

GAMBARAN HISTOPALOGIK PAYUDARA MENCIT (*MUS MUSCULLUS*) YANG DIINDUKSI DENGAN SENYAWA KARSINOGENIK *BENZO(A)PYRENE* DAN DIBERIKAN EKSTRAK BUAH MENGGUDU (*MORINDA CITRIFOLIA* L)

¹Nindy P. Husain

²Carla F. Kairupan

²Meilany F. Durry

¹Kandidat Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado

²Bagian Patologi Anatomi Sam Ratulangi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi
Manado

Email: nindymedical11@gmail.com

Abstract: Breast cancer has the highest incidence of all cancers in women worldwide. Its etiology is still unknown, however, there are several risk factors considered as the primary contributors to the occurrence of breast cancer including life style, reproduction, genetic mutation, and hormonal imbalance. Benzo(α)pyrene, a polycyclic aromatic hydrocarbon compound (PAH), is known as a carcinogenic agent that can cause genetic mutations. Noni (*Morinda citrifolia* L) can be used as a natural medicine because it contains active compounds such as anti-microbial (anthraquinone), anti-cancer (damnacanthal), proxeronin, alkaloids, minerals, vitamins, and some essential amino acids. This study aimed to determine the differences between the histopathologic features of the breasts of female mice administered and not administered with noni fruit (*Morinda citrifolia* L) after induction with benzo(α)pyren. This was an experimental study. There were 16 female mice approximately \pm 2 months old with body weight approximately 20 gr divided into 4 groups: 1) Negative control, without any treatment for 28 days and mice were terminated on day 29. (2) Treatment I, breasts were injected with benzo(α)pyrene 0.3 mg/head/day subcutaneously for 14 days and mice were terminated on day 29; 3) Treatment II, breasts were injected with benzo(α)pyrene 0,3 mg/head/day subcutaneously for 14 days and mice were administered with noni fruit extract 0.5 mg/head/day on days 15-35 and mice were terminated on day 36; and 4) Treatment III, breasts were injected with benzo(α)pyrene 0,3 mg/head/day subcutaneously for 14 days and mice were administered with noni fruit extract 1.5 mg/head/day on day 15-35 and then were terminated on day 36. The results showed that the negative control group showed normal microscopic features of breast tissues. Treatment I group presented hyperplasia of the columnar epithelial cells lining the lactiferous ducts ($>$ 4 layers) as well as cells with coarse nucleus chromatin and inflammatory cells. Treatment II and treatment III groups still presented hyperplasia of the columnar epithelial cells in milder manifestation than that of treatment I group ($<$ 4 layers). **Conclusion:** Microscopic features of mice breasts induced with benzo(α)pyrene showed hyperplasia of the columnar epithelial cells of lactiferous ducts ($>$ 4 layers) while those of the mice administered with noni fruit extract after being induced with benzo(α)pyrene showed milder hyperplasia of the columnar epithelial cells ($<$ 4 layers).

Keywords: Benzo(α)pyren, noni, hyperplasia, breast.

Abstrak: Kanker payudara merupakan jenis kanker dengan insidensi terbanyak dari semua jenis kanker pada perempuan di seluruh dunia. Penyebab kanker payudara masih belum diketahui, namun ada beberapa faktor yang merupakan kontributor utama dalam pertumbuhan kanker, diantaranya gaya hidup, reproduksi, faktor genetik, dan ketidakseimbangan hormonal. *Benzo(α)pyrene* merupakan senyawa polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) yang bersifat

karsinogenik dan dapat menyebabkan mutasi genetik. Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L) dapat digunakan sebagai obat alami karena mengandung senyawa-senyawa aktif berupa anti mikroba (*antraquinone*), anti kanker (*damnacanthal*), proxeronin, alkaloid, mineral, vitamin dan beberapa asam amino esensial. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan gambaran histopatologik antara payudara mencit betina yang diberi dan tidak diberi ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L) setelah diinduksi dengan *benzo(a)pyrene*. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik. Hewan uji ialah 16 ekor mencit betina berumur \pm 2 bulan dengan berat badan 20 gr yang dibagi menjadi 4 kelompok: 1) Kelompok kontrol negatif (KN), mencit tidak diberi perlakuan selama 28 hari dan diterminasi hari ke-29; 2) Kelompok perlakuan I (KP-I), payudara mencit diinduksi *benzo(a)pyrene* 0,3 mg/ekor/hari secara subkutan selama 14 hari dan diterminasi hari ke-29; 3) Kelompok perlakuan II (KP-II), payudara mencit diinduksi *benzo(a)pyrene* 0,3 mg/ekor/hari secara subkutan selama 14 hari dan mencit diberi ekstrak buah mengkudu 0,5 mg/ekor/hari pada hari ke 15-35 dan diterminasi hari ke-36; dan 4) Kelompok perlakuan III (KP-III), payudara mencit diinduksi *benzo(a)pyrene* 0,3 mg/ekor/hari secara subkutan selama 14 hari dan mencit diberi ekstrak buah mengkudu 1,5 mg/ekor/hari pada hari ke 15-35 dan diterminasi hari ke-36. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa pada KN didapatkan gambaran mikroskopik jaringan payudara mencit yang normal. Pada KP-I didapatkan hiperplasia sel epitel kolumnar duktus laktiferi payudara (>4 lapis sel) dengan kromatin inti kasar dan berwarna ungu gelap, serta adanya sel-sel radang di jaringan ikat. Pada KP-II dan III masih didapatkan hiperplasia sel epitel kolumnar duktus laktiferi namun lebih ringan dari KP-I (<4 lapis sel). **Simpulan:** Gambaran mikroskopik payudara mencit yang diinduksi *benzo(a)pyrene* menunjukkan adanya hiperplasia sel epitel kolumnar duktus laktiferi (> 4 lapis) sedangkan payudara mencit-mencit yang diberikan ekstrak buah mengkudu setelah diinduksi dengan *benzo(a)pyrene* menunjukkan hiperplasia sel epitel yang lebih ringan (< 4 lapis).

Kata kunci: *benzo(a)pyren*, mengkudu, hiperplasia, payudara

Data dari *Globocan International Agency for Research on Cancer* (IARC) tahun 2008, kanker payudara menempati urutan pertama dari seluruh jenis kanker pada perempuan di seluruh dunia. Perhitungan risiko kumulatif pada usia 0-74 tahun, insiden kanker payudara di negara maju sebesar 7,1% dengan mortalitas sebesar 1,7%, sedangkan di negara berkembang sebesar 2,8% dengan mortalitas 1,3%.¹ Data dari Sistem Informasi Rumah sakit (SIRS) tahun 2010 menunjukkan bahwa kanker payudara menempati urutan pertama pada pasien rawat inap di seluruh rumah sakit yang tersebar di Indonesia dengan jumlah kasus 12.014 (28,7%) yang disusul kanker leher rahim sebanyak 5.349 kasus (12,8%).²

Penyebab kanker payudara masih belum diketahui, namun ada beberapa faktor resiko yang berperan sebagai kontributor utama dalam pertumbuhan kanker diantaranya faktor gaya hidup seperti merokok, makanan, konsumsi alkohol; reproduksi seperti hamil, menyusui, umur, menarke, menopause; obesitas; faktor genetik dan ketidak-

seimbangan hormonal.^{3,4}

Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) merupakan senyawa karsinogenik yang banyak ditemukan pada makanan yang dipanggang dengan kayu atau arang. Salah satu golongan senyawa PAH yaitu *Benzo(a)pyrene*.⁵ Karena struktur molekulnya, senyawa ini dapat dengan mudah menyisipkan diri dan membentuk kompleks dengan *deoxyribonucleic acid* (DNA) secara permanen sehingga dapat menyebabkan mutasi genetik.^{6,7}

Pada dekade terakhir telah banyak upaya penggunaan obat anti kanker dari produk alami. Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L) atau yang dikenal dengan sebutan "Noni" merupakan salah satu tanaman tropis yang hidup dan tumbuh di Indonesia. Tanaman ini telah digunakan sebagai obat alami selama berabad-abad dengan khasiat anti inflamasi, anti bakteri, anti virus, anti jamur, dan anti tumor.⁸⁻¹⁴

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan hewan coba mencit betina. Penelitian dilakukan

pada bulan Oktober 2014 sampai Januari 2015 di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi. Sampel penelitian ini adalah 16 ekor mencit betina berumur \pm 2 bulan dengan berat badan \pm 20 gr. Mencit dibagi menjadi 4 kelompok dengan perlakuan yang berbeda-beda yaitu: 1) Kelompok kontrol negatif (KN) terdiri dari 5 ekor mencit betina yang diberi pakan standar dan diterminasi pada hari ke-29; 2) Kelompok perlakuan I (KP-I) terdiri dari 5 ekor mencit betina yang diberi *benzo(a)pyrene* 0,3 mg/ekor/hari dan diterminasi pada hari ke-29; 3) Kelompok perlakuan II (KP-II) terdiri dari 3 ekor mencit betina yang diberi *benzo(a)pyrene* 0,3 mg/ekor/hari dan ekstrak buah mengkudu 0,5 mg/ekor/hari selama 21 hari (hari ke 15-35) dan diterminasi hari ke-36; dan 4) Kelompok perlakuan III (KP-III) terdiri dari 3 ekor mencit betina yang diberi *benzo(a)pyrene* 0,3 mg/ekor/hari dan ekstrak buah mengkudu 1,5 mg/ekor/hari selama 21 hari (hari ke 15-35) dan diterminasi hari ke-36.

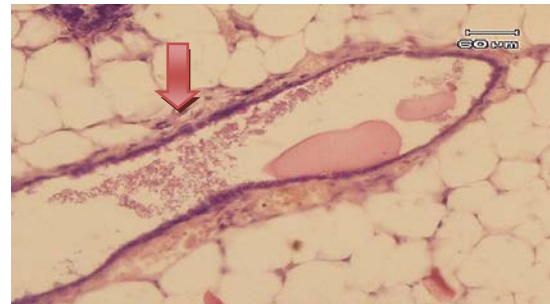
Senyawa karsinogenik *benzo(a)pyrene* diberikan dalam bentuk larutan. Larutan *benzo(a)pyrene* dibuat dengan cara melarutkan 100 mg serbuk kristal kuning dengan 100 ml minyak zaitun. Dosis yang diberikan ialah 0,3 mg/ekor/hari selama 14 hari. Larutan *benzo(a)pyrene* disuntikan secara subkutan pada daerah payudara kanan atas mencit.

Ekstrak buah mengkudu yang berbentuk pasta diekstraksi dari \pm 4 kg buah mengkudu melalui metode maserasi dan evaporasi. Pemberian ekstrak buah mengkudu dilakukan secara oral menggunakan alat sonde. Dosis ekstrak buah mengkudu yang digunakan ialah 0,05 mg/ekor/hari dan 0,15 mg/ekor/hari.

HASIL PENELITIAN

Kelompok Kontrol Negatif (KN)

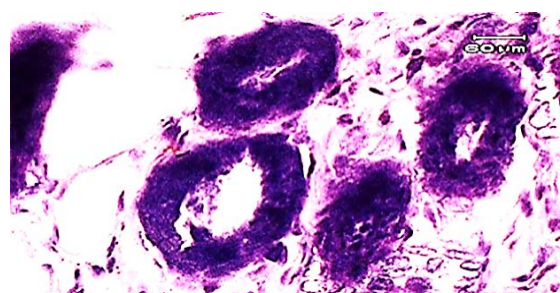
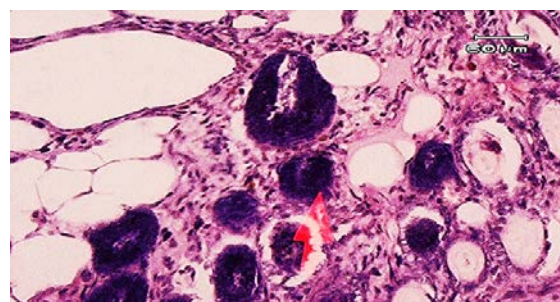
Secara mikroskopik payudara mencit kelompok KN memperlihatkan gambaran histologik jaringan payudara yang normal. Tampak 1-2 lapis sel epitel kolumnar yang mengitari duktus laktiferi (Gambar 1).



Gambar 1. Gambaran mikroskopik payudara mencit kelompok KN. Keterangan: Pembesaran 100 kali. Panah merah: sel-sel epitel kolumnar duktus laktiferi.

Kelompok Perlakuan I (KP-I)

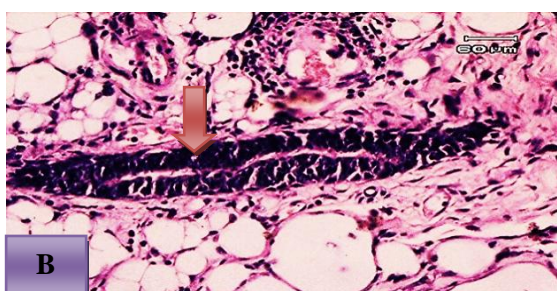
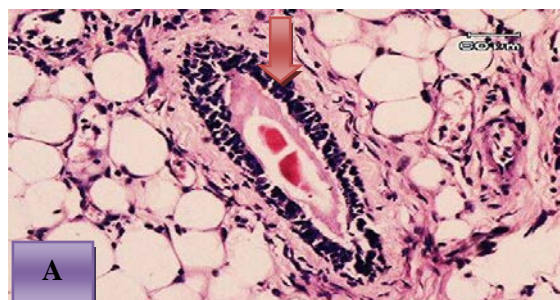
Secara mikroskopik payudara mencit KP-I menunjukkan adanya penebalan/hiperplasia sel-sel epitel kolumnar duktus laktiferi (>4 lapis sel) dengan kromatin inti kasar dan berwarna ungu gelap, serta sel-sel radang pada jaringan ikat (Gambar 2).



Gambar 2. Gambaran mikroskopik payudara mencit KP-I. Keterangan: A) pembesaran 100 kali; B) pembesaran 400 kali. Panah merah: sel-sel epitel kolumnar duktus laktiferi.

Kelompok Perlakuan II (KP-II)

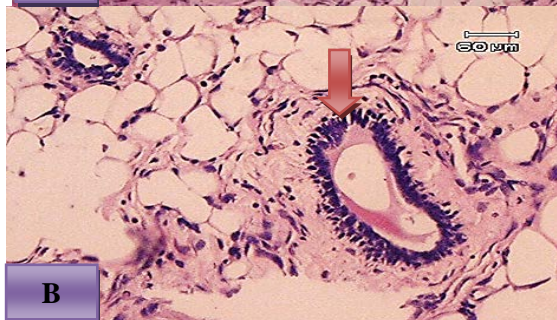
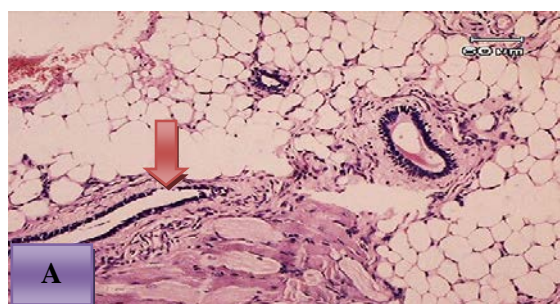
Secara mikroskopik payudara mencit KP-II menunjukkan adanya penebalan/hiperplasia sel epitel kolumnar dinding duktus laktiferi (3-4 lapis sel) dengan kromatin inti kasar berwarna ungu gelap, serta adanya sel-sel radang pada jaringan ikat (Gambar 3).



Gambar 3. Gambaran mikroskopik payudara mencit KP-II. Keterangan: A) pembesaran 100 kali; B) pembesaran 400 kali. Panah merah: sel-sel epitel kolumnar duktus laktiferi.

Kelompok Perlakuan III (KP-III)

Secara mikroskopik payudara mencit KP-III menunjukkan penebalan/ hiperplasia sel epitel kolumnar duktus laktiferi (2-3 lapis sel) dengan kromatin inti kasar dan berwarna ungu gelap, serta sel-sel radang pada jaringan ikat (Gambar 4).



Gambar 4. Gambaran mikroskopik payudara mencit KP-III. Keterangan: A) pembesaran 100 kali; B) pembesaran 400 kali. Panah merah: sel-sel epitel kolumnar duktus laktiferi.

BAHASAN

Kanker payudara merupakan tumor ganas yang memperlihatkan proliferasi keganasan sel epitel yang membatasi duktus atau lobus payudara.¹⁵ *Benzo(a)pyrene* merupakan senyawa kimia dari golongan polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) bersifat karsinogenik (prokarsinogen) yang merupakan salah satu kontributor dalam memicu pertumbuhan kanker.⁵⁻⁷ Senyawa damnakantal yang terkandung di dalam tanaman mengkudu dikenal sebagai senyawa yang potensial dalam pencegahan dan pengobatan kanker payudara.^{9,11} Penelitian ini memberikan data mengenai gambaran histopatologik payudara mencit betina yang diinduksi senyawa karsinogenik *benzo(a)pyrene* dan diberikan ekstrak buah mengkudu.

Secara mikroskopik payudara mencit-mencit yang diinduksi *benzo(a)pyrene* 0,3 mg/ekor/hari (KP-I, II, dan III) menunjukkan gambaran payudara yang abnormal, sesuai dengan gambaran pertumbuhan awal suatu kanker. Gambaran mikroskopik dari payudara mencit betina yang diinduksi *benzo(a)pyrene* menunjukkan bahwa sel-sel epitel kolumnar duktus laktiferi mengalami penebalan/hiperplasia (>4 lapis sel pada KP I dan <4 lapis sel pada KP II & III) dengan kromatin inti kasar dan berwarna ungu gelap.

Senyawa karsinogenik *benzo(a)pyrene* dapat menginduksi mutasi DNA sehingga mengakibatkan sel normal menjadi sel neoplastik. Senyawa *benzo(a)pyrene* yang disuntikan secara subkutan akan dimetabolisme oleh tubuh di hati. Namun, sebelum tubuh memetabolismenya, senyawa *benzo(a)pyrene* yang tergolong senyawa aromatik ini akan mengalami aktivasi metabolit berupa reaksi epoksida (reaksi yang terjadi untuk pengaktifan senyawa aromatik). Setelah menjadi aktif, senyawa ini kemudian menyisipkan diri dan berikatan dengan bagian nukleofil (spesimen DNA yang memiliki atom bebas pasangan elektron) yang terdapat di gugus fosfat dari DNA sel lokal di sekitar daerah paparan. Akibatnya, DNA dari sel-sel tersebut mengalami kerusakan. Adanya

kerusakan DNA membuat tubuh akan berusaha untuk melakukan perbaikan DNA (DNA repair) agar DNA sel menjadi normal kembali. Bila perbaikan ini tidak berhasil maka sel yang memiliki DNA abnormal tersebut akan dimusnahkan (dieleminasi) oleh tubuh. Apabila proses eksekusi ini juga tidak mampu dilakukan oleh tubuh, maka sel yang mengandung DNA yang rusak akan bersifat permanen (menetap) dan akan mengalami proliferasi serta diferensiasi. Selain itu, senyawa *benzo(α)pyrene* yang terpapar dengan tubuh akan dikenali sebagai benda asing, sehingga tubuh melakukan perlawanan dengan mengirimkan sel-sel pertahanan (PMN, leukosit, TNF, Sitokin IL-1, IL-6,) ke tempat terpapar karsinogen dan terjadi respon imunitas seluler antara *host* (tubuh) dengan jamur (karsinogen).^{16-18,20} Dengan demikian pada gambaran histopatologi akan tampak sel-sel yang berproliferasi dengan perubahan/ciri-ciri keganasan serta adanya abses sel-sel radang seperti yang terlihat pada gambaran mikroskopis payudara mencit yang diinduksi *benzo(α)pyrene* pada penelitian ini. Penggunaan *benzo(α)pyrene* sebagai senyawa karsinogenik yang dapat menginduksi terjadinya suatu keganasan juga telah dilakukan oleh Samosir (2014),²¹ yang mendapatkan tanda awal keganasan pada gambaran mikroskopik berupa banyaknya jaringan ikat payudara yang menutupi duktus-ductus payudara.

Tanaman mengkudu dapat dijadikan bahan obat tradisional untuk terapi penyakit kronik termasuk penyakit kanker. Hal ini berhubungan dengan efek dari mengkudu sebagai imunomodulator yang membantu mekanisme aktivasi imunitas seluler dan humoral dari sistem kekebalan inang, yaitu dengan meningkatkan jumlah sel-sel leukosit, fungsi fagosit, dan jumlah populasi serta aktivasi dari limfosit T. Mekanisme dalam memusnahkan sel-sel kanker dilakukan juga oleh senyawa damnakantal yang terkandung dalam tumbuhan mengkudu. Damnakantal bekerja dengan cara menghambat pada fase G1 dalam siklus sel sehingga terjadi

keterlambatan sintesis DNA dan biosintesis RNA agar proses replikasi DNA dan histone dapat dikendalikan. Selanjutnya damnakantal menginduksi aktivitas dan pengeluaran gen *P53* dan gen *P21*, serta menginduksi terjadinya proses apoptosis di jalur mitokondria atau jalur intrinsik.^{9-12,14}

Secara mikroskopik payudara mencit betina KP-II dan KP-III menunjukkan perbedaan; tampak terjadi hiperplasia sel epitel kolumnar duktus laktiferi yang lebih ringan (2-3 lapis sel) pada KP-III dibandingkan dengan kelompok perlakuan II (3-4 lapis sel). Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa peningkatan aktivitas gen *P53* dan *P21* berhubungan dengan siklus sel dan aktivitas dari *Cyclin Dependent-protein Kinase* (CDK) sebagai regulator siklus sel dan proses apoptosis seluler. Peningkatan aktivitas dan pengeluaran gen *P21* yang dimediasi oleh senyawa damnakantal menyebabkan terjadi penekanan CDK pada fase siklus sel sehingga siklus sel berhenti. Pemberhentian siklus sel menyebabkan gen *P53* memicu aktivasi gen proapoptotik (*BAX*) untuk menekan gen antiapoptotik (*BCL-2*) pada mitokondria. Aktivasi *BAX* menyebabkan terjadinya pelepasan sitokrom-c ke sitosol. Sitokrom-c yang dilepas akan mengikat protein sitosol tertentu (faktor pengaktivasi protease proapoptotik atau *Apaf-1*) dan mencetuskan aktivasi kaspase eksekusi akhir dan pengaturan gerakan proteolitik yang membunuh sel.¹⁶⁻¹⁸

Hasil penelitian ini sesuai dan menunjang penelitian-penelitian sebelumnya mengenai efektivitas dari tanaman mengkudu sebagai tanaman yang dapat digunakan untuk mencegah dan mengobati penyakit kanker. Furusawa (2003)¹⁹ dalam penelitian ia menggunakan jus buah mengkudu dalam mengobati penyakit kanker *Lewis Lung Carcinoma* (LLC) dengan mengokulasikan sel kanker *Lewis Lung Carcinoma* (LLC) pada gen CBL5 pada mencit. Penelitian yang lain oleh Aziz *et al* (2014)⁹ menggunakan senyawa damnakantal dari tanaman mengkudu sebagai inhibitor kuat untuk proses apoptosis dan pengaktifan gen *P53* dan

P21 pada kultur sel MCF-7 (sel kanker payudara manusia), kemudian penelitian yang dilakukan oleh Jasril *et al* (2003)²² tentang promosi antitumor dan antioksidan dari senyawa antrakuinon yang diisolasi dari suspensi sel tanaman mengkudu *elliptica* pada kultur sel limfoblastoid manusia dan HL-60 (sel leukemia promielositik).

Manfaat buah mengkudu sebagai penghambat pertumbuhan kanker payudara telah ditunjukkan pada penelitian ini. Disadari bahwa penelitian ini masih terdapat banyak kekurangan dan keterbatasan. Jika, pada penelitian ini digunakan dosis ekstrak buah mengkudu yang lebih tinggi dan tepat serta dilakukan dalam waktu yang lebih lama maka akan didapatkan hasil yang lebih baik.

SIMPULAN

Gambaran mikroskopik payudara menciit yang diinduksi *benzo(a)pyrene* menunjukkan adanya hiperplasia sel epitel kolumnar duktus laktiferi (>4 lapis) sedangkan payudara menciit yang diberikan ekstrak buah mengkudu setelah diinduksi dengan *benzo(a)pyrene* menunjukkan hiperplasia sel epitel yang lebih ringan (<4 lapis).

SARAN

1. Perlu dilakukan peningkatan dosis ekstrak buah mengkudu untuk mendapatkan hasil yang optimal
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai senyawa karsinogenik *benzo(a)pyrene* dengan waktu penelitian yang lebih lama
3. Perlu penambahan waktu penelitian pada kelompok perlakuan yang diberikan senyawa karsinogenik *benzo(a)pyrene* dan dilanjutkan dengan pemberian ekstrak buah mengkudu.

DAFTAR PUSTAKA

1. J Ahmedin, B Freddie, M Melissa, F Jacques, W Elizabeth, F David. Globocan Cancer Statistica. CA: A cancer Journal for clinicians. Worldwide: IARC Cancer Base wiley

Online Library. 2011.61(2): 69-90.

2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Hilangkan Mitos tentang Kanker. Jakarta 8 Mei 2014. [diakses pada 4 Maret 2015]. Available from: URL:<http://www.depkes.go.id/article/print/201407070001/hilangkan-mitos-tentang-kanker.html>
3. Oemiati R, Rahajeng E, Kristanto YA. Prevalensi Tumor Dan Beberapa Faktor Yang Mempengaruhinya Di Indonesia. Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan. 2011.39(4);190-204.
4. Vinay K, Contran SR, Robbins LS. Sistem Genitalia Perempuan dan Payudara. Dalam : Hartanto H, Darmaniah N, Wulandari N. Buku Ajar Patologi. Edisi 7. Jakarta: EGC; 2007. Vol 2. p.788-801.
5. Tang D, Phillips HD, Stampfer M, Mooney AL, Hsu Y, Cho S, et al. Association between Carcinogen-DNA Adducts in White Blood Cells and Lung Cancer Risk in The Physicians Health Study. Cancer research. 2011. 61:6708-12.
6. Mahardini T, Renawati, Yulistia A. Parameter Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) dalam Standardisasi Produk Pangan. Balai Besar Industri Agro Deprin; Bogor. 2007.
7. Centers for Disease Control Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). Atlanta: Departement of Health and Human Services, Public Health Services. U.S;1995.
8. Sukara E. Sumber daya alam hayati dan pencarian bahan baku obat (Bioprospekting). Prosiding Simposium Nasional II Tumbuhan Obat dan Aromatik. Bogor: Puslitbang Biologi LIPI; 2000. p.31-37.
9. Aziz AYM, Omar RA, Subramani T, Yeap KS, Ho YW, Ismail HN, et al. Damnacanthol Is A Potent Inducer Of Apoptosis With Anticancer Activity By Stimulating p53 and p21 Genes In MCF-7 Breast Cancer Cells.

- Oncology Letters. 2014.7: 1479-1484.
10. **Wang YM, West JB, Jensen JC, Nowick D, Su C, Palu AK, et al.** Morinda Citrifolia (NONI): A Literature Review And Recent Advances In Noni Research. *Acta pharmacol Sin.* 2002. 233: 1127-1141.
 11. **Alitheen NB, Manaf AA, Mashitoh AR, Yeap SK, Shuhaimi M, Nordin L.** Cytotoxic effect of damnacanthal, nordamnacanthal, zerumbone and betulinic acid isolated from Malaysian plant sources. *International Food Research Journal.* 2010.17: 711-719.
 12. **Ho SA, Lajis NH.** Antiviral, cytotoxic and antimicrobial activities of anthraquinones isolated from the roots of morinda elliptica. *Pharm Biol.* 2000.38: 298-301.
 13. **Kamiya K, Tanaka Y, Endang H, Umar M, Satake T, T Yohei.** New anthraquinone and iridoid from the fruits of Morinda citrifolia. *Chem Pharmaceut Bull (Tokyo).* 2005.53: 1597-1599.
 14. **Hirazumi A, Furusawa E.** An Immunomodulatory Polysaccharide-Rich Substance from the Fruit Juice of Morinda citrifolia (Noni) with Antitumor Activity. *Phytotherapy Research.* 1999.13:380-7.
 15. **Price AS, Wilson ML.** Gangguan Sistem Reproduksi Perempuan. Dalam: Huriawati Hartanto, Natalia Susi, Pita Wulansari, Desi Asih Mahanani. *Patofisiologi: Konsep Klinis proses-proses penyakit.* Edisi 6. Jakarta: EGC; 2005. Vol.2. p.1301-07.
 16. **Vinay K, Contran SR, Robbins LS.** Buku Ajar Patologi. Dalam : Asroruddin M, Hartanto H, Darmaniah N. Jakarta: EGC;2007. Edisi 7. Vol 1.p. 28-31;35-63;195-230.
 17. **Romadhon AY.** Gangguan Siklus Sel Dan Mutasi Gen Pada Kanker Payudara. 2013. 04: (10). CDK-209.
 18. **Sudiana IK.** Patobiologi Molekuler Kanker. Jakarta: Salemba Medika; 2008.p. 29-32.
 19. **Furusawa E.** Anti-cancer Activity of Noni Fruit Juice Against Tumors in Mice. *Proceedings of the Hawaii Noni Conference: 2002; University of Hawaii, Manoa. College of Tropical: Agriculture and Human Resources,* 2003.
 20. **Lu CF.** Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasaran, Dan Penilaian Risiko. Dalam: Edi Nugroho. Jakarta: Universitas Indonesia; 2006. Edisi ke 2.p.29-38;105-114.
 21. **Samosir AA.** Pengaruh etanol daun bangun-bangun (*Plectranthus Amboinicus* (Lour.) Spreng) terhadap penghambat karsinogenesis mammae mencit betina yang diinduksi benzo(α)pyrene [skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Sumatra Utara: Medan; 2014.
 22. **Jasril, Lajis HN, Mooi YL, Abdullah A, Sukari AM, Ali MA.** Antitumor promoting and antioxidant activities of anthraquinones isolated from the cell suspension culture of Morinda elliptica. *Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology.* 2003.11 (1): 3-7.