

**AKTIVITAS ANTITUMOR KOMBINASI EKSTRAK KELADI  
TIKUS (*TYPHONIUM FLAGELLIFORME*) DENGAN INTERFERON  
ALAMIAH KUCING DAN ANJING SECARA INVIVO PADA  
MENCIT YANG DIINDUKSI SUBKUTAN 7.12-  
DIMETILBENZ(A)ANTHRACNE (DMBA).**

EVA HARLINA  
ARDI SANDRIYA  
RISKI ROSTANTINATA  
WARAS NURCHOLIS  
LINA NOVIYANTI SUTARDI  
MAWAR SUBANGKIT  
RACHMI RIDHO  
BAMBANG PONTJO PRISOERYANTO



**IPB University**  
— Bogor Indonesia —

**SEKOLAH KEDOKTERAN HEWAN DAN BIOMEDIS  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2024**

Judul : Aktivitas antitumor kombinasi ekstrak keladi tikus  
Penelitian (*typhonium flagelliforme*) dengan interferon alamiah kucing dan anjing secara *invivo* pada mencit yang diinduksi subkutan 7.12-dimetilbenz( $\alpha$ )anthracne (DMBA)

Nama Peneliti:

Eva Harlina	NIP 196206201989032003
Lina Noviyanti Sutardi	NIP 196206201989032003
Mawar Subangkit	NIP 196206201989032003
Bambang Pontjo Priosoeryanto	NIP 196206201989032003
Divisi	: Patologi dan divisi veteriner

Mengetahui

Dekan Sekolah Kedokteran Hewan Dan Biomedis

Dr drh Amrozi, PhD.

NIP 19700721 199512 001

**Aktivitas Antitumor Kombinasi Ekstrak Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme*) dengan Interferon Alamiah Kucing dan Anjing Secara Invivo pada Mencit yang Diinduksi Subkutan 7.12-dimetilbenz( $\alpha$ )anthracne (DMBA).**

Eva Harlina<sup>1</sup>, Ardi Sandriya<sup>2</sup>, Riski Rostantina<sup>1</sup>, Waras Nurcholis<sup>3,4</sup>, Lina Noviyanti Sutardi<sup>5</sup>, Mawar Subangkit<sup>1</sup>, Rachmi Ridho<sup>6</sup> dan Bambang Pontjo Priosoeryanto<sup>1,4,\*</sup>

<sup>1</sup>Divisi Patologi Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis IPB University; <sup>2</sup>Fakultas Peternakan, Universitas Palangkaraya, <sup>3</sup>Departemen Kimia Fakultas MIPA IPB University, <sup>4</sup>Pusat Studi Biofarmaka Tropika IPB University, <sup>5</sup>Divisi Farmasi Veteriner Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis IPB University, <sup>6</sup>Fakultas Farmasi Universitas Gunadarma

**ABSTRAK**

Kejadian tumor pada hewan tergolong tinggi, dan terapi tumor menggunakan bahan herbal dan substansi biologi merupakan salah satu metode yang memiliki efek samping yang rendah. Indonesia memiliki berbagai tanaman yang berpotensi sebagai anti tumor, salah satunya adalah keladi tikus (*T. flagelliforme*) yang dipercaya dapat mengurangi perkembangan sel tumor. Substansi biologi yang telah diketahui memiliki potensi sebagai antitumor adalah interferon (IFN). Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari efek penggunaan kombinasi ekstrak etanol keladi tikus (*T. flagelliforme*) dan interferon alamiah sebagai agen antitumor. Penelitian ini menggunakan 18 ekor mencit betina galur ddY yang diinduksi dengan 7.12-dimetilbenz ( $\alpha$ ) anthracne (DMBA) sebagai substansi karsinogen. Mencit dibagi kedalam 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol (I), kelompok ekstrak etanol daun keladi tikus (II), kelompok nCaIFN (III), kelompok nFeIFN (IV), kelompok kombinasi ekstrak daun keladi tikus dan nCaIFN (V), dan kelompok kombinasi ekstrak daun keladi tikus dan nFeIFN (VI). Jaringan tumor yang terbentuk diberi bahan uji selama selama 4 minggu. Selanjutnya semua jaringan tumor dikoleksi dan dibuat slide histopatologi yang diwarnai dengan Hematoxylin-Eosin (HE) dan pewarnaan imunohistokimia PCNA dan Caspase-3. Hasil pengamatan makroskopis menunjukkan permukaan kulit yang mengalami tumor mengalami alopesia dan kemerahan. Pada indikator penambahan diameter dan berat badan, terdapat perbedaan nyata antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi bahan uji ( $p < 0.05$ ), dan terdapat perbedaan nyata antara kelompok yang diberi bahan uji tunggal dibandingkan kelompok yang diberi kombinasi ( $p < 0.05$ ). Pengamatan mikroskopis menunjukkan terbentuk tiga jenis tumor yaitu anaplastic carcinoma, fibrosarcoma, dan squamous cell carcinoma. Pada pengujian indeks mitosis dan angiogenesis terdapat perbedaan nyata antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi bahan uji ( $p < 0.05$ ), dan terdapat perbedaan nyata antara kelompok yang diberi bahan uji tunggal dibandingkan kelompok yang diberi kombinasi ( $p < 0.05$ ). Pengujian terhadap PCNA dan Caspase-3, terdapat perbedaan yang nyata antara kelompok kontrol dengan kelompok yang diberi bahan uji ( $p < 0.05$ ), dan terdapat perbedaan nyata antara kelompok yang diberi bahan uji tunggal dibandingkan kelompok yang

diberi kombinasi ( $p < 0.05$ ). Kombinasi ekstrak etanol daun keladi tikus dan interferon alamiah mampu menstabilkan berat badan, menghambat pertumbuhan tumor, mengurangi terjadinya mitosis dan angiogenesis, serta menurunkan ekspresi PCNA dan Caspase-3. Kelompok yang diberi kombinasi bahan uji menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan kelompok yang diberi bahan uji tunggal.

Keywords: ekstrak etanol keladi tikus, interferon, kombinasi, mencit, tumor

## PENDAHULUAN

Tumor adalah gangguan pertumbuhan secara patologis yang ditandai dengan proliferasi sel yang berlebihan dan abnormal [1]. Prevalensi tumor yang tinggi (42.1%) ditemukan pada hewan karnivora, anjing dan kucing peliharaan juga termasuk hewan yang memiliki tingkat kejadian tumor yang tinggi [2]. Pengendalian terhadap tumor biasanya dilakukan dengan pembedahan, kemoterapi dan radio terapi. Pengobatan ini merupakan salah satu strategi untuk pengobatan tumor, namun pengobatan ini memiliki kendala yaitu ketidakmampuan dalam menargetkan sel tumor secara selektif dan munculnya resistensi sel tumor yang dapat menurunkan optimalisasi pengobatan. Hampir semua pengobatan yang digunakan pada kemoterapi memiliki efek samping yang merugikan pada jaringan dan organ normal [3].

Pengobatan lain yang dapat digunakan untuk terapi tumor adalah penggunaan herbal dan substansi biologi [4]. Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki biodiversitas flora dan fauna terbesar di dunia. Indonesia memiliki lebih dari 2500 spesies tanaman obat yang banyak digunakan oleh masyarakat [5]. Salah satu tanaman obat yang memiliki potensial sebagai anti tumor adalah keladi tikus (*T. flagelliforme*). Pada pengujian secara in vivo ekstrak etanol daun keladi tikus mempunyai aktivitas antiproliferasi pada sel MCA-B1 dan MCM-B2 [4]. Pada pengujian in vitro daun keladi tikus memiliki potensi yang tinggi untuk digunakan pada terapi kanker payudara [6].

Substansi biologi yang memiliki potensi sebagai pengobatan tumor adalah interferon. Interferon (IFN) adalah protein dalam kelompok sitokin yang diproduksi oleh tubuh sebagai akibat dari infeksi virus atau mikroba lainnya [7]. Interferon memiliki fungsi sebagai antivirus, antiproliferasi, antiinflamasi dan imunomodulator [8]. Penggunaan interferon kucing omega rekombinan (rFeIFN- $\omega$ ) menunjukkan adanya aktivitas penghambatan pertumbuhan sel tumor pada berbagai sel tumor anjing dan kucing yang di uji secara in vitro [9].

Saat ini belum ada laporan tentang hasil pengujian kombinasi ekstrak etanol daun keladi tikus (*T. flagelliforme*) dengan interferon anjing alamiah (nCaIFN) atau interferon kucing alamiah (nFeIFN) yang di uji secara in vitro pada tumor. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas kombinasi ekstrak etanol daun keladi tikus (*T. flagelliforme*) dengan interferon anjing alamiah (nCaIFN) atau interferon kucing alamiah (nFeIFN) pada sel tumor secara in vitro.

## MATERI DAN METODA

Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Hewan Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis, IPB University dengan No: 153/KEH/SKE/X/2019.

### Ekstrak Etanol Daun Keladi Tikus

Ekstrak etanol daun keladi tikus yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari penelitian sebelumnya [4].

### Interferon

Pada penelitian ini digunakan interferon anjing alamiah (nCaIFN) dan interferon kucing alamiah (nFeIFN). Interferon anjing alamiah (nCaIFN) dan interferon kucing alamiah (nFeIFN) yang digunakan didapatkan dari penelitian sebelumnya [10].

### Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan 18 ekor mencit DDY betina berumur 5 minggu dengan berat badan 20-25 g. Mencit diaklimatisasi selama dua minggu, diberi makan dua kali sehari dan minum ad libitum. Tikus dipelihara dalam wadah plastik berukuran 35x20x15 cm yang dilapisi kawat, dan setiap wadah berisi 3 ekor tikus. Tikus dipelihara di ruangan sejuk di Unit Hewan Rumah Sakit Hewan Pendidikan, IPB University.

### Induksi Tumor

Induksi tumor pada mencit menggunakan 7,12-dimethylbenz( $\alpha$ )anthracena (DMBA) dengan dosis 25  $\mu$ g/0,05 ml/ekor [11]. DMBA dilarutkan dalam pelarut aseton hingga mencapai dosis yang diinginkan dan diinduksikan dua kali seminggu secara subkutan pada punggung mencit selama 4 minggu. Setelah itu dilakukan observasi hingga terbentuk tumor pada minggu ke 13.

### Perlakuan Pemberian Bahan Uji

Tikus yang sudah diinduksi tumor pada tahap sebelumnya dibagi menjadi 6 kelompok. Pengelompokan mencit disajikan pada Tabel 1

Table 1 Pembagian Kelompok dan Perlakuan

Kelompok	Perlakuan
1	Kontrol (placebo)
2	Ekstrak ethanol daun keladi tikus
3	nCaIFN
4	nFeIFN
5	nCaIFN + Ekstrak ethanol daun keladi tikus
6	nFeIFN + Ekstrak ethanol daun keladi tikus

Interferon diberikan dengan dosis 102 U/ekor, sedangkan ekstrak etanol daun keladi tikus diberikan dengan dosis 120 mg/kg BB [4]. Massa tumor disuntik dengan bahan uji secara intratumoral selama 3 hari berturut-turut, setiap minggu selama 4 minggu [12]

### **Pengamatan Makroskopis**

Gambaran makroskopis yang diperiksa meliputi kelainan kulit dan rambut (alopecia, luka, koreng, dan warna massa tumor), massa tumor dan jaringan sekitar massa tumor; diameter tumor (pengukuran menggunakan jangka sorong, dilakukan setiap minggu secara vertikal dan horizontal); bentuk massa tumor (bulat atau seperti kembang kol); berat badan mencit (ditimbang setiap minggu menggunakan timbangan digital); dan pengamatan adanya massa tumor di bagian tubuh lain. Pengamatan dilakukan pada hari ke-1 hingga hari ke-7 setelah terapi

### **Terminasi Hewan Coba**

Setelah masa terapi dan observasi selesai, seluruh mencit diterminasi menggunakan dosis letal anestesi (dosis tiga kali lebih tinggi dari dosis anestesi). Anestetikum yang digunakan adalah kombinasi Ketamin dosis 300 mg/kg BB dan Xylazine 2% dosis 15 - 30 mg/kg [13].

### **Pengambilan Sample dan Pembuatan Sediaan Histopatologi**

Semua mencit yang telah diterminasi kemudian dinekropsi untuk pengambilan masa tumor. Seluruh jaringan tumor difiksasi dalam NBF 10%, diwarnai dengan Hematoksin-Eosin (HE) atau dilanjutkan pewarnaan menggunakan metode imunohistokimia berdasarkan protokol *abcam DAB staining kit* seri ab64261 untuk PCNA dan Caspase 3.

### **Pengamatan Mikroskopis**

Gambaran mikroskopis yang diamati adalah struktur sel tumor, diferensiasi tumor, laju pertumbuhan, metastasis, indeks mitosis dan angiogenesis. Derajat diferensiasi tumor digolongkan menjadi (a) diferensiasi baik, jika sel yang terbentuk menyerupai sel asal yang tampak jelas, jembatan antar sel tampak jelas, mitosis lambat dan tidak mengalami metastasis; (b) diferensiasi sedang, jika bentuk sel kurang jelas, tersusun secara atipikal, laju pertumbuhan relatif lebih cepat, jembatan antar sel yang tidak menonjol, mitosis relatif banyak, ukuran dan bentuk sel bervariasi; (c) diferensiasi buruk, jika menunjukkan karakteristik sel buruk, tidak ada jembatan antar sel dan terjadi mitosis yang tinggi; (d) tidak berdiferensiasi, jika tidak menunjukkan karakteristik sel tertentu atau primitif atau bentuk sel yang abnormal.

Pengamatan angiogenesis dilakukan dengan menghitung jumlah pembuluh darah pada 5 lapang pandang mikroskopis dengan perbesaran 40 x 10, dilakukan sebanyak dua kali lalu dirata-ratakan [15]. Indeks mitosis diperoleh dengan menghitung jumlah sel yang mengalami mitosis pada 10 lapang pandang mikroskopis dengan perbesaran 40x10 dan dirata-ratakan [16].

Pengamatan imunohistokimia dilakukan dengan pengukuran *gray scale value* menggunakan perangkat *ImageJ* [17]. Parameter yang diukur adalah positivitas dan intensitas warna. Nilai positivitas merupakan persentase area positif yang dihitung pada 10 lapang pandang dengan perbesaran 40 x 10 [18], sedangkan intensitas warna diukur pada 10 lapang pandang dengan perbesaran 40 x 10 [19]. Daerah yang lebih gelap memiliki nilai intensitas yang lebih rendah, hal ini menyebabkan korelasi terbalik antara jumlah antigen dan nilai numeriknya. Penyesuaian nilai jumlah antigen dan nilai numeriknya dilakukan dengan metode *reciprocal intensity*, dimana nilai maksimum pengujian intensitas dikurangi

dengan nilai intensitas yang diperoleh. Dengan demikian nilai jumlah antigen sebanding dengan nilai numeriknya [20].

### Analisis Data

Data kuantitatif hasil pengamatan makroskopis dianalisis dengan metode ANOVA dan dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan. Semua data kualitatif disajikan secara deskriptif.

## HASIL

### Makroskopis

Pada bagian kulit tempat induksi DMBA tumbuh massa tumor dengan kulit yang mengalami kegundulan rambut/alopesia yang berwarna kemerahan. Hasil pengamatan selisih pertumbuhan diameter tumor setiap minggunya disajikan pada Tabel 2. Pada minggu pertama penambahan diameter tumor tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0.05$ ) pada kelompok kontrol (I) dibandingkan dengan kelompok yang diberi bahan uji (II, III, IV, V, dan VI), namun pada kelompok yang diberi bahan uji berupa kombinasi ekstrak etanol *T. flagelliforme* dengan nCaIFN (V) atau nFeIFN (VI) telah menunjukkan tren penurunan ukuran diameter tumor. Pada minggu ke dua terdapat perbedaan yang nyata ( $p > 0.05$ ) antara kelompok kontrol (I) dan kelompok ekstrak (II) jika dibandingkan dengan kelompok yang diberi bahan uji berupa interferon (III dan IV) serta kelompok yang diberi bahan uji kombinasi ekstrak dan interferon (V dan VI). Pada minggu ke tiga terdapat perbedaan yang nyata ( $p > 0.05$ ) antara kelompok kontrol (I) dan kelompok ekstrak (II) jika dibandingkan dengan kelompok yang diberi bahan uji berupa interferon (III dan IV) serta kelompok yang diberi bahan uji kombinasi ekstrak dan interferon (V dan VI), terdapat perbedaan yang nyata ( $p > 0.05$ ) antara kelompok interferon (III dan IV) terhadap kelompok kombinasi ekstrak dan nFeIFN (VI).

Kelompok yang diberi terapi nCaIFN menunjukkan adanya tren penurunan pada minggu ke tiga. Hasil uji pada minggu ke empat menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0.05$ ) antara kelompok kontrol (I) dan kelompok ekstrak (II) jika dibandingkan dengan kelompok yang diberi bahan uji berupa interferon (III dan IV) serta kelompok yang diberi bahan uji kombinasi ekstrak dan interferon (V dan VI), serta terdapat perbedaan yang nyata ( $p > 0.05$ ) antara kelompok interferon (III dan IV) terhadap kelompok kombinasi ekstrak dan interferon (V dan VI).

Table 2. Perbandingan penambahan diameter tumor antar minggu pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan

Kelompok	Penambahan diameter tumor (mm) dibandingkan minggu ke-0			
	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4
I	0.097±0.35 <sup>a</sup>	0.193±0.06 <sup>a</sup>	0.247±0.04 <sup>a</sup>	0.337±0.08 <sup>a</sup>
II	0.060±0.07 <sup>a</sup>	0.187±0.07 <sup>a</sup>	0.333±0.07 <sup>a</sup>	0.310±0.10 <sup>a</sup>
III	0.003±0.13 <sup>a</sup>	0.007±0.11 <sup>b</sup>	-0.003±0.11 <sup>b</sup>	-0.013±0.12 <sup>b</sup>
IV	0.083±0.08 <sup>a</sup>	0.033±0.08 <sup>b</sup>	0.027±0.12 <sup>b</sup>	-0.007±0.14 <sup>b</sup>
V	-0.040±0.10 <sup>a</sup>	-0.073±0.13 <sup>b</sup>	-0.100±0.12 <sup>bc</sup>	-0.203±0.05 <sup>c</sup>
VI	-0.080±0.13 <sup>a</sup>	-0.077±0.03 <sup>b</sup>	-0.170±0.05 <sup>c</sup>	-0.213±0.07 <sup>c</sup>

Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0.05$ )

Hasil perbandingan penambahan berat badan mencit pada kelompok kontrol dan kelompok yang diberi bahan uji disajikan pada Tabel 3. Pada minggu pertama penambahan diameter tumor tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0.05$ ) pada kelompok kontrol (I) dibandingkan dengan kelompok yang diberi bahan uji (II, III, IV, V, dan VI). Pada minggu ke dua terdapat perbedaan yang nyata ( $p > 0.05$ ) pada kelompok kontrol (I) dibandingkan dengan kelompok yang di beri bahan uji nFeIFN (IV), kombinasi ekstrak dan nCaIFN (V), serta kombinasi ekstrak dan nFeIFN (VI). Pada minggu ke tiga terdapat perbedaan yang nyata ( $p > 0.05$ ) antara kelompok kontrol (I) dibandingkan dengan semua kelompok yang diberi bahan uji. Hasil uji pada minggu ke empat menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p > 0.05$ ) antara kelompok kontrol (I) dibandingkan dengan semua kelompok yang diberi bahan uji, serta terdapat perbedaan yang nyata ( $p > 0.05$ ) antara kelompok interferon (III dan IV) dibandingkan dengan kelompok kombinasi ekstrak dan interferon (V dan VI).

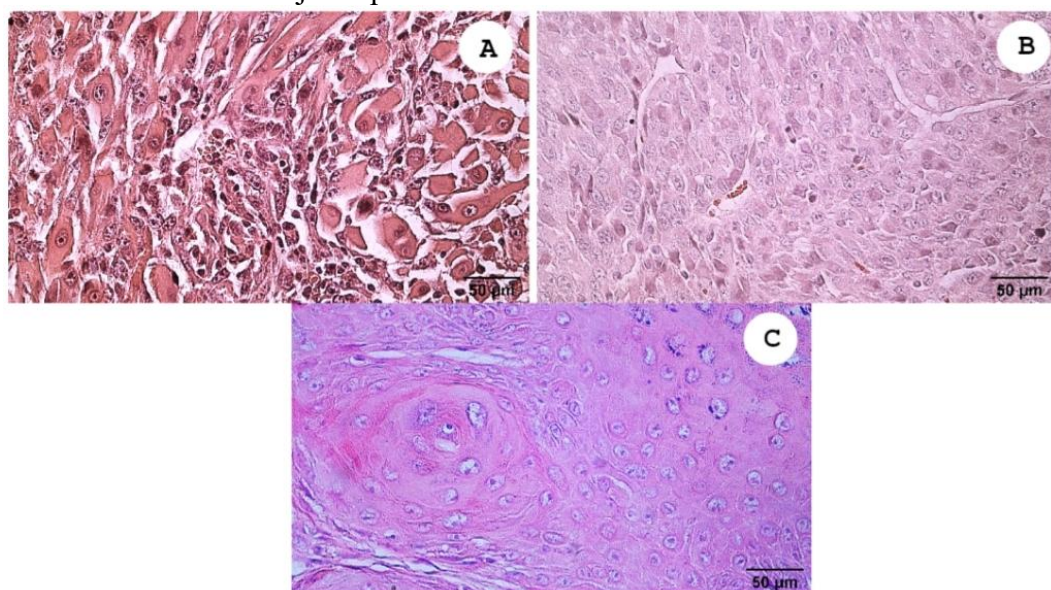
Tabel 3. Penambahan berat badan mencit pada kelompok kontrol dan kelompok yang diberi bahan uji

Kelompok	Penambahan Berat Badan Mencit (g) Dibandingkan Minggu ke-			
	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4
I	-0.667±0.58 <sup>a</sup>	-1.667±1.53 <sup>a</sup>	-3.667±0.58 <sup>a</sup>	-4.333±1.15 <sup>a</sup>
II	0.333±0.58 <sup>a</sup>	0.667±0.58 <sup>ab</sup>	1.333±1.15 <sup>b</sup>	1.667±0.58 <sup>b</sup>
III	-0.333±2.08 <sup>a</sup>	0.333±3.21 <sup>ab</sup>	0.667±1.15 <sup>b</sup>	1.667±0.58 <sup>b</sup>
IV	1.333±1.15 <sup>a</sup>	2.000±1.00 <sup>b</sup>	1.667±0.58 <sup>b</sup>	2.333±0.58 <sup>b</sup>
V	1.333±1.53 <sup>a</sup>	1.667±0.58 <sup>b</sup>	2.333±1.15 <sup>bc</sup>	4.000±1.00 <sup>c</sup>
VI	0.667±0.58 <sup>a</sup>	2.000±1.00 <sup>b</sup>	3.667±0.58 <sup>c</sup>	4.333±0.58 <sup>c</sup>

Huruf superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0.05$ )

### Pengamatan Mikroskopik

Hasil pengamatan histopatologi karsinoma anaplastik, fibrosarkoma dan karsinoma sel skuamosa disajikan pada Gambar 1





Gambar 1 Gambaran makroskopik tumor. 1: *Anaplastic carcinoma*; 2: *Fibrosarcoma*; 3: *Squamous cell carcinoma*

Hasil dari pengamatan mikroskopis index mitosis dan angiogenesis. Hasil pengamatan indeks mitosis dan angiogenesis di sajikan pada Tabel 5. Hasil indeks mitosis dan angiogenesis menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p>0.05$ ) pada kelompok kontrol dibandingkan dengan semua kelompok yang diberi bahan uji. Kelompok kontrol (I) memiliki nilai indeks mitosis  $4.9\pm 0.4$  dan nilai angiogenesis  $4.7\pm 0.3$ . Kelompok ekstrak etanol daun keladi tikus (II) memiliki rata-rata indeks mitosis  $3.3\pm 0.6$  dan rata-rata angiogenesis  $3.1\pm 0.5$ . Kelompok nCaIFN (III) memiliki rata-rata indeks mitosis  $3.4\pm 0.3$  dan rata-rata angiogenesis  $3.2\pm 0.7$ . Kelompok nFeIFN (IV) memiliki rata-rata indeks mitosis  $3.0\pm 0.7$  dan rata-rata angiogenesis  $2.9\pm 0.5$ . Kelompok kombinasi ekstrak etanol daun keladi tikus dan nCaIFN memiliki rata-rata indeks mitosis  $1.5\pm 0.3$  dan rata-rata angiogenesis  $1.5\pm 0.5$ . Kelompok kombinasi ekstrak etanol daun keladi tikus dan nFeIFN memiliki rata-rata indeks mitosis  $1.5\pm 0.4$  dan rata-rata angiogenesis  $1.2\pm 0.5$ . Pada kelompok yang diberi bahan uji berupa interferon menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p>0.05$ ) dibandingkan dengan kelompok yang diberi bahan uji berupa kombinasi ekstrak dan interferon. Pemberian bahan uji berupa kombinasi ekstrak dan interferon menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan pemberian interferon tunggal.

Table 4 Hasil Duncan indeks mitosis dan angiogenesis

Kelompok	Indeks Mitosis	Angiogenesis
I	$4.9\pm 0.4^a$	$4.7\pm 0.3^a$
II	$3.3\pm 0.6^b$	$3.1\pm 0.5^b$
III	$3.4\pm 0.3^b$	$3.2\pm 0.7^b$
IV	$3.0\pm 0.7^b$	$2.9\pm 0.5^b$
V	$1.5\pm 0.3^c$	$1.5\pm 0.5^c$
VI	$1.5\pm 0.4^c$	$1.2\pm 0.5^c$

Huruf superskrip yang berbed pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $p<0.05$ )

Hasil pengamatan ekspresi PCNA pada pewarnaan imunohistokimia disajikan pada gambar 2. Hasil pengamatan nilai positifitas dan intensitas ekspresi PCNA di uji lanjutan menggunakan Duncan. Hasil uji Duncan disajikan pada Tabel 6. Pada uji Duncan terdapat perbedaan yang nyata ( $p<0.05$ ) pada kelompok kontrol dibandingkan dengan semua kelompok yang diberi bahan uji. Diantara kelompok yang diberi bahan uji tunggal yaitu ekstrak etanol daun keladi tikus, nCaIFN, dan nFeIFN terdapat perbedaan yang nyata ( $p<0.05$ ) dibandingkan kelompok yang diberi kombinasi ekstrak etanol daun keladi tikus dengan nCaIFN atau nFeIFN. Pemberian kombinasi ekstrak etanol daun keladi tikus dengan nCaIFN atau nFeIFN menghasilkan ekspresi PCNA yang lebih rendah dibandingkan dengan pemberian tunggal.

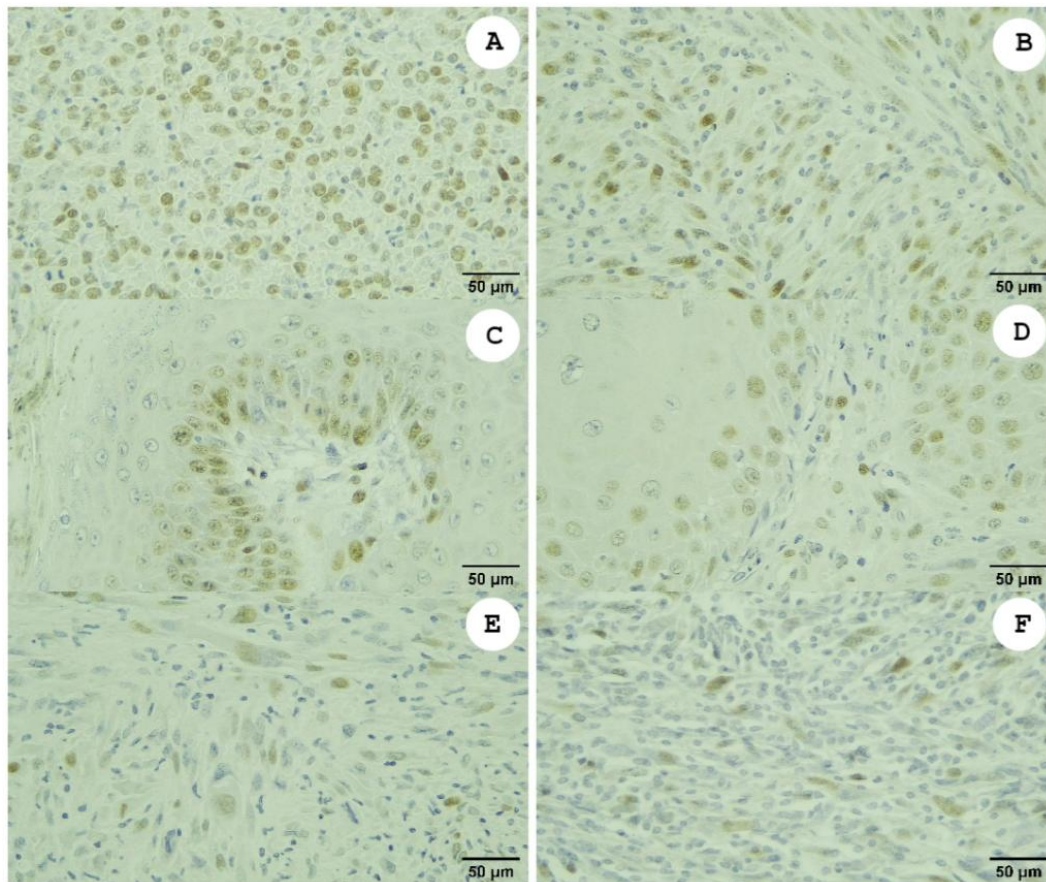


Figure 2 Ekspresi PCNA pada jaringan tumor. Warna coklat menunjukkan ekspresi PCNA. A: Kelompok kontrol; B: Ekstrak etanol daun keladi tikus; C: nCaIFN; D: nFeIFN; E: Kombinasi nCaIFN dan ekstrak etanol daun keladi tikus; F: Kombinasi nFeIFN dan ekstrak etanol daun keladi tikus.

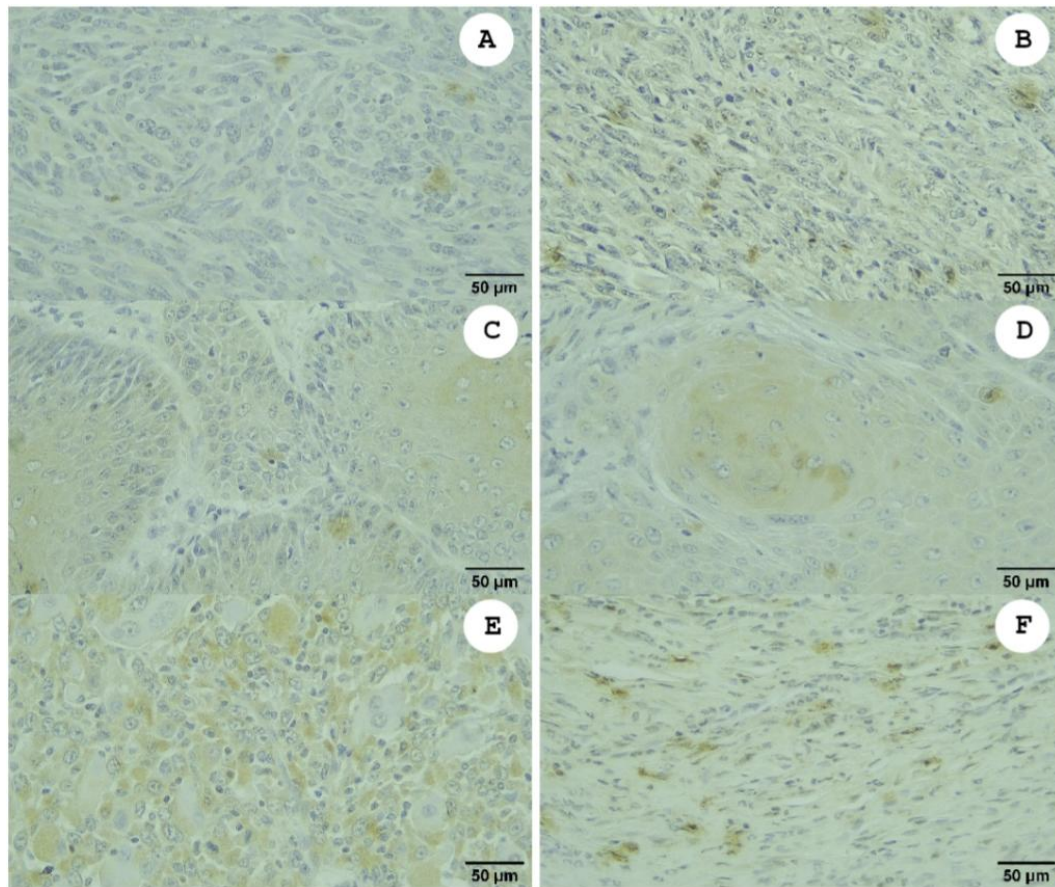
Tabel 5 Hasil uji *Duncan* PCNA pada kelompok kontrol dan kelompok yang diberi bahan uji

Kelompok	Positifitas (% Area)	Intensitas(AU)
Kontrol	25.6±4.0 <sup>a</sup>	190.7±1.2 <sup>a</sup>
Ekstrak	17.4±0.9 <sup>b</sup>	181.2±2.1 <sup>b</sup>
nCaIFN	16.5±1.0 <sup>b</sup>	179.1±3.4 <sup>bc</sup>
nFeIFN	15.1±1.2 <sup>b</sup>	174.9±2.0 <sup>c</sup>
nCaIFN+Ekstrak	11.1±1.9 <sup>c</sup>	157.6±5.8 <sup>d</sup>
nFeIFN+Ekstrak	9.5±2.0 <sup>c</sup>	156.1±5.0 <sup>d</sup>

Huruf superskrip yang berbed pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0.05$ )

Hasil pengamatan ekspresi Caspase-3 pada pewarnaan imunohistokimia disajikan pada Gambar 3. Hasil pengamatan nilai positifitas dan intensitas Caspase-3 menghasilkan jumlah rata-rata yang berbeda sehingga dilanjutkan dengan pengujian *Duncan*. Hasil uji *Duncan* nilai positifitas dan intensitas Caspase-3 disajikan pada Table 7. Kelompok control memiliki perbedaan yang nyata ( $p < 0.05$ ) dibandingkan dengan semua kelompok yang diberi bahan uji. Pemberian bahan uji

secara tunggal memiliki perbedaan yang nyata ( $p < 0.05$ ) dibandingkan kelompok yang diberi bahan uji berupa kombinasi. Pemberian kombinasi ekstrak etanol daun keladi tikus dan nCaIFN atau nFeIFN meberikan hasil nilai positifitas dan



intensitas yang lebih rendah jika dibandingkan dengan pemberian tunggal.

Figure 3 Ekspresi Caspase-3 pada jaringan tumor. Warna coklat menunjukkan ekspresi Caspase-3. A: Kelompok kontrol; B: Ekstrak etanol daun keladi tikus; C: nCaIFN; D: nFeIFN; E: Kombinasi nCaIFN dan ekstrak etanol daun keladi tikus; F: Kombinasi nFeIFN dan ekstrak etanol daun keladi tikus.

Table 6 Hasil uji *Duncan* Caspase-3 pada kelompok kontrol dan kelompok yang diberi bahan uji

Kelompok	Positifitas (% Area)	Intensitas(AU)
Kontrol	11.7±0.9 <sup>a</sup>	160.7±5.7 <sup>a</sup>
Ekstrak	15.3±0.8 <sup>b</sup>	179.5±4.6 <sup>b</sup>
nCaIFN	15.4±1.4 <sup>b</sup>	177.9±3.6 <sup>b</sup>
nFeIFN	14.4±0.7 <sup>b</sup>	181.1±2.9 <sup>b</sup>
nCaIFN+Ekstrak	18.2±0.3 <sup>c</sup>	192.3±4.9 <sup>c</sup>
nFeIFN+Ekstrak	20.2±2.4 <sup>d</sup>	193.5±1.7 <sup>c</sup>

Huruf superskrip yang berbed pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0.05$ )

## PEMBAHASAN

Hasil pengamatan makroskopik tumor ditemukan tiga jenis tumor yang telah dikonfirmasi secara mikroskopik, yaitu *fibrosarcoma*, *squamous cell carcinoma* dan *anaplastic carcinoma*. *Fibrosarcoma* secara makroskopis berbentuk masa padat dan lunak, dan adanya area nekrosis, ulkus, atau pendarahan yang sering terjadi akibat keganasan tumor [21]. Pada penelitian ini bagian kulit yang ditumbuhi tumor *fibrosarcoma* mengalami alopesia, ulkus, tumor berbentuk massa padat, dan berwarna kemerahan. *Squamous cell carcinoma* secara makroskopis berwarna kemerahan, berbentuk massa menonjol dengan keropeng dipermukaannya [22]. Pada penelitian ini bagian kulit yang mengalami *squamous cell carcinoma* juga mengalami alopesia, berwarna kemerahan disertai keropeng di bagian permukaan tumor. Secara makroskopis *anaplastic carcinoma* berbentuk masa padat, besar, dan bagian permukaannya mengalami nekrotik yang meluas dengan cepat [23].

Hasil pengukuran delta diameter tumor menunjukkan nilai yang berbeda pada setiap kelompok. Pada kelompok ekstrak (II) walaupun secara statistik sampai akhir waktu pengamatan mendapatkan hasil yang tidak berbeda nyata dengan control, namun pada kelompok ini terjadi penurunan diameter tumor. Pemberian ekstrak etanol keladi tikus dapat menghambat perkembangan tumor. Ekstrak etanol keladi tikus mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, terpenoid dan glikosida [24]. Kandungan terpenoid dan flavonoid mampu menghambat perkembangan tumor dan mengurangi volume tumor [25]. Penggunaan interferon dapat menurunkan perkembangan sel tumor dengan menginduksi penghentian siklus sel tumor, apoptosis, dan nekroptosis [26].

Hasil pengukuran penambahan berat badan mencit pada kelompok I mengalami penurunan setiap minggunya. Penurunan berat badan pada mencit disebabkan oleh perubahan metabolisme dan penurunan lipogenesis akibat tumor [27]. Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daun keladi tikus dapat menaikkan berat badan pada pengidap tumor [28]. Flavonoid mampu menangkap *Reactive Oxygen Species* (ROS) secara langsung, mencegah regenerasi ROS dan secara tidak langsung dapat meningkatkan aktivitas antioksidan enzim antioksidan seluler. Pencegahan terbentuknya ROS oleh flavonoid dilakukan dengan beberapa cara, yaitu menghambat kerja enzim xantin oksidase dan *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* (NADPH) oksidase, serta mencegah reaksi redoks yang dapat menghasilkan radikal bebas [29]. Flavonoid dapat menurunkan peroksidasi lipid akibat ROS [30]. Penggunaan interferon dalam terapi tidak memberikan efek yang signifikan terhadap perubahan berat badan [31].

Hasil pengamatan histologi terbentuk tiga jenis tumor yaitu *anaplastic carcinoma*, *fibrosarcoma* dan *squamous cell carcinoma*. Secara histologi *anaplastic carcinoma* terlihat biphasic, tersusun dari epitel malignant dan mesenkimal, memiliki karakter tumbuh dengan cepat dan tingkat prognosis yang rendah [32]. *Fibrosarcoma* merupakan tumor malignant yang tersusun dari spindel-spindel fibroblast yang berubah secara patologis dengan tingkat perkembangan yang sangat tinggi [32]. *Squamous cell carcinoma* tersusun dari sel-sel epitel squamous dan keratin pearl.

Pada pengamatan indeks mitosis dan angiogenesis pemberian ekstrak etanol daun keladi tikus yang dikombinasi dengan interferon memberi hasil yang lebih

baik dari pada pemberian tunggal. Mitosis merupakan proses perbanyakan sel yang menghasilkan sel baru dan identik secara genetik. Penghitungan indeks mitosis dapat digunakan sebagai dasar penentuan ukuran tumor, tingkat proliferasi, dan agresivitas [33]. Ekstrak etanol daun keladi tikus mengandung flavonoid yang dapat digunakan untuk terapi tumor. Setelah dilakukan proses fraksinasi dan isolasi dapat diidentifikasi flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun keladi tikus merupakan 6C-glucosyl apigenine yang disebut juga isovitexin [34].

Isovitexin dari daun keladi tikus dapat meningkatkan apoptosis. Peningkatan proses apoptosis terjadi karena isovitexin meningkatkan kadar miR-34a sehingga dapat meningkatkan protein Bax dan menurunkan protein Bcl-2 dan Mcl-1 [35]. Daun keladi tikus juga dapat menurunkan produksi COX-2, penurunan COX-2 dapat meningkatkan terjadinya apoptosis [36]. Penggunaan IFN dapat menekan produksi sel K562 yang dapat menginduksi apoptosis melalui peningkatan ekspresi protein Fas dan FasL [37]. IFN dapat menurunkan pertumbuhan sel tumor melalui penghentian siklus sel pada fase G1 melalui jalur miR-29a/b [38]. Penggunaan kombinasi keladi tikus dan IFN pada penelitian ini menunjukkan penurunan tingkat mitosis yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian tunggal.

Angiogenesis merupakan proses pembentukan pembuluh darah baru. Proses angiogenesis sangat penting untuk membawa nutrisi dan oksigen ke daerah tumor, selain itu angiogenesis juga dibutuhkan dalam proses perkembangan dan metastasis tumor [39]. Isovitexin dalam keladi tikus dapat menghambat HIF-1 $\alpha$  sehingga dapat menurunkan gen penyandi hipoksia yang menyandi *transforming growth factor beta 1* (TGF-  $\alpha$ 1), *vascular endothelialgrowth factor* (VEGF), *platelet derived growth factor  $\alpha$*  (PDGF $\alpha$ ), *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase* (GAPDH), enolase 1, collagen III, dan aldolase A yang menyebabkan penurunan potensi metastasis dan penurunan angiogenesis [12].

Pemberian interferon mampu menghambat proses angiogenesis. IFN dapat menstimulasi jalur antitumor melalui pensinyalan sorafenib (multikinase inhibitor) pathway yang juga memiliki efek angiogenik [40]. Penggunaan IFN- $\alpha$  dalam terapi tumor terbukti mampu menghambat perkembangan sel endothelial dengan menghambat aktivitas zat angiogenik seperti bFGF, IL-8, dan MMP-9 [41]. Interferon  $\alpha$ -inducible protein 27 (IFI27) juga menunjukkan aktivitas antiangiogenik dengan menurunkan *sekresi vascular endothelial growth factor* (VEGF-A) dengan cara menurunkan regulasi AP-1 dan AP-2 (c-jun dan c-fos) [42]. Penggunaan nCaIFN dan nFeIFN memiliki efek antiangiogenik yang sama dengan interferon lainnya. Dalam penelitian ini penggunaan kombinasi IFN dengan ekstrak daun keladi tikus mampu menurunkan terjadinya angiogenesis yang lebih baik dibandingkan pemberian tunggal.

*Proliferating cell nuclear antigen* (PCNA) merupakan salah satu protein yang dibutuhkan untuk perkembangan tumor. Kandungan isovitexin dalam ekstrak daun keladi tikus mampu menurunkan apoptosis dan menurunkan ekspresi PCNA [43]. Penurunan ekspresi PCNA terjadi karena perbaikan ekspresi gen p53, yang merupakan faktor transkripsi untuk ekspresi p21. Meningkatnya ekspresi p21 dapat menghambat sintesis DNA dengan menonaktifkan PCNA [44]. Penggunaan IFN sebagai agen terapi dapat menghambat ekspresi PCNA. Penggunaan IFN $\gamma$  pada kasus oral squamous cell carcinoma mampu menghambat ekspresi PCNA [45]. Peningkatan kadar IFN $\beta$  pada jaringan tumor dapat

menurunkan ekspresi PCNA [46]. Pada penelitian ini didapatkan hasil kombinasi antara ekstrak daun keladi tikus dan interferon memberi hasil yang lebih baik dibandingkan pemberian tunggal.

Caspase termasuk kedalam golongan cysteine protease yang berperan penting dalam proses proliferasi dan inflamasi. Caspase-3 merupakan regulator utama untuk terjadinya apoptosis, caspase-3 dapat memotong protein-protein fungsional di dalam sel sehingga terjadi apoptosis [47]. Isovitexin dalam ekstrak daun keladi tikus dapat meningkatkan kadar Bax dan caspase-3 secara signifikan [48].

Kandungan linoliac acid dalam daun keladi tikus dapat berikatan dengan peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) dan mengaktivasi caspase-9 dan caspase-3 [49]. IFN $\gamma$  mampu menginduksi dan mengaktifkan caspase-8 yang menstimulasi terbentuknya caspase-3, pensinyalan ini diawali dengan pengaktifan regulator Fas [50]. Penggunaan IFN $\beta$ 155 pada melanoma dapat meningkatkan aktivitas caspase-3 mencapai sepuluh kali lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa IFN $\beta$ 155 [51]. Pemberian terapi kombinasi keladi tikus dengan IFN mendapatkan nilai caspase-3 yang lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian tunggal.

## KESIMPULAN

Kombinasi ekstrak daun keladi tikus (*T. flagelliforme*) dan interferon alamiah mampu menjaga kestabilan berat badan, menghambat pertumbuhan tumor, menghambat mitosis, menghambat angiogenesis, menurunkan ekspresi PCNA, dan meningkatkan ekspresi caspase-3. Kombinasi ekstrak daun keladi tikus (*T. flagelliforme*) dan interferon alamiah mendapatkan hasil yang lebih baik dari pada pemberian tunggal.



## REFERENCE

1. Sinha T. 2018. Tumor: Benign and Malignant. *Cancer Therapy & Oncology International Journal*. 10(3): 1-3.
2. Madsen T, Arnal A, Vittecoq M, Bernex F, Abadie J, Labrut S, Ujvari B. 2017. Cancer Prevalence and Etiology in Wild and Captive Animals. *Ecology and Evolution of Cancer*. 11–46.
3. Abdoon AS, Al-Ashkar EA, Kandil OM, Shabanc AM, Khaledd HM, El-Sayede MA, El-Shaerf MM, Shaalang AH, Eisa WH, Eldinf AAG, Husseina HA, El-Ashkar MR, Ali MR, Shabaka AA (2016). Efficacy and toxicity of plasmonic photothermal therapy (PPTT) using 2 gold nanorods (GNRs) against mammary tumors in dogs and cats. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 12(8): 2291-2297.
4. Priosoeryanto BP, Rostantinata R, Harlina E, Nurcholis W, Ridho R, Sutardi LN. 2020. In vitro antiproliferation activity of *Typhonium flagelliforme* leaves ethanol extract and its combination with canine interferons on several tumor-derived cell lines. *Veterinary World*. 13(15): 931-939.
5. Rahayu YYS, Araki T, Rosleine D. 2020. Factors affecting the use of herbal medicines in the universal health coverage system in Indonesia. *Journal of Ethnopharmacology*. 260: 1-38.
6. Zakaria Z, Gan SH, Mohamed M. 2018. In vitro studies of Asian medicinal plants with potential activity against breast cancer. *Journal of Biology and Biotechnology*. 6(4): 49-55.
7. Franco SD, Turdo A, Todaro M, Stassi G. 2017. Role of type I and II interferons in colorectal cancer and melanoma. *Front. Immunol*. 8: 878-891.
8. Setthawongsin C, Tangkawattana S, Rungsipipat A, Techangamsuwan S. 2019. In vitro effect of recombinant feline interferon- $\Omega$  (rFeIFN- $\Omega$ ) on the primary canine transmissible venereal tumor culture. *Frontiers in Veterinary Science*. 6(104): 1-7.
9. Villaverde MS, Targovnik AM, Miranda M V, Finocchiaro LME, Glikin GC. 2016. Cytotoxic effects induced by interferon- $\omega$  gene lipofection through ROS generation and mitochondrial membrane potential disruption in feline mammary carcinoma cells. *Cytokine*. 84: 47-55.
10. Priosoeryanto BP. 2014. Penyakit tumor pada hewan: Biologi dan upaya penanganannya [orasi ilmiah guru besar IPB]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
11. Muti'ah R, Griana TP, Ula QN, Andhyarto Y. 2016. The effect of *Calotropis gigantea* leaves extract on fibrosarcoma growth and Caspase 3 expression. *International Journal of Pharmacology and Clinical Research*. 8(3): 167-171.
12. Sandriya A, Priosoeryanto BP, Gunanti, Harlina E, Rostantinata R, Sutardi LN, Ridho R. 2021. Aktivitas antitumor ekstrak etanol daun keladi tikus (*Typhonium flagelliforme*) secara in vivo pada mencit. *Jurnal Veteriner*. 22(2): 167-178.
13. AVMA (American Veterinary Medical Association). 2013. Euthanasia. *Journal of the AVMA*. 2013: 60-62.
14. Singh J. 2014. Histopathology of oral squamous cell carcinoma. *TMU Journal of Dentistry*. 1(4): 141-144.

15. Ullah E, Nagi AH, Ashraf M. 2013. Angiogenesis and mast cell density as predictors of patient survival in squamous cell carcinoma of the lung. *Journal of Cancer Research and Therapeutic*. 9(4): 701-705.
16. Mirzaiian E, Ghods ZST, Tavangar SM, Emami B, Oraei M, Safyari R, Saffar H. 2020. Utility of PHH3 in the evaluation of mitotic index in breast carcinoma and impact on tumor grade. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 21(1): 63-66.
17. Yao H, Li J, Song Y, Zhao H, Wei Z, Li X, Jin Y, 2018. Synthesis of ginsenoside Re-based carbon dots applied for bioimaging and effective inhibition of cancer cells. *International Journal of Nanomedicine*. 13: 6249–6264.
18. Li Z, Zhang J, Zhou J, Lu L, Wang H, Zhang G, Wan G, Cai S, Du J. 2019. Nodal Facilitates Differentiation of Fibroblasts to Cancer-Associated Fibroblasts that Support Tumor Growth in Melanoma and Colorectal Cancer. *Cells*. 5(538): 1-14.
19. Sun X, Zhang H, Zhang Y, Yang Q, Zhao S. 2018. Caspase-dependent mitochondrial apoptotic pathway is involved in astilbin-mediated cytotoxicity in breast carcinoma cells. *Oncology Reports*. 40: 2278-2286.
20. Nguyen DH, Zhou T, Shu J, Mao JH. 2013. Quantifying chromogen intensity in immunohistochemistry via reciprocal intensity. *Cancer in Cytos*. 2(1): 1-4.
21. Sofyan MS, Supranianondo K, Yudaniayanti IS, Novasari A, Paraswati E. 2020. *Fibrosarcoma* pada anjing golden retriever di Rumah Sakit Hewan Pendidikan Universitas Airlangga. *ARSHI Veterinary Letter*. 4(2): 33-34.
22. Kopecki Z, Yang GN, Jackson JE, Melville EL, Caley MP, Murrell DF, Darby IA, O'toole EA, Samuel MS, Cowin AJ. 2015. Cytoskeletal protein Flightless I inhibits apoptosis, enhances tumor cell invasion and promotes cutaneous squamous cell carcinoma progression. *Oncotarget*. 6(34): 36426-36440
23. Kuhn E, Ragazzi M, Ciarrocchi A, Torricelli F, Biase D, Zanetti E, Bisagni A, Corrado S, Uccella S, Rosa SL, Bongiovanni M, Losito S, Pian S. 2019. Angiosarcoma and anaplastic carcinoma of the thyroid are two distinct entities: a morphologic, immunohistochemical, and genetic study. *Modern Pathology*. 32: 787-798.
24. Sianipar NF, Purnamaningsih R, Rosaria. 2016. Pengembangan tanaman keladi tikus (*Typhonium Flagelliforme Lodd.*) asal Indonesia sebagai obat antikanker. *Jurnal Penelitian dan Pengabdian Masyarakat*. 4(1): 65-74.
25. Chodidjah, Widayati E, Nasihun T. 2017. Treatment of *Thyphonium flagelliforme* in combination with *Curcuma zedoaria*, and *Phyllanthus niruri* synergistically enhances apoptotic and anti-proliferative effect on breast cancer. *Journal of Natural Remedies*. 17(1): 1-8.
26. Ni L, Lu J. 2018. Interferon gamma in cancer immunotherapy. *Cancer Medicine*. 7: 4509-4516.
27. Yang C, Wang S, Ruan H, Li B, Cheng Z, He J, Zuo Q, Yu C, Wang H, Lv Y, Gu D, Jin G, Yao M, Qin W, Jin H. 2019. Downregulation of PDK4 increases lipogenesis and associates with poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Journal of Cancer*. 10: 918-926.



28. Feng Z, Hao W, Lin X, Fan D, Zhou J. 2014. Antitumor activity of total flavonoids from *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg is associated with the inhibition of regulatory T cells in mice. *Onco Targets and Therapy*. 7: 947–956.
29. Hardiningtyas S, Purwaningsih S, Handharyani E. 2014. Aktivitas antioksidan dan efek hepatoprotektif daun bakau api-api putih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 17(1): 80-91.
30. Henneberg R, Otuki ME, Furman AEF, Hermann P, Nascimento AJD, Leonart MSS. 2013. Protective effect of flavonoids against reactive oxygen species production in sickle cell anemia patients treated with hydroxyurea. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 35(1): 52-55.
31. Hamana A, Takahashi Y, Nishikawa M, Takakura Y. 2016. Interferon-Inducible Mx Promoter-Driven, Long-Term Transgene Expression System of Interferon- $\beta$  for Cancer Gene Therapy. *Human Gene Therapy*. 27(11): 936-945.
32. Ishida K, Yamashita R, Osakabe M, Uesugi N, Yamada N, Nitta H, Fujishima F, Motoi F, Suzuki H, Shimamura H, Noda Y, Sawai T, Unno M, Sasano H, Sasaki A, Sugai T. 2019. Expression of Epithelial-Mesenchymal Transition Proteins in Pancreatic Anaplastic (Undifferentiated) Carcinoma. *Pancreas*. 48(1): 36–42.
33. Augsburger D, Nelson PJ, Kalinski T, Udelnow A, Knösel T, Hofstetter M, Qin JW, Wang Y, Gupta AS, Bonifatius S, Li M, Bruns CJ, Zhao Y. 2017. Current diagnostics and treatment of fibrosarcoma –perspectives for future therapeutic targets and strategies. *Oncotarget*. 8(61): 104638-104653.
34. Sohail A, Khan A, Wahab N, Zameer A, Khan S. 2021. A multi-phase deep CNN based mitosis detection framework for breast cancer histopathological images. *Scientific Reports*. 11: 1-15.
35. Farida Y, Wahyudi PS, Wahono S, Hanafi M. 2012. Flavonoid glycoside from the ethyl acetate extract of keladi tikus *Typhonium flagelliforme* (lodd) blume leaves. *Asian Journal of Natural & Applied Sciences*. 1(4): 16-21.
36. Xu C, Cao X, Cao XZ, Liu L, Qiu Y, Li X, Zhao L, Ning Y, Ren K, Cao J. 2020. Isovitexin inhibits stemness and induces apoptosis in hepatocellular carcinoma SK-Hep-1 spheroids by upregulating miR-34a expression. *Anticancer Agents Medical Chemistry*. 20(14):1654-1663.
37. Setiawati A, Immanuel H, Utami MT. 2016. The inhibition of *Typhonium flagelliforme* Lodd. Blume leaf extract on COX-2 expression of WiDr colon cancer cells. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 6(3): 251-255.
38. Xis HL, Li CJ, Hou XF, Zhang H, Wu ZH, Wang J. 2017. Interferon- $\gamma$  affects leukemia cell apoptosis through regulating Fas/FasL signaling pathway. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 21: 2244-2248.
39. Ni L, Lu J. 2018. Interferon gamma in cancer immunotherapy. *Cancer Medicine*. 7: 4509-4516.
40. Rajabi M, Mousa SA. 2017. The role of angiogenesis in cancer treatment. *Biomedicines*. 5(34): 1-12.
41. Enomoto H, Tao L, Eguchi R, Sato A, Honda M, Kaneko S, Iwata Y, Nishikawa H, Imanishi H, Iijima H, Tsujimura T, Nishiguchi S. 2017. The

- in vivo antitumor effects of type I-interferon against hepatocellular carcinoma: the suppression of tumor cell growth and angiogenesis.
42. Chiang, KC, Huang ST, Wu RC, Huang SC, Yeh TS, Chen MH, Hsu HT, Chen LW, Kuo SF, Chueh HY, Juang HH, Hung SI, Yeh CN, Pang JHS. 2019. Interferon  $\alpha$ -inducible protein 27 is an oncogene and highly expressed in cholangiocarcinoma patients with poor survival. *Cancer Management and Research*. 11: 1893-1905.
  43. Liang X, Xu C, Cao X, Wang W. 2019. Isoviteixin Suppresses Cancer Stemness Property and Induces Apoptosis Of Osteosarcoma Cells By Disruption Of The DNMT1/miR-34a/Bcl-2 Axis. *Cancer Management and Research*. 11: 8923–8936.
  44. Ganesan K, Xu B. 2017. Molecular targets of vitexin and isovitexin in cancer therapy: a critical review. *Annals of The New York Academy of Sciences*. 1401: 102–113.
  45. Gkouveris I, Nikitakis NG, Asservatham J, Ogbureke KUE. 2018. Interferon  $\gamma$  suppresses dentin sialophosphoprotein in oral squamous cell carcinoma cells resulting in antitumor effects, via modulation of the endoplasmic reticulum response. *International Journal of Oncology*. 53: 2423-2432.
  46. Bakrania AK, Variya BC, Patel SS. 2017. Role of  $\beta$ -Interferon Inducer (DEAE-Dextran) in Tumorigenesis by VEGF and NOTCH1 Inhibition along with Apoptosis Induction. *Frontiers in Pharmacology*. 8: 1-16.
  47. Zhou M, Liu X, Li Z, Huang Q, Li F, Li CY. 2018. Caspase-3 regulates the migration, invasion and metastasis of colon cancer cells. *International Journal of Cancer*. 1-10.
  48. Zhu H, Zhao N, Jiang M. 2021. Isoviteixin attenuates tumor growth in human colon cancer cells through the modulation of apoptosis and epithelial-mesenchymal transition via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Biochemistry and Cell Biology*. 1.
  49. Putra A, Riwanto I, Putra ST, Wijaya I. 2020. *Typhonium flagelliforme* extract induce apoptosis in breast cancer stem cells by suppressing surviving. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 16(6): 1302-1308.
  50. Jimbo H, Nagai H, Fujiwara S, Shimoura N, Nishigori C. 2020. Fas-FasL interaction in cytotoxic T cell-mediated vitiligo: The role of lesional expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interferon- $\gamma$  in Fas-mediated melanocyte apoptosis. *Experimental Dermatology*. 29: 61–70.
  51. Borden EC. 2019. Interferons  $\alpha$  and  $\beta$  in cancer: therapeutic opportunities from new insights. *Nature Review Drugs Discovery*. 18(3): 219-234.