

# POTENSI SITOTOKSIK EKSTRAK BUAH PARIJOTO (*Medinilla speciosa*) TERPURIFIKASI PADA SEL KANKER SERVIKS HELA

## *Cytotoxic Potential of Purified Parijoto Fruit Extracts (Medinilla speciosa) in Cervical Cancer Cells (HeLa)*

Sarah Melinda<sup>(1)</sup>, Eva Annisaa<sup>\*(1\*)</sup>, Widyandani Sasikirana<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Program Studi Farmasi, Universitas Diponegoro

Email : [evaannisaa@lecturer.undip.ac.id](mailto:evaannisaa@lecturer.undip.ac.id)

### ABSTRAK

Kanker terus menjadi masalah kesehatan utama, salah satu jenis penyakit kanker yang banyak diidap oleh wanita di Indonesia ialah kanker serviks. Bahan herbal telah banyak digunakan dalam pengobatan kanker oleh masyarakat, namun penelitian lebih lanjut mengenai khasiat farmakologinya masih belum banyak dilakukan, salah satunya buah parijoto (*Medinilla speciosa*). Salah satu senyawa dalam tanaman herbal yang diduga bersifat antioksidan dan berpotensi sitotoksik ialah alkaloid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak buah parijoto terpurifikasi secara *in vitro* pada sel kanker serviks HeLa. Buah parijoto diekstraksi dengan melakukan maserasi menggunakan etanol 70%. Rendemen dihitung dan difraksinasi dengan pelarut bertingkat sesuai kepolaran. Tiap fraksi rendemen dihitung dan dianalisis secara semi-kuantitatif menggunakan KLT. Tiap fraksi ekstrak buah parijoto diukur kadar total alkaloid dan didapatkan kadar total alkaloid tertinggi pada fraksi etil asetat sebesar 62,15%. Analisis sitotoksik dilakukan pada sel line HeLa menggunakan MTT *assay* dan didapatkan hasil IC<sub>50</sub> terendah pada fraksi etil asetat sebesar 95,48 µg/mL. Analisis data dilakukan melalui analisis korelasi antara variabel kadar total alkaloid dan nilai IC<sub>50</sub> menggunakan analisis korelasi Pearson dan didapatkan hasil bahwa kadar total alkaloid dan nilai IC<sub>50</sub> berkorelasi sangat kuat dan signifikan ( $r = -0,98$ ).

**Kata kunci :** Ekstrak parijoto, Sitotoksik, Sel HeLa, Alkaloid.

### ABSTRACT

Cancer continues to be a major health problem, one type of cancer that many women in Indonesia suffer from is cervical cancer. Herbs have been widely used in the treatment of cancer by the community, but there are still not many further studies regarding their pharmacological properties, one of which is Parijoto fruit (*Medinilla speciosa*). One of the compounds in herbal plants that is thought to have antioxidant properties and has the potential to be cytotoxic is alkaloids. This study aims to determine the cytotoxic activity of purified parijoto fruit extract *in vitro* on cervical cancer cells HeLa. Parijoto fruit was extracted by maceration using 70% ethanol. The yield was calculated and fractionated with the solvent graded according to the polarity. Each yield fraction was calculated and analyzed semi-quantitatively using TLC. Each parijoto fruit extract fraction measured the total alkaloid content and the highest total alkaloid content was found in the ethyl acetate fraction of 62.15%. The cytotoxic analysis was performed on HeLa cell line using MTT

assay and the lowest  $IC_{50}$  results were obtained at an ethyl acetate fraction of 95.48  $\mu\text{g} / \text{mL}$ . Data analysis was performed through correlation analysis of the two variables using Pearson correlation analysis and it was found that the total alkaloid content and the  $IC_{50}$  value had a very strong and significant correlation ( $r = -0.98$ ).

**Keywords:** *Parijoto fruit extract, cytotoxic activity, HeLa cervical cancer cells, alkaloid.*

## PENDAHULUAN

Kanker menjadi masalah kesehatan utama hingga kini. Pada tahun 2018, sekitar 18,1 juta kematian diakibatkan oleh kanker. Angka kejadian penyakit kanker di Indonesia berada pada urutan ke-8 di Asia Tenggara (136.2 per 100.000 penduduk), sedangkan di Asia urutan ke-23. Angka kejadian kanker tertinggi ke-2 pada perempuan ialah kanker serviks sebesar 23,4 per 100.000 penduduk dengan rata-rata kematian 13,9 per 100.000 penduduk. Menurut perkiraan Kementerian Kesehatan RI saat ini, jumlah penderita baru kanker serviks berkisar pada 90-100 kasus per 100.000 penduduk dan terjadi 40.000 kasus kanker serviks di setiap tahun (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2021).

Penyebab kanker serviks adalah virus HPV (*Human Papillomavirus*) sub-tipe onkogenik, terutama pada subtipe 16 dan 18. Sel normal yang terinfeksi virus HPV akan bertransformasi menjadi sel kanker serviks atau sel HeLa, sebuah *cell continuous line* yang dapat dikultur. Terjadinya kanker serviks mungkin diakibatkan oleh beberapa faktor risiko, antara lain berhubungan seksual dengan multi partner, penyakit menular seksual, gangguan imunitas, dan merokok. Perubahan gaya hidup masyarakat yang saat ini menjadikan aktivitas merokok sebagai sebuah tren dinilai berkontribusi terhadap peningkatan prevalensi kanker serviks

(Austin, 2011). Paparan asap rokok berlebihan dapat merusak struktur DNA, protein dan lipid, yang dipicu oleh stres oksidatif (Patel *et al.*, 2008). Stres oksidatif dapat mengurangi potensi sistem pertahanan biologis manusia. Antioksidan sangat diperlukan oleh tubuh untuk mengatasi dan mencegah stres oksidatif. Berbagai bahan alam asli Indonesia banyak mengandung antioksidan dengan berbagai bahan aktifnya, salah satunya tanaman parijoto (*Medinilla speciosa*).

Parijoto (*Medinilla speciosa*) adalah salah satu tanaman budidaya yang terkenal di Pegunungan Muria Kabupaten Kudus. Parijoto lebih banyak ditemukan di dataran tinggi dibandingkan di dataran rendah. Buah parijoto yang tumbuh di dataran rendah tidak menghasilkan buah sebaik di dataran tinggi. Beberapa penelitian telah dilakukan terhadap buah parijoto. Penelitian mengenai aktivitas antioksidan dan sitotoksik buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki potensi paling tinggi ( $IC_{50}$  antioksidan = 1,77  $\mu\text{g}/\text{mL}$  dan  $IC_{50}$  sitotoksik = 133.57  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) dibanding fraksi metanol dan n-heksan (Annisaa', 2021). Hasil penelitian lain menyebutkan adanya senyawa fenol, flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid pada tanaman genus *Medinilla* (Niswah, 2014; Vifta, 2018). Alkaloid diketahui mempunyai khasiat sebagai antioksidan, selain itu dapat

berperan menjadi *tubulin inhibitor* serta *topoisomerase II inhibitor* sehingga sitotoksik bagi sel kanker.

Penelitian ini bertujuan untuk menelusuri aktivitas sitotoksik ekstrak buah parijoto terhadap sel kanker serviks HeLa dan kaitannya dengan senyawa alkaloid sebagai antioksidan. Hal ini dapat memberikan informasi penting mengenai potensi buah parijoto sebagai antikanker secara *in vitro* pada sel kanker serviks HeLa.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

**Alat:** Corong pisah, bejana KLT, bejana maserasi, blender, ELISA reader, erlenmeyer, gelas ukur, gelas beaker, kain penyaring, kertas saring, *magnetic stirrer*, LAF, mikropipet, microplate 96-well, neraca analitik, pengaduk, plate silica gel F254, tip, *rotary evaporator*, lampu UV, tabung reaksi, *waterbath*.

**Bahan:** Amonium hidroksida, anisaldehyd, aquabidest steril, aquades, asam asetat glasial, asam format, asam sulfat, buah parijoto (*Medinilla speciosa Bl.*) yang telah dilakukan determinasi di Departemen Biologi FSM UNDIP, DMSO, etanol 70% p.t, etanol p.t, etil asetat p.t, etil asetat p.a, kloroform p.a, metanol p.t, metanol p.a, n-heksana p.t, RPMI (*Rosewell Park Memorial Institute*) 1640 (Sigma-Aldrich, Germany), MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromide] (Merck, Germany), NH<sub>4</sub>OH pekat, *Phosphate Bovine Serum* (PBS) (Gibco, South America), reagen stopper Sodium Dodecyl Sulphate (SDS) (Merck, Germany), reagen Dragendorff, sel line HeLa dari koleksi bagian Parasitologi FK UGM.

### Metode Penelitian

Buah parijoto (*Medinilla speciosa*) yang telah dibersihkan kemudian dihaluskan dengan blender dan dimaserasi menggunakan etanol teknis 70% dengan perbandingan 1:1. Ekstrak hasil maserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring dan corong, setelah itu dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol yang diperoleh diekstraksi cair-cair (purifikasi) dengan berbagai pelarut yaitu n-heksan, etil asetat, dan metanol dengan perbandingan ekstrak dan pelarut sebesar 1:2, kemudian setiap fraksi yang diperoleh dipekatkan dengan *waterbath* suhu 50°C.

Semua sampel (ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol) dilakukan analisis kandungan kimia alkaloid dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Kurang lebih 50 mg masing-masing sampel dilarutkan dalam 10 mL kloroform. Selanjutnya ekstrak ditotolkan sebanyak ± 10 totolan (pada tempat yang sama) pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Noda yang terlihat kemudian ditandai dengan pensil. Plat disemprot dengan pereaksi Dragendorff, dikeringkan, dan noda diamati pada cahaya tampak dan UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Apabila noda berwarna jingga hingga coklat maka sampel dinyatakan positif mengandung alkaloid.

Uji sitotoksik terhadap sel kanker serviks HeLa dilakukan dengan metode MTT. Sel line HeLa di panen dan dihitung untuk 6 konsentrasi, 5 sampel dan 3x replikasi = 100x10<sup>4</sup> sel/well. Disuspensikan sel ke medium RPMI dan dimasukkan ke

dalam plate sebanyak 100 µl/well, kemudian diinkubasi selama 24 jam di inkubator CO<sub>2</sub>. Medium dibuang dan dimasukkan sampel dengan serial dilusi yang berbeda setiap sampel (500 µg/mL; 250 µg/mL; 125 µg/mL; 62,5 µg/mL; 31,25 µg/mL; 15,62 µg/mL), kontrol positif (Doxorubicin 0,625 ppm; 1,25 ppm; 2,5 ppm; 10 ppm, 20 ppm), kontrol negatif (sel), kontrol medium dan kontrol pelarut. Diinkubasi selama 24 jam di inkubator CO<sub>2</sub>. Media kemudian dibuang. Dibuat larutan stok dengan mengambil MTT dalam PBS sebanyak 1 mL (mengandung MTT 5 mg/mL), kemudian diencerkan dengan medium kultur RPMI hingga 10 mL untuk 100 sumuran. Dimasukkan larutan MTT dalam medium RPMI ke 96 well plate sebanyak 100 µl/well dan diinkubasi di inkubator CO<sub>2</sub> selama 3-4 jam sampai kristal formazan terbentuk. Dimasukkan stopper (SDS 10%) ke dalam well sebanyak 100 µl, dibungkus plate dengan kertas aluminium foil dan diinkubasi selama 24 jam pada ruangan dengan tertutup. Kemudian dihitung viabilitas sel menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 545 nm. Nilai IC<sub>50</sub> dihitung berdasarkan hasil data regresi linear plot probit vs log konsentrasi. Nilai tersebut didefinisikan sebagai konsentrasi yang dibutuhkan ekstrak/fraksi dalam menghambat 50% pertumbuhan sel.

$$\begin{aligned} \%inhibisi &= 100\% \\ &- \left( \frac{\text{absorbansi perlakuan} - \text{absorbansi kontrol media}}{\text{absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi kontrol media}} \right) \times 100\% \end{aligned}$$

Analisis kadar total alkaloid dilakukan dengan metode gravimetri yang mengukur bobot endapan terbentuk. Masing-masing sampel ditimbang secara seksama sebanyak 1 g dan dilarutkan dengan 25 mL

larutan asam asetat 10% (dalam etanol). Larutan diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 4 jam dan disaring. Filtrat dievaporasi. Kemudian ditetesi dengan ammonium hidroksida hingga terjadi endapan alkaloid. Kemudian endapan disaring dan dicuci dengan menggunakan larutan amonium hidroksida 1%. Kertas saring yang mengandung endapan dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama 30 menit. Setelah dingin, endapan ditimbang hingga didapatkan bobot yang konstan. Pengujian diulang sebanyak 3 kali. Analisa data dilakukan secara univariat dimana kadar alkaloid yang dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ kadar} = \frac{X2 - X1}{A} \times 100\%$$

Keterangan:

X1 = bobot kertas saring (mg)

X2 = bobot kertas saring + endapan alkaloid (mg)

A = bobot sampel (mg)

Variabel kadar total alkaloid dan nilai IC<sub>50</sub> dianalisis untuk menggunakan uji Pearson untuk mengetahui mengetahui korelasinya.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

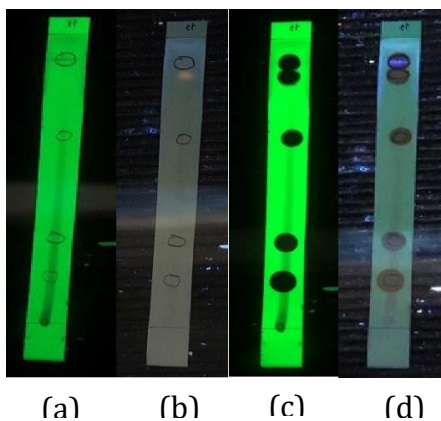
Melalui proses persiapan ekstraksi dari 2.700 gram buah parioto segar berupa sortasi basah diperoleh buah parioto yang layak guna sebesar 2.134 gram. Buah segar selanjutnya dimaserasi dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental berwarna merah tua sebanyak 86,771 gram sehingga rendemen yang diperoleh sebesar 4,06%.

Ekstrak kental etanol buah pari-joto selanjutnya dilakukan purifikasi dengan metode fraksinasi bertingkat cair-cair. Didapatkan hasil sebagai berikut:

Jenis Fraksi	Bobot yang Didapat (g)	Rendemen (%)
Fraksi n-heksana	8,99	20,73 %
Fraksi etil asetat	1,68	3,87 %
Fraksi metanol	4,79	11,04 %

Tabel 1. Hasil Ekstraksi dan Purifikasi Buah Parijoto.

Hasil analisis kandungan pada ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi metanol menunjukkan positif mengandung senyawa alkaloid (Tabel 2) yang ditandai dengan dengan perubahan warna noda menjadi jingga, merah, ataupun coklat jika diamati di bawah sinar UV 366 nm (Gambar 1).



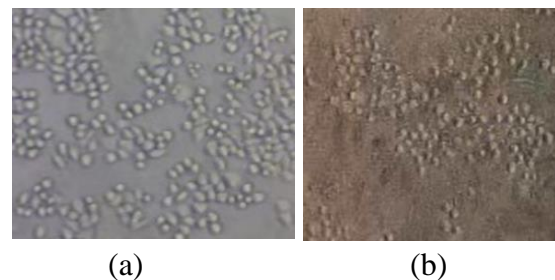
Gambar 1. Perubahan Warna Bercak pada KLT di Bawah Sinar UV. (a):sebelum disemprotkan Dragendorff  $\lambda = 254$  nm; (b):

sebelum disemprotkan Dragendorff  $\lambda = 366$  nm; (c): setelah disemprotkan Dragendorff  $\lambda = 254$  nm; (d): setelah disemprotkan Dragendorff  $\lambda = 366$  nm

Jenis Sampel	Hasil Uji Alkaloid
Ekstrak etanol	+
Fraksi n-heksana	+
Fraksi etil asetat	+
Fraksi metanol	+

Tabel 2. Hasil Identifikasi Alkaloid

Hasil uji sitotoksik ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol terhadap sel kanker serviks HeLa menunjukkan adanya perubahan morfologi pada sel. Berdasarkan pengamatan secara mikroskopis, pemberian perlakuan berupa fraksi etil asetat terhadap sel HeLa memberikan efek terhadap viabilitas sel yang dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Morfologi sel HeLa setelah inkubasi 48 jam : (a) sel tanpa perlakuan; (b) sel dengan perlakuan ekstrak etil asetat buah pari-joto konsentrasi 500  $\mu\text{g/mL}$ .

Berdasarkan hasil perhitungan, didapat nilai  $IC_{50}$  dari tiap sampel sebagai berikut:

<b>Sampel</b>	<b>Nilai IC<sub>50</sub> (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>
Ekstrak etanol	173,88
Fraksi n-heksana	216
Fraksi etil asetat	95,48
Fraksi metanol	271,84

Tabel 3. Nilai IC<sub>50</sub> Setiap Sampel

Pada perhitungan kadar total alkaloid dengan metode gravimetri, didapatkan data sebagai berikut:

<b>Sampel</b>	<b>Total Kadar Alkaloid (%)</b>
Ekstrak etanol	27,50
Fraksi n-heksana	18,22
Fraksi etil asetat	62,15
Fraksi metanol	6,17

Tabel 4. Hasil Perhitungan Kadar Total Alkaloid

Analisis korelasi dilakukan dengan metode Pearson. Hasil yang didapatkan berupa nilai koefisien korelasi sebesar -0,98.

## Pembahasan

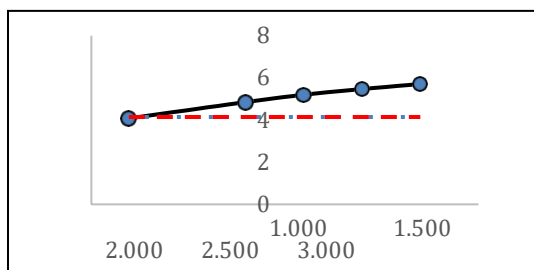
Ekstrak buah parijoto dilakukan purifikasi sehingga diperoleh beberapa fraksi, yaitu fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol. Semua sampel kemudian dilakukan identifikasi alkaloid dengan KLT. Berdasarkan hasil yang diperoleh, semua sampel positif mengandung alkaloid yang ditandai dengan dengan

perubahan warna noda setelah disemprotkan reagen Dragendorf menjadi jingga, merah, ataupun coklat jika diamati di bawah sinar UV 366 nm. Hal ini sesuai dengan literatur menurut Vifta (2018) bahwa ekstrak buah parijoto mengandung alkaloid.

Pada uji sitotoksik dengan MTT *assay* didapatkan bahwa sampel ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi metanol memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker serviks HeLa. Pemberian perlakuan berupa ekstrak maupun fraksi-fraksi dari buah parijoto terhadap sel HeLa menyebabkan perubahan morfologi sel. Apabila diamati di bawah mikroskop *inverted*, sel yang tidak diberikan perlakuan tampak berbentuk bulat dengan permukaan yang lebar. Sel yang mati memiliki morfologi yang khas yaitu berbentuk bulat kecil, mengambang, dan tampak keruh (Pebriana *et al.*, 2008).

Aktivitas sitotoksik juga dilihat dari nilai nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi metanol berturut-turut sebesar 163  $\mu\text{g/mL}$ ; 200  $\mu\text{g/mL}$ ; 92,66  $\mu\text{g/mL}$ ; dan 239,25  $\mu\text{g/mL}$  (Tabel 3). Aktivitas sitotoksik fraksi etil asetat tergolong sebagai sitotoksik potensial dengan nilai IC<sub>50</sub> < 100  $\mu\text{g/mL}$ , hal ini sesuai dengan penelitian Prayong (2008). Ekstrak etanol, fraksi n-heksan dan fraksi metanol tergolong sebagai agen sitotoksik moderat dengan rentang nilai IC<sub>50</sub> sebesar 100-1000  $\mu\text{g/mL}$ . Berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh, terlihat fraksi etil asetat yang bersifat paling sitotoksik. Fraksi etil asetat dapat digunakan sebagai dasar untuk isolasi senyawa murni dari tumbuhan yang berpotensi sebagai agen kemopreventif. Jika diamati pada kurva (Gambar 3), dapat adanya

peningkatan konsentrasi fraksi etil asetat akan berbanding lurus dengan nilai probit dari persentase inhibisi sel. Konsentrasi fraksi etil asetat yang meningkat mengakibatkan peningkatan jumlah sel yang mati, sehingga semakin sitotoksik fraksi tersebut terhadap sel kanker serviks HeLa.



Gambar 3. Kurva log konsentrasi vs. probit % inhibisi sel pada fraksi etil asetat

Pada penetapan kadar alkaloid pada semua sampel, persentase kadar alkaloid total tertinggi ada pada fraksi etil asetat dengan kadar 62,15% (Tabel 4). Hal tersebut dikarenakan alkaloid yang terdapat dalam buah parijoto banyak terdistribusi pada pelarut yang semipolar. Menurut Harborne (1987) alkaloid mudah ditemukan dalam pelarut polar karena golongan senyawa alkaloid dapat terfraksi pada pelarut yang bersifat polar maupun semipolar.

Persentase kadar total alkaloid dan nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh kemudian dilakukan uji korelasi Pearson guna mengetahui keeratan hubungan kedua variabel. Kandungan total alkaloid sampel (ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi metanol) terhadap aktivitas sitotoksik (nilai  $IC_{50}$ ) pada sel HeLa memiliki korelasi yang dinyatakan dalam nilai koefisien korelasi Pearson sebesar -0,980. Korelasi antara total kadar alkaloid dengan nilai  $IC_{50}$  setiap sampel berkorelasi sangat kuat ( $0,75 \leq$

$r \leq 0,99$ ). Tanda negatif pada nilai  $r$  menunjukkan bahwa perubahan nilai variabel akan diikuti dengan nilai variabel lainnya dengan arah berlawanan (Schober, 2018). Jika total kadar alkaloid dari sampel tinggi, maka nilai  $IC_{50}$  sampel tersebut akan rendah sehingga toksisitas pada sel HeLa akan meningkat dan sebaliknya.

Alkaloid memiliki potensi sitotoksik melalui mekanisme penghambatan enzim topoisomerase II yang mengakibatkan p53 sebagai gen supresor tumor aktif kembali dan memicu apoptosis sel kanker (Sukardiman, 2006). Peran lain dari alkaloid yaitu dapat mengikat tubulin (protein penyusun mikrotubulus) sehingga dapat menghambat polimerase protein dan proliferasi sel terganggu (Bertomi, 2011). Selain bersifat sitotoksik, senyawa alkaloid juga berpotensi mencegah terbentuknya sel kanker karena berperan sebagai antioksidan. Mekanisme alkaloid sebagai antioksidan ialah dengan mendonorkan atom H pada radikal bebas, sehingga radikal bebas akan stabil dalam bentuk RH dan kerusakan oksidatif seperti pengerasan lipid dapat dicegah (Harborne, 1987).

## KESIMPULAN

Ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) terpurifikasi berpotensi sitotoksik dan aktivitas sitotoksik paling poten ditemukan pada fraksi etil asetat nilai  $IC_{50}$  sebesar 95,48  $\mu\text{g/mL}$ . Total kadar senyawa alkaloid dari ekstrak buah parijoto terpurifikasi memiliki korelasi negatif dan signifikan terhadap nilai  $IC_{50}$ . Korelasi tersebut dinyatakan dalam koefisien korelasi Pearson ( $r$ ) sebesar -0,980 dan tergolong memiliki korelasi yang kuat.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro yang telah mendanai penelitian ini melalui Program Hibah Penelitian (SK Dekan No. 68/UN7.5.4/HK/2019).

## DAFTAR PUSTAKA

- Annisaa', E., Sasikirana, W., Ekawati, N., dan Dini I.R.E. (2021) 'Correlation Between Antioxidant and Cytotoxic Activity of Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Fractions in 4T1 Cell Line', *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 12(1),pp. 21-27. doi: <https://doi.org/10.14710/genres.v1i2.11100>.
- Austin, D. F. (2011) 'Smoking and Cervical Cancer', *Journal of the American Medical Association*. 250(4), pp. 516–517. doi: [10.1001/jama.1983.03340040056033](https://doi.org/10.1001/jama.1983.03340040056033).
- Bertomi R. (2011) 'Uji Toksisitas Akut Ekstrak Kulit Batang Pulasari (*Alyxiae cortex*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST)' *Skripsi*. Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Harborne, J.B. (1987) *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2021) *Panduan Penatalaksanaan Kanker Serviks* [Available from: <http://kanker.kemkes.go.id/guidelines/PPKServiks.pdf> accessed 29 mei 2021].
- Niswah, L. (2014) 'Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Menggunakan Metode Difusi Cakram'. *Skripsi*. Farmasi. Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Patel, B.P., Rawal, U.M., Rawal, R.M., Shukla, S.N., Patel, P.S. (2008) 'Tobacco, Antioxidant Enzymes, Oxidative Stress, and Genetic Susceptibility in Oral Cancer', *American Journal of Clinical Oncology Cancer Clinical Trials*, 31(5),pp. 454-9. doi: [10.1097/COC.0b013e31816a61da](https://doi.org/10.1097/COC.0b013e31816a61da).
- Pebriana, R.B., Wardhani, B.W.K., Widayanti, E., Wijayanti, N.L.S., Wijayanti, T.R., Riyanto, S., Meiyanto E. (2008) 'Pengaruh Ekstrak Metanolik Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap Pemacuan Apoptosis Sel Kanker Payudara', *Pharmakon*, 1(9),pp. 21–26. URI: <http://hdl.handle.net/11617/971>.
- Prayong, P., Barusrux, S., Weerapreeyakul, N. (2008) 'Cytotoxic Activity Screening of Some Indigenous Thai Plants', *Fitoterapia*, 79(7-8),pp. 598-601. doi: [10.1016/j.fitote.2008.06.007](https://doi.org/10.1016/j.fitote.2008.06.007).
- Schober, P., Schwarte, L.A. (2018) 'Correlation Coefficients: Appropriate Use and Interpretation'. *Anesthesia & Analgesia*, 126(5), pp. 1763-1768. doi: [10.1213/ANE.0000000000002864](https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000002864).
- Sukardiman, W., Hapsari, P. 2006. 'Aktivitas Antikanker dan Induksi Apoptosis Fraksi Kloroform Daun Pepaya



(*Carica papaya* L) terhadap Kultur Sel Kanker Mieloma'. *Media Kedokteran Hewan*, 22(2),pp. 104-111.

Vifta, R.L., Advistasari, Y.D. (2018) 'Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan

Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.)'. *Prosiding Seminar Nasional*, Universitas Muhammadiyah Semarang