



ARTIKEL PENELITIAN—RESEARCH ARTICLE

Pengaruh *Eleutherine palmifolia* (L) Merr terhadap Proliferasi Sel Tumor pada Tikus *Sprague Dawley* dengan Kanker Payudara

Ratna Widayati^{1*}, Yan Wisnu Prajoko², Udadi Sadhana²

¹Fakultas Kedokteran Universitas Palangka Raya

²Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

*Korespondensi:

ratnawidayati12@gmail.com

Abstrak

Latar belakang: Imunoterapi banyak digunakan untuk meningkatkan *response rate* dari obat kemoterapi. *Eleutherine palmifolia* (L) Merr atau bawang dayak diketahui mengandung senyawa fitokimia yang mempunyai efek antiproliferasi, dan telah digunakan sebagai terapi empiris anti kanker. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya efek antiproliferasi dari ekstrak *Eleutherine palmifolia* (L) Merr pada tikus *Sprague-Dawley* dengan kanker payudara.

Metode: Penelitian ini menggunakan 18 ekor tikus *Sprague-dawley*, dibagi menjadi 3 kelompok, kelompok K, P1 dan P2. Kelompok K diberi pakan biasa, kelompok P1 diberikan adriamycin 5 mg/kgBB/hari dosis tunggal, kelompok P2 diberikan adriamycin 5 mg/kgBB/hari dosis tunggal dan ekstrak bawang dayak 105 mg/kgBB/hari selama 3 minggu.

Hasil: Selisih ukuran tumor sebelum dan sesudah perlakuan adalah $7,2 \pm 2,57$ mm (K), $3,23 \pm 3,03$ mm (P1), $3,14 \pm 2,65$ mm (P2), dengan nilai $p=0,157$ ($p>0,05$). Hasil penghitungan indeks Ki-67 adalah $11,1 \pm 7,27\%$ (K), $9,64 \pm 6,99\%$ (P1), $9,58 \pm 3,52\%$ (P2), dengan nilai $p=0,704$ ($p>0,05$).

Kesimpulan: Penambahan ekstrak bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr) tidak menyebabkan perbedaan bermakna dalam hal proliferasi sel tumor pada tikus *Sprague-dawley* dengan kanker payudara.

Kata Kunci: *Eleutherine palmifolia* (L) Merr, Antiproliferasi, *Sprague-dawley*

PENDAHULUAN

Kanker payudara masih menjadi penyakit kanker dengan persentase kasus baru tertinggi, yaitu sebesar 43,3%, dan persentase kematian akibat kanker payudara adalah sebesar 12,9%, data tersebut adalah data berdasarkan data GLOBOCAN (IARC) tahun 2012.¹ Data Riskesdas tahun 2013 menunjukkan bahwa prevalensi kanker di Indonesia adalah 1,4 per 1.000 penduduk dan menjadi penyebab kematian nomor 7 (5,7%). Sebagian besar pasien kanker yang dirawat di seluruh Indonesia pada tahun 2010 adalah pasien dengan kanker payudara (28,7%).² Lebih dari 80% kasus kanker payudara ditemukan pada stadium lanjut, di mana tingkat keberhasilan terapinya sangat rendah.³

Terapi medis yang dilakukan untuk mengatasi kanker payudara di antaranya adalah pembedahan, penyinaran, dan penggunaan obat

sitostatik. Kunci utama keberhasilan dalam penatalaksanaan kanker payudara adalah ditemukannya kasus ketika masih dalam keadaan stadium dini. Pembedahan tetap merupakan pilihan utama pada penatalaksanaan kanker payudara yang terlokalisasi.⁴ Modalitas lainnya berupa terapi adjuvant dalam bentuk kemoterapi dan radiasi, serta imunoterapi yang diharapkan dapat meningkatkan *response rate* dari pemberian kemoterapi.^{4,5}

Penggunaan tanaman tradisional sebagai terapi alternatif terhadap kanker sudah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat di Indonesia. Salah satu tanaman obat tradisional yang sudah banyak digunakan sebagai tanaman obat anti kanker /sitostatika adalah bawang dayak. Bawang dengan nama latin *Eleutherine palmifolia* (L) Merr.^{4,6-8} Penelitian mengenai analisis pendahuluan metabolit sekunder dari bawang dayak membuktikan bahwa pada umbi bawang dayak mengandung metabolit



sekunder yaitu alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, steroid dan tannin, triterpenoid, antrakuinon, flavonoid dan kumarin,^{9,10} naftokuinon dan turunannya seperti elecanacine, eleutherine, aleutherol, eleutherinone yang sangat efektif untuk antikanker.^{9,11,12}

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh penambahan ekstrak bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr.) terhadap indeks proliferasi sel pada tikus *Sprague-Dawley* dengan kanker payudara, dengan menggunakan parameter indeks Ki-67 dan ukuran tumor.

METODE PENELITIAN

Umbi bawang dayak diambil di Kota Palangka Raya, Propinsi Kalimantan Tengah. Umbi bawang dayak diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi menggunakan etanol 70%, dan didapatkan hasil rendemen ekstrak kental sebesar 5% dari umbi segar. Penentuan dosis yang diberikan pada tikus berdasarkan dosis umbi bawang dayak segar yang telah lazim digunakan pada manusia yaitu 20 gr/hari.¹³ Dosis ekstrak bawang dayak dihitung berdasarkan persentase rendemen, faktor konversi *Laurence Bacharach* sebesar 0,018, dan disesuaikan dengan berat badan tikus, sehingga didapatkan dosis 105 mg/kgBB tikus setiap kali pemberian.

Penelitian ini dilakukan secara *in vivo*, dari perhitungan besar sampel didapatkan hasil 6 ekor tikus, sehingga jumlah sampel keseluruhan adalah 18 ekor tikus *Sprague Dawley*, jenis kelamin betina, usia 8-10 minggu, berat badan 200-250 gram setelah aklimatisasi, tidak tampak adanya abnormalitas anatomis, dan tumbuh tumor setelah dilakukan induksi DMBA. Jenis tikus dipilih karena berkaitan dengan sifatnya yang hormonal-dependent sehingga sensitif terhadap rangsang dimethylbenz (α) antrasene (DMBA).^{14,15}

Berdasarkan penelitian sebelumnya, tingkat keberhasilan induksi DMBA secara oral adalah sebesar 70%, sehingga peneliti melakukan induksi DMBA terhadap 27 ekor tikus *Sprague-Dawley*. Setelah aklimatisasi selama 1 minggu, tikus diinduksi DMBA. Jumlah DMBA yang diberikan adalah sebanyak 20 mg/kg BB/ekor. Pemberian dibagi menjadi 5 kali induksi yang dilakukan setiap

3 hari sekali. Larutan DMBA memiliki konsentrasi 3 mg/mL dalam minyak jagung. Senyawa DMBA diberikan secara oral pada pagi hari. Selama dan setelah diinduksi DMBA, tikus dikandangkan secara bersama. Diberi makan dan minum biasa, dan ditunggu hingga tumbuh tumor payudara dengan ukuran tumor 1 cm. Ukuran tumor didapat dengan menghitung dimensi panjang dan lebar, keduanya dijumlah dan hasilnya dibagi dua.

Setelah tumbuh tumor, tikus dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan, yaitu kelompok K, P1 dan P2. Kelompok K adalah kelompok kontrol, dimana tikus diberi pakan biasa, kelompok P1 adalah kelompok tikus yang diberi adriamycin 5 mg/kgBB/hari pada hari pertama diberikan secara intraperitoneal, kelompok P2 adalah kelompok tikus yang diberi kombinasi adriamycin 5 mg/kgBB/hari pada hari pertama secara intraperitoneal dan ekstrak bawang dayak 105 mg/kgBB/hari, dilakukan selama 3 minggu. Setelah selesai perlakuan, tikus kembali diukur diameter tumornya. Tikus di anaestesi dengan ether selanjutnya tikus diterminasi dengan cara dislokasi servikal, kemudian diambil jaringan tumor. Jaringan tumor diproses menjadi preparat histologik setelah dibuat blok paraffin, dan selanjutnya dilakukan pengecatan imunohistokimia Ki-67.

Penghitungan indeks Ki-67 yang dilakukan secara manual dan acak dengan menghitung prosentase jumlah sel positif yang mengekspresikan warna kuning keemasan hingga coklat tua dari hasil pengecatan monoklonal antibodi anti human Ki-67 pada 100 sel dengan mikroskop cahaya, pada pembesaran 400x, pada 10 lapangan pandang, kemudian diambil rata-rata hasilnya.¹⁶ Apabila tumor yang tumbuh tidak mengandung sel kanker, maka hasilnya tidak diikuti sertakan dalam analisa statistika (*drop out*).

Data diuji normalitas data, dengan uji *Saphiro Wilk*. Untuk menguji perbedaan indeks Ki-67 dan perbedaan selisih ukuran tumor antar kelompok perlakuan, apabila distribusi normal kemudian dilanjutkan uji parametrik menggunakan *One-way ANOVA* dilanjutkan dengan *Post Hoc Test*. Untuk menguji perbedaan ukuran tumor sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok perlakuan, apabila distribusi normal



menggunakan uji parametrik Uji-t berpasangan. Batas derajat kemaknaan $p < 0,05$ dengan interval kepercayaan 95%. Analisa data dilakukan dengan software SPSS Ver. 21.0 for Windows.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah 27 ekor tikus *Sprague-dawley* diinduksi kanker payudara dengan menggunakan DMBA, ada 6 ekor tikus yang mati sebelum tumbuh tumor, dari 21 ekor tikus yang hidup ada 18 ekor yang tumbuh tumor. Delapan belas sampel yang tumbuh tumor dengan ukuran diameter 1 cm diambil sebagai sampel penelitian, dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol (K), P1 dan P2. Lama perlakuan adalah 3 minggu. Pada akhir penelitian, dari 18 ekor tidak ada tikus yang mati, dan seluruh sampel tumbuh benjolan (tumor) pada payudara, tetapi ada 3 ekor tikus pada pemeriksaan histopatologi tidak dijumpai sel kanker pada benjolan tersebut, oleh sebab itu 3 sampel tidak diikutsertakan dalam analisa statistika (*drop out*). Pada akhir perlakuan, pada masing-masing kelompok diukur kembali diameter tumornya, sehingga didapatkan data ukuran tumor sesudah perlakuan.

Rerata terbesar dalam hal ukuran tumor sebelum perlakuan terdapat pada kelompok P2 sebesar 11,98 mm \pm 2,24 SD, dalam hal ukuran tumor setelah perlakuan rerata tertinggi terdapat pada kelompok K (kontrol) sebesar 17,74 mm \pm 3,04 SD, sedangkan dalam hal selisih ukuran tumor, kelompok kontrol (K) memiliki selisih ukuran tumor tertinggi, yaitu 7,2 mm \pm 2,5 SD. Data ukuran tumor berdistribusi normal, sehingga peneliti menggunakan uji T-berpasangan untuk menguji perbedaan ukuran tumor sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok. Hasilnya menunjukkan bahwa didapatkan perbedaan bermakna dengan nilai p adalah 0,04 ($p < 0,05$) pada kelompok kontrol, didapatkan perbedaan tidak bermakna pada kelompok P1 dengan nilai $p = 0,199$, dan pada kelompok P2 terdapat perbedaan tidak bermakna dengan nilai $p = 0,98$. Untuk menganalisa perbedaan selisih (delta) ukuran tumor sebelum dan sesudah perlakuan, data diuji dengan menggunakan *One way ANOVA*, dan hasilnya menunjukkan bahwa ada perbedaan yang tidak bermakna secara statistika antara ketiga kelompok tersebut. Dengan nilai

$p = 0,157$ ($p > 0,05$). Peneliti melanjutkan dengan uji Post Hoc dengan uji Bonferroni, hasilnya adalah terdapat perbedaan tidak bermakna antara kelompok K dan P1 ($p = 0,256$), terdapat perbedaan tidak bermakna antara kelompok K dan P2 ($p = 0,274$), dan terdapat perbedaan yang tidak bermakna antara kelompok P1 dan P2. dengan nilai $p = 1,00$ ($p > 0,05$). Data ukuran tumor dan hasil analisa statistika dapat dilihat pada **tabel 1**.

Tabel 1. Rerata, Standar Deviasi dan Analisa Statistika Ukuran Tumor

Kelompok	Sebelum Perlakuan (mm)	Sesudah Perlakuan (mm)	Nilai P (T-test berpasangan)	Selisih/delta (mm)	Nilai P (Anova)
K	10,54 \pm 1,03	17,74 \pm 3,04	0,04	7,2 \pm 2,57	
P1	11,34 \pm 0,94	13,91 \pm 3,79	0,199	3,232 \pm 3,03	0,157
P2	11,98 \pm 2,24	15,125 \pm 2,3	0,098	3,14 \pm 2,65	

Hasil yang berbeda bermakna pada kelompok kontrol menunjukkan bahwa ukuran tumor sesudah perlakuan lebih besar daripada ukuran tumor sebelum perlakuan secara bermakna, hal ini mengindikasikan bahwa tidak ada hambatan laju pertumbuhan tumor pada kelompok kontrol. Sedangkan hasil yang berbeda tidak bermakna pada kelompok P1 dan P2 menunjukkan bahwa ukuran tumor sesudah perlakuan tidak jauh berbeda daripada ukuran tumor sebelum perlakuan, hal ini mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan ukuran tumor pada kedua kelompok tersebut. Dari hasil analisa uji beda selisih (delta) ukuran tumor sebelum dan sesudah perlakuan antar kelompok perlakuan, hasilnya menunjukkan bahwa ada perbedaan yang tidak bermakna antar ketiga kelompok perlakuan. Tikus pada kelompok P1 dan P2 mengalami laju pertumbuhan tumor yang lebih lambat dibandingkan tikus pada kelompok kontrol. Tetapi antara kelompok P1 dan P2 terdapat perbedaan yang tidak bermakna dalam hal selisih ukuran tumor sebelum dan sesudah perlakuan, walaupun selisih pada kelompok P2 lebih rendah daripada selisih pada kelompok P1. Hal ini berarti laju pertumbuhan tumor tikus pada kelompok P1 dan P2 adalah sama secara statistika, yang dapat

diasumsikan bahwa kombinasi adriamycin dan ekstrak bawang dayak dapat menghambat laju pertumbuhan tumor yang lebih baik daripada adriamycin saja, tetapi secara statistika perbedaan tersebut tidak bermakna.

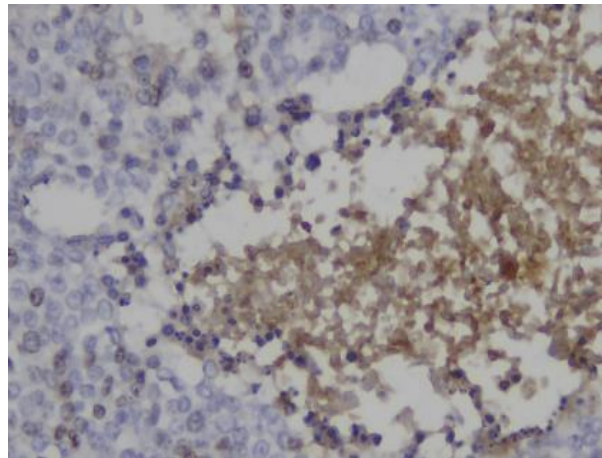
Setelah tikus pada semua kelompok diukur diameter tumor sesudah perlakuan, selanjutnya tikus diterminasi, kemudian diambil jaringan tumornya. Jaringan tumor tersebut diproses menjadi preparat histologik setelah dibuat blok paraffin, dan selanjutnya dilakukan pengecatan imunohistokimia Ki-67 dan dilakukan penghitungan indeks Ki-67. Rerata tertinggi dalam hal indeks Ki-67 dijumpai pada kelompok K (kontrol) sebesar $11,1 \pm 7,27$ SD, sedangkan indeks Ki-67 pada kelompok P1 sebesar $9,64 \pm 6,99$, dan kelompok P2 sebesar $9,58 \pm 3,52$. Data tersebut dilakukan analisa statistika dengan menggunakan analisa Oneway Anova, dan didapatkan hasil ada perbedaan yang tidak bermakna dengan nilai $p=0,704$ ($p>0,05$). Peneliti melanjutkan dengan uji Post Hoc dengan uji Bonferroni, hasilnya adalah terdapat perbedaan tidak bermakna antara kelompok K dan P1 ($p=0,608$), terdapat perbedaan tidak bermakna antara kelompok K dan P2 ($p=0,758$), dan terdapat perbedaan yang tidak bermakna antara kelompok P1 dan P2 ($p=0,417$). Data indeks Ki-67 dan analisa statistika dapat dilihat pada **tabel 2**.

Tabel 2. Rerata, Standar Deviasi dan Analisa Statistika Indeks Ki-67

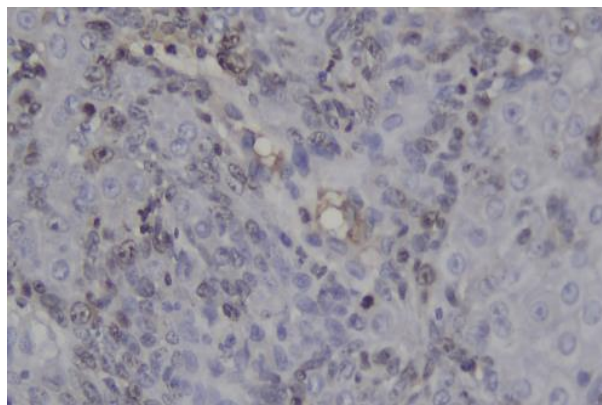
Kelompok	Rerata (%)	Standar Deviasi	Nilai p (Anova)
K	11,1	7,27	
P1	9,64	6,99	0,704
P2	9,58	3,52	

Rerata indeks proliferasi sel (KI-67) terendah terdapat pada kelompok P2, rerata tertinggi terdapat pada kelompok K, tetapi pada uji statistika menggunakan Oneway Anova didapatkan hasil bahwa perbedaan tersebut tidak bermakna antara ketiga kelompok tersebut. ($p>0,05$). Berdasarkan rekomendasi St. Gallen 2015 dimana $\leq 10\%$ sampai 29% ekspresi rendah - sedang ; dan $>30\%$ ekspresi tinggi,¹⁷ maka hasil pengamatan indeks Ki-67 pada penelitian ini termasuk dalam kategori sedang, yaitu pada kelompok kontrol (K) yang ditunjukkan pada

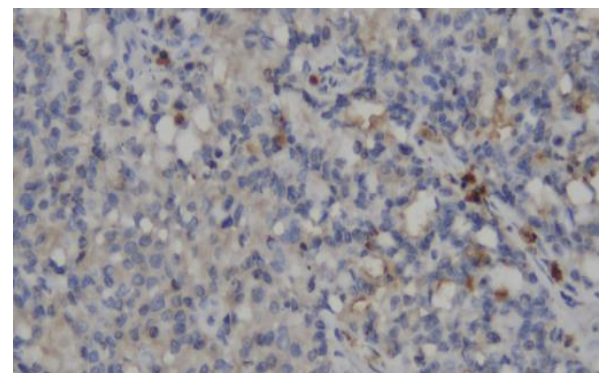
(**Gambar 1**), dan kategori rendah yaitu pada kelompok P1 (**Gambar 2**) dan P2 (**Gambar 3**).



Gambar 1. Gambaran Mikroskopis Indeks Ki-67 Jaringan Tumor Kelompok Kontrol yang Menunjukkan Intensitas Sedang



Gambar 2. Gambaran Mikroskopis Indeks Ki-67 Jaringan Tumor Kelompok P1 yang Menunjukkan Intensitas Rendah



Gambar 3. Gambaran Mikroskopis Indeks Ki-67 Jaringan Tumor Kelompok P2 yang Menunjukkan Intensitas Rendah



Indeks Ki-67 pada kelompok P1 dan P2 termasuk dalam kategori rendah. Hal ini menunjukkan laju proliferasi tumor payudara yang rendah. Protein Ki-67 ditemukan di dalam inti sel yang berhubungan dengan proses proliferasi sel. Terdapatnya protein ini pada jaringan yang mengalami pembelahan telah menunjukkan bahwa protein ini berperan penting sebagai suatu penanda pembelahan sel, dan jarang dilaporkan adanya ekspresi Ki-67 pada sel yang tidak membelah. Ekspresi protein Ki-67 dapat dideteksi di sepanjang siklus sel.^{17,18} Jaringan payudara yang sehat mengekspresikan Ki-67 pada level yang rendah (<3%), *Ductal Carcinoma in Situ* (DCIS) terdapat sekitar 40% dari sel tumor mengekspresikan Ki-67 pada kadar yang tinggi. Peningkatan kadar Ki-67 berkaitan dengan lesi dengan grading yang tinggi, komedo nekrosis dan adanya mikroinvasi. Ki-67 merupakan prediktor untuk terjadinya rekurensi pada kanker payudara.^{17,19}

Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa nilai *cut-off* Ki-67 adalah sebesar 20%, untuk menentukan tingkat risiko kekambuhan dan kematian pasien kanker payudara, dan untuk menentukan kelayakan pasien untuk mendapatkan terapi adjuvant kemoterapi.²⁰ Ki67 merupakan penanda agresifitas suatu tumor, walaupun ukuran tumornya besar, tetapi belum tentu agresif, hal ini ditunjukkan dengan nilai Ki-67 yang rendah.²¹ Ekspresi yang tinggi dari Ki-67 berhubungan dengan kecepatan pertumbuhan menjadi kanker invasif dibandingkan yang ekspresinya rendah sehingga memberikan prognosis yang lebih buruk.²²

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan *crude extract* karena mengandung hampir semua senyawa aktif yang terdapat dalam bawang dayak. Hal ini dipilih berdasarkan penggunaannya pada manusia, dimana umbi bawang dayak dikonsumsi secara utuh. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa ekstrak bawang dayak dapat

menghambatsiklus sel.^{23,24} Senyawa fitokimia yang terkandung dalam bawang dayak yang memiliki aktivitas antiproliferasi, terutama eleutherine, isoeleutherine, dan eleutherinol, turunan naftokuinon.^{6,7,9,25} Penelitian sebelumnya yang dilakukan secara *in vitro* menyebutkan bahwa kandungan triterpenoid, antrakuinon, flavonoid dan kumarin di dalam bawang dayak memiliki efek supresi terhadap p53 mutan pada sel kanker payudara T47D.²³ Bawang dayak mengandung antioksidan yang sangat tinggi.^{8,10} Eleutherine dan beberapa jenis flavonoid dalam bawang dayak memiliki aktivitas inhibisi terhadap DNA topoisomerase II, senyawa fenolik bawang dayak dapat menghambat reseptor growth factor pada sel kanker yang menyebabkan berhentinya siklus sel.^{23,25} Penelitian lain mengenai efek antikanker bawang dayak dilakukan dengan mengukur indeks proliferasi dan indeks apoptosis, didapatkan hasil adanya peningkatan indeks apoptosis dan penurunan indeks proliferasi pada pemberian ekstrak bawang dayak pada sel kanker payudara secara *in vitro* dengan metode *flowcytometri*. Kerusakan sel tersebut menyebabkan berhentinya siklus sel pada fase G0-G1, sehingga siklus sel tidak dapat melanjutkan ke fase berikutnya.²⁴

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi hasil tersebut, di antaranya adalah pada penelitian ini menggunakan satu macam dosis, yaitu dosis lazim pada manusia,¹³ dan menggunakan satu masa perlakuan yaitu 3 minggu, sehingga dimungkinkan dengan satu macam dosis dan lama perlakuan, belum menampakkan hasil yang efektif. Metode yang digunakan juga berbeda, penelitian sebelumnya menguji aktivitas antiproliferasi bawang dayak secara *in vitro*, dimana seluruh variabel dapat dikontrol, sedangkan penelitian ini dilakukan secara *in vivo* pada tikus *Sprague-dawley*.



KESIMPULAN

Penambahan ekstrak *Eleutherine palmifolia* (L) Merr (bawang dayak) tidak menyebabkan perbedaan bermakna dalam hal proliferasi tumor payudara, yang ditunjukkan dengan tidak ada perbedaan yang bermakna dalam hal selisih ukuran tumor sebelum dan sesudah perlakuan dan indeks Ki-67 antar kelompok perlakuan.

Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan serial dosis, serial waktu perlakuan dan penggunaan fraksinasi senyawa murni yang bersifat antiproliferasi tinggi, sehingga diharapkan bisa memperoleh efek antiproliferasi yang lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Situasi Penyakit Kanker. Jakarta : Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. 2015.
2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Deteksi Dini Kanker Leher Rahim dan Kanker Payudara di Indonesia 2007-2014. Di dalam: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (Ed). Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan. Jakarta. 2015
3. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Panduan Nasional Penanganan Kanker (Kanker Payudara) Jakarta :Komite Nasional Penanggulangan Kanker; 2015
4. Paulus A, Budijitno S2, Issakh B.Efektivitas Ekstrak *Artemisia vulgaris* sebagai Suplementasi terhadap Kemoterapi Adenokarsinoma Mammae dalam Meningkatkan IL-12 dan Indeks Apoptosis Sel Kanker (Studi pada Mencit C3H yang Diberi Regimen Kemoterapi Adriamycin-Cyclophosphamide). Jurnal Kedokteran Brawijaya. 2018;30(2):81-6
5. Luangdilok S, Samarthai N, and Korphaisarn K. Association between Pathological Complete Response and Outcome Following Neoadjuvant Chemotherapy in Locally Advanced Breast Cancer Patients. Journal of Breast Cancer. 2014;17(4):376-85.
6. MutiahR, Hadya CM, Ma'arif B, Bhagawan WS, Annisa R, Indrawijaya YYA, Huwaida FI, Ramadhani R, Susilowati R, Taufik I. Metabolite Fingerprinting of *Eleutherinepalmifolia* (L.) Merr. by HPTLC-Densitometry and Its Correlation with Anticancer Activities and In Vitro Toxicity. Indonesian Journal Pharmacy. 2019;30(3):157-66
7. Muti'ah R, Listiyana A, Nafisa BB, Suryadinata A. Kajian Efek Ekstrak Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) sebagai Antikanker. Journal of Islamic Pharmacy. 2020;5(2): p.14-26
8. Apriliani NR, Sulistiani, Sari NE, Mardiah. Analisa Kualitatif Dan Kuantitatif Komponen Bioaktif Hasil Ekstraksi Bawang Dayak. JurnalZarah. 2017; 5(1):1-4
9. Narko N, Permana B, Prasetiawati R, Soni D ,Khairiyah F. Molecular Docking study of Bulb Of Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia* (L) Merr) Compound As Anti Servical Cancer. Jurnal Ilmiah Farmako Bahari. 2017; 8(2):1-14
10. Gayatri PR, Sudjarwo SA, I'tishom R. Potensi Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine Americana* Merr.) sebagai Protektor Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus*) Balb/C yang di Induksi Timbal Asetat. Jurnal Biosains Pascasarjana. 2017;19(3):189–96
11. Mutiah R., Widyawaruyanti A, Sukardiman S. Calotroposid A: A glycosides terpenoids from *Calotropis gigantea* induces apoptosis of colon cancer WiDr cells through cell cycle arrest G2/M and caspase 8 expression. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2018;19(6):1457–64. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2018.19.6.1457>.
12. Mutiah R, Choiroh, F, Annisa R, Listiyana A. Combinational effect of *Eleutherinepalmifolia* (L.) merr extract and doxorubicin chemotherapy on HeLa cervical cancer cells. AIP Conference Proceedings, 2020. <https://doi.org/10.1063/1.5115718>.
13. Utami P, Puspitanisngtyas DE. The Miracle of Herbs. Jakarta :Agro Media Pustaka. 2013:18-23
14. Kinoshita, Yoshioka M, Emoto Y, Yuri T, Yuki M, Koyama C, Takenouchi A, Hamazaki K, Tsubura A, Yoshizawa K. Dietary Effect Of Mead Acid On Dmba Induced Breast Cancer In Female Sprague Dawley Rats. International Journal Of Functional Nutrition. 2020; 1(7). Doi: 10.3892/ijfn.2020.7.
15. Kirubha SPA, Anburajan M, Venkataraman B, Akila R, Sharath D, Raj B. Evaluation of Mammary Cancer in 7,12-Dimethylbenz(a) anthracene-Induced Wister Rats by Asymmetrical Temperature with Serum CEA Levels and Histopathology. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2012. Doi:10.1155/2012/786417
16. Mizuno Y, Abe H, Seto H, Sato K, Fuchikami H, Natori T, Takeda N, Inoue Y, Yamada, J. Standardized Assessment of Ki-67 in Breast Cancer Patients Using Virtual Slides and an Automated Analyzer in Comparison to Central/Local Pathological Assessments. Journal of Cancer Therapy. 2014; 5:141-6
17. Asri A, Mayorita P, Kham D. Hubungan Ekspresi Ki-67 Dengan Karakteristik Histopatologik Pada Kanker Payudara Tripel Negatif. MKA. 2015;38(3):165-72
18. Stephan P. The Ki-67 Proliferation Marker Test and Breast Cancer Treatment. This test plays a role in predicting chemotherapy response and prognosis. 2021. Available from : <https://www.verywellhealth.com/ki-67-tumor-marker-test-430609>. 2021.4.14
19. Nahed A. SolimanI, Shaimaa M. Yussif. Ki-67 as a prognostic marker according to breast cancer molecular subtype. Cancer Biol Med. 2016;13(4):497-504
20. Lombardi A, Lazzeroni R, Bersigotti L, Vitale V, Amanti C. The Proper Ki-67 Cut-Off in Hormone Responsive Breast Cancer: A Monoinstitutional Analysis with Long-Term Follow-Up. Dove Press journal : Breast Cancer - Targets and Therapy. 2021;13:213–7
21. Darmayani P, Susraini A, Moestikaningsih. Indeks Mitosis dan IndeksProliferasi Ki-67 Lebih Tinggi pada Karsinoma Sel Basal Tipe Agresif DibandingkanTipe Non Agresif. Majalah Patologi. 2018; 57:24-9



22. Mahayasa IMW, Tobing MDL, Harsono AB. Hubungan Antara Ekspresi Ki-67 Dan Kaspase-3 Dengan Respons Kemoterapi Neoadjuvan Pada Pasien Karsinoma Serviks Stadium Ib2 Dan Iia2 Di Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin, Bandung Indonesian Journal Of Cancer. 2016;10(2):49-54
23. Wu CH, Chen HY, Wang CW, Shieh TM, Huang T C, Lin LC, Wang KL, Hsia SM. Isoliquiritigenin induces apoptosis and autophagy and inhibits endometrial cancer growth in mice. *Oncotarget*. 2016;7(45):73432–47. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12369>.
24. Yuniarti A, Sundhani E, Nurulita NA. The potentiation effect of Bawang Dayak (*Sisyrinchium palmifolium* L.) extract on T47D cell growth inhibition after 5-fluorouracil treatment The potentiation effect of Bawang Dayak (*Sisyrinchium palmifolium* L.) extract on T47D cell growth inhibition a. *Pharmaciana*. 2018;8(2):195-204
<https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v8i2.9480>
25. Adnyana IK, Sukrasno, Kusmardiayani S. Anti Tumor and Immunostimulant Activities of Eleutherine Americana Extract and Isolation of Its Active Components. ITB. Contribution to the Nation Competitiveness. 2013:66-9