

AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL TANAMAN TAPAK LIMAN (*Elephantopus scaber* L.) TERHADAP SEL T47D MELALUI APOPTOSIS

Panji Ratih Suci^{1,2*}, Nurkhasanah², Nanik Sulistyani²

¹Akademi Farmasi Mitra Sehat Mandiri

²Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan

*Email¹: panjiratih suci13@gmail.com

Email²: nurkhas@gmail.com, nanik.sulistyani@gmail.com

Artikel diterima: 24 September 2020; Disetujui: 25 Maret 2021

DOI: <https://doi.org/10.36387/jiis.v6i1.605>

ABSTRAK

Kanker payudara merupakan jenis kanker yang paling mendominasi di Indonesia. Pengobatan tradisional menggunakan tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) sebagai antikanker menjadi pilihan karena mengandung senyawa seperti sesquiterpen. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol tapak liman terhadap sel T47D melalui induksi apoptosis. Metode ekstraksi menggunakan maserasi dengan pelarut etanol 96%, dilakukan pengujian Flavonoid total dengan menggunakan baku quersetin secara spektrofotometri. uji sitotoksik menggunakan *microtetrazolium* (MTT test), dan uji apoptosis menggunakan double staining (*ethidium bromide-acrydine orange*) dibawah mikroskop fluorescence. Konsentrasi senyawa yang digunakan adalah 1000 µg/ml; 500 µg/ml; 250µg/ml; 125 µg/ml, 62,5 µg/ml; 31,25 µg/ml. Hasil pengujian uji MTT berupa nilai IC₅₀ yang dianalisis menggunakan angka probit dan uji apoptosis dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan persamaan regresi linear $y = 0,0934x - 0,0292$ dengan kadar flavonoid yang dihasilkan sebesar 0,979% b/b dihitung terhadap quersetin (QE) dengan . dengan metode MTT mempunyai IC₅₀ sebesar 59 µg/ml, sedangkan pengujian metode double staining ditandai warna hijau terang yang menunjukkan mengalami apoptosis awal dan warna orange pada sel yang mengalami apoptosis akhir. Hasil Fragmentasi DNA menunjukkan bahwa ekstrak Tapak Liman menginduksi fragmen DNA. Kesimpulan pada penelitian ini adalah ekstrak tapak liman memiliki potensi aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D melalui induksi apoptosis.

Kata kunci: *Elephantopus scaber*, Sitotoksisitas, Apoptosis, Sel T47D

ABSTRACT

Breast cancer is the most dominant type of cancer in Indonesia. Traditional medicine using tapak liman (Elephantopus scaber L.) as an anticancer becomes an option because it contains compounds such as sesquiterpenes. The purpose of this study was to know the cytotoxic activity of ethanolic extract of tapak liman on T47D cells through induction of apoptosis. The extraction method uses maceration with 96%. Total flavonoids were tested using quercetin as a spectrophotometric

standard. ethanol solvent, cytotoxic test using microtetrazolium (MTT assay), and apoptosis test using double staining test (ethidium bromide-acrydine orange) under a fluorescence microscope. The results showed the linear regression equation $y = 0.0934x - 0.0292$ with the resulting flavonoid levels of 0.979% w / w calculated against quercetin (QE) The concentration of the compound used was 1000 $\mu\text{g/ml}$; 500 $\mu\text{g/ml}$; 250 $\mu\text{g/ml}$; 125 $\mu\text{g/ml}$, 62.5 $\mu\text{g/ml}$; 31.25 $\mu\text{g/ml}$. The MTT assay results are the values of IC_{50} which are analyzed using probit analysis and apoptosis tests which are analyzed descriptively. The results of the research show that the ethanol extract of tapak liman using MTT method has IC_{50} value of 59 $\mu\text{g/ml}$, while the testing of double staining method shows the color of bright green which indicates early apoptosis and the color orange in the cells which undergoing final apoptosis. DNA fragmentation results shows that Tapak Liman extract induces DNA fragments. The conclusion of this study is that tapak liman extract has the potential for cytotoxic activity against T47D breast cancer cells through the induction of apoptosis.

Keyword: *Elephantopus scaber, Cytotoxicity, Apoptosis, T47D cells*

PENDAHULUAN

Kanker merupakan sel yang pertumbuhan dan perkembangannya tidak terkontrol dengan melalui proses-proses invasi ke dalam jaringan. Kanker payudara terbentuk pada jaringan sekitar payudara dengan adanya kerusakan gen BRCA1 dan BRCA2 (King, 2000). Adanya kerusakan tersebut mengubah kecepatan proliferasi dan penghambatan apoptosis pada sel T47D (Sukardiman dkk., 2006). Sel T47D merupakan sel kanker hasil diferensiasi lanjut dari sel T-47 yang diisolasi dari payudara seorang wanita penderita kanker. Pada sel T47D mutasi gen dapat

mengekspresikan p53 termutasi (Nurani, 2011).

Apoptosis merupakan program kematian sel dengan tujuan memperbaiki sel pada DNA yang sudah tidak bisa diperbaiki lagi (Ghobrial *et al.*, 2005). Salah satu pengobatan tradisional untuk aktivitas antikanker adalah tapak liman (*Elephantopus scaber* L.). Tapak liman mengandung senyawa sesquiterpen dan flavonoid yang berkhasiat sebagai antitumor. Penelitian oleh (King, 2000) menyebutkan mengenai beberapa senyawa dari senyawa sesquiterpen (*scabertopin (ES-2)*, *isoscabertopin (ES-3)*, *doxylephentopin*, *deoxyelephantopin (ES-4)*,

isodeoxyelephantopin (ES-5) yang diisolasi dari tapak liman (*Elephantopus scaber* L.).

Hasil penelitian tentang ekstrak etanol fraksi potroleum eter tapak liman menunjukkan bahwa ekstrak tapak liman mempunyai efek toksik dan memacu mekanisme apoptosis pada sel kanker serviks pada sel Hela pada IC₅₀ 185 µg/ml (Sukardiman *et al.*, 2006). Perlakuan fraksi kloroform dengan konsentrasi 7,06 µg /ml menyebabkan kematian sel apoptosis pada stadium akhir nekrosis (Nurani, 2001). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L. L.) mempunyai aktivitas sitotoksik pada sel T47D. Selain itu juga menentukan potensi ekstrak etanol tapak liman dalam memacu apoptosis sel T47D dengan melihat profil fragmentasi DNA.

METODE PENELITIAN

1. Penentuan Kadar Flavonoid Total

Dibuat larutan baku sekunder quersetin dengan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm 5 ppm, 6 ppm dan 10 ppm dari larutan baku induk

1000 ppm. Tiap konsentrasi larutan baku sekunder ditambahkan 3 ml metanol, 0,2 ml aluminium klorida (AlCl₃) 10%, Na Asetat 0,2 ml dan aquadest ad 10 ml, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Masing-masing diukur absorbansinya pada spektrofotometri UV-VIS pada $\lambda = 440$ nm.

Sebanyak 100 mg ekstrak etanol dilarutkan dalam 10 mL methanol, kemudian diambil 1 mL sampel ditambahkan 3 mL methanol, 0,2 mL AlCl₃ 10%, dan 0,2 mL natrium asetat. Simpan 30 menit pada tempat gelap dengan suhu kamar, diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 440 nm. Larutan dibuat 3 kali sebagai ekuivalen quersetin (Ghobrial *et al.*, 2005).

2. Ekstraksi

Sebanyak 500 gram serbuk simplisia tapak liman diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%, dengan metode maserasi kemudian dsaring dan dipekatkan ke dalam alat rotarv evaporator.

3. Kultur Sel

Sebanyak 10 mg ekstrak etanol tapak liman dilarutkan dalam 100 µl DMSO.

4. Uji Sitotoksitas dan Selektivitas

Sitotoksitas sel T47D diuji dengan uji MTT. Sel ditanam dengan kepadatan 5×10^3 sel per sumur dengan suhu 37°C dalam suasana lembab 5% CO_2 95% udara terlalu tinggi. Sel diinkubasi dengan konsentrasi yang berbeda 1000 $\mu\text{g/ml}$; 500 $\mu\text{g/ml}$; 250 $\mu\text{g/ml}$; 125 $\mu\text{g/ml}$, 62,5 $\mu\text{g/ml}$; 31,25 $\mu\text{g/ml}$; ekstrak etanol daun tapak liman selama 24 jam. Setelah inkubasi, media dibuang dan 100 μL RPMI dan 10 μL MTT (5 mg MTT/mL larutan) ditambahkan ke masing-masing sumur. Plat diinkubasi selama 4 jam. Sel kontrol hanya menerima media tanpa sampel yang diuji. Doksorubisin digunakan sebagai kontrol positif. Kristal formazan yang terbentuk dalam sel yang layak dilarutkan dengan 100 μl SDS-stopper dalam HCl 0,1 N. Dianalisa dengan panjang gelombang 595 nm diukur dengan *microplate enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) reader. Perbedaan absorbansi antara kelompok kontrol yang diberi perlakuan dan yang tidak diberi perlakuan dihitung viabilitas sel.

5. Acridine Orange-Ethidium Bromide Double Staining

Sel T47D dimasukkan ke microplate 24 dengan kepadatan 5×10^4 sel/sumuran dalam 1000 μl media RPMI dan diinkubasi konfluen selama 24 jam, sampel uji ekstrak etanol tapak liman dimasukkan kedalam sumuran sebesar nilai IC_{50} , kemudian diinkubasi selama 24 jam, Medium diambil, dicuci dengan PBS, sel ditambahkan dengan 10 μL working solution *akridin orange-ethidium bromide*. Sel di analisa di bawah mikroskop *flouresens* (Zeiss MC 80), hasil intepretasi data jika sel hidup akan berfluoresensi warna hijau dan pada Etidium Bromida (EB) sel mati berfluoresensi akan berwarna merah (Wang *et al.*, 2004).

6. Fragmentasi DNA

Fragmentasi DNA dimulai dengan memanen sel T47D kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam keadaan lingkungan CO_2 5% suhu 37°C . Ekstrak etanol tapak liman ditambahkan ke sumuran dengan konsentrasi IC_{50} dan $\frac{1}{2} \text{IC}_{50}$, kemudian sel diinkubasi selama 24 jam. Sel yang telah ditreatmen kemudian di transfer ke konikel. Sel

ditambahkan tripsin 0.025 % sebanyak 200 µL dan diinkubasi selama 3 menit. Sel yang telah diinkubasi ditambahkan media kultur RPMI sebanyak 1000 µL kemudian sel diresuspensi dan diamati di mikroskop. Sel ditransfer ke konikal dan dicuci dengan PBS sebanyak 500 µL. sel disentrifuse dengan kecepatan 600 rpm selama 5 menit kemudian sel siap diisolasi.

Isolasi sel dimulai dengan menambahkan 150 µL RBC lisis Buffer kedalam pellet sel dan resuspensi. Sel ditambahkan 200 µL FABG Buffer kemudian vortex dengan kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit dan diinkubasi 10 menit dengan suhu 70⁰ C. sel ditambahkan 250 µL etanol absolut dan divortex selama 10 menit kemudian sel dipindahkan ke filter tube kemudian disentrifuse dengan kecepatan 10.000 selama 1 menit. Sel ditambahkan 600 µL wash buher sentrifuse 10.000 rpm selama 1 menit. Sel ditambahkan elution buffer sebanyak 100 µL kemudian inkubasi pada suhu 37⁰ C selama 10 menit, kemudian Sel disentrifuse dengan kecepatan 10.000 rpm selama 1 menit. Sel dianalisa

dengan nanodrop (Nurkhasanah, 2013). Sampel DNA yang diperoleh dianalisis dengan 1% agarose kemudian di elektroforesis. Setelah elektroforesis, gel diwarnai dengan SYBER Green sayu Nucleic Acid Stain (Invitrogen) dan divisualisasikan (Tris - HCl 10 mM, pH 7,4 Dan EDTA 1 mM) dan dideteksi dengan sinar UV (Nurkhasanah, 2013).

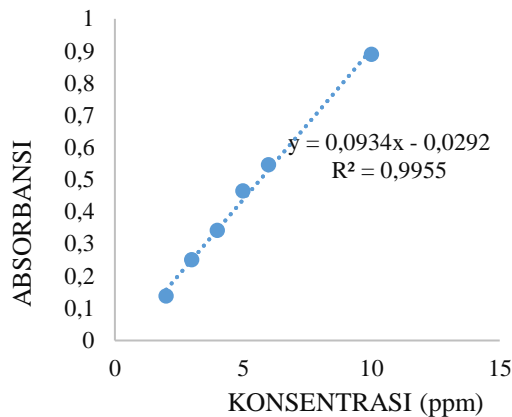
PEMBAHASAN

1. Pembuatan Ekstrak Etanol Tapak Liman dengan Metode Maserasi

Hasil ekstrak tapak liman yang didapatkan berupa ekstrak kental yang berwarna hitam pekat dengan % rendemen sebesar 8,5%. Rendemen ini sesuai dengan standart baik rendemen tapak liman sebesar 2,7% .

2. Uji senyawa Flavonoid Total

Nilai absorbansi larutan standar kuersetin pada masing-masing konsentrasi diperoleh persamaan garis linear yang nantinya digunakan untuk penetapan kadar flavonoid total pada sampel ekstrak etanol tapak liman berupa grafik kurva konsentrasi versus absorpsi.



Gambar 1. Kurva kalibrasi larutan standar kuersetin

Dapat dilihat bahwa kurva kalibrasi dengan persamaan regresi untuk absorpsi kuersetin pada

konsentrasi 2, 3, 4, 5, 6, dan 10 ppm sebesar $y = 0,0934x - 0,0292$ larutan standar senyawa fenol dan flavonoid diperoleh hubungan yang linier antara absorbansi dengan konsentrasi. Pada pengukuran flavonoid total dibuat sebanyak tiga replikasi untuk keperluan akurasi data. Sehingga dari hasil penelitian ini diperoleh pengukuran kadar flavonoid total ekstrak etanol tapak liman sebesar 0,979% b/b dihitung terhadap quersetin (QE).

Tabel 1. Pengukuran kadar flavonoid total ekstrak etanol tapak liman dihitung terhadap quersetin (QE).

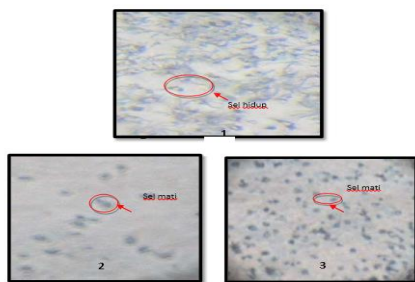
| Sampel | Rata-rata Abs | Kandungan flavonoid awal ($\mu\text{g/mL}$) | Faktor pengenceran (10X) | Kandungan flavonoid total (mgQE/g eks) | Rata-rata flavonoid total (%) |
|----------|---------------|---|--------------------------|---|-------------------------------|
| Sampel 1 | 0,060 | 0,9586 | 9,5860 | 0,00959 | |
| Sampel 2 | 0,064 | 0,9943 | 9,9429 | 0,00994 | 0,979 |
| Sampel 3 | 0,063 | 0,9836 | 9,8358 | 0,00984 | |

3. Uji Sitotoksisitas Tapak Liman terhadap Sel Kanker Payudara T47D dengan Metode MTT

Pengujian sitotoksisitas pada ekstrak etanol tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) bertujuan untuk mengetahui potensi ketoksikan ekstrak uji tapak liman terhadap sel kanker payudara T47D. Parameter yang digunakan pada uji sitotoksisitas adalah IC_{50} yang merupakan

konsentrasi ekstrak etanol yang dapat menghambat sel sebesar 50% dari populasi sel. Pengujian sitotoksik menggunakan metode MTT, dimana Ekstrak etanol akan mengabsorpsi reagen MTT dan dipecah melalui reaksi reduksi oleh sistem reduktase suksinat *tetrazolium* dalam rantai respirasi mitokondria menjadi formazan yang berwarna ungu dan tidak larut air tetapi larut dalam SDS

10%. Pengujian Sitotoksik menggunakan pelarut DMSO karena baik digunakan untuk senyawa organik maupun anorganik, pelarut ini juga dapat membuat kotoran dan racun terserap (Ahmad *et al*, 2014). Pengujian MTT harus terdapat kontrol sel yang digunakan untuk mengetahui besarnya suatu besarnya absorbansi yang dihasilkan kehidupan sel dengan sebesar 100%.



Gambar 2. Kristal formazan yang terbentuk hasil reaksi MTT (1); Kontrol Sel (2); kadar terendah 31,25 µg/ml (3); kadar tertinggi 1000 µg/ml

Hasil tabel 2 menunjukkan bahwa semakin besar kadar senyawa

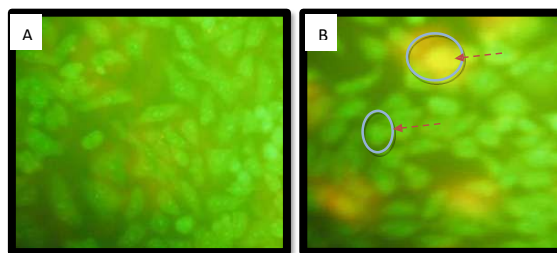
uji yang diberikan pada suspensi sel maka semakin besar pula persentase kematian sel yang dihasilkan sebaliknya semakin rendah ekstrak etanol tapak liman maka persentase kematian sel juga akan semakin rendah. Hasil penelitian menunjukkan nilai IC_{50} yang diperoleh adalah 59µg/mL. Berdasarkan kriteria yang ditetapkan oleh NCI (*National Cancer Institut*) menyatakan bahwa suatu ekstrak dinyatakan aktif memiliki aktivitas antikanker apabila memiliki nilai $IC_{50} < 30\mu\text{g/mL}$, moderate aktif apabila memiliki nilai $IC_{50} = 30\mu\text{g/mL}$ dan $IC_{50} < 100\mu\text{g/mL}$, dan dikatakan tidak aktif apabila nilai $IC_{50} > 100\mu\text{g/mL}$, sehingga dapat disimpulkan ekstrak etanol tapak liman memiliki aktivitas sitotoksik dengan klasifikasi moderate aktif..

Tabel 2. Persen kematian ekstrak etanol tapak liman terhadap sel T47D dengan metode MTT dengan seri kadar 1000 µg/ml sampai 31,25 mg/mL

| No | Kadar µg/ml | Log kadar | %Kematian | | | Probit | | |
|----|-------------|-----------|-----------|-------|-------|--------|--------|--------|
| | | | R1 | R2 | R3 | R1 | R2 | R3 |
| 1 | 1000 | 3,000 | 99,44 | 99,17 | 99,30 | 7,5364 | 7,3954 | 7,4373 |
| 2 | 500 | 2,699 | 97,27 | 98,08 | 98,22 | 6,268 | 7,0706 | 7,1015 |
| 3 | 250 | 2,398 | 86,58 | 83,06 | 83,60 | 6,1077 | 5,9581 | 5,9782 |
| 4 | 125 | 2,097 | 58,96 | 60,99 | 60,18 | 5,2533 | 5,2767 | 5,2585 |
| 5 | 62,5 | 1,796 | 55,04 | 35,14 | 52,47 | 5,1257 | 4,6174 | 5,0627 |
| 6 | 31,25 | 1,495 | 39,61 | 45,02 | 44,48 | 4,7363 | 4,8704 | 4,8617 |

4. Uji Apoptosis Tapak Liman terhadap Sel Kanker Payudara T47D dengan Metode Double Staining

Metode ini digunakan untuk mendeteksi apoptosis secara cepat. *Acridine Orange* memberikan pewarnaan baik pada sel hidup maupun pada sel yang mati. *Akridine Orange* akan menembus semua sel dan membuat inti sel tampak berwarna hijau. *Ethidium bromide* (EB) akan memberikan warna merah yang menandakan kematian sel karena sel kehilangan integritas membran sitoplasmanya. Pengujian *double staining* menggunakan kadar pengujian IC_{50} sebesar 59 $\mu\text{g/ml}$ dengan kontrol sel. Sel hidup akan berfluoresensi hijau terang dalam inti sebagai kondensasi kromatin dan fragmentasi pada inti. Sel yang diberi perlakuan ekstrak etanol tapak liman dengan konsentrasi IC_{50} memperlihatkan karakteristik apoptosis pada tahap akhir yang ditandai dengan warna orange (sel mati) ini dikarenakan ada interaksi dengan *ethidium bromide*.

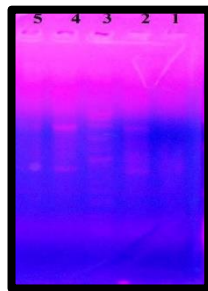


Gambar 3. Hasil Pengecatan sel T47D dengan *acridine orange* dan *ethidium bromide* (AO-EB).
Keterangan: a. Kontrol sel, b. senyawa tapak liman 59 $\mu\text{g/ml}$

Berdasarkan hasil pengamatan dengan metode *acridin orange* dan *ethidium bromide* (AO-EB) kontrol sel hanya terlihat fluoresensi hijau karena hanya menyerap *acridine orange*, *ethidium bromide* tidak dapat masuk pada kontrol sel karena integritas membran sel masih baik. Sedangkan pada kontrol DMSO terlihat fluoresensi hijau dengan sedikit fluoresensi merah hal ini menandakan bahwa pelarut DMSO tidak bersifat sitotoksik terhadap sel. Selain itu pada sel dengan perlakuan juga terlihat adanya fragmentasi inti sel yang kemudian menjadi badan-badan apoptosis. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak etanol terhadap sel T47D. Sel yang mengalami apoptosis menyebabkan perubahan permeabilitas membran sel (Nurkhasanah *et al.*, 2015).

5. Pengujian Fragmentasi DNA

Analisis pengujian fragmentasi DNA oleh ekstrak etanol daun tapak liman terlihat dari elektroforesis yang ditunjukkan pada media gel agarose. terbentuknya pita DNA pada agarose menunjukkan gambaran dari spesifikasi pengamatan apoptosis yang terlihat pada gambar 2 Gambar tersebut menunjukkan bahwa pada tiap konsentrasi pada ekstrak etanol mengalami fragmentasi DNA. Adanya pita DNA pada gambar tersebut karena adanya aktivitas pembelahan sebagai karakteristik utama dalam mekanisme apoptosis.



Gambar 4. Hasil Fragmentasi DNA ekstrak etanol Tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) dengan kadar ekstrak (1) Kontrol sel; (2) 1/8 IC₅₀; (3) Marker; (4) 1/4 IC₅₀; (5) 1/2 IC₅₀

Fragmentasi DNA merupakan tanda khas pada proses apoptosis, yang terjadi karena pengaktifan caspase (terutama caspase-3) atau

DFF45 (*DNA Fragmentation Factor-45*) oleh senyawa apoptotik yang kemudian diikuti oleh aktivasi endonuklease. Pengaktifan DFF45 terjadi dengan pemotongan pada residu D yang kemudian memacu aktivitas DFF40 nuclease, penyebab fragmentasi DNA. Proses apoptosis berbeda dengan nekrosis. Nekrosis merupakan kematian sel yang terjadi pada organisme hidup yang dapat disebabkan oleh injury maupun infeksi. Pada nekrosis terjadi perubahan pada inti yang pada akhirnya dapat menyebabkan inti menjadi lisis dan membrane plasma menjadi rupture. Pada apoptosis terjadi kematian sel yang terprogram dan membran inti tidak ruptur, dan inti mengalami fragmentasi yang kemudian mengirimkan sinyal kepada sel yang berada didekatnya untuk difagosit. Fagositosis oleh makrofag maupun sel di sekelilingnya mengakibatkan fragmentasi DNA menjadi apoptotic body (jisim apoptotik) sehingga Fragmen DNA ini terlihat pada elektroforesis gel agarose (Sharif-Askari, *et al.*, 2001).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L. L.) mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai IC₅₀ 59 µg/µl., dengan mekanisme induksi apoptosis.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementrian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi ataspendanaan Hibah Penelitian Produk Terapan 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A.R., Sakinah., Wisdawati., Waode Asrifa, 2014, Study of Antioxidant activity and determination of Phenol and Flavonoid content of Pepino's Leaf extract (*Solanum muricatum* Aiton), *International Journal of PharmTech Research*, 6, 2: 600-606.
- Ghobrial, I. M., Witzig, T. E., Adjei, A. A., 2005, Targeting Apoptosis Pathways in Cancer Therapy, CA: A Cancer. *Journal for Clinicians*, 55: 178–194.
- King, R.J.B., 2000, *Cancer Biology*, 2 nd ed., Pearson Education Limited, London.
- Nurani, Laela Hayu, 2011. Uji Sitotoksitas dan Antiproliferatif Sel Kanker Payudara T47D dan Sel Vero Biji Nigella Sativa, L., *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 2, 1, 17 – 29.
- Nurkhasanah, 2013, Efek Sitotoksik Dan Pemacuan Apoptosis Fraksi Petroleum Eter Ekstrak Etanol Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* Linn) terhadap sel Hela, *Pharmaciana*, 3, 2, 1 – 7.
- Nurkhasanah, Trisnamurti, K.C., Gunaryanti, R.D., Widyastuti, T., 2015, The Screening Of Cytotoxic Fraction From *Elephantopus scaber* Linn against Human Cervical Cancer (Hela) Cells. *Int. J. Pharma Sci. Res*, 6, 1011–1014.
- Nurkhasanah, Sulistyani N., Mahdi L., 2017, Chloroform fraction of ethanolic extract of *Elephantopus scaber* Linn. increase the p53 expression on human breast cancer (T47D) cell line, *Pharmaciana*: 7, 2.
- Sukardiman., Ekasari, W., Hapsari, P.P., 2006, Aktivitas Antikanker dan Induksi Apoptosis Fraksi Kloroform Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma, *Media Kedokteran Hewan*, 22, 2.
- Wang J, Wei Q, Wang CY, Hill D, 2004, Minocycline Up Regulates And Protects Against Cell Death In Mitochondria, *J Biol Chem*, 279, 199 48-54.
- Wang., Nan, S.J.P., Zhong ,Y., 2004, Chemical Composition of the Essential Oil of *Elephantopus scaber* from Southern China. *Z., Naturforsch.* 59, 327-329.