

## UJI POTENSI ANTIKANKER LEUKEMIA EKSTRAK METANOL DAUN *Selaginella delicatula* DAN *Pteris vittata*

Meivani Ngama<sup>1)</sup>, Dingse Pandiangan<sup>1)</sup>, Marhaenus j. Rumondor<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup>Jurusan Biologi, FMIPA, UNSRAT, Manado

### ABSTRACT

Research test potential anti-cancer methanol extract of the leaves *Selaginella delicatula* and *Pteris vittata* have been done. This research aims for determine the amount of 50% inhibition growth of P388 leukemia cancer cell from methanol extract of the leaves *S. delicatula* and *P. vittata* and to know the potential of this plants as the anti-cancer. Extract method that the use is meceration with methanol solvent to get the crude extract. The crude extract tested the potential anticancer with the MTT (*microculture tetrazolium technique*) methods on P388 leucemia cancer cell. The growth of cells measured by absorbance of the cange of colour MTT with respiratory enzyme of cells at a wavelengt 540 nm at a concentration of 0,1 µg/mL to 100 µg/mL sample extract. IC<sub>50</sub> is determined by the aquation between the absorbance value of the extract concentration. Data processing using the originlab program 9.0 32-bit (*Originlab Corporation USA*). The result showed the methanol extract from the leaves *S. delicatula* has a value of inhibition is 16,76 µg/mL and methanol extract of the leaves *P. vittata* is 82,81 µg/mL. Provision stating the greater the value of IC<sub>50</sub> the compounds are less potential as anticancer. With the results of this research, the *S. delicatula* potential to be developed as an anticancer leukemia than *P. vittata*.

Keyword: *Selaginella delicatula*, *Pteris vittata*, Leukemia P388, MTT assay, Citotoxic

### ABSTRAK

Penelitian uji potensi antikanker ekstrak metanol daun *Selaginella delicatula* dan *Pteris vittata* telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan berapa besar penghambatan pertumbuhan sel kanker leukemia P388 dari ekstrak metanol daun *S. delicatula* dan *P. vittata* untuk mengetahui adanya potensi dari tumbuhan ini sebagai antikanker. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut metanol untuk mendapatkan ekstrak kasar. Kemudian ekstrak kasar diuji antikankernya dengan metode MTT (*microculture tetrazolium technique*) pada sel kanker leukemia P388. Pertumbuhan sel ditentukan melalui absorbansi perubahan warna MTT dengan enzim respirasi sel pada panjang gelombang 540 nm pada konsentrasi ekstrak dari 0,1 µg/mL sampai 100 µg/mL. IC<sub>50</sub> ditentukan dengan persamaan logaritma antara nilai absorbansi dengan konsentrasi ekstrak. Pengolahan data menggunakan program Originlab 9.0 32-bit (*Originlab Corporation USA*). Hasil penelitian menunjukkan ekstrak metanol daun *S. delicatula* memiliki nilai penghambatan pertumbuhan 50 % (IC<sub>50</sub>) sebesar 16,76 µg/mL dan ekstrak metanol daun *Pterris vittata* sebesar 82,81 µg/mL. Ketentuan yang menyatakan semakin besar nilai IC<sub>50</sub> maka senyawa tersebut semakin tidak berpotensi sebagai antikanker. Dengan hasil uji ini maka *S. delicatula* berpotensi untuk dikembangkan sebagai antikanker leukemia dari pada *P. vittata*.

Kata Kunci: *Selaginella delicatula*, *Pteris vittata*, Leukemia P388, MTT assay, Sitotoksik

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber daya alam dan hasil bumi serta keanekaragaman hayati, salah satunya adalah tumbuhan paku (Pteridophyta). Tumbuhan ini banyak ditemukan di wilayah Indonesia, salah satunya di Sulawesi Utara. Tumbuhan paku dapat ditemukan di hutan, dataran tinggi, dataran rendah, pinggir jalan, kebun tanaman bahkan di daerah lembab maupun basah. Kebanyakan tumbuhan ini digunakan sebagai tanaman hias, sumber makanan (sayur) dan bahan obat-obatan tradisional. Secara tradisional tumbuhan paku digunakan masyarakat sebagai obat antibakteri, obat malaria, pencahar, obat menghentikan pendarahan, obat pasca persalinan, obat penyakit kulit dan antiradang (Arini dan Kinho, 2008). Semakin berkembangnya ilmu pengetahuan Tumbuhan digunakan sebagai alternatif untuk pengobatan, salah satunya sebagai terapi kanker. Beberapa tumbuhan paku sudah diuji potensi antikankernya antara lain *Drymoglossum piloselloides* (Sahid *et al.*, 2013).

Penggunaan senyawa aktif tumbuhan obat tradisional pada terapi kanker semakin berkembang. Permasalahan yang timbul adalah uji hayati yang lama jika menggunakan uji pakai mencit atau binatang lainnya apalagi harus menjadikan hewan percobaan tersebut menderita. Kemajuan dalam bioteknologi akhir-akhir ini telah memungkinkan untuk uji antikanker dapat dilakukan dengan cepat dan tepat. Teknologi tersebut disebut juga teknik *in vitro*. Teknik *in vitro* ini menggunakan sel *line* yang dapat diuji dengan uji MTT (*microculture tetrazolium technique*) (Pandiangan, 2009) dengan menggunakan parameter  $IC_{50}$  sehingga

dapat diketahui adanya potensi tumbuhan sebagai antikanker (Winarno, 2011).

Beberapa tumbuhan paku yang banyak ditemukan di Sulawesi Utara antara lain *S. delicatula* dan *P. Vittata*. Hasil penelitian Djoronga *et al.*, (2014) penapisan alkaloid menunjukkan bahwa *S. delicatula* dan Genus *Pteris* positif mengandung alkaloid. Alkaloid merupakan suatu golongan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antikanker (Pandiangan, 2009). Uji potensi antikanker ekstrak metanol daun *S. delicatula* dan *P. vitatta* belum ada yang melaporkan. Melalui penelitian ini dengan teknik *in vitro* dengan parameter  $IC_{50}$  pada sel kanker Leukemia P388 dapat diketahui potensi antikanker dari tumbuhan paku *S.delicatula* dan *P. vitatta* ini untuk dikembangkan menjadi antikanker Leukemia di masa yang akan datang.

## III. METODE PENELITIAN

### Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Konservasi dan Ekologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi Manado untuk pembuatan ekstrak dan uji sitotoksitas ekstrak metanol daun *P. vittata* dan *S. delicatula* dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam ITB Bandung. Tempat pengambilan sampel di Jln Warembungan sampai gunung Mahawu dan jln Budo Kec. Wori. Waktu pelaksanaan penelitian (Juni-Agustus 2015).

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan kasar, timbangan digital, gelas ukur 250 mL dan 1000 mL, ayakan, blender, stoples kaca,

wadah ukur, labu Erlenmeyer 250 mL dan 500 mL, aluminium foil, batang pengaduk, sendok, corong, pisau, gunting, tabung eppendorf, kain lap, tisu, cawan petri, kertas label, mortar dan pastel, kamera digital. Bahan-bahan yang digunakan yaitu daun tumbuhan *S. delicatula* dan *P. vittata* yang segar, Metanol analitis, sel Leukemia P388.

### Identifikasi di Lapangan

Sebelum pengambilan sampel, terlebih dahulu dilakukan survey tempat yang banyak terdapat daun tumbuhan *S. delicatula* dan *P. vittata* dilokasi pengambilan sampel yaitu di jln Warembungan sampai Gunung Mahau dan jln Desa Budo. Untuk pengambilan kedua Sampel tumbuhan paku di identifikasi dengan pengenalan ciri dan tipe morfologinya menggunakan buku tentang paku seperti Piggott dan Piggott (1989), van Steenis (1988), Tjitrosoepomo (1989), Parris *et al.* (2010), Serta dari media internet. Identifikasi dilakukan dengan membandingkan ciri morfologi sampel dengan gambar yang terdapat di buku identifikasi dan media internet.

### Pengambilan Sampel (Koleksi)

Sampel yang digunakan yaitu daun *S. vittata* dan *P. vittata* yang berwarna hijau. Daun dari kedua sampel dicuci bersih, ditiriskan dan diiris kecil-kecil, lalu timbang sebanyak 500 gram. Hasil penimbangan tersebut dinyatakan sebagai berat basah. daun tersebut selanjutnya dikeringkan selama kurang lebih 3 sampai 4 minggu. Setelah itu, didinginkan kemudian berat kering diukur sehingga dapat ditentukan parameter kadar airnya. Rumus yang digunakan untuk menentukan kadar air sebagai berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{X - Y}{Y} \times 100\%$$

X = berat basah daun (gram)

Y = berat kering daun (gram)

(Abdillah, 2006).

### Ekstraksi

Sampel daun *S. velicatula* dan *P. vittata* yang sudah kering dan ditimbang, dihaluskan menggunakan blender. Hasil blender diayak sebanyak 2 kali sampai didapatkan serbuk halus (simplisia). Ekstraksi dilakukan dengan maserasi. Serbuk halus yang didapatkan dari kedua sampel ditimbang sebanyak 39.1 gram dari masing-masing sampel. Sampel (serbuk halus) direndam dalam stoples kaca dengan penambahan 500 mL metanol analitis (pa) setiap satu sampelnya. Sampel direndam selama 4 kali 24 jam (4 hari) dan setiap 1 kali 24 jam (1 hari) dilakukan pengadukan (Monoarfa, 2011). Ekstrak disaring dengan penyaring 0,2 mesh. Kemudian ekstrak hasil penyaringan dievaporasi pada suhu 45 °C selama kurang lebih 1 jam dengan Evaporator (Steroglass Strike 300), Hasil evaporasi dalam bentuk ekstrak yang tersisa sekitar 20 mL diisikan dalam cawan petri untuk dikeringkan pada suhu ruang (24 jam). Ekstrak yang sudah kering kemudian ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf. Proses ini dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan ekstrak kasar dari daun *S. delicatula* dan *P. vittata*. Ekstraksi dilakukan sebanyak 2 kali. Ekstrak kering kemudian digunakan pada uji antikanker pada tahap berikutnya.

### Uji Antikanker

Uji antikanker secara *in vitro* dilakukan dengan bertahab mengikuti metoda (Koba 2013 dalam pandiangan 2010). Secara bertahab penelitian ini

dilakukan di KOBA ITB Bandung dengan tahapan sebagai berikut (1). Pembuatan larutan sampel, pembuatan larutan uji sampel, persiapan bahan percobaan, persiapan dan pembuatan media buffer), (2) sterilisasi alat & medium, (3) Kultur sel, (4) kuantifikasi Jumlah Sel, (5) perlakuan Sel Kanker dengan Ekstrak, (6) Pengukuran aktivitas antikanker dengan MTT Assay, (7) Hasil pengamatan pengamatan teknik *in vitro* uji aktivitas antikanker. Secara rinci tahapannya sebagai berikut:

Uji antikanker dilakukan dengan menggunakan sel Leukemia P388, pada media RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) dalam “multiwell plate”. Pengulturan sel dilakukan dalam kondisi steril. Sel Leukemia P388 dipelihara dengan 5 mL medium pemeliharaan dalam botol kultur 25 cm<sup>2</sup>. Medium pemeliharaan diganti setiap 2 hari dan subkultur dilakukan ketika kultur sel telah memenuhi 80% substrat. Kultur sel dipelihara sampai memenuhi 80% substrat, kemudian medium pemeliharaan dibuang selanjutnya sel dicuci dengan 1,5 mL FBS (*Fetal Bovine Serum*) dengan 3x ulangan. Setelah itu sel dibilas dengan 1,5 mL EDTA 0,02%, kemudian sel diberi 1,5 mL tripsin 0,25% selanjutnya sel diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 menit. Setelah itu medium dasar yang mengandung 50% FBS (*Fetal Bovine Serum*) ditambahkan sebanyak 1,5 mL. Suspensi sel dipindahkan dalam tabung Falcon 15 mL, kemudian suspensi sel disentrifugasi 1000 rpm selama 5 menit hingga diperoleh “pellet sel”. Selanjutnya medium pemeliharaan sebanyak 3 mL ditambahkan ke dalam “pellet sel”, lalu disuspensikan hingga homogen. Akhirnya

suspensi sel dibagi ke dalam 2 botol kultur dan diperoleh 2 kultur sel yang baru.

Ekstrak metanol kering sebanyak 1 mg ditambahkan dengan 1 mL DMSO (*Dimethyl sulfoxide*) sampai larut sebagai stok larutan ekstrak untuk membuat variasi konsentrasi. Kemudian dibuat variasi konsentrasi ekstrak mulai dari 0,1 µg/mL, 0,3 µg/mL, 1 µg/mL, 3 µg/mL, 10 µg/mL, 30 µg/mL, dan 100 µg/mL. Masing-masing ekstrak dimasukkan ke kultur sel Leukemia P388. Sel yang telah diberi ekstrak dipelihara pada medium dasar yang mengandung 2% FBS dan diinkubasi selama 24 jam agar sel melekat pada substrat.

Aktivitas pertumbuhan sel setelah perlakuan diukur dengan pemberian larutan MTT (*3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid*). Medium dibuang dan diberi 200 µl medium dasar yang mengandung 2% FBS (*Fetal Bovine Serum*) dan 50 µl larutan MTT untuk setiap sumur. Sel diberi MTT untuk mengukur efek sitotoksik sampel. Sel diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37°C dengan kondisi gelap. Setelah itu, medium dibuang dan diberi 200 µl DMSO (*Dimethyl sulfoxide*) dan 25 µl bufer glisin. Intensitas absorbansi warna diukur dengan menggunakan *microplate spectrophotometer* (BioRad) pada panjang gelombang 540 nm. Intensitas absorbansi warna dibuat untuk mencari nilai *Inhibition concentration* sebanyak 50% (IC<sub>50</sub>) dari ekstrak dari kedua daun tumbuhan paku tersebut. Pengukuran dilakukan 3 kali ulangan dan tiap konsentrasi diukur 3 kali ulangan (KOBA ITB : Informasi langsung).

#### **Analisis Data**

IC<sub>50</sub> (*Inhibition Concentration*<sub>50</sub>) ditentukan melalui persamaan logaritma

dari rata-rata absorbansi 3 ulangan data setiap konsentrasi dengan konsentrasi ekstrak sampel. Analisis data digunakan program Originlab 9.0 32bit (*Originlab Corporation USA*). Melalui program tersebut diperoleh persamaan logaritma yang mengandung penghambatan pertumbuhan sel 50% ( $IC_{50}$ ) pada konsentrasi tertentu sesuai data absorbansi hasil pengukuran pada konsentrasi 0,1 sampai 100  $\mu\text{g/mL}$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Ekstraksi Daun *Selaginella delicatula* dan *Pteris vittata*

Pembuatan ekstrak diawali dengan pengukuran kadar air sampel. Sampel daun *S. delicatula* (Gambar 1a) sebanyak 500 gram dikeringkan kemudian diperoleh

berat kering 70 gram (Gambar 1b), kadar air sampel yang diperoleh yaitu 86 % dan sampel *P. vittata* (Gambar 2a) sebanyak 500 gram diperoleh berat kering 101 gram (Gambar 2b) serta kadar airnya 79,8 %. Pentingnya pengukuran kadar air yang terkandung dalam sampel yang diuji dikarenakan berpengaruh pada proses ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pemindahan senyawa aktif dari dalam sel yang ditarik oleh pelarut, sehingga senyawa aktif tersebut menjadi tercampur dengan pelarut tersebut (Harbone, 1996). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu maserasi yaitu dengan cara merendam sampel dengan pelarut, pelarut yang digunakan yaitu metanol. Metode ini digunakan karena merupakan metode yang umum dan mudah digunakan dalam ekstraksi pada penelitian sebelumnya.



Gambar 1. Sampel *S. delicatula* yang ditimbang berat basah (1a) dan berat kering (1b).



Gambar 2. Sampel *P. vittata* yang ditimbang berat basah (2a) dan berat kering (2b).

Perendaman sampel dalam pelarut mengakibatkan dinding sel daun sampel *S. delicatula* dan *P. vittata* keluar dan terlarut dalam pelarut yang digunakan (Haryadi, 2012). Sampel yang telah direndam kemudian disaring dan menghasilkan

ekstrak cair dan dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak kering (Gambar 3). Hasil ekstraksi selanjutnya diuji sitotoksitasnya terhadap sel kanker Leukemia p388 secara *in vitro*.



Gambar 3. Ekstrak kering hasil Evaporasi *S. delicatula* (A) dan *P. vittata* (B)

### Uji Potensi Antikanker

Hasil uji sitotoksik pada penelitian ini bermanfaat untuk mengetahui berapa besar efek sitotoksik dan potensi antikanker dari ekstrak metanol *S. delicatula* dan *P. vittata* terhadap sel kanker Leukemia P388 secara *in vitro*. Hasil pengujian uji antikanker ekstrak metanol daun *S. delicatula* dan *P. vittata* ditentukan dengan menghitung nilai  $IC_{50}$

yaitu nilai konsentrasi yang mampu menekan pertumbuhan 50% populasi sel Leukimia P388 (Tabel 1). Data hasil uji MTT pada tabel tersebut digunakan untuk menentukan nilai  $IC_{50}$  dengan menggunakan Originlab 9.0 32 – bit kemudian hasil perhitungan diperoleh nilai  $IC_{50}$  ekstrak metanol daun *S. delicatula* dan *P. vittata*.

Tabel 1. Hasil uji sitotoksisitas dan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak metanol daun *S. delicatula* dan *P. vittata* terhadap sel Leukemia P388.

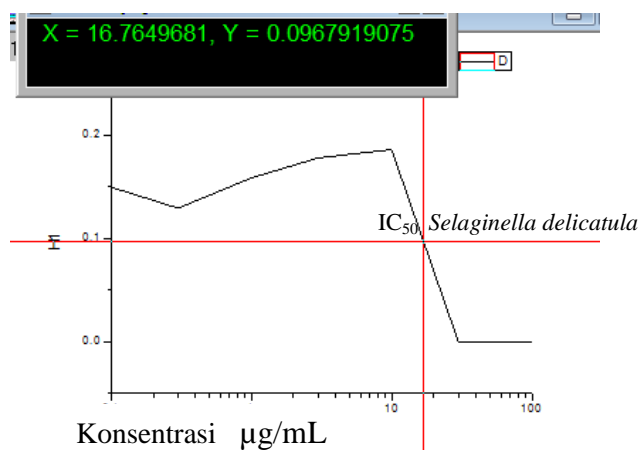
Jenis Ekstrak	Konsentrasi µg/mL	Ulangan			Rata- Rata	IC <sub>50</sub> µg/mL
		1	2	3		
<b>Daun <i>S. delicatula</i></b>	100	-0,00033	-0,00133	-0,00033	-0,0006	16,76
	30	0,000667	-0,00133	-0,00133	-0,0006	
	10	0,209667	0,179667	0,168667	0,186	
	3	0,190667	0,179667	0,163667	0,178	
	1	0,153667	0,164667	0,157667	0,158	
	0,3	0,045667	0,170667	0,171667	0,129	
	0,1	0,201667	0,081667	0,165667	0,149	
	<b>Daun <i>P. vittata</i></b>	100	-0,01	-0,00533	-0,01233	
30		1,112	1,426667	1,337667	1,292	
10		0,785	1,954667	1,821667	1,52	
3		1,008	1,939667	1,933667	1,627	
1		1,517	1,633667	1,927667	1,692	
0,3		1,254	1,675667	1,588667	1,506	
0,1		0,748	1,326667	1,816667	1,297	

Hasil analisis data diperoleh nilai IC<sub>50</sub> dari ekstrak metanol daun *S. delicatula* terhadap sel kanker Leukemia P388 (Gambar 4). Gambar tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari *S. delicatula* memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker Leukemia P388 dengan nilai konsentrasi hambatan 16,76 µg/mL. Sedangkan hasil analisis data melalui program Origin Lab dari ekstrak metanol *P. vittata* diperoleh nilai IC<sub>50</sub> sebesar 82,81 µm/mL (Gambar 5).

Hasil tersebut di atas menunjukkan bahwa IC<sub>50</sub> ekstrak *S. delicatula* lebih kecil dari 20 Menurut Cho *et al* (1998) menyatakan bahwa *S. delicatula* tergolong ekstrak sangat aktif, sedangkan *P. vittata* tergolong kurang aktif. Berdasarkan hal ini

maka *S. delicatula* lebih berpotensi sebagai antikanker dari *P. vittata*. Pertimbangan lainnya karena kemampuan menghambat pertumbuhan sel kanker Leukemia P388 sebanyak 50% terjadi pada konsentrasi ekstrak yang sangat kecil (rendah) dari ekstrak metanol *S. Delicatula* dibandingkan dengan *P vittata* yang mempunyai konsentrasi ekstrak yang sangat besar. Konsentrasi ekstrak yang kecil tersebut menunjukkan daya hambat pertumbuhan sel kanker Leukemia P388 lebih besar dari pada ekstrak methanol daun *P. vittata*. Diketahui bahwa penghambatan pertumbuhan dari *P. vittata* sebesar 82,81 µm/mL mempunyai daya hambat yang lebih kecil dari prtumbuhan penghambatan *S. delicatula*

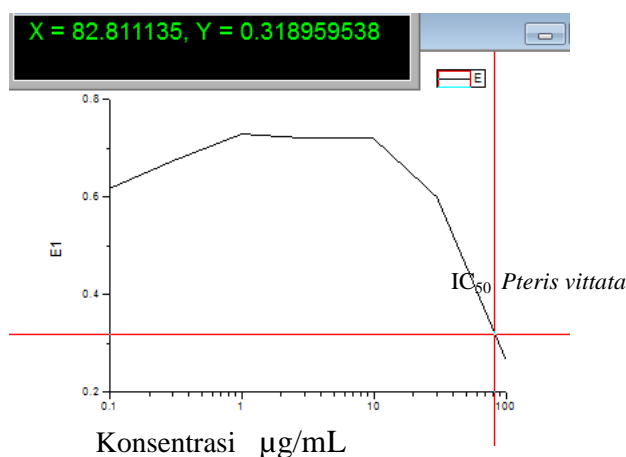




Gambar 4. Grafik persamaan logaritma antara rata-rata absorbansi dengan konsentrasi ekstrak dalam menentukan nilai  $IC_{50}$  ekstrak metanol *S. delicatula*

Penelitian sebelumnya dari Sahid *et al.* (2013), menyatakan bahwa nilai  $IC_{50}$  dari ekstrak metanol daun *D.piloselloides* terhadap sel kanker Leukemia P388 adalah sebesar 19, 32  $\mu\text{g/mL}$ , mampu menghambat pertumbuhan sel kanker P388 sebanyak 50% dan tergolong senyawa aktif. Hal ini menguatkan hasil analisis dari *S. delicatula* yang memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 16,76  $\mu\text{g/mL}$ . Suffnes dan Pezzuto (1990) juga menyatakan suatu senyawa bersifat sitotoksik (bersifat menghambat

pertumbuhan sel kanker) apabila aktivitas sel uji memiliki nilai  $IC_{50} \leq 20 \mu\text{g/mL}$  untuk suatu ekstrak. Hasil uji potensi antikanker dari *P. vittata* memiliki nilai  $IC_{50}$  82,81  $\mu\text{g/mL}$  dengan hasil ini lebih besar nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh. Menurut Winarno (2011), semakin besar nilai  $IC_{50}$  maka senyawa tersebut semakin tidak sitotoksik atau potensi antikankernya semakin menurun.



Gambar 5. Grafik persamaan logaritma antara rata-rata absorbansi dengan konsentrasi ekstrak dalam menentukan nilai  $IC_{50}$  ekstrak metanol *P.vittata*



## KESIMPULAN

Penghambatan pertumbuhan sel kanker Leukemia P388 50% (IC<sub>50</sub>) dari ekstrak metanol *S. delicatula* adalah 16,76 µg/mL dan *P. vittata* 82,81 µg/mL. Ekstrak daun *S. delicatula* berpotensi dikembangkan sebagai antikanker Leukemia, karena memiliki nilai IC<sub>50</sub> yang mampu menghambat pertumbuhan sel kanker Leukemia P388 daripada ekstrak *P.*

*vittata* tetapi perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dari ekstrak metanol dari daun *S. delicatula* dan *P. vittata* untuk dijadikan sebagai antikanker Leukemia, serta kajian-kajian lebih dalam untuk penerapan lebih lanjut di masyarakat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, A. 2006. Aktivitas Antiproliferasi Ekstrak Air Daun Sisik Naga (*Pyrrhosia nummularifolia* (Sw.) Ching) terhadap Sel Lestari Tumor HeLa secara *In vitro* [skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan IPB, Bogor.
- Arini, D.I.D dan Kinho,J. 2008. Keragaman Jenis Tumbuhan Paku (Pteridophyta) di Cagar Alam Gunung Ambang Sulawesi Utara. Info BPK Manado Volume 2 No 1, Juni 2012.
- Ilmu Pengetahuan IPB Bogor.
- Monoarfa, F. 2011. Uji Efektivitas Dan Toksisitas Ekstrak Daun Pacar Cina (*Aglaia odorata* L.) Sebagai Insektisida Nabati Terhadap Larva Kubis (*Crociodolomia binotalis* Z.) [skripsi]. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. UNSRAT, Manado
- Pandiangan, D. 2009. *Produksi Metabolit Sekunder Alkaloid vittata* tetapi perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.
- Djoronga, M.I., D.Pandiangan., F.E. Kandou., A.T. Tangapo. 2014. Penapisan Alkaloid pada Tumbuhan Paku dari Halmahera Utara. *Bioslogos / 3 (2) : 102-107.*
- Harbone, J. B. 1996. Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Cetakan kedua. ITB, University perss Bandung.
- Haryadi, D. 2012. Senyawa Fitokimia dan Sitotoksitas Ekstrak Daun Surian (*Toona sinensis*) terhadap Sel Vero dan MCF-7. Fakultas Matematika dan secara *In Vitro*. Bandung. UNPAD Press.
- Pandiangan, D. 2011. Produksi Katarantin Melalui Kultur Jaringan. Lubuk Agung, Bandung.
- Pandiangan, D., R.E. Esyanti., E. de Queljoe. 2008. Aktivitas Antikanker Katarantin pada Sel *Mouse Mammary Cancer* MmT06054. *Jurnal Ilmiah Sains*. 8 (1): 107-113.

- Pandiangan, D., H.D. Rompas., H.F. Aritonang., R.E. Esyanti., dan E. Marwani. 2006. Pengaruh triptofan terhadap pertumbuhan dan kandungan katarantin pada kalus *C. roseus*. *Jurnal Matematika dan Sains (JMS)*.11 (4) : 111-115.
- Parris.B.S., R Kiew. R.C.K Chung.,L.G Saw.,E. Soepadmo 2010. Flora Of Peninsular Malaysia. Series I: Ferns and Lycophytes. Volume I. Forest Research Institute Malaysia 52109 Kepong, Selangor Darul Fhsan, Malaysia.
- Piggott, A.G dan Piggott,G.J.1988. Ferns of Malaysia In Colour. Tropical Press Sdn. BHD. Kuala lumpur.
- PKPP Ristek. 2012. Pemanfaatan Tumbuhan Hutan Kurang dikenal Sebagai Alternatif Obat Kanker Di Sulawesi Utara. Intensif peningkatan kemampuan Peneliti dan Perekrayasa kementrian Riset dan Teknologi.
- Sahid, A., D. Pandiangan, P. Siahaan & M. Rumondor.,. 2013. Uji Sitotoksisitas Ekstrak Metanol Daun Sisik Naga (*Drimoglossum Piloselloides* presl) terhadap Sel Leukimia p388. *UNSRAT Journal Of Bioslogos*
- Suffness, M., dan Pezzuto, J.M., 1990. Assays Related to Cancer Drug discovery In Hostettmann K (Ed). Mteode In Plant Biochemistry. *Assays for Bioactivity*, london, Academic Press, 71-133
- van Steenis, C.G.G.J. 1988. *Flora*. Pradnya Paramita. Jakarta. 80-100.
- Winarno, E. 2011. Uji Sitotoksik Ekstrak Kapang *Aspergillus sp.* terhadap Sel Kanker Payudara T47D [skripsi]. Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia (UI) Depok

