

## ARTIKEL PENELITIAN

## Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Penorema canescens jack*) terhadap Apoptosis Sel HeLa

Rizka Farahiya<sup>1</sup>, Dessy Arisanti<sup>2</sup>, Hirowati Ali<sup>2</sup>

1. Program Studi Pendidikan Dokter Program Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang, Indonesia; 2. Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Padang, Indonesia

Korespondensi: Rizka Farahiya; email: rizkafarahiya01@yahoo.com

### Abstrak

**Tujuan:** untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun sungkai dengan konsentrasi IC<sub>25</sub> (34,24 µg/ml), IC<sub>50</sub> (55,08 µg/ml), dan IC<sub>75</sub> (88,51 µg/ml) terhadap apoptosis sel HeLa. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan 28 well sel HeLa yang konfluen. Sampel dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan (K, P1, P2, dan P3). Sel HeLa yang telah konfluen diberikan ekstrak etanol daun sungkai dengan konsentrasi IC<sub>25</sub>, IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub> dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi, dilakukan pewarnaan dengan menggunakan Acridine Orange dan Propidium Iodide. Hasil penelitian kemudian dianalisis dengan menggunakan *One Way Anova* dan *Pos Hoc Bonferroni*. **Hasil:** Pada penelitian ini diperoleh rerata persentase sel yang mengalami apoptosis pada kelompok K, P1, P2, dan P3 berturut-turut 3,17; 5,12; 49,80; dan 75,62. Dari hasil uji statistik didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok K, P2, dan P3 dengan nilai p = 0,000 (p < 0,05). Akan tetapi, pada kelompok P1 dengan kelompok kontrol tidak terdapat perbedaan. **Kesimpulan:** Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sungkai pada sel HeLa dengan dosis yang bervariasi dapat menginduksi apoptosis sel HeLa. Terjadinya peningkatan apoptosis sel HeLa seiring dengan peningkatan konsentrasi dosis ekstrak daun sungkai yang diberikan.

**Kata kunci:** Ekstrak Etanol Daun Sungkai; Apoptosis; Sel HeLa; *Penorema canescens jack*

### Abstract

**Objective:** to determine the effect of ethanol extract of sungkai leaves with concentrations of IC<sub>25</sub> (34.24 µg/ml), IC<sub>50</sub> (55.08 µg/ml), and IC<sub>75</sub> (88.51 µg/ml) on HeLa cell apoptosis. **Methods:** This research is an experimental study using 28 well confluent HeLa cells. Samples were divided into 4 groups (K, P1, P2, and P3). Confluent HeLa cells were given Sungkai leaves ethanol extract with concentrations of IC<sub>25</sub>, IC<sub>50</sub>, IC<sub>75</sub> and incubated for 24 hours. After incubation, staining was performed using Acridine Orange and Propidium Iodide. The results of the study were then analyzed using *One Way Anova* and *Pos Hoc Bonferroni*. **Results:** In this research, the average percentage of cells undergoing apoptosis in groups K, P1, P2, and P3 was 3.17; 5.12; 49.80; and 75.62. From the statistical test results, it was found that there was a significant difference between groups K, P2, and P3 with a value of p = 0.000 (p < 0.05). However, in the P1 group with the control group there was no difference. **Conclusion:** In this study it can be concluded that the administration of Sungkai leaves ethanol extract to HeLa cells with various doses can induce apoptosis of HeLa cells. There was an increase in the apoptosis of HeLa cells along with the increasing concentration of the given Sungkai leaves ethanol extract dose.

**Keywords:** Sungkai Leaves Ethanol Extract; Apoptosis; HeLa Cell; *Penorema canescens jack*

## PENDAHULUAN

Kanker serviks merupakan keganasan yang berasal dari serviks dengan angka kejadian yang tinggi. Menurut data Globocan tahun 2020, kejadian kanker serviks menempati urutan ke-4 kanker terbanyak pada perempuan, yaitu 604.127 (6,5%) setelah kanker payudara, kolorektal, dan kanker paru. Berdasarkan angka kematiannya kanker serviks juga menempati urutan ke-4, yaitu 341.831 (7,7%), setelah kanker payudara, kanker paru, dan kanker kolorektal. Kanker serviks merupakan kanker ke-3 tersering pada perempuan di negara dengan pendapatan perkapita rendah dan menengah dengan angka kematian mencapai kira-kira 90%.<sup>1</sup> Kasus kanker serviks di Indonesia menempati urutan ke-11 di dunia. Angka kejadian dan kematian kanker serviks di Indonesia merupakan yang terbanyak ke-2 setelah kanker payudara. Persentase kejadian kanker serviks dibandingkan dengan keseluruhan kasus kanker di Indonesia adalah 9,3% sedangkan persentase angka kematiannya 8,8%.<sup>2</sup> Berdasarkan data Riskesdas provinsi Sumatera Barat pada tahun 2013, prevalensi kanker serviks di Sumatera Barat sebesar 0,9%. Daerah di Sumatera Barat yang memiliki prevalensi kanker serviks tertinggi yaitu Padang dan diikuti dengan Solok.<sup>3</sup>

Angka kematian kanker serviks yang tinggi disebabkan karena pasien datang pada stadium lanjut.<sup>4</sup> Pada stadium awal, kanker serviks diterapi dengan pembedahan, tetapi tidak semua pembedahan memberikan hasil yang memuaskan karena bisa terjadi rekurensi.<sup>5</sup> Pada stadium lanjut kanker serviks diterapi dengan kemoterapi dan radioterapi. Akan tetapi, terapi ini tidak bermanfaat bagi semua pasien karena kurang dari 20%

pasien yang memberikan respon positif.<sup>5</sup> Selain itu, kemoterapi dan radioterapi juga memiliki berbagai efek samping. Salah satu efek sampingnya adalah terapi ini juga dapat merusak sel-sel lain selain sel kanker.<sup>6</sup>

Kanker serviks disebabkan oleh infeksi *Human Papilloma Virus* (HPV). Jenis HPV paling karsinogenik terhadap kanker serviks adalah HPV-16 dan HPV-18.<sup>6</sup> Faktor lain yang berhubungan dengan kanker serviks adalah aktivitas seksual pada usia muda, hubungan seksual dengan berganti-ganti pasangan, penyakit yang menurunkan sistem imun, dan merokok.<sup>5</sup>

*Cervical cancerogenesis* merupakan mekanisme kompleks pembelahan sel yang tak terkontrol yang dapat melibatkan integrasi gen HPV bersamaan dengan perubahan seluler dan faktor epigenetik lainnya. Ketika infeksi HPV terjadi, *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) nya dapat mengalami mutasi dibawah kondisi seluler dan lingkungan lainnya, mengarah ke integrasi DNA virus dan bekerja dengan mesin sintesis DNA penjamu. Akibatnya, virus dapat menghindari mekanisme pertahanan seluler dan imun sambil meningkatkan proliferasi sel dan menghambat mekanisme apoptotik seluler.<sup>7</sup>

Apoptosis merupakan program bunuh diri sel intrinsik yang berfungsi untuk mempertahankan homeostasis jaringan dan melindungi organisme dengan membuang sel yang rusak atau terinfeksi yang dapat mengganggu fungsi normal. Disregulasi pensinyalan apoptosis dan apoptosis yang tidak tepat merupakan faktor dari berbagai macam penyakit, termasuk penyakit neurodegeneratif, autoimun, dan berbagai macam kanker.<sup>8</sup>

Mekanisme aktivasi apoptosis memiliki tiga jalur. Jalur aktivasi yang paling umum adalah jalur intrinsik atau

mitokondrial dan jalur ekstrinsik atau jalur reseptor kematian dari apoptosis. Kedua jalur tersebut akhirnya akan mengarah ke jalur bersama atau fase eksekusi dari apoptosis. Selain itu, jalur ketiga yang kurang banyak diketahui disebut jalur retikulum endoplasma intrinsik.<sup>9</sup>

Pada siklus sel, p53 berperan sebagai protein yang meregulasi siklus sel dan menyebabkan fase istirahat sel pada fase G1. Protein p53 akan teraktivasi apabila terdapat kerusakan DNA. *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) yang rusak tersebut akan diperbaiki terlebih dahulu sebelum melanjutkan ke siklus S pada siklus sel. Proses ini berperan agar DNA yang bereplikasi merupakan DNA yang normal.<sup>9</sup>

Selain protein p53, regulasi siklus sel juga diatur oleh gen pRb. Gen ini juga berperan dalam aktivasi fase istirahat siklus sel dan kelanjutan siklus sel. Apabila terjadi kerusakan DNA sel, protein ini tidak akan terfosforilasi sehingga terjadilah fase istirahat sel pada G1.<sup>9</sup>

Adanya infeksi HPV pada sel HeLa menyebabkan fungsi p53 dan pRb terganggu. Selama terjadinya infeksi, virus akan menghentikan apoptosis dan membuat sel berproliferasi abnormal. *Human Papilloma Virus* memiliki protein spesifik yang akan berikatan dengan reseptor pada p53 (protein E6) dan pRb (protein E7). Ikatan antara protein E6 dan E7 HPV dengan p53 dan pRb menyebabkan mutasi pada gen tersebut, sehingga apoptosis tidak terjadi dan terjadilah proliferasi sel yang abnormal.<sup>9</sup>

Sel HeLa merupakan salah satu *cell line* dari kanker serviks. Sel ini merupakan sel yang *immortal*. Sel ini berproliferasi abnormal dengan cepat. Sel HeLa memiliki telomerase yang aktif selama pembelahan yang menyalin telomer berulang kali. Hal ini mencegah terjadinya pemendekan

telomer bertahap yang terlibat dalam proses penuaan dan kematian. Dengan cara ini, sel dapat melewati *Hayflick limit*, yaitu jumlah terbatas pembelahan sel yang dapat dialami oleh sebagian sel sebelum menjadi tua. Akibatnya terjadilah pembelahan sel yang tak terbatas dan *immortality*.<sup>10</sup>

Sel HeLa telah banyak digunakan dalam penelitian. Salah satu penelitian yang menggunakan sel ini, yaitu efek flavonoid dan antioksidan terhadap proliferasi sel kanker dan mekanisme antikanker dari ekstrak etanol kulit mangga. Ekstrak etanol dari kulit mangga mengandung senyawa berupa fenolik yang bisa menginduksi kematian sel HeLa melalui apoptosis.<sup>10</sup>

Sungkai (*Penorema canescens*) merupakan suatu herbal yang memiliki zat aktif berupa flavonoid, alkaloid, steroid, fenolik, tannin, dan saponin.<sup>11</sup> Beberapa penelitian menemukan bahwa kandungan zat aktif pada daun sungkai dapat berfungsi sebagai antibakteri, antioksidan, antipiretik, meningkatkan sistem imun, dan anti diabetes.<sup>12-14</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Ibrahim A dkk. tahun 2021 terhadap sel HT-29 adenokarsinoma kolon menggunakan ekstrak daun sungkai menemukan bahwa ekstrak daun sungkai memiliki efek sitotoksik. Ekstrak daun sungkai ini mampu menghambat siklus sel, memicu apoptosis dan nekrosis sel HT-29 adenokarsinoma kolon.<sup>11</sup>

Dari beberapa penelitian tersebut, dapat dilihat bahwa terdapat potensi pada ekstrak daun sungkai sebagai pilihan terapi alternatif dari berbagai penyakit. Sejauh penelusuran literatur yang dilakukan, saat ini belum ada penelitian yang mengkaji efek ekstrak etanol daun sungkai terhadap apoptosis sel HeLa. Apabila ekstrak etanol daun sungkai terbukti dapat menginduksi

apoptosis pada sel HeLa, maka ekstrak etanol daun sungkai dapat dijadikan sebagai terapi alternatif kanker serviks.

Berdasarkan uraian pada latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut "Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sungkai (*Penorema canescens jack*) terhadap apoptosis sel HeLa?". Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun sungkai (*Penorema canescens jack*) terhadap apoptosis sel HeLa. Konsentrasi yang digunakan yaitu IC<sub>25</sub> (34,24 µg/ml), IC<sub>50</sub> (55,08 µg/ml), dan IC<sub>75</sub> (88,51 µg/ml).

## METODE

Jenis penelitian ini adalah *true experimental* laboratorium dengan studi *in vitro*. Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol daun sungkai dan sel HeLa kanker serviks.

Populasi dan sampel dalam penelitian ini adalah *cell line* HeLa yang ditumbuhkan di Laboratorium Kultur Sel Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. Sel HeLa yang digunakan adalah sel yang dikultur di dalam 6 cm *cultur disk* dan tumbuh serta berkembang dengan baik tanpa kontaminasi.

Pada penelitian ini, dilakukan uji pengaruh ekstrak etanol daun sungkai terhadap sel HeLa. Ekstrak etanol daun sungkai yang diberikan pada sel HeLa

diberikan dengan konsentrasi yang berbeda-beda., yaitu kelompok 1: kontrol sel, kelompok 2: ekstrak etanol daun sungkai dengan konsentrasi IC<sub>25</sub>, kelompok 3: ekstrak etanol daun sungkai dengan konsentrasi IC<sub>50</sub>, dan kelompok 4: ekstrak etanol daun sungkai dengan konsentrasi IC<sub>75</sub>.

Besar sampel tiap kelompok dihitung dengan rumus Federer dan diperoleh 7 sampel untuk tiap kelompok perlakuan. Pengambilan sampel dilakukan secara *total sampling*.

Data yang diperoleh adalah rerata jumlah sel kanker serviks yang mengalami apoptosis yang dianalisis menggunakan metode *One way Anova* dan *Post Hoc Bonferroni*. Metode *One Way Anova* digunakan karena penelitian ini memiliki lebih dari 2 kelompok perlakuan, yaitu sebanyak 4 kelompok perlakuan. Sebelum dilakukan *One Way Anova*, dilakukan uji normalitas data dengan menggunakan analisis deskriptif pada SPSS. Jika data tersebut berdistribusi normal, maka metode *One Way Anova* dapat digunakan. Akan tetapi, jika data tersebut tidak berdistribusi normal maka dilakukan uji alternatif *Kruskal Wallis*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, hasil yang diperoleh dari setiap kelompok perlakuan disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil perhitungan rerata sel yang mengalami apoptosis

Kelompok	Persentase Kematian Sel Kanker			
	K (n=7)	P1 (n=7)	P2 (n=7)	P3 (n=7)
Well 1	1,03	5,73	49,28	72,93
Well 2	2,52	4,19	47,91	73,50
Well 3	1,74	5,89	55,98	78,67
Well 4	4,98	5,00	55,86	74,19
Well 5	5,46	8,39	50,42	77,58
Well 6	3,89	3,33	41,30	74,86

Well 7	2,60	3,32	47,83	77,61
Maksimum	5,46	8,39	55,98	78,67
Minimum	1,03	3,32	41,30	72,93
Rata rata	3,17	5,12	49,80	75,62
Saphiro-Wilk test	0,673	0,384	0,451	0,291
Levene's test	0,065			

Keterangan tabel:

- n : jumlah sampel
- K : kelompok kontrol
- P1 : kelompok perlakuan 1
- P2 : kelompok perlakuan 2
- P3 : kelompok perlakuan 3

Hasil yang diperoleh kemudian diuji dengan menggunakan interval kepercayaan 95% dan signifikansi 0,05% ( $p=0,05$ ). Hasil analisis ini dijabarkan pada uji normalitas dan uji homogenitas. Selanjutnya, hasil penelitian pengaruh ekstrak etanol daun sungkai terhadap sel HeLa diuji secara statistik. Untuk melakukan uji normalitas data digunakan metode *Shapiro-Wilk test* dan diperoleh hasil pada kelompok kontrol, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3, berturut-turut 0,673, 0,384, 0,451, 0,291. Diperoleh nilai  $p$  pada kelompok kontrol dengan perlakuan:  $p > 0,05$ . Sehingga, dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal dan uji *One Way Anova* dapat dilakukan.

Untuk mengetahui bermakna atau tidaknya perbedaan rerata presentase sel yang mengalami apoptosis pada setiap kelompok dilakukan uji *One Way Anova*. Sebelum dilakukan uji *One Way Anova*,

terlebih dahulu dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan *Homogeneity of Variances*. Hasil uji didapatkan  $p = 0,065$  ( $p > 0,05$ ), sehingga dapat disimpulkan bahwa varian data antar kelompok sama. Setelah uji homogenitas, maka dilanjutkan untuk uji *One Way Anova*. Hasil uji *One Way Anova* pengaruh ekstrak etanol daun sungkai terhadap sel HeLa adalah tidak semua kelompok perlakuan bermakna secara statistik. Kelompok kontrol dengan perlakuan 1 tidak bermakna secara statistik karena diperoleh nilai  $p = 1,000$  ( $p > 0,05$ ). Sementara itu, untuk kelompok kontrol dengan perlakuan 2 dan 3 masing-masing diperoleh hasil yang bermakna secara statistik dengan nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ). Untuk mengetahui perbedaan signifikansi pada masing masing kelompok dilakukan analisis lebih lanjut dengan *Pos Hoc Bonferroni*. Hasil uji *Post Hoc Bonferroni* disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis *Post Hoc Bonferroni*

	Kelompok Penelitian	p
Kontrol	Perlakuan 1	1,000
	Perlakuan 2	0,000
	Perlakuan 3	0,000
Perlakuan 1	Kontrol	1,000
	Perlakuan 2	0,000
	Perlakuan 3	0,000
Perlakuan 2	Kontrol	0,000
	Perlakuan 1	0,000

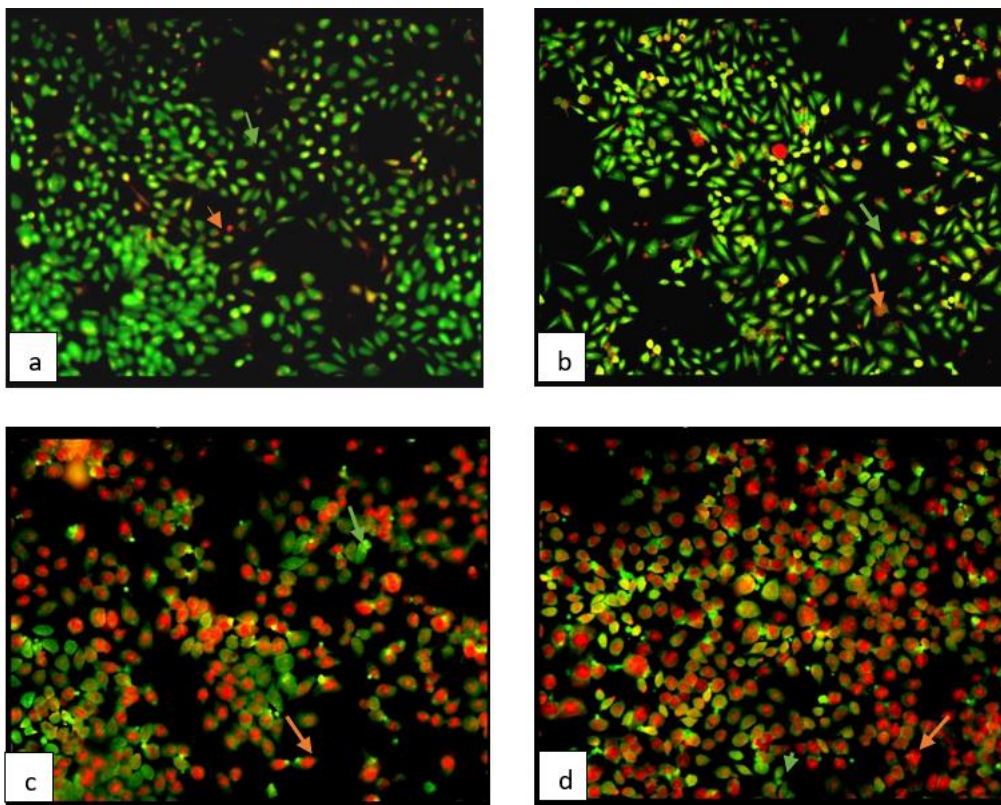


Perlakuan 3	Perlakuan 3	0,000
	Kontrol	0,000
	Perlakuan 1	0,000
	Perlakuan 2	0,000

Keterangan: perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ )

Pada tabel 2, terlihat bahwa nilai  $p$  untuk kelompok kontrol dengan perlakuan 1 adalah 1,000 ( $p > 0,05$ ). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa perbedaan hasil antara kelompok kontrol dengan perlakuan 1 tidak bermakna secara statistik. Akan tetapi, untuk kelompok

kontrol dengan perlakuan 2 dan 3 masing-masing diperoleh nilai  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ). Dengan demikian, dapat diperoleh bahwa perbedaan hasil antara kelompok kontrol, perlakuan 1, dan perlakuan 3 bermakna secara statistik.



Gambar 1. Foto mikrograf floresens kultur sel HeLa pewarnaan *propidium iodide-acridine orange* menunjukkan gambar a) kelompok kontrol, b) kelompok perlakuan 1 ( $IC_{25}$ ), c) kelompok perlakuan 2 ( $IC_{50}$ ), d) kelompok perlakuan 3 ( $IC_{75}$ ). Sel hidup tampak bewarna hijau dan sel yang mati bewarna merah

Pada gambar 1 ditampilkan foto floresens kultur sel HeLa kelompok kontrol dan yang telah diberi ekstrak etanol daun sungkai dengan berbagai konsentrasi.

Pemberian obat yang menginduksi apoptosis merupakan strategi kunci pada

terapi kanker. Morfologi sel dan fragmentasi DNA merupakan indikator utama induksi apoptosis.<sup>11</sup>

Berbagai kandungan pada tumbuhan termasuk *curcumin*, *resveratrol*, *tea polyphenols*, dan flavonoid telah

dilaporkan dapat menginduksi apoptosis pada berbagai macam tumor. Selain itu, berbagai buah-buahan dan sayuran juga telah dilaporkan mampu memodulasi sinyal jalur transduksi yang berhubungan dengan proliferasi sel dan apoptosis. Flavonoid dapat menginduksi penghentian siklus sel pada berbagai tipe sel kanker.<sup>15</sup>

Berdasarkan uji kandungan metabolit sekunder, pada ekstrak daun sungkai terdapat kandungan flavonoid.<sup>16</sup> Berdasarkan penelitian sebelumnya, flavonoid mampu menurunkan tingkat *survival* sel dan bergantung pada dosis yang diberikan.<sup>15</sup> Flavonoid mampu meregulasi metabolisme seluler dan mencegah stres oksidatif. Oleh karena kemampuan flavonoid tersebut, flavonoid dapat digunakan sebagai anti kanker.<sup>17</sup>

Flavonoid memiliki berbagai efek antikanker, yaitu memodulasi aktivitas ROS, berperan dalam penghentian siklus sel, menginduksi apoptosis, dan mensupresi proliferasi sel kanker.<sup>17</sup> Flavonoid dapat menyebabkan siklus sel berhenti pada fase G2/M dan menyebabkan perubahan morfologi sel menjadi sel yang memiliki karakteristik yang mengalami apoptosis. Sel dapat mengalami apoptosis karena aktivasi p53 akibat flavonoid. Protein p53 merupakan agen pro apoptosis dan dapat menghambat agen anti apoptosis, sehingga terjadi apoptosis sel.<sup>15</sup>

Pada sel HeLa yang diberi ekstrak etanol daun sungkai dengan konsentrasi 34,28 µg/ml (IC<sub>25</sub>) didapatkan rerata sel yang mengalami apoptosis sebanyak 5,12%; pada konsentrasi 55,08 µg/ml (IC<sub>50</sub>) didapatkan rerata sel yang mengalami apoptosis sebanyak 49,80%; dan pada konsentrasi 88,51 µg/ml (IC<sub>75</sub>) didapatkan rerata sel yang mengalami apoptosis

sebanyak 75,62%. Diperoleh adanya peningkatan persentase sel HeLa yang mengalami apoptosis seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun sungkai yang diberikan.

Menurut National Cancer Institute, suatu senyawa dikatakan memiliki efek sitotoksik aktif apabila memiliki IC<sub>50</sub> < 100 µg/ml.<sup>18</sup> Pada penelitian ini, diperoleh konsentrasi ekstrak etanol daun sungkai yang dapat menghambat 50% viabilitas sel sebesar 55,08 µg/ml. Artinya, ekstrak etanol daun sungkai tersebut memiliki efek sitotoksik terhadap sel HeLa. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sungkai berpotensi sebagai antikanker.

## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut, yaitu ekstrak etanol daun sungkai dapat memengaruhi apoptosis pada sel HeLa dan jumlah sel yang mengalami apoptosis pada kultur sel HeLa yang diberi ekstrak etanol daun sungkai akan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak etanol daun sungkai yang diberikan.

## DUKUNGAN FINANSIAL

Tidak ada.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih peneliti sampaikan kepada semua pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan dan menyempurnakan penelitian ini.

## KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Bhatla N, Aoki D, Sharma D, Sankaranarayanan R. Cancer of the cervix uteri: 2021 update. *Int J Gynaecol Obstet.* 2021;155(S1):28-44.
2. (IARC). Global Cancer Observatory [Internet]. Gco.iarc.fr. 2022 [cited 8 March 2022]. Available from: <https://gco.iarc.fr/>
3. KEMENKES. Infodatin Kanker. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI 2015. 2015.
4. Mahantshetty U, Lavanya G, Grover S, Akinfenwa C, Carvalho H, Amornwichee N. Incidence, Treatment and Outcomes of Cervical Cancer in Low- and Middle-income Countries. *Clin. Oncol.* 2021;33(9):e363-e371.
5. Kunkule R, Papale R, Jadhav S. Review on Cervical Cancer. *Curr Trends Pharm Pharm Chem.* 2020;2(2):39-44.
6. Mock C, Adjei S, Acheampong F, Deroo L, Simpson K. Occupational Injuries in Ghana. *Int. J. Occup. Environ. Health.* 2005;11(3):238-245.
7. Chan C, Aimagambetova G, Ukybassova T, Kongrtay K, Azizan A. Human Papillomavirus Infection and Cervical Cancer: Epidemiology, Screening, and Vaccination—Review of Current Perspectives. *J. Oncol.* 2019;2019:1-11.
8. Cotran R, Kumar V, Robbins S. Pathologic basis of disease. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2015.
9. Pucci B, Kasten M, Giordano A. Cell cycle and Apoptosis. *Nature America.* 2000;2(4):291-299.
10. Hongbao M. Hela Cells and Immortality. *Annu. Rev. Cancer Biol.* 2017;7(3):71-77.
11. Ibrahim A, Prajogo B. Cytotoxic Activity of *Peronema canescens* Jack Leaves on Human Cells: HT-29 and Primary Adenocarcinoma Colon Cancer. *Pharmacogn. J.* 2021;13(6):1389-1396.
12. Widodo H, Asmara W, Rohman A. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of selected medicinal plants used for liver diseases and its classification with chemometrics. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2019;9(6):99-105.
13. Yani A, Putranto A. Examination of the Sungkai's Young Leaf Extract (*Peronema canescens*) As An Antipiretic, Immunity, Antiplasmodium AND Teratogenity in Mice (*Mus.muculus*). *Int. J. Eng. Sci.* 2014;7(1):30-34.
14. Latief M, Sari P, Tarigan I, Rupasinghe V. Antidiabetic Activity of Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Leaves Ethanol Extract on the Male Mice Induced Alloxan Monohydrate. *Pharmacol. Res.* 2021;6(2):64-72.
15. Priyadarsini V, Murugan S, Ramalingam K, Karunakaran D, Nagini S. The flavonoid quercetin induces cell cycle arrest and mitochondria-mediated apoptosis in human cervical cancer (HeLa) cells through p53 induction and NF- $\kappa$ B inhibition. *Molecular and Cellular Pharmacology.* 2010;;84–91.
16. Santoni A, Pratama I. Penentuan Kandungan Metabolit Sekunder, Uji Aktivitas Antibakteri dan Sitotoksik Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema*



- canescens Jack). Jurnal Kimia Unand. 2020;9(4):21-34.
17. Kopustinskiene D, Jackstas V, Savikas A, Bernatoniene J. Flavonoids as Anticancer Agents. *Nutrients*. 2020Feb12;12(457):125.
18. Mutiah R, Suryadinata A, Nurani PS. Uji Sitotoksik Kombinasi Cisplatin Dengan Ekstrak Etanol Benalu Alpukat (*Dendrophthoe Pentandra* (L) Miq.) Pada Sel Hela. *Majalah Kesehatan*. 2018Sep;5(3):133–43.