

PENGARUH PEMBERIAN KATEKIN TERHADAP KULTUR SEL KANKER SERVIKS

Dwi Dinni Aulia Bakhtra^{1*}, Hendri Satria Kamal Uyun¹, Aried Eriadi¹, Anzharni Fajrina¹, Selvia Wiliantari¹, Witdia Pranciska², Jesica Desta Wandani²

¹Departemen Biologi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Padang (STIFARM PADANG), Padang, Indonesia

²Program Studi S-1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Padang (STIFARM PADANG), Padang, Indonesia

*E-mail: dwidinni89@gmail.com

Abstrak

Kanker serviks merupakan salah satu kanker paling mematikan bagi wanita. Salah satu terapi untuk mengobati kanker serviks adalah kemoterapi. Agen kemoterapi berasal dari bahan kimia sintetis dan memiliki efek samping yang merugikan. Tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb) merupakan tanaman yang memiliki aktivitas sitotoksik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik dengan metode MTT, penghambatan migrasi sel dengan metode scratch assay, dan induksi kematian sel dengan metode double staining. Dari hasil penelitian, katekin yang diisolasi dari gambir mempengaruhi pertumbuhan sel biakan HeLa dengan nilai IC₅₀ sebesar 58,9 µg/mL. Katekin yang diisolasi dari Gambir berpengaruh terhadap penghambatan migrasi sel HeLa; Hasilnya adalah penghambatan terbesar ditemukan pada konsentrasi yang paling signifikan, yaitu pada 80 µg/mL, dan rata-rata area migrasi sel adalah 2,26 mm/jam. Katekin dapat menginduksi apoptosis pada sel kultur HeLa. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa katekin yang diisolasi dari *Uncaria gambir* mempengaruhi sel kultur HeLa.

Kata kunci: *Uncaria gambir*; Katekin; scratch assay; double staining; HeLa

Abstract

Cervical cancer is one of the deadliest cancers for women. One of the therapies for treating cervical cancer is chemotherapy. Chemotherapy agents are derived from synthetic chemicals and have adverse side effects. The gambir plant (*Uncaria gambir* Roxb) is a plant that has cytotoxic activity. This study aims to determine cytotoxic activity using the MTT method, inhibition of cell migration with the scratch assay method, and induction of cell death using the double staining method. From the research results, catechins isolated from gambir affected the growth of HeLa cultured cells with an IC₅₀ value of 58.9 µg/mL. The catechins isolated from Gambir affected the inhibition of HeLa cell migration; the result was that the greatest inhibition was found at the most significant concentration, namely at 80 µg/mL, and the average cell migration area was 2.26 mm/hour. Catechins can induce apoptosis in HeLa-cultured cells. From the study results, it can be concluded that catechins isolated from *Uncaria gambir* affect HeLa culture cells.

Keywords: *Uncaria gambir*; Katekin; scratch assay; double staining; HeLa

PENDAHULUAN

Pengobatan kanker menimbulkan banyak permasalahan dalam bidang kesehatan, karena menimbulkan gejala efek samping yang tidak nyaman selama terapi pengobatan (Johnsson *et al.*, 2019). Penanganan kanker pada umumnya masih bergantung pada kemoterapi yang berasal dari bahan kimia sintetis dengan tujuan untuk mematikan sel kanker atau membatasi perkembangan dan pertumbuhan sel kanker (Hortobagyi, 2012). Obat-obatan kanker yang

berasal dari senyawa kimia sintetis tidak hanya akan mempengaruhi sel kanker tetapi mempengaruhi sel normal disekitarnya dan belum ada agen kemoterapi yang tersedia saat ini tidak menimbulkan toksisitas sama sekali pada pasien (Wahyuni *et al.*, 2015). Untuk mengatasi hal tersebut maka para peneliti berusaha melakukan penelitian dengan memanfaatkan sumber daya alam yang ada. Senyawa derivat dari bahan alam mempunyai target bioaktif yang spesifik dan mempunyai efek samping yang rendah (Iwamaru *et al.*, 2007), sehingga pencarian obat-obat

kemoterapi dari bahan alam terus dilakukan (Nobili *et al.*, 2012).

Pemanfaatan produk bahan alam telah menjadi alternatif dan banyak diminati dalam pengobatan kanker (Aini, 2018). Senyawa yang berasal dari alam memiliki keragaman struktural dan menghasilkan mekanisme aktivitas biologis baru, sehingga diyakini bahwa sumber terbesar senyawa antikanker berasal dari alam (Kingham *et al.*, 2009). Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) merupakan tumbuhan yang secara empiris telah di manfaatkan sebagai pengobatan alternatif. Komponen bioaktif utama dari gambir adalah katekin. Katekin di peroleh pada daun gambir yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Gomes *et al.*, 2015). Aktivitas antioksidan berpotensi sebagai antikanker alami yang bekerja selektif terhadap sel kanker, dan potensi yang besar khususnya dalam pengembangan bahan baku obat kanker (Maryati *et al.*, 2011).

Pada penelitian terdahulu, katekin memiliki aktivitas sitotoksik terhadap ekstrak etanol dan fraksi heksan, etil asetat dan butanol dengan nilai IC_{50} 67,60 $\mu\text{g/mL}$, 177,82 $\mu\text{g/mL}$, 26,30 $\mu\text{g/mL}$ dan 54,95 $\mu\text{g/mL}$ (Rahmawati *et al.*, 2014). Katekin dari gambir memiliki aktivitas antiproliferatif terhadap pertumbuhan sel kanker serviks HeLa dengan nilai IC_{50} 22,91 $\mu\text{g/mL}$ (Rahmaddiansyah *et al.*, 2022). Katekin memiliki efek antiproliferatif dan berpotensi sebagai agen kemoprevensi terhadap kultur sel kanker serviks HeLa (Supratman, 2012).

Malrianti *et al.*, (2020), aktivitas antioksidan dari katekin memiliki nilai IC_{50} 2,62 $\mu\text{g/mL}$. Menurut Ningsih & Rahayuningsih (2019), aktivitas antioksidan katekin 2,72 $\mu\text{g/mL}$ (Aprilia & Putri, 2015). Rahmaddiansyah *et al.*, (2022), menyatakan bahwa efek sitotoksik dari senyawa katekin diperoleh nilai IC_{50} sebesar 22,91 $\mu\text{g/mL}$.

Berdasarkan latar belakang di atas perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang uji aktivitas katekin yang diisolasi dari tanaman gambir (*Uncaria gambir*) terhadap pertumbuhan sel HeLa, aktivitas sitotoksik

dengan metode MTT, penghambatan migrasi sel HeLa dengan scratch assay dan induksi kematian sel HeLa dengan metode *double staining*.

METODE

Alat dan bahan

Alat: *Rotary evaporator* (Heidolph made in Germany), *Spectrophotometer UV*, pipet mikro (Eppendorf), oven (Yenaco), *furnace* (Carbolite Gero), Silika gel 60 F254 (Merck), timbangan analitik (Kern), desiccator (Dianrui), *Biosafety cabinet* (Kojair), *microscope inverted* (Zeiss), incubator CO2 (Astec), *hemocytometer* (Assistant Germany), *centrifuge* (Thermo Scientific), *Tissue Culture flask*, *Plat 12, 24, 96 well* (TPP made in Europe/Switzerland), *Microcentrifuge*, Tabung *centrifuge* (Gen Follower).

Bahan: Gambir (*Uncaria gambir* Roxb), catechin trans-2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-1(2H)-benzopyran-3,3,4,5,7-pentahydroxyflavan (EBM Scitech), Sel HeLa (koleksi laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Jati), etil asetat (PT. Novalindo), etil asetat PA (PT. Brataco), aqua dest (PT. Novalindo), metanol (PT. Novalindo), larutan dimetilsulfoksida (DMSO) (PT. Brataco), dulbecco's modified eagle medium (DMEM) (Gibco), Feta Bovine Serum (FBS) (Biowest), phosphate-buffered saline (PBS) (Sigma-Aldrich Chemical Co, USA), penicillin-streptomycin (pen strep) (Gibco), trypan blue (Solarbio), trypsin EDTA 0,25% (Gibco), alkohol 70%.

Prosedur Kerja

Pengambilan Sampel

Sampel tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah katekin gambir (*Uncaria gambir* Roxb) yang berasal dari bagian daun yang diambil di Pesisir Selatan, Sumatera Barat sebanyak 500 gram.

Penyiapan Sampel

Dalam penelitian ini gambir yang dalam bentuk padatan di haluskan terlebih dahulu dengan cara di tumbuk atau di blender sampai

berbentuk serbuk, kemudian serbuk gambir tersebut di simpan di dalam wadah kering tertutup rapat.

Isolasi Katekin dari Gambir

Sampel yang diperoleh dari 500 gram gambir dalam bentuk padatan sebanyak 472 gram berupa serbuk gambir yang sudah dihaluskan dimaserasi (direndam) dengan pelarut etil asetat (Rahmawati *et al.*, 2014). Kemudian hasil maserasi disaring dengan 3 kali pengulangan. Selanjutnya maserat dipekatkan dengan cara diuapkan menggunakan *rotary evaporatory*. Proses isolasi dan pemurnian dilakukan dengan menambahkan aquadest kemudian dipanaskan pada suhu 70°C selama 10 menit, kemudian didinginkan pada lemari pendingin selama 24 jam. Setelah terbentuk pasta kemudian di saring dengan kain dan dibilas dengan aquadest untuk menghilangkan sisa etil asetat. Endapan yang diperoleh selanjutnya dikeringkan menggunakan oven untuk mendapatkan serbuk katekin murni (Ningsih & Rahayuningsih, 2019).

Karakterisasi Katekin

Karakterisasi katekin berupa pengamatan pemeriksaan organoleptis, kadar air, susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar bahan tak larut dalam air, kadar bahan tak larut dalam alkohol, identifikasi KLT dan penetapan kadar katekin (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2017; Standar Nasional Indonesia, 2000)

Uji aktivitas sitotoksik MTT assay

Sejumlah 1×10^4 sel HeLa/sumuran ditumbuhkan dalam 96-well plate, diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO₂. Sel diberi perlakuan katekin 80; 40; 20; 10; 1 µg/mL, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO₂. Setelah inkubasi, kondisi sel diamati di bawah mikroskop. Media sel dibuang dan dicuci dengan *Phosphate Buffered Saline* (PBS) kemudian ditambahkan reagen MTT 0,5 mg/mL sebanyak 100 µL ke setiap sumuran dan

inkubasi kembali 4 jam dalam inkubator CO₂. Sel diamati di bawah mikroskop, setelah formazan terlihat jelas maka ditambahkan reagen stopper 100 µL SDS dalam HCl 0,01 N. Plate diinkubasi pada suhu kamar di tempat gelap selama semalam, serapan dibaca dengan microplate reader pada panjang gelombang 600 nm (CCRC, 2009).

Uji migrasi sel Scratch Assay

Sel HeLa ditumbuhkan pada *microplate* 24-well dengan $7,5 \times 10^4$ sel/sumuran dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C hingga mencapai 80% konfluensi. Sel dicuci dengan PBS kemudian ditambahkan media kultur yang mengandung 0,5% FBS, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya dibuat *scratch* pada permukaan dasar sumuran menggunakan ujung *yellow tip* steril. Media lama dibuang dan sel dicuci dengan PBS. Sel kemudian diberikan katekin yang diisolasi dari gambir dengan konsentrasi 20 µg/mL, 40 µg/mL, dan 80 µg/mL, kemudian inkubasi selama 24 jam. Celah yang terbentuk diamati dan diambil fotonya pada garis acuan yang sama setelah 24 jam Analisis luas area *scratch* menggunakan software ImageJ (CCRC, 2015; Wikayani & Nurdin, 2019).

Uji induksi kematian sel

Sel HeLa ditanam pada *coverslips* yang dimasukan dalam *microplate* 24-well plate dengan kepadatan 3×10^4 sel/sumuran dan diinkubasi sampai 50-60% konfluen. Setelah itu diinkubasi dengan senyawa uji selama 24 jam. Medium diambil, dicuci dengan PBS. *Cover slip* yang memuat sel diangkat, diletakan di atas *object glass* dan ditambahkan 10 µL 1x Working Solution *propidium iodida-akridin oranye* kemudian didiamkan selama 5 menit. Sel segera diamati di bawah mikroskop flouresens (Zeiss MC 80). Sel hidup berfluoresensi hijau (dengan akridin oranye) dan sel mati berfluoresensi oranye (dengan propidium iodida) (Meiyanto *et al.*, 2008).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, sampel gambir diambil dari daerah Pesisir Selatan, Sumatera Barat. Dari 500 gram gambir yang berupa padatan didapatkan 472 gram serbuk gambir yang telah dihaluskan. Hasil isolasi katekin dari gambir didapatkan 33,13 gram dan rendemen yang diperoleh adalah 7,02 %. Hasil pengamatan organoleptis yaitu warna : Coklat kekuningan, rasa : kelat, bentuk : serbuk, dan berbau khas. Dari hasil karakterisasi katekin hasil isolasi dari gambir didapatkan data hasil penelitian berupa (tabel 1):

Tabel 1. Hasil karakterisasi katekin yang diisolasi dari gambir (*Uncaria gambir*)

Pengamatan	Nilai $\pm$ SD
Kadar	95,87 % $\pm$ 2,49
Kadar air	5,78 % $\pm$ 0,29
Susut pengeringan	5,77 % $\pm$ 0,04
Kadar abu total	2,78 % $\pm$ 0,03
Kadar abu tidak larut asam	0,073 % $\pm$ 0,006
Kadar bahan tak larut dalam air	1,38 % $\pm$ 0,05
Kadar bahan tak larut dalam alkohol	3,76 % $\pm$ 0,06

Dari hasil uji MTT, diketahui bahwa katekin yang diisolasi dari gambir (*Uncaria gambir*) mempengaruhi pertumbuhan sel HeLa (tabel 2), peningkatan konsentrasi uji mempengaruhi jumlah sel yang hidup. Dari persamaan regresi, diketahui nilai IC_{50} adalah 58,9 μ g/mL.

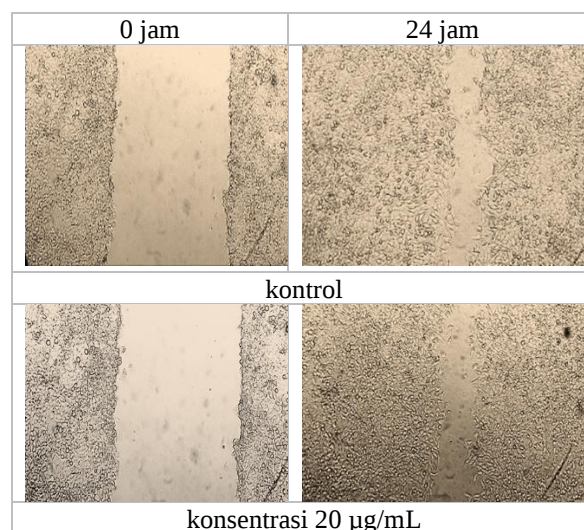
Tabel 2. Nilai viabilitas sel setelah pemberian katekin

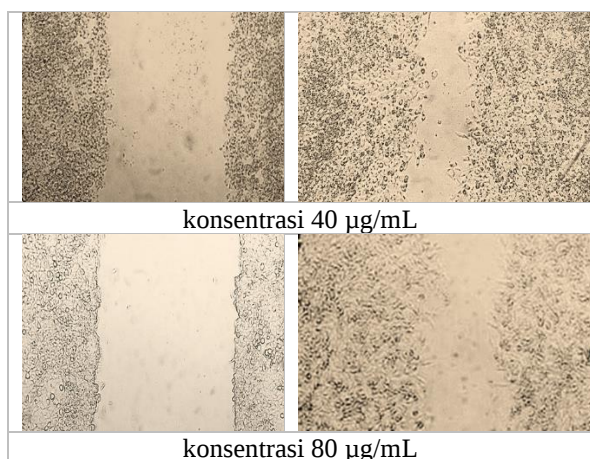
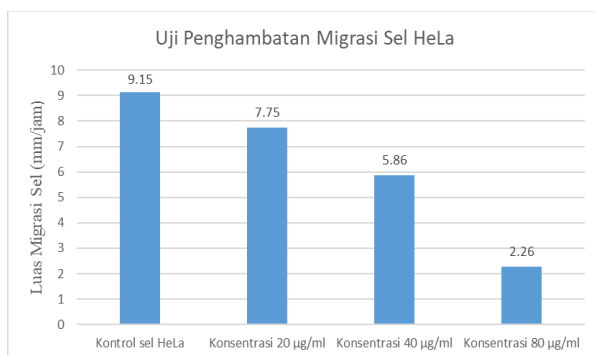
Konsentrasi uji (μ g/mL)	Viabilitas sel (%)
1	143,35
10	89,33
20	70,82
40	59,94
80	48,95
100	33,26

Dari hasil uji migrasi sel, katekin yang diisolasi dari gambir dapat menghambat migrasi sel kanker. Penghambatan laju

migrasi sel HeLa yang diinkubasi selama 24 jam, pada kontrol sel HeLa diperoleh nilai 9,15 mm/jam, konsentrasi 20 μ g/mL diperoleh nilai 7,75 mm/jam, konsentrasi 40 μ g/mL diperoleh nilai 5,86 mm/jam, kemudian pada konsentrasi 80 μ g/mL diperoleh nilai 2,26 mm/jam (gambar 2). Hasil ini menunjukkan bahwa hasil isolasi katekin dari gambir (*Uncaria gambir* Roxb) dapat menghambat migrasi sel HeLa karena pada kontrol sel diperoleh rata-rata yang lebih besar yang menandakan bahwa sel HeLa tanpa diberi perlakuan bergerak lebih cepat untuk menutup celah (gambar 1). Semakin tinggi konsentrasi maka semakin kecil rata-rata luas/laju migrasi, serta lebih aktif untuk menghambat migrasi sel HeLa.

Katekin yang diisolasi dari gambir (*Uncaria gambir* Roxb) dapat menghambat migrasi sel HeLa, karena katekin merupakan senyawa antioksidan aktif yang berasal dari flavonoid. Flavonoid memiliki efek sebagai penghambatan proliferasi tumor/ kanker yang salah satunya dengan menginhibisi aktivitas protein kinase, sehingga menghambat jalur transduksi sinyal dari membran ke sel inti. Flavonoid juga berfungsi untuk mengurangi resistensi tumor terhadap agen kemoterapi. Selain itu flavonoid juga dapat membunuh sel kanker karena adanya gugus OH^- pada flavonoid yang berikatan dengan protein integral membran sel. Hal ini menyebabkan terbentuknya transport aktif Na^+ dan K^+ .



**Gambar 1. Luas area migrasi sel HeLa****Gambar 2. Penghambatan laju migrasi sel HeLa**

Transpor aktif yang berhenti, menyebabkan pemasukan ion Na^+ yang tidak terkendali ke dalam sel, hal ini menyebabkan pecahnya membran sel, pecahnya membran sel inilah yang menyebabkan kematian sel (Nurhayati *et al.*, 2006).

Katekin yang diisolasi dari gambir dapat menginduksi kematian sel berupa apoptosis. Selain menginduksi apoptosis, dari hasil penelitian pemberian katekin pada sel HeLa juga dapat menginduksi terjadinya kematian sel secara nekrosis. peningkatan konsentrasi uji menyebabkan terjadinya peningkatan sel yang mengalami nekrosis (Tabel 3).

Tabel 3. Pengaruh pemberian katekin terhadap induksi kematian sel HeLa

Konsentrasi uji	Persentase kematian sel(%)	
	apoptosis	necrosis
20 µg/mL	38,138% ± 9,136	23,873% ± 6,291%
40 µl/mL	24,292% ± 2,028	54,805% ± 10,712%
80 µl/mL	20,890% ± 3,281	68,694% ± 6,156%

Kematian sel terprogram atau apoptosis berbeda dengan nekrosis karena memiliki karakteristik yang berbeda. Kematian sel terprogram adalah apoptosis, dan kematian sel akibat non-apoptosis adalah autophagy dan necroptosis. Autophagy atau disebut dengan dengan kematian sel tipe II adalah proses degradasi diri dan berperan penting dalam degradasi komponen seluler didalam sel yang rusak dan dalam vakuola autofagik. Necroptosis adalah bentuk kematian nekrotik yang terprogram dan dihasilkan oleh sinyal kematian yang sama dengan yang menginduksi apoptosis. Nekrosis merupakan proses acak proses acak dan tidak terkontrol yang diakibatkan oleh rangsangan terutama seperti trauma atau kerusakan fisik. Tan morfologi dari nekrosis adalah adanya pembengkakan sitoplasma dan organel (reticulum endoplasma dan mitokondria) serta gangguan dari plasma (Jan & Chaudhry, 2019).

Kematian sel jalur ekstrinsik di sebut sebagai jalur reseptor kematian (Kim *et al.*, 2014), yang di mulai adanya pelepasan molekul sinyal (ligan) oleh sel lain yang bukan berasal dari sel yang mengalami apoptosis (Sari, 2018). Beberapa sel tidak mati sebagai respon terhadap jalur ekstrinsik dan memerlukan langkah amplifikasi yang diinduksi oleh caspase-8 yang menargetkan bid protein BH3(BH3-interacting-domain deadt agonist) untuk pembelahan dan menghasilkan fragmen t-Bid (truncated bid) yang diaktifkan, t-Bid mengaktifkan protein multidominan proapoptotik untuk

menginduksi permeabilitas membran luar mitokondria (MOMP) sehingga melibatkan jalur intrinsik (Pistritto *et al.*, 2016).

Jalur apoptosis intrinsik dimediasi oleh sinyal intraseluler pada mitokondria dan menanggapi kondisi stress yang berbeda (Pistritto *et al.*, 2016). Mitokondria memainkan peran kunci dalam proses apoptosis (Looi *et al.*, 2013). Jalur intrinsik dipicu oleh berbagai tekanan ekstraseluler dan intraseluler seperti stress oksidatif, iradiasi, pengobatan dengan obat sitotoksik (Jan dan Chaudhry, 2019). Anggota keluarga Bcl- 2 memiliki peran penting dalam jalur mitokondria (Gao *et al.*, 2017). Bcl- xl adalah protein anti-apoptosis yang mencegah pelepasan sitokrom c. sitokrom c bergabung dengan Apaf-1(apoptotic protease activating factor-1) dan pro-caspase-9 untuk menghasilkan apoptosome. Apoptosome adalah kompleks multi-protein yang terdiri dari kompleks berbentuk cincin seven spoke, yang memicu caspase-9 diikuti dengan aktivasi pesinyalan caspase-3 yang mengarah pada pemecahan sel berakhir dengan apoptosis (Jan & Chaudhry, 2019). Sitokrom c berikatan dengan sitosolik Apaf- 1 (apoptotic protease activating factor-1) dan memicu pembentukan kompleks (apoptosome) yang menginduksi auto aktivasi dan kemudian proteolisis. Proses ini mengaktifkan caspase-3, caspase-6, caspase-7 untuk membelah substrat seluler yang mengarah pada kematian sel apoptosis (Pistritto *et al.*, 2016).

Katekin memiliki fungsi tidak hanya sebagai antioksidan kuat, mencegah kerusakan oksidatif pada sel sehat, tetapi juga sebagai anti angiogenik, agen antitumor, dan modulator dari respon sel tumor terhadap kemoterapi. Katekin bisa menginduksi apoptosis dengan meningkatkan caspase dan mendorong penghentian pertumbuhan sel dengan mengubah ekspresi protein pengatur siklus sel (Sari, 2019). EGCG (epigallocatechin gallate) menghambat pertumbuhan dan proliferasi sel turunan HCC (hepatocellular carcinoma) manusia dengan menginduksi apoptosis. EGCG juga menekan

pertumbuhan sel HCC manusia HepG2 dengan menghambat fosforilasi IGF-1R, diikuti dengan penurunan aktivasi molekul pensinyalan hilirnya, termasuk ERK, Akt, STAT-3, dan GSK-3 β .

Kadar IGF-1 dan IGF-2 dalam sel dan media kultur menurun dengan pengobatan dengan EGCG, sedangkan kadar protein pengikat IGF-3 meningkat. Katekin memiliki sifat antikanker dan kemopreventif yang kuat untuk sejumlah keganasan yang berbeda, termasuk kanker hati. Aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi adalah mekanisme kunci di mana katekin mencegah perkembangan neoplasma, dan mereka juga memberikan efek kemopreventif kanker dengan memodulasi beberapa transduksi pensinyalan dan jalur metabolisme (Shimizu *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa katekin yang diisolasi dari gambir (*Uncaria gambir* Roxb) mempengaruhi pertumbuhan sel HeLa. Peningkatan konsentrasi menyebabkan penurunan persentase sel hidup. Katekin memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa.

Pemberian katekin mempengaruhi penghambatan migrasi sel HeLa dengan metode *scratch assay*. Dimana disini di dapatkan hasil yang paling besar penghambatannya terdapat pada konsentrasi terbesar yaitu pada konsentrasi 80 μ g/ml didapatkan rata-rata luas migrasi sel sebesar 2,26 mm/jam. Katekin dapat menginduksi kematian sel HeLa. dengan peningkatan konsentrasi uji, persentase sel yang mengalami nekrosis lebih banyak dari pada persentase sel yang mengalami apoptosis.

ACKNOWLEDGEMENT

Penelitian ini dibiayai oleh KEMDIKBUDRISTEK melalui hibah penelitian skema Penelitian Dasar dalam program dana hibah dengan kontrak Nomor

186/E5/PG.02.00.PL/2023 tanggal 19 Juni 2023, dan kontrak STIFARM Padang dengan LLDIKTI X dengan nomor 046/LL10/PG.AK/2023 tanggal 21 Juni 2023.

DAFTAR RUJUKAN

- Aini Z. Q. 2018. Uji In-Vitro Senyawa Antikanker Trisindolina-4 Terhadap Indeks Fagositosis Sel Makrofag Mencit (*Mus musculus*) Uji In-Vitro Senyawa Antikanker Trisindolina-4 Terhadap Indeks Fagositosis Sel Makrofag Mencit (*Mus musculus*). Institut Teknologi Sepuluh Nopember, 1–80 p.
- Aprilia, A., & Putri, S. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenolik Ekstrak Metanol Katekin. *UNESA Journal of Chemistry*, 4(1), 1-6.
- CCRC. (2009). Prosedur tetap penumbuhan sel. Cancer Chemoprevention Research Center. Fakultas Farmasi UGM, 2–4
- CCRC. (2015). Pengamatan Migrasi Dengan Scratch Wound Healing. Cancer Chemoprevention Research Center. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Gao, S., Li, X., Ding, X., Qi, W., & Yang, Q. 2017. Cepharanthine induces autophagy, apoptosis, and cell cycle arrest in breast cancer cells. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 41(4), 1633-1648.
- Gomes, N.G.M., Florence, L., Kijjoa, A., Kiss, R. 2015. Can Some Marine-Derived Fungal Metabolites Become Actual Anticancer Agents?. *Mar. Drugs*, 13:3950-3991.
- Hortobagyi, G. N. 2012. Toward Individualized Breast Cancer Therapy: Translating Biological Concepts to the Bedside. *The Oncologist*, 17(4):577–84.
- Iwamaru, A., Iwado, E., Kondo, S., Newman R, A., Vera, B., Rodríguez, A. D, *et al.* 2007. Eupalmerin acetate, a novel anticancer agent from Caribbean gorgonian octocorals, induces apoptosis in malignant glioma cells via the c-Jun NH2-terminal kinase pathway. *Molecular Cancer Therapeutics*, 6(1):184–92.
- Jan, R., & Chaundhry, G. S. 2019. Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 9(2), 205.
- Johnsson A, Demmelmaier I, Sjövall K, Wagner P, Olsson H, Tornberg ÅB. 2019. A single exercise session improves side-effects of chemotherapy in women with breast cancer: an observational study. *BMC Cancer*, 19(1):1–9.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Acuan Bahan Baku Obat Tradisional dari Tumbuhan Obat Di Indonesia*. Jakarta: Direktorat Jenderal Kefarmasian dan Alat Kesehatan.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia
- Kinghorn, A. D., De Blanco, E. J. C., Chai, H. B, Orjala, J., Farnsworth, N. R., Soejarto, D. D, *et al.* 2009. Discovery of anticancer agents of diverse natural origin. *Pure and Applied Chemistry*, 81(6):1051–63.
- Malrianti, Y., Kasim, A., Asben, A., & Yeni, G. 2020. Kenaikan nilai aktivitas antioksidan nanokatekin dibanding katekin sediaan konvensional dan peluang aplikasinya pada hard candy. *Jurnal Litbang Industri*, 10(1), 7. doi: 10.24960/jli.v10i1.6111.7-14
- Maryati, M., Sutrisna, E. 2011. Fraksi Petroleum Eter Tanaman Ceplukan (*Physalis angulata* L.) Menghambat Proliferasi dan Memacu Apoptosis pada Sel HeLa. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 80–7.
- Meiyanto, E., Susidarti, R. A., Handayani, S., Rahmi, F. 2008. Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (*Areca catechu* L.) mampu menghambat proliferasi dan memacu apoptosis sel MCF-7. *Majalah Farmasi Indonesia*, 19 (1): 12-19.
- Ningsih, E., & Rahayuningsih, S. 2019. Extraction, Isolation, Characterisation and Antioxidant Activity Assay of Catechin Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter). *Roxb. Al-Kimia*, 7(2) <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v7i2.7800>
- Nobili, S., Lippi, D., Witort, E., Donnini, M., Bausi, L., Mini, E., *et al.* 2009. Natural compounds for cancer treatment and prevention. *Pharmacological Research*, 59(6):365–78.
- Pambayun, R., Gardjito, M., Sudarmadji, S. K K. R. 2007. Phenolic Compounds Extracted

- from Gambir (*Uncaria gambir* Roxb)
Leave and Their Antibacterial Activities.
Agritech, 27(2):89–94.
- Pistritto, G., Trisciuglio, D., Ceci, C., Garufi, A.,
& D'Orazi, G. 2016. Apoptosis as an
anticancer mechanism: function and
dysfunction of its modulators and targeted
therapeutic strategies. *Aging*. Albany NY,
8(4), 603.
- Rahardiyani, D. 2019. Antibacterial potential of
catechin of tea (*Camellia sinensis*) and its
applications. *Food Research*. (1), 1-6.
- Rahmaddiansyah, R., Hasani, S., Zikrah, A.A., &
Arisanty, D. 2022. The Effect of Gambier
Catechin Isolate on Cervical Cancer Cell
Death (HeLa Cell Lines). *Open Access
Macedonian Journal of Medical Sciences*,
10(B), 1293–1297.
<https://doi.org/10.3889/oamjms.2022.8779>
- Rahmawati, N., Rahmah, M., Suminiati. 2014.
Aktivitas Sitotoksik dari Ekstrak dan
Fraksi Daun Gambir Liar (*Uncaria* Sp).
IndCheActa, 4(2):32–5.
- Sari, L. M. 2018. Apoptosis: Mekanisme
molekuler kematian sel. *Cakradonya
Dental Journal*, 10(2), 65-70.
- Shimizu, H., Schredelseker, J., Huang, J., Lu, K.,
Naghdi, S., Lu, F., Franklin, S., Fiji,
H.D.G., Wang, K., Zhu, H., Tian, C., Lin,
B., Nakano, H., Ehrlich, A., Nakai, J.,
Stieg, A.Z., Gimzewski, J.K., Nakano, A.,
Goldhaber, J.I., Vondriska, T.M.,
Hajnoczky, G., Kwon, O., Chen, J.N.
2015. Mitochondrial Ca^{2+} uptake by the
voltage-dependent anion channel 2
regulates cardiac rhythmicity. *eLife*,
4:e04801. DOI: 10.7554/eLife.04801
- Standar Nasional Indonesia. 2000. Gambir.
Jakarta : Badan Standarisasi Nasional.
SNI 01-3391-2000
- Wahyuni, D., Huda, N., Utami, G. T. 2015. Studi
Fenomenologi: Pengalaman Pasien
Kanker Stadium Lanjut Yang Menjalani
Kemoterapi. *JOM*, 2(2):1041–7.
- Wikayani, T. P., & Nurdin, R. A. 2019. *Handsout
dan Modul Praktikum: Cell Culture &
Migration Assay Workshop*. Bandung:
Fakultas Kedokteran Universitas
Padjajaran.