



SITOTOKSISITAS DAN SELEKTIVITAS FRAKSI KAYU BATANG SIMPUR AIR (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA

CYTOTOXICITY AND FRACTION SELECTIVITY SIMPUR AIR WOOD (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli) AGAINST BREAST CANCER CELLS

Eka Nurdiani, Masriani*, Rahmat Rasmawan, Rini Muharini, Rody Putra Sartika

Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Tanjungpura,
Jl Profesor Dokter H. Hadari Nawawi, Pontianak 78116

*Corresponding author: masriani@fkip.untan.ac.id

Naskah Diterima: 28 Februari 2023; Direvisi: 1 Mei 2023; Disetujui: 20 Mei 2023

Abstrak

Kanker payudara didiagnosis menjadi penyebab utama kematian pada wanita di seluruh dunia. Beberapa penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa tanaman simpur air (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli) dapat menjadi agen antikanker yang potensial. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan sitotoksitas dan selektivitas dari fraksi kayu batang simpur air terhadap sel kanker payudara T47D, MCF-7, dan 4T1. Metode penelitian adalah eksperimental laboratorium dan uji aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara dilakukan secara *in vitro* menggunakan sel kanker payudara T47D, MCF-7, dan 4T1. Proses ekstraksi kayu batang simpur air menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol, selanjutnya difraksinasi dengan pelarut n-heksana dan etil asetat secara berturut-turut dan diuji aktivitas sitotoksiknya dengan metode MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolium bromida] *assay*. Hasil yang diperoleh, yaitu fraksi n-heksana menunjukkan sifat sitotoksik sedang pada sel kanker payudara T47D, MCF-7, dan 4T1 dengan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar $65,27 \pm 26,17$; $66,98 \pm 0,97$; dan $69,23 \pm 6,25 \mu\text{L/mL}$ dengan $IS > 2$. Dengan demikian, fraksi n-heksana kayu batang simpur berpotensi dikembangkan sebagai antikanker baru.

Kata Kunci: *Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli; Kanker payudara; MTT *assay*; Sitotoksik

Abstract

Breast cancer is diagnosed as the leading cause of death in women worldwide. Several previous studies have proven that the simpur air plant (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli) can be a potential anticancer agent. This study aims to determine the cytotoxicity and selectivity of the simpur air stem wood fraction against T47D, MCF-7, and 4T1 breast cancer cells. This research is laboratory experimental and the anticancer activity test against breast cancer cells was carried out *in vitro*. The extraction process for Simpur Air wood stems uses the maceration method with methanol solvent, then fractionated with n-hexane and ethyl acetate solvents successively and tested for cytotoxic activity using the MTT method [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide] *assay*. The results obtained, namely the n-hexane fraction showed moderate cytotoxic properties on T47D, MCF-7, and 4T1 breast cancer cells with IC_{50} values of 65.27 ± 26.17 respectively; 66.98 ± 0.97 ; and $69.23 \pm 6.25 \mu\text{L/mL}$ with $IS > 2$. Thus, the n-hexane fraction of simpur stem wood has the potential to be developed as a new anticancer.

Keywords: Breast cancer; Cytotoxic; *Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli; MTT *assay*

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v17i1.31299>

PENDAHULUAN

Penyakit kanker ditandai dengan pertumbuhan sel abnormal karena kesalahan sistem pembelahan ditingkat sel. Pertumbuhan sel berlangsung secara terus-menerus, tidak terkendali, mampu menginvasi jaringan di dekatnya, dan bermetastasis ke jaringan atau organ yang lebih jauh (Otto, 2015; Aisy et al., 2022). Kanker menjadi salah satu penyakit yang paling banyak menyebabkan kematian di seluruh dunia (Bukowski et al., 2020). Kanker payudara adalah jenis kanker yang diketahui paling banyak terjadi pada wanita (Khorsandi et al., 2017). Berdasarkan data GLOBOCAN 2020, di seluruh dunia kanker payudara memiliki prevalensi tertinggi dengan total insiden mencapai 2.261.419 dan rata-rata kematian sebanyak 684.996 (GLOBOCAN, 2020a). Di Indonesia, kanker payudara juga menempati prevalensi tertinggi dengan total insiden mencapai 65.858 dan rata-rata kematian sebanyak 22.430 (GLOBOCAN, 2020b). Berdasarkan data tersebut, kanker payudara harus menjadi perhatian serius di bidang kesehatan karena angka morbiditas dan mortalitasnya sangat tinggi.

Kemoterapi menjadi metode penyembuhan kanker yang paling umum digunakan (Bukowski et al., 2020). Kemoterapi dianggap pengobatan sistematis karena obat langsung diberikan melalui pembuluh darah sehingga dapat membunuh sel kanker yang telah bermetastase atau menyebar ke jaringan lainnya (Pinsolle et al., 2019; Conti et al., 2013). Namun permasalahan utama dalam penanganan kanker dengan kemoterapi adalah timbulnya efek samping yang serius terhadap psikologis dan fisik pasien (Wardani & Ambarwati, 2017). Selain memberikan efek samping yang tidak diinginkan pada sel-sel normal, kemoterapi juga menimbulkan masalah resistensi obat (Khorsandi et al., 2017). Berbagai efek samping yang muncul dari kemoterapi dikarenakan rendahnya selektivitas dari agen kemoterapi tersebut (Haruna et al., 2018).

Pengobatan dari bahan alam terus dilakukan dalam usaha untuk menemukan bahan baku obat antikanker yang ideal (Susanty et al., 2018). Bahan aktif alami dari tanaman sangat potensial untuk dijadikan sebagai obat antikanker karena lebih sederhana, lebih aman, ramah lingkungan, berbiaya rendah, cepat, dan kurang toksik dibandingkan dengan metode pengobatan konvensional seperti kemoterapi. Fitokimia bersifat selektif dalam fungsinya dan bekerja secara spesifik pada sel kanker tanpa mempengaruhi sel normal (Iqbal et al., 2017). Penelitian lain menunjukkan bahwa banyak metabolit sekunder dari tanaman memiliki sifat proapoptosis sehingga sangat berpotensi digunakan untuk mencegah dan mengobati kanker (Jin et al., 2012; Cao et al., 2013).

Dillenia suffruticosa (Griff.) Martelli atau yang dikenal dengan simpur air merupakan tanaman asli Asia yang tumbuh di hutan tropis dari Malaysia, Indonesia, Filipina, dan Brunei Darussalam. Di Indonesia, tanaman simpur air banyak ditemukan di wilayah Sumatra dan Kalimantan (Syafriana et al., 2021). Suku Dayak di Kabupaten Bengkayang, Kalimantan Barat biasanya menggunakan rebusan daun muda simpur air untuk mengobati batuk atau berak berdarah (Gunadi et al., 2017). Masyarakat di pulau Bangka Belitung juga sering memanfaatkan air rebusan daun simpur air untuk mengobati diabetes melitus (Yuningtyas et al., 2018) dan sebagai antidiare (Syafriana et al., 2021). Beberapa penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa simpur air dapat menjadi bahan antikanker yang potensial. Ekstak metanol buah dan daun simpur air menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker HeLa dan HT29. Ekstrak etil asetat dan diklorometana akar simpur air dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik yang signifikan terhadap sel kanker HeLa, CaOV3, MCF-7, MD-MB-231, A549, dan HT29 (Armania et al., 2013a). Studi *in vivo* oleh Yazan et al. (2015) juga melaporkan bahwa pemberian secara oral ekstrak air akar simpur air telah berhasil mengurangi kanker payudara yang diinduksi pada tikus dan juga menghambat metastasis kanker ke hati.

Penelitian terhadap beberapa bagian tanaman simpur air telah dilaporkan adanya keberadaan senyawa metabolit sekunder. Penelitian terhadap bagian kayu batang simpur air berasal dari Kalimantan Barat, Indonesia yang menunjukkan adanya kandungan senyawa yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, steroid dan terpenoid. Analisis korelasi diketahui bahwa aktivitas antioksidan yang kuat dari ekstrak kayu batang simpur air disebabkan oleh kandungan fenoliknya (Muharini et al., 2021). Banyak penelitian telah mengungkapkan bahwa agen antioksidan ditemukan untuk menampilkan sifat farmakologis lain, seperti antiinflamasi (Chen et al., 2019), sitotoksitas (Gacche & Jadhav, 2012) atau antikanker (Grigalius & Petrikaite, 2017). Penelitian antikanker

beberapa bagian tanaman simpur telah dilakukan, namun penelitian bagian kayu batang simpur terhadap kanker payudara T47D, MCF-7, dan 4T1 belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana sitotoksitas dan selektivitas fraksi kayu batang simpur air (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli) terhadap sel kanker payudara T47D, MCF-7, dan 4T1. Penelitian ini sangat penting dilakukan sebagai upaya menemukan dan mengembangkan obat antikanker baru yang aman, selektif, dan sensitif. Dengan demikian, permasalahan terkait dengan kanker yang prevalensinya masih tinggi, timbulnya resistensi terhadap obat antikanker, dan keamanan serta selektivitas yang rendah dapat diatasi.

MATERIAL DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk penelitian ini adalah neraca analitik (Sartorius, Germany), *water bath* (Mettler, Germany), *microtube* 1,5 mL (Eppendorf, Germany), *microplate* 96 sumuran (Iwaki, Japan), *tissue culture flask* (Iwaki, Japan), inkubator CO₂ (Innova, USA), inkubator (Heraeus, Germany), *conical tube* 15 mL (Iwaki, Japan), *tissue culture dish* diameter 10 cm (Costar, USA), *yellow tip* dan *blue tip* (Axygen, China), haemositometer (Neubauer, Germany), tangki nitrogen cair (ThermoFisher, Germany), *laminar air flow* (LAF) (Faster, Italy), autoklaf (Hirayama, Japan), mikroskop *inverted* (Olympus, Japan), mikropipet (Eppendorf, Germany), *ELISA reader*, *sentrifuge* (Hettich, Jerman), *cryogenic tube* (Costar, USA), kulkas 4 °C dan -20 °C (Toshiba, Japan), dan *freezer* -80 °C (ThermoFisher, Germany).

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah kayu batang simpur air yang diambil di hutan sekitar Jalan Tanjung Raya 2 Kota Pontianak Kalimantan Barat, metanol (Merck, Jerman), n-heksana, etil asetat, sel kanker payudara yaitu T47D, MCF-7, dan 4T1 serta sel normal Vero yang diperoleh dari laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, media RPMI 1640 (Gibco, USA), HEPES (Gibco, USA), M-199 (Gibco, USA), akuabidestilata, *fetal bovine serum* (FBS) (Gibco, USA), DMEM (Gibco, USA), fungizon (Gibco, USA), penisilin-streptomisin (Gibco, USA), tripsin-EDTA 0,25% (Gibco, USA), MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolium bromida] (Sigma-Aldrich, USA), *phosphat buffer saline* (PBS) (Sigma-Aldrich, USA), *Sodium dodecyl sulphate* (SDS) (Merck, Jerman), *dimethyl sulphoxide* (DMSO) (Merck, Jerman).

Preparasi dan Ekstraksi Sampel dengan Pelarut Metanol

Sampel kayu batang simpur air yang diperoleh dari hutan sekitar Jalan Tanjung Raya 2 Kota Pontianak Kalimantan Barat. Kepastian jenis tumbuhan ditentukan oleh tim ahli dari Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Cibinong, Indonesia dengan nomor 2003/IPH.1.01/If.07/VIII/2018. Sampel yang telah dibersihkan dikeringanginkan pada suhu ruang. Sampel kering dijadikan serbuk dengan mesin penyerbuk. Serbuk kayu batang simpur air kering sebanyak 500 g dimaserasi dengan metanol 96% selama 3 hari pada suhu ruang dan pengadukan dilakukan setiap 1 x 24 jam. Ekstrak metanol dipekatkan dengan *water bath* pada suhu 40 °C.

Fraksinasi dengan Pelarut n-Heksana dan Etil Asetat

Ekstrak metanol difraksinasi secara berurutan menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat. Pertama-tama ekstrak metanol difraksinasi dengan n-heksana, sehingga didapatkan fraksi n-heksana dan ekstrak metanol kembali. Selanjutnya, ekstrak metanol tersebut difraksinasi lagi dengan etil asetat, sehingga diakhir didapatkan fraksi etil asetat dan fraksi metanol. Setelah itu setiap fraksi dipekatkan dengan *water bath* pada suhu 40 °C sampai tidak ada lagi cairan dalam wadah.

Uji Sitotoksitas Ekstrak dan Fraksi terhadap Sel Kanker Payudara

Uji sitotoksitas ekstrak dan fraksi kayu batang simpur air terhadap sel kanker payudara T47D, MCF-7, dan 4T1 serta sel normal Vero dilakukan dengan metode MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolium bromida] *assay*. Sebanyak 100 µL suspensi sel dengan kepadatan 1×10^4 sel/sumuran dimasukkan ke dalam *96-well* microplate. Sel diinkubasi pada inkubator CO₂ 5% dengan

suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah 24 jam media sel dibuang kemudian diganti dengan media baru yang berisi larutan sampel dengan konsentrasi 250; 125; 62,5; dan 31,25 µg/mL untuk sel T47D, 4T1, dan Vero dan konsentrasi 125; 62,5; 31,25; dan 15,625 µg/mL untuk sel MCF-7. Setelah diinkubasi selama 24 jam, sel dicuci dengan PBS kemudian ditambahkan 100 µL media baru dan 10 µL larutan MTT dengan konsentrasi 5 mg/mL. Sel diinkubasi selama 4 jam kemudian ditambahkan 100 µL larutan *stopper* SDS 10% dalam HCl 0,01 N untuk melarutkan formazan. Sel dibiarkan semalam pada suhu kamar dalam ruang gelap. Absorbansi sel diukur dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang 595 nm. Persen sel yang hidup ditentukan dengan rumus persen viabilitas sel, yaitu $A_{\text{perlakuan}} - A_{\text{kontrol}} / A_{\text{kontrol}} \times 100\%$.

Analisis Data

Konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% populasi pertumbuhan sel kanker atau IC_{50} dihitung menggunakan analisis probit dengan program SPSS versi 25 dan Microsoft Excel 2010. Tingkatan sitotoksitas dapat dikelompokkan menjadi empat kategori berdasarkan *American National Cancer Institute* yaitu kategori sangat toksik jika nilai $IC_{50} \leq 20$ µg/mL, kategori sitotoksik cukup aktif atau moderat jika nilai IC_{50} 21–200 µg/mL, kategori sitotoksik lemah jika nilai IC_{50} 201–500 µg/mL dan kategori tidak toksik jika nilai $IC_{50} \geq 500$ µg/mL (Abdel-Hameed et al., 2012). Semakin kecil nilai IC_{50} yang dihasilkan oleh ekstrak atau fraksi kayu batang simpur air maka semakin tinggi sifat sitotoksiknya.

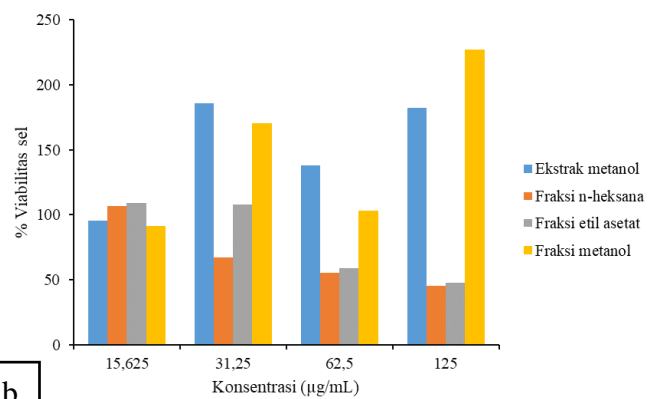
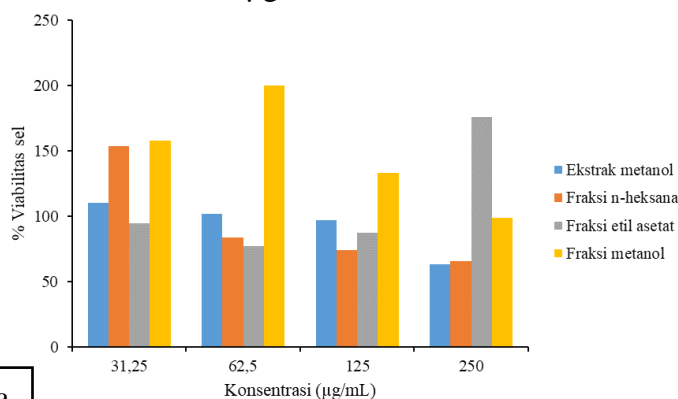
Nilai IC_{50} yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk menghitung indeks selektivitas (IS) dari ekstrak dan fraksi kayu batang simpur air. IS dihitung dengan cara nilai IC_{50} sel normal dibagi dengan nilai IC_{50} sel kanker. Ekstrak dan fraksi dikatakan mempunyai selektivitas yang tinggi apabila nilai $IS \geq 2$, dan dikatakan kurang selektif apabila nilai $IS \leq 2$ (Demirgan et al., 2016). Rumus IS adalah IC_{50} sel normal/ IC_{50} sel kanker.

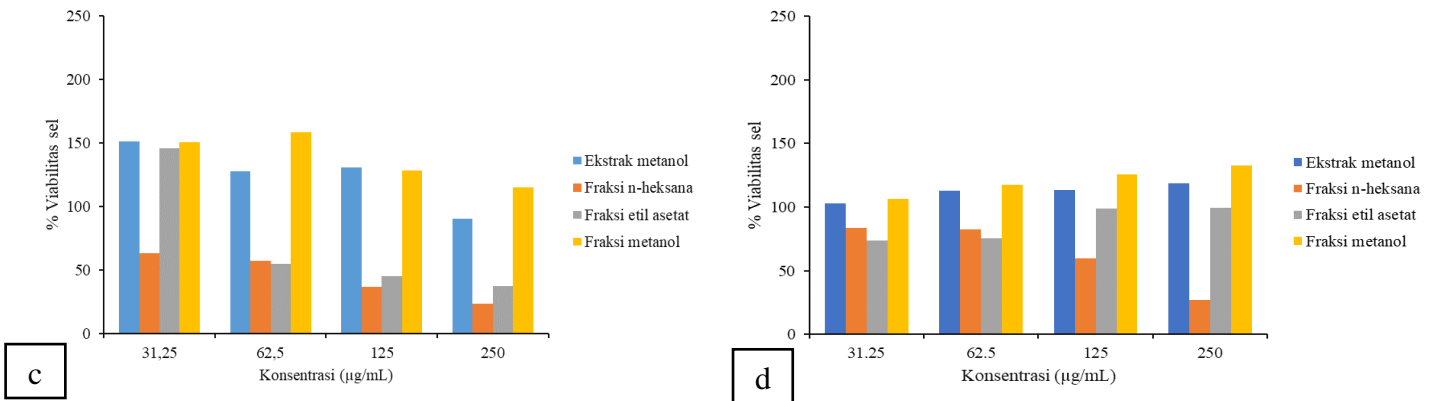
HASIL

Sitotoksitas Ekstrak dan Fraksi terhadap Sel Kanker Payudara

Persentase viabilitas sel kanker T47D, MCF-7, 4T1, dan sel normal Vero menunjukkan perbedaan akibat perlakuan dengan berbagai konsentrasi ekstrak dan fraksi kayu batang simpur air (Gambar 1). Secara umum terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak dan fraksi yang digunakan, viabilitas sel semakin rendah. Hal ini mengindikasikan terdapat hubungan antara aktivitas dengan konsentrasi. Dari semua sampel uji, fraksi n-heksana memiliki persentase viabilitas sel yang paling rendah pada sel kanker maupun sel normal. Fraksi n-heksana menunjukkan kemampuan menghambat sel paling tinggi pada konsentrasi 250 µg/mL terhadap sel kanker 4T1 yang ditunjukkan dengan persentase viabilitas paling rendah, yaitu 23,77%.

Nilai IC_{50} yang merupakan indikator sitotoksitas ekstrak dan fraksi kayu batang simpur air pada sel kanker payudara T47D, MCF-7, dan 4T1, serta sel normal Vero dapat dilihat pada Tabel 1. Pada sel kanker, fraksi n-heksana memiliki nilai IC_{50} paling rendah dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi lain pada semua sel kanker uji, sedangkan pada sel normal Vero ekstrak metanol yang paling rendah. Sel T47D merupakan sel kanker yang paling sensitif terhadap sampel uji dengan nilai IC_{50} , yaitu $65,27 \pm 26,17$ µg/mL.





Gambar 1. Viabilitas sel kanker T47D (a), MCF-7 (b), 4T1 (c), Vero (d) setelah pemberian variasi konsentrasi ekstrak dan fraksi tanaman simpur air (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli)

Tabel 1. Sitotoksitas ekstrak dan fraksi kayu batang simpur air (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli) terhadap sel kanker payudara dan sel normal

Ekstrak/fraksi	IC ₅₀ ± SD (µg/mL)			
	Cell T47D	Cell MCF-7	Cell 4T1	Cell Vero
Ekstrak metanol	315,92 ± 60,46	>500	384,56 ± 144,43	0,75 ± 1,30
Fraksi n-heksana	65,27 ± 26,17	66,98 ± 0,97	69,23 ± 6,25	144,78 ± 13,96
Fraksi etil asetat	105,14 ± 54,19	87,77 ± 2,21	73,54 ± 6,46	16,19 ± 2,30
Fraksi metanol	146,81 ± 42,85	>500	>500	7,50 ± 7,35

Keterangan: Nilai IC₅₀ adalah rata-rata dari 3 kali ulangan ± SD

Selektivitas Ekstrak dan Fraksi terhadap Sel Kanker Payudara

Indeks selektivitas ekstrak dan fraksi kayu batang simpur air pada sel kanker payudara T47D, MCF-7, dan 4T1 disajikan pada Tabel 2. Ekstrak metanol, fraksi etil asetat, dan metanol tidak selektif terhadap sel kanker payudara yang digunakan karena nilai IS <2. Hanya fraksi n-heksana yang selektif terhadap sel kanker payudara dengan nilai IS >2.

Tabel 2. Selektivitas ekstrak dan fraksi kayu batang simpur air (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli) terhadap sel kanker payudara

Ekstrak/fraksi	IS		
	Cell T47D	Cell MCF-7	Cell 4T1
Ekstrak metanol	td	td	td
Fraksi n-heksana	2,22	2,16	2,09
Fraksi etil asetat	0,15	0,18	0,22
Fraksi metanol	0,05	td	td

Keterangan: td= tidak dapat ditentukan, IS= indeks selektivitas, selektif jika IS >2 (Demirgan et al., 2016)

PEMBAHASAN

Sitotoksitas Ekstrak dan Fraksi terhadap Sel Kanker Payudara

Beberapa tumbuhan obat telah dikenal secara luas sebagai sumber senyawa antikanker. simpur air (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli) merupakan salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai sumber senyawa antikanker baru. Penelitian ini menguji aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi kayu batang simpur air terhadap sel kanker payudara T47D, MCF-7, dan 4T1 menggunakan metode uji MTT. Metode MTT merupakan sistem pengujian secara kolorimetri berdasarkan reduksi garam tetrazolium MTT (kuning) menjadi kristal formazan (biru keunguan) oleh enzim suksinat tetrazolium reduktase dalam mitokondria sel hidup. Intensitas warna ungu tersebut menyatakan banyaknya sel aktif yang hidup, karena enzim mitokondria pada sel aktif memetabolisme garam tetrazolium sehingga terjadi pemutusan cincin tetrazolium oleh enzim dehidrogenase yang mengakibatkan

tetrazolium tersebut berubah menjadi formazan (Suhendi et al., 2013). Intensitas warna ungu yang terbentuk sebanding dengan jumlah sel hidup, dimana semakin besar intensitas warna ungu, maka artinya semakin banyak jumlah sel hidup (Arifah et al., 2015).

Hasil pengujian menunjukkan perbedaan persentase viabilitas sel kanker dan sel normal dengan adanya variasi konsentrasi ekstrak dan fraksi yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, viabilitas sel semakin rendah. Viabilitas sel yang rendah menunjukkan kemampuan penghambatan yang tinggi. Semakin rendah persentase viabilitas sel yang dihasilkan pada sel kanker T47D, MCF-7, dan 4T1 menandakan bahwa ekstrak atau fraksi kayu batang simpur air yang digunakan semakin baik dalam membunuh sel kanker. Akan tetapi, jika semakin rendah persentase viabilitas sel pada sel Vero, menandakan bahwa ekstrak atau fraksi tersebut tidak dapat menjadi calon obat antikanker yang baik karena dapat menimbulkan efek samping pada sel normal. Fraksi n-heksana menunjukkan viabilitas paling rendah pada sel kanker maupun sel normal dibandingkan dengan sampel uji yang lain. Secara umum ditemukan bahwa pemberian ekstrak dan fraksi kayu batang simpur menunjukkan viabilitas sel kanker yang lebih rendah dibandingkan dengan sel normal. Namun, berdasarkan hasil analisis juga ditemukan fenomena sebaliknya, yaitu viabilitas sel kanker lebih tinggi dibandingkan dengan sel normal setelah pemberian ekstrak kayu batang simpur. Fenomena ini dapat disebabkan oleh sensitivitas sel normal terhadap senyawa bioaktif yang terkandung dalam tumbuhan simpur lebih tinggi dibandingkan dengan sel kanker. Selain itu, perbedaan viabilitas antara sel kanker dengan sel normal juga dapat disebabkan oleh perbedaan interaksi antara protein sel dengan senyawa bioaktif pada tumbuhan simpur. Perbedaan ini menyebabkan perbedaan respon sel terhadap senyawa bioaktif yang menyebabkan perbedaan viabilitas sel. Perbedaan dosis ekstrak juga dapat memberikan pengaruh terhadap perbedaan viabilitas sel kanker dengan sel normal. Semakin tinggi dosis ekstrak, maka senyawa bioaktif juga semakin tinggi yang dapat berakibat pada tingkat kematian sel yang lebih tinggi.

Kemampuan suatu bahan menghambat 50% sel kanker dinyatakan dengan nilai IC_{50} dan menjadi parameter sifat sitotoksik bahan tersebut. Berdasarkan nilai IC_{50} , ekstrak dan fraksi kayu batang simpur air memiliki sifat sitotoksik. *American National Cancer Institute* mengkategorikan sifat sitotoksik suatu bahan berdasarkan nilai IC_{50} . Suatu bahan dikatakan memiliki sitotoksitas sangat kuat jika nilai $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/mL}$, moderat jika nilai $IC_{50} 21-200 \mu\text{g/mL}$, lemah jika nilai $IC_{50} 201-500 \mu\text{g/mL}$, dan tidak toksik jika nilai $IC_{50} \geq 500 \mu\text{g/mL}$ (Abdel-Hameed et al., 2012). Berdasarkan kategorisasi tersebut diketahui bahwa ekstrak metanol memiliki sifat sitotoksik lemah terhadap sel T47D dan 4T1, serta tidak toksik terhadap sel MCF-7. Fraksi n-heksana dan etil asetat memiliki sifat sitotoksik moderat terhadap sel T47D, MCF-7, dan 4T1. Fraksi metanol memiliki aktivitas sitotoksik moderat terhadap sel T47D, namun tidak toksik terhadap sel MCF-7 dan 4T1. Pada sel normal Vero, ekstrak metanol, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol bersifat sangat toksik, sedangkan fraksi n-heksana memiliki sifat sitotoksik moderat. Jika mengacu pada Widyanto et al. (2020), fraksi n-heksana dan etil asetat berpotensi sebagai agen antikanker pada seluruh sel kanker payudara uji karena memiliki nilai $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$, kecuali fraksi etil asetat tidak aktif terhadap sel T47D.

Sifat sitotoksik yang ditunjukkan oleh ekstrak dan fraksi kayu batang simpur air disebabkan oleh kandungan metabolit sekundernya. Hal ini didukung oleh Widyanto et al. (2020), bahwa aktivitas sitotoksik dipengaruhi oleh kandungan fitokimia yang terkandung dalam sampel yang diuji dan reaksinya terhadap sel kanker tersebut. Hal ini juga sejalan dengan Armania et al. (2013a), yang menyatakan bahwa adanya senyawa aktif seperti saponin, triterpenoid, sterol, dan senyawa polifenol dalam ekstrak tanaman simpur air berkontribusi pada aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker. Perbedaan nilai IC_{50} dari ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol diprediksi akibat adanya perbedaan distribusi metabolit sekundernya yang terjadi karena perbedaan kepolaran ekstrak dari masing-masing fraksi. Kondisi ini memungkinkan terjadinya interaksi sinergis dan antagonis senyawa-senyawa yang terkandung, sehingga mempengaruhi aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker (Prasetya et al., 2021).

Penelitian terdahulu melaporkan bahwa kulit batang simpur air mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, steroid, dan terpenoid (Muharini et al., 2021). Senyawa yang diyakini berkontribusi terhadap sifat sitotoksik yang tinggi dari fraksi n-heksana

merupakan senyawa yang bersifat non-polar, salah satunya adalah senyawa sterol yang merupakan subkelompok steroid. Hal ini sejalan dengan Armania et al. (2013a) yang menyatakan bahwa senyawa sterol pada ekstrak n-heksana bagian akar simpur air dapat dikaitkan dengan sifat sitotoksik ekstrak terhadap sel MCF-7. Selain steroid, senyawa triterpenoid juga diperkirakan berkontribusi terhadap sifat sitotoksik fraksi n-heksana. Salah satu senyawa triterpenoid yang berhasil diisolasi dari akar simpur air yaitu asam 3-epimaslinic (Tor et al., 2015). Asam maslinic diketahui memiliki aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan menghambat proliferasi sel (Yu et al., 2021). Pada fraksi etil asetat senyawa yang diyakini bertanggung jawab terhadap sifat sitotoksik merupakan senyawa yang bersifat polar. Hal ini mengacu pada Armania et al. (2013b), bahwa senyawa polar yang terdapat pada ekstrak etil asetat akar simpur air merupakan kontributor utama terhadap sifat sitotoksik ekstrak tersebut. Aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat akar simpur air dapat dikaitkan dengan adanya aktivitas sinergis komponen fitokimia termasuk saponin, tanin, dan polifenol (Armania et al., 2013a). Saponin menunjukkan efek antikanker melalui beberapa jalur karena keragaman strukturnya. Misalnya, saponin steroid yaitu senyawa dioscin memiliki aktivitas antikanker yang kuat melalui mekanisme induksi stres oksidatif (Man et al., 2010). Aktivitas sitotoksik yang tinggi dari fraksi etil asetat juga didukung oleh penelitian terdahulu yang melaporkan ekstrak etil asetat akar simpur air bertindak sebagai agen antikanker pada sel MCF-7 dan MDA-MD-231 dengan cara menginduksi apoptosis melalui jalur mitokondria dan menghentikan siklus sel pada fase G2/M (Armania et al., 2013b; Tor et al., 2014; Tor et al., 2015).

Meskipun isolasi senyawa bioaktif dari kayu batang simpur air belum pernah dilakukan, namun diperkirakan senyawa yang berkontribusi terhadap aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi kayu batang simpur air sama dengan senyawa yang berhasil diisolasi dari bagian tanaman lainnya. Pada dasarnya jenis senyawa metabolit sekunder pada satu spesies tanaman adalah sama, hanya saja distribusi konsentrasi senyawa metabolit sekunder tersebut berbeda-beda pada masing-masing bagian tanaman. Hal ini didukung oleh hasil penelitian yang menyatakan bahwa hasil analisis komprehensif komposisi kualitatif-kuantitatif organ tanaman menunjukkan perbedaan jumlah senyawa fenolik pada bunga, daun, batang, dan akar. Konsentrasi senyawa fenolik pada organ tanaman tertentu tergantung pada sintesis fenolik pada organ tersebut (Zlatic et al., 2019). Dengan demikian, variasi jumlah senyawa bergantung pada perbedaan struktur morfologi dan anatomi, serta berbagai proses fisiologis yang terjadi pada organ tanaman yang berbeda (Bystrická et al., 2010). Perbedaan aktivitas sitotoksik dari ekstrak metanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol dari kayu batang simpur air terhadap sel kanker payudara juga dipengaruhi oleh respon atau sensitivitas dari masing-masing sel kanker yang memiliki karakteristik berbeda. Sel T47D adalah jenis sel kanker yang mengalami mutasi pada gen p53 sehingga tidak mampu melakukan pengendalian siklus sel dan terjadi hambatan dalam apoptosis sel (Tusanti et al., 2014). Sel kanker MCF-7 memiliki karakteristik overekspresi PgP, overekspresi Bcl-2 dan tidak mengekspresikan kaspase-3 sehingga mampu menghindari apoptosis (Simstein et al., 2003). Sel 4T1 merupakan model kanker payudara triple negatif (Eun et al., 2015). Kanker payudara triple negatif memiliki kemampuan menyebar ke organ-organ tubuh yang lain dengan ditandai pertumbuhan darah baru (angiogenesis) melalui pengaturan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) (Liu et al., 2013; Parveen et al., 2016; Ribatti et al., 2016). Ekspresi VEGF dimodulasi oleh *Hepatocyte growth factor* (HGF) yang memainkan peran penting dalam proses angiogenesis. C-Met yang aktif mampu mengaktifkan jalur PI3K dan jalur AKt. Hal ini dapat memicu terjadinya transkripsi gen VEGF (Yan & Boyd, 2007).

Alpelisib merupakan salah satu obat antikanker yang biasa digunakan untuk pengobatan sel 4T1 yang menghasilkan nilai IC_{50} yaitu sebesar 32,975 $\mu\text{g/mL}$ (Mukhlisa et al., 2021). Selain alpelisib, juga biasa digunakan doksorubisin yang merupakan obat golongan antrasilin yang umumnya dipakai dalam pengobatan berbagai jenis kanker termasuk sel MCF-7 yang menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 1,72 $\mu\text{g/mL}$ (Tsou et al., 2015). Nilai IC_{50} yang dihasilkan oleh kedua obat tersebut lebih toksik terhadap sel kanker dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi kayu batang simpur air. Walaupun obat antikanker seperti alpelisib dan doksorubisin jauh lebih toksik daripada ekstrak dan fraksi kayu batang simpur air, namun pemakaiannya harus dibatasi karena terdapat efek samping terhadap sel normal (Cristiandari, 2018).

Selektivitas Ekstrak dan Fraksi terhadap Sel Kanker Payudara

Selain aktivitas sitotoksiknya, selektivitas dari agen kemopreventif juga penting untuk diperhatikan. Selektivitas agen kemopreventif artinya suatu bahan hanya membunuh sel kanker tetapi tidak membunuh sel normal. Mekanisme ini sangat berbeda dengan cara kerja obat kemoterapi pada umumnya yang menyerang sel kanker, namun juga menyerang sel normal. Akibatnya sel normal ikut rusak dan mati serta menimbulkan berbagai macam efek samping pada pasien (Rahmawati et al., 2013). Meskipun sangat penting untuk setiap ekstrak dan fraksi tanaman menunjukkan aktivitas sitotoksik yang signifikan untuk dianggap sebagai agen antikanker yang baik, namun aktivitas tersebut idealnya hanya untuk sel kanker saja dan bukan sel normal, karena jika sel normal juga ikut mati menandakan bahwa sampel yang digunakan kurang selektif. Oleh karena itu, hasil yang diharapkan dari uji sitotoksik yaitu menghasilkan nilai IC_{50} yang kecil untuk sel kanker, namun IC_{50} yang besar untuk sel normal. Ekstrak dan fraksi dikatakan mempunyai selektivitas yang tinggi apabila nilai $IS > 2$, dan dikatakan kurang selektif apabila nilai $IS < 2$ (Demirgan et al., 2016). Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol, fraksi etil asetat dan fraksi metanol tidak selektif terhadap sel kanker payudara yang digunakan karena nilai $IS < 2$. Dengan nilai $IS > 2$, fraksi n-heksana menunjukkan selektivitas yang tinggi terhadap seluruh sel kanker payudara yang digunakan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa viabilitas sel kanker dan sel normal setelah pemberian ekstrak n-heksana adalah rendah, namun nilai indeks selektivitas yang lebih besar dari 2 mengindikasikan bahwa kemampuan ekstrak n-heksana dalam menghambat pertumbuhan sel kanker lebih kuat dibandingkan sel normal. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa fraksi n-heksana dapat membunuh sel kanker payudara, namun tetap dalam kategori aman terhadap sel normal. Selain fraksi n-heksana, fraksi etil asetat juga berpotensi sitotoksik terhadap sel kanker payudara, namun memiliki indeks selektivitas yang rendah, yaitu < 2 . Berdasarkan hasil tersebut, fraksi n-heksana kayu batang simpur air adalah fraksi terbaik untuk kanker payudara dalam penelitian ini dan berpotensi dikembangkan menjadi alternatif obat antikanker payudara baru yang aman, selektif, dan sensitif.

SIMPULAN DAN SARAN

Fraksi n-heksana kayu batang simpur air merupakan fraksi yang paling potensial dikembangkan sebagai sumber senyawa antikanker baru karena memiliki sitotoksitas dan selektivitas yang paling tinggi. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengeksplorasi senyawa aktif dan mekanisme antikanker dari fraksi n-heksana kayu batang simpur air.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Comdev dan Outreaching serta Ditjen Belmawa Kemenristekdikti yang telah memberikan Beasiswa Bidikmisi selama berkuliah di Universitas Tanjungpura Pontianak. Peneliti juga mengucapkan terima kasih kepada orang tua, dosen pembimbing, dan semua pihak yang terlibat dalam penelitian ini.

REFERENSI

- Abdel-Hameed, E. S. S., Bazaid, S. A., Shohayeb, M. M., El-Sayed, M. M., & El-Wakil, E. A. (2012). Phytochemical studies and evaluation of antioxidant, anticancer and antimicrobial properties of *Conocarpus erectus* L. growing in Taif, Saudi Arabia. *European Journal of Medicinal Plants*, 2(2), 93-112. doi: 10.9734/ejmp/2012/1040.
- Aisy, N. S. R., Juniati, L., Saputra, Y., Putri, R. H., Fadila, S. N., Ananda, C., & Farma, S. A. (2022). Studi literatur mekanisme perubahan sel normal menuju keganasan sel serta peran dalam pencegahannya. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 1(2), 1172-1181.
- Arifah, I. S., Khasanah, K., Lidy, D., & Pandapotan, H. (2015). Kombinasi ekstrak temu putih (*Curcuma edoaria*) dan bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap aktivitas sel limfoma dengan metode MTT assay. *Khazanah*, 7(2), 24-38. doi: 10.20885/khazanah.vol7.iss2.art3.
- Armania, N., Yazan, L. S., Ismail, I. S., Foo, J. B., Tor, Y. S., Ishak, N., ... Ismail, M. (2013a). *Dillenia suffruticosa* extract inhibits proliferation of human breast cancer cell lines (mcf-7 and mda-mb-231) via induction of g2/m arrest and apoptosis. *Molecules*, 18(11), 13320-13339. doi:

10.3390/molecules181113320.

- Armania, N., Yazan, L. S., Musa, S. N., Ismail, I. S., Foo, J. B., Chan, K. W., ... Ismail, M. (2013b). *Dillenia suffruticosa* exhibited antioxidant and cytotoxic activity through induction of apoptosis and G2/M cell cycle arrest. *Journal of Ethnopharmacology*, 146(2), 525-535. doi: 10.1016/j.jep.2013.01.017.
- Bukowski, K., Kciuk, M., & Kontek, R. (2020). Mechanisms of multidrug resistance in cancer chemotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), 1-24. doi: 10.3390/ijms21093233.
- Bystrická, J., Vollmannová, A., Margitanová, E., & Ová, I. Č. I. Č. (2010). Dynamics of polyphenolics formation in different plant parts and different growth phases of selected buckwheat cultivars. *Acta Agriculturae Slovenica*, 95(3), 225-230. doi: 10.2478/v10014-010-0014-0.
- Cao, X., Liu, B., Cao, W., Zhang, W., Zhang, F., Zhao, H., ... Zhang, B. (2013). Autophagy inhibition enhances apigenin-induced apoptosis in human breast cancer cells. *Chinese Journal of Cancer Research*, 25(2), 212-222. doi: 10.3978/j.issn.1000-9604.2013.04.01.
- Chen, G. L., Fan, M. X., Wu, J. L., Li, N., & Guo, M. Q. (2019). Antioxidant and anti-inflammatory properties of flavonoids from lotus plumule. *Food Chemistry*, 277, 706-712. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.11.040.
- Conti, R. M., Bernstein, A. C., Villaflor, V. M., Schilsky, R. L., Rosenthal, M. B., & Bach, P. B. (2013). Prevalence of off-label use and spending in 2010 among patent-protected chemotherapies in a population-based cohort of medical oncologists. *Journal of Clinical Oncology*, 31(9), 1134-1139. doi: 10.1200/JCO.2012.42.7252.
- Cristiandari, E. M. (2018). Uji efek ekstrak dan fraksinasi daun salung (*Psychotria viridiflora* Reinw. Ex. Blume) pada sel kanker payudara t47d. *Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang*, 13(1), 9-20. doi: 10.36086/jpp.v13i1.81.
- Demirgan, R., Karagöz, A., Pekmez, M., Önay-uçar, E., Artun, F. T., & Mat, A. (2016). In vitro anticancer activity and cytotoxicity of some papaver alkaloids on cancer and normal cell lines. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 13(3), 22-26. doi: 10.4314/ajtcam.v3i3.3.
- Eun, S. Y., Ko, Y. S., Park, S. W., Chang, K. C., & Kim, H. J. (2015). P2Y2 nucleotide receptor-mediated extracellular signal-regulated kinases and protein kinase C activation induces the invasion of highly metastatic breast cancer cells. *Oncology Reports*, 34, 195-202. doi: 10.3892/or.2015.3972.
- Gacche, R. N., & Jadhav, S. G. (2012). Antioxidant activities and cytotoxicity of selected coumarin derivatives: Preliminary results of a structure-activity relationship study using computational tools. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 4(3), 165-169. doi: 10.1016/j.jecm.2012.04.007.
- GLOBOCAN. (2020a). World, estimated number of new cases in 2020, both sexes, all ages. Retrieved from <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/900-world-fact-sheets.pdf>.
- GLOBOCAN. (2020b). Indonesia, estimated number of new cases in 2020, both sexes, all ages. Retrieved from <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-fact-sheets.pdf>.
- Grigalius, I., & Petrikaite, V. (2017). Relationship between antioxidant and anticancer activity of trihydroxyflavones. *Molecules*, 22(12), 1-12. doi: 10.3390/molecules22122169.
- Gunadi, D., Oramahi, H. A., & Tavita, G. E. (2017). Studi tumbuhan obat pada etnis dayak di Desa Gerantung Kecamatan Monterado Kabupaten Bengkayang. *Jurnal Hutan Lestari*, 5(2), 425-436.
- Haruna, N., Hamzah, Z. A., Syakri, S., Ismail, I., & Hamzah, N. (2018). Efek ekstrak metanol dan partisi dari kulit batang kayu jawa (*Lannea coromandelica* Houtt. Merr.) terhadap pertumbuhan sel hela dan mcf-7. *Ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1(2), 71-77. doi: 10.24252/djps.v1i2.11338.
- Iqbal, J., Abbasi, B. A., Mahmood, T., Kanwal, S., Ali, B., Shah, S. A., & Khalil, A. T. (2017). Plant-

- derived anticancer agents: A green anticancer approach. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(12), 1129-1150. doi: 10.1016/j.apjtb.2017.10.016.
- Jin, H., Shen, S., Chen, X., Zhong, D., & Zheng, J. (2012). CYP3A-mediated apoptosis of dauricine in cultured human bronchial epithelial cells and in lungs of cd-1 mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 261(3), 248-254. doi: 10.1016/j.taap.2012.03.025.
- Khorsandi, L., Orazizadeh, M., Niazvand, F., Abbaspour, M., Mansouri, E., & Khodadadi, A. (2017). Quercetin induces apoptosis and necroptosis in MCF-7 breast cancer cells. *Bratislava Medical Journal*, 118(2), 123-128. doi: 10.4149/BLL.
- Liu, Y., Zhao, L., Li, D., Yin, Y., Zhang, C., Li, J., & Zhang, Y. (2013). Microvesicle-delivery miR-150 promotes tumorigenesis by up-regulating vegf, and the neutralization of mir-150 attenuate tumor development. *Protein & Cell*, 4(12), 932-941. doi: 10.1007/s13238-013-3092-z.
- Man, S., Gao, W., Zhang, Y., Huang, L., & Liu, C. (2010). Chemical study and medical application of saponins as anti-cancer agents. *Fitoterapia*, 81(7), 703-714. doi: 10.1016/j.fitote.2010.06.004.
- Muharini, R., Lestari, I., & Masriani. (2021). Antioxidant-phenolic content correlation of phenolics rich fractions from *Dillenia suffruticosa* wood bark. *Pharmaciana*, 11(2), 283-292. doi: 10.12928/pharmaciana.v11i2.20674.
- Mukhlisa, N., Sudibyo, R. S., & Murwanti, R. (2021). Uji sitotoksitas dan hambatan ekspresi vegf pada sel 4t1 minyak atsiri rimpang *Curcuma mangga* Val. *Jurnal Penelitian Saintek*, 26(2), 122-130. doi: 10.21831/jps.v26i2.41386.
- Otto, S. E. (2015). *Buku saku keperawatan Onkologi*. Jakarta: EGC.
- Parveen, A., Akash, M. S. H., Rehman, K., & Kyunn, W. W. (2016). Dual role of p21 in the progression of cancer and its treatment. *Critical ReviewsTM in Eukaryotic Gene Expression*, 26(1), 49-62. doi: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.v26.i1.60.
- Pinsolle, J., Terzi, N., Ferrer, L., Levra, M. G., Toffart, A. C., & Moro-Sibilot, D. (2019). Les avancées dans la prise en charge des cancers bronchopulmonaires: ce qui change pour le réanimateur. *Médecine Intensive Réanimation*, 28(4), 290-299. doi: 10.3166/rea-2019-0091.
- Prasetya, B., Harlia., & Widiyantoro, A. (2021). Senyawa sitotoksik dari fraksi diklorometana kulit terong ungu (*Solanum melongena* L.) terhadap sel kanker payudara t47d. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 11(2), 99-108. doi: 10.33751/jf.v11i2.3110.
- Rahmawati, E., Sukardiman., & Muti, A. (2013). The anticancer activity in n-hexane and methanol extracts of *Impatiens balsamina* Linn herbs against breast cancer cells t47d. *Media Farmasi*, 10(2).
- Ribatti, D., Nico, B., Ruggieri, S., Tamma, R., Simone, G., & Mangia, A. (2016). Angiogenesis and antiangiogenesis in triple-negative breast cancer. *Translational Oncology*, 9(5), 453-457. doi: 10.1016/j.tranon.2016.07.002.
- Simstein, R., Burow, M., Parker, A., Weldon, C., & Beckman, B. (2003). Apoptosis, chemoresistance, and breast cancer: Insight from the mcf-7 cell model system. *Experimental Biology and Medicine*, 228(9), 995-1003.
- Suhendi, A., Haryoto, I. P., & Muhtadi, A. T. (2013). Determination of antioxidant activity of extract, polar, and semipolar fraction of *Cynometra ramnifolia* Linn leaf using dpph assay. *Acta Pharmaciae Indonesia*, 1(1).
- Susanty, A., Dachriyanus., Yanwirasti., Wahyuni, F. S., Fadhli, H., & Aswan, P. A. (2018). Aktivitas sitotoksik ekstrak etil asetat daun tanpa badak (*Voacanga foetida* (Bl.)K. Schum) pada kanker kolon htb-38. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 5(2), 142-146. doi: 10.25077/jsfk.5.2.142-146.2018.
- Syafriana, V., Febriani, A., Suyatno, S., Nurfitri, N., & Hamida, F. (2021). Antimicrobial activity of ethanolic extract of sempur (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli) leaves against pathogenic microorganisms. *Borneo Journal of Pharmacy*, 4(2), 135-144. doi: 10.33084/bjop.v4i2.1870.
- Tor, Y. S., Yazan, L. S., Foo, J. B., Armania, N., Cheah, Y. K., Abdullah, R., ... Ismail, M. (2014). Induction of apoptosis through oxidative stress-related pathways in mcf-7, human breast cancer cells, by ethyl acetate extract of *Dillenia suffruticosa*. *BMC Complementary and Alternative*

Medicine, 14(1), 1-12. doi: 10.1186/1472-6882-14-55.

- Tor, Y. S., Yazan, L. S., Foo, J. B., Wibowo, A., Ismail, N., Cheah, Y. K., ... Yeap, S. K. (2015). Induction of apoptosis in mcf-7 cells via oxidative stress generation, mitochondria-dependent and caspase-independent pathway by ethyl acetate extract of *Dillenia suffruticosa* and its chemical profile. *PLoS One*, 10(6), 1-25. doi: 10.1371/journal.pone.0127441.
- Tsou, S., Chen, T., Hsiao, H., & Chen, Y. (2015). A critical dose of doxorubicin is required to alter the gene expression profiles in mcf-7 cells acquiring multidrug resistance. *PLoS One*, 10(1), 1-24. doi: 10.1371/journal.pone.0116747.
- Tusanti, I., Johan, A., & Kisdjamiatun, R. (2014). Sitotoksitas in vitro ekstrak etanolik buah parijoto (*Medinilla speciosa* Reinw. Ex. Blume) terhadap sel kanker payudara t47d. *Jurnal Gizi Indonesia*, 2(2), 53-58. doi: 10.14710/jgi.2.2.53-58.
- Wardani, E. K., & Ambarwati, W. N. (2017). Respon fisik dan psikologi wanita dengan kanker serviks yang telah mendapat kemoterapi di rsud dr. moewardi Surakarta. *Jurnal Berita Ilmu Keperawatan*, 10(2), 71-79.
- Widyanto, R. M., Putri, J. A., Rahmi, Y., Proborini, W. D., & Utomo, B. (2020). Aktivitas antioksidan dan sitotoksik in vitro ekstrak metanol buah nanas (*Ananas comosus*) pada sel kanker payudara t-47d. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 8(2), 95-103. doi: 10.21776/ub.jpa.2020.008.02.5.
- Yan, C., & Boyd, D. D. (2007). Regulation of matrix metalloproteinase gene. *Journal of Cellular Physiology*, 211(1), 19-26. doi: 10.1002/JCP.
- Yazan, L. S., Ong, Y. S., Zaaba, N. E., Ali, R. M., Foo, J. B., & Tor, Y. S. (2015). Anti-breast cancer properties and toxicity of *Dillenia suffruticosa* root aqueous extract in balb/c mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(12), 1018-1026. doi: 10.1016/j.apjtb.2015.09.008.
- Yu, L., Xie, X., Cao, X., Chen, J., Chen, G., Chen, Y., ... Peng, C. (2021). The anticancer potential of maslinic acid and its derivatives: A review. *Drug Design, Development and Therapy*, 15, 3864-3879. doi: 10.2147/DDDT.S326328.
- Yuningtyas, S., Roswiem, A. P., & Erfina, E. (2018). Aktivitas inhibisi α -glukosidase dari ekstrak air dan etanol daun simpur air (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli). *Pharmamedica Journal*, 3(1), 21-26. doi: 10.47219/ath.v3i1.23.
- Zlatic, N., Jakovljević, D., & Stanković, M. (2019). Temporal, plant part, and interpopulation variability of secondary metabolites and antioxidant activity of *Inula helenium* L. *Plants*, 8(6), 1-10. doi: 10.3390/plants8060179.