 DOI : 10.35311/jmpi.v11i1.705

Pengaruh Ekstrak Metanol Batang *Etlingera alba* (Blume) A. D. Poulsen Terhadap Penekanan Gen Caspase-3 sebagai Penanda Apoptosis pada Lini Sel Kanker Payudara T47D Secara In Vitro

Fitria Nurcahyani¹, Adryan Fristiohady^{2*}, Sahidin², Wahyuni Wahyuni², Agung Wibawa Mahatva Yodha³, Dian Munasari Solo², Muhammad Arba², Irnawati²

¹Program Studi Magister Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo

²Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo

³Politeknik Bina Husada Kendari

Sitasi: Nurcahyani, F., Fristiohady, A., Sahidin, Wahyuni, W., Yodha, A. W. M., Solo, D. M., Arba, M., & Irnawati. (2025). Pengaruh Ekstrak Metanol Batang *Etlingera alba* (Blume) A. D. Poulsen terhadap Penekanan Gen Caspase-3 sebagai Penanda Apoptosis pada Lini Sel Kanker Payudara T47D secara In Vitro. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 11(1), 49–54. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v11i1.705>

Submitted: 30 November 2024

Accepted: 10 Maret 2025

Published: 10 Juni 2025

*Penulis Korespondensi:

Adryan Fristiohady

Email: adryanfristiohady@uho.ac.id



Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

ABSTRAK

Kanker merupakan suatu penyakit yang bersifat ganas dan ditandai dengan pertumbuhan sel abnormal secara cepat dan terus-menerus yang dapat merusak jaringan dan organ di sekitarnya. Ciri khas dari kanker yaitu mampu menghindari mekanisme apoptosis. Salah satu gen penanda apoptosis yaitu Caspase-3. Penggunaan kemoterapi untuk mengobati kanker masih memiliki banyak efek samping yang merugikan. Oleh karena itu dibutuhkan alternatif pengobatan yang lebih efektif dan efek samping yang lebih kecil seperti terapi target. Tumbuhan *E. alba* diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai antikanker. Tujuan penelitian ini untuk melihat potensi penekanan ekspresi gen dari *E. alba* terhadap penanda gen apoptosis Caspase-3 pada lini sel kanker T47D. Pengujian ini dilakukan menggunakan sampel batang *E. alba* yang dimaserasi dengan pelarut metanol. Ekstrak metanol batang *E. alba* dibuat dalam tiga konsentrasi yaitu 50 ppm; 100 ppm; dan 200 ppm. Selanjutnya dilakukan pengujian ekspresi gen secara in vitro dengan menggunakan metode RT-PCR, lalu diukur nilai CT. Hasil penelitian yang telah dilakukan yaitu pada konsentrasi ekstrak 50 ppm mampu menekan ekspresi gen 1,677 kali, ekstrak 100 ppm mampu menekan ekspresi gen 1,859 kali, sedangkan ekstrak 200 ppm mampu menekan ekspresi gen 1,601 kali. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol batang *E. alba* mampu menekan ekspresi gen Caspase-3 pada lini sel kanker payudara T47D, dengan konsentrasi ekstrak yang paling baik yaitu 100 ppm dengan hasil pengujian ekspresi gen 1,859 kali dari DMSO 2%.

Kata Kunci : Sel T47D, Caspase-3, RT-PCR

ABSTRACT

Cancer is a malignant disease marked by abnormal cell growth, as quickly and constantly can damage the tissue and organs in surroundings. A characteristic of cancer is the apoptotic mechanism. One of the apoptotic marker genes is Caspase-3. The use of chemotherapy to treat cancer still has many adverse side effects. Therefore, alternative treatments that are more effective and have fewer side effects, such as targeted therapy are needed. Plants like *E. alba* are known to contain secondary metabolites that have the potential to be anticancer. This test used a sample *E. alba* stem macerated with methanol. This extract was prepared in three concentrations: 50 ppm, 100 ppm, and 200 ppm. Then, the gene expression was tested in vitro using the RT-PCR method, then the CT value was measured. The results of this study indicate that the methanol extract of stem *E. alba* can suppress the expression of the Caspase-3 gene in the T47D breast cancer cell line. A Concentration of 50 ppm can suppress gene expression 1,677 times, 100 ppm extract can suppress gene expression 1,859 times, and 200 ppm extract can suppress gene expression 1,601 times. Based on the results of the research conducted, it can be concluded that the methanol extract *E. alba* stem was able to suppress the expression of the Caspase-3 gene in the T47D breast cancer cell line, with the best extract concentration of 100 ppm with the results of gene expression testing 1,859 times that of DMSO 2%.

Keywords : T47D cells, Caspase-3, RT-PCR

PENDAHULUAN

Kanker merupakan suatu penyakit yang bersifat ganas dan ditandai dengan pertumbuhan sel abnormal secara cepat dan terus-menerus yang dapat merusak jaringan dan organ di sekitarnya. Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang banyak menyerang wanita. Pada tahun 2018 diperkirakan 627.000 wanita meninggal yang

disebabkan karena kanker payudara atau sekitar 15% dari kematian pada wanita akibat kanker, dan pada tahun 2019 juga diperkirakan 268.600 wanita didiagnosis kasus baru kanker payudara. Kanker payudara di Indonesia merupakan penyebab kematian yang ketiga pada wanita setelah penyakit jantung dan stroke. Kasus ini terus bertambah setiap tahunnya sejak tahun 2012 sampai 2018 dan

diperkirakan akan terus bertambah hingga tahun 2040 (WHO, 2020).

Adapun salah satu ciri khas dari kanker yaitu ketahanan terhadap kematian sel atau dapat mampu menghindari mekanisme apoptosis (Arianingrum, 2017). Apoptosis pada sebuah sel sangat berperan penting dalam pengaturan homeostatis sel untuk dapat menjaga keseimbangan jumlah sel dalam jaringan yang berfungsi untuk mengeliminasi sel yang tidak dibutuhkan tubuh selama proses pertumbuhan sel (Fristiody, 2019).

Caspase (*cysteine-aspartyl protease*) merupakan enzim protease yang mempunyai peran dalam mekanisme kematian sel seperti apoptosis (Ishmatullah *et al.*, 2021). Terdapat beberapa jenis caspase yang terbagi dalam tiga jenis, yaitu caspase inisiator (caspase 2, 8, 9 dan 10), caspase eksekutor (caspase 3, 6 dan 7), dan caspase inflamasi (caspase 1, 4, 5, 11 dan 12) (Khan *et al.*, 2021).

Jalur apoptosis dapat diaktivasi melalui dua jalur yaitu intrinsik dan ekstrinsik. Jalur intrinsik dimulai ketika sel berada dibawah tekanan atau terjadi cedera pada sel, sehingga menyebabkan depolarisasi membran mitokondria dan mengakibatkan terjadinya pelepasan caspase inisiator dan mengaktifkan caspase eksekutor untuk mematikan sel. Jalur ekstrinsik terjadi di luar sel ketika kondisi ekstraseluler sel menentukan bahwa sel harus mati dengan cara aktivasi reseptor kematian sel sehingga mengaktifkan caspase 8 sebagai inisiator (Beroske *et al.*, 2021).

Terapi yang digunakan untuk mengobati kanker payudara telah banyak digunakan saat ini seperti, kemoterapi, terapi radiasi, terapi hormon dan pembedahan. Namun, masih memiliki tingkat keberhasilan yang rendah dan kurang efektif untuk mencegah terjadinya kematian akibat kanker payudara. Selain itu, efek samping yang merugikan akan terjadi kepada pasien selama pemberian dan setelah pemberian agen kemoterapi. Agen kemoterapi tidak hanya dapat membunuh sel kanker tetapi juga dapat menyerang dan membunuh sel-sel normal yang membelah dengan cepat (Fristiody & Haruna, 2020).

Etlintera alba (A.D.) Poulsen adalah salah satu spesies *Etlintera* yang baru ditemukan di daerah Sulawesi Tenggara, dan belum banyak penelitian yang dilakukan terhadap tumbuhan ini. *E. alba* merupakan tanaman obat yang mirip dengan *E. elatior* dan sering digunakan masyarakat sekitar untuk mengobati luka, dan obat sakit telinga. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Wahyuni *et al.*, 2021) mengatakan bahwa pada uji sitotoksik akar *E. alba* pada lini sel MDA-MB-23,

didapatkan nilai IC₅₀ 65.43 µg/mL yang mendekati dengan nilai IC₅₀ cisplatin yaitu 53.37 µg/mL. Namun belum ada penelitian yang lebih spesifik terkait potensi *E. alba* sebagai agen antikanker payudara. Oleh karena itu, dibutuhkan penelitian lebih lanjut pada tumbuhan *E.alba* yang dilakukan secara *in vitro* sebagai agen antikanker dan pengobatan alternatif baru yang lebih efektif dan selektif yang digunakan untuk terapi kanker payudara.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Real time PCR Light Cycler 2* (Roche®), *rotary vacuum evaporator* (Buchi®), *Biosafety Cabinet* (Esco®), inkubator CO₂ (*Thermo Scientific*).

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *6 well plate*, cisplatin, *fetal bovine serum* (FBS), metanol, DMSO 2%, GAPDH, *phosphate buffered saline* (PBS), trypsin-EDTA, β-mercapto etanol, buffer RLT, buffer RW1, buffer RPE, *RNAse Free Water*, formula master mix, *roswell park memorial institute medium* (RPMI), primer Caspase-3 terdiri dari *reverse* (TGT TTG TGT GCT TCT GAGCC) dan *forward* (CAC GCC ATG TCA TCA TCAAC), dan sampel batang *E. alba*.

Preparasi Sampel

Preparasi sampel dilakukan dengan pengumpulan dan pemilahan batang *E. alba* (Blume) A. D. Poulsen dari bagian tanaman lainnya, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan dan sortasi kering. Pengeringan dilakukan dibawah sinar matahari langsung. Setelah kering, sampel kemudian dihaluskan dengan pencacah elektrik sehingga dihasilkan simplisia yang berbentuk haksel, kemudian disimpan dalam wadah bersih, kering dan terlindung dari cahaya.

Ekstraksi

Simplisia dimaserasi dengan pelarut metanol. Maserasi dilakukan 3x24 jam. Maserasi dilakukan berulang-ulang hingga diperoleh filtrat yang bening. Ekstrak kental diperoleh dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40-45°C dengan kecepatan 65-90 rpm.

Uji Ekspresi Gen

Uji ekspresi gen mengacu pada protokol uji ekspresi gen yang dikeluarkan oleh pihak Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin.

1. Preparasi Media/Kontrol Positif/Sampel

Preparasi dilakukan dengan cara disiapkan media kultur cair *Roswell Park Memorial Institute Medium* (RPMI) komplet yang mengandung *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10% dan 50 μ L/50mL antibiotik). Kontrol positif yang akan digunakan adalah Cisplatin. Sampel dilarutkan dengan konsentrasi akhir tertentu sebagai stok. Pelarut yang digunakan tidak bersifat toksik terhadap sel. Disiapkan larutan kerja *antiproliferasi assay*.

2. Preparasi Sel

Pengujian dilakukan menggunakan sel yang telah konfluen 70%. Dibuang media RPMI pada *dish*, lalu bilas sel yang ada pada flash sebanyak 2x dengan 1 mL PBS (*Phosphate Buffer Salin*). Kemudian ditambahkan 1 mL larutan Trypsin-EDTA lalu diinkubasi selama 5 menit agar lapisan sel terdispersi. Ditambahkan media RPMI ke dalam flash sebanyak 10 mL, kemudian di pindahkan sel ke dalam tube dan dihitung jumlah sel menggunakan *hemocytometer* sebanyak 10 μ L. Dihitung jumlah sel yang sehat dan tentukan jumlah sel (viabel) per mL. Sentrifugasi sel dengan kecepatan 3000 rpm selama 5 menit.

3. Seeding Sel ke dalam 6 Well Plate

Dibuat variasi konsentrasi ekstrak yaitu 50 ppm, 100 ppm, dan 200 ppm dalam 5 mL media RPMI. Konsentrasi tersebut adalah konsentrasi ekstrak yang memiliki nilai toksisitas paling baik berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Zaim Tahun 2021. Disiapkan seeding/kultur sel ke dalam 6 *well plate* dan diinkubasi selama 2 hari hingga konfluen 70%. Dibuang media lama dan ditambahkan media yang mengandung ekstrak (masing-masing 50 ppm, 100 ppm, dan 200 ppm) ke dalam 6 *well plate*, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan 5% gas CO₂.

4. Ekstraksi dan Purifikasi RNA

Ekstraksi dan Purifikasi RNA dilakukan menggunakan kit komersial RNeasy® Mini Kit QIAGEN. Pelaksanaan ekstraksi dan purifikasi sesuai dengan prosedur yang telah ditetapkan produsen.

5. Sintesis cDNA dan Uji Ekspresi Gen

Pembuatan cDNA menggunakan kit QIAGEN, melalui beberapa prosedur sesuai dengan RNeasy® Mini Kit QIAGEN dengan memasukkan ke dalam template RNA (50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, kontrol (+), kontrol (-) pada 96 *wellplate* masing-masing 4 tube. Formula *master mix* dibuat dan ditambahkan 8.5 μ L setiap *well*. Pengujian ekspresi gen dilakukan menggunakan RT-qPCR.

Analisis Data

Data analisis dari *Real-Time* PCR akan diolah menggunakan *software GraphPad* untuk mendeteksi ekspresi gen kanker payudara. *Real Time* PCR digunakan untuk mengetahui ekspresi gen melalui metode kuantitatif. Data *real time* PCR dikalkulasi dengan mengukur rata-rata nilai *Cycle Threshold* (CT) pada gen target dengan menggunakan kontrol.

Nilai CT didefinisikan sebagai jumlah siklus yang diperlukan sinyal fluoresen untuk melewati ambang batas (yaitu melebihi tingkat/level pada *background*) berbanding terbalik dengan jumlah asam nukleat target dalam sampel (yaitu semakin rendah tingkat CT, semakin besar jumlah asam nukleat target dalam sampel) (Martinez-Jacobo et al., 2018), (Rohmah et al., 2017), (Narrandes & Xu, 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Apoptosis adalah kematian sel secara terprogram (*programed cell death*) yang bertujuan untuk mempertahankan kestabilan populasi sel. Kegagalan pengaturan apoptosis dapat menyebabkan sel membelah tanpa terkendali, yang disebut sebagai sel kanker (Nugrahaningsih & Yuniastuti, 2014). Salah satu gen penanda yang berperan dalam apoptosis, yaitu caspase-3. Terjadinya apoptosis pada sel kanker dapat diketahui dengan pengujian ekspresi gen. Uji ekspresi gen dilakukan menggunakan instrumen RT-PCR secara *in vitro* dengan menggunakan lini sel kanker payudara T47D. Parameter pengujian ekspresi gen pada instrumen RT-PCR berdasarkan nilai CT (*Cycle Threshold*).

Nilai CT adalah banyaknya jumlah siklus dalam amplifikasi DNA yang digunakan oleh sinyal fluorosens untuk mencapai ambang batas yang merupakan nilai perpotongan antara jumlah siklus dan sinyal fluorosens. Nilai CT pada RT-PCR akan menggambarkan berapa kali gen kanker terekspresi pada lini sel.

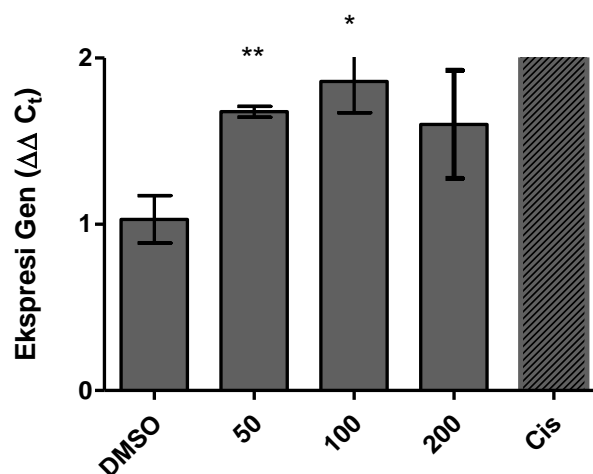
Pengujian ekspresi gen menghasilkan nilai CT Caspase-3 dan GAPDH. GAPDH merupakan gen kontrol yang bertindak sebagai *housekeeping* gen. Nilai CT yang didapatkan dari masing-masing perlakuan, selanjutnya dihitung menggunakan metode $2^{-\Delta\Delta Ct}$ dan dianalisis menggunakan aplikasi *Grpadh Prism5*. Data yang dihasilkan berhubungan dengan berapa kali gen Caspase-3 terekspresi. Interpretasi dari nilai CT yaitu semakin tinggi nilai CT, maka ekspresi gen akan semakin menurun. Hasil yang diharapkan dari pengujian ini yaitu penurunan nilai CT sehingga ekspresi gen Caspase-3 meningkat dan dapat memutuskan terjadinya apoptosis pada sel.

Berdasarkan hasil pengujian ekspresi gen didapatkan nilai CT Caspase-3 dan GAPDH. Nilai CT dihitung menggunakan metode $2^{-\Delta\Delta Ct}$ untuk

mengetahui berapa kali gen Caspase-3 terekspresi pada lini sel T47D setelah diberikan ekstrak metanol batang *E. alba* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perhitungan Nilai CT Caspase-3

No.	Perlakuan	Caspase 3	GAPDH	dCt	DdCt (2.77)	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
1	DMSO	23.21	20.72	2.49	-0.28	1.213602931
2	DMSO	23.12	20.11	3.00	0.23	0.851343285
3	DMSO	23.24	20.02	3.22	0.45	0.732160693
4	DMSO	23.23	20.86	2.36	-0.41	1.325652065
5	50 PPM	21.26	19.22	2.04	-0.73	1.663411714
6	50 PPM	21.20	19.25	1.95	-0.82	1.763949889
7	50 PPM	21.60	19.51	2.09	-0.68	1.603098119
8	50 PPM	21.21	19.19	2.02	-0.75	1.681187893
9	100 PPM	20.96	19.35	1.61	-1.16	2.24132162
10	100 PPM	20.97	19.25	1.72	-1.05	2.068654517
11	100 PPM	21.06	19.08	1.97	-0.80	1.737179748
12	100 PPM	21.19	18.90	2.29	-0.48	1.393598259
13	200 PPM	19.54	17.21	2.33	-0.44	1.355487966
14	200 PPM	21.20	18.14	3.06	0.29	0.819498072
15	200 PPM	21.21	19.40	1.81	-0.96	1.940202464
16	200 PPM	19.96	18.39	1.57	-1.20	2.292318141
17	CISPLATIN	18.62	17.06	1.56	-1.21	2.308262475
18	CISPLATIN	18.62	18.62	2.23	-0.54	1.450758401
19	CISPLATIN	18.62	18.62	2.23	-0.54	1.450758401
20	CISPLATIN	18.62	18.62	1.23	-1.54	2.901516803



Gambar 1. Grafik Hasil Uji Ekspresi Caspase-3 Pada Lini Sel T47D
Keterangan: * (Nilai signifikan), ΔΔCt (Jumlah gen Caspase-3 yang terekspresi)

Berdasarkan data pada Gambar 1, hasil pengujian ekspresi gen Caspase-3 pada lini sel T47D, konsentrasi 50 ppm mampu menekan ekspresi gen 1,677 kali, ekstrak 100 ppm mampu menekan ekspresi gen 1,859 kali, sedangkan ekstrak 200 ppm mampu menekan ekspresi gen 1,601 kali. Hasil

pengujian ekspresi gen pada kontrol negatif DMSO 2% yaitu 1,030 kali, sedangkan pada kontrol positif cisplatin yaitu 2,026 kali. Ekstrak metanol batang *E. alba* yang diuji pada lini sel T47D menggunakan Caspase-3 menunjukkan adanya peningkatan ekspresi gen Caspase-3 jika dibandingkan dengan kontrol

negatif yang digunakan yaitu DMSO 2%. Konsentrasi ekstrak yang paling baik dalam menekan ekspresi Caspase-3 yaitu 100 ppm.

E. alba merupakan tumbuhan endemik di Sulawesi Tenggara dari famili *zingiberaceae*. Menurut (Wahyuni et al., 2021) hasil LC-MS pada tumbuhan *E. alba* didapatkan beberapa senyawa yang diduga memiliki aktivitas sebagai antikanker, salah satunya yaitu spinasterol dari golongan steroid. Steroid memiliki peranan penting bagi tubuh dalam menjaga keseimbangan garam dan mengendalikan metabolisme tubuh. Senyawa metabolit sekunder steroid memiliki jalur metabolisme pada kanker payudara (Foster, 2008).

Steroid dapat menginduksi apoptosis pada lini sel dan menghentikan siklus sel dalam fase S atau pada fase proliferasi sel (Li et al., 2017). Steroid diklasifikasikan menjadi dua, yaitu steroid alami dan steroid sintetis. Steroid alami dapat diperoleh dari tumbuh-tumbuhan seperti, spinasterol, campesterol, stigmasterol dan β -sitosterol, sedangkan steroid sintetis yang biasa digunakan adalah glukokortikosteroid, estrogen, metilprednisolon, kortikosteroid (Nasrudin et al, 2017).

Berdasarkan beberapa penelitian, spinasterol mampu memodulasi aktivitas mitokondria dan ekspresi gen reseptor pada inti sel, memiliki aktivitas antikanker (Haralampiev et al., 2017). Spinasterol menyebabkan penurunan regulasi ekspresi gen dari siklus (cdk4, cdk6), apoptosis dan tumor penekanan (p53, BRCA-1 dan BRCA-2).

Senyawa ini juga mampu mengganggu aktivitas pada siklus sel, dengan penghentian siklus G1 ke ekspresi berlebih dari p53 dan penurunan regulasi gen cdk4 dan cdk6 dalam sel yang diobati dengan spinasterol. Cdk4 dan Cdk6 adalah kinase serintreonin yang bergantung pada siklin yang bertugas menerima stimulus untuk mempromosikan transkripsi gen yang dibutuhkan untuk siklus sel fase G1 hingga perkembangan pada fase S sehingga berpengaruh pada proliferasi sel (Sedky et al., 2018). Senyawa spinasterol memiliki efek antiproliferatif yang kuat terhadap kanker payudara, tetapi pengujian ini baru dilakukan pada lini sel kanker payudara MCF-7 dan MDA-MB-231 (Sagrero et al., 2017).

Penelitian *in vitro* pada tingkat molekuler memiliki keterbatasan karena lingkungan *in vitro* berbeda dengan lingkungan alami sel dalam tubuh manusia dan sistem *in vitro* mungkin tidak sepenuhnya meniru proses metabolisme yang terjadi secara *in vivo*. Sedangkan pada penelitian *in vivo* merujuk pada organisme hidup sehingga mampu menunjukkan dampak suatu senyawa pada tubuh

secara keseluruhan, bukan bagaimana obat tersebut memengaruhi sel yang terisolasi.

KESIMPULAN

Terdapat perbedaan yang signifikan dan bermakna pada nilai CT ekstrak metanol batang *E. alba* dengan konsentrasi 100 ppm yang menunjukkan adanya peningkatan ekspresi gen Caspase-3 sebagai penanda apoptosis dengan nilai 1,859 kali, jika dibandingkan dengan kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 2%.

Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metanol batang *E. alba* dapat menginduksi terjadinya apoptosis melalui jalur ekstrinsik pada lini sel MCF-7. Diperlukan penelitian lebih lanjut terkait aktifitas ekstrak metanol batang *E. alba* sebagai agen antikanker payudara pada lini sel MCF-7. Efek ini perlu dikonfirmasi dalam percobaan *in vivo* serta divalidasi lebih lanjut pada beberapa target molekuler tambahan dalam penelitian masa depan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami mengucapkan terimakasih kepada semua anggota tim penelitian etlingera dan kanker yang membantu jalannya penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Arianingrum, R. (2017). Pengaruh p-Hidroksi m-Metoksi Kalkon (pHmMK) Terhadap Ekspresi Protein Bcl-2 dan Bax Pada Sel Kanker Payudara MCF-7. *Jurnal Penelitian Saintek*, 21(1), 10. <https://doi.org/10.21831/jps.v21i1.10873>
- Beroske, L., Van den Wyngaert, T., Stroobants, S., Van der Veken, P., & Elvas, F. (2021). Molecular imaging of apoptosis: The case of caspase-3 radiotracers. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(8). <https://doi.org/10.3390/ijms22083948>
- Fristiody, A., & Haruna, L. A. (2020). Review Jurnal: Potensi Spons Laut Sebagai Anti Kanker Payudara. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 6(01), 30–52. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v6i01.56>
- Haralampiev, I., Scheidt, H. A., Huster, D., & Ller, P. M. (2017). The Potential of α -spinasterol to mimic the membrane properties of natural cholesterol. *Molecules*, 22(8), 1–11. <https://doi.org/10.3390/molecules22081390>
- Khan, S., Ng, R., Kayed, R., Karch, C. M., Miller, B. L., & Gestwicki, J. E. (2021). 2, 9, 415.
- Li, S., Yang, H., Guo, P., Ao, X., Wan, J., Li, Q., & Tan, L. (2017). Efficacy and safety of immunosuppressive medications for steroid-

- resistant nephrotic syndrome in children: A systematic review and network meta-analysis. *Oncotarget*, 8(42), 73050–73062. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20377>
- Martinez-Jacobo, L., Ancer-Arellano, C. I., Ortiz-Lopez, R., Salinas-Santander, M., Villarreal-Villarreal, C. D., Ancer-Rodriguez, J., Camacho-Zamora, B., Zomosa-Signoret, V., Medina-De La Garza, C. E., Ocampo-Candiani, J., & Rojas-Martinez, A. (2018). Evaluation of the Expression of Genes Associated with Inflammation and Apoptosis in Androgenetic Alopecia by Targeted RNA-Seq. *Skin Appendage Disorders*, 4(4), 268–273. <https://doi.org/10.1159/000484530>
- Maryam Hasymia Ishmatullah, S. M., & Levita, J. (2021). Caspase: Review of the Other Roles in Apoptosis, the Character of the Catalytic Site, and the Interactions With Substrates and Their Inhibitors. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 12(2), 183–191.
- Meneses-Sagrero, S. E., Navarro-Navarro, M., Ruiz-Bustos, E., Del-Toro-Sánchez, C. L., Jiménez-Estrada, M., & Robles-Zepeda, R. E. (2017). Antiproliferative activity of spinasterol isolated of *Stegnosperma halimifolium* (Benth, 1844). *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25(8), 1137–1143. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2017.07.001>
- Narrandes, S., & Xu, W. (2018). Gene expression detection assay for cancer clinical use. *Journal of Cancer*, 9(13), 2249–2265. <https://doi.org/10.7150/jca.24744>
- Nasrudin, wahyono, Mustofa, R. A. (2017). ISOLASI SENYAWA STEROID DARI KUKIT AKAR SENGGUGU (*Clerodendrum serratum* L.Moon). *PHARMACON:Journal Ilmiah Farmasi - UNSRAT*, 6(3).
- Nugrahaningsih, & Yuniastuti, A. (2014). Identifikasi Apoptosis Dengan Metode Tunel Pasca Pemberian Ekstrak Sambiloto Dan Pengaruhnya Terhadap Volume Tumor. *Saintekno*, 12(2), 139–146.
- Sedky, N. K., El Gammal, Z. H., Wahba, A. E., Mosad, E., Waly, Z. Y., El-Fallal, A. A., Arafa, R. K., & El-Badri, N. (2018). The molecular basis of cytotoxicity of α -spinasterol from *Ganoderma resinaceum*: Induction of apoptosis and overexpression of p53 in breast and ovarian cancer cell lines. *Journal of Cellular Biochemistry*, 119(5), 3892–3902. <https://doi.org/10.1002/jcb.26515>
- Variasi, P., Tembakan, J., Pulsed, N., Of, E., Of, V., Pulsed, N., & Fields, E. (2017). *Jurnal Riset Sains dan Teknologi* Pengaruh Variasi Jumlah Tembakan Nanosecond Pulsed Electric Fields (NsPEFs) Terhadap Ekspresi Gen SOCS3 Pada Sel Kanker Serviks Hela S3 (NsPEFs) Sheets On Gen SOCS3 Expression On Hela S3 Servical. 1(2), 45–50.
- Wahyuni, W., Diantini, A., Ghozali, M., Subarnas, A., Julaeha, E., Amalia, R., & Sahidin, I. (2021). Cytotoxic and Antimigration Activity of *Etlingera alba* (A.D.) Poulsen Rhizome. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6597402>
- World Health Organization (2020). Breast Cancer. Retrieved from <https://www.who.int/cancer/prevention/diagnosis-screening/breast-cancer/en/>