

Pengaruh partikel *silver* ekstrak daun serai dapur (*Cymbopogon citratus DC*) terhadap galur sel rongga mulut HSC-3: Penelitian eksperimen laboratorium

Hosea Timothy¹ 
Komariah^{1*} 
Didi Nugroho¹ 

ABSTRAK

Pendahuluan: Kanker rongga mulut menempati urutan ke-12 dari kasus kanker di dunia. Terapi konvensional memiliki efek samping, sehingga banyak penelitian beralih menggunakan terapi bahan alam seperti sintesis partikel silver dengan daun serai dapur (*Cymbopogon citratus DC*) sebagai agen antikanker. Sintesis partikel silver ekstrak daun serai dapur dilakukan untuk mereduksi ion logam serta pembentukan partikel logam sehingga meningkatkan aktivitas antikanker, melalui peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang menyebabkan depolarisasi membran mitokondria potensial (MMP), sehingga terjadi disfungsi mitokondria sebagai jalur awal terjadinya apoptosis pada galur sel kanker rongga mulut HSC-3. Tujuan Penelitian menganalisis pengaruh pemberian partikel silver ekstrak etanol daun serai dapur terhadap MMP sel HSC-3. **Metode:** Penelitian merupakan eksperimen laboratorium secara in vitro dengan desain penelitian adalah post-test only control group. Penelitian dilakukan secara mikroskopis dengan pewarnaan fluorescense untuk melihat MMP menggunakan *tetraethylbenzimidazolyl-carbocyanine iodide (JC-1)* dan *4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)* sebagai counterstain inti sel. Kelompok penelitian terdiri dari kelompok kontrol, kelompok pembanding dan kelompok yang diberikan perlakuan. Hasil pengamatan memperlihatkan sel dalam kondisi baik akan membentuk agregat J yang terfluoresensi merah tertinggi, sedangkan sel yang mengalami apoptosis agregat J akan terfluoresensi rendah. **Hasil:** Kelompok kontrol negatif memperlihatkan pembentukan agregat J dengan intensitas fluoresensi merah tertinggi, sedangkan kelompok perlakuan partikel silver ekstrak daun serai dapur 100% memperlihatkan intensitas fluoresensi merah terendah ($p=0,001$) dibandingkan dengan konsentrasi 75, 50, 25, dan 12,5% dan juga kelompok pembanding yang hanya diberikan partikel silver dan ekstrak daun serai dapur. **Simpulan:** Partikel silver ekstrak etanol daun serai dapur 100% efektif dalam menyebabkan depolarisasi MMP pada HSC-3 dengan intensitas fluoresensi merah yang lebih rendah.

Kata kunci

ekstrak daun serai, HSC-3, membran mitokondria potensial, partikel silver

Effect of silver particles from lemongrass leaves extract (*Cymbopogon citratus DC*) on Oral Cell Line HSC-3: Research laboratory experiment

¹Departemen Biologi Oral,
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Trisakti, Indonesia

*Korespondensi
Email | Komariah@trisakti.ac.id

Submisi | 06 April 2022
Revisi | 6 Mei 2022
Penerimaan | 27 Desember 2022
Publikasi Online | 30 April 2023
DOI: [10.24198/jkg.v35i1.38341](https://doi.org/10.24198/jkg.v35i1.38341)

Sitasi | Timothy H, Komariah; Didi N.
Pengaruh partikel *silver* ekstrak daun serai dapur (*Cymbopogon citratus DC*) terhadap galur sel rongga mulut hsc-3. *J Ked Gi.* 2023;35(1):78-85.
DOI: [10.24198/jkg.v35i1.38341](https://doi.org/10.24198/jkg.v35i1.38341)



Copyright: © 2023 oleh penulis, diserahkan ke Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran untuk open akses publikasi dibawah syarat dan ketentuan dari Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

ABSTRACT

Introduction: Oral cavity cancer ranks 12th of the worldwide cancer cases. Conventional therapy has side effects, so that many studies have switched focus to the use of natural therapies such as synthesis of silver particles from lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus DC*) as an anticancer agent. Synthesis of silver particles of *C. citratus* leaf extract carried out to reduce metal ions and form metal nanoparticles, thereby increasing anticancer activity by increasing ROS production, which causes depolarization of mitochondrial membrane potential (MMP), resulting in mitochondrial dysfunction as an initial pathway of apoptosis in cancer cell lines. HSC-3. The purpose of this study is to analyze the effect of giving silver nanoparticles from citronella leaves' ethanol extract on the MMP of HSC-3 cells. **Methods:** This research was an in vitro laboratory experiment with a post-test-only control group research design. The study was conducted microscopically by fluorescence staining to see MMP using tetraethylbenzimidazolyl-carbocyanine iodide (JC-1) and 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) as cell nucleus counterstains. The research group consisted of a control group, a comparison group, and a treatment group. The results showed that cells in good condition would form J-aggregates with the highest red fluorescence, while cells that underwent J-aggregate apoptosis would have the lowest fluorescence. **Results:** Negative control group showed the formation of J-aggregates with the highest red fluorescence intensity, while the 100% *C. citratus* leaf ethanol extract silver particle treatment group showed the lowest red fluorescence intensity ($p=0.001$) compared to the comparison groups that was only given *C. citratus* leaf ethanol extract silver particle with concentrations of 75,50, 25, and 12.5%. **Conclusion:** 100% silver particle ethanol *C. citratus* leaf extract is effective in causing MMP depolarization of HSC-3 cells with lower red fluorescence intensity.

Keywords

lemongrass leaves extract, HSC-3, mitochondrial membrane potential, silver particles

PENDAHULUAN

Kanker rongga mulut menempati urutan ke-12 dari kasus kanker di dunia dan urutan ke-8 di negara-negara berkembang. Negara berkembang yang mendominasi kawasan Association of Southeast Asian Nations (ASEAN) yaitu Indonesia, Malaysia, Filipina dan Thailand.^{1,2} Kanker rongga mulut merupakan suatu masalah yang serius di berbagai negara, bila digabung antara kanker rongga mulut dengan karsinoma sel skuamosa (KSS) ada lidah, presentase kejadiannya berkisar antara 25% sampai dengan 50% dari semua kanker ganas di dalam mulut.³ Karsinoma lidah merupakan suatu tumor yang ganas, karena cenderung mudah bermetastasis ke bagian tubuh lainnya, seperti galur Human squamosa cell (HSC-3).⁴

Pengobatan kanker lidah umumnya dilakukan dengan kemoterapi yang dikombinasikan dengan radioterapi (kemoradioterapi), namun efek samping pada pasien dengan keluhan keluhan berupa kelelahan, rambut rontok, penurunan sel darah putih dan trombosit.⁵ Dalam dekade terakhir ini, penelitian yang masih terus dilanjutkan untuk mendapatkan hasil pengobatan kanker lidah yang efektif dan efisien yaitu menggunakan partikel *silver* yang memiliki potensi sebagai antikanker.⁶ Agar dapat memaksimalkan aktivitas antikanker partikel *silver* perlu adanya reduksi ion serta pembentukan partikel *silver* menjadi partikel nano, baik secara kimia, fisika, dan biologi.

Namun, sintesis biologi partikel *silver* dengan menggunakan bahan alam lebih ramah lingkungan, bersifat biokompatibel, hemat biaya, memerlukan sedikit waktu dan energi serta tidak beracun dibandingkan dengan metode fisika maupun kimia.⁷ Salah satu bahan alam yang digunakan adalah serai dapur (*Cymbopogon citratus*). *C. citratus* adalah salah satu tumbuhan Indonesia yang digunakan sebagai obat tradisional untuk perawatan dan pemeliharaan kesehatan.⁸ Kandungan senyawa aktif *C. citratus* seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, phenol, steroid, berperan sebagai anti-inflamatori, antimikrobal, antibakterial, dan antikanker. Sebagai antikanker *C. citratus* secara selektif dapat menargetkan jalur yang berbeda dalam menyebabkan kematian sel kanker,⁹ salah satunya melalui jalur depolarisasi *mitochondrial membrane potential* (MMP) yang menunjukkan adanya disfungsi mitokondria sebagai tanda awal terjadinya apoptosis sel.¹⁰

MMP telah terbukti berpartisipasi dalam induksi apoptosis dan menjadi pusat jalur apoptosis, melalui transisi permeabilitas membran yang menginduksi depolarisasi potensi transmembran, pelepasan faktor apoptogenik dan hilangnya fosforilasi oksidatif yang menyebabkan kematian pada sel.¹¹ AgNP diketahui dapat mengganggu pensinyalan pada membran mitokondria yang pada akhirnya menyebabkan disfungsi mitokondria dan induksi apoptosis sel.^{12,13} Tujuan Penelitian menganalisis pengaruh pemberian partikel *silver* ekstrak etanol daun serai dapur terhadap MMP sel HSC-3.

METODE

Penelitian merupakan penelitian kuantitatif eksperimen laboratorium secara *in vitro* dengan *Post-test Only Control Group Design*, rumus penentuan jumlah sampel ditentukan dengan rumus Federer. Sampel partikel *silver* ekstrak daun serai dan populasi sel HSC-3 yang diperoleh dari Laboratorium Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti (BioCORE), yang dilakukan bulan November hingga Desember 2020. Penelitian dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu proses ekstraksi, pembuatan *silver* particle ekstrak daun serai dapur dan pengujian pada sel HSC-3 dengan melihat Mitochondrial Membrane Potential secara mikroskopik dengan menggunakan mikroskop fluoresen.

Ekstraksi daun serai dapur dengan metode maserasi, *C. citratus* diperoleh dari daerah Bogor Jawa Barat, dengan masa panen 3 bulan. Pengeringan dilakukan secara alami dengan sinar matahari selama 2 minggu dan dihaluskan. Siplisia *C. citratus* di ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan cara merendam simplisia menggunakan pelarut etanol 70% perbandingan 1:10 b/v, kemudian diaduk manual selama 15 menit setiap 8 jam sekali pada suhu kamar yang dilakukan 3x24 jam. Setelah tiga hari, difiltrasi dengan menggunakan kertas saring whatman dan dievaporasi menggunakan mesin evaporator (Buchi R-215, Jerman) pada suhu 50-60°C, 16 hingga diperoleh ekstrak daun serai yang kental.

Uji fitokimia ekstrak daun serai dapur menggunakan 18-16-2/MU/SMM-SIG (LCMS/MS) QTOF.^{14,15} Pembuatan partikel *silver* ekstrak daun serai, 500 mg ekstrak daun serai dapur dilarutkan dalam 100 mL etanol, sebanyak 10 mL dicampurkan dengan 90 mL partikel *silver* (Merck) 0,1 M, campuran kedua larutan dengan menggunakan mesin pengaduk (KA™ RH basic 2, Jerman) dengan kecepatan 2500 rpm dan pemanasan 40°C selama 2 jam. Campuran diinkubasi pada suhu kamar (ditutupi dengan aluminium foil) selama 24 jam pada suhu kamar. 10 mL larutan dilakukan uji ukuran partikel menggunakan VASCO-2 (Cordouan Technology, France).¹⁶ Sisa larutan dipindahkan tabung sentrifus dan disentrifus dengan kecepatan 9000 rpm. Endapan yang terbentuk dicuci dengan air suling sebanyak 3 kali, hingga diperoleh endapan berwarna abu-abu tua. Diencerkan endapan partikel *silver* ekstrak daun serai dapur menjadi 75, 50, 25, dan 12,5%.^{16,17} Uji partikel *silver* ekstrak etanol daun serai dapur terhadap sel kanker lidah HSC-3, Sel HSC-3 ditanam pada cell culture dish dan diinkubasi pada suhu 37°C dan 5% CO2 selama 2 x 24 jam. Tanam sel HSC-3 pada media yang mengandung DMEM, 10% FBS, dan 1% Penicillin, Streptomycin dan Amphotericin B.

Membran mitokondria potensial (MMP) sel HSC-3 dibuktikan dengan menggunakan probe (*JC-1 dye*) yang membentuk intensitas fluoresensi merah. Kelompok negatif hanya terdiri dari sel HSC-3 tanpa perlakuan, kelompok kontrol positif yang diberikan doxorubicin, kelompok perbandingan yang hanya diberikan ekstrak daun serai dapur, partikel *silver*, hidrogen peroksida, sedangkan kelompok perlakuan diberikan partikel *silver* ekstrak daun serai dapur dengan konsentrasi 100,75, 50, 25 dan 12,5%, kemudian diinkubasi selama 3 jam dan dicuci dengan 1X PBS satu kali. Ditambahkan sebanyak 1 mL *JC-1 dye* (Thermo Fisher Scientific, USA) dengan konsentrasi 10 µM ke masing-masing sumuran dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C dalam keadaan gelap. Selanjutnya, dicuci dengan

1X PBS 2 kali, diikuti pewarnaan nuklei menggunakan 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (Merck, Jerman) dengan konsentrasi 300 μM sebanyak 1 mL ke masing-masing sumuran selama 3 menit dalam gelap. Setelah pewarnaan dilakukan, semua sel dicuci kembali dengan 1X PBS tiga kali. Pengamatan MMP pada HSC-3 menggunakan *Zeiss Z1 Inverted Fluorescence Microscope*. Hasil penelitian yang diperoleh dengan menghitung intensitas fluoresensi berwarna merah (*JC 1-dye*) dan intensitas fluoresensi berwarna biru (DAPI) yang mewarnai inti sel menggunakan *image J*. Persentasi intensitas fluoresensi berwarna merah dihitung dengan menghitung jumlah intensitas fluoresensi berwarna merah dibagi dengan total sel (intensitas fluoresensi berwarna biru dengan DAPI).^{18,19,20} Sel yang tidak mengalami kerusakan pada MMP akan memperlihatkan banyak terbentuk agregat J yang terfluoresensi merah yang tinggi, sedangkan sel yang mengalami apoptosis yang terbentuk sedikit dan akan terfluoresensi rendah.

Analisis data, data yang disajikan sebagai rata-rata \pm standar deviasi (SD). Uji normalitas dilakukan dengan uji Shapiro-wilk. Hasil menunjukkan data yang normal ($p=0,001$) maka selanjutnya akan diuji dengan *oneway ANOVA*, jika terdapat perbedaan pada uji *oneway ANOVA* ($p<0,05$), maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*. Data analisis menggunakan SPSS versi 2.3. Hasil uji normalitas menggunakan Shapiro-wilk memperlihatkan data memiliki distribusi normal dengan nilai $p>0,05$. Pengujian dilanjutkan dengan menggunakan uji parametrik *Oneway ANOVA*

HASIL

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh sintesis partikel *silver* menggunakan ekstrak daun serai dapur yang termodifikasi secara fisik menjadi partikel yang memiliki ukuran lebih kecil untuk meningkatkan stabilitas, kelarutan dan efektifitas. Hasil uji fitokimia ekstrak daun serai dapur memiliki *metabolic* sekunder alkaloid, flavonoid, tannin, steroid, triterpenoid, saponin. Hasil karakteristik partikel *silver* ekstrak daun serai dapur memiliki partikel monodisperse. Berdasarkan pada ukuran diameter partikel *silver* ekstrak daun serai dapur memperlihatkan rerata diameter sebesar 1071 nm. Pengukuran distribusi ukuran partikel menunjukkan nilai d_{v10} sebesar 1071,80 nm yang berarti 10% total ukuran partikel *silver* ekstrak daun serai dapur lebih kecil dari 1071 nm. Nilai d_{v50} sebesar 1071,80 nm, dengan 50% distribusi ukuran partikel lebih kecil dari 1071,80 nm. Distribusi ukuran partikel d_{v90} diperlihatkan dengan ukuran partikel *silver* ekstrak daun serai dapur 90% memiliki ukuran partikel dibawah 1071,80 nm. Hasil distribusi ukuran partikel *silver* ekstrak daun serai dapur dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Distribusi ukuran partikel *silver* ekstrak daun serai dapur

Partikel <i>silver</i> ekstrak daun serai dapur	Dv 10 (nm)	Dv 50 (nm)	Dv 90 (nm)	Z-avg (nm)
	1071,80	1071,80	1071,80	1071

Hasil dari tabel 2 menunjukkan nilai rerata pada setiap kelompok penelitian. Hasil rerata memperlihatkan intensitas sel HSC-3 terfluoresensi merah terendah terdapat pada kelompok yang diberikan *doxorubicin*, sedangkan kelompok tanpa diberikan perlakuan memperlihatkan intensitas fluoresensi merah tertinggi.

Tabel 2. Nilai rerata dan standar deviasi intensitas sel terfluoresensi merah

Kelompok	n	Rerata \pm SD (%)
Doxorubicin	3	32,16 \pm 0,91
Hidrogen peroksida (H_2O_2)	3	42,76 \pm 1,26
Partikel <i>Silver</i>	3	49,28 \pm 0,91
Ekstrak daun serai dapur	3	47,78 \pm 3,88
HSC-3	3	54,02 \pm 1,47
100%	3	42,13 \pm 1,27
75%	3	45,63 \pm 0,36
50%	3	48,35 \pm 0,48
25%	3	50,78 \pm 0,44
12,5%	3	52,88 \pm 1,62

Hasil uji *Oneway ANOVA* yang diperlihatkan pada Tabel 3 menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada kelompok penelitian dengan nilai $p= 0,000$ ($p<0,05$) yaitu terdapat perbedaan pemberian perlakuan terhadap intensitas sel HSC-3 yang terfluoresensi merah.

Tabel 3. Hasil uji *Oneway ANOVA*

	Sum of squares	df	Mean square	f	p-value
Between group	1103,544	9	122,616	50158	0,000
Within group	48,891	20	2,445		
Total	1152,436	29			

Keterangan: *signifikan ($p<0,05$)

Hasil uji Duncan pada Tabel 4 memperlihatkan kelompok tanpa perlakuan partikel *silver* ekstrak daun serai dapur berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan semua kelompok perlakuan, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 12,5%, kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 12,5% memperlihatkan intensitas fluoresensi yang lebih rendah sebesar 2,10%. Kelompok tanpa perlakuan partikel *silver* ekstrak daun serai dapur berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok doxorubicin, H₂O₂, ekstrak daun serai dapur, nano *silver* dan kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 25, 50, 75, dan 100%, dengan penurunan intensitas fluoresensi berwarna merah berturut-turut sebesar 40,46, 20,83, 11,54, 8,76, 5,99, 10,49, 15,52, dan 22,01%.

Tabel 4. Uji Duncan perbedaan pemberian perlakuan terhadap intensitas sel terfluoresensi merah

Kelompok	Nilai uji lanjut Duncan						
	Subset						
	1	2	3	4	5	6	7
Doxorubicin	32,16						
Hidrogen peroksida (H ₂ O ₂)		42,13					
Partikel <i>Silver</i>		42,76					
Ekstrak daun serai dapur			45,63				
HSC-3			47,78	47,78			
100%			48,35	48,35	48,35		
75%				49,28	49,28		
50%					50,78	50,78	
25%						52,88	52,88
12,5%							54,02
Nilai p	1,000	0,625	0,056	0,280	0,086	0,115	0,384

Kelompok hidrogen peroksida memperlihatkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok doxorubicin, tanpa perlakuan (HSC-3), ekstrak daun serai dapur, nano *silver* dan kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 12,5, 25, 50, dan 75%, dengan penurunan intensitas fluoresensi sebesar 24,79% dengan kelompok doxorubicin, serta peningkatan intensitas fluoresensi pada kelompok ekstrak daun serai dapur, nano *silver* dan kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 12,5, 25, 50, dan 75, berturut-turut sebesar 11,75, 15,26, 23,67, 18,74, 13,07, dan 6,72%.

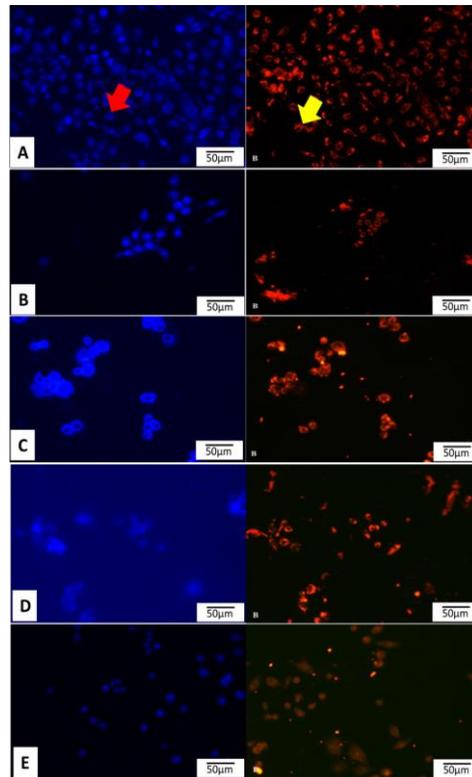
Intensitas fluoresensi berwarna merah pada kelompok sel yang mengalami stressor dengan pemberian hidrogen peroksida memperlihatkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada semua kelompok, namun tidak menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 100% meskipun terjadi penurunan intensitas fluoresensi sebesar 1,48% pada kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 100%. Hasil pengamatan pada kelompok doxorubicin memperlihatkan intensitas fluoresensi merah yang paling rendah dengan nilai kemaknaan $p < 0,05$ dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Kelompok doxorubicin menurunkan intensitas warna merah lebih rendah dibandingkan dengan kelompok H₂O₂, partikel *silver*, ekstrak daun serai dapur, tanpa perlakuan (HSC-3), kelompok sintesis partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 100, 75, 50, 25, dan 12,5% berturut-turut sebesar 24,79, 34,74, 32,69, 40,47, 23,66, 29,52, 33,48, 36,67, dan 39,18%. Hasil pengamatan intensitas fluoresensi MMP kelompok kontrol dan pembanding dapat dilihat pada Gambar 1.

Kelompok yang diberikan ekstrak daun serai dapur memperlihatkan tidak adanya perbedaan yang nyata dengan kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 75%, namun memperlihatkan penurunan intensitas fluoresensi merah sebesar 4,49% pada kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 75% dibandingkan dengan kelompok ekstrak daun serai dapur, sedangkan dengan kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 50%, 25%, dan partikel *silver* memperlihatkan peningkatan intensitas fluoresensi merah berturut-turut sebesar 1,18, 6,26, dan 3,14% dibandingkan dengan kelompok ekstrak daun serai dapur meskipun tidak memperlihatkan adanya perbedaan signifikan.

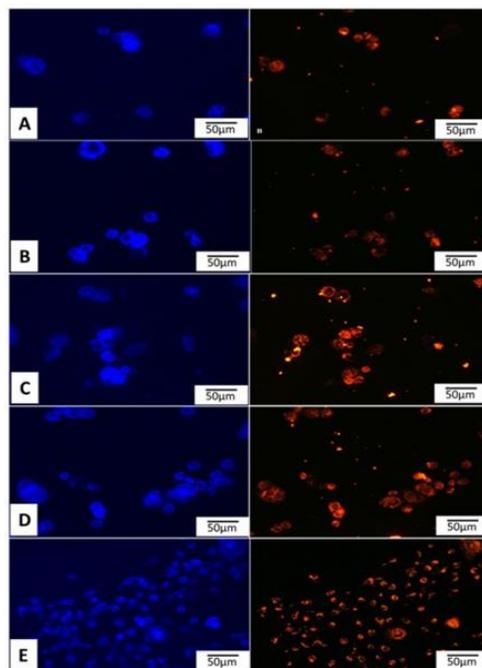
Kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 100% memperlihatkan perbedaan signifikan dengan penurunan intensitas fluoresensi sebesar 11,83% dibandingkan dengan kelompok ekstrak daun serai dapur, sedangkan pada kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 12,5% terdapat perbedaan signifikan dengan intensitas fluoresensi yang meningkat sebesar 10,67% dibandingkan dengan kelompok ekstrak daun serai dapur.

Intensitas fluoresensi pada kelompok partikel *silver* memperlihatkan tidak adanya perbedaan signifikan dengan kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 50%, namun terdapat penurunan intensitas fluoresensi sebesar 1,89% dibandingkan kelompok partikel *silver*. Kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 25% tidak memperlihatkan perbedaan signifikan, namun terlihat intensitas fluoresensi yang meningkat sebesar 3,03% dibandingkan dengan kelompok partikel *silver*.

Kelompok partikel *silver* memperlihatkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 100 dan 75% dengan penurunan intensitas fluoresensi sebesar 14,52 dan 7,41%, sedangkan dengan kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur 12,5% memperlihatkan perbedaan bermakna dengan peningkatan intensitas fluoresensi sebesar 7,29% dibandingkan dengan kelompok partikel *silver*. Hasil intensitas fluoresensi MMP kelompok perlakuan partikel *silver* ekstrak daun serai dapur dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Efek pemberian partikel *silver* ekstrak daun serai dapur pada depolarisasi membran potensial mitokondria sel HSC-3 diukur menggunakan probe JC-1 dye (kuning) dan inti sel dengan counterstainin DAPI (merah). Intensitas flouresensi merah pada kelompok yang tanpa diberikan perlakuan (A), kelompok dengan doxorubicin (B), Kelompok dengan ekstrak daun serai dapur (C), kelompok hidrogen peroksida (D), dan kelompok dengan nano silver (E). Pengamatan pada pembesaran 100X.



Gambar 2. Efek pemberian partikel *silver* ekstrak daun serai dapur pada depolarisasi membran potensial mitokondria sel HSC-3 diukur menggunakan probe JC-1 dye dengan counterstain probe DAPI. Intensitas flouresensi merah pada kelompok perlakuan partikel *silver* ekstrak daun serai dapur 100% (A), 75% (B), 50% (C), 25%(D), 12,5% (E). Pengamatan pada pembesaran 100X.

Kelompok perlakuan partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 100% memperlihatkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 75, 50, 25%, dan 12,5%, dengan peningkatan intensitas fluoresensi merah berturut-turut sebesar 8,32, 14,77, 20,53, dan 25,52%. Kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 75% tidak memperlihatkan perbedaan signifikan dengan konsentrasi 50%, namun terjadi peningkatan intensitas fluoresensi pada kelompok 50% sebesar 5,95% dibandingkan dengan konsentrasi 75%. Pada kelompok partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 75% berbeda bermakna dengan kelompok konsentrasi 25 dan 12,5% dengan peningkatan intensitas fluoresensi sebesar 11,27% dan 15,88% dibandingkan dengan konsentrasi 75%. Untuk intensitas fluoresensi partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 25% dengan 12,5% tidak memperlihatkan perbedaan signifikan, namun konsentrasi 12,5% memiliki intensitas fluoresensi lebih tinggi 4,14% (Tabel 2).

PEMBAHASAN

Mitokondria adalah organel yang memiliki gen mitokondria DNA (mtDNA), memiliki peran penting dalam pembentukan energi (ATP), menghasilkan senyawa yang mampu merespon terhadap stimulus apoptosis melalui pelepasan sitokrom C ke sitosol.²¹ Pada sel sehat mitokondria mampu mengkodekan penghambat apoptosis pada sel. Mitokondria mengatur dan mengkoordinasikan aktivasi apoptosis, sehingga sangat penting dalam mempelajari mitokondria dalam terapi kanker. Saat mitokondria mengalami deregulasi terjadi perubahan yang mengakibatkan perubahan fungsi mitokondria menjadi abnormal dan mengakibatkan terjadinya apoptosis.²²

Mitokondria merupakan salah satu organel penting yang dipergunakan oleh sel kanker untuk menghindari dari respon apoptosis.²³ Pada sel kanker fungsi metabolisme mitokondria adalah memperkuat pertahanan antioksidan dengan merusak radikal bebas untuk mengkompensasi aktivasi jalur anaerobik dan menghindari terjadinya apoptosis pada sel kanker. Selain itu, mitokondria mengatur gen dan protein untuk mengurangi penyerapan Ca^{2+} agar terjadi stabilitas pada permeabilitas mitokondria untuk tidak menginduksi jalur apoptosis. Peran mitokondria pada sel kanker lainnya adalah dengan mengkodekan gen yang berkontribusi pada perkembangan kanker seperti mutasi dan kemampuan adaptasi metabolik.²²

Akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) pada sel dan jaringan mengakibatkan keadaan disfungsi dari mitokondria yaitu kondisi yang ditandai dengan gangguan biogenesis mitokondria, perubahan potensial membran, berkurangnya jumlah mitokondria, serta perubahan aktivitas oksidatif protein. Disfungsi mitokondria secara primer diinduksi oleh ROS yang berinteraksi dengan komponen mitokondria dan sel seperti DNA, protein, lipid, dan molekul lain.²⁴

Mitokondria berperan dalam proses apoptosis jalur intrinsik. Keberadaan ion Ca^{2+} yang meningkat serta radikal bebas (ROS) yang menyebabkan stress oksidatif akan meningkatkan permeabilitas membran bagian dalam mitokondria menyebabkan hilangnya membran mitokondria potensial mengakibatkan peningkatan permeabilitas membran bagian luar mitokondria, yang berperan penting dalam meregulasi komponen pro-apoptosis seperti keluarga Bcl-2 (Bax and Bak), menyebabkan pelepasan protein dari ruang antar membran ke dalam sitoplasma, termasuk molekul apoptogenik seperti sitokrom C. Membran mitokondria potensial ($\Delta\psi$) dibentuk oleh transmembran potensial ion hidrogen yang digunakan untuk menghasilkan ATP. Keseimbangan antara membran mitokondria potensial dan ATP menggambarkan aktivitas pada sel yang normal, jika terjadi ketidakseimbangan akan menyebabkan terjadinya disfungsi dari mitokondria.²⁵

JC-1 dye telah dikembangkan untuk mendeteksi membran mitokondria potensial dalam sel sehat dan apoptosis di berbagai jenis sel, seperti neuron, miosit, sel endotel. *JC-1 dye* dapat digunakan untuk menilai potensi membran mitokondria baik dalam mitokondria dan jaringan yang terisolasi secara utuh. Pewarna *JC-1* merupakan pewarnaan lipofilik, kationik yang mampu masuk ke mitokondria dan terakumulasi (bergantung pada konsentrasi), akan membentuk kompleks disebut *J-aggregate*, dengan eksitasi dan emisi dalam spektrum merah.²⁶ Pewarna *JC-1* masuk dan terakumulasi dalam mitokondria yang berenergi dan bermuatan negatif dan secara spontan membentuk agregat *J* berpendar merah. Sebaliknya, dalam sel yang tidak sehat atau apoptosis, pewarna *JC-1* juga memasuki mitokondria tetapi pada tingkat yang lebih rendah karena bagian dalam mitokondria kurang negatif karena peningkatan permeabilitas membran dan akibatnya hilangnya potensi elektrokimia dan akan membentuk monomer *JC-1* berpendar hijau.²⁷

Intensitas fluoresensi merah membuktikan terbentuknya *J-aggregate*. Tingkat intensitas fluoresensi merah yang dihasilkan akan memperlihatkan aktivitas dari MMP. Mitokondria dengan membran yang utuh (baik) akan memperlihatkan intensitas fluoresensi merah yang tinggi, sedangkan intensitas fluoresensi merah yang rendah menunjukkan membran mitokondria yang tidak baik/tidak utuh dan selanjutnya akan membentuk *J-monomer* dengan intensitas fluoresensi berwarna hijau.¹⁷ *Zeiss Z1 Inverted Fluorescence Microscope* yang digunakan dalam penelitian ini hanya menggunakan satu filter dalam satu fluoresensi maka tidak dapat mengukur intensitas warna merah dan hijau secara bersamaan. Intensitas fluoresensi merah yang terbentuk memiliki korelasi yang baik dengan kondisi mitokondria membran potensial.²³

Kelompok yang tidak diberikan perlakuan atau kontrol negatif memperlihatkan intensitas fluoresensi berwarna merah tertinggi, hal ini membuktikan hilangnya potensi elektrokimia akibat peningkatan permeabilitas membran mitokondria yang dibuktikan dengan pembentukan monomer *JC-1* yang berpendar hijau,²⁷ namun dalam penelitian ini hanya menggunakan satu filter dalam satu fluoresensi maka tidak dapat mengukur intensitas warna merah dan hijau secara bersamaan, namun peningkatan intensitas fluoresensi berwarna merah menunjukkan aktivitas MMP yang baik, dengan membran mitokondria yang utuh.¹⁷

Obat antikanker doksorubisin (DOX) sebagai kontrol positif yang merupakan gold standar yang digunakan dalam terapi kanker dapat menyebabkan kematian, penghambatan siklus sel/proliferasi dan gangguan mitokondria

pada sel kanker. Kerusakan mitokondria sebagai salah satu target kerja DOX dalam menyebabkan apoptosis. Perubahan membran mitokondria terjadi melalui penghambatan aktivitas kerja dari *phosphatidylserine decarboxylase* (PSD). PSD mengkatalisis sintesis *phosphatidylethanolamine* (PE) dari *phosphatidylserine* (PS), dan DOX mengubah rasio PS/PE pada membran mitokondria, mengakibatkan perubahan komposisi membran mitokondria, dan memicu gangguan pada sistem fosforilasi oksidatif (OXPHOS) yang akan menyebabkan apoptosis pada sel.^{28,29} Doksoorubisin bekerja dalam sel kanker yaitu interkalasi ke dalam DNA dan gangguan perbaikan DNA yang dimediasi oleh pembentukan radikal bebas dan dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan membran, kerusakan DNA, stres oksidatif, dan memicu jalur apoptosis kematian sel. Pada kelompok doksoorubisin tampak memperlihatkan penurunan intensitas fluoresensi merah.²⁹

Hidrogen peroksida (H₂O₂) adalah spesies oksigen reaktif turunan mitokondria yang bertindak sebagai pensinyalan dalam mengatur transduksi pensinyalan, vasokonstriksi dan vasodilatasi. H₂O₂ menyebabkan terjadinya depolarisasi potensial membran mitokondria, dengan menurunkan kemampuan organel untuk menghasilkan ATP. Produksi ATP yang menurun akan menyebabkan ketidakseimbangan yang mengarah pada disfungsi mitokondria, yang diperlihatkan dengan intensitas fluoresensi merah yang rendah.³⁰

Partikel *silver* (AgNPs) banyak digunakan sebagai agen antibakteri dan anti kanker, selain memiliki sifat bakterisidal, AgNPs juga memiliki target intraseluler yang penting seperti mitokondria, melalui hilangnya potensi membran, penghambatan enzim yang terlibat dalam fosforilasi oksidatif, dan perubahan konsentrasi kalsium.³¹ AgNP menginduksi pembukaan ion kalsium dan peningkatan produksi ROS sehingga terjadi peningkatan dan menyebabkan transisi permeabilitas mitokondria mengalami depolarisasi dan induksi apoptosis.¹⁵ Intensitas fluoresensi merah dari kerusakan membran mitokondria potensial terlihat pada kelompok yang diberikan AgNPs.³²

Ekstrak daun serai dapur mempunyai kandungan Flavonoid yang terbukti bermanfaat sebagai antikanker, dengan meningkatkan aktivitas spesies oksigen reaktif (ROS), serta berpartisipasi dalam menghentikan siklus sel, menginduksi apoptosis, menekan proliferasi dan invasi sel kanker. Flavonoid memiliki aksi ganda dalam homeostasis ROS yang bertindak sebagai antioksidan dalam kondisi normal dan bekerja sebagai pro-oksidan yang kuat dalam sel kanker dengan memicu jalur apoptosis.³³

Ekstrak daun serai dapur memicu kematian sel kanker dengan menurunkan proliferasi sel, mengubah potensi membran mitokondria, menginduksi apoptosis, serta keterlibatan mekanisme oksidatif untuk efek anti-proliferatif dan peningkatan sitotoksitas.³⁴ Sifat sitotoksitas yang tinggi dari senyawa flavonoid yang terkandung dalam serai dapat meningkatkan transisi permeabilitas mitokondria yang menyebabkan kerusakan potensi membran mitokondria yang menyebabkan terlepasnya sitokrom C ke dalam sitosol, yang akan berikatan dengan apaf-1, sehingga terjadi aktivasi caspase 9 dan caspase 3 yang menyebabkan terjadinya apoptosis pada sel.³⁵

Pengaruh nano-*silver* ekstrak daun serai dapur pada sel kanker HSC-3 sebagai bahan uji, memungkinkan adanya kerusakan pada MMP melalui dua mekanisme, yaitu partikel *silver* akan menginduksi pembukaan ion kalsium dan peningkatan produksi ROS, sedangkan serai dapur berperan juga memiliki kemampuan dalam meningkatkan ROS melalui jalur intrinsik. Kedua mekanisme tersebut memungkinkan peningkatan efektifitas partikel *silver* ekstrak daun serai dapur dalam menurunkan MMP. Hasil penelitian memperlihatkan semakin tinggi konsentrasi partikel *silver* ekstrak daun serai dapur, semakin menurun MMP pada mitokondria sel HSC-3 yang mengarah pada disfungsi dan apoptosis sel HSC-3. Konsentrasi partikel *silver* ekstrak daun serai dapur dengan konsentrasi terendah memiliki intensitas fluoresensi merah yang lebih kecil dibandingkan dengan konsentrasi lainnya, hal ini dikarenakan pengamatan yang dilakukan hanya dalam waktu 3 jam.^{36,37} Hasil penelitian memperlihatkan konsentrasi 100% mampu menurunkan intensitas fluoresensi warna merah pada sel HSC-3.

SIMPULAN

Partikel *silver* ekstrak daun serai dapur konsentrasi 100% dapat menurunkan pembentukan J agregat yang diperlihatkan dengan fluoresensi berwarna merah rendah, yang menunjukkan depolarisasi MMP pada sel HSC-3.

Kontribusi Penulis: Kontribusi peneliti "Konseptualisasi, Timothy.H. dan Komariah,K; metodologi, Komariah.K.; perangkat lunak, Nugroho.D.; validasi, Nugroho.D., Timothy.H. and Komariah,K ; analisis formal, Komariah.K.; investigasi, Komariah.K.; sumber daya, Nugroho.D.; kurasi data, Komariah.K.; penulisan penyusunan draft awal, Timothy.H.; penulisan tinjauan dan penyuntingan, Timothy.H.; visualisasi, Komariah.k.; supervisi, Komariah.K.; administrasi proyek, Timothy.H.; perolehan pendanaan, Komariah.K. Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi naskah yang diterbitkan."

Pendanaan: Penelitian ini tidak menerima dana dari pihak luar

Persetujuan Etik: Penelitian ini tidak melibatkan manusia atau hewan menggunakan sel HSC-3 dari biorepository laboratorium terpadu Universitas Yarsi

Pernyataan Persetujuan (Informed Consent Statement): Penelitian tidak melibatkan manusia

Pernyataan Ketersediaan Data: Tersedia pada <https://ieeexplore.ieee.org/document/9537225>
http://www.karyailmiah.trisakti.ac.id/uploads/kilmiah/dosen/INHENCE_Synthesis_of_Silver_Nanoparticles_Juli_2021.pdf

Konflik Kepentingan: Deklarasikan konflik kepentingan atau nyatakan "Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan".

DAFTAR PUSTAKA

1. Sartika T. Analisis pelaksanaan skrining kanker serviks pada wanita usia subur. *J Aisyiah Med.* 2020; 5(1): 12. DOI: [10.36729/jam.v5i1.675](https://doi.org/10.36729/jam.v5i1.675)
2. To'Bungan N, Wijayanti N, Fachiroh J. Epidemiologi, stadium, dan derajat diferensiasi kanker kepala dan leher. *Biogenesis.* 2015 Jun 30; 3(1): 47-52. DOI: [10.24252/bio.v3i1.566](https://doi.org/10.24252/bio.v3i1.566)
3. Febryani T, Kusreni S. Determinan pertumbuhan ekonomi di 4 Negara ASEAN. *JIET.* 2017; 2(1): 10-9. DOI: [10.20473/jiet.v2i1.5501](https://doi.org/10.20473/jiet.v2i1.5501)

4. Taufiqurrahman T, Herdini C. Metastasis leher tersembunyi pada karsinoma lidah T1-T2. J Kes Andalas. 2014;3(3):549-62. DOI: [10.25077/jka.v3i3.200](https://doi.org/10.25077/jka.v3i3.200)
5. Adhim Z. Reseksi tumor dasar lidah dengan "en block pull through procedure" dan rekonstruksi dengan jabir pektoralis mayor. Fatmawati Hospital J. 2017; 1-10.
6. Tao F, Zhang Y, Zhang Z. The role of herbal bioactive components in mitochondria function and cancer therapy. Evid Based Complement Alternat Med. 2019; 2019. DOI:[10.1155/2019/3868354](https://doi.org/10.1155/2019/3868354)
7. Suhartiningtyas D, Chrismawaty BE, Agustina D, Subagyo G. Toluidine blue vital staining sebagai alat bantu diagnostik pada karsinoma sel skuamosa lidah. Maj Ked Gi Indo 2012;19(2):136-40. DOI: [10.22146/majkedgiind.15535](https://doi.org/10.22146/majkedgiind.15535)
8. Medawati A. Karsinoma sel skuamosa sebagai salah satu kanker rongga mulut dan permasalahannya. Insisiva Dent J: Maj Ked Gi Insisiv. 2013;2(1). DOI: [10.18196/di.v2i1.565](https://doi.org/10.18196/di.v2i1.565)
9. Sirait AM. Faktor risiko tumor/kanker rongga mulut dan tenggoroka di indonesia (Analisis Riskesdas 2007). Media Litbangkes.2013;23(3):122-9.
10. Achmad MH. Pengaruh Senyawa Flavonoid Ekstrak Sarang Semut (*Mymecodia Pendans*) terhadap hambatan Proliferasi dan hambatan Angiogenesis. 2013 Jul 31;
11. Buttacavoli M, Albanese NN, Di Cara G, Alduina R, Faleri C, Gallo M, et al. Anticancer activity of biogenerated silver nanoparticles: an integrated proteomic investigation. Oncotarget. 2017; 9(11): 9685-705. DOI:[10.18632/oncotarget.23859](https://doi.org/10.18632/oncotarget.23859)
12. Al-Sheddi ES, Farshori NN, Al-Oqail MM, Al-Massarani SM, Saquib Q, Wahab R, et al. Anticancer potential of green synthesized silver nanoparticles using extract of nepeta deflersiana against human cervical cancer cells (HeLa). Bioinorg Chem Appl. 2018;2018:9390784. DOI: [10.1155/2018/9390784](https://doi.org/10.1155/2018/9390784)
13. Komariah K, Ageng A, Kusuma I. Efek kombinasi asam valproat dan nano partikel kumbang tanduk (*xylotrupesgideon*) terhadap viabilitas dan sitotoksitas sel kanker lidah (HSC-3). Prosiding Seminar Nasional Pakar. 2019 Apr 1;0(0):1.6.1-7.
14. Gawas NP, Navarange SS, Chovatiya GL, Chaturvedi P, Waghmare SK. Establishment and characterization of novel human oral squamous cell carcinoma cell lines from advanced-stage tumors of buccal mucosa. Oncology Reports. 2019; 41(4): 2289-98 DOI: [10.3892/or.2019.7003](https://doi.org/10.3892/or.2019.7003)
15. Bressan E, Ferroni L, Gardin C, Rigo C, Stocchero M, Vindigni V, et al. Silver nanoparticles and mitochondrial interaction. Internat J Dentis. 2013: 1-8. DOI: [10.1155/2013/312747](https://doi.org/10.1155/2013/312747)
16. Gabriella Clara Maria LN, Komariah, Veronica G. Synthesis of silver nanoparticles from lemongrass leaves induced wound healing by reduction ROS Fibroblasts. IEEEXplore. 2021: 1-5. DOI: [10.1109/InHeNce52833.2021.9537225](https://doi.org/10.1109/InHeNce52833.2021.9537225)
17. Hong S, Hong L, Wu D, Li B, Liu C, Guo W, et al. Oxidative damage to human parametrial ligament fibroblasts induced by mechanical stress. Molecular Medic Reports. 2015; 12(4): 5342-8. DOI: [10.3892/mmr.2015.4115](https://doi.org/10.3892/mmr.2015.4115)
18. Denoth-Lippuner A, Jaeger BN, Liang T, Chie SE, Royall LN, Kruse M, et al. Visualization of individual cell division history in complex tissues. Cell Biology; 2020 Aug. DOI: [10.1101/2020.08.26.266171](https://doi.org/10.1101/2020.08.26.266171)
19. Dong LY, Jin J, Lu G, Kang XL. Astaxanthin attenuates the apoptosis of retinal ganglion cells in db/db mice by inhibition of oxidative stress. Mar Drugs. 2013; 11(3): 960-74. DOI: [10.3390/md11030960](https://doi.org/10.3390/md11030960).
20. Chen J-C, Hsieh M-C, Lin S-H, Lin C-C, Hsi Y-T, Lo Y-S, et al. Coronarin D induces reactive oxygen species-mediated cell death in human nasopharyngeal cancer cells through inhibition of p38 MAPK and activation of JNK. Oncotarget. 2017 Dec 8;8(64):108006-19. DOI: [10.18632/oncotarget.22444](https://doi.org/10.18632/oncotarget.22444).
21. Ahsani DN. Mitokondria Sebagai Terapi Kanker. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia. 2014 Jan 10;6(1):1-11. DOI: [10.20885/JKKI.Vol6.Iss1.Art2](https://doi.org/10.20885/JKKI.Vol6.Iss1.Art2)
22. Freyre-Bernal SI, Saavedra-Torres JS, Zúñiga-Cerón LF, Díaz -Córdoba WJ, Pinzón- Fernández MV. Cancer and mitochondrial function. Rev Fac Med. 2018 Jan 1;66(1):83-6. DOI: [10.15446/revfacmed.v66n1.59898](https://doi.org/10.15446/revfacmed.v66n1.59898)
23. Lopez J, Tait SWG. Mitochondrial apoptosis: killing cancer using the enemy within. British J Cancer 2015;112(6):957-62. DOI: [10.1038/bjc.2015.85](https://doi.org/10.1038/bjc.2015.85)
24. Ardiaria M. Disfungsi mitokondria dan stress oksidatif. Journal of Nutrition and Health. 2019;7(3):50-55.
25. Zorova LD, Popkov VA, Plotnikov EY, Silachev DN, Pevzner IB, Jankauskas SS, et al. Mitochondrial membrane potential. Anal Biochem. 2018 Jul 1;552:50-9. DOI: [10.1016/j.ab.2017.07.009](https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.07.009)
26. Sivandzade F, Bhalerao A, Cucullo L. Analysis of the Mitochondrial Membrane Potential Using the Cationic JC-1 Dye as a Sensitive Fluorescent Probe. Bio Protoc. 2019 Jan 5;9(1). DOI: [10.21769/BioProtoc.3128](https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3128)
27. Cossarizza A, Salvioli S. Flow Cytometric Analysis of Mitochondrial Membrane Potential Using JC-1. Current Protocols in Cytometry. 2015 Jul;13(1). DOI: [10.1002/0471142956.cv0914s13](https://doi.org/10.1002/0471142956.cv0914s13)
28. Bellance N, Furt F, Melser S, Lalou C, Thoraval D, Maneta-Peyret L, et al. Doxorubicin Inhibits Phosphatidylserine Decarboxylase and Modifies Mitochondrial Membrane Composition in HeLa Cells. Int J Mol Sci. 2020 Feb 15;21(4). DOI: [10.3390/ijms21041317](https://doi.org/10.3390/ijms21041317)
29. Van Der Zanden SY, Qiao X, Neeffjes J. New insights into the activities and toxicities of the old anticancer drug doxorubicin. The FEBS Journal. 2021 Nov 1;288(21):6095-111. DOI: [10.1111/febs.15583](https://doi.org/10.1111/febs.15583)
30. Zhang X, Wilson C, Lee M, McCarron JG. Depolarization of mitochondrial membrane by H2O2 regulates Ca2+ signalling in Endothelial Cells in Intact Blood Vessels. The FASEB Journal. 2019;33(S1):719.7-719.7. DOI: [10.1096/fasebj.2019.33.1_supplement.719.7](https://doi.org/10.1096/fasebj.2019.33.1_supplement.719.7)
31. Maurer LL, Meyer JN. A systematic review of evidence for silver nanoparticle-induced mitochondrial toxicity. Environ Sci: Nano. 2016;3(2):311-22. DOI: [10.1039/C5EN00187K](https://doi.org/10.1039/C5EN00187K)
32. McShan D, Ray PC, Yu H. Molecular Toxicity Mechanism of Nanosilver. J Food Drug Anal. 2014 Mar;22(1):116-27. DOI: [10.1016/j.jfda.2014.01.010](https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.01.010)
33. Kopustinskiene DM, Jakstas V, Savickas A, Bernatoniene J. Flavonoids as Anticancer Agents. Nutrients. 2020 Feb 12;12(2). DOI: [10.3390/nu12020457](https://doi.org/10.3390/nu12020457)
34. Ghosh K. Anticancer effect of lemongrass oil and citral on cervical cancer cell lines. 2013;9. DOI: [10.5530/pc.2013.4.6](https://doi.org/10.5530/pc.2013.4.6)
35. Fernández-Cárdenas LP, Villanueva-Chimal E, Salinas LS, José-Nuñez C, Tuena de Gómez Puyou M, Navarro RE. Caenorhabditis elegans ATPase inhibitor factor 1 (IF1) MAI-2 preserves the mitochondrial membrane potential ($\Delta\psi_m$) and is important to induce germ cell apoptosis. PLOS ONE. 2017 Aug 1;12(8):e0181984. DOI: [10.1371/journal.pone.0181984](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181984)
36. Berzingi S, Newman M, Yu H-G. Altering bioelectricity on inhibition of human breast cancer cells. Cancer Cell International. 2016 Sep 22;16(1):72. DOI: [10.1186/s12935-016-0348-8](https://doi.org/10.1186/s12935-016-0348-8)
37. Hu S, Gao Y, Zhou H, Kong F, Xiao F, Zhou P, et al. New insight into mitochondrial changes in vascular endothelial cells irradiated by gamma ray. Int J Radiat Biol. 2017 May;93(5):470-6. DOI: [10.1080/09553002.2017.1286048](https://doi.org/10.1080/09553002.2017.1286048)