

Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Akar Jarak Merah (*Jatropha gossypifolia* L.) terhadap Sel Kanker Payudara T47D dengan Metode MTT Assay

Anticancer Activity of Ethanol Extract from *Jatropha gossypifolia* L. root on T47D Breast Cancer Cell Line with MTT Assay Method

Zahrah Luthfiatul Fadhilah, Syifa Aulia Paramitha, Haryoto*

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Sukoharjo, Jawa Tengah 57169, Indonesia

ARTIKEL INFO

Kata Kunci:

Jatropha gossypifolia L, sel T47D, sitotoksik, MTT assay.

Keywords:

Jatropha gossypifolia L, T47D cell, cytotoxic, MTT assay.

ABSTRAK

Kanker payudara di Indonesia menempati kondisi tertinggi dengan persentase 16,86% dengan angka kejadian 65.858 penderita. Pengobatan antikanker dan agen kemoterapi yang beredar di Indonesia banyak memiliki kekurangan seperti efikasi yang belum memadai, adanya resistensi, dan efek samping yang merugikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol akar jarak merah terhadap sel kanker payudara T47D dengan menggunakan metode MTT assay. Ekstrak etanol akar jarak merah diperoleh melalui maserasi dengan etanol 96%. Uji fitokimia menunjukkan kandungan terpenoid, flavonoid, alkaloid, tanin, dan senyawa fenolik. Dari hasil pengujian ekstrak etanol akar jarak merah didapatkan nilai IC_{50} 21,67 $\mu\text{g/mL}$, hal ini menunjukkan adanya aktivitas sitotoksik yang cukup aktif berdasarkan kategori NCI.

ABSTRACT

Breast cancer in Indonesia occupies the highest condition with a percentage of 16.86%, with an incidence rate of 65,858 sufferers. Anticancer treatments and chemotherapy agents circulating in Indonesia have many shortcomings, such as inadequate efficacy, resistance, and adverse side effects. This research aims to evaluate the cytotoxic activity of the ethanol extract of red castor root against T47D breast cancer cells using the MTT assay. An ethanol extract of red castor root was obtained by macerating the root in 96% ethanol. Phytochemical tests showed the presence of terpenoids, flavonoids, alkaloids, tannins, and phenolic compounds. From testing the ethanol extract of red castor root, an IC_{50} value of 21.67 $\mu\text{g/mL}$ was obtained, indicating moderately active cytotoxicity according to NCI categories.

I. Pendahuluan

Kanker merupakan salah satu penyakit penyebab kematian, kejadian kanker diakibatkan karena fungsi sel yang abnormal dan menghalangi proses kerja sel lain. Salah satu kanker yang banyak menyebabkan kematian di Indonesia adalah sel kanker payudara. Berdasarkan pemaparan Sutnick dan Gunawan (1982) memaparkan hasil dari Globocan 2020 *breast cancer* di Indonesia menempati kondisi tertinggi dengan persentase 16,858% dengan angka kejadian 65.858 penderita. IARC menyampaikan kejadian kanker payudara di dunia tahun 2020 mencapai angka 2,26 uti Wanita yang terdiagnosis, 648.996 diantaranya mengalami kematian (Liu and Mehr, 2022).

Salah satu Sel kanker payudara adalah T47D dimana kerja dari sel T47D bergantung pada gen p53, gen tersebut yang menentukan proses apoptosis dan regulasi dari sel kanker T47D. Gen p53 adalah salah satu protein yang kerjanya mengacu aktivitas tumor dan menentukan kondisi genetik yang stabil dan pengulangan siklus sel (Harris, 1996). Pengobatan antikanker dan agen kemoterapi yang beredar di Indonesia banyak memiliki kekurangan seperti efikasi yang belum memadai, adanya resistensi, dan efek samping yang merugikan (Haryanti and Widiyastuti, 2017). Sehingga diperlukan perkembangan antikanker lain yang bisa memberikan efek yang lebih baik.

Menurut Wu *et al.*, (2019) jarak merah (*Jatropha gossypifolia* L.) merupakan tanaman tradisional yang dapat dijadikan obat antara lain yaitu sebagai antiinflamasi, antioksidan, antimikoba, antineoplastic,

antihipertensi, dan antikanker. Potensi besar dari banyaknya aktivitas yang mampu ditunjukkan oleh jarak merah tentu berdasarkan kandungan senyawa aktifnya. Kandungan dari jarak merah yakni lignoid, fenolik, saponin, steroid, kumarin, tanin, flavonoid, dan terpenoid (Félix-Silva *et al.*, 2014). Adanya terpenoid di dalam kandungannya bisa membuat jarak merah berpotensi sebagai agen sitotoksik (Devappa *et al.*, 2011).

Penelitian dari Ogbonna *et al.*, (2017) menguji aktivitas sitotoksik isolat akar jarak merah terhadap sel VERO menunjukkan hasil IC_{50} 0,48 $\mu\text{g/mL}$. penelitian lain terhadap aktivitas sitotoksik dari *Jatrophone* banyak diaplikasi di sel manusia seperti sel WiDr, sel HeLa, dan sel AGS didapatkan rata-rata nilai IC_{50} 1,31 $\mu\text{g/mL}$.

Penelitian ini bertujuan mengkaji aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol akar jarak merah terhadap sel kanker payudara T47D dengan metode MTT assay. MTT assay adalah metode kolorimetri yang mengukur aktivitas enzim dehidrogenase mitokondria dalam sel hidup, dimana garam tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida) direduksi menjadi kristal formazan berwarna ungu oleh enzim suksinat dehidrogenase dalam mitokondria sel yang aktif. Metode MTT assay mudah dilakukan, cepat, spesifik, dan akurat dalam pengujian sitotoksitas (Renggana *et al.*, 2022). Manfaat dari penelitian ini menambah pengetahuan ilmiah mengenai aktivitas sitotoksik ekstrak etanol akar jarak merah terhadap sel kanker payudara T47D.

2. Metode Penelitian

Alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian adalah neraca analitik ohaus pioneer PAI 14, corong buchner 100 mL, labu ukur dan gelas ukur pyrex (Iwaki), batang pengaduk, pipet ukur, pipet tetes, kertas saring, seperangkat alat maserasi, rotary evaporator (Heiloph laborta 4000), kompresor GASS (DOA-P504 BN), waterbath (memmert WNB 14 cytoculture safety cabinet (micropipette socorex 825 100-1000 μ L, tip one med, 96-well plate, nanodrop (biodrop), mikroskop dan kamera (optilab), incubator CO2 Memmert, vortex binder, Elisa reader (Biotek ELx 800).

Bahan yang digunakan pada penelitian kali ini adalah akar jarak merah yang berasal dari Pulau Medang, NTB; etanol 96%, sel Kanker T47D yang sudah di kultur dari Universitas Muhammadiyah Surakarta, pewarna tetrazolium, doxorubicin, phosphate buffered saline (PBS), sodium deodecyl sulfate (SDS) 10%, media kultur Roswell Park Memorial Institute (RPMI), dimetil sulfoksida (DMSO), tripsin EDTA 0,25, akuades, metanol p.a, kloroform, FeCl₃, Pereaksi Dragendroff, Pereaksi Mayer, HCl 0,01N, H₂SO₄, dan aluminium foil.

Jalannya penelitian

Ekstraksi

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi diawali dengan penyiapan serbuk akar jarak merah sebanyak 1.500 gram kemudian dimasukkan ke dalam wadah penampung kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 10 L. Proses maserasi dilakukan selama 5x24 jam, setiap 24 jam hasil maserasi disaring menggunakan corong buchner dan didapatkan hasil maserat dan filtrat, maserat kembali di maserasi dengan pelarut etanol 96%, sedangkan filtrat dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu \pm 60oC dengan kecepatan pemutaran 80 rpm. Perlakuan rotary evaporator tersebut bertujuan untuk memisahkan antara hasil ekstrak sampel dengan pelarutnya. Setelah hasil ekstrak yang sudah di evaporasi, ekstrak dipekatkan kembali untuk menghilangkan sisa pelarutnya dengan waterbath rentang suhu 40-60o C selama 12 jam. Setelah didapatkan ekstrak kental, dilanjutkan dengan uji fitokimia (Erika dan Haryoto, 2018).

Uji fitokimia

Uji kandungan alkaloid. Pengujian alkaloid dilakukan dengan menimbang 100 mg ekstrak kental dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan sebanyak 1 mL HCL 2N lalu bagi menjadi dua bagian. Tabung 1 ditambahkan 3 tetes pereaksi mayer, tabung 2 ditambahkan 3 tetes pereaksi dragendroff. Hasil menunjukkan warna kuning pada tabung 1, dan warna jingga di tabung ke 2 menunjukkan adanya senyawa alkaloid yang terkandung (Ahayu et al., 2015).

Uji kandungan flavonoid. Pengujian diawali dengan menimbang 100 mg ekstrak kental lalu masukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan HCL pekat 3 tetes. Campuran ekstrak dipanaskan diatas penangas hingga muncul perubahan warna menjadi warna merah. Adanya perubahan warna merah menunjukkan adanya flavonoid yang terkandung (Ahayu et al., 2015).

Uji kandungan fenol dan tanin. Pengujian diawali dengan menimbang 100 mg ekstrak kental lalu masukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 tetes FeCl₃. Adanya kandungan senyawa fenol ditunjukkan jika menunjukkan perubahan warna menjadi hitam kebiruan, dan menunjukkan adanya senyawa tanin jika ada perubahan warna hijau kehijauan atau biru gelap (Fitriasari, 2010).

Uji kandungan saponin. Pengujian diawali dengan menimbang 100 mg ekstrak kental lalu dituang ke dalam tabung reaksi ditambahkan dengan 1 mL aquades selama 1 menit. Menunjukkan adanya saponin yang terkandung setelah terbentuk buih yang bertahan selama 10 menit (Ahayu et al., 2015).

Uji kandungan terpenoid. Pengujian diawali dengan menimbang 100 mg ekstrak kental lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan

ditambahkan 2 mL kloroform dan 3mL H₂SO₄ pekat. Hasilnya menunjukkan adanya pemisahan diantara dua campuran, dan menunjukkan adanya terpenoid jika terdapat warna coklat kemerahan ditengah pemisahannya (Ahayu et al., 2015).

Uji sitotoksik metode MTT assay

Hasil kultur sel T47D dari Universitas Muhammadiyah Surakarta dikeluarkan dari inkubator CO₂ kemudian dilakukan pengamatan melalui mikroskop untuk memastikan konfluensi sel mencapai 80% siap panen. Konfluensi 80% dipilih sebagai kondisi optimal untuk pemanenan karena pada tingkat ini sel masih dalam fase pertumbuhan aktif (log phase) namun belum mengalami contact inhibition yang berlebihan. Pada konfluensi 80%, sel memiliki viabilitas tinggi, metabolisme aktif, dan belum mengalami stres akibat kompetisi nutrisi atau ruang yang berlebihan. Kondisi ini memastikan sel dapat tumbuh dengan baik setelah subkultur dan memberikan hasil yang konsisten untuk eksperimen berikutnya.

Selanjutnya dilakukan pemisahan media kultur sel dengan dipisahkan menggunakan pipet Pasteur, kemudian sel di cuci dengan 5 mL PBS untuk menghilangkan sisa media, setelah di cuci pisahkan kembali antara sel dengan PBS menggunakan pipet Pasteur. Tambahkan 450 μ L larutan tripsin kemudian inkubasi sel selama 4 menit, penambahan tripsin digunakan untuk memisahkan sel dari wadah kultur. Tambahkan media RPMI untuk menghentikan tripsin setelah diinkubasi, kemudian resuspensi sel menggunakan pipet mikro. Langkah berikutnya yaitu pemanenan sel dengan memipet sebanyak 10 μ L sel diletakkan di atas hemocytometer kemudian di baca dengan mikroskop dan kamera opti lab untuk mengetahui jumlah sel yang diperoleh.

Setelah pembacaan. Selanjutnya Sel kanker di masukkan ke dalam 96- well plate dengan total 10.000-unit sel/sumuran. Kemudian sel di inkubasi didalam inkubator CO₂ 5% dengan suhu 37o C selama satu hari. Setelah sel diinkubasi buang media kemudian cuci dengan PBS sebanyak 100 μ L per sumuran. Sel kemudian ditambahkan larutan sampel dengan konsentrasi (250; 100; 50; 25; 12,5 μ g/mL) dan kontrol positif doxorubicin dengan konsentrasi (250; 100; 50; 25; 12,5 μ g/mL) pembuatan larutan dilakukan sebanyak 3x replikasi, lalu disiapkan juga kontrol negatif. Isi masing-masing sumuran 100 μ L, penaruhan posisi sampel uji dan kontrol disesuaikan dengan peta 96-well plate. Setelah peletakan, kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam didalam incubator CO₂. Setelah proses inkubasi media dan sampel uji dibuang dan dicuci kembali dengan PBS setiap sumuran 100 μ L. Tambahkan larutan MTT assay konsentrasi 5 mg/mL sebanyak 100 μ L/sumuran lalu inkubasi selama 4 jam di incubator CO₂ dengan suhu 37o C. Penghentian pembentukan formazan dilakukan dengan menambahkan SDS 10% kemudian inkubasi selama 24 jam di suhu ruang dengan ditutup aluminium foil. Hasil inkubasi dibaca di ELISA reader dengan panjang gelombang 550 nm, dilanjutkan dengan menghitung nilai IC₅₀.

Analisis data

Analisis viabilitas sel merupakan perhitungan kemampuan sel berkembang dalam medium. Perhitungan aktivitas sitotoksik dilakukan dengan mencari nilai IC₅₀. Jika absorbansi kontrol pelarut lebih rendah dari absorbansi kontrol sel, maka digunakan persamaan berikut:

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

Jika absorbansi kontrol pelarut lebih rendah dari absorbansi kontrol sel, maka menggunakan rumus:

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

Berdasarkan hasil perhitungan diatas, dibuat grafik regresi linear dengan membandingkan antara log konsentrasi dengan % sel hidup untuk mendapatkan persamaan regresi linearnya. Perhitungan nilai IC₅₀ dilakukan dengan memasukkan nilai y = 50%, dan IC₅₀ akan didapatkan berdasarkan antilog dari nilai

x yang didapatkan (Fitriasari, 2010).

3. Hasil dan Pembahasan

Simplisia yang telah dikoleksi dari daerah P. Medang, NTB kemudian dilakukan determinasi di Laboratorium Biologi Universitas Setia Budi Surakarta yang diyakinkan dengan surat nomor 79E/DET/UPT LAB/21.08/2023.

Analisis kandungan senyawa kimia

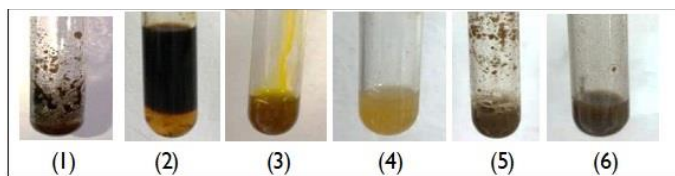
Analisis kandungan fitokimia ini dilakukan untuk mengetahui apa saja senyawa yang terkandung di dalam ekstrak etanol akar jarak merah, dan sebagai penunjang lanjutan bahwa akar jarak merah berpotensi sebagai agen sitotoksik. Analisis kandungan senyawa kimia pada jarak merah dilakukan secara kualitatif. Adanya perubahan warna setelah pengujian menunjukkan terdapatnya kandungan senyawa kimia di dalam akar jarak merah. Hasil skrining fitokimia ekstrak akar jarak merah dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol akar jarak merah

Metabolit sekunder	Hasil skrining	EEAJM
Flavonoid	Terbentuk warna merah tua	+
Saponin	Terbentuk buih stabil	-
Terpenoid	Terbentuk warna coklat kemerahan	++
Allkaloid (Meyer)	Perubahan warna kuning	+
Allkaloid (Dragendorff)	Perubahan warna jingga	+
Tanin	Terbentuk warna biru tua/hitam kehijauan	+
Fenol	Terbentuk warna biru tua/hitam kehijauan	+

Keterangan: EEAJM = ekstrak etanol akar jarak merah, ++ = banyak terkandung, + = terkandung, - = tidak terkandung

Ekstrak etanol akar jarak merah yang digunakan sebagai sampel uji ini mengandung senyawa terpenoid, flavonoid, alkaloid, tanin, dan fenolik. Adanya senyawa flavonoid ditandai dengan adanya warna merah tua yang dihasilkan setelah pengujian dilihat pada tabung 1. Adanya terpenoid setelah pengujian ditandai dengan warna coklat kemerahan yang terbentuk dilihat pada tabung 2. Adanya kandungan senyawa alkaloid dengan terbentuknya warna kuning pada pereaksi mayer, dan menunjukkan warna jingga pada pereaksi dragendorff dilihat pada tabung 3 dan 4. Senyawa tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kehijauan (tabung 5), dan fenolik dengan terbentuknya warna biru tua (tabung 6) (Priyadi *et al.*, 2021; Segara & Agus., 2023).



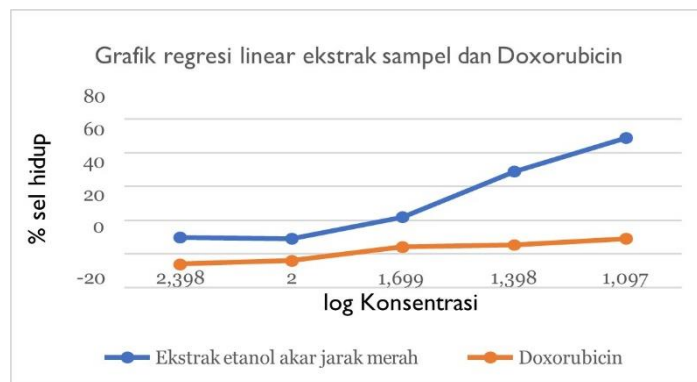
Gambar 1. Hasil uji fitokimia, meliputi flavonoid (1), terpenoid (2), alkaloid dengan pereaksi Dragendorff (3), alkaloid dengan pereaksi Mayer (4), tanin (5), dan senyawa fenolik (6)

Pengujian senyawa yang terkandung dari ekstrak akar jarak merah untuk menghasilkan efek sitotoksik adalah senyawa terpenoid, dimana terpenoid ini dapat menghambat terbentuknya dinding sel tau membrane sel dan mengganggu proses pembentukan dinding sel agar tidak terbentuk (Safitri *et al.*, 2019). Terpenoid memiliki struktur atom karbon dari enam unit isoprena yaitu kerangka karbon yang terbentuk dari enam unit CS, dan memiliki hidrokarbon asiklik C₃₀. Terpenoid mengandung gugus asam karboksilat, alkohol dan aldehid (Fitriasari, 2010).

Uji sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D

Pengujian sitotoksik senyawa bisa dilakukan dengan melakukan pengamatan terhadap hasil sel yang bertahan hidup setelah diberi perlakuan. Selanjutnya untuk melakukan uji sitotoksik digunakan metode MTT assay. Prinsip dari proses uji MTT assay ini adalah dehydrogenase dalam sitokrom sel hidup bisa membelah cincin tetrazolium, dan dapat mereduksi MTT yang berwarna kuning sehingga dapat terbentuk kristal formazan yang berwarna ungu. Zat tersebut larut ke dalam DMSO dan pelarut yang bersifat organik. Pembentukan kristal formazan memiliki hubungan dengan jumlah dan aktivasi dari sel yang hidup (Renggana *et al.*, 2022).

Sebelum perlakuan uji pada sel, sampel yang digunakan diberikan perlakuan dengan melakukan pengenceran dengan cara 10 mg sampel ditimbang kemudian dilarutkan ke dalam 100 µL DMSO dengan konsentrasi akhir yang didapatkan adalah 100.000 µg/mL kemudian diencerkan secara bertingkat hingga mendapatkan variasi konsentrasi, pada penelitian kali ini digunakan konsentrasi sampel 250, 100, 50, 25, dan 12,5 µg/mL. penggunaan kontrol positif doxorubicin dibuat konsentrasi yang sama seperti sampel yang digunakan. Setiap sumuran diisi dengan sampel, kontrol doxorubicin, kontrol pelarut DMSO dan diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO₂ 5% dengan suhu 37°C setelah proses inkubasi ditambahkan reagen MTT assay dan diinkubasi dengan waktu 4 jam, setelah 4 jam dan terjadi pembentukan kristal formazan yang DMSO dengan konsentrasi akhir yang terbentuk dicuci dengan SBS. 96- well plate yang sudah di cuci diinkubasi selama 24 jam dalam suhu ruang untuk dibaca absorbansinya pada ELISA reader menggunakan panjang gelombang 550 nm. Hasil nilai regresi linier perbandingan antara ekstrak etanol akar jarak merah dengan doxorubicin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik perbandingan regresi Linear Sampel dengan Doxorubicin

Nilai regresi linear yang didapatkan antara sampel ekstrak etanol dengan sel kanker payudara T47D adalah $y = -48,037x + 114,17$, dengan hasil perhitungan IC₅₀ 21,67 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol akar jarak merah memiliki aktivitas sitotoksik yang cukup aktif terhadap sel kanker payudara T47D. Ini membuktikan bahwa senyawa terpenoid yang terkandung dari ekstrak akar jarak merah memang menghambat dan mengganggu pembentukan dinding sel. Sedangkan hasil persamaan regresi linear yang didapatkan dari doxorubicin adalah $y = -12,318x + 22,821$, hasil hitung IC₅₀ kontrol positif doxorubicin menunjukkan aktivitas yang toksik dengan mendapatkan nilai perhitungan 0,0062 µg/mL.

Pengelompokan aktivitas sitotoksik suatu senyawa berdasarkan nilai IC₅₀ menurut NCI yaitu dikatakan memiliki aktivitas sitotoksik yang bersifat sangat aktif jika IC₅₀ < 20 µg/mL, cukup aktif jika IC₅₀ ≥ 21 ≤ 200 µg/mL, dikategorikan lemah apabila IC₅₀ ≥ 201 ≤ 500 µg/mL, dan tidak aktif jika mempunyai IC₅₀ > 500 µg/mL (Fitriasari, 2010). Perbandingan antara ekstrak etanol akar jarak merah dengan kontrol

pembandingan doxorubicin memiliki perbedaan yang signifikan, namun menurut kategori nilai IC₅₀ ekstrak etanol akar jarak merah dikelompokkan pada cukup aktif terhadap sel kanker payudara T47D.

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, ekstrak etanol akar jarak merah (*Jatropha gossypifolia* L.) menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai IC₅₀ sebesar 21,67 µg/mL dikategorikan yang cukup aktif. Uji fitokimia mengungkapkan bahwa ekstrak ini mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain terpenoid, flavonoid, alkaloid, tanin, dan fenolik. Selanjutnya senyawa terpenoid merupakan senyawa yang berperan penting dalam aktivitas sitotoksiknya dengan menghambat pembentukan dinding sel dan mengganggu proses pembentukan membran sel kanker. Aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol akar jarak merah yang mempunyai nilai IC₅₀ sebesar 21,67 µg/mL terhadap sel T47D dikategorikan cukup aktif, sehingga potensi akar jarak merah sebagai alternatif bahan baku obat antikanker dapat dikembangkan lebih lanjut untuk mengatasi keterbatasan pengobatan kanker konvensional yang ada saat ini, seperti resistensi obat dan efek samping yang merugikan.

5. Daftar Pustaka

- Ahayu SITIR, Urniasih NUK, Malia DANVINA A. 2015. Ekstraksi dan identifikasi senyawa flavonoid dari limbah kulit bawang merah sebagai antioksidan alami, *al Kimiya: Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan*, 2(1).
- Devappa RK, Makkar HPS, Becker K. 2011. *Jatropha* diterpenes: A review, *Journal of the American Oil Chemists Society*, 88(3), 301–322.
- Félix-Silva J, Souza T, Camara RBG, Cabral B, Silva-Júnior AA, Rebecchi IMM, Zucolotto SM, Rocha HAO, Fernandes-Pedrosa MdeF. 2014. In vitro anticoagulant and antioxidant activities of *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae) leaves aiming therapeutical applications, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 405.
- Fitriasari A. 2010. Prosedur tetap uji kombinasi dengan agen kemoterapi, *Cancer Chemoprevention Research Center Fakultas Farmasi UGM*, 6–9.
- Harris CC. 1996. p53 tumor suppressor gene: From the basic research laboratory to the clinic - An abridged historical perspective, *Carcinogenesis*, 17(6), 1187-98
- Haryanti S, Widiyastuti Y. 2017. Aktivitas sitotoksik pada sel MCF-7 dari tumbuhan Indonesia untuk pengobatan tradisional kanker payudara, *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 27(4).
- Liu H, Mehr CR. 2022. Breast. In *Handbook of Practical Immunohistochemistry: Frequently Asked Questions*, 253–292.
- Ogbonna JC, Igbe I, Erharuyi O, Imieje VO. 2017. Biological activities of a macrocyclic diterpenoid isolated from the roots of *Jatropha gossypifolia*, *Journal of African Association of Physiological Sciences*, 5(2), 111–120.
- Priyadi M, Haryoto H, Anggraeni AD, Khong HY. 2021. Phytochemical and cytotoxic test of *Durio kutejensis* root bark on MCF-7 cells, *Borneo Journal of Pharmacy*, 4(1), 1–5.
- Renggana H, Sadino A, Susanti R, Sujana D. 2022. Sitotoksik ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap sel kanker prostat DU 145 dengan metode MTT assay, *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 7(2), 273-282.
- Safitri OM, Nurhamidah N, Amir H. 2019. Potensi sitotoksik dan antibakteri ekstrak daun *Laportea interrupta* L. Chew (Jelagta ayam) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Alotrop*, 2(2), 175–183.
- Sutnick AI, Gunawan S. 1982. Cancer in Indonesia, *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 247(22), 3087–3088.
- Wu Q, Patocka J, Nepovimova E, Kuca K. 2019. *Jatropha gossypifolia* L. and its biologically active metabolites: A mini review, *Journal of Ethnopharmacology*, 234, 197–203.
- Yega Segara, Agus K. 2023. Uji aktivitas antioksidan dan penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak etanol daun iler (*Coleus scutellarioides* (L.) Benth.) antioxidant activity test and determination of total flavonoid rate, *Jurnal Farmasi dan Farmakoinformatika*, 1(1), 60.