

PENGARUH EKSTRAK ETHANOL DAUN TEH HITAM (*CAMELLIA SINENSIS*) DALAM MENGHAMBAT MIGRASI SEL KANKER KOLON (WiDr) SECARA *IN VITRO*

THE EFFECT OF BLACK ETHANOL LEAF EXTRACT (CAMELLIA SINENSIS) IN OBSERVING SEL MIGRATION KOLON CANCER (WiDr) IN VITRO

Indira Putri Fiana Dewi¹, Yoni Astuti²

Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

ABSTRACT

Background: Colon cancer is a type of cancer that is often diagnosed in men and types of cancer that are often diagnosed in women (Jemal et al., 2011). Cancer treatment is generally done by chemotherapy, surgery and radiation. However, it is also expensive or adverse side effects. To overcome these things, the need for colon cancer innovation, one of them with natural teaching materials. (*Camellia Sinensis*) in the challenge of the evolution of breast cancer (WiDr) in vitro.

Method: Experimental research methods. Tea powder in maceration extraction using 70% ethanol solvent, cytotoxic extract using MTT Assay method, and migration inhibition activity through wound testing with wound healing tools to ensure closure results.

Result: The results showed that the cytotoxic test of black tea leaf extract on colon cancer cells (WiDr) gave an IC₅₀ value of 669.53 µg / ml. Examination of cell migration within 47 hours using the Scratch Wound Healing method to obtain a decrease in the area of cell control, ½ doxorubicin, and treatment of black tea leaf extract (*Camellia Sinensis*) at all times.

Conclusions: These results can be concluded that the ethanol extract of black tea leaves (*Camellia Sinensis*) as a preventive agent based on cytotoxic test data and has an effect on inhibiting colon cancer cell migration (WiDr).

Keywords: *Camellia Sinensis*, WiDr colon cancer, MTT assay, migration test

INTISARI

Latar belakang: Kanker kolon merupakan jenis kanker ketiga yang sering didiagnosa pada laki-laki dan jenis kanker kedua yang sering didiagnosis pada perempuan (Jemal et al., 2011). Pengobatan kanker pada umumnya dilakukan dengan metode kemoterapi, operasi dan radiasi. Namun pengobatan tersebut selain harganya mahal juga menimbulkan efek samping yang merugikan. Untuk mengatasi hal tersebut, perlu adanya inovasi pencegahan kanker kolon, salah satunya dengan eksplorasi bahan alam. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh ekstrak daun teh hitam (*Camellia Sinensis*) dalam menghambat migrasi sel kanker kolon (WiDr) secara *in vitro*.

Metode: Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental. Serbuk teh di ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, uji sitotoksik ekstrak menggunakan metode MTT Assay, dan aktivitas penghambatan migrasi sel diamati melalui uji migrasi dengan *scratch wound healing assay* untuk memperoleh hasil penutupan.

Hasil: Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa uji sitotoksik ekstrak etanol daun teh hitam pada sel kanker kolon (WiDr) memberikan nilai IC₅₀ sebesar 669,53 µg/ml. Pemeriksaan migrasi sel dalam waktu 47 jam dengan menggunakan metode *Scratch Wound Healing* sehingga diperoleh hasil penurunan luas area kontrol sel, ½ doxorubicin, dan perlakuan ekstrak daun teh hitam (*Camellia Sinensis*) di setiap waktu.

Kesimpulan: Hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun teh hitam (*Camellia Sinensis*) sebagai agen kompreventif berdasarkan data uji sitotoksik dan berpengaruh dalam menghambat migrasi sel kanker kolon (WiDr).

Kata Kunci: *Camellia Sinensis*, kanker kolon WiDr, MTT assay, uji migrasi

PENDAHULUAN

Penyakit kanker adalah penyebab kematian utama di seluruh dunia. Menurut data Organisasi Kesehatan Sedunia, (WHO) setiap tahap jumlah penderita kanker di dunia bertambah 6,25 juta orang dan setiap 11 menit ada satu penduduk meninggal dunia karena kanker kemudian setiap 3 menit ada satu penderita kanker baru (Ratna, 2004). Beberapa jenis kanker menunjukkan peningkatan angka kejadiannya termasuk kanker kolon (Oemiati et al, 2011). Kanker kolon menjadi penyebab kematian peringkat ketiga pada sebagian besar penduduk di USA (Siegel dan Naishdham, 2013). Kanker kolon merupakan jenis kanker ketiga yang sering didiagnosa pada laki-laki dan jenis kanker kedua yang sering didiagnosis pada perempuan (Jemal et al., 2011).

Di Amerika Serikat, keganasan kanker kolon merupakan penyebab kematian karena kanker kedua terbanyak setelah karsinoma paru. Insidensi di Negara

berkembang secara umum lebih rendah di banding negara maju. Di India terdapat 9 kasus per 100.000 dan Nigeria 2,5 per 100.000 (Rudiman, 2012).

Di Indonesia terdapat 1378 kasus karsinoma kanker kolon dari 134.743.420 penduduk atau 1,8 per 100.000 penduduk. Angka survival 5 tahun pada keganasan kanker kolon adalah 62,1%. Risiko terkena keganasan kanker kolon pada umumnya dimulai pada usia 40 tahun dan meningkat setelah usia 50 sampai 55 tahun (Rudiman, 2012).

Selama ini pencegahan kanker dilakukan yakni dengan mengembangkan agen pendukung kemoterapi (kokemoterapi) yang memiliki sitotoksisitas dengan nilai IC_{50} rendah. Kokemoterapi merupakan suatu strategi terapi kanker dengan mengkombinasi beberapa agen kemoterapi yang diberikan secara bersamaan sebagai upaya untuk meningkatkan efektifitas dari masing-masing agen kemoterapi (Saunders,

2007). Senyawa alami maupun sintesis dapat digunakan sebagai agen kokemoterapi (Sharma et al., 2004; Tyagi et al., 2004). Namun terdapat permasalahan terkait dengan penggunaan bahan aktif tersebut, selain efek samping, juga terdapat resistensi terhadap dosis senyawa sitotoksik (Kumaar et al., 2010).

Indonesia kaya akan sumber daya alam yang bisa kita dapatkan manfaatnya sebagai obat-obatan. Salah satunya adalah *Camellia Sinensis* yang biasa kita sebut teh. Teh merupakan bahan minuman yang bermanfaat, terbuat dari pucuk daun teh (*Camellia Sinensis*) melalui proses pengolahan tertentu. Selain memiliki aroma yang harum dan khas, teh memiliki banyak manfaat dalam kesehatan seperti obat anti kanker, menyegarkan tubuh dan menambah daya tahan tubuh. Tanaman ini dapat tumbuh dengan subur di daerah subtropis dan tropis seperti di Indonesia. Keadaan geografis Indonesia yang sebagian besar

terdiri dari pegunungan merupakan daerah yang cocok untuk pertumbuhan tanaman teh. Adapun provinsi-provinsi yang memproduksi teh paling banyak di Indonesia diantaranya Jawa Barat, Jawa Tengah, dan Sumatera Utara.

Teh hitam adalah teh yang dihasilkan dari proses fermentasi. Teh hitam ini dihasilkan dari proses pelayuan (withering) untuk menurunkan kadar air dan memudahkan penggulungan pada proses berikutnya. Pada proses penggulungan, daun teh disortasi untuk memisahkan daun yang berukuran besar dan kecil dengan tujuan agar proses fermentasi dalam ruang khusus yang dijaga kelembabannya (Febriyanthi, 2008). Belum ada uji coba yang menyebutkan bahwa teh hitam (*Camellia Sinensis*) dapat menghambat migrasi sel-sel kanker untuk menyebar ke jaringan di sekitarnya dan belum di temukan uji sitotoksik dengan nilai IC_{50} , oleh karena itu saya akan melakukan penelitian mengenai

“Uji Sitotoksik dan Anti Migrasi Ekstrak Daun Teh hitam terhadap Sel Kanker Kolon (WiDr) secara In Vitro”

Metode Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian kuantitatif eksperimental laboratorik dengan penelitian yang akan dilakukan secara in vitro menggunakan kultur sel kanker kolon (WiDr). Populasi diambil dari kultur sel kanker kolon (WiDr) yang sebelumnya dilakukan. Sel kolon (WiDr) adalah pertumbuhan tumor yang bersifat ganas dan merusak sel DNA dan jaringan sehat di sekitar kolon dan rektum. Proses terbentuknya kanker kolon ini melibatkan akumulasi dari defek genetik, modifikasi protein dan interaksi sel dengan matriks pada sel epitel kolon (Tedja dan Abdullah, 2013). Sampel terdiri dari ekstrak daun teh hitam (*Camellia Sinensis*) diperoleh dari sisa ekstrak yang telah di pakai dan di simpan dalam lemari

laboratorium Teknologi Farmasi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dan Sel kanker kolon (WiDr) yang didapatkan dari *Cancer Chemoprevention Research Center* Universitas Gadjah Mada. Uji Sitotoksik

Pada uji sitotoksik terdapat 6 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari control negative yaitu berisi sel kanker WiDr yang tidak di beri perlakuan, control positif yaitu berisi sel kanker WiDr yang di beri perlakuan doxorubicin, dan 4 perlakuan senyawa uji yang berisi sel kanker WiDr di campur ekstrak teh hitam (*Camellia Sinensis*). Pada tiap-tiap perlakuan control akan dilakukan tiga kali pengulangan. Sedangkan pada larutan uji dilakukan menggunakan dosis 80-500 µg/mL. Pada masing-masing perlakuan akan dilakukan 7 kali pengulangan. Uji migrasi pada penelitian ini akan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan pada tiap-tiap kelompok sel

kanker. Kelompok 1 adalah sel kanker sebagai kontrol negatif yaitu, sel kanker yang tidak diberi perlakuan apapun. Kelompok 2 adalah sel kanker yang diberikan ekstrak daun teh hitam (*Camellia Sinensis*) dengan dosis $1/8$ IC50, $1/4$ IC50, $1/3$ IC50, $1/2$ IC50, IC50, $3/2$ IC50. Kelompok 3 adalah kontrol positif yaitu berisi sel kanker WiDr yang di beri perlakuan $1/2$ doxorubicin. Lokasi dan Waktu Penelitian pada ekstrak daun teh hitam (*Camellia Sinensis*) diperoleh dari sisa ekstrak yang telah di pakai dan di simpan dalam lemari laboratorium Teknologi Farmasi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dan pada uji migrasi sel kanker colon (WiDr) dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan In Vitro Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Penelitian ini dilakukan menggunakan metode MTT Assay untuk uji sitotoksik sel kanker kolon WiDr. Metode ini biasa dilakukan untuk

melihat proses menghambat proliferasi sel kanker yang kemudian dibaca dengan menggunakan ELISA reader. Sedangkan untuk uji antimigrasi dilakukan dengan menggunakan metode *In Vitro Strach Assay* dengan alat ukur *software image pro-plus ImageJ* yang telah banyak digunakan sebagai *software* penghitung migrasi sel. Selain itu kultur sel kanker yang akan dilakukan, menggunakan media tanam sel kanker RPMI yang telah terstandarisasi. Alat yang akan digunakan untuk mengamati yaitu *mikroskop inverted* yang dilengkapi dengan kamera dan video. Waktu yang dibutuhkan untuk mengamati sel kanker adalah 24 jam untuk uji sitotoksik dan 48 jam untuk uji migrasi.

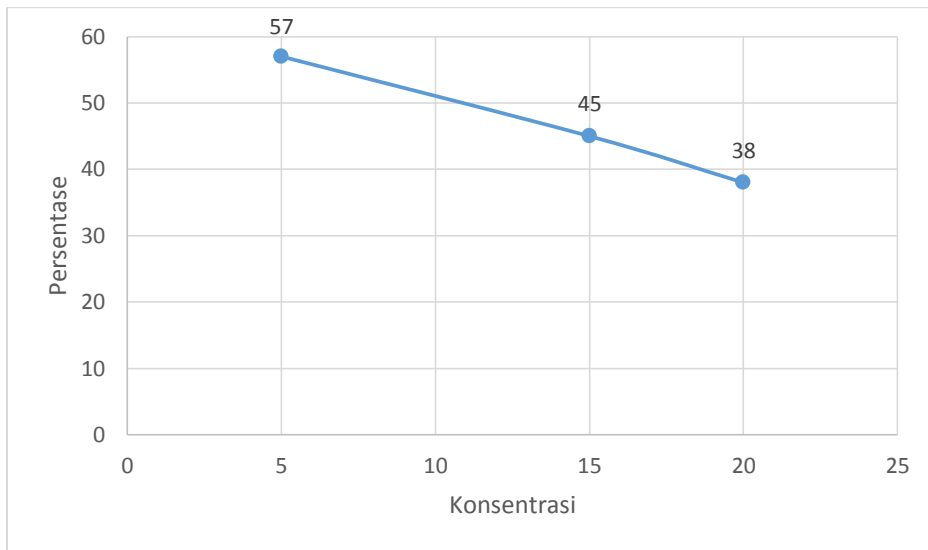
Hasil Penelitian

Pada penelitian ini Ekstrak kental yang diperoleh dari $1/2$ kg serbuk daun teh hitam (*Camellia Sinensis*) yang di ekstraksi berturut – turut dengan pelarut etanol adalah 10 g ekstrak kental. Sebelum di lakukan uji

sitotoksik, peneliti harus mempersiapkan sel terlebih dahulu. Sel harus confluence 80% jika terlalu rendah dikhawatirkan seluruh sel akan mati akibat perlakuan sampel bahkan dalam konsentrasi rendah absorbansi yang didapatkan tidak valid. Media yang digunakan adalah RPMI (Roswell Park Memorial Institute). Hasil uji sitotoksisitas menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak etanol daun teh hitam (*Camellia Sinensis*) memberikan pengaruh terhadap morfologi sel WiDr. Sel yang hidup tampak berbentuk panjang dan melekat di dasar sumuran, sedangkan sel yang mati berbentuk bulat kecil dan mengapung di sumuran. Pemberian ekstrak etanol daun teh hitam (*Camellia Sinensis*) terhadap sel WiDr juga memberikan hasil berupa penurunan sel hidup seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Pada perlakuan ekstrak dengan konsentrasi 80, 160, 320 dan 500 $\mu\text{g/ml}$, setelah perlakuan di dapatkan hasil

viabilitas sel (jumlah sel yang hidup berturut-turut) adalah 100%, 98%, 93%, dan 60%. Hal tersebut menunjukkan fenomena *dose dependent*. Semakin tinggi konsentrasi, semakin kecil jumlah sel yang hidup. Sebaliknya, semakin rendah konsentrasi, semakin tinggi jumlah sel yang hidup. Pada penelitian ini uji ekstrak etanol daun teh hitam (*Camellia Sinensis*) akan dibandingkan dengan kontrol negatif yang berisi hanya sel kanker WiDr dan kontrol positif doxorubicin sebagai obat standart anti kanker. Nilai IC_{50} dihitung dengan regresi linier menggunakan software SPSS 15.0. Berdasarkan analisis data konsentrasi ekstrak etanol daun teh hitam (*Camellia Sinensis*) dan viabilitas sel diperoleh nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi yang dibutuhkan untuk dapat menghambat pertumbuhan sel kanker kolon WiDr sebesar 50% dari total populasi.

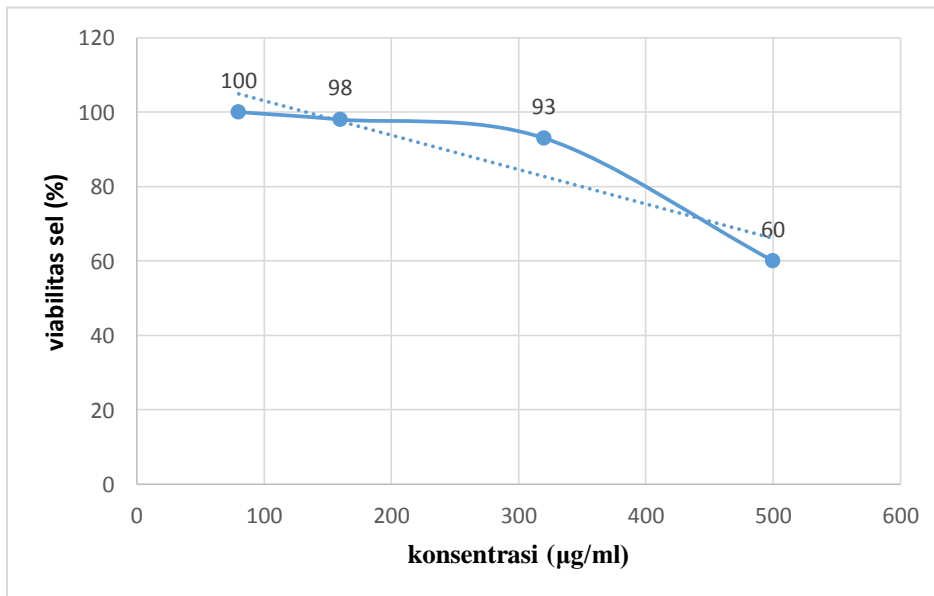
Doxorubicin



Setelah mendapat kurva baku yang grafik dimasukkan 50 sebagai nilai Y untuk mencari nilai IC_{50} doxorubicin

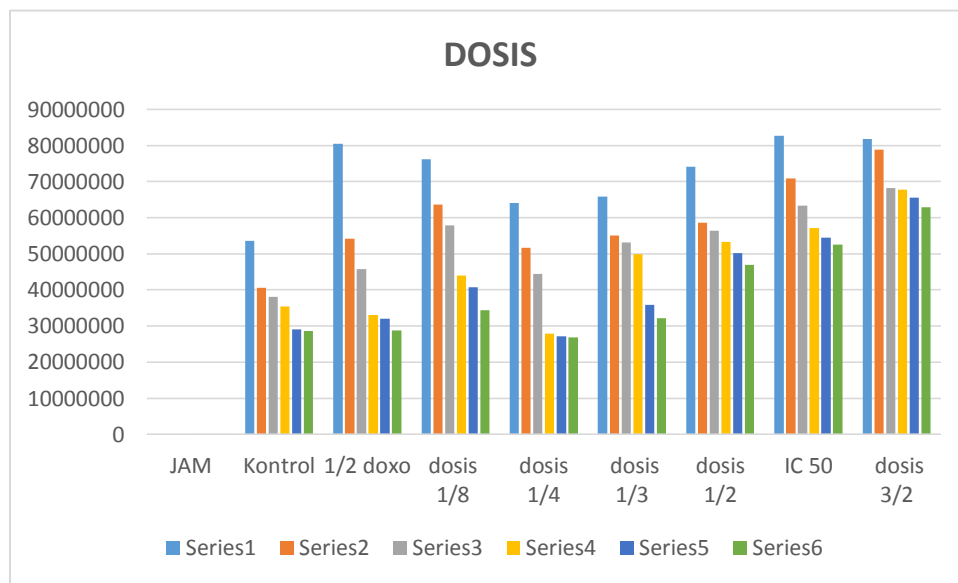
sebagai pembanding kontrol positif adalah 16,4700 nM.

EKSTRAK DAUN TEH HITAM (*CAMELLIA SINENSIS*)



Setelah mendapat kurva baku yang sesuai (Tabel 4.3) dimasukkan 50 sebagai nilai Y untuk mencari nilai

IC₅₀ ekstrak ethanol daun teh hitam adalah 669,53 µg/ml.



(Gambar 4.4)

Berdasarkan diagram batang (Gambar 4.4) luas area sel WiDr memiliki daya hambat migrasi pada kontrol sel dengan hasil penutupan yang lebih besar tiap per-jam jika dibandingkan ekstrak daun teh hitam

(*Camellia Sinensis*) dan 1/2 doxorubicin, dikarenakan kontrol sel tidak diberi perlakuan. Untuk dosis 1/8,1/4,1/3, 1/2 luas area sel WiDr memiliki daya hambat migrasi yang sangat kecil. Selanjutnya, untuk

dosis IC₅₀, 3/2 memiliki daya hambat yang lebih besar dikarenakan luas

area tiap jam yang sangat dekat.

Hasil Rerata Migrasi Sel WiDr yang di Induksi Ekstrak Teh Hitam

JAM	Kontrol	1/2 doxo	dosis 1/8	dosis 1/4	dosis 1/3	dosis 1/2	IC 50	dosis 3/2
0	53590157	80498675	76204488	64038551	65873833	74074857	82707417	81834556
24	40527018	54229258	63563757	51687406	55126724	58538129	70812016	78866329
29	38079093	45777277	57904452	44385039	53136529	56336135	63258692	68184439
36	35365262	33037855	44040949	27922005	49835058	53285489	57100383	67832808
42	29007458	31948434	40746225	27119656	35829209	50147267	54527972	65542830
47	28682550	28787589	34389611	26816840	32191850	46874636	52492401	62941589

(Tabel 4.4)

Pengolahan data tersebut menggunakan uji normalitas untuk melihat data tersebut normal atau tidak, karena data tersebut kurang dari 50 maka akan uji normalitas menggunakan Shapiro wilk. Setelah di uji normalitas hasil menunjukkan data tersebut signifikan karena $<0,05$.

Uji *One way ANOVA* dilakukan untuk membandingkan perbedaan pada

masing-masing kelompok. Hasil uji *One way ANOVA* pada pemeriksaan jam ke 0, 24, 36, 42, dan 47 menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p=0,000$) kemudian dilanjutkan dengan menggunakan uji *Post Hoc Duncan* untuk melihat perbedaan nyata antar perlakuan.

Pembahasan

Uji sitotoksitas ekstrak etanol daun teh hitam (*Camellia Sinensis*) terhadap sel kanker kolon WiDr dilakukan dengan menggunakan metode MTT. Penggunaan metode uji MTT dikarenakan metode ini sensitif, kuantitatif, dan terpercaya yang digunakan untuk mengukur aktivitas metabolit kultur sel *in vitro* berdasarkan reaksi pembentukan Kristal formazan yang berwarna ungu. Prinsip dari metode ini adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT oleh enzim suksinat tetrazolium reduktase yang terdapat pada mitokondria sel hidup membentuk kristal formazan yang berwarna ungu dan tidak larut dalam air. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Semakin tinggi intensitas warna ungu, semakin banyak jumlah sel yang hidup dan semakin rendah intensitas warna ungu, semakin sedikit pula jumlah sel yang hidup (Mosmann, 2012).

Metode *Scratch Wound Healing* merupakan metode *in vitro* untuk pengamatan migrasi sel yang sederhana dan mudah dilakukan (CCRC, 2015). Prinsip dari metode ini adalah membuat celah buatah (*scratch*) yang telah dibuat (Wang et al, 2012). Kemudian dilakuka pengambilan gambar pada waktu awal dan beberapa rentang waktu tertentu dan membandingkan gambar untuk menentukan nilai migrasi (Haryanti, *et al.*, 2017). Pengujian migrasi sel dilakukan dengan menggunakan metode *in vitro scratch assay* yang diamati pada jam ke 24, 29, 36, 42, dan 47 setelah perlakuan. Dosis ekstrak ethanol daun teh hitam yang digunakan adalah $1/8$ IC50, $1/4$ IC50, $1/3$ IC50, $1/2$ IC50, IC50, $3/2$ IC50 kemudian dibandingkan dengan kontrol sel dan doxorubicin sebagai obat standar anti kanker. Analisis persentase migrasi dilakukan dengan menggunakan program *ImageJ* berdasarkan perbedaan jarak goresan awal dengan jarak area yang kosong. Persen

penutupan tiap perlakuan pada jam ke 24, 29, 36, 42, dan 47 kemudian dibandingkan dengan control sel dan doxorubicin. Peneliti menggunakan metode *scratch assay* untuk mengetahui aktivitas migrasi sel secara *in vitro* karena dianggap dapat menyerupai pemeriksaan migrasi sel pada *in vivo* serta memudahkan dalam mengukur berbagai parameter migrasi seperti kecepatan, polaritas, dan aktivitas signaling intraseluler (Firdaus, 2016) dan menggunakan objek uji berupa kultur sel kanker kolon WiDr. Beberapa penelitian yang dilakukan untuk mengetahui aktivitas penghambatan migrasi senyawa-senyawa tertentu pada beberapa dosis ekstrak. Dari senyawa-senyawa yang telah diuji tersebut, beberapa diantaranya adalah senyawa dari golongan flavonoid. Flavonoid memiliki aktivitas antikanker. Sifat anti kanker yang kuat terlihat menghambat migrasi sel (Safdria, et al., 2014). Flavonoid dapat menghambat protein tirosin kinase yang memiliki potensi dalam

penghambatan migrasi sel angiogenesis (Kumar, 2013).

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun teh hitam (*Camellia Sinensis*) memiliki potensi sebagai agen komprevensi dilihat dari aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker kolon WiDr dengan nilai IC_{50} sebesar 669,53 $\mu\text{g/ml}$.
2. Pemberian Ekstrak etanol teh hitam (*Camellia Sinensis*) memiliki potensi menghambat migrasi sel kanker kolon WiDr pada jam ke 24, 29, 36, 42, dan 47 di dosis IC_{50} dan $3/2 IC_{50}$.

Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan peneliti antara lain :

1. Melakukan penelitian lebih lanjut mengenai peran ekstrak daun teh hitam (*Camellia*

- Sinensis*) terhadap ekspresi protein (MMP-9) pada sel kanker kolon WiDr.
2. Melakukan penelitian mengenai uji sitotoksitas ekstrak daun teh hitam (*Camellia Sinensis*) terhadap sel kanker payudara (MCF-7, 4T1, T47D).
 3. Melakukan penelitian mengenai uji migrasi ekstrak daun teh hitam (*Camellia Sinensis*) terhadap sel kanker payudara (MCF-7, 4T1, T47D).

Daftar rujukan

- Ariati, V. (2013). Uji Sitotoksitas dan Apoptosis Ekstrak Kloroform Daun Kayu Kuning (*Arcangelisia Flava* L. Merr) Terhadap Kultur Sel Kanker Kolon WiDr In Vitro.
- Arnas, V. (2009). Pengaruh Pemberian Seduhan Teh Hitam (*Camellia Sinensis*) dengan Dosis Bertingkat Terhadap Proliferasi Limfosit Mencit BALB/c yang Diinokulasi *Salmonella Typhimurium*.
- Bruce W.R, G. A. (2000). Possible Mechanism Relating Diet and Risk of Colon Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention.
- Centre, C. C. (2009). Protokol Kultur Sel Yogyakarta. 1-7.
- Centre, C. C. (2015). Pengamatan Migrasi Dengan Scratch Wound Healing Yogyakarta. 1-4.
- Emma Rahmadania, A. A. (2015). Distribusi Pola Diet Pasien Kanker Kolorektal di RSUD Ulin Banjarmasin.
- Furqan D, S. H. (2015). Combinational Effect of Ethylacetate Extract of *Princia Fel-terrae* Lour and Doxorubicin on T47D Breast Cancer Cells. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 73-76.
- Geiger, T. P. (2009). Metastasis Mechanism *Biochimica and Biophysica* . 293-308.
- Handoko F, F. M. (2011). Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci (*Boesen Bergia Pandurata*) terhadap Sel Kanker Serviks Hela dan Sel Kanker Kolon WiDr. *Majalah Kesehatan Pharma Medika*.

- Hasanah, U. (2018). Aktivitas Penghambatan Migrasi Sel Kanker Payudara 4T1 dengan pemberian Ekstrak Etilasetat Herba Poguntanto (*Pricria fel-Ferrae* Lour).
- INCA. (2017). Klasifikasi Teh Hijau dan Teh Hitam Tambi-Pagilaran Berdasarkan Pola Aroma dengan Metode Principal Component Analisis (PCA) menggunakan E-NOSE.
- Lelono, D. (2017). Pengembangan Instrumenrasi Sistem ELEktronik Nose Untuk Uji Teh Hitam Lokal.
- M.S, H. (2015). Uji Sitotoksisitas dan Apoptosis Ekstrak Ethanol Daun Kuning (*Arcangelisia Flava* L. Merr) terhadap Kultur Sel Kanker Kolon WiDr In Vitro.
- Prayong P, B. S. (2008). Cytotoxic Activity Screening of Some Indigenous Thai Plants. *Fitoterapia*, 598-601.
- Reno Budiman, M. N. (2012). Peranan Faktor Transkripsi Hath 1 Dalam Diferensiasi Karsinogenesis Kolorektal.
- RI, D. K. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. *Cetakan Pertama Jakarta*, 17.
- RI, D. K. (2013). Panduan Memperingati Hari Kanker Sedunia . 13.
- S, K. (2006). Inhibitory Effect of Polyphenols on P-Glycoprotein-Mediated Transport Biological and Pharmaceutical Bulletin. 1-6.
- Safadari, Y. K. (2015). Natural Inhibitors Of P13K/AKT Signaling in Breast Cancer Emphasis on New-Discovered Molecular Mechanism. 1-10.
- Wahyudi, A. I. (2011). Pengaruh Ekstrak Keledai (*Glycine Max* (L). Merrill) Terhadap Apoptosis Sel Kanker Kolon Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegias* Strain Wister) Yang di Induksi DMBA (7,12-Dimethylbenza Anthracene). *Epidemiologi Biostatistik Kependudukan*.
- Yamaguchi H, C. J. (2007). Regulation of the Actin Cytoskeleton In Cancer Cell Migration and Inovation *Biochimica et Biophysica Acta*. 642-652.

