

**SITOTOKSISITAS EKSTRAK ETANOL KULIT MANGGIS (*Garcinia mangostana* Linn) TERHADAP LIMFOMA MALIGNA PADA KULTUR SEL Raji**

***CYTOTOXICITY OF MANGOSTEEN (Garcinia mangostana Linn) PEEL ETHANOL EXTRACT AGAINST LYMPHOMA MALIGNANT IN Raji CELL CULTURE***

Dr. Hana Ratnawati, dr.,M.Kes.,PA(K)<sup>1</sup>, Eric Kurniawan Gianto<sup>2</sup>

**Abstrak**

**Latar belakang** : Limfoma maligna merupakan tumor ganas pada kelenjar limfe dan jaringan limfatik pada organ lain. Limfoma maligna merupakan penyakit berbahaya yang dapat menyebabkan kematian karena mampu berkembang dengan sangat cepat.

**Tujuan penelitian** : Maksud dan tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek sitotoksitas Ekstrak Etanol Kulit Manggis(EEKM) terhadap Limfoma maligna pada kultur sel Raji dan mengetahui kadar IC50 EEKM terhadap karsinoma nasofaring kultur sel Raji.

**Metode penelitian** : Eksperimental laboratorik dengan RAL (Rancangan Acak Lengkap). Data yang diperoleh yaitu perbandingan rerata kematian sel kanker antara kelompok dan dianalisis menggunakan One Way Anova dan Post Hoc Test HSD. Inhibitory Concentration 50 (IC50) dihitung dengan rumus Reed and Muench. Untuk mengetahui mekanisme sitotoksitas dilakukan *double-fluorescent method*

**Hasil penelitian** : Ekstrak Etanol Kulit Manggis memiliki efek sitotoksik terhadap kultur sel Raji pada konsentrasi 15.625 µg/ml sampai 250 µg/ml dengan nilai IC50 61.80 µg/ml. Efek sitotoksitas penghambatan sel Raji dengan mekanisme apoptosis.

**Simpulan** : Ekstrak Etanol Kulit Manggis bersifat sitotoksik terhadap kultur sel Raji dengan IC50 sebesar 61.80 µg/ml. Mekanisme penghambatan sel Raji melalui proses apoptosis.

Kata kunci : Limfoma maligna, ekstrak etanol kulit manggis, sitotoksitas, IC50.

## ***Abstract***

***Background*** : Lymphoma malignant is a vicious tumor at lymph gland and lymphatic in another organ. Lymphoma malignant is a dangerous disease that can cause death because can spread quickly.

***Objective*** : The purpose of this study was to determine the cytotoxicity effects of Mangosteen Peel Ethanol Extract against Lymphoma malignant in Raji cell culture, and also identify the IC50.

***Methods*** : The research was conducted by a real experimental in vitro with CRD (completely randomized design). Data obtained by the comparison of the average cancer cell death between groups and analyzed using One Way Anova and HSD Post Hoc Test. Inhibitory Concentration 50 was determined by Reed and Muench formula. To determine the cytotoxic mechanism used double-fluorescent method.

***Result*** : Mangosteen Peel Ethanol Extract has cytotoxic effect against Raji cell culture at concentrations between 15.625  $\mu\text{g/ml}$  until 250  $\mu\text{g/ml}$  and the IC50 was 61.80  $\mu\text{g/ml}$ . Cytotoxicity mechanism towards Raji cell culture through apoptotic.

***Conclusion*** : Mangosteen Peel Ethanol Extract has cytotoxic effect towards Raji cell culture with IC50 61.80  $\mu\text{g/ml}$ . Cytotoxicity mechanism towards Raji cell culture through apoptotic.

***Keywords:*** Lymphoma malignant, mangosteen peel ethanol extract, cytotoxicity, IC50.

## Pendahuluan

Kanker merupakan pertumbuhan abnormal suatu sel, akibat adanya gangguan proses regulasi diferensiasi dan apoptosis. Sistem imun normal seharusnya mampu mengenali sel-sel yang mengalami transformasi ke arah keganasan dan menghancurkannya, sebelum berkembang menjadi tumor atau membunuhnya kalau tumor sudah tumbuh. Jaringan limfoid yang seharusnya berperan dalam menghancurkan sel-sel kanker, dapat mengalami transformasi maligna, baik sel limfosit B, sel limfosit T atau sel NK (Sel limfosit dapat berproliferasi secara tak terkendali yang mengakibatkan terbentuknya tumor. Salah satu jenis keganasan pada sel limfosit B adalah Burkitt Limfoma. (Balentine & Stoppler, 2012)

Burkitt limfoma adalah suatu jenis non-Hodgkin limfoma yang berkembang dari sel limfosit B. Burkitt limfoma banyak ditemukan pada anak-anak di Afrika berusia antara 0-14 tahun dengan puncak usia 4-7 tahun dan anak laki-laki berbanding perempuan adalah 2 : 1. Insidensinya di Afrika Timur, lebih dari 7,5 per 100.000 penduduk dengan angka mortalitas yang cukup tinggi yaitu 5,7 per 100.000. Burkitt limfoma yang ditemukan di Afrika adalah jenis endemis, sedangkan di luar Afrika disebut sebagai jenis sporadis. (Balentine & Stoppler, 2012). Burkitt limfoma berkembang dengan sangat cepat. Terdapat keterkaitan yang erat antara Burkitt limfoma dengan infeksi virus Epstein-Barr. Peneliti telah berhasil mengkultur *human cell line* Burkitt limfoma dan dikenal sebagai sel Raji, yang memiliki DNA dari virus Epstein-Barr. (Costa, 2013)

Tanaman herbal sudah turun-termurun digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk mengobati berbagai macam penyakit. Penggunaan tanaman herbal sebagai alternatif semakin digemari karena harganya terjangkau dan mudah didapatkan. Salah satu tanaman herbal yang sedang populer saat ini adalah buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn), suatu tanaman herbal asli Indonesia yang kulitnya dipercaya secara empiris oleh masyarakat dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit, seperti anti-kanker, antioksidan, penurun kolesterol, dan anti-diabetes karena mengandung kadar antioksidan yang tinggi yaitu *xanthon*. (Nurchasanah, 2014)

Untuk melihat efek anti kanker dari ekstrak etanol kulit manggis terhadap limfoma maligna, khususnya Burkitt limfoma, maka penulis tertarik melakukan penelitian untuk melihat efek sitotoksitas Efek Ekstrak Etanol Kulit Manggis (EEKM) terhadap limfoma maligna pada kultur sel Raji.

### Bahan DanF Metode Penelitian

Alat-alat yang diperlukan adalah:

- Tabung sentrifugal
- Oven
- *Autoklaf*
- *Incubator CO<sub>2</sub>*
- *Laminar Air Flow Cabinet*
- *Mikropipet*
- Pipet Pasteur

- *Yellow Up & Blue Tip*
- Tabung konikal 15 ml & 50 ml
- Hemositometer
- Kamera digital
- Alat *sentrifuge*
- Mikroskop
- Mikroplate 96
- *Tissue Culture Flask*

Bahan yang diperlukan:

- Ekstrak Etanol Kulit Manggis
- Sel Raji diperoleh dari Laboratorium Ilmu Hayati UGM
- *Medium* sel: RPMI (*Rosewel Park Memorial Institute Media*) 1640, *Fetal Bovine Serum* (FBS) 70%, *Fungizone*, *Penicillin Streptomycin* (*Penstrep*), *Tripsin* 0,25%
- Larutan Antiseptik: Etanol 70%, Spirtus
- Larutan *Tryptan Blue*
- Obat anti kanker: *Doxorubicin*

### **Persiapan Penelitian**

Persiapan yang harus dilakukan dalam penelitian ini diantaranya adalah sterilisasi alat, pembuatan *medium* RPMI 1640, pembuatan *medium* pertumbuhan dan preparasi sel Raji 24 jam sebelum percobaan

### **Sterilisasi Alat**

Alat-alat yang akan digunakan dalam keadaan steril dicuci bersih dan dikeringkan dalam oven. Setelah kering alat-alat tadi dibungkus dengan kertas plying, kemudian diautoklaf selama 20 menit pada suhu 121° C, dengan tekanan 15 lb.

### **Pembuatan Medium RPMI 1640**

1. Sodium Bikarbonat dan L-Glutamin ditimbang masing-masing 2 gr, kemudian dimasukkan ke dalam gelas ukur
2. RPMI ditambahkan kedalam gelas ukur
3. Campuran diatas dilarutkan dengan *Aquabides* sampai volume mencapai 1 liter
4. Kemudian diaduk menggunakan *Magnetic Stir Plate*, lalu diambahkan HCL sampai tercapai pH 7,2-7,4
5. Sterilisasi campuran media menggunakan filter

### **Pembuatan Media Pertumbuhan**

*Medium* penumbuh sebanyak 100 ml dibuat dengan mencampurkan:

- FBS (*Fetal Bovine Serum*) 10 ml
- *Penstrep* 2ml
- *Fungizone* 1ml

- DMEM (*Dulbecco's modified eagle medium*) standart 87 ml

#### **Preparasi Sel Raji** (24 jam sebelum percobaan)

1. Vial berisi sel Raji dikeluarkan dari tanki nitrogen cair (-196° C) kemudian dimasukkan kedalam *beaker glass* berisi air 37° C, lalu disemprot dengan etanol 70 %.
2. Vial dibuka, kultur sel dipindahkan ke *conical tube steril* yang berisi medium RPMI lalu disentrifugasi 1500 rpm selama 5 menit.
3. *Supernatant* dibuang dan palletnya dimasukkan ke dalam medium penumbuh 7 ml.
4. Kultur sel tersebut dimasukkan ke dalam 4 buah *tissue culture flask*, diinkubasi dalam incubator CO<sub>2</sub> 5% 37° C.
5. Sel ditumbuhkan di dalam *tissue culture flask*.
6. Medium lama pada kultur sel dibuang lalu diganti dengan tripsin 0,25% beberapa ml sampai seluruh permukaan *flask* tertutup, diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5-10 menit.
7. Dengan menggunakan *microscope inverted* terlihat sel ikut bergerak jika *flask* digoyang-goyangkan, *flask* dibilas kembali dengan Tripsin 0,25%.
8. Kultur sel tersebut dimasukkan ke dalam *conical tube* 15 ml yang berisi RPMI kemudian disentrifugasi 2000 rpm selama 10 menit.
9. *Supernatant* dibuang, pada pellet ditambahkan RPMI 1 ml, lalu diambil 10 µl menggunakan mikropipet untuk dilakukan penghitungan sel dalam kamar hitung *hemocytometer* dengan perbandingan 180 µl *tryptan blue* + 20 µl sel.
10. Sisa pellet tersebut ditambahkan media penumbuh sebanyak 12 ml.
11. Campuran tadi dipindahkan ke dalam *plate* dengan masing-masing sumuran sebanyak 100 µl.
12. *Plate* disimpan dalam inkubator CO<sub>2</sub>, pH<sub>5</sub>, suhu 37° C selama 24 jam.

#### **Desain Penelitian**

Desain penelitian adalah penelitian prospektif eksperimental laboratorium.

#### **Cara Kerja**

1. *Flask* yang berisi kultur sel yang sudah diinkubasi dikeluarkan dari CO<sub>2</sub>, kemudian medium pada *flask* diganti dengan tripsin 0,25%, diinkubasi kembali di dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% 30°C selama 15 menit.
2. Dengan *mikroskop inverted* terlihat sel di dalam *flask* yang digoyang-goyangkan ikut bergerak lalu *flask* tersebut dibilas kembali dengan PBS.
3. Kultur sel dimasukkan ke dalam *conical tube* yang sudah berisi RPMI sebanyak 12 ml.
4. Kemudian disentrifugasi 2000 rpm selama 10 menit.
5. Tambahkan media penumbuh dalam *conical tube* yang berisi pellet hingga 12 ml.
6. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam sumuran masing-masing 100 µl, *plate* diinkubasi selama 1-3 jam.

Metode persiapan:

1. Sel Raji ditumbuhkan hingga *konfluens*.
2. Media RPMI yang digunakan untuk menumbuhkan dibuang.
3. Kultur sel dipindahkan dalam conical tube berisi 20 ml media RPMI yang baru, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit.
4. *Supernatan* dibuang, sedangkan sel diresuspensikan dengan 10 ml media RPMI.
5. Suspensi sel diambil sebanyak 20  $\mu$ l, kemudian ditambahkan methanol dan *ethidium bromide* sebanyak 180  $\mu$ l. Jumlah sel dihitung dengan *hemocytometer* menggunakan mikroskop cahaya (perbesaran 1000x).

#### Uji Sitotoksitas dengan MTT assay

1. Sebanyak 100  $\mu$ l media RPMI yang mengandung *suspense* sel dengan kerapatan  $\pm 2 \times 10^4$  sel/ml dimasukkan ke dalam *microplate* 96.
2. Ekstrak etanol 70% kulit manggis sebanyak 100  $\mu$ l pada seri konsentrasi yang berbeda dimasukkan menggunakan *micropipet*.
3. Sel diinkubasi pada inkubator CO<sub>2</sub> selama 24 jam, suhu 37°C dengan kelembapan relatif 70% dan kadar CO<sub>2</sub> 5%.
4. Sel Raji sebagai kontrol negative dan media RPMI yang diberi *doxorubicin* sebagai kontrol positif dimasukkan ke dalam sumuran.
5. Pada akhir masa inkubasi, MTT 5mg/ml ditambahkan pada masing-masing sumuran sebanyak 10  $\mu$ l dan diinkubasi selama 4 jam.
6. Setelah 4 jam reaksi dihentikan dengan penambahan 100  $\mu$ l *stop solution* untuk melarutkan formazan.
7. Sel diinkubasi lagi selama 12 jam pada suhu 37°C dengan kelembapan relative 70% dan kadar CO<sub>2</sub> 5%.
8. Hasil pengujian dibaca dengan *ELISA reader*
9. Hasil pembacaan absorbansi pada *ELISA reader* diubah ke dalam bentuk persentase sel hidup dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ kematian sel} = \frac{\sum OD \text{ kontrol} - \sum OD \text{ sampel}}{\sum OD \text{ kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan: OD= *Optical Density*

#### Cara Penghitungan Sel

Cara penghitungan sel menggunakan metode *Cell Counting Direct*, menggunakan *Tryptan Blue*.

1. 100  $\mu$ l sel perlakuan dari masing-masing well dibuang.
2. Dimasukkan 50  $\mu$ l *Tripsin* dan 50  $\mu$ l *Tryptan Blue* ke masing-masing sumuran.
3. Sebanyak 10  $\mu$ l campuran tadi diambil menggunakan *mikropipet* lalu dimasukkan ke dalam kamar hitung *improved Neubauer*.
4. Perhitungan sel menggunakan metode penghitungan leukosit (4 bidang sedang).

## Uji Apoptosis

Untuk mengetahui mekanisme sitotoksitas yang terjadi pada penghambatan sel Raji, maka dilakukan *double-fluorescent method*. Metode ini berdasarkan pada perbedaan fluoresensi DNA pada sel yang hidup dan sel yang mati karena pengikatan terhadap *acridine orange – etidium bromide*. *Acridine orange* akan menembus seluruh bagian sel dan nucleus sehingga sel yang hidup akan tampak berwarna hijau, sedangkan *etidium bromide* hanya dapat berinterkalasi dengan membrane sel yang sudah rusak dan nucleus akan berwarna oranye. Warna *etidium bromide* lebih dominan pada sel yang sudah mati, sehingga nucleus sel mati tampak berwarna oranye (Fitriasari, 2009)

## Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan statistik *One Way Anova dan Post Hoc Test HSD*.

## Hasil Dan Pembahasan

### Data Hasil Uji Sitotoksitas Ekstrak Etanol Kulit Manggis (EEKM)

Persentase kematian sel karsinoma nasofaring pada media sel Raji setelah pemberian EEKM dapat dilihat pada tabel 1

**Tabel 1. Aktivitas Sitotoksik EEKM Terhadap Sel Raji**

Ekstrak Etanol Kulit Manggis ( $\mu\text{g/ml}$ )	Rerata Sel Hidup	Rerata Persen(%) Kematian
250	305.00	72.52
125	389.67	64.89
62.5	552.00	50.27
31.25	746.33	32.76
15.625	853.00	23.15

## Uji Statistik *One Way Anova*

**Tabel 2. Hasil *One Way Anova* Pengaruh EEKM Terhadap Sel Raji**

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11150.319	5	2230.064	266.231	.000
Within Groups	100.517	12	8.376		
Total	11250.836	17			

**Tabel 3. *Post Hoc Test* dengan metode *Tukey HSD***

Kelompok	250	125	62.5	31.25	15.625	Control
----------	-----	-----	------	-------	--------	---------

perlakuan	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	(-)
250		NS	**	**	**	**
µg/ml						
125			**	**	**	**
µg/ml						
62.5				**	**	**
µg/ml						
31.25					*	**
µg/ml						
15.625						**
µg/ml						
kontrol(-)						

Keterangan:

NS = Non Signifikan

\* : signifikan

\*\* : samngat signifikan

### Data Hasil Uji Sitotoksisitas *Doxorubicin*

Tabel 4 Aktivitas Sitotoksik *Doxorubicin* terhadap sel Raji

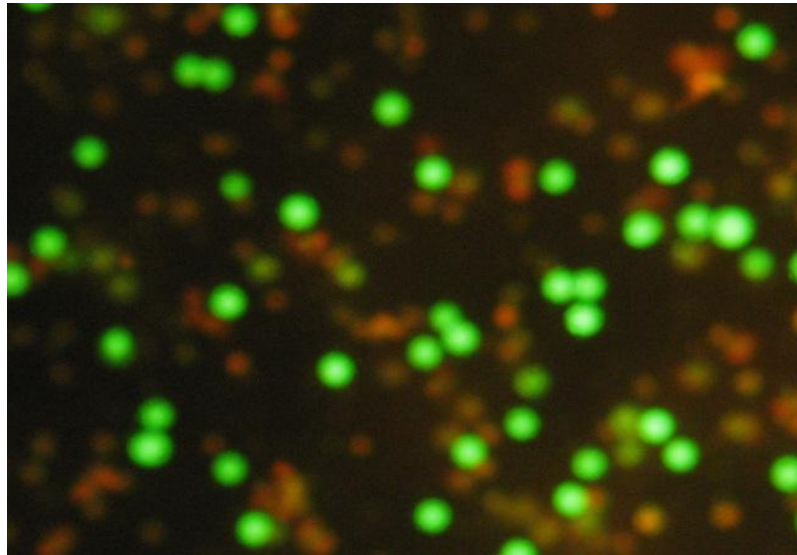
<i>Doxorubicin</i> (µg/ml)	Rerata sel hidup	Rerata Persen(%) Kematian
25	145.00	86.03
12.5	152.67	85.29
6.25	154.00	85.16
3.12	182.00	82.47
1.56	202.00	80.54

### Hasil Uji Apoptosis

Apoptosis adalah kematian sel terprogram yang menghasilkan perubahan karakteristik morfologi dan biokimia sel. Hasil uji apoptosis dapat dilihat pada gambar 4.2.

Pada penelitian ini tampak sel yang mengalami apoptosis berwarna oranye karena telah terjadi kerusakan membrane dan *etidium bromide* memasuki sel dan memberikan warna oranye.





**Gambar 1. Uji Apoptosis pada sel Raji dengan *Double-fluorescent Method***

### **Pembahasan**

Sel Raji merupakan sel limfosit- $\beta$  yang terinfeksi oleh Epstein-Barr Virus (EBV). Sel yang terinfeksi EBV akan mengekspresikan protein yang menjadikan sel resisten terhadap apoptosis (Komano, Sugiura, & Takada, 1998).

Xanthone terbanyak yang diekstrak dari buah manggis ialah  $\alpha$ -mangostin and  $\gamma$ -mangostin. Studi mengenai apoptosis mengungkap peningkatan dari *caspase-3/7*, aktivasi dari *initiator caspase-9*, induksi untuk fragmentasi DNA dan kondensasi kromatin, peningkatan efek *proapoptotik* dari p53 dan kehilangan potensial membrane *mitokondria* (Aisha, Abu-Salah, Ismail, & Majid, 2012) (Cagnol & Chambard, 2010). Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat peran dari *effector caspase* untuk terjadinya sinyal apoptosis yang distimulasi oleh ekstrak manggis (Matsumoto, et al., 2003) 34, juga menunjukkan peran dari *mitochondrial pathway* pada mekanisme apoptosis dalam mempertarai sitotoksitas dari ekstrak. *Xanthone* dari buah manggis berpotensi sebagai kandidat antikanker karena pada penelitian Soek Sin Teh menunjukkan bahwa *xanthone* memiliki efek sitotoksik yang kuat, serta efek inhibisi yang menonjol terhadap sel Raji (Soek, Cheng, Siau, Yang, & Ahmad, 2013).

Pada tahun 2008, lebih dari 68 tipe *xanthone* ditemukan pada buah manggis. Dari semuanya,  $\alpha$ -mangostin,  $\beta$ -mangostin,  $\gamma$ -mangostin, *garcinone E*, and *gartanin* adalah senyawa yang paling jelas dan paling sering dipelajari (Shan, et al., 2011). Pada penelitian Suksamram et al. dikatakan bahwa aktivitas anti-kanker dari *xanthone* diasosiasikan dengan gugus *trisiklik* tetapi tergantung pada posisi dari substituen. Sebagai contoh, *Xanthone* dengan aktivitas anti kanker yang tinggi mengandung *tetraoxygen* dengan dua C5 pada ring A dan C (Suksamrarn, 2006).

Aktivasi dari *caspase-9* dan *caspase-3*, tetapi tidak *caspase-8*, mengindikasikan bahwa  $\alpha$ -mangostin mungkin berpengaruh pada *mitochondrial apoptotic pathway*. Pada penelitian yang sama juga dijelaskan bahwa parameter disfungsi *mitokondria*, meliputi pembengkakan, hilangnya membrane potensial

pada membrane, berkurangnya ATP intraselular, akumulasi ROS, dan pelepasan *cytochrome c/AIF* (Matsumoto & Yi, Preferential target is mitochondria in alpha mangostin induced apoptosis in huma leukimia HL60 cells, 2004).

Pada studi yang serupa, Sato menemukan efek dari delapan xanthone terhadap kematian sel dari sel PC12 *rat pheochromocytoma*. Sel PC12 dengan  $\alpha$ -*mangostin* menunjukkan ciri apoptosis seperti fragmentasi DNA, peningkatan *caspase-3*, depolarisasi membrane mitokondria, pelepasan sitokrom c, penghambatan  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase (Sato, Fujiwara, & Oku, 2004).

Penghambatan langsung oleh *xanthone* pada bermacam jenis sel kanker secara *in vitro*, seperti ditunjukkan terjadi peningkatan signifikan dalam pemberhentian dari beberapa fase siklus sel (Akao, Nakagawa, Inuma, & Nozawa, 2008).

Pada uji sitotoksik *Doxorubicin* terhadap sel Raji menunjukkan bahwa persentase kematian yang dihasilkan oleh dosis terkecil masih berada di angka 80.54%. Sehingga dosis yang dibutuhkan untuk mencapai persen kematian 50% berada dibawah 1,56  $\mu\text{g/ml}$ . Bila  $\text{IC}_{50}$  EEKM (61,80  $\mu\text{g/ml}$ ) dibandingkan dengan  $\text{IC}_{50}$  *doxorubicin* (< 1,56  $\mu\text{g/ml}$ ), maka  $\text{IC}_{50}$  EEKM jauh lebih tinggi.

Pada penelitian Lim (2012), mendapatkan bahwa EEKM bersifat sitotoksik terhadap karsinoma kolon pada kultur sel LoVo tetapi dosis yang dibutuhkan lebih tinggi, yaitu 62,5  $\mu\text{g/ml}$  untuk mendapat persen kematian sebanyak 46,27%, dibandingkan efeknya terhadap sel Raji yaitu 61,80  $\mu\text{g/ml}$  untuk kematian sel sebanyak 50% (Lim, 2012).

## **Simpulan**

1. Ekstrak Etanol Kulit Manggis berefek sitotoksik terhadap kultur sel Raji pada konsentrasi 250  $\mu\text{g/ml}$ , 125  $\mu\text{g/ml}$ , 62,5  $\mu\text{g/ml}$ , 31,25  $\mu\text{g/ml}$  dan 15,625  $\mu\text{g/ml}$ .
2. Nilai  $\text{IC}_{50}$  Ekstrak Etanol Kulit Manggis pada kultur sel Raji adalah 61,80  $\mu\text{g/ml}$ .

## **Saran**

1. Perlu penelitian uji sitotoksisitas Ekstrak Etanol Kulit Manggis terhadap sel kanker lain.
2. Perlu dilakukan penelitian tentang senyawa aktif dalam Ekstrak Etanol Kulit Manggis yang berpotensi sebagai anti kanker serta kadarnya secara kuantitatif.
3. Perlu dilakukan uji toksisitas Ekstrak Etanol Kulit Manggis terhadap sel normal.
4. Perlu dilakukan penelitian secara *in vivo* untuk mengetahui dosis dari Ekstrak Etanol Kulit Manggis yang aman.

## Daftar Pustaka

- Aisha, A., Abu-Salah, K., Ismail, Z., & Majid, A. (2012). In vitro and in vivo anti-colon cancer effects of Garcini mangostana xanthones extract. *BMC Complementary & Alternative Medicine* , 12, 1-10.
- Akao, Y., Nakagawa, Y., Iinuma, M., & Nozawa, Y. (2008). Anti-cancer effects of xanthones from pericarps of mangosteen. *International Journal of Molecular Sciences* , 355-370.
- Anand, P., Kunnumakkara, A., Sundaram, C., Harikumar, K., Tharakan, S., Lai, O., et al. (2008). *Pharm. Res.* , 25 (9), 2097-116.
- Balentine, J., & Stoppler, M. (2012). Retrieved from [www.emedicinehealth.com](http://www.emedicinehealth.com)
- Blyth, M. (2002, februari 15). Retrieved maret 3, 2015, from [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Large\\_facial\\_Burkitt%27s\\_Limfoma.JPG](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Large_facial_Burkitt%27s_Limfoma.JPG)
- Cagnol, S., & Chambard, J. (2010). ERK and cell death: mechanisms of ERK-induced cell death-apoptosis, autophagy and senescence. *FEBS Journal* , 277, 2-21.
- Costa, L. (2013). Blood. *Trend in survival of patients with Burkitt Limfoma/leukimia in the USA: analysis of 3691 cases* , pp. 4861-4866.
- Croce, C. (2008, January). Oncogenes and cancer. *N. Engl. Journal Med* , 358 (5), pp. 502-11.
- Fitriasari, A. (2009). Pengamatan apoptosis dengan metode double staining. 1-5.
- Iswari, K. (2011). *Kulit Manggis Berkhasiat Tinggi*. Asosisasi Pengusaha Minuman Kesehatan (APMK). Madya Centradifa.
- Jung, H., Su, B., Keller, W., Metha, R., & Kinghorn, A. (2006). Antioxidant xanthones from the pericarp of Garcinia mangostana (mangosteen). *J Agric Food Chem* , 54 (6), pp. 2077-82.

- Karpova, M., Schoumans, J., Ernberg, I., Henter, J.-I., Nordenskjold, M., & Fadeel, B. (2005). Raji revisited: cytogenetics of the original Burkitt's Limfoma cell line. *Leukimia* , 19, 159-161.
- Knudson, A. (2001, November). Two genetic hits (more or less) to cancer. *Nature Reviews Cancer* , 1 (2), pp. 157-62.
- Komano, J., Sugiura, M., & Takada, K. (1998). Epstein-Barr Virus Contributes to The Malignant Phenotype and to Apoptosis Resistance in Burkitt's Limphoma cell line Akata. *Journal of Virology* , 72 (11), 9150-9156.
- Kravchenko, J., Akushevich, I., & Manton, K. (2009). *Cancer mortality and morbidity patterns from the US population: an interdisciplinary approach*. Berlin: Springer.
- Lim, T. (2012). *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants* (Vol. 2). Springer.
- Linch, D. (2012). Burkitt Limfoma in adults. *British Journal of Haematology* , 156: 693-703.
- Magarh, I., Erikson, J., Whang-Peng, J., Sieverts, H., Armstrong, G., Benjamin, D., et al. (1983, December 9). Synthesis of kappa light chains by cell lines containing an 8;22 chromosomal translocation derived from a male homosexual with Burkitt's Limfoma. *Science* , 1094-1098.
- Matsumoto, K., & Yi, H. (2004). Preferential target is mitochondria in alpha mangostin induced apoptosis in huma leukemia HL60 cells. *Bioorg Med Chem* .
- Matsumoto, K., Akao, Y., Kobayashi, E., Ohguchi, K., Ito, T., Tanaka, T., et al. (2003). Induction of apoptosis by xanthenes from mangosteen in human leukemia cell lines. *J Nat Prod* , 66, 1124-1127.
- Miles, R. (2012). Risk factors and treatment of childhood and adolescent Burkitt Limfoma/leukimia. In *Britis Journal of Haematology* (pp. 156: 730-743).

- Mondofacto. (2014). Retrieved December 2014, from Mondofacto Ltd:  
<http://www.mondofacto.com/facts/dictionary?Raji+cell>
- Nelson, D., Tan, T., Rabson, A., Anderson, D., Degenhardt, K., & White, E. (2004, September). Hypoxia and defective apoptosis drive genomic instability and tumorigenesis. *Genes and Development*, 18 (17), pp. 2095-107.
- Nugroho, A. E. (2008). Manggis(*Garcinia mangostana* L.): Dari Kulit Buah Yang Terbuang Hingga Menjadi Kandidat Suatu Obat. *Journal of Traditional Medicine. Faculty of Pharmacy, Universitas Gajah Mada Indonesia* .
- Nurchasanah. (2014). *Khasiat Sakti Manggis Tumpas Berbagai Penyakit*. (F. Frida, Ed.) Jakarta timur: Dunia Sehat.
- Poeloengan, M., & Praptiwi. (2010, Juni). Uji AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KULIT BUAH MANGGIS (*Garcinia mangostana* Linn). *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Vol. 42 (2)* .
- Reksodiputro, A. (2009). Penyakit Limfoma Non-Hodgkin. *Penyakit Limfoma Non-Hodgkin, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Rumah Sakit Dr.Ciptp Mangunkusumo, Jakarta* .
- Rosenberg, M. J. (1981). Retrieved November 24, 2014, from <http://www.freepatentsonline.com/4307082.html>
- Sato, A., Fujiwara, H., & Oku, H. (2004). Alpha-Mangostin induces Ca<sup>2+</sup>-ATPase dependent apoptosis via mitochondrial pathway in PC12 cells. *J Pharmacol Sci*, 94.
- Shah, N. (2014). Burkitt and lymphoblastic Limfoma: clinical therapy and outcome. In M. R (Ed.), *Limfoma: Pathology, Diagnosis and Treatment* (2nd ed., pp. 172-190). Cambridge UK: Cambridge University Press.
- Shan, T., Ma, Q., Guo, K., Liu, J., Li, W., Wang, F., et al. (2011). Xanthone . *Curr Mol Med*, 11 (8), 666-677.

- Sharma, T., & Rawal, G. (2012). Role of ayurveda in tumorigenesis: A brief review. *International Journal of Green Pharmacy* , 6 (2), 93-101.
- Soek, S., Cheng, G., Siau, H., Yang, M., & Ahmad, Z. (2013). Cytotoxicity and structure activity relationships of xanthone derivatives from *Mesua beccariana*, *Mesua ferrea* and *Mesua congestiflora* towards nine human cancer cell lines. *Molecules* , 18, 1985-1994.
- Sugito, J. (2003). *Kamus Pertanian Umum*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Suksamrarn, S. (2006). Cytotoxic prenylated xanthenes from the young fruit of *Garcinia mangostana*. *Chem Pharm Bull* , 54 (3), 301-5.
- Verheij, E. (1997). Buah-buahan yang dapat dimakan. In R. Coronel (Ed.), *Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 2* (pp. 68-76). PORSEA.
- Wezeman, T., Brase, S., & Masters, K. (2015). Xanthone dimers: a compound family which is both common and privileged. *Royal Society of Chemistry* , 32, 6-28.