

Kajian secara *In Vitro* Ekstrak Etanolik Buah *Morinda citrifolia* L. sebagai Agen Khemopreventif Kanker Payudara yang Potensial

In Vitro Study Fruit of *Morinda citrifolia* L. Ethanolic Extract as Potential Chemopreventive Agent for Breast Cancer Treatment

Rifki Febriansah^{1*}, Desy Bintang², Dwi Susilo Hardika³, Dita Prabaningrum⁴, Dzilqi Bustanul Hadi⁵, Nur Oktafiyani⁶

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

^{2,3,4,5,6}Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

*Email: briansyah_rifki@yahoo.com

Abstrak

Kanker payudara merupakan kanker terbanyak di Indonesia yang menyebabkan kematian sampai 4,3 juta orang per tahun. Sampai saat ini pengobatan yang biasa dijalani oleh penderita kanker payudara adalah dengan melakukan kemoterapi, tetapi karena efek sampingnya yang relatif besar, banyak pengobatan alternatif mulai dikembangkan. Pengobatan menggunakan bahan herbal menjadi populer untuk menggantikan pengobatan kimiawi tidak hanya karena memiliki efek yang serupa, tetapi juga karena keamanannya. Salah satu agen khemopreventif dari bahan alam adalah menggunakan buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek ekstrak etanolik buah mengkudu dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara melalui uji sitotoksik dan uji apoptosis. Sebanyak 300 gram serbuk mengkudu diekstraksi dengan 2 Liter etanol kemudian diujikan terhadap sel kanker payudara MCF-7. Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT untuk mendapatkan nilai IC₅₀. Uji Induksi Apoptosis dilakukan dengan metode *double staining* menggunakan reagen etidium bromida-akridin oranye. Hasil penelitian menunjukkan nilai IC₅₀ adalah sebesar 1117 $\frac{1}{4}$ g/ml dan dari hasil pengamatan uji apoptosis menunjukkan adanya kenaikan apoptosis sel dengan peningkatan dosis pemberian ekstrak etanolik. Disimpulkan bahwa ekstrak etanolik buah mengkudu berpotensi sebagai agen kemopreventif melalui mekanisme induksi apoptosis pada sel MCF-7.

Kata kunci: *Morinda citrifolia* L., MCF-7, uji sitotoksik, induksi apoptosis

Abstract

*The incidence of breast cancer is the biggest one that causing a huge number of deadly in Indonesia until 4,3 million per years. Until this time, the common medication to threat the cancer by chemotherapy still popular, but because of the negative effect, many alternative herbal medicine was developed faster not only because the safety but also the effectivity to treat. One of the natural substance which can be used as chemopreventive agent is fruits *Morinda citrifolia* L. The purpose of the research is to know the effects of noni's extract as chemopreventive agent for breast cancer by inhibitory cell proliferation and the ability for apoptotic induction. Three hundred grams noni's flour extracted with 2 liters 70% ethanol then tested to MCF-7 breast cancer cell lines. Cytotoxic test was done by MTT assay method to get IC₅₀ value. Apoptotic assay was analyzed by double staining method used ethidium bromide-acrydine orange reagent. The result showed that IC₅₀ value of noni's extract was 1117 mg/ml and the result of apoptotic assay showed that in higher concentration of ethanolic extract could increased apoptotic induction. The conclusion of the research is noni's etanolic extract having potency as chemopreventive agent by increased apoptotic induction of MCF-7 cell lines.*

Keywords: *Morinda citrifolia* L., MCF-7, cytotoxicity assay, apoptotic induced

PENDAHULUAN

Kanker merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal dan tidak terkontrol.¹ Kanker payudara adalah kanker yang terjadi pada jaringan payudara dan umumnya diderita oleh wanita. Kanker payudara merupakan kanker terbanyak kedua setelah kanker leher rahim di Indonesia.² Diperkirakan, kematian akibat kanker di dunia mencapai 4,3 juta per tahun dan 2,3 juta di antaranya ditemukan di negara berkembang.³ Kanker payudara merupakan penyebab utama kematian pada wanita pada berbagai belahan dunia, disebabkan oleh metastasis dari kanker tersebut.⁴ Oleh karena itu, perlu dilakukan pencegahan terhadap penyakit kanker sedini mungkin mengingat resiko yang ditimbulkannya cukup besar.

Pencegahan kanker dapat dilakukan dengan cara menghindari faktor pencetus kanker dan memperbaiki pola makan yang lebih sehat. Khemoterapi merupakan salah satu terapi yang digunakan untuk mengobati kanker selain dengan metode pembedahan, radioterapi, dan pengobatan dengan hormone.⁵ Tetapi kebanyakan orang lebih memilih untuk tidak memeriksakan ataupun mengobati kanker tersebut menggunakan terapi medis seperti obat-obatan dan penyinaran dengan berbagai alasan, seperti takut akan adanya efek samping obat, biaya terapi yang cukup mahal serta takut akan ketergantungan terhadap obat-obat tersebut karena harganya yang relatif mahal. Oleh karena itu, pengobatan alternatif yang lebih minim efek samping dan lebih murah terus dikembangkan, salah satunya adalah dengan pengembangan tanaman obat yang berkhasiat sebagai agen khemopreventif.

Salah satu bahan alam yang dipercaya memiliki khasiat sebagai agen khemopreventif adalah buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Kandungan buah mengkudu di antaranya adalah golongan senyawa antrakuinon seperti damnachantal, alizarin dan proxeronine yang diduga sebagai senyawa yang bertanggung jawab atas aktivitasnya sebagai agen khemopreventif.⁶

Pada penelitian ini akan dilakukan uji sitotoksik dan pengamatan pemacuan apoptosis dari ekstrak etanolik buah mengkudu terhadap sel kanker payudara MCF-7. Uji dilakukan secara *in vitro* melalui uji sitotoksik dengan metode MTT dan uji apoptosis dengan metode *double staining* untuk mengetahui potensi antikanker dari ekstrak tersebut. Penelitian ini diharapkan mampu membuktikan ekstrak etanolik buah mengkudu sebagai agen khemopreventif kanker payudara yang potensial yang berasal dari bahan alam.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui efek ekstrak etanolik buah mengkudu dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara melalui uji sitotoksik dan uji apoptosis.

BAHAN DAN CARA

Penelitian dilakukan di laboratorium *Fitomedicine* Program Studi Farmasi FKIK UMY dan Laboratorium Parasitologi FK UGM pada bulan Februari - Mei 2012. Metode penelitian yang digunakan adalah metode penelitian eksperimental laboratorium, yang meliputi metode ekstraksi dan *in vitro*. Alat penelitian yang digunakan di antaranya adalah seperangkat alat ekstraksi, alat gelas, lampu UV, *Laminar Air Flow* (LAF), mikropipet, cawan petri, timbangan, oven, inkubator, mikroskop, *well plate*,

cover slip dan sebagainya. Bahan penelitian yang digunakan di antaranya adalah buah mengkudu, etanol 70%, media kultur DMEM, tripsin-EDTA, reagen MTT, etidium bromida, akridin oranye, dan sebagainya.

Ekstraksi buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dilakukan dengan cara buah mengkudu yang sudah berwarna kuning dipanen di daerah Kotagede, Yogyakarta. Sebanyak 5 kg buah mengkudu yang sudah dipanen dan dipilih berdasarkan keseragaman kekerasan dan warna dicuci bersih dengan air mengalir sebanyak tiga kali untuk memastikan bahwa buah mengkudu sudah benar-benar bersih dari kotoran yang menempel, kemudian buah mengkudu dipotong tipis-tipis dan dikeringkan pada oven dengan suhu 60°C sampai benar-benar kering.

Simplisia yang sudah kering kemudian diserbuk dengan menggunakan blender. Penyerbukan dilakukan untuk memperkecil ukuran dan mempermudah penarikan zat aktif dari simplisia. Serbuk halus yang didapat sebanyak 300 gram. Setelah didapatkan serbuk halus kemudian dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi.

Pada proses maserasi, pelarut yang digunakan adalah etanol teknis 70%. Sebanyak 300 gram serbuk mengkudu dibagi ke dalam 2 bejana. Masing-masing bejana berisi 150 gram serbuk yang dimaserasi dengan 700 ml etanol. Kemudian bejana ditutup dengan kain hitam agar terhindar dari kontak langsung dengan sinar matahari. Maserasi dilakukan selama 5 hari. Selama proses maserasi bejana digojog setiap hari. Setelah 5 hari kemudian dilakukan penyaringan. Sisa penyaringan di remaserasi selama 2 hari tanpa penggojogan. Maserat hasil penyaringan yang pertama disimpan dalam

erlenmeyer dan ditutup dengan kain hitam. Setelah 2 hari, dilakukan penyaringan hasil remaserasi. Hasil dari seluruh penyaringan kemudian dievaporasi agar didapatkan ekstrak kental. Dari hasil evaporasi didapatkan ekstrak kental sebanyak 85 gram.

Uji sitotoksik ekstrak etanolik buah mengkudu pada sel MCF-7. Uji sitotoksik dilakukan menurut metode yang dilakukan oleh Meiyanto *et al.*, 2009.⁷ Dalam uji sitotoksik hal pertama yang dilakukan adalah persiapan media. Larutan DMEM dibuat dengan melarutkan DMEM dalam aquadest, lalu ditambah 2,0 gram NaHCO₃ dan 2,0 gram Hepes. Larutan selanjutnya di-stirer sampai homogen kemudian di-buffer dengan HCl encer 1N hingga pH 7,2-7,4 diukur dengan pH meter. Selanjutnya larutan disaring dengan filter polietilen sulfon steril 0,2µm secara aseptis. Media kultur dibuat dengan cara mencampurkan larutan DMEM steril dengan FBS 10%, dan penisilin-streptomisin 1% secara aseptis di dalam LAF. Setelah media kultur disiapkan, kemudian disiapkan sel kanker yang akan digunakan untuk uji sitotoksik. Sel diambil dari inkubator CO₂ kemudian diamati terlebih dahulu, untuk dapat memanen sel harus dipastikan terlebih dahulu bahwa sel telah 80% konfluen. Media tempat tumbuh sel kemudian dibuang dan sel dicuci dengan PBS sebanyak 2 kali. Selanjutnya ditambahkan tripsin-EDTA 1x dan diinkubasi di dalam inkubator selama 3 menit. Setelah itu ditambahkan media ± 5 ml dan diresuspensi untuk kemudian dimasukkan ke dalam *conical* steril. Kemudian dilakukan preparasi sampel.

Preparasi sampel diawali dengan penimbangan sampel kurang lebih 5 mg dalam ependorf dan ditambahkan 50 µl DMSO dan dilarutkan dengan *vortex*. Kemudian dibuat seri kadar sampel dengan

pengenceran stok dalam DMSO menggunakan media kultur. Setelah itu dilakukan perhitungan sel.

Sel diambil dari inkubator CO₂ kemudian media tempat tumbuh dibuang dan sel dicuci dengan PBS sebanyak 2 kali. Selanjutnya ditambahkan tripsin-EDTA 1x dan diinkubasi dalam inkubator selama 3 menit. Setelah itu ditambahkan 2-3 ml media dan diresuspensi kemudian dimasukkan ke dalam *conical* steril dan diresuspensi kembali dengan menambahkan 2-3 ml media kultur. Selanjutnya diambil 10 µl sel yang sudah dipanen dan dimasukkan ke dalam hemositometer kemudian sel dihitung di bawah mikroskop. Untuk sel yang akan diberi perlakuan dilakukan transfer sejumlah sel yang diperlukan ke dalam *conical* yang lain dan ditambahkan media kultur sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan.

Uji sitotoksik dilakukan dengan mengambil sel dari inkubator CO₂ kemudian sel dipindahkan ke dalam sumuran masing-masing 100 µl dan disisakan 3 sumuran kosong. Selanjutnya sel diinkubasi kedalam inkubator kemudian dibuat seri konsentrasi sampel untuk perlakuan. Setelah terbentuk seri konsentrasi sampel kemudian sel diambil dari inkubator dan media sel dibuang. Selanjutnya dimasukkan 100 µl PBS ke dalam semua sumuran yang terisi sel kemudian dibuang dengan membalikkan plate dan sisa cairan ditiriskan dengan tissue. Selanjutnya seri konsentrasi dimasukkan ke dalam sumuran kemudian diinkubasi selama 24 jam. Setelah diinkubasi sel dikeluarkan dari inkubator dan media sel di buang dan di cuci dengan PBS 1x kemudian ditambahkan reagen MTT 100 µl ke dalam tiap sumuran termasuk kontrol media dan diinkubasi selama 2-4 jam sampai terbentuk formazan. Setelah terbentuk formazan ditambah-

kan stopper 100 µl SDS 10% dalam 0,1 N HCl. Selanjutnya *plate* dibungkus alumunium foil dan diinkubasi di tempat yang gelap pada suhu kamar selama satu malam. Hasil kemudian dibaca dengan *ELISA reader* dengan panjang gelombang 595 nm untuk mendapatkan data absorbansinya. Selanjutnya data absorbansi yang telah didapatkan diolah dengan *software* Excel untuk mendapatkan regresi linear yang kemudian digunakan untuk menghitung persentase sel hidup dan analisis harga IC₅₀.

Uji Apoptosis ekstrak etanolik buah mengkudu pada sel MCF-7. Uji sitotoksik dilakukan menurut metode yang dilakukan oleh Da'i *et al.*, 2007.⁸ Pengamatan apoptosis dilakukan dengan menggunakan metode *Double staining*. Sel diambil dari inkubator CO₂ kemudian dilakukan panen sel dan perhitungan sel. Selanjutnya membuat pengenceran suspensi sel sehingga didapatkan konsentrasi sel akhir 5x10⁴ sel/1000 ¼l MK kemudian disiapkan 24 *well plate* dan *cover slip*. Selanjutnya 1000 ¼l suspensi sel dipindahkan ke atas *cover slip* yang telah dimasukkan ke dalam sumuran untuk kemudian diinkubasi dalam inkubator selama semalam. Selanjutnya dibuat satu konsentrasi sampel yaitu pada IC₅₀ untuk perlakuan dan satu kontrol sel, masing-masing sebanyak 1000 ¼l. Kemudian sel yang telah diinkubasi diambil dan buang semua MK secara hati-hati dan dicuci dengan PBS masing-masing 500 µl dan kemudian PBS dibuang perlahan. Selanjutnya sampel dengan konsentrasi tertentu dimasukkan sebanyak 1000 µl ke dalam sumuran. Untuk kontrol sel digunakan media dan untuk kontrol pelarut digunakan pelarut DMSO kemudian plate diinkubasi dalam inkubator selama 10 jam. Setelah inkubasi selesai *plate* dikeluarkan dari inkubator dan semua media dikeluarkan dari

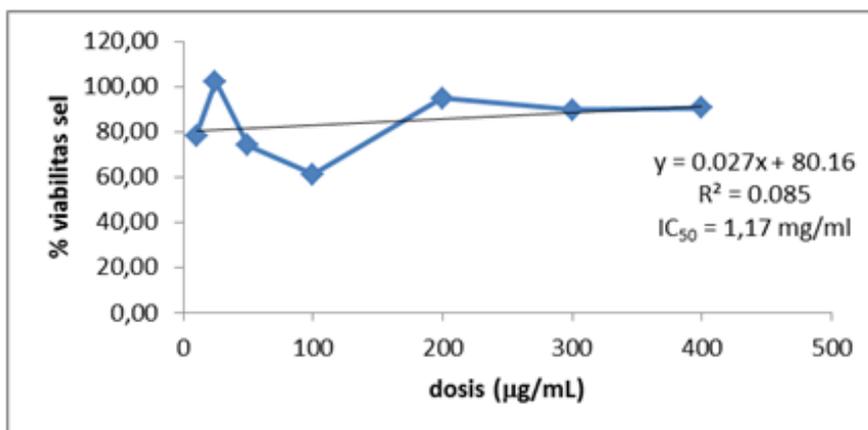
sumuran secara perlahan. Selanjutnya sel dicuci dalam sumuran dengan PBS masing-masing 500 µl kemudian PBS dibuang dengan hati-hati. Setelah PBS dibuang *cover slip* diambil menggunakan pinset dengan bantuan ujung jarum dengan hati-hati. Selanjutnya di atas *object glass* diletakkan *cover slip* dan diberi label. Selanjutnya sel ditetesi dengan reagen campuran etidium bromida-akridin oranye di atas *cover slip* dan digoyang perlahan untuk meratakan. Selanjutnya hasil diamati di bawah mikroskop flouresen.

HASIL

Dalam uji aktivitas antikanker ini digunakan ekstrak etanolik buah mengkudu di mana yang diduga memiliki aktivitas antikanker adalah senyawa antrakuinon yang ada di dalamnya yakni senyawa damnachantal, alizarin dan proxeronine.⁶ Ekstraksi dilakukan menggunakan penyari etanol 70% karena senyawa-senyawa tersebut bersifat relatif polar, sehingga diharapkan senyawa tersebut akan tersari pada ekstrak yang diperoleh. Hasil uji pendahuluan analisis kandungan senyawa kimia pada ekstrak menggunakan metode kromatografi lapis

tipis (KLT) diketahui bahwa ekstrak mengandung senyawa antrakinon ditunjukkan dari adanya bercak khas yang menunjukkan adanya senyawa tersebut. Selanjutnya untuk menguji aktivitas ekstrak etanolik buah mengkudu sebagai agen kemopreventif kanker payudara yang potensial dilakukan dua uji yaitu uji sitotoksik menggunakan metode MTT dan uji induksi apoptosis menggunakan metode *double staining* dengan pengecatan etidium bromide-akridin oranye.⁷ Hasil perhitungan uji sitotoksik, diketahui bahwa ekstrak etanolik buah mengkudu memiliki potensi cukup rendah dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7 ditunjukkan dari harga IC_{50} sebesar 1,17 mg/mL (Tabel 1). Menurut penelitian Ueda *et al.* (2002) disebutkan bahwa suatu ekstrak dinyatakan aktif dan memiliki potensi besar untuk dijadikan agen antikanker apabila nilai IC_{50} -nya kurang dari 100 ¼ g/mL.⁹

Nilai tersebut menunjukkan bahwa dengan konsentrasi yang diujikan masih belum mampu menghambat 50% pertumbuhan dari sel kanker MCF-7 (**Gambar 1**). Tetapi bukan berarti dengan nilai IC_{50} yang sangat kecil, ekstrak tersebut se-



Gambar 1. Grafik Hasil Uji Sitotoksik Ekstrak Buah *Morinda citrifolia* L. pada Sel MCF-7

makin berpotensi. Hal tersebut disebabkan kekawatiran dari sifat toksisitas yang berlebihan akan menyebabkan kematian pada sel jaringan yang lain sehingga ekstrak tersebut bukan hanya menghambat pertumbuhan sel kanker tetapi juga menghambat pertumbuhan sel normal.

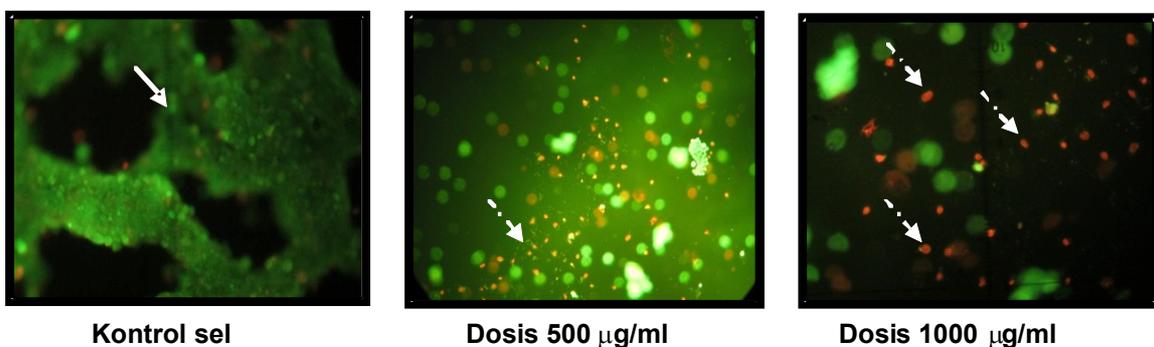
Pengamatan kematian sel dapat dilihat dari hasil uji induksi apoptosis. Apoptosis merupakan kematian sel yang terprogram yang tidak menyebabkan terjadinya inflamasi dan luka pada jaringan. Uji induksi apoptosis ekstrak etanolik buah mengkudu terhadap sel MCF-7 dilakukan dengan penambahan etidium bromida dan akridin oranye (*double staining*). Ekstrak etanolik buah mengkudu diberikan dalam dua variasi dosis yakni dosis 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan dosis 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Dosis yang diujikan lebih besar dari dosis uji sitotoksik sehingga diharapkan mempunyai efek apoptosis yang lebih tinggi. Sel yang hidup akan berfluorosensi hijau dengan penambahan etidium bromida, hal ini disebabkan karena enzim di dalam mitokondria tidak mengalami kerusakan, sel yang tidak rusak akan dapat bereaksi dengan reagen etidium bromida yang berwarna hijau, sedangkan sel yang rusak akan dapat menyerap reagen akridin oranye sehingga sel yang mati akan berfluorosensi oranye

dengan pengamatan dibawah mikroskop fluorescence. Hasil pengamatan dapat dinyatakan bahwa ekstrak etanolik buah mengkudu dapat menginduksi apoptosis sel MCF-7 dan aktivitasnya meningkat dengan semakin tingginya pemberian dosis ekstrak (*dose dependent*) (**Gambar 2**).

DISKUSI

Buah mengkudu merupakan salah satu obat tradisional yang sudah cukup dikenal masyarakat. Beberapa khasiat dari penggunaan buah mengkudu di antaranya sebagai anti diabetes, menurunkan tekanan darah, kanker, artritis, aterosklerosis, mengurangi rasa nyeri dan sebagainya. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa buah mengkudu mempunyai aktivitas antitumor yang cukup potensial pada hewan uji dengan menghambat pertumbuhan tumor dengan potensi perbaikan yang cukup tinggi.⁶

Pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa jus buah mengkudu tidak bersifat sitotoksik pada beberapa sel kultur (sel kanker paru-paru Lewis, sel sarkoma 180, normal sel NIH/3T3), tetapi secara tidak langsung dapat mematikan sel kanker melalui aktivasi sistem imun seluler dengan menstimulasi aktivitas makrofag, sel *natural killer* (NK



Gambar 3. Hasil Uji Apoptosis Ekstrak Buah *Morinda citrifolia* L. Pada Sel MCF-7 (tanda \longrightarrow menunjukkan sel hidup, tanda $\cdots\cdots\longrightarrow$ menunjukkan sel apoptosis)

cells), dan sel T. Oleh karena itu, jus buah mengkudu merupakan salah satu imunostimulator yang kuat sebagai antitumor tanpa efek toksik yang membahayakan pasien.⁶

Kandungan senyawa antrakuinon, skopoletin, flavonoid dan alkaloid yang terdapat dalam buah mengkudu yang bersifat relatif polar diharapkan dapat tersari dengan menggunakan penyari etanol 70%, sehingga diharapkan mempunyai efek sitotoksik yang lebih kuat dibandingkan dengan jus buah mengkudu.¹⁰ Hal ini dikarenakan penyari etanol 70% bersifat semi polar dan sesuai dengan polaritas senyawa flavonoid yang terkandung di dalam buah mengkudu, sehingga diharapkan kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak tersebut akan semakin besar. Kemungkinan mekanisme ekstrak etanolik buah mengkudu terutama dari kandungan senyawa flavonoid di dalamnya adalah dengan menghambat sintesis DNA dan protein serta mampu menghambat sintesis RNA sehingga menyebabkan replikasi pada sel kanker payudara MCF-7 menjadi terganggu. Terganggunya proliferasi sel akan menghambat biosintesis membran sel sehingga mengakibatkan gangguan fungsi sel. Selanjutnya sel akan mengalami lisis dan kemudian mati.⁶

Hasil kedua uji tersebut dapat dilihat bahwa ekstrak etanolik buah mengkudu memiliki potensi sebagai agen khemopreventif melalui mekanisme induksi apoptosis, karena dari hasil apoptosis terlihat kematian sel yang cukup tinggi seiring dengan kenaikan dosis uji yang digunakan. Senyawa yang diduga berpotensi adalah golongan senyawa antrakuinon antara lain damnachantal, alizarin dan proxeronine yang pada penelitian sebelumnya telah terbukti memiliki khasiat sebagai antioksidan dan

antibakteri.⁶ Hal ini memberikan harapan yang besar terhadap pemanfaatan tanaman khususnya buah mengkudu sebagai agen khemopreventif pada kanker payudara, sehingga dari hasil tersebut dapat disimpulkan buah mengkudu akan dapat dijadikan salah satu alternatif terapi untuk mencegah, menghambat, mengobati dan merehabilitasi pertumbuhan sel kanker payudara.

SIMPULAN

Ekstrak etanolik buah mengkudu *Morinda citrifolia* L. mempunyai aktivitas sitotoksik yang lemah pada sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai IC₅₀ sebesar 1117 ¼ g/mL. Pada hasil uji apoptosis diketahui bahwa pada pemberian ekstrak dosis 500 dan 1000 ¼ g/mL mampu meningkatkan induksi apoptosis pada sel kanker payudara MCF-7.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hanahan D. dan Weinberg, RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. 2011; 144 (5): 646-674.
2. Tjindarbumi, D. and Mangunkusumo, R. Cancer in Indonesia, Present and Future. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 1995; 32 (Supplement 1): 517-521.
3. Parkin DM, Bray F., Ferlay J., Pisani P. Global Cancer Statistic, 2002. *CA Cancer J. Clin.* 2005; 55 (2):74-108.
4. Walker, R.A., Jones, J.L., Chappel, S., Walsh, T. and Shaw, J.A. Molecular Pathology of Breast Cancer and Its Application To Clinical Management. *Cancer and Metastasis Rev.* 1997; 16 (1-2): 5-27.
5. Dalimartha, S. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Volume 3. Jakarta : Niaga Swadaya. 1999.
6. Furusawa, E. Anticancer Activity of Noni Fruit

- Juice Against tumors in Mice. *Proceedings of the 2002 Hawaii Noni Conference*. USA: University Of Hawaii at Manoa. 2002.
7. Meiyanto, E., Handayani S., Setisetyani, E.P., Susidarti, R.A. Synergistic Effect of *Areca catechu* L. Ethanolic Extract and its Chloroform Fraction with Doxorubicin on MCF-7. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2009; 7 (1): 13-18.
 8. Dai M., Supardjan AM., Meiyanto E., Jenie UA., and Masashi K. Potensi Proliferatif Analog Kurkumin: Pentagamavunon terhadap Sel Kanker Payudara T47D, *Artocarpus*, 2007; 7 (1):14-20.
 - 9 Ueda, J.Y., Tezuka, Y., Banskota., A.H., Tran, Q.L., Tran, Q.K., Harimaya, Y., et al. Antiproliferative Activity of Vietnamese Medicinal Plants, *Biol. Pharm. Bull.* 2002; 25 (6): 753-760.
 - 10 Febriansah, R., Aditya Asyhar, Rosana Anna A., Ratna Asmah S., Muthi' Ikawati, dan Edy Meiyanto. Ekstrak Etanolik Rumput Mutiara (*Hedyotis corymbosa*) Berefek Antiproliferasi terhadap Sel Hepar Tikus Galur *Sprague Dawley* Terinduksi 7, 12 Dimetil Benz(a)antrazena Melalui Penghambatan Ekspresi Protein c-Myc, *Proceeding Kongres Ilmiah XVI Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia*. 2008. pp. 88–93.