

## UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL HERBA RUMPUT AKAR WANGI (*Polygala paniculata* L.) TERHADAP SEL KANKER WiDr SECARA *IN VITRO*

*Cytotoxicity of Ethanol Extract of Polygala Paniculata L.,S Herb In WiDr Cancer Cells*

**Muh. Azwar AR, Asril Burhan, Akbar Awaluddin, Virna Yulisa Mustidar**

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar

\*E-mail korespondensi: asrilburhan@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.32382/mf.v17i2.2154>

Date submitted 2021-05-22, Accept Submission 2021-09-02

### ABSTRACT

The development of cancer treatment using natural ingredients has recently increased. This is because many of the active substances are found in nature, especially in plants, have many substances that can interrupt abnormal growth cells. The *Polygala paniculata* herbs have become a concern to be developed into potential anticancer candidates originating from nature. This study aims to take measurements of the *Polygala paniculata* L. ethanolic extract cytotoxic activity on WiDr cancer cells based on  $IC_{50}$  values. Absolute ethanol was used as a solvent to extracting it by maceration method. The *Polygala paniculata* L. herbs ethanol extract were carried for the cytotoxic assay by the MTT method (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) on WiDr cells. The extract was tested with a concentration of 31.25  $\mu\text{g/ml}$ ; 62.5  $\mu\text{g/ml}$ ; and 125  $\mu\text{g/ml}$ ; 250  $\mu\text{g/ml}$ ; 500  $\mu\text{g/ml}$ . The result of cytotoxic activity assay at  $IC_{50}$  80,52  $\mu\text{g/ml}$  was less than 100 ppm. The results showed that *Polygala paniculata* herb ethanolic extract had a potential as an alternative of chemotherapy.

**Key words:** Cytotoxic; *Vernonia amygdalina* Del.; WiDr; MTT

### ABSTRAK

Perkembangan Pengobatan kanker dari bahan alam akhir-akhir ini meningkat. Hal ini karena banyak zat aktif yang terdapat di alam memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan sel kanker. Diantara tanaman yang mempunyai aktivitas sebagai antikanker ialah herba rumput akar wangi (*Polygala paniculata* L.) Tanaman herba rumput akar wangi kini menjadi perhatian untuk dikembangkan menjadi kandidat antikanker yang potensial yang bersumber dari alam. Tujuan dari penelitian ini mencari aktivitas antikanker ekstrak etanol herba rumput akar wangi terhadap sel kanker WiDr berdasarkan nilai  $IC_{50}$ . Tahap awal dilakukan maserasi simplisia menggunakan etanol absolut. Ekstrak etanol selanjutnya diuji toksisitas dengan metode MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromida). untuk melihat potensi antikanker dari ekstrak etanol herba rumput akar wangi. Ekstrak diuji dengan konsentrasi yaitu 500  $\mu\text{g/ml}$ , 250  $\mu\text{g/ml}$ , 125  $\mu\text{g/ml}$ , 62,5  $\mu\text{g/ml}$ , 31,25  $\mu\text{g/ml}$ . Diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 80,52  $\mu\text{g/ml}$  yaitu kurang dari 100 ppm. Dari hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak etanol herba rumput akar wangi berpotensi sebagai alternatif kemoterapi.

**Kata kunci:** Cytotoxic; *Polygala paniculata* L.; WiDr; MTT

### PENDAHULUAN

Kanker kolon merupakan kanker yang berkembang secara abnormal pada kolon (usus besar), Perkembangan abnormal sel ini juga dapat terjadi pada anus (rektum). Oleh karena itu, perkembangan kanker tersebut tergantung di jaringan mana tumbuhnya kanker. Di Indonesia, kanker kolon menempati peringkat keempat kematian terhadap penyakit kanker ([Kemenkes RI, 2015](#)).

Untuk pengobatan kanker saat ini ada berbagai cara yang bisa dilakukan diantaranya dengan radiasi, operasi, dan kemoterapi.

Kemoterapi biasanya menimbulkan banyak efek samping. Obat kemoterapi berkurang kemanjurannya karena ditemukannya mekanisme MDR (Multidrug Resistance). Hal ini yang mendorong dilakukannya serangkaian penelitian dalam penelusuran senyawa metabolit aktif baru yang berasal dari alam yang efektif dan lebih aman ([Nurrani dkk., 2014](#)).

Salah satu potensi yang bisa dikembangkan dari tanaman yang dilaporkan memiliki aktivitas sebagai agen kemopreventif ialah tumbuhan rumput akar wangi (*Polygala paniculata* L.) ([Rijai, 2013](#)). Tumbuhan ini dapat

tumbuh dengan dengan mudah dengan siklus hidup berkisar 4-5 bulan. Beberapa hasil penelitian kandungan metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, dan tanin, telah dibuktikan memiliki potensi dalam bidang farmaseutikal seperti antibakteri, antimikotik, dan sitotoksik. Penelitian yang dilakukan oleh [Rijai \(2013\)](#) yang memanfaatkan rumput akar wangi dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) bertujuan mengukur ketoksikan senyawa pada tanaman. Hasil pengukuran diperoleh nilai LC50 dari ekstrak pekat etanol rumput akar wangi adalah 15,85 ppm ([Rijai, 2013](#)). Rumput akar wangi dilaporkan pula mengandung dua senyawa xanton, yaitu 1-hidroksi-5-metoksi-2.3-metillendioksixanton dan 1,5-dihidroksi-2.3 dimetoksixanton, bersama dengan kumarin muragatin dan flavonol rutin dan dua senyawa sterol, yaitu *spinasterol* dan  $\delta$  25-*spinasterol* ([Cristiano et al, 2003](#) dan [Lapa, et al, 2009](#)).

Untuk mengetahui potensi aktivitas toksisitas dari tanaman, misalnya pada tanaman rumput akar wangi, dapat digunakan metode kolorimetrik *Microtetrazolium* (MTT) assay. Metode ini lebih sensitive, kuantitatif, dan metode kolorimetri digunakan dalam pengukuran proliferasi, viabilitas, dan aktivasi sel uji ([Avila dan Pugsley, 2011](#)). Pada sel kanker WiDr ekstrak Sambiloto (*Andrographis paniculata*) ([Asril Burhan, Akbar Awaluddin, Zulham, Burhanuddin Taebe, 2019](#)) pada sel kanker Murine ([A.A. Ala, B.B. Olotu, 2018](#)), ekstrak tanaman Ciplukan (*Physalis angulata*) pada sel MCF-7 (payudara), C4-2WT (prostat), HT-29 dan HCT- 116 (kolorektal) ([Onyegeme-Okerenta et al., 2019](#)), dan lain-lain. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan sel kanker WiDr.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian uji sitotoksik terhadap sel kanker ini dilakukan dengan penentuan besarnya nilai IC<sub>50</sub> dari ekstrak etanol rumput akar wangi dengan menggunakan MTT assay yang selanjutnya memberikan informasi terkait potensi tanaman sebagai alternatif pengobatan antikanker.

#### **METODE PENELITIAN**

Sampel rumput akar wangi segar dibersihkan dari kotoran, kemudian dirajang. Sampel dikeringkan di oven simplisia sekitar 40-50°C selama tiga hari. Simplisia yang telah kering kemudian diperkecil ukurannya menggunakan blender dan dilewatkan pada mesh 40/60, kemudian disimpan dalam wadah. Simplisia yang sudah kering dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstraksi dilakukan selama 3 hari dengan sesekali

dilakukan pengadukan. Maserat diambil lalu diuapkan dengan evaporator. Ekstrak kental kemudian dipindahkan ke dalam cawan porselen ([Widowati, 2017](#)).

#### **UJI FITOKIMIA**

##### **Identifikasi Alkaloid**

Ekstrak sebanyak 50 mg dicampur dengan pelarut kloroform kemudian ditambahkan ammonia. Campuran dipanaskan kemudian dikocok dan disaring. Pereaksi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ditambakan pada filtrat lalu dikocok-diamkan. Bagian atas dari masing-masing filtrat dipisahkan kemudian ditambahkan dengan pereaksi Wagner, Dragendorf, dan Mayer. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan coklat, warna jingga, dan endapan putih pada larutan uji ([J. B. Harbone, 1987](#)).

##### **Identifikasi Steroid/Triterpenoid**

Sebanyak 50 mg ekstrak dilarutkan dengan etanol dan dicampur dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan asam asetat anhidrat. Perubahan warna ke biru atau hijau menunjukkan sampel mengandung senyawa steroid dan terjadi perubahan warna kecoklatan antar permukaan menunjukkan kandungan senyawa triterpenoid ([J. B. Harbone, 1987](#)).

##### **Identifikasi Flavonoid**

Sebanyak 50 mg ekstrak dilarutkan dengan etanol lalu dipanaskan, dan dikocok lagi kemudian disaring. Filtrat dicampur dengan Magnesium dan HCl pekat. Flavonoid dapat diidentifikasi dengan mengamati warna merah bata pada lapisan etanolnya ([J. B. Harbone, 1987](#)).

##### **Identifikasi Saponin**

Ekstrak sebanyak 50 mg dimasukan ke dalam tabung, lalu dicampurkan dengan air panas, dinginkan setelah dingin kocok kuat selama 10 detik. Hasil dinyatakan positif apabila terbentuk buih setinggi 1-10 cm dan buihnya tidak hilang dari 10 menit dan setelah ditambahkan asam klorida, buih tidak menghilang ([J. B. Harbone, 1987](#)).

##### **Identifikasi Tanin**

Ekstrak sebanyak 50 mg ditambahkan dengan air, kemudian dididihkan di atas penangas air, kemudian difiltrasi. Filtrat dicampur FeCl<sub>3</sub> 1%. Terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin ([J. B. Harbone, 1987](#)).

### Penyiapan Larutan Uji Ekstrak

Ekstrak sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 1 mL DMSO sehingga diperoleh 10.000 µg/mL. Lalu dipipet 100 µL dan dicukupkan volumenya dengan media sehingga diperoleh stok 1000 µg/mL. Ekstrak uji dibuat pada konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; dan 31,25 ppm dengan menambahkan 400 µl media.

### Pembuatan Medium Kultur Sel Kanker WiDr

Media padat RPMI ditambahkan ke dalam 800 ml aquabidest steril dalam botol duran 1 liter aduk hingga rata, kemudian sebanyak 2 g NaHCO<sub>3</sub> ditambahkan untuk setiap liter media lalu diaduk. Volume campuran dicukupkan hingga 1 liter dengan aquabidest steril lalu dihomogenkan. Sterilisasi dilakukan dengan cara filtrasi menggunakan saringan membran 0,2 µm dengan menggunakan vakum. Media hasil filtrasi ditampung ke dalam botol Duran 500 mL dan diberi penanda berupa nama media dan tanggal pembuatan, lalu disimpan di lemari pendingin dengan suhu 40°C. Pembuatan media komplit RPMI 1640 dibuat dari 100 mL RPMI 1640 stok dicampur FBS sebanyak 10%, antibiotika penicillin-streptomisin 2% dan Fungison (Amphoterasin B) 0,5%.

### Proses Cell Thawing

Suspensi sel diambil dan dimasukkan dalam *conical tube* lalu ditambahkan 4 mL medium RPMI kemudian disentrifuse selama 5 menit dengan kecepatan 500 rpm. Substansi cairannya dibuang dan endapan ditambahkan 4 mL medium komplit RPMI 1640. Sebanyak 2 mL sel ditumbuhkan dalam 3 botol kultur lalu ditambahkan masing-masing 5 mL medium RPMI kedalam botol kultur kemudian diamati kondisi sel dengan mikroskop inverted. Botol kultur dimasukkan dalam 129uspense129 yang dialiri CO<sub>2</sub> pada suhu 37°C. Setelah 1x24 jam, medium dibuang dan sel ditumbuhkan lagi hingga konfluen serta dihitung.

### Panen dan Perhitungan Sel WiDr

Sel dipanen dari 129uspense129 CO<sub>2</sub>, kemudian diamati kondisi selnya. Pemanenan dilakukan setelah sel konfluen. Media dibuang menggunakan mikropipet, kemudian ditambahkan 1-2 mL tripsin EDTA 0,25% ke dalam botol kultur kemudian diinkubasi dalam

129uspense129 selama 5 menit lalu medium RPMI sebanyak 7 mL ditambahkan kedalam botol kultur untuk menginaktifkan tripsin dan diamati di mikroskop. Suspensi sel sebanyak 10 µL diambil dan dipipet ke haemocytometer. Sel dihitung di bawah mikroskop inverted. Volume panen sel diambil kemudian ditransfer ke *conical tube* dan ditambahkan medium sebanyak 10 mL. Jumlah 129uspense sel dan penambahan media dianalisis untuk memperoleh konsentrasi sel 104 untuk setiap sumuran.

### Uji Sitotoksik

Sel yang telah dihitung, didistribusikan pada masing-masing sumuran sesuai dengan jumlah ekstrak uji (30 sumuran) dan kontrol negatif (3 sumuran). Masing-masing sampel uji dan kontrol dibuat 3 replikasi, kemudian suspensi uji dimasukkan dalam inkubator yang teraliri CO<sub>2</sub> pada kondisi 37°C selama 1x24 jam. Hal ini dilakukan untuk mengadaptasikan sel dan kemudian sel dapat melekat pada sumuran hingga sel uji siap untuk perlakuan.

*Microplate* yang telah terisi sel uji dipindahkan dari inkubator. Sel uji dibuang dari media dengan cara *microplate* dibalik tujuannya untuk meniriskan cairan media. Larutan ekstrak uji yang telah diencerkan dengan media pada ke-5 seri konsentrasi dipindahkan ke dalam sumuran yang telah terisi sel WiDr dimulai dari konsentrasi terkecil masing-masing sejumlah 100 µL. Dimasukkan kembali ke dalam inkubator yang dialirkan CO<sub>2</sub> dengan suhu 37°C selama 1x24 jam.

Setelah diinkubasi, media sel dibuang kemudian ditambahkan reagen *Microtetrazolium* ke dalam sumuran sampel uji, blanko, dan kontrol negatif sebanyak masing-masing 100 µL. Reagen MTT dibuat dengan mengambil larutan MTT 5 mg/mL kemudian ditambahkan media hingga 10 mL hingga diperoleh hasil akhir reagen MTT dengan konsentrasi 0,5 mg/mL. *Microplate* dibungkus aluminium foil dan diinkubasi dalam inkubator dengan kondisi yang teraliri CO<sub>2</sub> selama 4 jam dengan suhu 37°C. Pada akhir inkubasi, suspensi uji ditambahkan 100 µL pelarut DMSO dan didiamkan 10 menit kemudian serapan diukur dengan ELISA reader pada panjang gelombang visibel 595 nm. Persen kematian sel dihitung dari data yang diperoleh.

### Analisis Data

Hasil pengujian toksisitas berupa respon absorbansi dikonversi ke dalam persen kematian sel dengan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ kematian} = \frac{(\text{Kontrol negatif} - \text{blanko}) - (\text{Sampel} - \text{kontrol blanko})}{(\text{Kontrol negatif} - \text{Kontrol blanko})} \times 100\%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstrak yang diperoleh adalah 107,8 g dengan persentase rendemen ekstrak 10,78 %. Tujuan dilakukan uji sitotoksitas untuk mengetahui potensi ketoksikan pada ekstrak herba rumput wangi terhadap sel kanker WiDr ([Chen, et.al, 1987](#)).

Kemoterapi adalah salah satu pengobatan untuk penyembuhan pada sel abnormal (kanker) akan tetapi memiliki banyak efek samping dalam penatalaksanaannya. Kemoterapi dapat menimbulkan resistensi obat apabila penyembuhan yang kurang tuntas. Salah satu alternatif dalam pengobatan penyakit kanker adalah penggunaan obat tradisional. Tanaman yang berpotensi sebagai antikanker, salah satunya yaitu herba rumput wangi. Secara

empiris, masyarakat Sulawesi Utara memanfaatkan rumput akar wangi untuk mencegah dan mengobati penyakit kanker dengan cara meminum air rebusan akar rumput akar wangi ([Nurrani dkk., 2014](#)).

Sampel herba akar wangi yang digunakan adalah sampel yang tumbuh liar di daerah kutai barat, sehingga dibutuhkan uji skrining fitokimia terlebih dahulu untuk menentukan kandungan metabolit sekundernya. Berdasar pada hasil uji skrining kandungan metabolit sekunder pada herba akar wangi, diketahui bahwa dalam ekstrak etanol memberi hasil positif terhadap senyawa saponin, flavonoid, alkaloid, tanin, dan steroid seperti tabel dibawah ini:

**Tabel 1. Hasil skrining Fitokimia herba akar wangi**

Golongan Senyawa	Ekstrak Daun Afrika	Ket
<b>Alkaloid</b>	Pereaksi Mayer	Tidak terdapat endapan
	Pereaksi Dragendrof	Tidak terdapat endapan
	Pereaksi Wagner	Tidak terdapat endapan
<b>Flavonoid</b>	Warna Merah Jingga	+
<b>Saponin</b>	Terdapat Buih	+
<b>Tanin</b>	Biru kehitaman	+
<b>Steroid</b>	terbentuk cincin merah	+

### Keterangan :

- + = terjadi perubahan warna
- = Tidak ada perubahan warna

Flavonoid telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas antikanker. Berdasarkan laporan, senyawa flavonoid dapat menginduksi terjadinya apoptosis. Flavonoid memiliki mekanisme kerja penurunan ekspresi gen Bcl-2, menghambat aktivitas DNA topoisomerase I/II, modulasi signalling pathways dan Bcl-XL, peningkatan ekspresi gen Bax dan Bak serta aktivitas endonuklease. Kuersetin merupakan senyawa flavonoid diketahui memiliki mekanisme menstimulasi pelepasan sitokrom c dari mitokondria ([Amit K. Taraphdar, 2001](#)). Berdasarkan penelitian yang dilakukan [Lapa, et.al. \(2009\)](#), salah satu kandungan flavonoid yang terkandung dalam tanaman ini dan berhasil diidentifikasi adalah flavonol rutin.

Mekanisme senyawa tanin terjadi melalui mekanisme kerja mengaktifkan jalur apoptosis dalam sel kanker. Mekanisme apoptosis terjadi akibat fragmentasi DNA. Fragmentasi terjadi mulanyaterjadi dengan lepasnya untai DNA oleh senyawa oksigen reaktif seperti radikal hidroksi. Tanin mampu

menghambat proliferasi sel kanker dengan menghambat aktivasi protein kinase yang kemudian menghambat jalur sinyal transduksi dari membran ke inti sel.

Saponin mempunyai mekanisme meningkatkan ekspresi p53, menghambat pembentukan ekspresi Bcl-2, memicu *G1 cell cycle arrest*, penginduksian protein *caspase-3* ([Fitria, et.al. 2011](#)).

Pengujian dasar untuk mencari obat antikanker maupun senyawa kemopreventif pada suatu tanaman dapat dilakukan dengan uji sitotoksik. Dengan melihat nilai  $IC_{50}$ ,  $IC_{50}$  merupakan indikator ketoksikan bahan alam yang diujikan. Metode *Microtetrazolium* (MTT) lazim digunakan dalam uji sitotoksik secara in vitro. Metode MTT secara in vitro dipilih untuk mendeteksi tingkat ketoksikan suatu senyawa menggunakan kultur sel.

Penggunaan MTT assay ditujukan untuk mengetahui efek toksisitas dalam suatu ekstrak terhadap sel. Reaksi yang akan terjadi di MTT assay ialah garam tetrazolium akan pecah

menghasilkan kristal formazan oleh enzim suksinat tetrazolium *reductase* pada jalur respirasi sel dalam organel mitokondria pada sel yang masih hidup. Hasil dari pembentukan kristal formazan akan berwarna jingga yang secara kuantitatif diukur menggunakan ELISA reader.

Penelitian dengan menggunakan metode MTT dilakukan dengan menentukan nilai absorbansi formazan yang terbentuk dengan menggunakan microplate reader pada panjang

gelombang maksimum 595 nm. Intensitas warna jingga yang terbentuk akan berbanding lurus dengan koloni sel yang masih hidup. Apabila warna jingga terlihat makin pekat maka jumlah sel yang hidup juga makin banyak, sedangkan apabila dihasilkan warna pudar (kuning), mengidentifikasi banyak sel yang mati (Rahmadania, Wibowo and Rosida, 2016).

Hasil dari uji sitotoksik dari sel kanker WiDr dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil uji sitotoksik ekstrak etanol herba akar wangi (*Polygala paniculata* L.) Terhadap sel kanker WiDr**

Konsentrasi (µg/mL)	% rata-rata kematian	Log konsentrasi	Probit	Nilai IC <sub>50</sub> µg/mL
31,25	22,0398	1,4948	4,92	80,52 µg/mL
62,5	48,1267	1,7958	4,97	
125	67,2988	2,0969	5,03	
250	73,8591	2,3979	5,05	
500	90,3407	2,6989	5,1	

Penelitian ini menunjukkan bahwa pada ekstrak sampel mempunyai potensi toksisitas yang dapat membunuh sel pada kultur. Konsentrasi ekstrak yang diuji dalam penelitian ini adalah 500; 250; 125; 62,5; dan 31,25 ppm. Dari tabel menunjukkan adanya pengaruh variasi konsentrasi terhadap kematian rata-rata sel uji. Dari tabel 2 juga menunjukkan hubungan antara probit dan konsentrasi, dimana dapat diketahui bahwa nilai IC<sub>50</sub> berada pada range konsentrasi 62,5 ppm dan 125 ppm. sehingga bila dihitung regresi linearitasnya, diperoleh besarnya nilai efek penghambatan dari ekstrak herba rumput wangi terhadap sel kanker WiDr sebesar 80,52 ppm. Dari hasil yang didapatkan ekstrak herba rumput yang berpotensi sebagai antikanker pada sel WiDr, Nilai IC<sub>50</sub> yang didapatkan lebih kecil 100 µg/ml menunjukkan bahwa sampel memiliki potensi untuk digunakan sebagai agen kemoterapi dan bersifat moderat aktif.

### KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak herba akar wangi menekan pertumbuhan sel kanker WiDr dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 80,52 µg/mL dan bersifat moderat aktif.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFA) Makassar yang telah berkontribusi dalam penyelesaian penelitian dan teruntuk seluruh rekan peneliti yang telah membantu dalam penyusunan jurnal ini

### DAFTAR PUSTAKA

- A.A. Ala, B.B. Olotu, and C. M. D. O. (2018), *Assessment of cytotoxicity of leaf extracts of Andrographis paniculata and Aspilia africana on murine cells in vitro*, PMC, 6(1), pp. 61–65.
- Amit K. Taraphdar, M. R. and R. K. B. (2001) *Natural products as inducers of apoptosis: Implication for cancer therapy and prevention*, Current Science, 80(11), p. 1391.
- Asril Burhan, Akbar Awaluddin, Zulham, Burhanuddin Taebe, A. G. (2019) *Antioxidant and Anticancer Activities Of Murbei (Morus Alba L.) Stem Extract On In Vitro Widr Cancer Cells*, Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas, 16(2), pp. 63–67.
- Avila, E.V. dan Pugsley, M.K. (2011), *An Overview of Colorimetric Assay Methods Used to Assess Survival or Proliferation of Mammalian Cells*, Proc. West. Pharmacol. Soc, 54: 10-4
- Chen, T.R., Drabkowski, D., Hay, R.J., Macy, M. and Peterson, W. J. (1987), *WiDr is a Derivative of Another Colon Adenocarcinoma Cell Line, HT-29*, Cancer Genet Cytogenet, 27(1), pp. 34–125.
- Cristiano R., Pizzolatti M.G., Delle F.M., Rezende C.M., Branco A.A. (2003) *Two Xanthenes from Polygala paniculata and Confirmation of The 1-hydroxy-2,3,5-*

- trimethoxy-xanthone at Trace Level by HRGC-MS. Z Naturforsch*, 58: 490–4.
- Fitria, M., Armandari, I., Septhea, D.B., Ikawati, A.H.M., Meiyanto, E. (2011), *Ekstrak Etanolik Herba Ciplukan (Physalis Angulata L.) Berefek Sitotoksik Dan Menginduksi Apoptosis Pada Sel Kanker Payudara MCF-7*, *Bionatura*, 13(2), pp. 101–107.
- J. B. Harbone (1987) *Metode Fitokimia*. Bandung: ITB Bandung.
- Kemenkes RI., 2015, *Stop Kanker: Situasi Penyakit Kanker*. Infodatin-Kanker. Hal 3.
- Lapa, F. D. R., Gadotti, V. M., Missau, F. C., Pizzolatti, M. G., Marques, M. C. A., Farina, M., Dafre, A. L., Rodrigues, L. S., And Santos. A. R. S. (2009) *Antinociceptive Properties of the Hydroalcoholic Extract and the Flavonoid Rutin Obtained from Polygala paniculata L. in Mice*. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*. 104 (4), pp. 306-15.
- Nurrani, L., Kinho, J., dan Tabba, S., 2014, *Kandungan Bahan Aktif dan Toksisitas Tumbuhan Hutan Asal Sulawesi Utara yang Berpotensi Sebagai Obat*. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. 32(11): 123-138.
- Onyegeme-Okerenta, B. et al. (2019) *In vitro Cytotoxic Evaluation of Ethanol Leaf Extract of Physalis angulata Linn on Some Human Carcinoma Cell Lines*, *Journal of Advanced Research in BioChemistry and Pharmacology*, 2(1), pp. 5–10.
- Rahmadania, E., Wibowo, A. A. and Rosida, L. (2016) *Distribusi Pola Diet Pasien Kanker Kolorektal Di RSUD Ulin Banjarmasin Periode Agustus Oktober 2015*, *Berkala Kedokteran*, 12(2), p. 215. doi: 10.20527/jbk.v12i2.1872.
- Rijai, L., 2013, *Potensi Herba Tumbuhan Balsem (Polygala paniculata Linn) Sebagai Sumber Bahan Farmasi Potensial*. *J. Trop. Pharm. Chem.* 2:2
- Widaryanti, B. et al. (2016) *Efek Sitotoksik Ekstrak Daun Ketapang (Terminalia catappa L.) Pada Sel Kanker Payudara T47D*, *Jurnal Biologi Papua*, 8(2), pp. 68–71.
- Widowati, P. (2017) *Sitotoksitas Ekstrak Metanol Daun Sukun (Artocarpus altilis), Nangka (Artocarpus heterophyllus) Dan Kluwih (Artocarpus camansi) Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7*, *The 5 Th Urecol Proceeding*, UAD.

