

# APLIKASI KO-KEMOTERAPI FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOLIK DAUN SAMBUNG NYAWA (*GYNURA PROCUMBENS* (LOUR.) MERR.) PADA SEL KANKER PAYUDARA MCF-7

Riris Istighfari Jenie dan Edy Meiyanto  
*Fakultas Farmasi, UGM, Sekip Utara Yogyakarta 55281*

## ABSTRACT

*Combination chemotherapy has been an interesting attention in recent years to cure cancer e.g. non-toxic or less toxic phytochemicals are being combined with chemotherapeutic agents to sensitize cancer cell and to enhance the efficacy of chemotherapeutic agents as well as to reduce its toxicity to normal tissues. The aim of this research is to examine whether ethyl acetate fraction of *Gynura procumbens* ethanolic extract (SEF) synergizes the therapeutic potential of doxorubicin (Dox) on breast cancer cell line MCF-7. MTT assay were used to measure the growth inhibitory effect of the combination therapy on MCF-7 cells. SEF (5-250 µg/ml) treatment of cell resulted in 15-76% growth inhibition in a dose dependent manner ( $IC_{50}$  85 µg/ml), while Dox (10-100 nM) treatment did not show any inhibitory effect. The combinations of SEF (5-40µg/ml) with Dox (10-75 nM) seemed to not have any synergistic efficacy towards cell growth inhibition. Nevertheless, this result need further observation regarding the  $IC_{50}$  of Dox on MCF-7 has not been determined yet. The cell characterization may influence the result. Doxorubicin could induce Akt survival apoptosis pathway in MCF-7 resulting resistancy of the cell towards doxorubicin.*

**Key words:** *MCF-7 human mammary cancer cell, Doxorubicin, Sambung Nyawa leaves ethanolic extract, co-chemotherapy.*

## ABSTRAK

*Penggunaan kombinasi kemoterapi, yaitu senyawa kemoprevensi yang bersifat non-toksik atau lebih tidak toksik dikombinasikan dengan agen kemoterapi, diketahui mampu meningkatkan sensitifitas sel kanker serta efikasi kemoterapi dengan penurunan toksisitas terhadap jaringan normal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sinergisme aplikasi ko-kemoterapi fraksi etil asetat ekstrak etanolik daun Sambung Nyawa (FES) atau *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. terhadap sel kanker payudara MCF-7. Uji MTT digunakan untuk mengukur besarnya efek penghambatan*

---

Corresponding author : E-mail : edy.meiyanto@gmail.com

pertumbuhan sel MCF-7 oleh adanya perlakuan kombinasi FES-Dox, kemudian ditentukan index kombinasinya (IK) untuk menetapkan apakah efeknya sinergis, aditif atau antagonis. Perlakuan dengan FES (5-250 µg/ml) selama 48 jam menghasilkan penghambatan pertumbuhan sel sebesar 15-76%, dengan  $IC_{50}$  85 µg/ml sedangkan perlakuan dengan Dox (10-100 nM) belum menghasilkan efek penghambatan. Aplikasi kombinasi FES (5-40 µg/ml)-Dox (10-75 nM) nampaknya tidak menunjukkan efek yang sinergis, namun demikian hal ini masih perlu diteliti lebih lanjut mengingat  $IC_{50}$  Dox terhadap sel MCF-7 belum dapat ditentukan. Hasil penelitian kemungkinan dipengaruhi oleh karakteristik sel uji yang digunakan. Doxorubicin diketahui mampu menginduksi jalur survival apoptosis Akt pada sel MCF-7, sehingga sel tersebut menjadi resisten terhadap doxorubicin.

**Kata kunci:** Sel kanker payudara MCF-7, Doxorubicin, ekstrak etanolik daun Sambung Nyawa, ko-kemoterapi.

## PENDAHULUAN

Strategi terapi yang tersedia untuk mengobati kanker payudara, termasuk agen sitotoksik (kemoterapi), telah cukup banyak, namun sampai saat ini belum ada pengobatan yang tepat untuk kanker payudara yang telah metastasis. Doxorubicin (Dox) merupakan salah satu agen kemoterapi yang banyak digunakan dalam terapi kanker. Meskipun demikian ternyata penggunaan agen kemoterapi sistemik bukan saja tidak begitu efektif namun juga tidak selektif dan sangat toksik bagi jaringan lain yang normal (1). Pengurangan dosis akan mengurangi efek samping Dox oleh karenanya menjadi suatu tantangan untuk dapat memperbaiki aplikasi klinik agen kemoterapi supaya lebih efektif. Salah satu pendekatan yang sedang mendapat perhatian baru-baru ini adalah penggunaan kombinasi kemoterapi (ko-kemoterapi), dimana

senyawa kemoprevensi yang bersifat nontoksik atau lebih tidak toksik dikombinasikan dengan agen kemoterapi untuk meningkatkan efikasinya dengan menurunkan toksisitasnya terhadap jaringan yang normal. Dengan perspektif ini dilakukan penelitian terhadap agen-agen kemoprevensi untuk mencari kandidat yang memiliki efek sinergis dalam kombinasi dengan obat antikanker.

Salah satu agen kemoprevensi yang dapat digunakan adalah daun *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. atau yang lebih dikenal dengan daun Sambung Nyawa. Tanaman ini merupakan salah satu tanaman Indonesia yang digunakan secara empiris oleh masyarakat untuk mengobati kanker. Daun Sambung Nyawa juga telah banyak diteliti aktivitas biologinya sebagai tanaman yang memiliki efek kemopreventif. Sugi-yanto, *et al.* melaporkan adanya efek penghambatan karsinogenitas

---

Sudah dipresentasikan di Kongres Ilmiah ISFI XV, 17-19 Juni 2007, Jakarta.

benzo(a)piren oleh ekstrak etanolik daun Sambung Nyawa (ESN) pada pertumbuhan tumor paru mencit (2). Penelitian terakhir mengenai ESN menyatakan bahwa fraksi XIX-XX ESN memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker serviks, HeLa, dengan  $IC_{50}$  119  $\mu\text{g/ml}$  (3). Fraksi tersebut juga menghambat proliferasi sel HeLa dan dapat menginduksi terjadinya apoptosis. Berdasarkan hasil-hasil penelitian tersebut tampaknya tanaman *G. procumbens* mempunyai potensi yang besar untuk dikembangkan sebagai ko-kemoterapi bersama agen kemoterapi yang telah luas digunakan dalam terapi kanker.

Beberapa agen kemoterapi dilaporkan efektif baik sebagai agen tunggal maupun kombinasi untuk pengobatan berbagai jenis kanker. Kombinasi kemoterapi memberikan hasil yang lebih efektif dibandingkan ketika diberikan dalam bentuk agen tunggal dan bahwa kombinasi yang mengandung Dox lebih efektif dibandingkan dengan regimen lain (4). Penelitian ini akan menguji apakah *G. procumbens* mempunyai efikasi yang sinergis dengan agen kemoterapi Dox sehingga dapat menurunkan dosis efektifnya yang berarti pula mengurangi toksisitas agen kemoterapi tersebut?

## METODOLOGI

### Bahan

Doxorubicin dipeoleh dari Ebewe, PT. Ferron Par Pharmaceuti-

cal. Ekstrak etanolik daun *G. procumbens* diperoleh dengan mengekstraksi serbuk kering daun yang didapatkan dari Balai Penelitian Tanaman Obat (BPTO), Karanganyar, Surakarta, dengan etanol 96%. Ekstrak etanol ini dilarutkan dengan *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) (Sigma). Sel kanker payudara MCF-7 diperoleh dari Prof. Tatsuo Takeya (*Nara Institute of Science and Technology*, Jepang). Kultur sel ditumbuhkan dalam media penumbuh *Dulbecco's modified Eagle's medium* (DMEM) yang mengandung *Foetal Bovine Serum* (FBS) 10% (v/v) (Gibco), penisillin-streptomisin 1% (v/v) (Gibco). Selain bahan-bahan di atas juga digunakan 0,05% trypsin-EDTA (Gibco) dalam HBSS tanpa  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  untuk melepas sel yang melekat pada flask maupun *plate*, PBS tanpa  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ . Uji MTT. MTT [3-(4, 5-dimetiltiazol-2-il)-2, 5-difeniltetrazolium bromida] (Sigma), dengan konsentrasi 5 mg/ml. *Stopper* yang digunakan adalah isopropanol asam yaitu HCl 4N dalam isopropanol dengan perbandingan 1:100. Bahan-bahan yang digunakan selama penelitian apabila tidak dikatakan lain berarti berderajat pro analisis.

### Uji ko-kemoterapi menggunakan metode MTT

Sel MCF-7 dengan konsentrasi  $5 \times 10^3$  sel/sumuran didistribusikan ke dalam *plate* 96 sumuran dan diinkubasi selama 24 jam untuk beradaptasi dan menempel di sumuran. Keesokannya media diambil, dicuci

---

Sudah dipresentasikan di Kongres Ilmiah ISFI XV, 17-19 Juni 2007, Jakarta.

PBS, kemudian ditambahkan 100 µl media kultur yang mengandung DMSO 0,5% v/v saja (kontrol) atau sampel baik dalam bentuk tunggal yaitu ekstrak atau dox saja maupun gabungan keduanya (kombinasi), inkubasi selama 48 jam. Pada akhir inkubasi, media kultur yang mengandung sampel dibuang, dicuci dengan 100 µl PBS. Kemudian ke dalam masing-masing sumuran ditambahkan 100 µl media kultur yang mengandung MTT 5 mg/ml, inkubasi lagi selama 4 jam pada suhu 37°C. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk kristal formazan berwarna ungu. Setelah 4 jam, media yang mengandung MTT dibuang, dicuci dengan PBS, kemudian ditambahkan larutan asam isopropanol untuk melarutkan kristal formazan. Digoyang di atas *shaker* selama 10 menit kemudian dibaca dengan dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 550 nm.

### Analisis hasil

Data yang diperoleh berupa absorbansi masing-masing sumuran dikonversi ke dalam persen sel hidup dan dianalisis untuk mengetahui signifikansi perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Persen sel hidup dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Hidup} = \frac{\text{Absorbansi Sel Dengan Perlakuan} - \text{Absorbansi Kontrol Media}}{\text{Absorbansi Kontrol Sel} - \text{Absorbansi Kontrol Media}} \times 100 \%$$

Kemudian dihitung konsentrasi  $IC_{50}$  yaitu konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% populasi sel sehingga dapat diketahui potensi sitotoksitasnya. Selanjutnya dianalisis dengan tes Anova, dilanjutkan dengan tes Tukey dan *student t* test menggunakan SPSS 11.0, untuk mengetahui signifikansinya dengan kontrol. Sitotoksitas sinergistik ditetapkan dengan menghitung indeks kombinasi (IK atau *Combination Index*, CI) antara agen kemo-terapi dengan ekstrak Sambung Nyawa, menggunakan persamaan:

$$CI = (D)_1 / (Dx)_1 + (D)_2 / (Dx)_2$$

Dimana  $Dx$  adalah konsentrasi dari satu senyawa tunggal yang dibutuhkan untuk memberikan efek (dalam hal ini adalah  $IC_{50}$  terhadap pertumbuhan sel kanker payudara) dan  $(D)_1$ ,  $(D)_2$  adalah besarnya konsentrasi kedua senyawa untuk memberikan efek yang sama (5). Angka CI atau indeks kombinasi yang diperoleh diinterpretasikan sebagai berikut:

- < 0.1 sinergis sangat kuat
- 0.1–0.3 sinergis kuat
- 0.3–0.7 sinergis
- 0.7–0.9 sinergis ringan-sedang
- 0.9–1.1 mendekati additif
- 1.1–1.45 antagonis ringan-sedang
- 1.45–3.3 antagonis
- > 3.3 antagonis kuat-sangat kuat

## HASIL DAN PEMBAHASAN

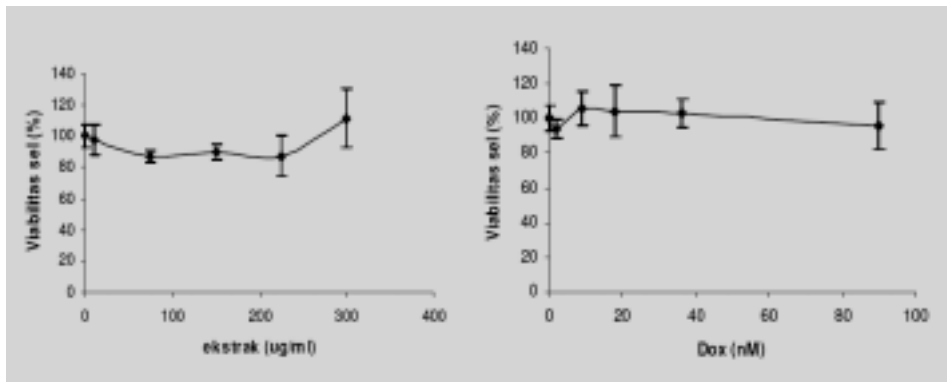
### Uji Ko-kemoterapi Ekstrak Etanolik Daun *G. procumbens* (ESN) dan Doxorubicin (dox) Terhadap Sel MCF-7

Sel MCF-7 merupakan sel kanker payudara yang mengekspresikan reseptor estrogen (ER+) dengan *wild type p53* sehingga sensitif terhadap agen kemoterapi (6), oleh karenanya ingin diketahui terlebih dahulu bagaimana respon sel MCF-7 terhadap perlakuan ko-kemoterapi ekstrak etanolik daun *G. procumbens* (ESN) dan doxorubicin (dox). Pada aplikasi tunggal nampak perlakuan ESN (10-300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) belum mampu menghambat pertumbuhan sel MCF-7, demikian pula pada aplikasi tunggal dox (1,8-90 nM) (Gambar 1).

Selanjutnya dilakukan uji ko-kemoterapi untuk melihat efikasi kombinasi keduanya terhadap penghambatan pertumbuhan sel MCF-7, yaitu apakah sinergis, aditif atau antagonis. Hasilnya menunjukkan bahwa kombinasi ESN (75, 150, dan 250  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) dan dox (1,8, 9, dan 18 nM) belum mampu menghambat pertumbuhan sel MCF-7.

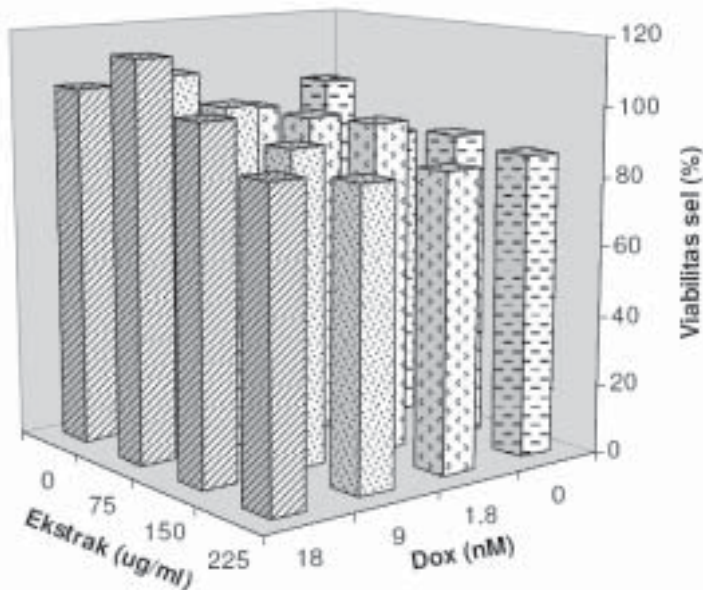
### Uji Ko-kemoterapi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Daun *G. procumbens* (FES) dan Doxorubicin (dox) Terhadap Sel MCF-7

Ekstrak kemudian difraksinasi dengan etil asetat untuk mendapatkan golongan flavonoid yang terkandung di dalamnya. Fraksi etil asetat diharapkan mampu meningkatkan efikasi dox karena diketahui bahwa



**Gambar 1.** Aplikasi tunggal ESN dan dox pada sel MCF-7. Untuk melihat efikasi ESN dan Dox sebagai agen tunggal pada sel MCF-7, sel ditanam sebanyak 5000 sel/sumuran dalam plate 96 sumuran, kemudian diberi perlakuan baik dengan ESN (10-300  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) maupun Dox (1,8-90 nM) (dalam bentuk tunggal) sebagaimana dijelaskan dalam metodologi. Baik ESN maupun Dox belum mampu menghambat pertumbuhan sel MCF-7, tidak ada perbedaan yang signifikan ( $P > 0,05$ ) antara perlakuan dengan kontrol (DMSO 0.3% v/v). Grafik merupakan nilai rata-rata + SD dari 3 percobaan.

Sudah dipresentasikan di Kongres Ilmiah ISFI XV, 17-19 Juni 2007, Jakarta.



**Gambar 2.** Efek aplikasi ko-kemoterapi ESN-Dox pada sel kanker payudara MCF-7. Pengamatan efek kombinasi ESN (75-250 µg/ml)-Dox (1,8-18 nM) terhadap sel MCF-7 dilakukan sebagaimana yang dijelaskan pada metodologi. Kombinasi keduanya belum mampu menghambat pertumbuhan sel MCF-7. Ini menunjukkan bahwa ESN tidak meningkatkan efikasi Dox pada sel kanker payudara MCF-7.

flavonoid mampu mensensitisasi sel kanker melalui penghambatan Pgp.(7). Sebelum diaplikasikan untuk uji kokemoterapi, masing-masing fraksi yang diperoleh (yaitu fraksi heksan, etil asetat dan air) diuji sitotoksitas terlebih dahulu untuk membandingkan potensinya pada sel MCF-7. Berdasarkan nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh tampak bahwa fraksi etil asetat (FES) merupakan fraksi yang paling poten di antara ketiganya (Tabel 1). Oleh karena itu fraksi etil asetat yang diteruskan untuk diuji aplikasi kokemoterapinya.

Aplikasi tunggal FES (5-250 µg/ml) mampu menghambat pertum-

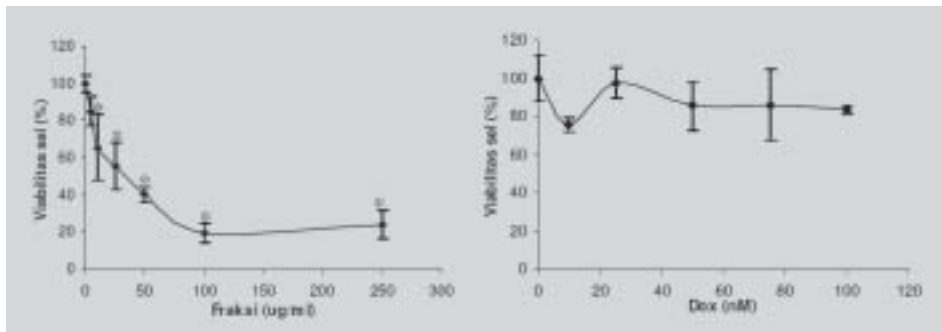
**Tabel 1.** Potensi fraksi heksan, etil asetat, dan air terhadap penghambatan pertumbuhan sel MCF-7

No	Fraksi	Nilai $IC_{50}$ (mg/ml)
1.	Heksan	94
2.	Etil asetat	85
3.	Air	> 300

buhan sel MCF-7 sebesar 15-76% namun aplikasi dox (10-100 nM) belum menunjukkan efek penghambatan (Gambar 3). Lebih lanjut, hasil uji aplikasi ko-kemoterapi keduanya ternyata tidak menunjukkan efikasi yang sinergis (Gambar 4).

Sudah dipresentasikan di Kongres Ilmiah ISFI XV, 17-19 Juni 2007, Jakarta.





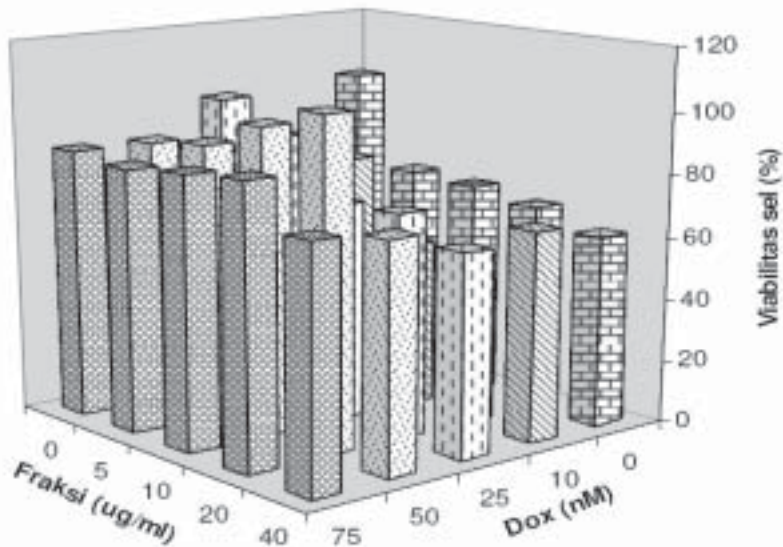
**Gambar 3.** Aplikasi tunggal FES dan dox pada sel MCF-7. Untuk melihat efikasi FES dan Dox sebagai agen tunggal pada sel MCF-7, sel ditanam sebanyak 5000 sel/sumuran dalam plate 96 sumuran, kemudian diberi perlakuan baik dengan FES (5-250 µg/ml) maupun Dox (10-100 nM) (dalam bentuk tunggal) sebagaimana dijelaskan dalam metodologi. FES mampu menghambat pertumbuhan sel MCF-7 dengan  $IC_{50}$  sebesar 85 µg/ml, sedangkan aplikasi Dox belum menunjukkan efek penghambatan. Tanda bintang (\*) menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kontrol (DMSO 0,25% v/v) dengan taraf kepercayaan 95% ( $P < 0,05$ ). Grafik merupakan nilai rata-rata + SD dari 3 percobaan.

Baik ekstrak maupun fraksi etil asetat daun *G. procumbens* ternyata belum mampu meningkatkan efikasi dox terhadap sel MCF-7, bahkan pada penelitian ini aplikasi tunggal dox yang diujikan belum mampu menghambat pertumbuhan sel MCF-7, sehingga belum dapat ditentukan  $IC_{50}$ -nya. Meskipun demikian penelitian ini akan menjadi menarik untuk diujikan pada sel kanker payudara yang lain karena masing-masing sel memiliki karakteristik molekuler yang berbeda sehingga akan dapat dibandingkan responnya terhadap aplikasi kokemoterapi.

Aplikasi tunggal dox dengan konsentrasi 10-100 nM pada MCF-7 belum menimbulkan respon penghambatan pertumbuhan sel sehingga diperkirakan  $IC_{50}$  dox pada sel

MCF-7 lebih dari 100 nM. Selain itu tidak terjadi efek sinergisme pada aplikasi ko-kemoterapi dox dan ekstrak etanolik maupun fraksi etil asetat *G. procumbens* pada sel MCF-7. Level basal mRNA *Bcl-x* (faktor survival sel) sel kanker diketahui berkorelasi negatif dengan sensitivitas sel kanker tersebut terhadap agen kemoterapi. Pada sel MCF-7 0,26 (8), nilai tersebut relatif rendah sehingga semestinya sel MCF-7 sensitif terhadap perlakuan agen kemoterapi. Dari hasil penelitian diketahui sel tersebut kurang begitu responsif terhadap dox, oleh karena itu kemungkinan ada faktor lain yang mempengaruhi resistensi pada MCF-7. MCF-7 merupakan sel kanker payudara yang mengekspresikan reseptor estrogen (ER +), sehingga

Sudah dipresentasikan di Kongres Ilmiah ISFI XV, 17-19 Juni 2007, Jakarta.



**Gambar 4.** Efek aplikasi ko-kemoterapi FES-Dox pada sel kanker payudara MCF-7. Pengamatan efek kombinasi FES (5-40  $\mu\text{g/ml}$ )-Dox (10-75 nM) terhadap sel MCF-7 dilakukan sebagaimana yang dijelaskan pada metodologi. Kombinasi keduanya belum mampu menghambat pertumbuhan sel MCF-7. Ini menunjukkan bahwa FES tidak meningkatkan efikasi Dox pada sel kanker payudara MCF-7.

responsif terhadap stimulasi estrogen. Penelitian Welshons *et al.* menyebutkan bahwa *phenol red* suatu indikator pH yang terdapat media penumbuh kultur sel bersifat estrogenik dan terhadap stimulasi estrogen dari *phenol red* ini

MCF-7 lebih responsif daripada T47D (sel kanker payudara lain yang juga ER +)(9).

Di samping itu stimulasi estrogen ternyata meningkatkan konsentrasi P-gp pada MCF-7 namun tidak demikian pada sel T47D (10). Hal tersebut diduga berkaitan dengan sub tipe dari reseptor estrogen yang diekspresikan oleh kedua sel. MCF-7 mengekspresikan reseptor estrogen sub tipe alpha

(ER $\alpha$ ), sedangkan T47D sub tipe ER beta (ER $\beta$ ). Perbedaan karakteristik molekuler di tingkat sub tipe reseptor estrogen ternyata mampu menimbulkan respon yang berbeda. Level P-gp mempengaruhi sensitifitas sel kanker terhadap kemoterapi karena P-gp akan memompa keluar obat/kemoterapi dari sel. Berdasarkan temuan-temuan hasil penelitian tersebut diduga resistensi MCF-7 terhadap dox disebabkan oleh adanya peningkatan konsentrasi Pgp pada sitoplasma sel MCF-7 yang timbul karena adanya stimulasi estrogen dari *phenol red* yang terdapat dalam media penumbuh kultur sel.

Sudah dipresentasikan di Kongres Ilmiah ISFI XV, 17-19 Juni 2007, Jakarta.



## KESIMPULAN

Fraksi etil asetat ekstrak etanolik daun *G. procumbens* belum mampu meningkatkan efikasi dox terhadap sel kanker payudara MCF-7. Bahkan efikasi dox tunggal terhadap sel MCF-7 belum dapat ditentukan (nilai  $IC_{50}$ -nya lebih besar dari konsentrasi yang dicobakan pada penelitian). Hal ini terutama dipengaruhi oleh karakteristik sel MCF-7, yang pada akhirnya mengurangi sensitivitas sel tersebut terhadap agen kemoterapi. Aplikasi kokemoterapi *G. procumbens* perlu diteliti lebih lanjut terhadap sel kanker payudara yang lain sehingga dapat dibandingkan hasilnya dan dipelajari mekanisme aksinya. Masing-masing sel kanker memiliki karakteristik molekuler yang berbeda, oleh karena itu sangat mungkin respon yang timbul akibat aplikasi ko-kemoterapi juga berbeda.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada seluruh anggota *Cancer Chemoprevention Research Center* (CCRC) Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada yang telah mendukung dan membantu kelancaran penelitian ini.

## DAFTAR ACUAN

1. Wattanapitayakul SK, L Chularojmontri, A Herunsalee, S Charuchongkolwongse, S Niumsakul, JA Bauer. 2005. Screening of Antioxidants from Medicinal Plants for Cardioprotective Effect against Doxorubicin Toxicity, *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, vol. **96**, 80.
2. Sugiyanto, B Sudarto, E Meiyanto, AE Nugroho, UA Jenie. 2003. Aktivitas Antikarsinogenik Senyawa yang Berasal dari Tumbuhan, *Majalah Farmasi Indonesia*, **14** (4):216-225.
3. Meiyanto E and EP Septisetyani. 2005. Efek Antiproliferatif dan Apoptosis Fraksi Fenolik Ekstrak Etanolik Daun *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. terhadap Sel HeLa, *Artocarpus*, Vol. **5**, No.2, Hal. 74 - 80.
4. Sharma G, AK Tyagi, RP Singh, DCF Chan, R Agarwal. 2004. Synergistic Anti-Cancer Effect of Grape Seed Extract and Conventional Cytotoxic Agent Doxorubicin Against Human Breast Carcinoma Cells, *Breast Cancer Research and Treatment*, **85**:1-12.
5. Reynolds CP, BJ Maurer. 2005. Evaluating Response to Antineoplastic Drug Combinations in Tissue Culture Models, *Methods Mol. Med.*, **110**: 173-183.
6. Crawford KW and WD Bowen. 2002. Sigma-2 Receptor Agonists Activate a Novel Apoptotic Pathway and Potentiate Antineoplastic Drugs in Breast Tumor Cell Lines, *Cancer Research*, **62**, 313-322.
7. Kitagawa S. 2006. Inhibitory Effect of Polyphenols on P-Glycoprotein-Mediated Transport, *Biol. Pharm. Bull.*, **29**(1), 1-6.

---

Sudah dipresentasikan di Kongres Ilmiah ISFI XV, 17-19 Juni 2007, Jakarta.

8. Amundson SA, TG Myers, D Scudiero, S Kitada, JC Reed, AJ Fornace Jr. 2000. An Informatics Approach Identifying Markers of Chemosensitivity in Human Cancer Cell Lines, *Canc. Res.*, **60**, 6101-6110.
9. Welshons WV, MF Wolf, CS Murphy, VC Jordan. 1988. Estrogenic activity of phenol red, *Mol Cell Endocrinol*, **57**(3):169-78.
10. Zampieri L, P Bianchi, P Ruff, P Arbuthnot. 2002. Differential modulation by estradiol of P-glycoprotein drug resistance protein expression in cultured MCF7 and T47D breast cancer cells, *Anticancer Res.*, **22**(4): 2253-9.