

Artikel Penelitian

Aktivitas Sitotoksik Fraksi Heksana Terung Pokak (*Solanum torvum*) terhadap Sel Kanker T47D

Cytotoxic Activity of Hexane Fraction of Solanium torvum on Cancer Cells T47D

Nunuk Helilusiatiningsih¹, Yunianta², Harijono², Simon Bambang W², Hidayat Sujuti³

¹Departemen Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Islam Kediri Kediri

²Departemen Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang

³Departemen Biokimia Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

ABSTRAK

Terung pokak adalah tanaman dari genus *Solanum* yang diperkirakan memiliki sifat antikanker. Tujuan penelitian ini menganalisis kandungan dan aktivitas sitotoksik fraksi heksana terung pokak terhadap sel kanker T47D secara invitro. Uji identifikasi senyawa pada fraksi heksana terung pokak menggunakan uji kualitatif dengan penapisan fitokimia dan (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*), uji sitotoksik menggunakan metode MTT, uji siklus sel kanker T47D dan apoptosis menggunakan metode *flowcytometry*. Hasil uji fitokimia menunjukkan terung pokak mengandung alkaloid, saponin, glikosida dan steroid. Hasil uji identifikasi kimia fraksi heksana terung pokak menunjukkan 29 komponen yaitu asam asetat, asam propionat, 2- pentenal, 2- metilfuran, 1- penten-3-on, asam butirat, 2 -metilbutan, 2,3 butanedion, dimetil disuksipirazin, lfidia, asam valerat, furfural, 3- heksanon, metional, heksanal, benzaldehid, 2-heptenal, 4- heptenal, 1,5 - octadien 3-on, 2- butilfuran, 3,5- oktadien-2- on, 1 okten-3-on, 2-pentilfuran, 2,6-nonadienal, 2- nonenal, 2- Isopropil-3- metoksipirazin, linalool, 2- isobutil metoksipirazin, dekalakton. Fraksi heksana terung pokak bersifat sitotoksik terhadap sel kanker T47D dengan IC_{50} sebesar 85,58 μ g/mL. Fraksi heksana terung pokak dapat menghambat siklus sel T47D pada fase G0-G1 sebesar 35,84%, fase S 27,05%, fase G2-M 37,46% dari pengamatan 20.000 sel T47D . Fraksi heksana terung pokak dapat memacu apoptosis awal sebesar 28,89% dan apoptosis akhir 1,04% dari pengamatan 20.000 sel T47D. Hasil tersebut menunjukkan bahwa fraksi heksana terung pokak bersifat sitotoksik, menghambat proliferasi dan memacu apoptosis sel T47D, sehingga layak dikembangkan sebagai antikanker.

Kata Kunci: Heksana, sitotoksik, *Solanum torvum*, T47D

ABSTRACT

Solanum torvum is thought to possess anticancer activity. The present study aimed to identify compounds of and analyse cytotoxic activity of the *Solanum torvum* hexane fraction T47D cancer cells in vitro. Identification of chemical compounds of *Solanum torvum* hexane fraction was performed by qualitative phytochemical screening and Gas Chromatography-Mass Spectrometry cytotoxic assay employing MTT, cell cycle and apoptosis by using flowcytometry. The results showed that the extract contained alkaloids, saponins, glycosides, and steroids. Chemicals identified were twenty nine i.e. acetic acid, propionic acid, 2- pentenal, 2- methylfuran, 1- penten- 3- one, butiric acid, 2- methyl-butanen, 2,3 -butanedione, Dimethyl- disuxypyrazine, ifidde, valeric acid, furfural, 3- hexanone, methional, hexanal, benzaldehyde, 2- heptenal, 4 - heptenal, 1,5- octadien- 3- one, 2- butylfuran, 3,5- octadien -2- one, 1- octen- 3 one, 2- pentylyfuran, 2,6- nonadienal, 2- nonenal, 2- isopropyl- 3- methoxyprazine, linalool, 2- isobutyl methoxyprazine and decalacton. Cytotoxic assays showed that the extract IC_{50} was 85.58 μ g/mL. The extract inhibited cell proliferation at phase G0-G1 35.84%, S-phase 27.05% , G2-M 37.46% of total 20,000 T47D cells. *Solanum torvum* hexane fraction induced early apoptosis on 28.89% and apoptosis of 1.04% T47D cells. The results clarified that the cytotoxic properties of *Solanum torvum* hexane fraction inhibits T47D cancer cells proliferation and induces apoptosis, thus potentially developed as anticancer.

Keywords: Cytotoxic, hexane, *Solanium torvum*, T47D

Korespondensi: Nunuk Helilusiatiningsih. Departemen Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Islam Kediri Kediri, Jl. Sersan Suharmaji No.38, Manisrenggo, Kec. Kota Kediri, Kediri, Jawa Timur 64128 Tel. 08125268584 Email: nunukhelilusi@gmail.com

DOI: <http://dx.doi.org/10.21776/ub.jkb.2019.030.04.4>

PENDAHULUAN

Tanaman terung pokak (*Solanum torvum*) memiliki senyawa kimia seperti neoklorogenin 6-O-β-D-kuinovopiranosid, neoklorogenin 6-O-β-D-silopiranosil-(1→3)-β-D-kuinovopiranosid, 6-O-α-L-ramnopiranosil-(1→3)-D-beta kuinovopiranosid, solagenin 6-O-β-D-kuinovopiranosid, solagenin 6-O-α-L-ramnopiranosil (1→3)-β-D-kuinovopiranosid, isokue-rsetin, rutin, kaemferol dan kuersetin (1). Ekstrak etanol buah kering *Solanum torvum* mengandung fruktosa, glukosa, trigliserida dan insulin (2). Buah *Solanum torvum* mengandung solasonin, solamargin, steroid yang berfungsi pada sistem neuron dan gastrointestinal (3). Metil kafeat yang diekstrak dari buah *Solanum torvum* berfungsi sebagai anti kanker (4). Ekstrak eter buah kering *Solanum torvum* mengandung steroid, saponin, terpenoid, tanin, alkaloid, besi, asam lemak, asam askorbat (5).

Terung pokak (*Solanum torvum*) di Indonesia masih tergolong tanaman liar belum banyak dibudidayakan dan dimanfaatkan. Tanaman ini tersebar di daerah iklim sub tropis sampai tropis tumbuh dipinggir sungai, bukit, pekarangan pada tanah yang subur. Buah terung pokak mudah mengalami kerusakan setelah dipanen karena proses respirasi oksidatif dan aktivitas enzimatis. Buah terung pokak masih belum populer di Indonesia sebagai bahan pangan. Kebutuhan pangan fungsional sangat dibutuhkan masyarakat untuk obat herbal. Masyarakat Indonesia belum banyak mengkonsumsi buah terung pokak dikarenakan belum banyak diketahui sebagai bahan pangan.

Buah terung pokak potensi dikembangkan sebagai bahan pangan berfungsi untuk kesehatan tubuh karena mengandung senyawa bioaktif. Ekstraksi buah *Solanum torvum* dengan metanol mengandung glikosida steroid yang berfungsi antiinflamasi netrofil (6). Buah *Solanum torvum* mengandung seskuiterpen berfungsi sebagai immunosupresan (7). Beta sitosterol adalah senyawa kimia yang dapat menghambat beberapa jalur sinyal sel meliputi proliferasi, siklus sel, apoptosis, invasi, kelangsungan hidup, angiogenesis, dan peradangan (8). Penelitian ini bertujuan menganalisis kandungan senyawa bioaktif pada fraksi heksana terung pokak dan sifat sitotoksiknya menggunakan sel kanker payudara T47D secara *invitro*.

METODE

Terung pokak (*Solanum torvum*) diperoleh dari desa Sumber Manjing Kulon Malang sebagai tanaman liar. Buah dipilih, dibersihkan dan diproses menjadi bubuk kering menggunakan metode optimasi pengolahan respon permukaan (RSM-BBD). Hasil prediksi optimasi pengolahan bubuk *Solanum torvum* yang terpilih yaitu curing 5 hari, lama fermentasi 6 jam 5 menit, suhu pengeringan 50°C dan waktu pengeringan 14 jam pengeringan vakum. Hasilnya disimpan dalam wadah kedap sebagai bahan utama penelitian. Sel kanker payudara T47D dan Sel vero diperoleh dari koleksi CCRC (*Cancer Chemoprevention Research Center*), Fakultas Kedokteran UGM, Jogjakarta.

Bahan lain termasuk aquabides, metanol, etanol 80%, n heksana (p.a.), etil asetat (p.a.), DMSO, alkohol 80%, media RPMI, M199, *Fetal Bovine Serum*, penisilin-streptomisin, tripsin, EDTA, SDS, MTT, RNA-se, Triton- X

100, propidium iodida, annexin V, timbal (II) asetat, isopropanol, kloroform, Molish, pereaksi Mayer, pereaksi Bouchardat, pereaksi Dragendroff, pereaksi Liebermann-Burchard diperoleh di Laboratorium Parasitologi dan Patologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

Kromatografi (GCMS)

Kromatografi ekstrak dilakukan menggunakan alat *Gas Chromatography Mass Spectrometer* (GCMS QP 2010 SE Shimadzu) dilengkapi dengan kolom ZB-AAA (10mL x 0,25mm D Phenomenex Inc). Gas helium digunakan sebagai gas pembawa dengan laju air 0,6mL/menit. Injeksi volume gas sebanyak 2μL dengan aio split 127,5. Suhu diatur menggunakan program untuk kolom oven sebesar 60°C dengan kenaikan suhu sebesar 60°C hingga 220°C dengan tekanan konstan 15kPa. Suhu kemudian dinaikkan menjadi 280°C. Suhu injeksi dijaga tetap 280°C dengan waktu pembacaan selama 15 menit. Spektrofotometer massa dioperasikan pada mode elektron ion positif dengan energi ionisasi 70eV. *Solvent cut time* diatur pada 0-2 menit. Waktu sampling data diatur 0,5 menit hingga 7 menit pada m/z 20-1000 (3,33u/detik). Persentasi relatif dari tiap komponen diketahui melalui perbandingan rerata area puncak terhadap total area. Identifikasi nama senyawa, berat molekul, dan struktur komponen dari bahan yang diuji berdasarkan data yang tersimpan dalam kumpulan data Wiley dan diolah menggunakan software Lab Solution (10).

Ekstraksi dan Fraksinasi *Solanum torvum*

Sampel buah kering *Solanum torvum* 10 gram dimaserasi dalam 100mL etanol 80% selama 24 jam sambil diaduk, kemudian hasil ekstrak disaring dan disimpan dalam wadah kedap. Sampel dimaserasi diulang hingga 3 kali. Hasil ekstrak etanol dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada 40°C kemudian ekstrak dipindah ke botol steril dikeringkan dengan gas nitrogen, disimpan sebagai bahan uji.

Fraksinasi ekstrak etanol dengan heksana masing masing 50ml (1:1) pada corong pisah, lapisan heksana ditampung, lapisan ekstrak etanol difraksinasi hingga 3 kali. Fraksi heksana dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai kental, kemudian fraksi dipindah ke botol steril untuk dikeringkan dengan gas nitrogen dan disimpan sebagai bahan uji.

Uji Sitotoksik Metode MTT

Uji sitotoksik pada sel T47D dengan sampel uji fraksi heksana *Solanum torvum* kadar 31,25ppm, 62,5ppm, 125ppm, pada ELISA reader (Benchmark Bio Rad), panjang gelombang 595 (10). Penentuan IC₅₀ dilakukan berdasarkan grafik dan perhitungan persamaan linier.

Uji Siklus Sel dan Apoptosis Menggunakan Metode Flowcytometer

Sel kanker payudara T47D 5x10⁵ -1x10⁶sel/sumuran ditanam pada pelat mikro 6 sumuran, ditambah media komplit RPMI dan diinkubasi selama 24 jam pada 37°C, CO₂ 5%. Uji penghambatan proliferasi menggunakan metode MTT dan uji apoptosis tahap dini dan akhir dilakukan sesuai standar (1). Kadar fraksi heksana terung pokak yang digunakan 36,76μg/g dan 85,58μg/g. Pengukuran dilakukan menggunakan *Flowcytometer* (FACS-Calibur) (11). Sebagai kontrol digunakan sel T47D tanpa perlakuan zat sitotoksik (kontrol negatif), dan perlakuan doksorubisin (kontrol obat kanker) 100μg/g.

HASIL

Hasil pemisahan dan identifikasi senyawa kimia fraksi heksana bubuk terung pokak menunjukkan adanya 29 komponen kimia (Gambar 1, Tabel 1).

Tabel 1. Komponen kimia fraksi heksana bubuk terung pokak

Puncak	Waktu retensi (mnt)	Indeks similaritas	Luas area puncak (mm ²)	Persen komposisi	Nama senyawa
1	1,039	92	1438,79	8,48	asam asetat
2	1,04	92	2137,9	12,61	asam propionat
3	1,156	92	65,99	0,389	2- pentenal
4	1,16	92	768,42	4,53	2-metilfuran
5	1,163	92	328,77	1,93	1 penten 3-on
6	1,165	92	1328,54	7,83	asam butirat
7	1,167	92	437,65	2,58	2-metil butanal
8	1,168	92	864,09	5,09	2.3 butanedion
9	1,203	92	132,65	0,78	dimetil disulfida
10	1,20	92	437,99	2,58	asam valerat
11	1,209	92	1038,65	6,12	furfural
12	1,21	92	218,56	1,28	3- heksanon
13	1,22	92	547,14	3,22	metional
14	1,22	92	87,55	0,51	heksanal
15	1,23	92	86,77	0,51	benzaldehyd
16	1,23	92	143,05	0,84	2- heptenal
17	1,23	92	328,55	1,93	4- heptenal
18	1,42	92	1084,09	6,4	1,5-oktadien
19	1,43	92	759,76	4,48	2-butifuran
20	1,44	92	118,69	0,7	3,5-oktadin-2-on
21	1,52	92	218,54	1,28	1-okten-3-on
22	1,54	92	438,9	2,58	2- pentilfuran
23	1,55	92	711,54	4,19	2,6-nonedieneal

Tabel 1. Komponen kimia fraksi heksana bubuk terung pokak (Lanjutan)

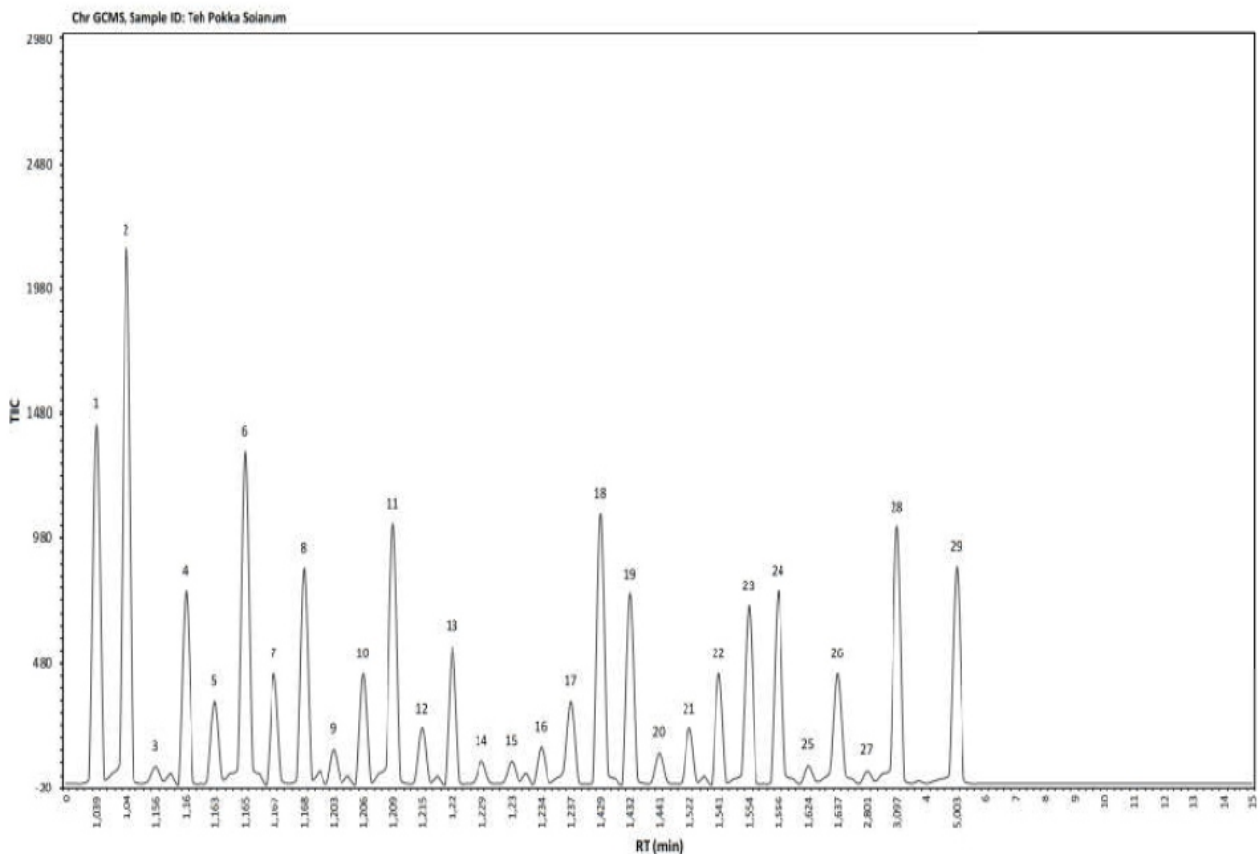
Puncak	Waktu retensi (mnt)	Indeks similaritas	Luas area puncak (mm ²)	Persen komposisi	Nama senyawa
24	1,55	92	769,77	4,54	2-nonenal
25	1,62	92	68,69	0,40	2-isopropil
26	1,63	92	439,11	2,59	linalool
27	2,80	92	48,79	0,28	2-isobutil
28	3,09	92	1029,65	6,07	gama dekalakton
29	5,003	92	869,8	5,13	β damaskenon

Aktivitas Sitotoksik, Penghambatan Siklus Sel, dan Induksi Apoptosis

Hasil uji aktifitas sitotoksik pada perlakuan fraksi heksana buah *Solanum torvum* dengan metode MTT menunjukkan IC₅₀=85,58µg/mL (Tabel 2).

Tabel 2. Uji sitotoksik

Sampel Uji	Kadar (µg/mL)	Viabilitas sel T47D (%)	IC ₅₀ T47D
Fraksi heksana Solanum torvum	100	38,37	85,58µg/mL
	50	93,81	
	25	97,87	
	12,5	98,54	
Doksorubisin	6,26	99,06	36,76µg/mL (Kontrol positif)
	100	93,17	
	50	54,73	

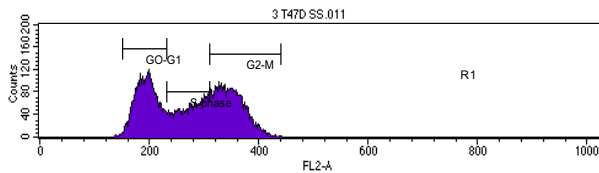


Gambar 1. Hasil analisis GCMS fraksi heksana terung pokak

Tabel 2. Uji sitotoksik (Lanjutan)

Sampel Uji	Kadar (µg/mL)	Viabilitas sel T47D (%)	IC ₅₀ T47D
Doksorubisin	25 12,5 6,5	10,6 18,75 25,71	36,76µg/mL (Kontrol positif)
Kontrol sel	0	100	Kontrol negatif

Hasil analisis menggunakan 20.000 sel T47D per perlakuan fraksi heksana terung pokak menunjukkan efek penghambatan siklus sel (Gambar 2, Tabel 3). Sel kanker T47D berkembang sebesar 14.100 sel (100%), pada tahap G0-G1 sebanyak 5214 (35,84%), tahap S sel mengalami duplikasi kromosom dan replikasi DNA sebanyak 3436 (27,05%), dan tahap G2-M 5450 (37,46%) sel mengalami persiapan pembelahan dan mitosis.

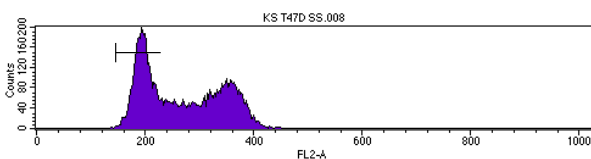


Gambar 2. Hambatan siklus sel kanker T47D

Tabel 3. Data pengamatan siklus sel T47D

Marker	Data Pengamatan Siklus Sel T47D					
	Fraksi Heksana		Kontrol Sel T47D		Dokso rubisin	
	Events	% Gated	Events	% Gated	Events	% Gated
All	14100	100	16080	100	14987	100
G0-G1	5214	35,84	6964	43,29	6895	46,01
S-phase	3436	27,05	3503	21,78	3495	23,32
G2-M	5450	37,46	5671	35,26	4669	31,15

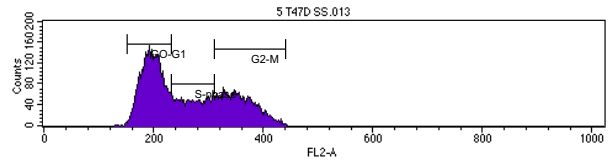
Pada Gambar 2 menunjukkan fraksi heksana terung pokak dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara T47D yang digunakan dalam percobaan sebesar 20.000 sel. Hasil uji siklus sel kelompok kontrol T47D (Gambar 3, Tabel 3) yaitu sel kanker payudara (kontrol sel T47D) dosis 100 ppm dan jumlah sel T47D pada penelitian sebesar 20.000 sel. Pertumbuhan sel T47D awal sebesar 16.080 (100%), tahap G0-G1 43,29%, tahap S 21,78%, tahap G2-M persiapan pembelahan sel 35,26%.



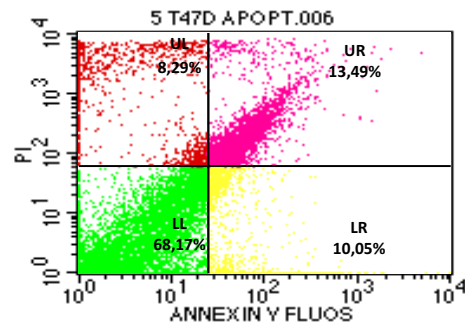
Gambar 3. Siklus sel (Kontrol sel T47D)

Siklus sel T47D yang mendapat perlakuan obat kanker doksorubisin (Gambar 4, Tabel 3) menunjukkan tahap

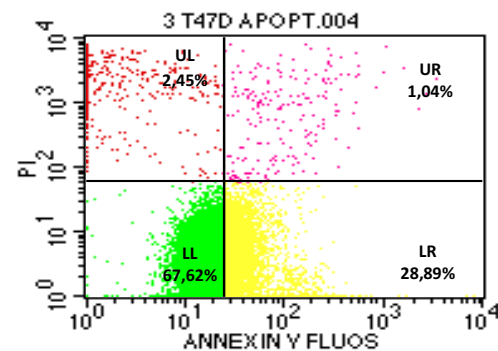
pertumbuhan awal 14987 (100%), G0-G1 46,01%, tahap S 23,32%, G2-M sebesar 31,15 % sel.



Gambar 4. Perlakuan obat doksorubisin terhadap siklus sel kanker T47D



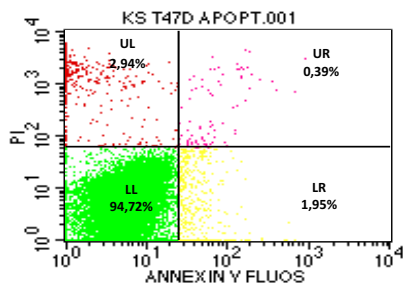
Gambar 5. Perlakuan obat kanker doksorubisin terhadap apoptosis sel T47D



Gambar 6. Perlakuan fraksi heksana terung pokak terhadap apoptosis sel T47D

Analisis perlakuan obat kanker doksorubisin terhadap apoptosis sel kanker payudara T47D menunjukkan bahwa pada kuadran UL yaitu sel mengalami nekrosis 8,29%, kuadran LL sel kanker hidup 68,17%, kuadran LR yaitu apoptosis awal sebesar 10,05%, dan kuadran UR apoptosis akhir 13,49% dari perlakuan total sel kanker T47D sebesar 20.000 (Gambar 5). Fraksi heksana buah *Solanum torvum* meningkatkan apoptosis sel kanker payudara T47D (Gambar 6), nekrosis 2,45%, sel hidup 67,62%, apoptosis awal 28,89% dan apoptosis akhir 1,04%, dari perlakuan total sel kanker T47D sebesar 20.000

Kontrol sel T47D yaitu pada kuadran UL sel mengalami nekrosis sebesar 2,94%. Pada kuadran LL sel kanker T47D hidup sebesar 94,72%, kuadran LR menunjukkan apoptosis awal 1,95% dan pada kuadran UR sel mengalami apoptosis akhir sebesar 0,39% dari total sel kanker T47D sebesar 20.000.



Gambar 7. Perlakuan kontrol sel kanker T47D terhadap apoptosis sel T47D

Ringkasan hasil pengamatan apoptosis sel T47D dari perlakuan obat kanker doxorubicin, fraksi heksana terung pokak, dan kontrol sel T47D (Tabel 4) menunjukkan bahwa fraksi heksana terung pokak meningkatkan apoptosis awal ~3 kali lipat lebih tinggi daripada doxorubicin.

Tabel 4. Data apoptosis sel kanker T47D

Kuadran	Apoptosis sel T47D		
	Doksorubisin % Gated	Fraksi heksana % Gated	Kontrol sel % Gated
UL	8,29%	2,45%	2,94%
UR	13,49%	1,04%	0,39%
LL	68,17%	67,62%	94,72%
LR	10,05%	28,89%	1,95%

DISKUSI

Pada penelitian ini ditemukan fraksi heksana terung pokak mengandung 29 komponen kimia (Tabel 1), berbeda dengan laporan lain yang menyebutkan *Solanum torvum* mengandung solanolakton A dan B, torvosid M dan N dan saponin steroid dan glikosida steroid yang berfungsi sitotoksik terhadap sel kanker kulit A375 in vitro dengan IC₅₀ 30µM sampai dengan 260µM (11,12). Sebagai pembanding aktivitas fraksi heksana terung pokak digunakan obat kanker doxorubicin yang efektif untuk metastasis kanker payudara (13). Perlakuan pemberian obat kanker doxorubicin bersifat sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan IC₅₀ 36,76µg/mL (13). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi heksana terung pokak dan obat kanker doxorubicin dapat menghambat siklus sel dan memicu apoptosis sel T47D. Apoptosis merupakan mekanisme untuk mengontrol proliferasi sel sebagai bagian dari proses perkembangan yang normal dan juga akan mengakibatkan kematian sel jika terdapat kerusakan DNA yang tidak dapat diperbaiki (14). Nilai batas IC₅₀ senyawa ekstrak selektif dan relevan sebagai antikanker jika IC₅₀ ≤100µg/mL, sedangkan untuk senyawa murni IC₅₀ ≤25µg/mL (15,16). Ekstrak dengan nilai IC₅₀ ≤100µg/mL berpotensi sebagai kemopreventif (16). IC₅₀ doxorubicin 36,76µg/mL sedangkan fraksi heksana terung pokak 85,58µg/mL, oleh karenanya dapat dianggap fraksi heksana terung pokak memiliki potensi antiproliferasi sel walaupun mungkin doxorubicin lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Lu YY, Luo JG, and Kong LY. *Chemical Constituents from Solanum torvum*. Chinese Journal of Natural Medicines. 2011; 9(1): 30-32.
- Mohan M, Kamble S, Gadhi P, and Kasture S. *Protective Effect of Solanum torvum on Doxorubicin- Induced Nephrotoxicity in Rats*. Food and Chemical Toxicology. 2010; 48(1): 436-440.
- Smith SW, Giesbrecht E, Thompson M, Nelson LS, and Hoffman RS. *Solanaceous Steroidal Glycoalkaloids and Poisoning by Solanum Torvum, the Normally Edible Susumber Berry*. Toxicon. 2008; 52(6): 667-676.
- Balachandran C, Emi N, Arun Y, et al. *In Vitro Anticancer Activity of Methyl Caffeat Isolated from Solanum torvu Swartz. Fruit*. Chemico-Biological Interactions. 2015; 242: 81-90.
- Karmakar K, Islam A, Chhanda SA, Tuhin TI, Muslim T, and Rahman A. *Secondary Metabolites from the Fruits of Solanum torvum SW*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 2015; 4(1): 160-163.
- Lee CL, Hwang TL, He WJ, et al. *Anti Neutrophilic Inflammatory Steroidal Glycosides from Solanum torvum*. Phytochemistry. 2013; 95: 315-321.
- Yuan PI, Wang XP, Jin BL, et al. *Sesquiterpenes with Immunosuppressive Effect from the Stems of Solanum torvum*. Phytochemistry Letters. 2016; 17: 126-130.
- Bin Sayeed MS and Ameen SS. *Beta- Sitosterol: Promising but Orphan Nutraceutical to Fight against Cancer*. Nutrition and Cancer. 2015; 67(8): 1216-1220.
- Parthasarathy V and Ajay Kumar TV. *Screening of Potential GCMS Derived Antimigraine Compound from the Leave of Abrus Precatorius Linn to Target "Calcitonin Gene Related Peptide" Receptor Using in Silico Analysis*. Food Science and Human Welness. 2019; 8(1): 34-39.
- Meiyanto E, Susidarti RA, Handayani S, dan Rahmi F. *Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (Areca Catechu L.) Mampu Menghambat Proliferasi dan Memacu Apoptosis Sel MCF-7*. Majalah Farmasi Indonesia. 2008; 19(1): 12-19.
- Li J, Zhang L, Huang C, Guo F, and Li Y. *Five New Cytotoxic Steroidal Glycosides from the Fruit of Solanum Torvum*. Fitoterapia. 2014; 93: 209-215.
- Lu Y, Luo, J, Huang X, and Kong L. *Four New Steroidal Glycosides from Solanum Torvum and their Cytotoxic Activities*. Steroids. 2009; 74(1): 95-101.
- Fista EY. *Uji Aktifitas Sitotoksik Senyawa 7-O- Propil 3, 4- Dimetoksik Isoflavon Hasil Sintesis pada Kultur Sel Kanker Payudara MCF -7 dan T47D*. [Skripsi]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. 2014.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, and Walter P. *Molecular Biology of the Cell*. Annals of Botany. 2003; 91: 401-405.
- Cos P, Vlietinck AJ, Berghe DV, and Maes L. *Anti-*

Infective Potential of Natural Products: How to Develop a Stronger In Vitro 'Proof-of-Concept'. Journal of Ethnopharmacology. 2006; 106(3): 290-302.

16. Tsao AS, Kim ES, and Hong WK. *Chemoprevention of cancer. CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2004; 54(6): 150-180.