

**UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL  
DAGING KENTANG HITAM (*Coleus tuberosus*)  
TERHADAP SEL T47D,  
PENELITIAN *IN-VITRO***

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Sebagian Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran  
Pada Fakultas Kedokteran  
Universitas Kristen Duta Wacana



Disusun oleh  
Henrika Setyawati  
41090018

FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA  
YOGYAKARTA  
2013

## LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan judul :

### UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL DAGING KENTANG HITAM (*Coleus tuberosus*) TERHADAP SEL T47D PENELITIAN *IN-VITRO*

Telah diajukan dan dipertahankan oleh :

**HENRIKA SETYAWATI**

**41 09 0018**

dalam Ujian Skripsi Program Studi Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran

Universitas Kristen Duta Wacana

dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran pada tanggal 19 Agustus 2013

**Nama Dosen**

**Tanda Tangan**

1. Prof. dr. Jonathan Willy Siagian, Sp.PA :  
(Dosen Pembimbing I / Ketua Tim)
2. drg. MM. Suryani Hutomo, MDSc :  
(Dosen Pembimbing II)
3. dr. J.B. Soebroto, Sp.PA :  
(Dosen Penguji)



**Yogyakarta, Agustus 2013**

**Disahkan oleh :**

Dekan,

Wakil Dekan Bidang Akademik



**(Prof. dr. J. Willy Siagian, Sp.PA)**



**(dr. Sugiyanto, Sp.S, M.Kes, Ph.D)**

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya menyatakan bahwa sesungguhnya skripsi dengan judul :

**Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Daging Kentang Hitam (*Coleus tuberosus*)  
terhadap Sel T47D, Penelitian *In-Vitro***

yang saya kerjakan untuk melengkapi sebagian syarat untuk menjadi Sarjana pada Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta, adalah bukan hasil tiruan atau duplikasi dari karya pihak lain di Perguruan Tinggi atau instansi manapun, kecuali bagian yang sumber informasinya sudah dicantumkan sebagaimana mestinya.

Jika di kemudian hari didapati bahwa hasil skripsi ini adalah hasil plagiasi atau tiruan dari karya pihak lain, maka saya bersedia dikenai sanksi yakni pencabutan gelar saya.

Yogyakarta, Agustus 2013



( Henrika Setyawati )

41090018

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yesus Kristus yang telah melimpahkan berkat, kasih, dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Sitotoksitas Ekstak Etanol Daging Kentang Hitam (*Coleus tuberosus*) terhadap Sel T47D, Penelitian *In-Vitro*” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh derajat Sarjana Kedokteran dari Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada berbagai pihak yang telah mendukung, membantu, mengarahkan, dan membimbing penulis mulai dari penelitian hingga terselesaikannya penulisan skripsi ini, yaitu :

1. Prof. dr. Jonathan Willy Siagian, Sp. PA selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana yang telah memberikan ijin terlaksananya penelitian ini, sekaligus sebagai dosen pembimbing I atas doa, waktu, bimbingan, dukungan dan arahan selama penelitian dan penyusunan skripsi.
2. drg. MM. Suryani Hutomo, MDSc. selaku dosen pembimbing II yang telah bersedia meluangkan doa, waktu, memberikan dukungan, semangat, bimbingan, dan arahan dari awal penelitian hingga penyusunan skripsi.
3. dr. J.B. Soebroto, Sp. PA selaku dosen penguji atas ilmu, bimbingan, dan arahan yang menyempurnakan penyelesaian skripsi.

4. Dra. Ety Istriani, M.M. selaku dosen pembimbing akademik yang selalu bersedia mendengarkan keluh kesah, mendoakan, menyemangati, dan memberikan bimbingan selama kegiatan studi berlangsung.
5. Bapak Y. Triyadi, S.H. dan Ibu E. Siti Rahayu, S.SiT., kedua orang tua yang selalu mengisi hari - hari dengan doa, cinta, dan dukungan dalam menjemput mimpi melalui skripsi ini sebagai salah satu fase jelmaannya.
6. Ibu Tri Yulianti, SKM dan seluruh karyawan Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada yang telah banyak membantu dan mendukung kelangsungan penelitian ini.
7. Mas Bibit dan seluruh karyawan Laboratorium Unit II Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada atas bantuannya selama kegiatan penelitian berlangsung.
8. Dr. Francis Borgias Alip, M.Pd., M.A., Bapak Kuntoyo dan seluruh karyawan Pusat Penerjemahan Lembaga Bahasa Universitas Sanata Dharma untuk bantuannya dalam penyelesaian skripsi.
9. Seluruh dosen dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana untuk setiap dukungan, ilmu, dan suasana pembelajaran yang menyenangkan.
10. Eyang Monica Sarmini, Mbak Francisca Widiyani, dan Adik Alfonsius Darma Setiyawan, keluarga dan saudara yang senantiasa mendoakan, menyemangati, dan mendukung setiap langkah kehidupan, termasuk penyelesaian skripsi ini.

11. Sahabat - sahabat terbaik Mas Apollonius Bimoseno Rayca W., Kak Eirene Sophie M.W.H., Kadek Sinthia Grahita, Rozalia Valenda Von Bullow, Kak Charlina Amelia br. Barus, Rachel Cynthia, Mas Haryo Dimasto Kristiyanto, Albertus Dimas A., Kak Yakobus Transly Tivens, Chandra Kurniawan yang dengan sabar menemani jalannya penelitian, serta teman - teman Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana atas kebersamaan, doa, dukungan, semangat, dan keceriaan yang selalu dihadirkan.
12. Semua pihak yang telah membantu pelaksanaan dan penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Tulisan ini masih jauh dari sempurna, sehingga penulis berharap saran dan masukan sehingga karya ini akan lebih baik untuk dijadikan sebagai wawasan baru sehingga dapat digunakan untuk menghasilkan karya - karya selanjutnya. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat dimanfaatkan sebaik - baiknya oleh pembaca dan berguna bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Yogyakarta, Agustus 2013

Penulis,

Henrika Setyawati

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
ABSTRAK .....	xii
ABSTRACT .....	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Penelitian .....	2
D. Manfaat Penelitian .....	2
E. Keaslian Penelitian.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
A. Landasan Teori.....	4
1. Kentang Hitam ( <i>Coleus tuberosus</i> ) .....	4
2. Sel T47D.....	7
B. Kerangka Konsep.....	8
C. Hipotesis .....	9
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>10</b>
A. Desain Penelitian.....	10
B. Tempat dan Waktu Penelitian.....	10
C. Identifikasi Variabel.....	10
D. Definisi Operasional.....	11
E. Bahan dan Alat.....	12
F. Pelaksanaan Penelitian .....	13
G. Skema Jalannya Penelitian .....	15
H. Pengolahan Data .....	17
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>18</b>
A. Hasil .....	18
B. Pembahasan .....	25
<b>BAB V PENUTUP .....</b>	<b>31</b>
A. Kesimpulan.....	31
B. Saran.....	31

DAFTAR PUSTAKA .....	32
LAMPIRAN .....	37
DAFTAR RIWAYAT HIDUP .....	49

©UKDW



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kandungan gizi kentang hitam .....	6
Tabel 2. Persentase kematian sel T47D pada pemberian konsentrasi kelipatan ekstrak etanol daging kentang hitam.....	20
Tabel 3. Persentase kematian sel T47D pada pemberian seri konsentrasi doksorubisin.....	24

©UKDW

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Bagian bawah tanaman, bagian tunas dan bunga kentang hitam ..	5
Gambar 2. Struktur kimia <i>ursolic acid</i> , <i>oleanic acid</i> dan <i>maslinic acid</i> .....	6
Gambar 3. Kultur sel T47D dengan kerapatan $2 \times 10^4$ sel/100 $\mu$ l setelah starvasi selama 24 jam .....	18
Gambar 4. Foto sel T47D setelah 24 jam perlakuan ekstrak etanol daging kentang hitam pada konsentrasi kelipatan 250 $\mu$ g/ml .....	19
Gambar 5. Pencitraan mikroskopik kristal formazan yang terbentuk pada sel T47D .....	20
Gambar 6. Grafik sitotoksitas konsentrasi kelipatan ekstrak etanol daging kentang hitam terhadap persentase kematian sel T47D .....	22
Gambar 7. Grafik sitotoksitas seri konsentrasi doksorubisin terhadap persentase kematian sel T47D .....	25

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Keterangan Kelaikan Etik.....	37
Lampiran 2. Surat Ijin Penelitian Menggunakan LPPT .....	38
Lampiran 3. Surat Keterangan Hasil Determinasi Tanaman Kentang Hitam .....	39
Lampiran 4. Hasil Pembacaan <i>96-well plate spectrophotometer</i> untuk Uji Sitotoksisitas Doksorubisin terhadap Sel T47D .....	40
Lampiran 5. Perhitungan Persentase Kematian Sel T47D pada Uji Sitotoksisitas Doksorubisin terhadap Sel T47D .....	41
Lampiran 6. Hasil Analisis <i>One-Sample Wilcoxon</i> untuk Validitas Pengukuran <i>96-well plate spectrophotometer</i> untuk Uji Sitotoksisitas Doksorubisin .....	42
Lampiran 7. Hasil Analisis Regresi Linear Uji Sitotoksisitas Doksorubisin terhadap Sel T47D .....	43
Lampiran 8. Hasil Pembacaan <i>96-well plate spectrophotometer</i> untuk Uji Sitotoksisitas Doksorubisin terhadap Sel T47D .....	44
Lampiran 9. Perhitungan Persentase Kematian Sel T47D pada Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Daging Kentang Hitam terhadap Sel T47D.....	45
Lampiran 10. Hasil Analisis <i>One-Sample Wilcoxon</i> untuk Validitas Pengukuran <i>96-well plate spectrophotometer</i> untuk Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Daging Kentang Hitam .....	46
Lampiran 11. Hasil Analisis Regresi Linear Uji Sitotoksisitas Ekstrak Etanol Daging Kentang Hitam terhadap Sel T47D.....	47
Lampiran 12. Surat Keterangan Bebas Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu .....	48

## Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Daging Kentang Hitam (*Coleus tuberosus*) terhadap Sel T47D, Penelitian *In-Vitro*

### Abstrak

Kentang hitam (*Coleus tuberosus*) merupakan salah satu jenis kentang yang sehari – hari dikonsumsi dan dimanfaatkan sebagai sumber pangan alternatif. Kentang hitam termasuk dalam famili *Lamiaceae* yang mengandung *stigmasterol*,  $\beta$ -sitosterol, *campesterol* dan senyawa triterpenoid pentasiklik yaitu *maslinic acid*, *ursolic acid* dan *oleanolic acid* yang berpotensi menginduksi apoptosis pada sel kanker payudara MCF-7, BT-20, dan MDA-MB-231 melalui jalur intrinsik, NF- $\kappa$ B, TRAIL, COX-2, serta menghambat migrasi sel MDA-MB-231 dengan cara menurunkan regulasi MMP-2 (Es-Saady *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2006; Khim *et al.*, 2011; Yoon and Liu, 2008; Prasad *et al.*, 2011; Subaramiah *et al.*, 2000; Yeh *et al.*, 2010).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar sitotoksitas ekstrak etanol daging kentang hitam (*Coleus tuberosus*) terhadap sel T47D dengan cara memberikan paparan ekstrak etanol daging kentang hitam hasil budidaya daerah dataran tinggi Temanggung dan doksorubisin sebagai kontrol positif terhadap kultur sel T47D pada *96-well plate*. Sitotoksitas diuji dengan metode kolorimetri garam tetrazolium (*MTT-assay*). Nilai  $IC_{50}$  didapatkan melalui persamaan hasil analisis regresi.

Hasil penelitian menunjukkan  $IC_{50}$  ekstrak etanol daging kentang hitam sebesar 821  $\mu$ g/ml yang berarti kurang bersifat sitotoksik bila dibandingkan dengan doksorubisin.

Kata kunci : sitotoksitas, kentang hitam, *Coleus tuberosus*, doksorubisin, sel T47D

## **Cytotoxicity Test of Black Potato (*Coleus tuberosus*) Flesh Ethanol Extract towards T47D Cells: an *In-Vitro* Research**

### **Abstract**

Black potato (*Coleus tuberosus*) is a potato species which is daily consumed and taken as an alternative food stuff. It belongs to the *Lamiaceae* family which contains stigmasterol,  $\beta$ -cytosterol, campesterod and a pentacyclic triterpenoid compound, namely maslinic acid, ursolic acid and oleonolic acid, which have the potentials to induce apoptosis in the breast cancer cells MCF-7, BT-20, and MDA-MB-231 through the intrinsic lines NF $\kappa$ B, TRAIL, and COX-2, and to obstruct the migration of MDA-MB-231 cells by decreasing the MMP-2 regulation (Es-Saady *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2006; Khim *et al.*, 2011; Yoon and Liu, 2008; Prasad *et al.*, 2011; Subaramiah *et al.*, 2000; Yeh *et al.*, 2010).

This research was aimed at discovering the cytotoxicity extent of the black potato (*Coleus tuberosus*) flesh ethanol extract towards T47D cells by exposing the ethanol extract of black potato (*Coleus tuberosus*) which was the crop of the cultivation in Temanggung Highland and doxorubicin as a positive control for the T47D cell culture on the 96-well plate. Its cytotoxicity was tested with the colorimetric method of tetrazolium salt (MTT-assay). The value of IC<sub>50</sub> was obtained through a regression analysis result equation.

The research result indicated that the IC<sub>50</sub> ethanol extract of black potato flesh was 821  $\mu$ g/ml, which means that it was less cytotoxic than doxorubicin.

Keywords : cytotoxicity, black potato, *Coleus tuberosus*, doxorubicin, T47D cell

## Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Daging Kentang Hitam (*Coleus tuberosus*) terhadap Sel T47D, Penelitian *In-Vitro*

### Abstrak

Kentang hitam (*Coleus tuberosus*) merupakan salah satu jenis kentang yang sehari – hari dikonsumsi dan dimanfaatkan sebagai sumber pangan alternatif. Kentang hitam termasuk dalam famili *Lamiaceae* yang mengandung *stigmasterol*,  $\beta$ -sitosterol, *campesterol* dan senyawa triterpenoid pentasiklik yaitu *maslinic acid*, *ursolic acid* dan *oleanolic acid* yang berpotensi menginduksi apoptosis pada sel kanker payudara MCF-7, BT-20, dan MDA-MB-231 melalui jalur intrinsik, NF- $\kappa$ B, TRAIL, COX-2, serta menghambat migrasi sel MDA-MB-231 dengan cara menurunkan regulasi MMP-2 (Es-Saady *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2006; Khim *et al.*, 2011; Yoon and Liu, 2008; Prasad *et al.*, 2011; Subaramiah *et al.*, 2000; Yeh *et al.*, 2010).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar sitotoksitas ekstrak etanol daging kentang hitam (*Coleus tuberosus*) terhadap sel T47D dengan cara memberikan paparan ekstrak etanol daging kentang hitam hasil budidaya daerah dataran tinggi Temanggung dan doksorubisin sebagai kontrol positif terhadap kultur sel T47D pada *96-well plate*. Sitotoksitas diuji dengan metode kolorimetri garam tetrazolium (*MTT-assay*). Nilai  $IC_{50}$  didapatkan melalui persamaan hasil analisis regresi.

Hasil penelitian menunjukkan  $IC_{50}$  ekstrak etanol daging kentang hitam sebesar 821  $\mu$ g/ml yang berarti kurang bersifat sitotoksik bila dibandingkan dengan doksorubisin.

Kata kunci : sitotoksitas, kentang hitam, *Coleus tuberosus*, doksorubisin, sel T47D

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara penghasil tanaman obat yang potensial dengan keanekaragaman hayati yang dimilikinya. Diperkirakan sekitar 3.689 spesies tumbuhan obat hidup di hutan tropika Indonesia. Menurut Ditjen POM, dari jumlah tersebut, baru sebanyak 283 spesies tumbuhan obat yang sudah digunakan dalam industri obat tradisional (Djauhariya, 2004). Salah satu keanekaragaman hayati Indonesia yang berpotensi memiliki senyawa antikanker adalah tanaman kentang hitam (*Coleus tuberosus*) yang merupakan familia *Lamiaceae*.

Dalam kehidupan sehari – hari, masyarakat memanfaatkannya sebagai salah satu alternatif sumber pangan yang dikonsumsi berupa *lalapan*, sayur atau rebusan umbi. *Maslinic acid*, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol dan campesterol merupakan beberapa kandungan aktif *Coleus tuberosus* yang berperan dalam menghambat ekspresi EBV pada sel Raji (Hsum *et al.*, 2008; Mooi *et al.*, 2010). Kulit dan daging kentang hitam mengandung *ursolic acid* dan *oleanolic acid* (Nugraheni *et al.*, 2010). *Ursolic acid* dan *oleanolic acid* memiliki banyak efek farmakologis penting yang hampir serupa karena struktur kimianya tidak jauh berbeda (Janicsak *et al.*, 2006). Beberapa penelitian memperlihatkan kemampuan *ursolic acid* dan *oleanolic acid* dalam meredam radikal bebas (Ozgen *et al.*, 2011; Donfack *et al.*, 2010). *Ursolic acid* dan *oleanolic acid* yang ditemukan lebih tinggi pada kulit kentang hitam dibanding

ekstrak etanol daging kentang hitam mampu menginduksi apoptosis sel kanker payudara MCF-7 (Nugraheni *et al.*, 2010). Kentang hitam yang digunakan dalam penelitian ini merupakan kentang hitam yang didapat dari budidaya di daerah dataran tinggi Temanggung.

Sel T47D merupakan *cell line* yang pertama kali diisolasi dari pasien wanita dengan tumor duktal payudara. Sel yang mengalami mutasi pada protein p53 ini sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudahnya penanganannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi, serta mudah diganti dengan stok beku jika terjadi kontaminasi (Freshney, 2007).

## **B. Perumusan Masalah**

Seberapa besar sitotoksitas ekstrak etanol daging kentang hitam (*Coleus tuberosus*) terhadap sel T47D ?

## **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk menguji sitotoksitas ekstrak etanol daging kentang hitam (*Coleus tuberosus*) terhadap sel T47D.

## **D. Manfaat Penelitian**

1. Bagi pengembangan ilmu pengetahuan :
  - a. Memberikan data ilmiah mengenai sitotoksitas ekstrak etanol daging kentang hitam (*Coleus tuberosus*) terhadap sel T47D.



- b. Sebagai dasar penelitian lebih lanjut mengenai sitotoksisitas ekstrak etanol daging kentang hitam (*Coleus tuberosus*) terhadap lini sel lain.
2. Bagi peneliti, meningkatkan kompetensi, membangun profesionalisme dan semangat pengabdian untuk mengeksplorasi tanaman obat dari keanekaragaman hayati di Indonesia.
3. Bagi mahasiswa, memberi pemahaman bahwa proses selama penelitian lebih diutamakan, bukan hanya semata – mata pada hasil.
4. Bagi Institusi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana, sebagai dokumen hasil penelitian yang berharga guna melengkapi sejarah perjalanan institusi pendidikan.
5. Bagi masyarakat, sebagai masukan atau informasi untuk meningkatkan pengetahuan masyarakat mengenai tanaman obat yang berpotensi sebagai terapi komplementer.

#### **E. Keaslian Penelitian**

Keaslian penelitian ini adalah menggunakan daging kentang hitam yang didapat dari hasil budidaya daerah dataran tinggi Temanggung, Propinsi Jawa Tengah.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daging kentang hitam hasil budidaya daerah dataran tinggi Temanggung sitotoksitasnya rendah terhadap sel T47D.

#### **B. Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian lanjut untuk mengetahui sitotoksitas daging kentang hitam pada sel lain untuk mengetahui spesifitasnya, termasuk uji terhadap sel normal untuk mengetahui selektivitasnya.
2. Perlu dilakukan kontrol terhadap prosedur laboratorium dengan tehnik aseptik, strategi penggunaan antibiotik, kebersihan laboratorium dan tempat penyimpanan bahan penelitian untuk meminimalkan terjadinya kontaminasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Atif B., Awad, Rajat Roy, Carol S. Fink (2003)  $\beta$ -sitosterol, a plant sterol, induces apoptosis and activates key caspases in MDA-MB-231 human breast cancer. *University at Buffalo Oncology Report*, Vol. 10 pp. 497-500
- Ausubel, Frederick M. Roger Brent, Robert E. Kingston, David V. Moore, J. G. Seidman, John A. Smith, Kevin Struhl (2002) *Short Protocols in Molecular Biology Vol. 2 : A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology*. 5<sup>th</sup> edn. Canada : John Wiley&Sons inc.
- Balanehru, S. & B.Nagarajan (1994) Triterpenes intervene in adriamycin-induced histamine release in rodents. *Medical Science Research*, 24, pp. 981-990
- Barile, M. (1977) Mycoplasma contamination of cell cultures : a status report. *Cell Culture and Its Applications*. New York : Academic Press pp. 291-334
- Brian A. Broullier and Roger M. Philips (1996) Cytotoxicity assay in vitro *In Clinical gene analysis and manipulation* (Ed. J.A.Z Jankowski) Cambridge : Cambridge University Press
- Bruton, L., J.S. Lazo, K.L. Parker (2005) *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11<sup>th</sup> edn. Lange : McGrawHill
- Chapdelaine, J. M. (2006) MTT-reduction – a tetrazolium-based colorimetric assay for cell survival and proliferation. *Maxline Microplate Reader : Application Note*, 5, pp. 1-6
- Chen Y-H, Chang F-R, Wu C-C, Yen M-H, Liaw C-C, Huang H-C, Kuo Y-H, Wu Y-C (2006) New cytotoxic 6-oxygenated 8,9-dihydrofurocoumarins, Hedyotiscone A-C, from *Hedyotis biflora*. *Planta Med*, 72, pp. 75-78
- Djauhariya, Endjo (2004) *Gulma Berkhasiat Obat*. Dublin : Penebar Swadaya
- Donfack, J.H, G.W. Fosto, B. Ngameni, F.N. Tsofack, A. Tchoukoua, P. Ambassa, W. Abia, A.N. Tchana, S.Giardina, D. Buonocore, P.V. Finzi, G. Vidari, F. Marzatico, B.T. Ngadjui, P.F. Moundipa (2010) In vitro hepatoprotective and antioxidant activities of the crude extract and isolated compounds from *Irvingia gabonensis*. *Asian Journal of Traditional Medicine*, 5(3), pp. 79-88
- Es-Saady D., Simon A., Jayat-Vignoles C., Chulia A.J., Delage C. (1996) MCF-7 cell cycle arrested at G1 through ursolic acid, and increased reduction of tetrazolium salts. *Anticancer Research*, 16, pp481-486

- Fan, J.P., T. Kong, L. Zhang, S. Tjong, Z.Y. Tian, Y.H. Duan, X.H. Zhang (2011) Solubilities of ursolic acid and oleanolic acid in four solvents. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 56(5), pp. 2723-2725
- Feng, J.H., W. Chen, Y. Zhao, X.L. Ju (2009) Antitumor activity of oleanic, ursolic and glycyrrhetic acid. *The Open Natural Products Journal*, 2, pp. 48-52
- Freshney, R.Ian, Glyn N. Stacey, Jonathan M. Auerbach (2007) *Culture of Ani Cells, a Manual of Basic Technique 5th edn.* Hoboken New Jersey : John Wiley & Sons
- Gewirtz, D.A. (1999) A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin. *Biochemistry Pharmacology*, 57, pp. 727-741
- Hsu H-F, Houg J-Y, Chang C-L, Wu C-C, Chang F-R, Wu Y-C (2005) Antioxidant activity and DNA information of *Glossogyne tenuifolia*. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53, pp. 6117-6125
- Hsum, Y.W., W.T. Yew, P.L.V. Hong, K.K.Soo, L.S.Hoon, Y.C. Chieng, L.Y. Mooi (2008) Identification and Evaluation of Potential Anti-Tumor Promoting Compounds from Tubers of *Coleus tuberosus*. *International PSE Symposium on Natural Products in Cancer Therapy*, 23 - 26 September 2008, Naples Italy
- Itharat A., Houghton Peter J., Eno-Amoquaye E., Burke P.J., Sampson Julia H,m Raman Amala (2004) In vitro cytotoxicity of Thai medicinal plants used traditionally to treat cancer. *Journal Ethnopharmacology*, 99, pp.33-38
- Janicsak, G. K. Veres, A. Zoltan Kakasy, I. Mathe (2006) Study of the oleanolic and ursolic acid contents of some species of the lamiaceae: *Biochemical Systematics and Ecology*, Volume 34, 5 May 2006, pp. 392-396
- Katzung, Bertram G. ed. (2011) *Farmakologi Dasar & Klinik edisi ke 10.* Nirmala, Windriya Kerta ed. Jakarta : EGC
- Khim, K.H., H.S. Sheo, H.S. Choi (2011) Induction of apoptotic cell death by ursolic acid through mitochondrial death pathway and extrinsic death receptor pathway in MDA-MB-231 cell, *Archive of Pharmacal Research*, 34 pp. 1136-1372
- Lee I., Lee J., Lee Y.H., Leonard J. (2001) Ursolic acid-induced change in tumor growth, O<sub>2</sub> consuming, and tumor interstitial fluid pressure. *Anticancer Research*, 21, pp. 2827-2834

- Liu, J., Y.P. Liu, C.D. Klaassen (1994) The effect of Chinese hepatoprotective medicines on experimental liver injury in mice. *Journal of ethnopharmacology*, 42, pp. 183-191
- Marie, G., P.A. Kemp, S. Botteux (2006) dUTPase activity is critical to maintain genetic stability in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucleic Acids Research*, 34 (7), pp. 2056-2066
- Martin-Cordero C., Reyes M., Jesus M., Toro M.V. (2001) Cytotoxic triterpenoids from *Erica andvalensis*. *Z Naturforsch*, 56c, pp. 45-48
- Minotti, G., P. Menna, E. Salvatorelli, G.L. Cairo, L. Gianni (2004) Anthracyclins: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacology Reviews*, 56, pp. 185-228
- Mooi, L. Y., A. M. Ali, A. B. Norhanim, K. M. Salleh, A. Murakami, K. Koshimizu (1999) Anti-tumor promoting activity of some Malaysian traditional vegetables (Ulam). *Natural Product Sciences*, 5 (1), pp. 33-38
- Mooi, L. Y., N. A. Wahab, N.H. Lajis, A.M. Ali (2010) Chemopreventive properties of phytosterols and maslinic acid extracted from *Coleus tuberosus* in inhibiting the expression of EBV early-antigen in Raji cells. *Journal Chemistry and Biodiversity*, 7(5), pp. 1267-1275
- Murphy B.T., MacKinnon S.L., Yan X., Hammond G.B., Valisburg A.J., Neto C.C. (2003) Identification of triterpene hydroxycinnamates with *in-vitro* antitumor activity from whole cranberry fruit (*Vaccinium macrocarpon*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51, pp. 3541-3545
- Neto C.C., Vaisberg A.J., Zhou B-N, Kingston D.G.I., Hammond G.B. (2000) Cytotoxic triterpene acid from the Peruvian medicinal plant *Polylepis racemosa*. *Planta Med.*, 66, pp. 483-484
- Nugraheni, Mutiara, Santoso U., Suparmo, Wuryastuti, H. (2011) *Potensi Ekstrak Kentang Hitam (Coleus tuberosus) sebagai antioksidan dan anti-proliferasi sel kanker payudara (MCF-7) in-vitro*. Disertasi, Universitas Gadjah Mada
- Nkansah, G.O. (2004) *Solenostemon rotundifolius* (Poir.) J.K.Morton In: Grubben, G.J.H. & Denton, O.A. ed. *PROTA 2: Vegetables/Légumes* [CD-Rom]. PROTA, Wageningen, Netherlands. [Accesses 9 February 2013]
- Ozgen, U., A. Mavi, Z. Terzi, C. Kazaz, A. Asci, Y. Kaya, H. Secen (2011) Relationship between chemical structure and antioxidant activity of luteolin and its glycosides isolated from *Thymus sipyleus* subsp *sipyleus* var. *sipyleus*. *Records of Natural Products*, 5, pp. 12-21

- Persatuan Ahli Gizi Indonesia (2009) Tabel Komposisi Pangan Indonesia. Jakarta : Elex Media Komputindo
- Poerwadarminta, W.J.S. (2004) *Kamus Besar Bahasa Indonesia*. Jakarta : Balai Pustaka
- Prasad, S., V.R. Yadav, R. Kannappan, *et al.* (2011) Ursolic acid, a pentacyclic triterpene, potentiates TRAIL-induced apoptosis through p-53 independent up-regulation of death receptors: evidence for the role of reactive oxygen species and C-Jun N-terminal kinase, *The Journal of Biological Chemistry* 286, pp. 5546-5557
- Rahardjo, Rio ed. (2009) Kumpulan Kuliah Farmakologi Ed.2. Jakarta : EGC
- Raharjo, Tri Joko (2013) *Kimia Hasil Alam*. Yogyakarta : Pustaka Belajar
- Rajasekaran, S., K. Sivagnanam, Subramanian (2005) Antioxidant effect of *Aloe vera* gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacology Reports*, 57, pp. 90-96
- Reyes-Zurita, F.J., E.E. Rufino Palomares, J. A. Lupianez, M. Cascante (2009) Masclinic acid, a natural triterpene from *Olea europaea* L., induces apoptosis in HT29 human colon cancer cells via the mitochondrial apoptotic pathway. *Cancer Letters*, 273 (1), pp. 44-54
- Rosmarkam, Afandie, Nasih Widya Yuwono (2002) Ilmu Kesuburan Tanah. Yogyakarta : Kanisius
- Ryan, John (2008) *Understanding and Managing Cell Culture Contamination*. Massachusetts : Corning Incorporated
- Schafer, J.M., E.S. Lww, R.M. O'Regan, K. Yao, V.C. Jordan (2000) Rapid development of tamoxifen-stimulated mutant p53 breast tumor (T47D) in athymic mice. *Clinical Cancer Research*, 6, pp. 4374-4380
- Shekan, P., R. Storeng, D. Scuidero (1990) New colorimetric assay for anticancer drug screening, *J. Nat Cancer Inst.* 82, pp. 1107-12
- Simon, A., A. Najid, A.J. Chulia , C. Delage, M. Rigaud (1992) inhibition of lipoxygenase activity and HL60 leukemic cell proliferation by ursolic acid isolated from heather flowers (*Calluna vulgaris*). *Biochemics et Biophysica Acta*, 1125, pp. 68-72
- Subbaramiah, K., P. Michaluart, M.B. Sporn, *et al.* (2000) Ursolic acid inhibits cyclooxygenase-2 transcription in human mammary epithelial cells. *Journal of Cancer Research* 60, pp. 2399-2404

- Suhardi (2002) *Hutan dan Kebun Sebagai Sumber Pangan Nasional*. Yogyakarta : Kanisius
- Sun, H., W.S. Fang, W.Z. Wang, C. Hu (2006) Structure-activity relationship of oleanane- and ursane-type triterpenoids. *Botanical Studies*, 47, pp. 339-368
- Tinkelenberg, B.A, M.J. Hansbury, R.D. Ladner, (2002) dUTPase and uracil-DNA glycosylase are central modulators of antifolate toxicity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Cancer Research*. 62, pp. 4909-4915
- Yeh C-T, Wu C-H, Yen G-C. (2010) Ursolic acid, a naturally occurring triterpenoid, suppresses migration and invasion of human breast cancer cells by modulating c-Jun N-terminal kinase, Akt and mammalian target of rapamycin signaling. *Mool Nutr Food Res*, 54, pp. 1-11, pp. 1285-1295
- Yoon, H., R.H. Liu (2008) Effect of 2  $\alpha$ -hydroxyursolic acid on NF- $\kappa$ B activation induced by TNF- $\alpha$  in human breast cancer MCF-7 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, pp. 8412-8417
- Verma, S.P., B.R. Goldin, P.S. Lin (1998) The inhibition of the estrogenic effect of pesticides and environmental chemicals by curcumin and isoflavonoids. *Environmental Health Perspectives*, 106(12), pp. 807-812
- Warburton, S. And James R. (1994) Haemocytometer cell counts and viability studied. In *Cell And Tissue Culture Laboratory Procedures* (ed A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell), Chichester: John Wiley
- Zawydiwski, R. and Duncan G. R. (1978) Spontaneous  $^{51}$ Cr release by isolated rat hepatocytes; An indicator of membran damage. *In Vitro* 124, pp. 707