

Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Heksan, Ekstrak Etil Asetat, Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L) Terhadap Sel T47D

Cytotoxic effect of hexane extract, ethyl acetate extract and ethanol extract of *Morinda citrifolia* L on T47D cells

Maryati Maryati*, Ahmad Novian Nur Anas, Muhammad Nur Khairudin

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jalan A. Yani, Tromol Pos 1, Pabelan Kartasura, Surakarta

E-mail: maryati@ums.ac.id

Received: 27 April 2020; Accepted: 22 Juni 2020; Published: 30 Juni 2020

Abstrak

Buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L) adalah salah satu bahan alam yang biasa digunakan sebagai obat tradisional untuk mengatasi beragam penyakit salah satunya kanker. Buah mengkudu diketahui mengandung senyawa antrakinson dan kumarin yang mempunyai efek antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol buah mengkudu dan untuk mengetahui keberadaan senyawa antrakinson dan kumarin dalam ekstrak tersebut. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksan, dilanjutkan dengan etil asetat dan etanol. Uji efek sitotoksik terhadap sel T47D dilakukan dengan metode MTT. Identifikasi senyawa antrakinson dan kumarin dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis. Hasil uji menunjukkan ekstrak n-heksan buah mengkudu memiliki efek sitotoksik medium dengan nilai IC_{50} rata-rata sebesar $582,13 \pm 61,64$ $\mu\text{g/mL}$, sedangkan ekstrak etanol dan etil asetat buah mengkudu tidak memiliki efek sitotoksik terhadap sel T47D. Hasil KLT menunjukkan ekstrak n-heksan buah mengkudu mengandung senyawa antrakinson dan kumarin.

Kata Kunci: *Morinda citrifolia* L, sitotoksik, kumarin, antrakinson

Abstract

Noni fruit (*Morinda citrifolia* L) is one of the natural ingredients commonly used as traditional medicine to overcome various diseases, such as cancer. Noni fruit contains anthraquinone and coumarin which have anticancer effects. This study aims to determine the cytotoxic effects of n-hexane, ethyl acetate and ethanol extract of noni fruit and to determine the presence of anthraquinone and coumarin in the extract. Extraction was carried out by maceration method using n-hexane, followed by ethyl acetate and ethanol. The cytotoxic activity on T47D cells was carried out by the MTT method. The presence of anthraquinone and coumarin was identified using thin layer chromatography (TLC). Results showed that n-hexane extract had moderate cytotoxic effect on T47D cells with IC_{50} value of 582.13 ± 61.64 $\mu\text{g/mL}$, while the ethanol and ethyl acetate extract did not have cytotoxic effect on T47D cells. TLC results indicated that n-hexane extract of noni fruit contains anthraquinone and coumarin.

Keywords: *Morinda citrifolia* L, cytotoxic, coumarine, anthraquinon

PENDAHULUAN

Kanker merupakan sekelompok sel yang abnormal di dalam tubuh yang menyebabkan pertumbuhan sel menjadi tidak terkendali. Kanker disebabkan oleh beberapa faktor di antaranya sosial, budaya, gaya hidup, hormon dan faktor genetik (Hejmadi, 2010). Pada tahun 2014 terdapat 92.200 perempuan yang meninggal karena kanker. Persentase

tertinggi penyebab kematiannya yaitu kanker payudara sebesar 21,4% (World Health Organization, 2014).

Saat ini penggunaan kemoterapi pada penderita kanker masih memiliki beberapa kelemahan dapat merusak sel-sel normal dalam tubuh, efek samping seperti kelelahan, mual muntah, kerontokan rambut. Dengan alasan tersebut maka perlu dicari obat yang

selektif membunuh sel kanker dan mempunyai efek samping yang lebih kecil (Aslam *et al.*, 2014). Upaya tersebut dapat dilakukan dengan eksplorasi bahan alam, salah satunya buah mengkudu. Buah mengkudu telah digunakan sebagai obat tradisional untuk pengobatan beberapa penyakit seperti antioksidan, antiinflamasi, analgesik, hipertensi, antikanker (Kaur *et al.*, 2018) dan immunomodulator (Almeida-Souza, 2018).

Penelitian menyebutkan bahwa ekstrak etil asetat akar mengkudu mengandung senyawa damnacanthal suatu antrakinon yang memiliki aktivitas antikanker pada sel MCF-7 dengan nilai IC_{50} sebesar 8,2 $\mu\text{g/mL}$ (Aziz *et al.*, 2014). Penelitian lainnya menyebutkan ekstrak etanol daun mengkudu memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker murine WEHI-3B leukemia dengan nilai IC_{50} 17 $\mu\text{g/mL}$. Senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas sitotoksik itu adalah damnacanthal dan scopoletin (Ahmadi *et al.*, 2017). Damnacanthal pada mengkudu terbukti mempunyai aktivitas sitotoksik pada sel kanker kolon (Nuansanit *et al.*, 2012). Penelitian lain menyebutkan bahwa pada akar tanaman mengkudu mengandung senyawa antrakinon damnacanthal dan nondamnacanthal yang mempunyai efek sitotoksik dan menyebabkan *cell cycle arrest* pada sel H400 oral cancer cell (Shaghayegh *et al.*, 2016). Kedua senyawa ini terbukti dapat menghambat proliferasi dan menginduksi apoptosis dari sel H400 OSCC (*Oral Squamous Cell Carcinoma*) (Shaghayegh *et al.*, 2017). Buah mengkudu juga diketahui mengandung senyawa scopoletin. Scopoletin merupakan senyawa kumarin yang telah dibuktikan secara ilmiah memiliki aktivitas antikanker, antioksidan, antidiabetes tipe 2, antihipertensi dan antibakteri (Wijaya *et al.*, 2014). Sejauh pengetahuan peneliti belum pernah dilaporkan efek sitotoksik buah mengkudu terhadap sel kanker T47D, karena itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang aktivitas sitotoksik buah mengkudu terhadap

sel kanker payudara T47D. Pada penelitian ini akan diuji aktivitas sitotoksik ekstrak heksana, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol buah mengkudu terhadap sel kanker T47D.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk melakukan penelitian ini yaitu *rotary evaporator* (Heidolph), *waterbath* (Memmert), almari pengering, inkubator CO_2 (Binder), *96-well plate*, *cytotoxic safety cabinet* (ESCO), *ELISA reader* (Elx800 Bio Tech), *vortex*, *sonicator*, mikroskop (Everted), neraca analitik (Ohaus), plat KLT, haemositometer (Neubauer), kondensor, lampu UV *portable*.

Bahan yang digunakan: buah mengkudu, etanol 96%, etil asetat, n-heksan, air, sel T47D, RPMI (Rosewell Park Memorial Institute) 1640, NaHCO_3 , DMSO, HCl 1M, NaOH 1M, FBS 10%, HEPES, fungison 1%, antibiotik penisilin-streptomisin 3%, alkohol 80%, tripsin 0,025%, PBS (*Phosphat Buffered Saline*), larutan MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) difenil tetrazolium bromida) 0,5%, larutan SDS (*Sodium Dodesil Sulfat*), silika gel GF254, pereaksi dragendorff, FeCl_3 , pereaksi vanillin HCl, pereaksi vanilin asam sulfat, dan pereaksi Liebermann-Burchard.

Metode Uji

Ekstraksi

Buah mengkudu dipotong tipis-tipis, kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven selama 72 jam pada suhu 50°C . Sebanyak 200 mg simplisia selanjutnya diekstraksi dengan metode maserasi bertingkat dengan pelarut heksana, etil asetat dan etanol. Maserasi bertingkat dilakukan dengan kombinasi digesti dan refluks selama 1-2 jam pada suhu $40-60^\circ\text{C}$. Maserasi bertingkat dilakukan per pelarut hingga filtrat tidak mengandung senyawa terlarut lagi. Hal ini dicek dengan cara menotolkan filtrat dalam lempeng KLT dan diamati di bawah lampu UV 254 nm dan 366 nm, terlihat tidak adanya pepadaman atau fluoresensi. Setiap kali maserasi menggunakan 300 mL pelarut.

Hasil maserasi disaring dengan kertas saring, selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dilakukan sampai mendapatkan ekstrak kental (Saifudin, 2014).

Analisis kandungan senyawa

Analisis kandungan senyawa buah mengkudu dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dengan fase gerak n-heksan dan etil asetat (93:7 v/v) dan fase diam silika gel GF₂₅₄. Senyawa yang akan dideteksi dari ekstrak heksana, etil asetat dan etanol buah mengkudu adalah skopolatin suatu kumarin dan damnacanthal suatu antrakinin. Keberadaan kumarin dan antrakinin dideteksi dengan menggunakan menggunakan reagen semprot KOH-etanolik, dan diamati di bawah sinar UV₂₅₄ dan UV₃₆₆ nm (Oktaviani *et al.*, 2011). Skopoletin (kumarin) setelah dilakukan penyemprotan reagen KOH-etanolik akan terbentuk warna biru (Bhatt *et al.*, 2011). Damnacanthal (antrakinin) bila disemprot dengan reagen KOH etanolik akan menghasilkan warna merah (Shami., 2015)

Uji sitotoksik

Pembuatan larutan stok sampel

Ekstrak heksana, etil asetat dan etanol buah mengkudu ditimbang kurang lebih 10 mg dan dilarutkan dengan 100 µL DMSO dan menggunakan bantuan vortex kemudian ditambahkan media hingga 1000 µL. Selanjutnya dibuat 5 seri konsentrasi sampel (25 µg/mL, 25 µg/mL, 100 µg/mL, 200 µg/mL dan 400 µg/mL).

Uji sitotoksik

Seratus mikroliter suspensi sel T47D dimasukkan dalam *96-well plate* dengan kepadatan 10⁴. Untuk mengadaptasikan sel, *plate* diinkubasi selama 24 jam pada inkubator CO₂ 5%. Selanjutnya 100 µL sampel ditambahkan dalam sumuran hingga diperoleh konsentrasi akhir sampel 25, 50, 100, 200 dan 400 µg/mL. *Plate* diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator CO₂ 5% selama 48 jam. Selanjutnya sumuran yang berisi medium dibuang dan dicuci dengan PBS. Larutan MTT 0,5 % (100 µL) ditambahkan ke dalam tiap sumuran dan diinkubasi pada inkubator CO₂ 5% selama 4

jam pada suhu 37°C. Reaksi dari sel hidup dan pereaksi MTT akan membentuk formazan (berwarna ungu). Selanjutnya reagen *stopper* (SDS 10% 100 µL dalam HCl 0,01 N) ditambahkan pada *plate*, kemudian *plate* dibungkus aluminium foil untuk diinkubasi selama 24 jam di tempat gelap pada suhu kamar. Absorbansi dibaca dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 550 nm. Data absorbansi digunakan untuk menghitung persen sel hidup, selanjutnya untuk menentukan nilai IC₅₀ ekstrak.

Analisis data

Persentase sel hidup dihitung dari absorbansi yang diperoleh, kemudian dibuat kurva hubungan antara log konsentrasi versus % sel hidup, kemudian didapat persamaan $y = bx + a$. Perhitungan IC₅₀ dihitung dengan cara mensubstitusi nilai 50 pada Y sehingga diperoleh nilai x dan nilai IC₅₀ merupakan antilog x. Rumus perhitungan % sel hidup sebagai berikut :

1. Jika absorbansi kontrol pelarut sama dengan absorbansi kontrol sel maka perhitungan persentase sel hidup

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(\text{Abs. perlakuan} - \text{Abs. kontrol media})}{(\text{Abs. kontrol sel} - \text{Abs. kontrol media})} \times 100\%$$

2. Jika absorbansi kontrol pelarut lebih rendah dari absorbansi kontrol sel maka perhitungan persentase sel hidup dengan rumus berikut:

$$\text{Persentase sel hidup} = \frac{(\text{Abs. perlakuan} - \text{Abs. kontrol media})}{(\text{Abs. kontrol pelarut} - \text{Abs. kontrol media})} \times 100\%$$

(Cancer Chemoprevention Research Center, 2014)

Uji KLT digunakan untuk menganalisis kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak heksana, etil asetat dan etanol buah mengkudu. Bercak yang dihasilkan dihitung dengan menggunakan rumus :

$$Rf = \frac{\text{Jarak elusi zat terlarut (cm)}}{\text{Jarak elusi pelarut (cm)}}$$

Tabel 1. Hasil analisis senyawa antrakuinon dan kumarin dalam ekstrak n-heksan buah mengkudu menggunakan metode KLT, dengan fase diam silika gel GF254 dan fase gerak heksan:etil asetat (9:1 v/v).

NO	Rf	Sinar Tampak	UV ₃₆₆	Reagen Semprot (KOH etanolik)	Kandungan Senyawa
				UV ₃₆₆	
1	0,33	-	Merah	Merah	Antrakinon
2	0,78	-	biru	Biru	Kumarin

Plat KLT disemprotkan beberapa reagen untuk melihat lebih jelas di bawah sinar UV senyawa apa yang terdapat pada bercak kromatogram yang dihasilkan. Reagen semprot tersebut adalah reagen semprot KOH-etanolik untuk mendeteksi senyawa scopoletin yang merupakan golongan kumarin. Warna yang dihasilkan adalah biru (Wagner *et al.*, 1996), dan reagen KOH 10% untuk mendeteksi senyawa damnacanthal yang merupakan senyawa antrakinon. Warna yang dihasilkan adalah merah (Warner *et al.*, 1996).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan etanol. Maserasi bertingkat dilakukan di atas *digital hot plate* dengan suhu 40-60°C dan dibantu dengan *magnetic stirrer* selama 1 jam. Keuntungan metode maserasi bertingkat yaitu mudah, sederhana, tidak ada gangguan fisik, rendemen yang dihasilkan lebih tinggi dan juga lebih efisien dalam penyarian ekstrak karena adanya bantuan refluks dengan pemanasan pada suhu 40-60°C. Maserasi bertingkat dimulai dengan pelarut heksan, etil asetat dan terakhir dengan etanol (Saifudin, 2014). Rendemen yang diperoleh adalah 1,57% untuk ekstrak n-heksan, ekstrak etil asetat 0,82% dan ekstrak etanol 22,49%.

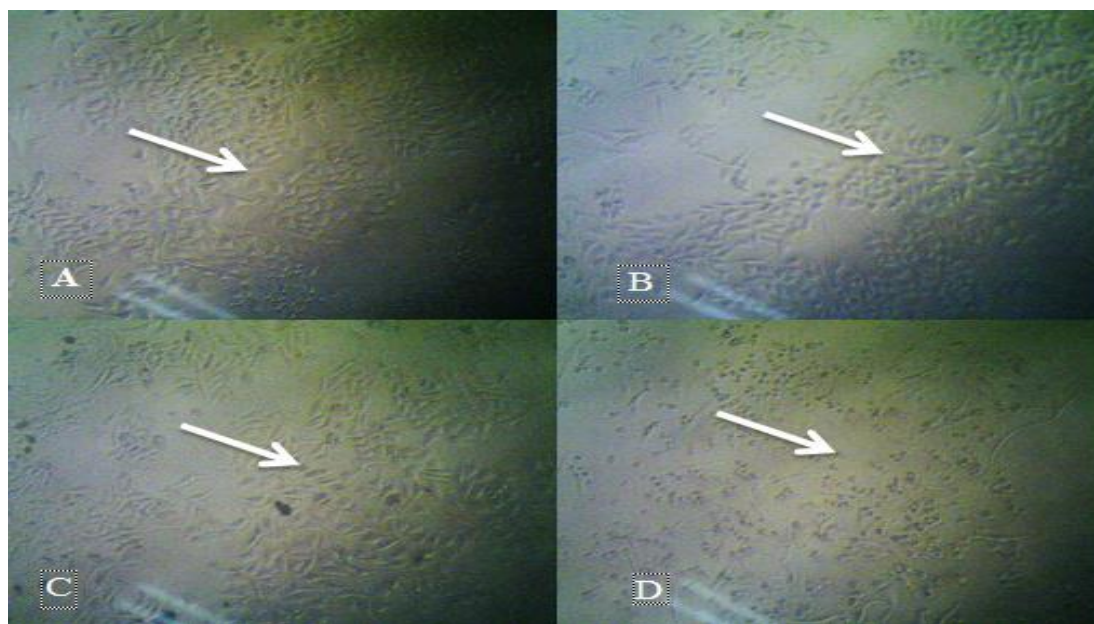
Identifikasi senyawa antrakinon dan kumarin dilakukan dengan kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel GF254 dan fase gerak heksan:etil asetat (90:10 v/v). Visualisasi senyawa dilakukan dengan reagen semprot KOH 10%. Gambar 1 menunjukkan

hasil KLT ekstrak etanol mengkudu. Hasil KLT menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan buah mengkudu mengandung antrakinon dan kumarin (Tabel 1). Senyawa antrakinon berfluorosensi merah di bawah sinar UV₃₆₆ nm, sedangkan kumarin berfluorosensi biru pada UV₃₆₆ nm (Wagner *et al.*, 1996).

Uji sitotoksik ekstrak terhadap sel T47D dilakukan dengan metode MTT dengan doksorubisin sebagai kontrol positif. Prinsip metode MTT didasarkan pada adanya reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida) oleh enzim reduktase pada mitokondria sel hidup yang mengubah reagen MTT yang awalnya berwarna kuning menjadi kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut dalam air (Doyle and Griffiths, 2000).

Penambahan *reagen stopper* (SDS 10% dalam 0,01 N HCl) yang bersifat detergenik dapat menghentikan reaksi enzimatik dari enzim dan melarutkan kristal formazan sehingga bisa dibaca absorbansinya dengan ELISA *reader*. Intensitas warna ungu yang terbentuk berbanding lurus dengan jumlah sel hidup, sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar maka jumlah sel yang hidup semakin banyak (Cancer Chemoprevention Research Center, 2014). Pada uji ini pelarut yang digunakan adalah DMSO (Capriotti *et al.*, 2012). Menurut Purwaningsih (2014) DMSO dengan kadar kurang dari 3% tidak bersifat toksik atau membunuh sel kanker sehingga dapat digunakan sebagai pelarut pada uji sitotoksik.

Kondisi morfologi sel T47D sebelum diberikan perlakuan terlihat berbentuk



Gambar 1. Sel T47D tanpa perlakuan ekstrak (A), perlakuan dengan ekstrak etanol 800 µg/mL (B), perlakuan dengan ekstrak etil asetat 800 µg/mL (C) dan perlakuan dengan ekstrak *n*-heksan 800 µg/mL (D)

lonjong (Gambar 1A). Sel tidak mengalami kematian setelah perlakuan ekstrak etanol dengan konsentrasi 800 µg/mL ini terlihat dari bentuk sel yang masih lonjong (Gambar 1B). Pada perlakuan ekstrak etil asetat pada konsentrasi tertinggi yang diujikan (800 µg/mL) terlihat sedikit sel yang mengalami kematian (Gambar 2C). Perlakuan sel T47D dengan ekstrak *n*-heksan (800 µg/mL) menunjukkan adanya perubahan morfologi sel T47D dari bentuk awal lonjong berubah menjadi bintik hitam, ini menandakan bahwa sel mengalami kematian (Gambar 1D).

Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak heksan memiliki aktivitas sitotoksik yang lemah, sedangkan ekstrak etil asetat dan etanol buah mengkudu tidak memiliki aktivitas sitotoksik (Tabel 2).

Hasil ini berbeda dari penelitian sebelumnya yang menunjukkan ekstrak etil asetat akar mengkudu dan ekstrak etanol daun mengkudu memiliki efek sitotoksik pada sel MCF-7 dan WEHI-3B leukemia nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 8,2 µg/mL pada dan 17 µg/mL (Aziz *et al.*, 2014, Ahmadi *et al.*, 2017). Perbedaan ini mungkin disebabkan

Tabel 2. Hasil uji sitotoksik ekstrak *n*-heksan, etil asetat dan etanol buah mengkudu terhadap sel T47D

Konsentrasi (µg/ml)	Rata-rata % sel hidup		
	Ekstrak Heksan (X±SD)	Ekstrak Etil asetat	Ekstrak Etanol
50	119,93 ± 4,72	126,88	125,65
100	113,12 ± 7,29	129,63	126,13
200	91,21 ± 9,66	147,58	125,26
400	59,32 ± 7,45	168,13	111,07
800	10,34 ± 8,97	138,68	87,33
IC ₅₀	582,13 ± 61,64	-	-

Catatan: data ekstrak heksan yang ditampilkan berupa rata-rata ± SD, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol pada pengujian pertama tidak menunjukkan adanya aktivitas, sehingga tidak dilakukan replikasi.

Tabel 3. Hasil uji sitotoksik kontrol positif (doksorubisin)

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-rata % sel hidup	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
0,0625	125,68 \pm 14,33	0,29
0,125	87,78 \pm 18,60	
0,25	23,14 \pm 11,07	
0,5	10,22 \pm 2,13	
1	11,19 \pm 0,16	
2	6,49 \pm 1,65	

oleh beberapa hal di antaranya jenis sel yang digunakan berbeda dari penelitian sebelumnya. Selain itu bagian tumbuhan yang digunakan juga berbeda sehingga kemungkinan kandungan senyawa kimia juga berbeda. Syarat utama sampel dapat diuji ke kultur sel harus larut dalam media dan kelarutannya dibantu oleh DMSO, pada penelitian ini ekstrak heksan yang agak sukar larut di dalam media dan DMSO, sehingga dibutuhkan waktu 25 menit sonikator dan 30 menit vortex untuk membantu pencampurannya. Hasil kontrol positif (doksorubisin) yang diperoleh dengan menggunakan konsentrasi tertinggi (2%) diperoleh rata-rata persentase sel hidup sebesar 6,49%, dan konsentrasi terendah (0,0625%) rata-rata persentase sel hidup yang diperoleh sebesar 125,68% dengan nilai IC₅₀ 0,3 $\mu\text{g/mL}$ (Tabel 3). Efek sitotoksik suatu ekstrak dikategorikan berpotensi sitotoksik

tinggi jika IC₅₀ < 100 $\mu\text{g/mL}$, medium jika IC₅₀ 100-1000 $\mu\text{g/mL}$, dan tidak berpotensi jika IC₅₀ > 1000 $\mu\text{g/mL}$ (Prayong *et al.*, 2008). Berdasarkan hal tersebut, maka ekstrak etanol dan etil asetat buah mengkudu tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D, dan ekstrak n-heksan memiliki aktivitas sitotoksik medium. Kontrol positif dosksorubisin memiliki aktivitas sitotoksik pada sel T47D masuk pada kategori tinggi.

KESIMPULAN

Ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol buah mengkudu tidak memiliki efek sitotoksik terhadap sel T47D. Ekstrak n-heksan buah mengkudu memiliki aktivitas sitotoksik medium dengan nilai IC₅₀ rata-rata sebesar 582,13 \pm 61,64 $\mu\text{g/mL}$. Hasil KLT menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksan buah mengkudu mengandung senyawa antrakinin dan kumarin.

Daftar Pustaka

- Ahmadi, H. S. Rahman, R. Rosli, T. A. I. & S. M., 2017. *Morinda citrifolia* leaf extract ameliorated leukemia in mice model. *J Applied Biotechnology and Bioengineering*, 6(2), 249–255. <https://doi.org/10.15406/jabb.2017.02.00052>
- Almeida-Souza, F., Reis deOliveira, A.L., Abreu-Silva A.L., Calabrese, K.S., 2018. In vitro activity of *Morinda citrifolia* Linn. fruit juice against the axenic amastigote form of *Leishmania amazonensis* and its hydrogen peroxide induction capacity in BALB/c peritoneal macrophages. *BMC Res Notes*, 11:492.
- Aslam, M. S., Naveed, S., Ahmed, A., Abbas, Z., Gull, I., Athar, M. A., 2014. Side effects of chemotherapy in cancer patients and evaluation of patients opinion about starvation based differential chemotherapy. *Journal of Cancer Therapy*, 5, 817-822.
- Aziz, M.Y.A., Omar, A.R., Subramani, T., Yeap, S.K., Ho, W.Y., Ismail, N.H., Ahmad, S., and Alitheen, N.B., 2014. Damnacanthal is a potent inducer of apoptosis with anticancer

- activity by stimulating p53 and p21 genes in MCF-7 breast cancer cells, *Oncology Letters*, 7 (5), 1479–1484.
- Cancer Chemoprevention Research Center, 2014, Protokol uji sitotoksik, Terdapat di http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=240 [Diakses pada 8 Januari 2019].
- Capriotti, K., Capriotti, J. A., 2012. Dimethyl sulfoxide history, chemistry, and clinical utility in dermatology. *The Journal of Clinical and Aesthetic*, 5 (9), 24-26.
- Doyle, A. and Griffiths, J.B., 2000. Cell and tissue culture for medicina research. New York: John Willey and Sons Ltd.
- Hejmadi., 2010. Introduction to Cancer Biology, 2nd Edition, Penerbit buku kedokteran EGC, Jakarta.
- Kaur, H., Nisha, G., Ruth, G., 2018. The noni fruit (*Morinda citrifolia L.*): a systematic review on anticancer potential and other health beneficial pharmacological activities. *Journal of Medicinal Plants Studies*; 6(2): 86-93
- Nualsanit, T., Rojanapanthu, P., Gritsanapan, W., 2012. Damnacanthal, a noni component, exhibits antitumorigenic activity in human colorectal cancer cells. *J Nutr Biochem*, 23, 915-23.
- Prayong, P., Barusrux, S., and Weerapreeyakul, N., 2008. Cytotoxic activity screening of some indigenous thai plants. *Fitoterapia*, 79 (7–8), 598–601. Terdapat di: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2008.06.007>.
- Saifudin, A., 2014. Senyawa alam metabolit sekunder teori, konsep, dan teknik pemurnian, Yogyakarta: Deepublish.
- Shaghayegh, G., Alabsi A.M., Ali-Saeed R., Ali A.M., Vincent-Chong V.K., Zain R.B., 2016. Cell cycle arrest and mechanism of apoptosis induction in H400 oral cancer cells in response to damnacanthal and nordamnacanthal isolated from *Morinda citrifolia*. *Cytotechnology*, 69, pp.1999–2013
- Shaghayegh, G., Alabsi, A.M., Ali-Saeed, R., Ali, A.M., Vincent-Chong, V.K., Ismail, N.H., Choon, Y.F., Zain, R.B., 2017. Effects of damnacanthal and nordamnacanthal on proliferation, apoptosis, and migration of oral squamous cell carcinoma cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Vol 18, pp. 3333-3341.
- Wagner, H., and Blatt, S., 1996. Plant drug analysis-a thin layer chromatography atlas (2nd ed), Springer, German.
- Wijaya, H., Ramadhan, D., Has, N. and Febriyanti E., 2014. Identifikasi kandungan skopoletin dalam berbagai jenis. *Warta IHP/Journal of Agro-based Industry*, 31 (1), 11–15.
- World Health Organization, 2014. Cancer country profiles: Indonesia, cancer country profiles.