

Research Article

## *The Profile of Anticancer Activities of Sambiloto Extract (*Andrographis paniculata* Nees) from Several Locations in East Java*

### **Profil Aktivitas Antikanker Ekstrak Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) dari Beberapa Lokasi di Jawa Timur**

Roihatul Mutiah<sup>1\*</sup>, Fina Luthfiana<sup>1</sup>, Arief Suryadinata<sup>1</sup>, Wirda Anggraini<sup>1</sup>, Anik Listiyana<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Malang, Indonesia

<sup>2</sup> Jurusan Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Malang, Indonesia

\* Corresponding author: roiha@farmasi.uin-malang.ac.id; Tel.: +62 813 36956519

Received: 2 Agustus 2020; Revised: 25 Agustus 2020; Accepted: 31 Agustus 2020; Published: 1 September 2020

**Abstract:** Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) contains andrographolid compound which has potential as an anticancer. The difference of growth location has affected the distinction of metabolite content. This study aims to determine the profile of anticancer activities of *A. paniculata* extract from several locations in East Java. The extracts from several locations were tested for activity on T47D cancer cell using MTT assay method. Thus, the result of this study describes that *A. paniculata* extract from several different locations does not provide significantly different anticancer activities with the amount of ( $p>0.05$ ). The extracts which have moderate anticancer activity were *A. paniculata* extracts from Selopuro Subdistrict Blitar Regency, Singosari Subdistrict Malang Regency, Lowokwaru Subdistrict Malang City, Klojen Subdistrict Malang City, Purwodadi Subdistrict Pasuruan Regency, Purwosari Subdistrict Pasuruan Regency, and Pandaan Subdistrict Pasuruan Regency.

**Keywords:** *Andrographis paniculata* Nees; East Java; MTT assay; Activity profile

**Abstrak:** Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) mengandung senyawa andrografolid yang berpotensi sebagai antikanker. Adanya perbedaan lokasi tumbuh pada tanaman mempengaruhi perbedaan kandungan metabolitnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil aktivitas antikanker ekstrak *A. paniculata* dari beberapa lokasi di Jawa Timur. Ekstrak dari beberapa lokasi diuji aktivitasnya terhadap sel kanker T47D dengan metode MTT assay. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *A. paniculata* dari beberapa lokasi yang berbeda tidak memberikan aktivitas antikanker yang berbeda secara bermakna ( $p>0.05$ ). Ekstrak yang memiliki aktivitas antikanker sedang yaitu ekstrak *A. paniculata* dari Kecamatan Selopuro Kabupaten Blitar, Kecamatan Singosari Kabupaten Malang, Kecamatan Lowokwaru Kota Malang, Kecamatan Klojen Kota Malang, Kecamatan Purwodadi Kabupaten Pasuruan, Kecamatan Purwosari Kabupaten Pasuruan, dan Kecamatan Pandaan Kabupaten Pasuruan.

**Kata kunci:** *Andrographis paniculata* Nees; Jawa Timur; MTT assay; Profil aktivitas

## 1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan proliferasi (pertumbuhan) sel yang abnormal dan tidak teratur muncul dari sel organ tertentu. Sel kanker mempunyai kemampuan untuk membuat suplai darah sendiri, melepaskan diri dari organ asal, melakukan perpindahan, dan menyebar ke organ tubuh lain [1]. Sebagian besar jenis sel kanker akan membentuk benjolan yang disebut tumor. Penamaan tumor disesuaikan dengan asal bagian tumbuhnya. Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker dimana sel jaringan payudara berubah dan membelah secara tidak terkontrol, antara lain pada kelenjar untuk memproduksi susu (lobulus) atau pada saluran yang menghubungkan lobulus dengan puting susu [2].

Menurut data Global Burden of Cancer Study (GLOBOCAN) 2018, kanker payudara menempati urutan pertama dengan kasus terbanyak menurut perkiraan tingkat kasus kejadian standar usia diantara kasus kanker lain di dunia [3]. Sedangkan di Indonesia, jumlah kasus baru kanker payudara mencapai 16.7% atau sekitar 58,256 dari total 348,809 kasus kanker [4]. Estimasi jumlah penderita kanker payudara di Jawa Timur sendiri mencapai 9,688 dari total 61,682 kasus kanker payudara pada perempuan di Indonesia pada Tahun 2013 [5].

Penanganan kanker payudara dapat dilakukan dalam berbagai cara diantaranya yakni operasi, terapi radiasi, terapi sistemik, kemoterapi, terapi hormon, terapi target, serta imunoterapi. Akan tetapi dari beberapa pengobatan tersebut seperti halnya operasi tidak dilakukan ketika tumor sudah berkembang menjadi stadium lanjut. Terapi sistemik dapat berefek terhadap kesuburan wanita premenopous dan tidak disarankan pada wanita hamil sehingga perlu konsultasi lanjutan [2]. Oleh sebab itu, pengobatan tradisional menggunakan bahan alam dapat menjadi solusi terbaru. Salah satunya yakni dari sambiloto (*A. paniculata*).

Sambiloto (*A. paniculata*) merupakan tanaman obat tradisional yang sudah dipercayai oleh masyarakat secara turun-temurun [6]. Diantaranya sebagai obat demam, disentri, kolera, diabetes, sakit paru-paru, influenza, bronkitis, gigitan ular, dan reumatik. Pada penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa senyawa diterpenoid dari sambiloto menunjukkan sifat sitotoksiknya pada berbagai *human tumor cell lines* diantaranya yakni sel kanker ovarium Caov-3, sel kanker payudara T47D dan H8-578T, sel kanker hati HepG2, dan sel kanker paru-paru NCI-H23 [7]. Pengujian ekstrak herba sambiloto terhadap *human cell line* T47D dan hewan coba tikus Sprague Dawley yang diinduksi DMBA memperlihatkan aktivitas antikanker dan potensinya sebagai preventif kanker payudara [8-10]. Pengujian isolat andrografolid yang diisolasi dari *A. paniculata* mampu menginduksi apoptosis pada *cell line* kanker payudara T47D dalam waktu dan cara yang tergantung pada konsentrasi dengan meningkatkan ekspresi p53 bax, caspase-3, dan penurunan ekspresi dari bcl-2 [11]. Penelitian-penelitian tersebut dapat menjadi dasar acuan bahwa *A. paniculata* berpotensi sebagai agen antikanker dan juga memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi produk fitofarmaka.

Dalam pengembangan bahan baku obat diperlukan konsistensi mutu dan kandungan aktif. Namun terdapat suatu kendala berupa perbedaan metabolit akibat perbedaan lokasi tumbuh. Hal tersebut dikarenakan adanya faktor internal dan eksternal dari tanaman itu sendiri, sehingga akan berpengaruh pada efek farmakologis yang ditimbulkan (12). Oleh sebab itu, perlu dilakukan pemprofilan aktivitas antikanker ekstrak sambiloto (*A. paniculata*) dari beberapa lokasi di Jawa Timur terhadap sel kanker payudara T47D, sehingga didapatkan bahan obat yang paling berpotensi sebagai antikanker.

## 2. BAHAN DAN METODE

### 2.1. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu etanol 80% (Merck, Jerman), kloroform (Merck, Jerman), metanol (Merck, Jerman), asam sulfat 10% (Merck, Jerman), aquadest. Silika gel GF<sub>254</sub> (Sigma Aldrich Chemie GmnH, Jerman), *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) (Sigma Aldrich Chemie GmbH, Jerman), media *Rosewell Park Memorial Institute* (RPMI-1640) (Gibco, USA), *Phospat Buffered Saline* (PBS) (Gibco, USA), *3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide* (MTT) (Sigma Chemical, USA), *Sodium Dodecyl Sulphate* (SDS) 10% (Sigma Co, USA).

### 2.2. Preparasi ekstrak

*A. paniculata* didapatkan dari 5 lokasi berbeda di Jawa Timur, meliputi Tulungagung (Kecamatan Besuki disebut ApTB; Kecamatan Ngunut disebut ApTN; Kecamatan Sumbergempol disebut ApTS), Blitar (Kecamatan Talun disebut ApBT; Kecamatan Selopuro disebut ApBS; Kecamatan Kanigoro disebut ApBK), Malang (Kecamatan Singosari disebut ApMS; Kecamatan Lowokwaru disebut ApML; Kecamatan Klojen disebut ApMK), Pasuruan (Kecamatan Purwodadi disebut ApPPd; Kecamatan Purwosari disebut ApPPs; Kecamatan Pandaan disebut ApPPP), dan Jombang (Kecamatan Kabuh disebut ApJK; Kecamatan Megaluh disebut ApJM; Kecamatan Ploso disebut ApJP). Dilakukan determinasi di UPTD Materia Medika Batu Malang Jawa Timur dengan nomor surat 074/355A/102.7/2018. Bagian herba *A. paniculata* dikeringkan dan dihaluskan menjadi serbuk simplisia, selanjutnya diekstraksi dengan etanol 80% menggunakan metode maserasi dengan bantuan *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE). Masing-masing ekstrak dipekatkan dengan *rotary evaporator* suhu 40°C dan diuapkan sisa pelarutnya dengan oven suhu 40°C [13]. Selanjutnya dilakukan analisis kandungan senyawa metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dan kloroform: methanol (9: 1) sebagai fase gerak. Dibuat plat KLT dengan ukuran 16 cm × 10 cm. Sejumlah 15 sampel ekstrak yang sudah dilarutkan dengan etanol 80% ditotolkan pada plat dengan jarak antar totolan 1 cm. Plat KLT divisualisasi dengan menggunakan sinar tampak, sinar UV  $\lambda = 254$  nm, dan sinar UV  $\lambda = 366$  nm, disemprot dengan asam sulfat 10%, dipanaskan dengan *TLC Plate Heater* (CAMAG, Switzerland), suhu 105°C selama 5 menit. Dilanjutkan dengan *TLC Visualizer* (CAMAG, Switzerland).

### 2.3. Kultur sel

Sel T47D diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia. Sel dikultur dalam media RPMI (Gibco, USA), ditambah *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10% (v/v) (Sigma Aldrich Chemie GmbH, Jerman), 1% penicillin-streptomycin dan 0.5% fungizone (Gibco, USA) dalam inkubator 37°C dengan 5% CO<sub>2</sub> (Hera cell (Heraeus) Kendro Laboratory Product, Jerman).

### 2.4. Uji aktivitas antikanker Ekstrak *A. paniculata*

Suspensi sel T47D sebanyak 100  $\mu$ L didistribusikan ke dalam sumuran-sumuran pada 96-well plate dan diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> selama 24 jam pada suhu 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Setelah diinkubasi, diamati morfologi sel dengan mikroskop *inverted* untuk melihat kondisi sel. Setelah itu, media dalam plate dibuang, diganti dengan 100  $\mu$ L media baru yang sudah mengandung ekstrak dengan seri konsentrasi: 250, 125, 62.5, 31.25, 15.625  $\mu$ g/mL. Kemudian plate diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Setelah 24 jam, morfologi sel diamati dengan

mikroskop *inverted*, media dibuang. Pada tiap sumuran ditambahkan 100  $\mu$ L larutan MTT dalam media komplit. Selanjutnya diinkubasi selama 3-4 jam. Reaksi MTT dihentikan dengan penambahan reagen *stopper* SDS 10% dalam HCl 0.1 N sebanyak 100  $\mu$ L. 96-well plate dibungkus dengan kertas dan diinkubasi dalam ruangan gelap bersuhu kamar selama 1 malam [14]. Absorbansi dibaca dengan menggunakan ELISA reader pada  $\lambda = 595$  nm (Bio-rad, USA) [15]. Data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran dapat dikonversikan ke persentase viabilitas sel dengan menggunakan rumus berikut:

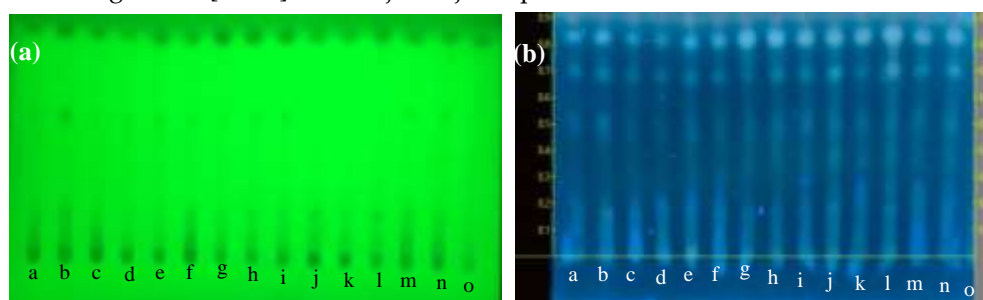
$$\text{Persentase \% sel hidup} = \frac{(\text{abs. perlakuan} - \text{abs. kontrol media})}{(\text{abs. kontrol sel} - \text{abs. kontrol media})} \times 100\%$$

### 3. HASIL DAN DISKUSI

#### 3.1. Hasil

##### 3.1.1. Identifikasi senyawa aktif ekstrak *A. paniculata* dari beberapa lokasi di Jawa Timur

Identifikasi senyawa pada ekstrak *A. paniculata* dilakukan dengan metode KLT. Uji KLT bertujuan untuk profiling kandungan senyawa pada ekstrak yang diambil dari beberapa lokasi di Jawa Timur. Pengujian ini menggunakan fase diam plat KLT GF<sub>254</sub> dan fase gerak kloroform: methanol perbandingan 9: 1 [16]. Didapatkan nilai Rf kisaran 0.51-0.53. Nilai Rf andrografolid menurut Farmakope Herbal yakni sebesar 0.55, sehingga diduga Rf yang hampir sama merupakan senyawa andrografolid [17,18]. Hasil uji disajikan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** KLT ekstrak *A. paniculata* (fase diam silica gel GF<sub>254</sub>; fase gerak kloroform: metanol= 9: 1, penampak noda asam sulfat 10%), 254 nm sebelum derivatisasi (a), 366 nm setelah derivatisasi (b). ApTB (a), ApTN (b), ApTS (c), ApBT (d), ApBS (e), ApBK (f), ApMS (g), ApML (h), ApMK (i), ApPPd (j), ApPPs (k), ApPP (l), ApJK (m), ApJM (n), ApJP (o).

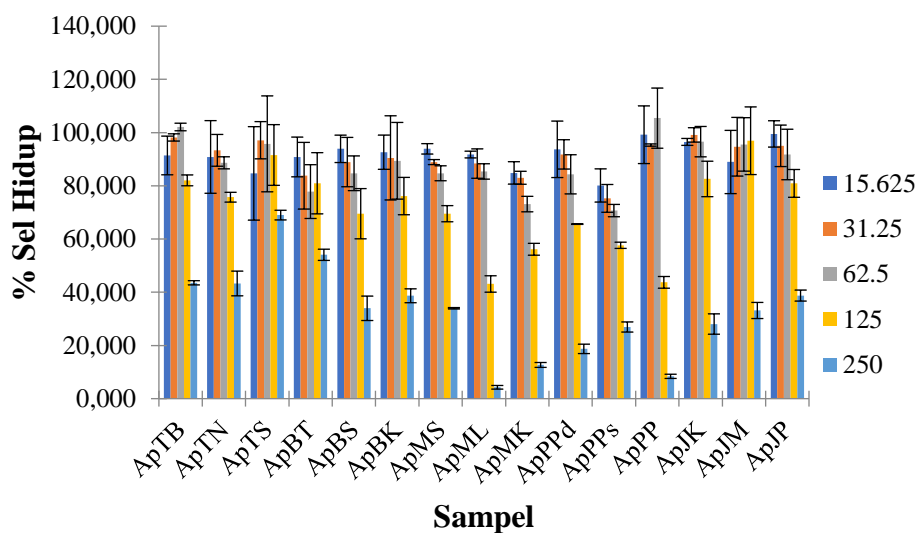
##### 3.1.2 Aktivitas antikanker ekstrak *A. paniculata* dari beberapa lokasi di Jawa Timur

Tujuan uji aktivitas antikanker ekstrak *A. paniculata* terhadap sel T47D dari beberapa lokasi yang berbeda di Jawa Timur yakni untuk mengetahui perbedaan aktivitas antikanker akibat perbedaan lokasi tumbuh. Perbandingan efek penghambatan pertumbuhan sel T47D akibat perlakuan ekstrak *A. paniculata* dari beberapa lokasi disajikan pada Gambar 2.

Aktivitas antikanker ekstrak tanaman obat dikategorikan dalam tiga kategori. Kategori pertama yakni aktivitas antikanker tinggi apabila nilai IC<sub>50</sub> <50, kategori kedua yakni aktivitas antikanker sedang 50  $\mu$ g/mL-200  $\mu$ g/mL, kategori ketiga yakni aktivitas antikanker rendah 200  $\mu$ g/mL-1000  $\mu$ g/mL, dan kategori keempat tidak memiliki aktivitas apabila >1000  $\mu$ g/mL [19,20].

Data nilai IC<sub>50</sub> yang disajikan dalam Tabel 1 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nilai IC<sub>50</sub> sampel yang diambil dari kecamatan yang berbeda. Berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> maka aktivitas

antikanker dari beberapa lokasi di Jawa timur dapat diklasifikasikan sebagai berikut; ApBS, ApMS, ApML, ApMK, ApPPd, ApPPs, ApPP memiliki aktivitas antikanker sedang karena terdapat pada rentang nilai 50 µg/mL sampai 200 µg/mL sedangkan ApTB, ApTN, ApBT, ApBK, ApJK, ApJM, ApJP memiliki aktivitas antikanker rendah karena terdapat pada rentang 200 µg/mL sampai 1000 µg/mL. Akan tetapi ApTS diduga tidak memiliki aktivitas antikanker dikarenakan melebihi 1000 µg/mL [19,20].



**Gambar 2.** Perbandingan efek penghambatan pertumbuhan sel T47D akibat perlakuan ekstrak ApTB; ApTN; ApTS; ApBT; ApBS; ApBK; ApMS; ApML; ApMK; ApPPd; ApPPs; ApPP; ApJK; ApJM; ApJP.

**Tabel 1.** Analisis probit nilai IC<sub>50</sub> sampel terhadap sel T47D

Sampel	Nilai IC <sub>50</sub> (µg/mL) ± SD
ApTB	335.166 ± 84.900
ApTN	281.168 ± 84.024
ApTS	>1000
ApBT	266.383 ± 205.523
ApBS	196.414 ± 23.922
ApBK	240.025 ± 11.842
ApMS	97.694 ± 3.266
ApML	112.774 ± 3.622
ApMK	128.127 ± 6.443
ApPPd	154.906 ± 17.343
ApPPs	185.873 ± 20.203
ApPP	110.327 ± 7.237
ApJK	200.707 ± 1.691
ApJM	343.444 ± 48.658
ApJP	224.576 ± 4.677
Doksorubisin	0.617 ± 0.066

\*Rata-rata nilai IC<sub>50</sub> ± Simpang deviasi dengan replikasi 3 kali

Pemberian ekstrak *A. paniculata* dari lokasi pengambilan sampel yang berbeda sangat berkaitan dengan adanya perbedaan aktivitas antikanker yang ditimbulkan. Perbedaan aktivitas disebabkan karena perbedaan metabolit. Perbedaan metabolit dipengaruhi oleh karakteristik lokasi pengambilan. Karakteristik lokasi pengambilan sampel disajikan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Karakteristik lokasi pengambilan sampel

No.	Sampel	Ketinggian (MDPL)	Suhu Rata-rata (°C)	Curah Hujan (mm)	Iklim	Jenis Tanah
1.	ApTB	146	25,2	1897	Am	Alluvial; Assosiasi alluvial kelabu dan alluvial coklat kelabuan; Litosol
2.	ApTN	106	25,3	1735	Aw	Assosiasi alluvial kelabu dan alluvial coklat kelabuan; Regosol coklat kelabuan
3.	ApTS	102	25,4	1742	Aw	Assosiasi alluvial kelabu dan alluvial coklat kelabuan; Litosol mediteran dan resina
4.	ApBT	258	24,0	2181	Am	Regosol; Litosol
5.	ApBS	184	24,3	2040	Am	Regosol; Litosol
6.	ApBK	174	24,5	1954	Am	Regosol; Litosol
7.	ApMS	486	23,8	2203	Am	Alluvial; Mediteran; Asosiasi latosol coklat kemerahan atau keabu-abuan; Asosiasi coklat dan humus keabuan
8.	ApML	459	23,8	2101	Am	Andosol
9.	ApMK	454	23,7	2090	Am	Alluvial; Mediteran; Asosiasi latosol coklat kemerahan atau keabu-abuan; Asosiasi coklat dan humus keabuan
10.	ApPPd	345	24,6	2003	Am	Alluvial; Mediteran; Labosol; Grumasol; Andosol
11.	ApPPs	255	25,1	1844	Aw	Alluvial; Mediteran; Labosol; Grumasol; Andosol
12.	ApPP	194	25,5	1794	Aw	Alluvial; Mediteran; Labosol; Grumasol; Andosol
13.	ApJK	36	26,5	1727	Aw	Grumasol kelabu tua
14.	ApJM	35	26,4	1686	Aw	Komplek mediteran coklat dan latosol
15.	ApJP	35	26,4	1723	Aw	Assosiasi alluvial kelabu dan alluvial keabuan <sup>21</sup>

\*Keterangan: Aw = Iklim Sabana Tropik; Am = Iklim Muson Tropis

### 3.2. Diskusi

Hasil penelitian yang diperoleh dari sampel ekstrak *A. paniculata* berdasarkan klasifikasi aktivitas memiliki efek antikanker yang berbeda. Hal tersebut dikarenakan adanya perbedaan kandungan senyawa dari suatu tanaman yang dipengaruhi oleh faktor internal dan eksternal [22]. Faktor internal berupa genetik dan variasi fisiologi [23]. Sedangkan faktor eksternal (lingkungan) seperti air, intensitas cahaya, temperature, kelembapan, kondisi tanah (jenis dan komposisi), paparan sinar matahari, letak geografis, curah hujan, dan bahan kimia (mineral/pupuk) [24,25,12]. Faktor lingkungan lain berupa stres yang diinduksi radiasi UV, perubahan iklim, serta kerusakan akibat mikroorganisme dan serangga [26,27].

Karakteristik lokasi pengambilan sampel pada Tabel 2 memperlihatkan adanya perbedaan dari tiap daerah. Dilihat dari segi ketinggian tempat, Kecamatan Singosari memiliki ketinggian 486 MDPL, hal tersebut membuktikan bahwa semakin tinggi ketinggian lokasi tumbuh maka semakin tinggi pula kadar senyawa yang dikandungnya [28]. Sedangkan dari segi jenis tanah, unsur hara sangat berperan dalam kesuburan tanah sehingga menyebabkan perbedaan kandungan senyawa pada satu spesies yang sama. Lalu dari segi iklim, curah hujan, serta suhu pun merupakan faktor-faktor yang memang berperan pada perbedaan kandungan metabolit sekunder dari suatu tanaman [12].

Hasil analisa statistik dengan *software* IBM SPSS Statistik versi 24 menggunakan uji *post hoc* LSD menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada aktivitas antikanker ekstrak *A. paniculata* yang diambil dari lokasi yang berbeda di Jawa timur ( $p > 0.05$ ), kecuali pada ApTS dengan doksorubisin dan sampel lain. Hal tersebut membuktikan bahwa dimungkinkan ApTS tidak memiliki aktivitas antikanker karena nilai  $IC_{50}$  jauh berbeda dengan doksorubisin, padahal doksorubisin berperan sebagai kontrol positif dari penelitian ini. Pengaruh dari faktor internal dan eksternal yang tidak dapat diprediksi berpotensi menjadi penyebabnya. Begitu juga dengan tidak adanya perbedaan yang bermakna pada sampel lain menurut uji statistik. Meskipun demikian, nilai  $IC_{50}$  yang telah didapat dari penelitian ini tetap dapat dikelompokkan sesuai kriteria kekuatan aktivitas antikankernya antara lain aktivitas antikanker sedang yang meliputi ApBS, ApMS, ApML, ApMK, ApPPd, ApPPs, ApPP dan aktivitas antikanker rendah ApTB, ApTN, ApBT, ApBK, ApJK, ApJM, ApJP.

## 4. KESIMPULAN

Ekstrak *A. paniculata* dari lokasi yang berbeda di Jawa Timur tidak memiliki perbedaan aktivitas antikanker secara bermakna ( $p > 0.05$ ), kecuali ApTS dengan antar sampel maupun kontrol positif doksorubisin. Sampel yang memiliki aktivitas antikanker berkekuatan sedang meliputi ApBS, ApMS, ApML, ApMK, ApPPd, ApPs, dan ApPp.

**Ucapan terimakasih:** Tim Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LP2M) UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mendanai penelitian ini (Hibah Penelitian Kompetitif tahun 2019).

**Konflik kepentingan:** Pada penelitian tidak terdapat konflik kepentingan.

## Referensi

1. Garnick, M. B. *An Introduction to Cancer and Basic Cancer Vocabulary*; US News & World Report: USA, 2008.
2. American Cancer Society. *Breast Cancer Facts and Figures 2019-2020*; American Cancer Society, Inc: Atlanta, 2019.
3. International Agency for Research on Cancer. Estimated Age-standardized Incident Rates (World) in 2018, Worldwide, both Sexes, all Ages. Available online: [https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?v=2018&mode=cancer&mode\\_population=countries&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population\\_group=0&ages\\_group%5B%5D=0&ages\\_group%5B%5D=17&nb\\_items=10&group\\_cancer=1&include\\_nmssc=1&include\\_nmssc\\_other=1&type\\_multiple=%257B%2522inc%2522%253Atrue%252C%2522mort%2522%253Afalse%252C%2522prev%2522%253Afalse%252D&orientation=horizontal&type\\_sort=0&type\\_nb\\_items=%257B%2522top%2522%253Atrue%252C%2522bottom%2522%253Afalse%252D&population\\_group\\_globocan\\_id=](https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?v=2018&mode=cancer&mode_population=countries&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=10&group_cancer=1&include_nmssc=1&include_nmssc_other=1&type_multiple=%257B%2522inc%2522%253Atrue%252C%2522mort%2522%253Afalse%252C%2522prev%2522%253Afalse%252D&orientation=horizontal&type_sort=0&type_nb_items=%257B%2522top%2522%253Atrue%252C%2522bottom%2522%253Afalse%252D&population_group_globocan_id=) (Diakses pada 23 Agustus 2020).
4. International Agency for Research on Cancer. Indonesia Fact Sheets. Available online: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-fact-sheets.pdf> (Diakses pada 23 Agustus 2020).
5. Kementerian Kesehatan RI. *InfoDatin Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI*; Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI: Jakarta Selatan, Indonesia, 2015.
6. Limyati, D.A.; Junior, B.I.I. Jamu Gendong, A Kind of Traditional Medicine in Indonesia: the Microbial Contamination of its Raw Material and End Product. *Journal Ethnopharmacol* **1998**, *63*, 201-308.
7. Tan, M.L.; Kuroyanagi, M.; Sulaiman, S.F.; Najimudin, N.; Muhammad, T.S.T. Cytotoxic Activities of Major Diterpenoid Constituents of *Andrographis paniculata* in a Panel of Human Tumor Cell Lines. *Pharmaceutical Biology* **2005**, *43(6)*, 501-508. DOI: 10.1080/13880200500220557.
8. Sastyarina, Y.; Khotib, J.; Sukardiman. Efek Ekstrak Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) pada Ekspresi P53 dari Kanker Payudara Tikus yang Diinduksi dengan DMBA. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry* **2011**, *1(2)*, 165-173. DOI: <https://doi.org/10.25026/jtpc.v1i2.25>.
9. Widjajakusuma, E.C.; Tamayanti, W.D.; Hendriati, L.; Hamid, I.S.; Ferawati; Surjadhana, A.; Jonosewojo, A. Efek Antikanker Mammae dari Ekstrak *Centella asiatica* dan *Andrographis paniculata*: Suatu Rangkuman Studi Aktivitas secara In Vitro dan In Vivo. *Prosiding InSINas* **2012**, 20-25.
10. Ramadhani, A. Potensi Aktivitas Antikanker Kombinasi Ekstrak Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) dengan Doksorubisin terhadap Sel Kanker HeLa, Sel Kanker WiDr, dan Sel Kanker T47D secara In Vitro. Skripsi, Universitas Airlangga, Surabaya, 2014.
11. Sukardiman, H.; Widyawaruyanti, A.; Sisindari; Zaini, N.C. Apoptosis Inducing Effect of Andrographolide on TD-47 Human Breast Cancer Cell Line. *Afr. J. Trad.CAM.* **2007**, *4(3)*, 345-351.
12. Verma, N.; Shukla, S. Impact of Various Factors Responsible for Fluctuation in Plant Secondary Metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* **2015**, 1-9.
13. Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). *Acuan Sediaan Herbal*; Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia: Jakarta, Indonesia, 2010.
14. *Cancer Cemoprevention Riset Center (CCRC) Farmasi UGM. Prosedur Tetap Kerja In Vitro*; Fakultas Farmasi UGM: Yogyakarta, Indonesia, 2009.
15. Nugroho, A.E.; Hermawan, A.; Putri, D.D.P.; Novika, A. Combination Effects of Hesane Insoluble Fraction of *Ficus septica* Burm and Doxorubicin Chemotherapy on T47D Breast Cancer Cells Combinational. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine* **2013**, *3(4)*, 297-302.
16. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Farmakope Herbal Indonesia*; Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta, Indonesia, 2009.
17. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi Ke-1.; Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta, Indonesia, 2008.

18. Purnamasari, A. Kendali Mutu Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) menggunakan Pengolahan Citra dan Teknik Pengenalan Pola secara Kemometrik. Skripsi, Program Sarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor, 2013.
19. Kuete, V.(Ed). Medicinal Spices and Vegetables from Africa: Therapeutic Potential Againsts Metabolic, Inflammatory, and Systemic Diseases; Academic Press: Cambridge, Inggris, 2017.
20. Fatmawati, D.; Suparmi; Yusuf, I.; Israhanto. Selektivitas Antikanker Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*) pada Lini Sel Kanker Payudara. *Bio-Site* **2018**, *4(2)*, 78-83.
21. En Climate Data. Available online: <https://en.climate-data.org> (Diakses 21 Januari 2019).
22. Heuberger, A.L.; Broeckling, C.D.; Kirkpatrick, K.R.; Prenni, J.E. Application of Non Targeted Metabolite Profiling to Discover Novel Markers of Quality Traits in an Advanced Population of Malting Barley. *Plant Biotechnology Journal* **2014**, *12*, 147-160.
23. Taufik, I. Profil Metabolit Kulit Batang *Artocarpus champedon* Spreng secara HPLC Densitometri serta Hubungannya dengan Antimalaria dan Toksisitas In Vitro. Tesis, Universitas Airlangga, Surabaya, 2017.
24. Kim, E.J.; Kwon, J.; Park, S.H.; Park, C.; Seo, Y.; Shin, H.; Kim, H.K.; Lee, K.; Choi, S.; Ryu, D.H.; Hwang, G. Metabolite Profiling of *Angelica gigas* from Different Geographical Origins Using <sup>1</sup>H NMR and UPLC-MS Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2011**, *59*, 8806-8815.
25. Radusiene, J.; Karpaviciene, B.; Stanius, Z. Effect of External and Internal Factors on Secondary Metabolites Accumulation in St. John's Worth. *Botanica Lithuanica* **2012**, *18(2)*, 101-108.
26. Hounsome, N.; Hounsome, B.; Tomos, D.; Edward-Jones, G. Plant Metabolites and Nutritional Quality of Vegetables. *Journal of Food Science* **2008**, *73(4)*, 48-65.
27. Canas, R.A.; Canales, J.; Hernandez, C.M.; Granadoz, J.M.; Avila, C.; Martin, M.L.G.; Canovas, F.M. Understanding Developmental and Adaptive Cues in Pine Through Metabolite Profiling and Co Expression Network Analysis. *Journal of Experimental Botany* **2015**, *66(11)*, 3113-3127.
28. Nikolova, M.T.; Ivancheva, S.V. Quantitative Variations of *Artemisia vulgaris* L. and *Veronica chamaedrys* L. in Relation to Altitude and Polluted Environment. *Acta Biologica Szegediensis* **2005**, *49(3-4)*, 29-32.



© 2020 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).