dengan hanya menjalani terapi (Hasanah & Widowati 2016).

Tanaman di Indonesia yang biasa digunakan sebagai obat herbal dan memiliki khasiat untuk pengobatan secara tradisional adalah daun jati belanda (*G. ulmifolia* Lamk) yang merupakan famili Sterculiaceae. Penggunaan jamu *G. ulmifolia* sudah digunakan oleh pelayanan kesehatan masyarakat di tujuh provinsi di Indonesia dalam pengobatan penyakit Hiperlipidemia (Gitawati *et al.* 2015). *G. ulmifolia* memiliki kandungan utama berupa flavonoid yang berkhasiat sebagai anti diabetes, anti bakteri, hipertensi dan anti kanker (Patil & Biradar 2016). Kandungan flavonoid yang tinggi secara signifikan akan meningkatkan sifat antioksidannya sehingga memiliki kekuatan dalam menangkal radikal bebas (Syaefudin *et al.* 2014).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kandungan flavonoid adalah sebesar 0,976% (Da'i 2015), dan sifat antioksidan yang tinggi dari daun *G. ulmifolia* dapat digunakan sebagai pengobatan terapi kanker. Ekstrak etanol *G. ulmifolia* bisa menghambat 50% pertumbuhan sel kanker HeLa sehingga berpotensi sebagai obat anti kanker (Lukman *et al.* 2014). Selain menghambat pertumbuhan sel kanker HeLa *G. ulmifolia* juga dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7 dan kanker kolon WiDr dengan IC₅₀ sebesar 36,50 µg/mL (Da'i 2015). Penelitian aktivitas anti kanker tanaman *G. ulmifolia* sangat bermanfaat dalam mengembangkan potensi tanaman obat lokal Indonesia, mengatasi efek samping dan mahalnya obat kanker sintetik. Khasiat anti kanker ekstrak daun *G. ulmifolia* terhadap sel leukemia L1210 belum pernah dilakukan pengujian secara sitotoksiknya. Sel leukemia L1210 adalah jenis sel kanker yang berasal dari limfosit tikus DBA/2. Pada penelitian ini dilakukan fraksinasi ekstrak aktif *G. ulmifolia* dan uji aktivitas anti kanker leukemia L1210.

BAHAN DAN METODE

Persiapan Ekstraksi

Daun *G. ulmifolia* yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) dikeringkan di ruangan pada temperatur 24°C, diserbukkan dan diukur kadar airnya. Sebanyak 200 g Simplisia direndam berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda mulai dari *n*-heksana, etil asetat dan etanol. Perendaman dilakukan sebanyak 5 kali

maserasi pada tiap pelarut yang digunakan, dengan masing-masing filtrat diuapkan menggunakan rotavapor (32°C) hingga diperoleh ekstrak kental, dipekatkan di dalam desikator yang dilengkapi pompa vakum, dan ditimbang bobot ekstraknya.

Uji Sitotoksik Ekstrak Terhadap Sel Leukeumia L1210

Ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan etanol yang diperoleh, masing-masing dilakukan uji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker leukemia L1210. Sampel ditimbang sebanyak 16 mg lalu dilarutkan dengan 1 mL metanol (16000 ppm). Larutan sampel ini diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel leukemia L1210. Sebagai media digunakan RPMI 1640 yang mengandung *calf bovine serum* 10%, kemudian ditambahkan sampel ekstrak yang diuji dengan variasi konsentrasi 5, 10, 20, 40 dan 80 ppm dan total volume menjadi 1 mL pada multiwall plate tissue's culture 24 sumuran. Sampel diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5% pada suhu 37°C selama 48 jam (Rahmayanti 2016).

Fraksinasi Kromatografi Kolom

Ekstrak paling aktif dalam menghambat pertumbuhan sel leukemia L1210 dilakukan fraksinasi dengan kromatografi kolom menggunakan silika gel 60 (70-230 mesh). Pemisahan dilakukan menggunakan beberapa pelarut mulai dari pelarut non polar hingga polar (*n*-heksana, etil asetat dan metanol). Setiap fraksi ditampung sebanyak 150 mL dan dipekatkan dengan alat rotavapor kemudian ditimbang. Fraksi aktif yang didapat kemudian dilihat pola bercaknya menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan lempeng silika gel GF₂₅₄ yang dielusi dengan pelarut yang sesuai, lalu dilakukan analisis sitotoksiknya untuk mengetahui fraksi mana yang memiliki sifat anti kanker paling aktif.

Uji Aktivitas Sitotoksitas Terhadap Sel Leukemia L1210

Fraksi yang diperoleh dari hasil fraksinasi dengan kromatografi kolom selanjutnya dilakukan uji sitotoksik terhadap sel leukemia L1210 dengan variasi konsentrasi 1, 2, 4, 8, dan 16 ppm. Sebanyak 1 mL yang terdiri atas suspensi sel dan media RPMI 1640 ditempatkan pada *multiwall plate tissue's culture* 24 sumuran dan mengandung *calf bovine serum* 10% yang diinkubasi pada inkubator CO₂ 5% (37°C, 48 jam). Sel yang hidup dihitung menggunakan mikroskop (pembesaran 400 ×) yang selanjutnya dikonversi kedalam nilai inhibisi yang dinyatakan dengan persamaan (1).

$$\text{Persentasi inhibisi} = (1 - A/B) \times 100\% \dots (1)$$

dengan

A = Jumlah sel hidup dalam media yang mengandung zat uji

B = Jumlah sel hidup dalam media yang tidak mengandung zat uji (kontrol)

Nilai IC_{50} diperoleh dari perhitungan persentasi inhibisi yang diplotkan dengan nilai probit sebagai sumbu Y dan nilai log konsentrasi sebagai sumbu X (Rahmayanti 2016).

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Fraksi Aktif

Analisis KCKT terhadap fraksi aktif daun *G. ulmifolia* menggunakan alat Shimadzu SPD-20A, dengan detektor PDA dan kolom C-18. Fraksi aktif dilarutkan dengan metanol (3000 ppm), diinjeksikan sebanyak 20 μ L pada λ 280 nm, dengan fasa gerak metanol : air (7:3) dengan kecepatan alir pelarut 1 mL/menit. Pengukuran pada λ =280 nm didasarkan pada hasil pemeriksaan spektrofotometer yang menunjukkan serapan tertinggi pada λ =280 nm. Injeksi diulang tiga kali dengan kondisi yang sama.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Susut pengeringan daun jati belanda sebesar 58% (b/b) dan kadar air yang diperoleh sebesar 7,78% (b/b) dengan pengukuran secara gravimetri. Nilai kadar air yang diperoleh sesuai dengan peraturan Badan POM yang menyatakan bahwa nilai kadar air yang digunakan sebelum dilakukan maserasi harus \leq 10% (Batubara *et al.* 2017). Pengeringan daun *G. ulmifolia* dilakukan pada kondisi ruangan dengan suhu 24°C selama dua minggu untuk menghilangkan air dan mencegah tumbuhnya mikroorganisme yang dapat mengubah senyawa aktif yang terkandung pada daun *G. ulmifolia*.

Maserasi dan Ekstraksi

Rendemen hasil maserasi secara bertahap didapatkan bahwa perendaman dengan etanol memiliki rendemen paling tinggi (21,01 %), hal ini diduga senyawa kimia yang ada dalam daun *G. ulmifolia* bersifat polar. Warna dan rendemen ekstrak daun *G. ulmifolia* dapat dilihat pada Tabel 1. Maserasi dilakukan secara bertahap mulai dari pelarut non polar (*n*-heksana) hingga polar (etanol), hal ini dilakukan agar senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak daun *G. ulmifolia* dapat terpisah dengan baik berdasarkan perbedaan kepolarannya. Proses ekstraksi dengan cara maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam. Pada saat perendaman simplisia dengan pelarut yang digunakan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat dari perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel tumbuhan sehingga metabolit sekunder yang ada pada simplisia akan ikut larut dengan pelarut yang digunakan (Koirewoa *et al.* 2012).

Aktivitas Sitotoksitas Terhadap Sel Leukemia L1210

Hasil uji sitotoksik ekstrak *G. ulmifolia* terhadap sel kanker leukemia L1210 menyatakan bahwa

ekstrak etil asetat memiliki nilai IC_{50} paling kecil (6,23 μ g/mL) dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Ekstrak etil asetat mengandung senyawa aktif yang bersifat semipolar yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan sel kanker leukemia L1210. Data nilai IC_{50} dari masing-masing pelarut disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Warna dan rendemen ekstrak daun *G. ulmifolia*

Pelarut	Warna ekstrak	Rendemen (%)
<i>n</i> -heksan	Hijau tua	2,98
Etil asetat	Hijau tua	3,00
Etanol	Hijau tua	21,01

Tabel 2. Data nilai IC_{50} masing-masing ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan etanol

Ekstrak	Regresi linier	R	IC_{50} (μ g/mL)
<i>n</i> -heksan	$Y = 0,989x + 3,692$	0,990	21,02
Etil asetat	$Y = 0,657x + 4,478$	0,991	6,23
Etanol	$Y = 0,671x + 4,379$	0,989	8,42

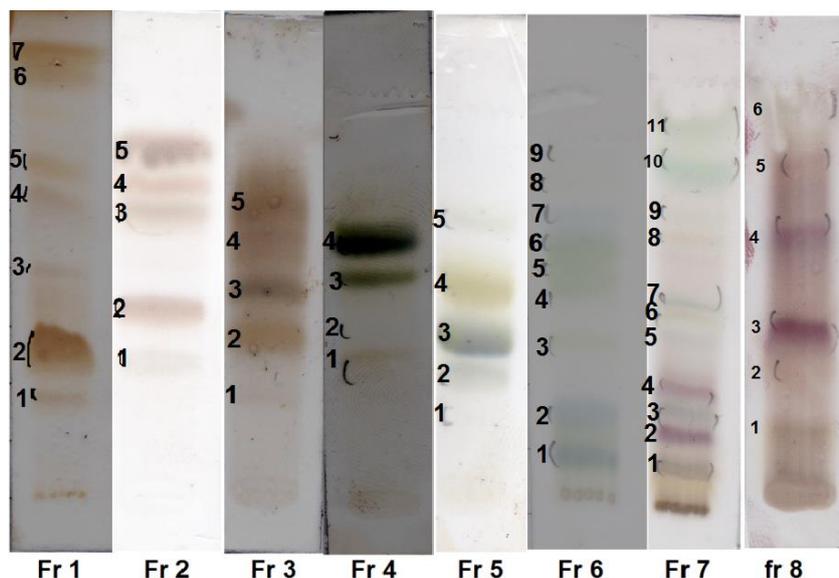
Salah satu senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak etil asetat daun *G. ulmifolia* adalah flavonoid yang berperan sebagai antioksidan sebesar 1,5464 mmol/L pada konsentrasi 800 μ g/mL (Hidayat *et al.* 2014). Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang bersifat semi polar dan non polar. Flavonoid ini memiliki kemampuan dalam menghambat peroksidase asam linoleat, sehingga akan menghasilkan sifat antioksidan yang tinggi (Arif dkk. 2014). Sifat antioksidan ini sangat diperlukan dalam menangkal radikal bebas dan menghambat pertumbuhan sel kanker leukemia L1210. Ekstrak etil asetat daun *G. ulmifolia* merupakan ekstrak paling aktif hal ini dibuktikan dengan nilai IC_{50} paling kecil dibanding dengan ekstrak lain. Ekstrak etil asetat yang diketahui memiliki nilai IC_{50} paling kecil difraksinasi dengan kromatografi kolom. Fraksinasi dengan kromatografi kolom dilakukan dengan tingkat kepolaran yang berbeda hal ini bertujuan agar senyawa organik yang terkandung di dalam ekstrak etil asetat dapat terpisah dengan baik berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda.

Fraksinasi Ekstrak dengan Kromatografi Kolom dan Profil KLT

Hasil fraksinasi dengan kromatografi kolom didapatkan 8 fraksi utama, selanjutnya dilakukan uji aktivitas terhadap sel kanker L1210 dengan tujuan untuk melihat fraksi mana yang memiliki sifat anti kanker paling aktif. Hasil kromatografi kolom dan uji sitotoksik terhadap sel kanker L1210 dapat dilihat pada Tabel 3. Nilai IC_{50} menunjukkan bahwa fraksi 4 memiliki nilai IC_{50} 2,67 μ g/mL, paling kecil

Tabel 3. Hasil fraksinasi dan nilai IC₅₀ terhadap sel kanker leukemia L1210

Fraksi No	Warna	Regresi linier	R	IC ₅₀ (µg/mL)	Rendemen (%)
1	Kuning muda	Y = 0,9434x + 4,378	0,9750	4,56	2,10
2	Kuning muda	Y = 0,4950x + 4,486	0,9890	10,92	6,41
3	Kuning muda	Y = 0,6943x + 4,482	0,9980	5,57	13,90
4	Hijau muda	Y = 0,6777x + 4,718	0,9910	2,67	12,84
5	Hijau muda	Y = 1,0697x + 4,318	0,9960	4,34	12,28
6	Hijau tua	Y = 1,2756x + 4,154	0,9920	4,60	22,50
7	Hijau muda	Y = 1,2457x + 3,782	0,9840	9,51	19,54
8	Coklat	Y = 1,1228x + 3,924	0,9900	9,09	10,43

**Gambar 1.** KLT Fraksi hasil kromatografi kolom ekstrak etil asetat. Penampak bercak serum sulfat 10% dalam asam sulfat pekat.

Keterangan: Fr 1 = *n*-heksana:etil asetat (3:1)
 Fr 2 = *n*-heksana:etil asetat (3:1)
 Fr 3 = *n*-heksana:etil asetat (3:1)
 Fr 4 = *n*-heksana:etil asetat (2:1)
 Fr 5 = *n*-heksana:etil asetat (1:1)
 Fr 6 = *n*-heksana:etil asetat (1:1)
 Fr 7 = kloroform:metanol (10:1)
 Fr 8 = kloroform:metanol:air (7:3:1)

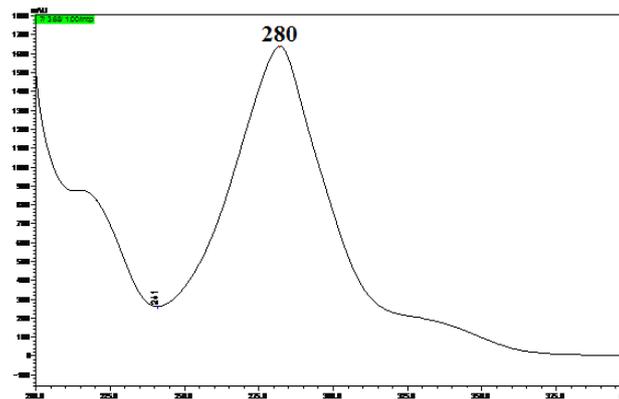
diantara 8 fraksi lainnya. Fraksi 4 mempunyai aktivitas antikanker yang paling kuat.

Hasil pemisahan masing-masing fraksi dengan kromatografi lapis tipis (KLT) disajikan pada Gambar 1. Setelah disemprot dengan serum sulfat 10% setiap fraksi memiliki pola bercak yang berbeda-beda dan pada fraksi 4 memiliki 4 bercak dengan 2 bercak utama (Rf 0,61 dan Rf= 0,67).

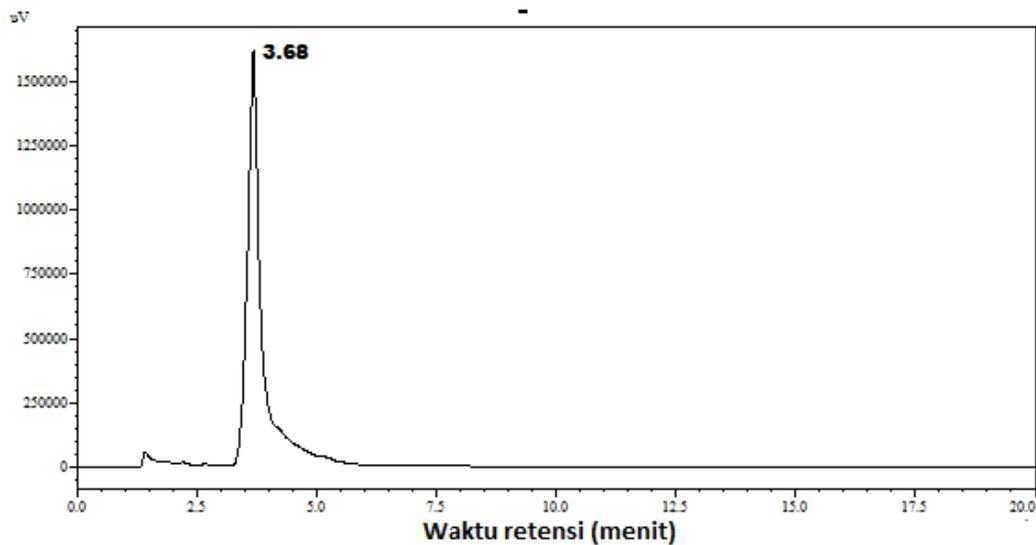
Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) Fraksi Aktif

Penentuan panjang gelombang pada fraksi 4 dilakukan dengan menggunakan alat KCKT pada $\lambda = 200-800$ nm. Fraksi 4 ekstrak etil asetat memberikan

serapan maksimum pada $\lambda = 280$ nm (Gambar 2). Hasil ini digunakan pada analisis KCKT selanjutnya. Bentuk kromatogram yang dihasilkan dan panjang gelombang yang didapat sesuai dengan spektrum khas flavonoid pada rentang $\lambda = 230-295$ nm dan jenis kromatogram ini merupakan senyawa flavonoid yang diduga merupakan jenis flavonol karena puncak tertinggi masuk pada rentang jenis flavonol yaitu pada $\lambda = 250-280$ nm (Neldawat et al. 2013). Pengujian dengan KCKT dilakukan pada fraksi 4 karena memiliki sifat anti kanker paling aktif diantara fraksi lainnya. Sistem KCKT yang digunakan pada penelitian ini adalah menggunakan sistem fase



Gambar 2. panjang gelombang maksimum fraksi 4 etil asetat



Gambar 3. Profil KCKT kromatogram fraksi 4 ekstrak etil asetat daun *G. ulmifolia*

terbalik C18, fasa gerak menggunakan metanol/air dengan perbandingan 70:30.

Hasil analisis menggunakan KCKT menunjukkan profil kromatogram dari fraksi 4 ekstrak etil asetat *G. ulmifolia* yang terdiri atas 2 puncak kromatogram yang terpisah (Gambar 3). Hal ini (Gambar 3) ditandai dengan perbedaan waktu retensi dari tiap puncak kromatogram dengan 1 puncak utama. Profil kromatogram ini dilakukan pada serapan $\lambda = 280$ nm dengan waktu retensi 3,68 menit.

Puncak utama fraksi 4 ekstrak etil asetat merupakan jenis flavonoid karena sesuai dengan hasil spektrofotometer serapan maksimum pada $\lambda = 280$ nm atau puncak tertingginya. Sebagian besar tanaman obat memiliki senyawa fenol yang disebut sebagai flavonoid (Neldawati et al. 2013). Flavonoid sudah terbukti khasiatnya sebagai anti kanker karena sifatnya sebagai antioksidan yang akan mengikat radikal bebas dan berinteraksi dengan protein. Mekanisme reaksi flavonoid akan memanfaatkan ATP sebagai donor fosfat yang dikatalis dengan protein kinase sehingga akan mengubah struktur kromosom pada DNA, sehingga mengakibatkan pertumbuhan sel kanker menjadi lebih lambat (Batra & Sharma 2013). Flavonoid juga mengambil

peranan sebagai anti kanker karena struktur dan reaktivitas dari flavonoid yang bersifat sebagai antioksidan. Flavonoid akan memodulasi estrogen dan menginduksi respon anti proliferasi secara keseluruhan dengan cara menginduksi apoptosis dan menangkap siklus sel, sehingga akan terlibat dalam perkembangan biakan sel kanker tersebut (Martinez-Perez et al. 2014).

Suatu tanaman obat bisa dikategorikan sebagai obat kanker jika memiliki nilai $IC_{50} < 20$ $\mu\text{g/mL}$ (Winarno et al. 2019). Ekstrak dan fraksi etil asetat daun *G. ulmifolia* termasuk ke dalam klasifikasi sitotoksik sangat kuat karena memiliki nilai $IC_{50} < 10$ $\mu\text{g/mL}$ (Weerapreeyakul et al. 2012).

KESIMPULAN

Ekstrak etil asetat daun *G. ulmifolia* memiliki sifat toksik terhadap sel kanker leukemia L1210 dengan nilai IC_{50} sebesar 6,23 $\mu\text{g/mL}$ dan fraksi etil asetat sebesar 2,67 $\mu\text{g/mL}$.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada bapak Suryadi yang telah membantu proses penelitian. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada PAIR

BATAN karena penelitian ini dibiayai oleh dana DIPA PAIR BATAN 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Arif, Y., Jose, C. & Teruna, H.Y. (2014). Total fenolik falvonoid serta aktivitas antioksidan ekstrak *n*-heksana, diklorometan dan metanol *Amaranthus spinosus* L EM5- bawang putih. *JOM FMIPA*. **1(2)**: 359–369.
- Batra, P. & Sharma, A.K. (2013). Anti-cancer potential of flavonoids: recent trends and future perspectives. *3 Biotech*. **3(6)**: 439-459.
- Batubara, I., Husnawati, Darusman, L.K. & Mitsunaga, T. (2017). Senyawa penciri ekstrak daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) sebagai anti-kolesterol. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. **22(2)**: 87-91
- Da'i, M. (2015). Cytotoxic effect of Jati Belanda leaves towards cancer cell lines. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*. **6(2)**: 35-41.
- Da'i, M., Trisharyanti, I.D.K., Azizah, M.N., 2015. Penentuan potensi induksi apoptosis tilirosida dari ekstrak daun Jati Belanda (*G. Ulmifolia* Lamk.) terhadap sel T47D dengan metode flow cytometry. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Gitawati, R., Widowati, L. & Suharyanto, F. (2015). Penggunaan jamu pada pasien hiperlipidemia berdasarkan data rekam medik, di beberapa fasilitas pelayanan kesehatan di Indonesia. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. **5(1)**: 41-48.
- Hasanah, S.N. & Widowati, L. (2016). Jamu pada pasien tumor/kanker sebagai terapi komplementer. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. **6(1)**: 49–59.
- Hidayat, M., Soeng, S., Prahastuti, S., Patricia, T.H. & Yonathan, K.A. (2014). Aktivitas antioksidan dan antitrigliserida ekstrak tunggal kedelai, daun jati belanda serta kombinasinya. *Bionatura*. **16(2)**: 89–94.
- Kemntrian Kesehatan RI Pusat Data dan Informasi Kesehatan. (2015). Stop Kanker, infodatin-Kanker. <https://www.kemkes.go.id/download.php?file=download/pusdatin/infodatin/infodatin-kanker.pdf>
- Koirewoa, Y.A., Fatimawali & Wiyono, W.I. (2012). Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dalam daun beluntas (*Pluchea indica* L.). *Pharmacon*. **1(1)**: 47–52.
- Lukman, M., Syahrini, R., Nisa, M. & Fatmawati, A. (2014). Cytotoxic activity of three south sulawesi medicinal plant extracts used in the treatment of HeLa cell line: Jati Putih (*Gmelina arborea* Roxb.), Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) and Lakka- lakka (*Curculigo orchoides* Gaerth). *International Journal of Pharma Sciences and Research*. **5(9)**: 531–536.
- Martinez-Perez, C., Ward, C., Cook, G., Mullen, P., McPhail, D., Harrison, D.J. & Langdon, S.P. (2014). Novel flavonoids as anti-cancer agents: mechanisms of action and promise for their potential application in breast cancer. *Biochemical Society Transaction*. **42(4)**: 1017–1023
- Neldawati, Ratnawulan & Gusnedi (2013). Analisis nilai absorbansi dalam penentuan kadar flavonoid untuk berbagai jenis daun tanaman obat. *Pillar of Physics*. **2**: 76–83.
- Patil, J.U. & Biradar, S.D. (2016). Pharmacognostic study of *Guazuma ulmifolia*. *International Research Journal of Pharmacy*. **4(4)**: 130–131.
- Rahmayanti, R.I. (2016). Aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi aktif buah leunca (*Solanum nigrum* L) terhadap sel leukimia L1210. Skripsi. Universitas Pancasila. Jakarta.
- Syaefudin, Sulistiyani, Wahyuni, W.T. & Artika, I.M. (2014). The antioxidant activity of flavonoid extract from Jati Belanda leaves and induction apoptosis in yeast cells.
- Weerapreeyakul, N., Nonpunya, A., Barusrux, S., Thitimetharoch, T. & Sripanidkulchai, B. (2012). Evaluation of the anticancer potential of six herbs against a hepatoma cell line. *Chinese Medicine*. **7(1)**: 1-7.
- Wijaya, C.A. & Muchtaridi, M. (2017). Pengobatan kanker melalui metode gen terapi. *Farmaka*. **15**: 53–68.
- Winarno, E., Winarno, H. & Susanto (2019). Antiproliferative activity of extracts and fractions from irradiated *Curcuma xanthorrhiza* rhizome against mouse leukemia L1210 cells and human cancer cell lines: HUT78, A549, HeLa, and THP1. *Atom Indonesia*. **45**: 159–164.