

Ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn, Pertumbuhan Tumor dan Proliferasi Sel Kanker Kolorektal: Studi Eksperimental pada Tikus *Sprague-Dawley* yang Diinduksi 1,2 DMH

Endang Sawitri *, Ign. Riwanto **, Tjahjono ***, Edi Dharmana ****

ABSTRACT

Effect of Phyllanthus niruri Linn extract on tumor growth and cell proliferation of colorectal cancer: experimental study in 1.2 DMH-induced Sprague-Dawley rats

Background: The development of chemotherapy for colorectal cancer (CRC) is so very advanced, however, the survival of patients has not been satisfactory, therefore, the current therapy also involve immunotherapy. *Phyllanthus niruri* Linn (*P. niruri* L) may act as an immunomodulator and anticancer, but its potency has not been revealed. Study was conducted to confirm the effects of *P. niruri* L extract in the treatment of CRC.

Method: The study was randomized posttest-only control group design. Samples were Sprague-Dawley male rats, bodyweight 170-220 gr, were divided into two groups: non induced or negative control (K-) consisted of 9 normal rats, and induced by 1.2 DMH 30 mg/kgBW subcutaneously group consisted 30 rats. On the weeks 9, 11 and 13, four induced rats each week were sacrificed to detect the development of CRC. On the weeks of 13th all of 4 rats were developed CRC, so the induction were stopped. The rest of 18 induced rats were randomly into two groups: without *P. niruri* L or positive control (K+)=9 rats and given *P. niruri* L extract 13.5 mg/kg orally or X group=9 rats. After 19th week all of rats were then terminated and tumor lesion of colon were examined macroscopically and histopathologic tissues were stained with AgNORs for evaluate the cells proliferation. Oneway Anova and Post Hoc LSD test for the growth of colon tumor and non pairs t-test for cell proliferation were used. Considered significant if p was <0.05 .

Result: There was no tumor growth on K- group, while for K+ was $83.33 \pm 14.34\%$ and on X was $40.44 \pm 13.23\%$ ($p=0.000$). The mean of AgNORs on K+ was 4.60 ± 0.55 while on X was 2.25 ± 0.39 ($p=0.000$).

Conclusion: The extract of *P. niruri* L suppress the tumor growth and cell proliferation of CRC.

Keywords: *Phyllanthus niruri* Linn, colorectal cancer, tumor growth, proliferation

ABSTRAK

Latar belakang: Perkembangan kemoterapi untuk kanker kolorektal (KKR) sangat maju, tetapi kelangsungan hidup penderitanya belum memuaskan, sehingga penanganan multimodalitas juga melibatkan imunoterapi yang bertujuan untuk meningkatkan kualitas hidup. *Phyllanthus niruri* Linn dapat bekerja sebagai imunomodulator sekaligus antikanker, tetapi potensinya belum banyak diungkap. Penelitian bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *P. niruri* L terhadap pertumbuhan tumor dan proliferasi sel KKR.

Metode: Penelitian ini merupakan randomized posttest-only control group design. Sampel berupa tikus *Sprague-Dawley* jantan, dibagi 2: kelompok tanpa induksi 1,2 DMH dan tanpa *P. niruri* L (K-: kelompok kontrol negatif) sebanyak 9 ekor dan kelompok induksi 1,2 DMH 30 mg/kgBB subkutan setiap minggu sebanyak 30 ekor. Pada minggu ke-9, 11 dan 13 masing-masing empat ekor tikus dibunuh untuk melihat perkembangan tumor. Pada minggu ke-13 keempat tikus telah berkembang menjadi KKR, induksi dihentikan dan sisa 18 tikus dirandom alokasi menjadi 2 kelompok. Kelompok kontrol positif (K+) tanpa pemberian *P. niruri* L (9 tikus) dan kelompok diberi *P. niruri* L. 13.5 mg/kg per hari melalui sonde (9 tikus). Minggu ke-19 semua tikus diterminasi, diperiksa lesi tumor makroskopik pada kolon. Jaringan histopatologik diwarnai AgNORs untuk memeriksa proliferasi sel. Analisis data meliputi

* Bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman, Jl. Krayan Kampus Gunung Kelua Samarinda

** Bagian Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RSUP Dr. Kariadi, Jl. Dr. Sutomo 16-18 Semarang

*** Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Jl. Dr. Sutomo 18 Semarang

**** Bagian Parasitologi dan Imunologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Jl. Dr. Sutomo 18 Semarang

analisis deskriptif dan uji Oneway Anova, dilanjutkan dengan post hoc test LSD untuk pertumbuhan tumor kolon dan uji t tidak berpasangan untuk proliferasi sel. Derajat signifikansi yang dipilih adalah $p < 0,05$.

Hasil: Tidak ditemukan pertumbuhan tumor pada kelompok K-. Persentase rerata pertumbuhan tumor kelompok X sebesar $40,44 \pm 13,23\%$ berbeda sangat signifikan ($p = 0,000$) dibanding

K+ sebesar $33 \pm 14,34\%$. Rerata bercak AgNORs kelompok K+ sebesar $4,60 \pm 0,55$ dan menurun pada kelompok X ($2,25 \pm 0,39$), terdapat perbedaan yang sangat signifikan pada kedua kelompok ($p = 0,000$).

Simpulan: Ekstrak *P. niruri L* menekan pertumbuhan tumor dan proliferasi sel kanker kolorektal.

PENDAHULUAN

Kanker kolorektal (KKR) merupakan kanker ketiga terbanyak di dunia, diperkirakan terjadi satu juta kasus baru setiap tahun dan 50% penderita meninggal karenanya.¹ Meskipun pembedahan dan terapi adjuvan mengalami kemajuan, lebih dari 40% penderita yang dioperasi mengalami kekambuhan selama *follow-up*.² Oleh sebab itu, selain modalitas berupa kemoterapi dan radioterapi yang diberikan sesudah pembedahan, penanganan kanker kolorektal saat ini juga melibatkan terapi gen dan imunoterapi, yang bertujuan untuk melokalisir sel-sel kanker dan membangkitkan sistem imun sistemik sehingga dapat meningkatkan kualitas hidup penderita.³

Phyllanthus niruri Linn (P. niruri L) merupakan tanaman kecil dan menjadi salah satu herbal yang banyak dimanfaatkan masyarakat, antara lain sebagai antiradang,⁴ diuretik dan penghancur batu ginjal,⁵ antimalaria,⁶ antipiretik dan antidiabetik.⁷ Herbal ini di Indonesia dikenal dengan nama Meniran. *P. niruri L* kaya dengan berbagai kandungan kimia, antara lain lignan (filantin, hipofilantin, nirantin, isolintetralin, nirfilin, filnirurin, hinikinin, lintetralin dan filantostatina), flavonoid (quercetin, quercitrin, isoquercitrin, astragalin, rhamnopynoside, rutin dan nirurin), alkaloid, tanin, saponin, triterpenoid, damar, steroid, kalium, vitamin C, asam lemak dan asam fenolat.^{5,8,9} Uji preklinis dan klinis telah membuktikan herbal tersebut memiliki aktivitas imunostimulasi.¹⁰ Senyawa flavonoid yang terkandung dalam *P. niruri L* berkhasiat sebagai antioksidan dan antineoplastik.¹¹ Senyawa lignan bersifat sebagai antineoplastik.^{12,13} Timbul dugaan kuat bahwa ekstrak *P. niruri L* juga memiliki aktivitas sebagai antikanker yang masih harus dibuktikan melalui uji *in vivo* pada hewan coba. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak *P. niruri L* terhadap pertumbuhan tumor dan proliferasi sel KKR.

METODE

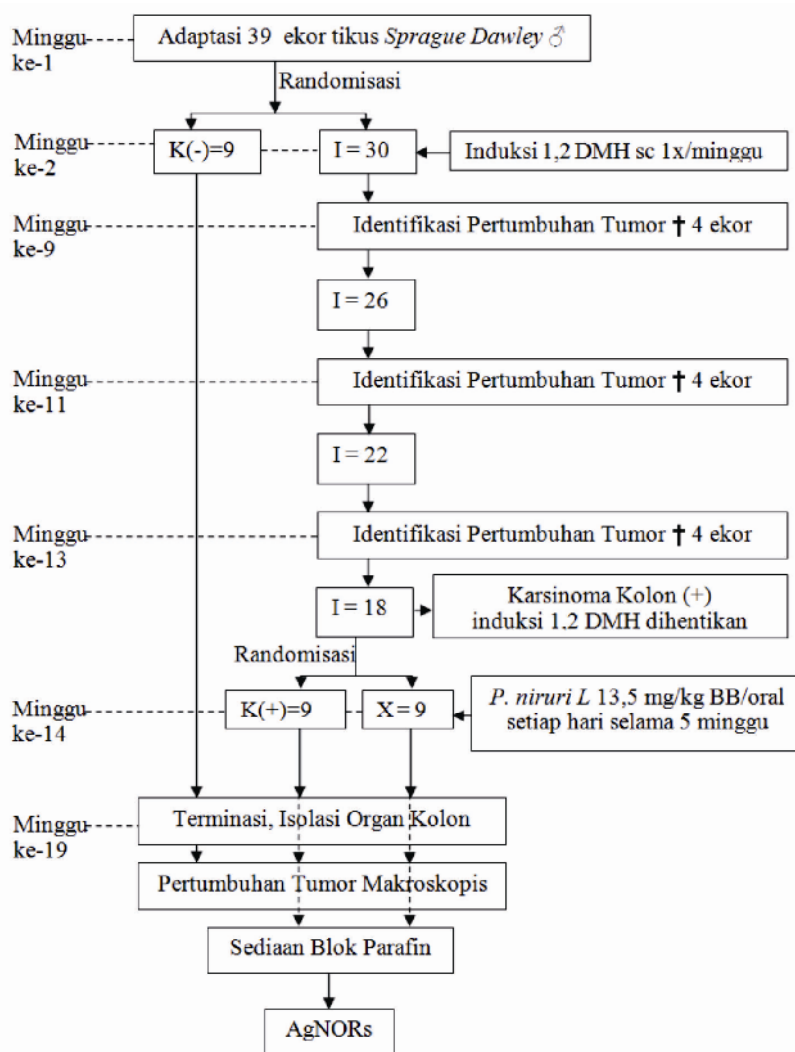
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan rancangan *The randomized posttest-only control group design*. Sampel dipilih secara random dari populasi terjangkau berupa tikus galur *Sprague Dawley* jantan yang dikembangbiakan di Laboratorium

Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Unit IV (Pre Klinik) UGM, berumur 6-7 minggu, berat badan 170-220 gram dan sehat. Sampel dibagi 2 kelompok: kontrol negatif (K-)=9 ekor tikus tidak diinduksi atau diberi ekstrak *P. niruri L*, kelompok induksi 1,2 DMH 30mg/kgBB subkutan pada hari pertama tiap minggu, sebanyak 30 tikus (prosedur ini sesuai dengan Dani *et al*, 2007).¹⁴ Pada minggu ke-9, 11 dan 13 tikus yang diinduksi dikorbankan masing-masing empat tikus per minggu untuk deteksi pertumbuhan KKR. Pada minggu ke-13 keempat tikus sudah tumbuh KKR, selanjutnya induksi dihentikan dan sisa 18 tikus dirandom alokasi menjadi 2 kelompok yaitu kontrol positif (K+)=9 ekor tikus tanpa pemberian *P. niruri L* dan kelompok X=9 ekor tikus yang diinduksi kemudian diberi ekstrak *P. niruri L* 13,5 mg/kgBB per hari per oral selama lima minggu (Gambar 1).

Minggu ke-19 seluruh tikus coba diterminasi, kolon dieksisi dan diperiksa lesi tumor makroskopik. Pertumbuhan tumor ditandai dengan timbulnya tonjolan, terjadi penebalan dan atau pengerasan dinding kolon yang tidak beraturan dan cenderung berbentuk anuler dan infiltratif ke seluruh dinding kolon sehingga sulit menilai ukuran tumor secara individu. Oleh karenanya, ukuran pertumbuhan tumor berdasarkan pada persentase panjang usus yang tumbuh tumor yang dibuktikan secara patologi anatomi. Jaringan histopatologi diproses dalam blok parafin, dipotong setebal 4 mikron dan diberi pewarnaan perak nitrat untuk pemeriksaan proliferasi sel dengan menghitung jumlah bercak AgNORs pada 100 sel dengan mikroskop cahaya pembesaran 1000x dan dihitung reratanya. Prosedur pemeriksaan ini sesuai dengan yang dilakukan Attallah *et al*, 2009.¹⁵ Seluruh proses pengolahan jaringan dan pembacaan hasil dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UGM/RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta. Semua data menunjukkan distribusi normal sehingga analisis data meliputi analisis deskriptif dan uji *Oneway Anova* dilanjutkan dengan *post hoc test LSD* untuk pertumbuhan tumor kolon dan uji t tidak berpasangan untuk proliferasi sel AgNORs. Derajat signifikansi $p < 0,05$ dan interval kepercayaan 95%.

HASIL

Selama penelitian berlangsung, sejak minggu pertama masa adaptasi sampai berakhirnya perlakuan tidak ada



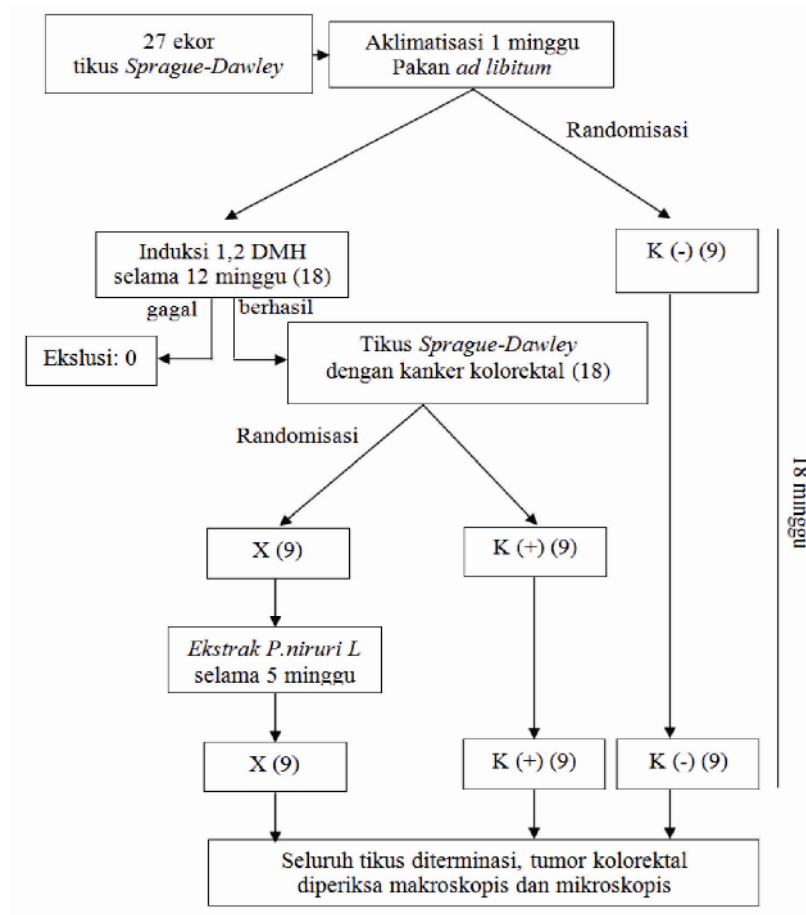
Gambar 1. Skema alur penelitian

tikus yang mati, seperti terlihat dalam Consort (*consolidated report of trial*) penelitian pada Gambar 2. Secara makroskopik dapat diamati bahwa tikus pada kelompok kontrol negatif (K-) tetap sehat selama masa penelitian, tidak terlihat pertumbuhan tumor, sedangkan kelompok induksi 1,2,DMH berkembang menjadi KKR pada minggu ke-13 induksi. Tikus pada kelompok kontrol positif K(+) yang diinduksi 1,2 DMH tetapi tidak mendapat terapi *P. niruri L*, tumornya tumbuh meluas di sepanjang kolon, sementara yang diberi ekstrak *P. niruri L* (kelompok X) tonjolan, penebalan dan atau pengerasan dinding kolon tidak seluas pada kelompok K(+).

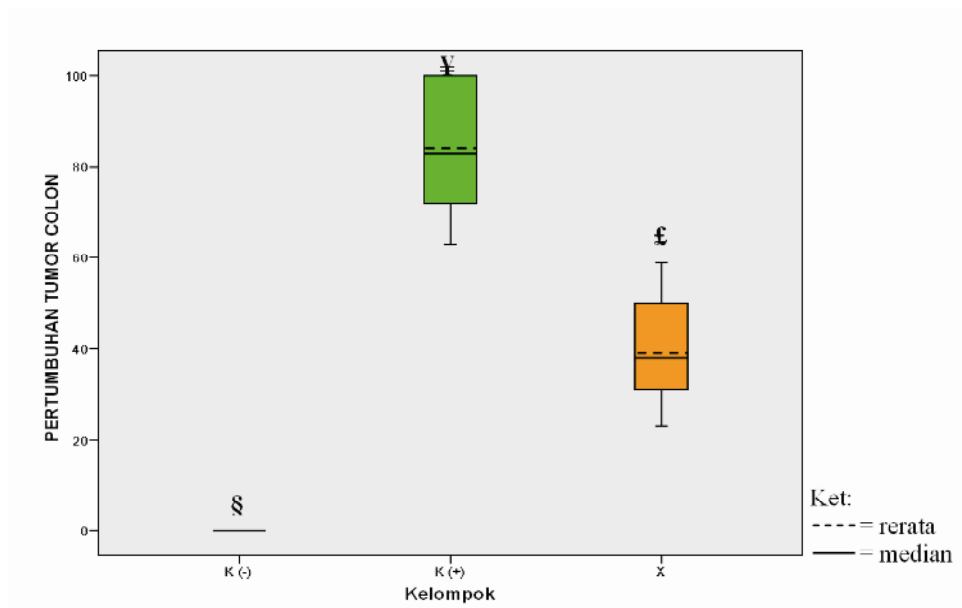
Hasil analisis pertumbuhan tumor kolon pada masing-masing kelompok adalah sebagai berikut: persentase rerata pertumbuhan tumor kelompok K(+) sebesar $83,33 \pm 14,34\%$ lebih tinggi dibanding kelompok X yang memiliki rerata pertumbuhan tumor $40,44 \pm 13,23\%$. Hasil uji *Oneway Anova* memperlihatkan bahwa

persentase rerata pertumbuhan tumor pada kelompok tikus yang diberi ekstrak *P. niruri L* (X) berbeda sangat signifikan dibanding kelompok tikus yang tidak diterapi ($p=0,000$). Perbandingan nilai rerata dan uji beda pertumbuhan tumor kolorektal masing-masing kelompok lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil *post hoc test LSD* menunjukkan bahwa antara kelompok K(-) bila dibandingkan dengan kelompok K(+) didapatkan perbedaan yang sangat signifikan ($p=0,000$). Apabila kelompok K(-) dibandingkan dengan kelompok perlakuan X ternyata juga berbeda sangat signifikan ($p=0,000$). Perbedaan yang sangat signifikan juga terjadi antara kelompok K(+) dengan kelompok X ($p=0,000$). Hasil ini memberikan makna bahwa pemberian ekstrak *P. niruri L* mampu menekan pertumbuhan tumor kolorektal dibanding tanpa terapi ekstrak tersebut.

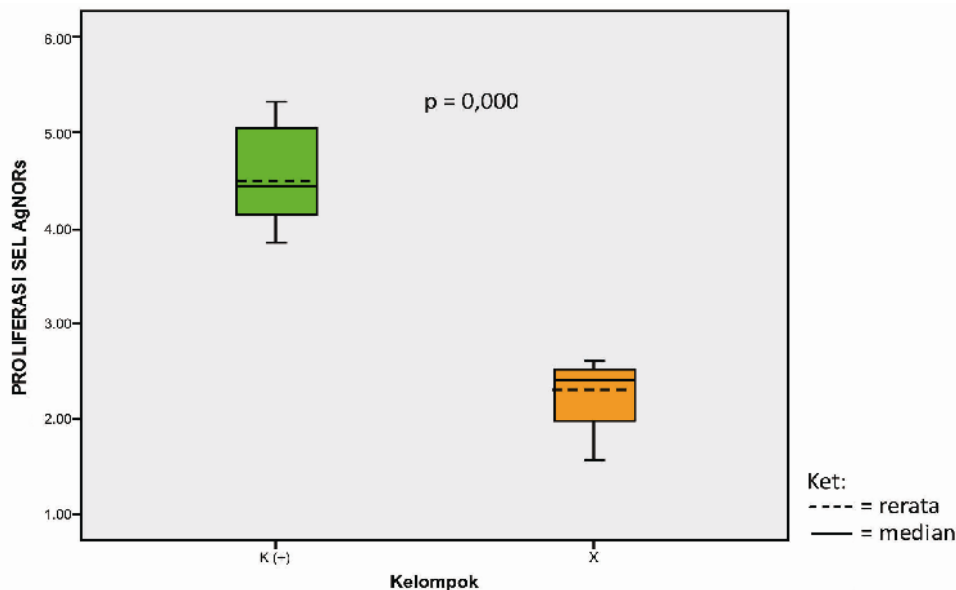
Hasil analisis terhadap ekspresi bercak AgNORs di dalam inti sel kanker kolon disajikan pada Gambar 4. Rerata bercak AgNORs per inti sel pada kelompok K(+)



Gambar 2. Consolidated report of trial



Gambar 3. Grafik *boxplot* pertumbuhan tumor kolon kelompok K(-) (kontrol negatif), kelompok K(+) (kontrol positif diinduksi 1,2 DMH 30 mg/kgBB) dan kelompok X (diinduksi 1,2 DMH 30 mg/kgBB dan terapi *P. niruri L* 13.5 mg/kgBB). ANOVA $p=0,000$. *Post hoc* LSD: § dengan K(+), $p=0,000$, ¥ dengan X, $p=0,000$ dan € dengan K(-), $p=0,000$.



Gambar 4. Grafik *boxplot* proliferasi sel AgNORs kelompok K(+)(kontrol positif diinduksi 1,2 DMH 30 mg/kgBB) dan kelompok X (diinduksi 1,2 DMH 30 mg/kgBB dan terapi *P. niruri* L 13.5 mg/kgBB). T tes p=0,000.

yang diinduksi 1,2 DMH adalah $4,60 \pm 0,55$. Kelompok X yang diinduksi 1,2 DMH kemudian diberi terapi ekstrak *P. niruri* L per oral, memiliki rerata bercak AgNORs yang menurun jauh dibanding kelompok K(+)($2,25 \pm 0,39$). Hasil analisis uji t tidak berpasangan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat signifikan untuk ekspresi bercak AgNORs pada kedua kelompok percobaan (p=0,000). Pemberian ekstrak *P. niruri* L pada kelompok perlakuan setelah kanker tumbuh memberikan efek penekanan ekspresi AgNORs secara bermakna.

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan rancangan yang cukup adekuat karena dilakukan randomisasi dalam pengelompokan subyek, sehingga faktor yang mengancam validitas dapat dikendalikan. Berdasarkan *Consort* penelitian ini terlihat bahwa semua tikus coba dapat mengikuti penelitian sejak awal sampai akhir (tidak ada yang mati). Penggunaan subyek penelitian yang berasal dari tikus *Sprague Dawley* galur *inbred* yang sama, berat badan yang relatif stabil, umur dan jenis kelamin yang sama, cara pemeliharaan dan perlakuan serta pengamatan mikroskop yang sama, maka respons pada variabel terikat dianggap sama pada setiap individu tikus. Keadaan yang berbeda dari masing-masing kelompok dianggap oleh karena perlakuan yang berbeda.

Dimethylhidrazin (1,2 DMH) adalah karsinogen kuat untuk kolon yang mampu menyebabkan mutasi sel-sel yang berada di bagian dasar kriptas. Selama migrasi ke permukaan lumen, sel-sel yang mengalami mutasi akan

menyebarkan sepanjang sumbu kriptas. Jaringan kolon mencoba untuk melindungi diri dengan memicu kematian sel-sel pada daerah tersebut untuk mengeliminasi sel-sel yang berpotensi mengalami mutasi. Kemungkinan ada sel mutasi yang bertahan hidup akhirnya menjadi sel transformasi yang kemudian bermigrasi ke bagian lumen kriptas dan mengakibatkan proliferasi tidak terkontrol, akumulasi sel sampai akhirnya terbentuk tumor.^{16,17} Perkembangan tumor pada kolon berhubungan dengan disregulasi pertumbuhan sel dan penghambatan apoptosis yang bertahap, karena keadaan ini menimbulkan konsekuensi yang luar biasa dalam tumorigenesis.¹⁶⁻¹⁸ Hasil penelitian ini mendukung teori sebelumnya, yaitu tumbuh tumor pada seluruh tikus coba yang diinduksi 1,2 DMH dan pada tikus yang tidak diinduksi karsinogen tersebut tidak tumbuh tumor.

Hasil uji statistik membuktikan bahwa persentase pertumbuhan tumor kolon pada tikus coba yang mendapat ekstrak *P. niruri* L lebih sedikit dan berbeda sangat signifikan dibanding tanpa pemberian ekstrak tersebut. Diduga bahwa ekstrak *P. niruri* L mampu menghambat karsinogenesis kolorektal sehingga terjadi regresi lesi tumor dan pada akhirnya kejadian tumbuhnya tumor berkurang secara bermakna. Berkurangnya kejadian pertumbuhan tumor kolon merupakan efek dari aktivitas ekstrak *P. niruri* L pada tingkat molekuler, diduga diinisiasi oleh komponen bioaktif yang terkandung didalamnya, misalnya flavonoid yang bekerja sebagai antioksidan dan antineoplastik¹¹ dan lignan yang bersifat sebagai antineoplastik.^{12,13} Komponen bioaktif yang terkandung di dalam herba (fitokimia) merupakan agen kemopreventif kanker yang potensial karena dapat

menghambat proliferasi sel kanker.^{19,20} Ekstrak air *P. niruri L* dosis 0,1-100 mg/ml yang diberikan pada mencit C₃H dengan kanker payudara terbukti mampu menurunkan viabilitas sel tumor.²¹ Ekstrak *P. niruri L* juga dapat menghambat perkembangan tumor solid secara signifikan pada mencit yang diinduksi dengan sel *Dalton's lymphoma ascites* (DLA).²²

Penggunaan ekstrak *P. niruri L* dalam penelitian ini terbukti mampu menekan proliferasi sel pada tikus yang diinduksi 1,2 DMH yang dicerminkan dengan ekspresi AgNORs (*argyrophilic nucleolar organizer regions*) yang lebih sedikit secara sangat signifikan dibanding tanpa pemberian ekstrak tersebut. Sel kanker yang tumbuh berlebihan terjadi akibat proses aktivitas proliferasi sel yang tidak terkendali.^{23,24} Pengendalian proliferasi sel sangat penting untuk pencegahan kanker karena proliferasi sel memiliki peran penting dalam karsinogenesis kolorektal termasuk proses inisiasi dan promosi.²⁵ Pada karsinogenesis yang diakibatkan oleh agen kimiawi, proliferasi sel biasanya terjadi segera setelah organ target mengalami apoptosis.^{25,26} Oleh karenanya, agen/obat kemoterapi biasanya ditujukan untuk menekan proliferasi sel dan menghambat pembentukan lesi yang ganas.^{27,28} Lignan dapat menghambat aktivitas telomerase dan aktivasi *c-myc* sehingga proliferasi sel kanker terhambat, juga menghambat Bcl-2 dan mengaktivasi caspase 3 dan caspase 8 yang menginduksi apoptosis sel kanker HepG2, EL-1 *monocytes*, HeLa dan MCP7 *cell lines*.¹²

Sel kanker memiliki potensi replikatif yang tidak terbatas. Replikasi DNA berlangsung pada fase S siklus sel. Dasar proses replikasi adalah duplikasi materi genetik dengan bantuan dari mesin replikasi yaitu *DNA polymerases*, *DNA ligases* dan *DNA topoisomerases*. Usaha untuk menghambat replikasi akan memastikan bahwa sel-sel ganas tidak mengalami kemajuan dalam siklus sel.^{23,29} Ekstrak *P. niruri L* diduga memiliki aktivitas anti-proliferasi dengan mempengaruhi pembentukan enzim yang berperan dalam proses replikasi dan transkripsi. Hal ini mengakibatkan terhambatnya aktivitas transkripsi pada fase S yang mengarah pada perbaikan siklus sel dan pada akhirnya proliferasi yang berlebihan dapat dikendalikan.^{28,29} Pemberian ekstrak *P. niruri L* pada tikus yang diinduksi 20 *methyl-cholanthrene* (karsinogen penyebab sarkoma) ternyata dapat menghambat *aniline hydroxylase*, suatu enzim P-450. Ekstrak juga menghambat *DNA topoisomerase II* dan *cdc 25 tirosin fosfatase*, enzim yang mengatur siklus sel, menghambat *DNA polymerase* sehingga menurunkan aktivitas transkripsi dan translasi mRNA. Pada akhirnya terjadi peningkatan *survival* dan berkurangnya tumor *solid* yang ditransplantasikan. Jadi aktivitas antikanker *P. niruri L* berhubungan dengan

penghambatan aktivasi metabolik karsinogen dan penghambatan regulator siklus sel serta *DNA repair*.³⁰

Peningkatan jumlah protein AgNORs mencerminkan peningkatan aktivitas proliferasi sel. NORs ditranskripsi untuk rRNA sampai menjadi rDNA dan akhirnya menjadi protein, dengan demikian diasumsikan bahwa peningkatan jumlah AgNORs merefleksikan peningkatan aktivitas transkripsi rDNA dan pada akhirnya peningkatan aktivitas selular dan nukleolar. Oleh karenanya, pemeriksaan bercak AgNORs merupakan cara yang dianggap tepat untuk menggambarkan aktivitas transkripsi DNA ribosomal (rDNA) yang berkaitan erat dengan siklus sel dan proliferasi sel,^{31,32} dalam hal ini sel neoplastik kanker kolorektal. Tumor dengan aktivitas metabolik yang tinggi akan mengekspresikan jumlah AgNORs yang banyak tetapi dengan DNA abnormal atau diferensiasi yang jelek. Jadi jumlah AgNORs yang tinggi merupakan penanda fenotip tumor ganas dengan prognosis yang jelek.^{32,33} Pemberian ekstrak *P. niruri L* terbukti dapat menekan ekspresi AgNORs pada tikus Wistar yang diinduksi *N-methyl N'-nitro-N-nitrosoguanidine* (MNNG), sehingga kejadian neoplasma gastrik berkurang secara signifikan.³⁴

Sejumlah studi telah membuktikan bahwa jumlah protein AgNORs erat kaitannya dengan kecepatan proliferasi sel dan prognosis tumor ganas, juga berhubungan dengan jumlah sel pada fase S siklus sel. Sel-sel kanker memiliki jumlah AgNORs interfase yang lebih banyak dibanding sel normal. Karena laju pertumbuhan massa tumor merupakan faktor yang paling penting yang mempengaruhi hasil klinis, maka nilai AgNORs menjadi parameter yang berharga untuk memberikan informasi tentang perkembangan penyakit.³⁵ Dengan demikian skor AgNORs dapat menjadi penanda proliferasi, karena jumlah ini berhubungan dengan fase siklus sel yaitu pada fase G1 rendah dan fase S-G2 tinggi. Fase S-G2 siklus sel mencerminkan siklus sel yang cepat.³⁶ AgNORs juga berkaitan dengan waktu penggandaan sel. Pada kultur *cell line* tumor manusia *in vitro*, terlihat bahwa semakin banyak ekspresi AgNORs waktu penggandaan sel semakin pendek.³³

SIMPULAN

Sesuai analisis hasil penelitian dan pembahasan, maka disimpulkan bahwa ekstrak *P. niruri L* memiliki aktivitas antikanker untuk melawan kanker kolorektal melalui mekanisme penghambatan proliferasi sel dan pertumbuhan tumor pada tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi 1,2 DMH.

Ucapan terima kasih

Terima kasih yang tak terhingga disampaikan kepada Direktorat Penelitian dan Pelayanan Masyarakat Kementerian

Pendidikan Nasional Republik Indonesia dan PT. Dexa Medica atas bantuan dana yang telah diberikan sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik dan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J and Murray T. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2008 [Disitasi 10 Agu 2011]:58;71-96. Tersedia pada: PUBMED. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18287387>
- Price T, Pittman K, Patterson W, Colbeck M, Rieger N, Hewett P, et al. Management and survival trends in advanced colorectal cancer. *Clinical Oncology* [Internet]. 2008 [Disitasi 7 Jun 2011]:20(8); 626-30. Tersedia pada: Sciencedirect. <http://www.sciencedirect.com/science?>
- National comprehensive cancer network clinical practice guidelines: Colon cancer v.1. [Internet] 2009 [Disitasi 14 Mei 2011] Tersedia pada: http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/colon.pdf
- Liu L and Lin H. Genus *Phyllanthus* for chronic hepatitis B virus infection: a systematic review. *J Viral Hepatitis*. [Internet] 2001 [Disitasi 9 Agu 2011]: 8; 358-66. Tersedia pada: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2893.2001.00307.x/xfdf>
- Taylor L. Technical data report for Chanca Piedra. In: *Herbal Secrets of The Rainforest 2nd ed.* Austin India: Sage Press Inc. [Internet]. 2003 [Disitasi 9 Agu 2011]. Tersedia pada: <http://www.rain-tree.com/chanca-techreport.pdf>
- Mustofa E, Sholikha N and Wahyono S. In vitro and in vivo antiplasmodial activity and cytotoxicity of extracts of *Phyllanthus niruri* Linn herbs traditionally used to treat malaria in Indonesia. *Southeast Asian J. Trop Med Public Health* [Internet] 2007 [Disitasi 9 Agu 2011]: 38 (4); 609-15. Tersedia pada: http://www.tm.mahidol.ac.th/seameo/2007_38_4/01-3985.pdf
- Taylor L. Technical data report for Chanca Piedra. In: *Herbal Secrets of The Rainforest, 2nd ed.,* Austin India: Sage Press, Inc. [Internet] 2003 [Disitasi 9 Agu 2011]. Tersedia pada: <http://www.rain-tree.com/chanca-techreport.pdf>
- Bagalkotkar G, Sagineedu SR, Saad MS and Stanslas J. Phytochemicals from *Phyllanthus niruri* Linn and their pharmacological properties: A review. *J. Pharma and Pharmacol* [Internet]. 2006 [Disitasi 9 Agu 2011]: 58; 1559-70. Tersedia pada: PUBMED. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17331318>
- Markom M, Hasan M, Daud WRW, Singh H and Jahim JM. Extraction of hydrosable tannins from *Phyllanthus niruri* Lin.: effects of solvents and extraction methods. *Separation and Purification Technology* [Internet]. 2007 [Disitasi 7 Jun 2011]: 52; 487-96. Tersedia pada: <http://www.sciencedirect.com/science?>
- Ma'at S. Imunomodulator manfaat dan bahayanya. Dalam: Kusmita L dan Djatmika. *Imunomodulator dan Perkembangannya*. Prosiding Seminar Nasional Farmasi Tahun 2010 Cetakan ketiga. Semarang: Penerbit STIFAR Yayasan Farmasi, 2010;14-43.
- Lakhanpal P, and Rai DK. Quercetin: a versatile flavonoid. *Internet Journal of Medical Update* [Internet] 2007 [Disitasi 9 Agu 2011]: 2 (2). Tersedia pada: http://www.akspublication.com/Paper05_Jul-Dec2007_.pdf
- Giridharan P, Somasundaram ST, Perumal K, Vishwakarma RA, Karthikeyen NP, Velmurugan R, et al. Novel substituted methylenedioxy lignan suppresses proliferation of cancer cells by inhibiting telomerase and activation of *c-myc* and caspases leading to apoptosis. *British Journal of Cancer* [Internet] 2002 [Disitasi 16 Jun 2011]: 87; 98-105. Tersedia pada: PUBMED. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12085264>.
- Wei W, Gong XXG, Ishrud O and Pan YJ. New lignan isolated from *Phyllanthus niruri* Linn. Structure elucidation by NMR spectroscopy. *Bull. Korean Chem.Soc* [Internet] 2002 [Disitasi 16 Jun 2011]: 23 (6); 896-8. Tersedia pada: <http://210.36.16.53:8018/publication.asp?id=16312>
- Dani V, Goel A, Vaiphei K and Dhawa DK. Chemopreventive potential of zinc in experimentally induced colon carcinogenesis. *Toxicology Letters* [Internet] 2007 [Disitasi 8 Jun 2011]: 171; 10-18. Tersedia pada: <http://www.sciencedirect.com/science?>
- Attallah A, Tabl MAA, El-Nashar A, El-Bakry KA, El-Sadany M, Ibrahim T, et al. AgNORs count and DNA ploidy in liver biopsies from patients with schistosomal liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Clinical Biochemistry* [Internet] 2009. [Disitasi 10 Sep 2011]: 42 (16-17); 1616-20. Tersedia pada: Sciencedirect. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009912009003300>
- Watson AJM. An overview of apoptosis and the prevention of colorectal cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* [Internet] 2006 [Disitasi 7 Jun 2011]: 57; 107-21. Tersedia pada: Sciencedirect. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1040842805001435>
- Tanaka T. Colorectal carcinogenesis: review of human and experimental animal studies. *Journal of Carcinogenesis* [Internet] 2009 [Disitasi 7 Jun 2011]: 8 (5); 1-19. Tersedia pada: Sciencedirect. <http://www.carcinogenesis.com/article.asp?issn=1477-3163;year=2009;volume=8;issue=1;spage=5;epage=5;aulast=Tanaka>
- Yang SY, Sales KM, Fuller B, Seifalian AM and Winslet MC. Apoptosis and colorectal cancer: implications for therapy. *Trends in Molecular Medicine* [Internet] 2009 [Disitasi 10 Sep 2011]: 15 (5); 225-33. Tersedia pada: Sciencedirect. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471491409000604>
- Loo G. Redox-sensitive mechanism of phytochemical-mediated inhibition of cancer cell proliferation (review). *Journal of nutrition Biochemistry* [Internet] 2003 [Disitasi 9 Juni 2011]: 14; 64-73. Tersedia pada: <http://www.sciencedirect.com/science?>

20. Chen X, Hu ZP, Yang XX, Huang M, Gao Y, Tang W, et al. Monitoring of immune responses to a herbal immunomodulator in patients with advanced colorectal cancer. *International Immunopharmacology* [Internet] 2006 [Disitasi 6 Jun 2011]: 6; 499-508. Tersedia pada: <http://www.sciencedirect.com/science?>
21. Chodidjah. Pengaruh pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* L pada sel mononuklear terhadap viabilitas sel adenokarsinoma mamma mencit C₃H penelitian in vitro. *M Med Indonesiana* 2004;32(5):25-30.
22. Harikumar KB, Kuttan G and Kuttan R. *Phyllanthus amarus* inhibits cell growth and induces apoptosis in Dalton's lymphoma ascites cells through activation of caspase-3 and downregulation of Bcl-2. *Integrative Cancer Therapies* [Internet] 2009 [Disitasi 8 Jun 2011]: 8; 190-4. Tersedia pada: <http://ict.sagepub.com/content/8/2/190.short>
23. Heinen CD, Steigerwald K, Goss KH and Groden J. Cancer cell properties: cell division and programmed cell death. In: *Cell Physiology Sourcebook: A Molecular Approach*. 3rd ed. Academic Press. New York. [Internet] 2001 [Disitasi 5 Jul 2011]: p. 1161-70. Tersedia pada: <http://www.sciencedirect.com/science/book/9780126569766>
24. Tjahjono. Analisis aktivitas proliferasi pada siklus sel, untuk menentukan sifat dan prognosis kanker. *M. Med Indonesiana*. 2002;37(1):1-8.
25. Mori H, Sugie S, Yoshimi N, Hara A and Tanaka T. Control of cell proliferation in cancer prevention. *Mutation Research* [Internet] 1999 [Disitasi 5 Jul 2011]: 428; 291-8. Tersedia pada: <http://www.sciencedirect.com/science?>
26. Tejpar S. The use of molecular markers in the diagnosis and treatment of colorectal cancer. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* [Internet] 2007 [Disitasi 8 Jun 2011]: 21(6);1071-87. Tersedia pada: <http://www.sciencedirect.com/science?>
27. Sharma RA, Manson MM, Gescher A and Steward WP. Colorectal cancer chemoprevention: biochemical targets and clinical development of promising agents. *European Journal of Cancer* [Internet] 2001 [Disitasi 14 Mei 2011];37;12-22. Tersedia pada: <http://www.sciencedirect.com/science?>
28. Allen WL and Johnson PG. The role of molecular markers in the adjuvant treatment of colorectal cancer. *European Journal of Cancer Supplements* [Internet] 2005 [Disitasi 8 Jun 2011]: 3 (3); 263-74. Tersedia pada: <http://www.sciencedirect.com/science?>
29. Bell HS and Ryan KM. Intracellular signalling and cancer: complex pathways lead to multiple targets. *European Journal of Cancer* [Internet] 2005. [Disitasi 5 Jul 2011];41;206-15. Tersedia pada: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959804904008688>
30. Rajeshkumar NV, Joy KL, Kuttan G, Ramsewak RS, Nair MG and Kuttan R. Antitumour and anticarcinogenic activity of *Phyllanthus amarus* extract. *Journal Ethnopharmacology* [Internet] 2002 [Disitasi 16 Jun 2011];81(1);17-22. Tersedia pada: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874101004196>
31. Ofner D. In situ standardised AgNOR analysis: a simplified method routine use to determine prognosis and chemotherapy efficiency in colorectal adenocarcinoma. *Micron*. [Internet] 2000 [Disitasi 10 Sep 2011];31;161-4. Tersedia pada: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968432899000736>
32. Sirri V, Roussel P, Verdum DH. The AgNOR protein: quantitative changes during the cell cycle. *Micron* [Internet] 2000 [Disitasi 10 Sep 2011];31;121-126. Tersedia pada: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968432899000682>
33. Pich A, Chiusa L and Margaria E. Prognostic relevance of AgNORs in tumor pathology. *Micron* [Internet] 2000 [Disitasi 10 Sep 2011];31(2);133-41. Tersedia pada: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968432899000700>
34. Raphael KR, Sabu MC, Kumar KBH and Kuttan R. Inhibition of N-Methyl N'-nitro-N-Nitrosoguanidine (MNNG) induced gastric carcinogenesis by *Phyllanthus amarus* extract. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* [Internet] 2006 [Disitasi 8 Jun 2011];7;299-302. Tersedia pada: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16839226>
35. Derenzini M. The AgNORs. *Micron* [Internet] 2000 [Disitasi 10 Sep 2011];31(2);117-20. Tersedia pada: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968432899000670>
36. Nakamura M, Sano K, Kitagawa Y, Ogasawara T, Nishizawa S, Yonekura Y. Diagnostic significance of FDG-PET and argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncology* [Internet] 2004 [Disitasi 8 Agu 2011]; 40(2); 190-8. Tersedia pada: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1368837503001519>

SINOPSIS

Ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn memiliki aktivitas antikanker melawan kanker kolorektal melalui mekanisme penghambatan proliferasi sel dan pertumbuhan tumor.