



Ekstrak Etanol Daun Sirsak Tidak Menghambat Pertumbuhan Jaringan Tumor Payudara Tikus *Rattus norvegicus* Betina galur *Sprague-Dawley* Akibat Paparan 7,12-Dimethylbenz(α)anthracene dan Estrogen

Nurani Takwim,¹ Muhammad In'am Ilmiawan,² Mardhia Mardhia³

¹Program Studi Kedokteran, ²Departemen Biologi dan Patobiologi, ³Departemen Mikrobiologi, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat, Indonesia

ABSTRAK

Pendahuluan: Sirsak (*Annona muricata* Linn) merupakan tanaman herbal yang dipercaya masyarakat Indonesia memiliki efek antikanker. Daun sirsak memiliki kandungan *acetogenins* selektif yang hanya menyerang sel kanker. **Metode:** Penelitian eksperimental dengan desain *posttest-only control group* menggunakan 24 tikus *Rattus norvegicus* galur *Sprague-Dawley*, dibagi acak menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok tanpa perlakuan, kelompok kontrol positif (*tamoxifen*), kelompok kontrol negatif (DMSO 5%), kelompok perlakuan I (ekstrak daun sirsak 75 mg/kgBB), kelompok perlakuan II (ekstrak daun sirsak 150 mg/kgBB), dan kelompok perlakuan III (ekstrak daun sirsak 300 mg/kgBB). Hewan uji kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dibuat mengidap tumor payudara dengan diinjeksi DMBA dan estrogen. **Hasil:** Efek hambatan ekstrak etanol daun sirsak terhadap pertumbuhan tumor payudara tidak bermakna ($p > 0,05$). Berat tikus yang diberi ekstrak etanol daun sirsak, tidak berbeda bermakna (uji Mann-Whitney, $p > 0,05$) dengan berat tikus kelompok tanpa perlakuan, kontrol negatif, dan kontrol positif. **Simpulan:** Ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* Linn) tidak mempunyai daya hambat terhadap diameter, berat dan volume tumor payudara, serta tidak berefek terhadap berat tikus betina *Sprague-Dawley* yang mengidap tumor payudara.

Kata Kunci: *Annona muricata* Linn, daun sirsak, tumor payudara

ABSTRACT

Introduction: Soursop (*Annona muricata* Linn) is an Indonesian herbal plant. Soursop leaves contain acetogenins which selectively attack cancer cells. **Methods:** Experimental study with a posttest-only control group design. The study used 24 Sprague-Dawley *Rattus norvegicus* rats, randomly divided into 6 groups: no intervention group, positive control group (*tamoxifen*), negative control group (5% DMSO), treatment I group (soursop leaf extract 75 mg/kgBW), treatment II group (soursop leaf extract 150 mg/kgBW), and treatment III group (soursop leaf extract 300 mg/kgBW). All subjects were induced to have breast tumors by DMBA and estrogen injection. **Results:** Ethanol extract of soursop leaves (*Annona muricata* Linn) has no significant effect ($p > 0.05$) on inhibiting breast tumor growth. The weight of rats in soursop leaf ethanol extract group had no significant difference as compared with the any intervention, negative control, and positive control group (Mann-Whitney test, $p > 0.05$). **Conclusion:** The ethanol extract of soursop leaves has no inhibitory effect on breast tumor's diameter, weight, and volume; also has no effect on the weight of Sprague-Dawley female rats with breast tumors. **Nurani Takwim, Muhammad In'am Ilmiawan, Mardhia Mardhia. The Inhibitory Effect of Ethanol Extract of Soursop Leaves towards Breast Tumor Growth Induced by 7,12-Dimethylbenz(α)anthracene and Estrogen in Female Sprague-Dawley Rats**

Keywords: *Annona muricata* Linn, soursop leaf, breast tumor



Mermin Dunia Kedokteran is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

PENDAHULUAN

Tumor atau neoplasma secara harfiah berarti pertumbuhan baru. Sel-sel tumor merupakan sel yang terus bereplikasi dan tidak terpengaruh regulasi kontrol pertumbuhan sel normal. Tumor berdasarkan sifat pertumbuhan

klinisnya, terbagi atas tumor jinak dan tumor ganas. Tumor jinak pertumbuhannya lambat, terlokalisasi, dan menghasilkan benjolan lokal. Tumor ganas atau kanker pertumbuhannya cepat, dapat menyerang dan menghancurkan struktur sekitar, serta menyebar ke daerah

lain (bermetastasis) hingga menyebabkan kematian.¹

Data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2018 menyatakan bahwa prevalensi kanker di Indonesia sebesar 1,8% permil.² Data *Global*

Alamat Korespondensi email: nuranitakwim@student.untan.ac.id; inamedica@gmail.com; mardhia@medical.untan.ac.id



Cancer Incidence Mortality and Prevalence (GLOBOCAN) 2018 menyatakan bahwa kanker payudara menempati urutan kedua kanker yang paling umum di seluruh dunia dan paling sering dialami wanita, dengan perkiraan 2.088.849 kasus baru terdiagnosis pada tahun 2018 (11,6% dari semua kasus kanker).³ Kanker payudara juga penyebab kematian paling tinggi akibat kanker pada wanita dengan 626.679 (6,6%) kematian pada tahun 2018.³

Timbulnya tumor payudara dipengaruhi hormon, genetik, dan lingkungan, di antaranya produksi hormon estrogen berlebihan.¹ Estrogen menstimulasi produksi berbagai faktor pertumbuhan, yang jika berlebih dapat mendorong pertumbuhan sel tumor.¹ Perubahan genetik yang mempengaruhi proto-onkogen *human epidermal growth factor receptor 2* (HER2) dan mutasi gen supresor tumor, seperti *retinoblastoma* (RB) dan TP53, *breast cancer 1* (BRCA 1), dan *breast cancer 2* (BRCA 2) dalam epitel payudara juga menyebabkan timbulnya tumor serta turut berperan dalam pertumbuhan kanker payudara yang dipengaruhi keturunan.¹ Pengaruh lingkungan dalam hal gaya hidup, pola reproduksi, diet, kebiasaan merawat diri, paparan radiasi, dan paparan bahan kimia dengan efek seperti estrogen juga turut berperan dalam kanker payudara sporadis.¹

Masyarakat Indonesia masih banyak menggunakan pengobatan tradisional, di antaranya tanaman herbal.⁴ Daun sirsak memiliki kandungan zat antikanker, yaitu *acetogenins*, yang mempunyai aktivitas sitotoksik dengan masuk dan menempel di reseptor dinding sel kanker lalu menghambat produksi ATP di dinding mitokondria.⁵ *Acetogenins* juga sangat selektif karena hanya menyerang sel kanker dan tidak mengganggu sel-sel sehat dalam tubuh manusia.^{5,6}

Mengingat besarnya insiden kanker payudara di Indonesia serta kepercayaan masyarakat Indonesia terhadap pengobatan tradisional dari bahan alami, dilakukan penelitian daya hambat ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap pertumbuhan jaringan tumor payudara. Dinilai juga berat badan tikus pengidap tumor payudara setelah diberi ekstrak daun sirsak sebagai terapi, karena tumor, terutama tumor ganas, meningkatkan risiko penurunan berat badan akibat

malabsorpsi, muntah, diare, dan anoreksia.⁷

METODE PENELITIAN

Penelitian eksperimental laboratorium menggunakan metode rancangan acak dengan desain *posttest-only control group*. Penelitian menggunakan 24 tikus galur *Sprague-Dawley*, dibagi acak menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok normal/tanpa perlakuan, kelompok kontrol positif (*tamoxifen* 2,75 mg/200 gBB/hari), kelompok kontrol negatif (*dimethyl sulfoxide*/DMSO 5% 2 mL/200 gBB tikus/hari), kelompok perlakuan I (ekstrak daun sirsak 75 mg/kgBB), kelompok perlakuan II (ekstrak daun sirsak 150 mg/kgBB), dan kelompok perlakuan III (ekstrak daun sirsak 300 mg/kgBB). Ekstrak daun sirsak masing-masing dosis diencerkan dengan DMSO 5% sesuai dengan dosis oral (75 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB) sebanyak 2 mL/200 gBB tikus.

Hewan uji kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dibuat menderita tumor payudara dengan injeksi *dymethylbenz* (α) *anthracene* (DMBA) dan etinil estradiol. DMBA diinjeksikan subkutan pada payudara sebanyak 8 kali setiap dua hari sekali dengan dosis 1 mg dalam 1 mL minyak biji bunga matahari. Etinil estradiol diinjeksikan intramuskular di paha kaki belakang sebanyak 5 kali setiap 4 hari sekali dengan dosis 20.000 IU/kgBB. Selanjutnya semua tikus diamati selama 34 hari untuk timbulnya jaringan tumor.

Ekstrak etanol daun sirsak dibuat dengan metode maserasi. Ekstrak kental (82 gram) yang didapat kemudian dibagi menjadi tiga dosis, yaitu 75 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB; ekstrak kental diambil dan ditimbang dengan timbangan digital dengan satuan gram untuk diencerkan dengan DMSO 5% hingga masing-masing dosis mencapai volume 72 mL/dosis ekstrak. Volume tersebut dihitung dari 2 mL (larutan ekstrak dan DMSO yang diberikan untuk tiap tikus perlakuan per hari) dikali dengan 4 (jumlah tikus/kelompok perlakuan) dan dikali lagi dengan 9 (jumlah hari perlakuan). Ekstrak kental daun sirsak diencerkan dengan DMSO 5%; masing-masing dosis dibuat, sehingga dalam pemberian larutan ekstrak daun sirsak 2 mL, masing-masing terkandung dosis 75 mg/kgBB, 150 mg/kgBB, dan 300 mg/kgBB. Cara pembuatan dosis perlakuan I: Diambil 75 mg ekstrak kental yang ditimbang menggunakan

timbangan satuan gram. Ekstrak kental sebanyak 75 mg tersebut ditambahi 2 mL DMSO 5%. Untuk kelompok perlakuan II dan III, masing-masing diambil 150 mg dan 300 mg ekstrak kental. Pengenceran dilakukan dengan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga ekstrak kental daun sirsak tercampur dengan larutan DMSO. Setelah diencerkan, masing-masing larutan ekstrak disimpan dalam wadah tersendiri.

Ekstrak etanol daun sirsak yang diencerkan dalam DMSO 5% diberikan secara oral ke hewan uji sebanyak 1 kali sehari dengan cara penyusutan menggunakan sonde yang telah dipasangi *syringe* 3 mL. Cara pemberian ekstrak pada tiap kelompok adalah tikus ditimbang terlebih dahulu, kemudian hasil berat badan tikus dikalikan dengan dosis masing-masing kelompok, sehingga didapat jumlah volume yang diberikan (setiap 2 mL volume campuran ekstrak daun sirsak dan DMSO mengandung dosis masing-masing kelompok). Jika didapatkan berat badan tikus 200 g pada kelompok perlakuan I yang mendapat dosis ekstrak daun sirsak 75 mg/kgBB, tikus tersebut akan mendapat 0,4 mL larutan ekstrak daun sirsak.

Pengukuran diameter tumor payudara dan berat semua tikus dilakukan pada hari ke-10 setelah pemberian ekstrak selama 9 hari. Untuk mengetahui perubahan berat tikus, berat rata-rata tikus tiap kelompok perlakuan dibandingkan dengan berat rata-rata kelompok tikus terinduksi tumor dan kelompok tikus normal tidak terinduksi tumor. Setelah itu, semua tikus dieutanasi dengan metode anestesi kloroform/eter dan didekapitasi. Selanjutnya jaringan payudaranya diambil untuk diukur volume dan beratnya.

HASIL

Ada empat kelompok yang datanya dapat dianalisis secara statistik, yaitu kelompok normal, kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, dan kelompok perlakuan III. Kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan II tidak dianalisis karena perbedaan jumlah hewan uji di akhir perlakuan; kelompok perlakuan I hanya terdiri 2 hewan uji dan kelompok perlakuan II hanya terdiri dari 3 hewan uji, sedangkan kelompok lain terdiri dari 4 hewan uji. Perbedaan ini karena kematian hewan uji saat perlakuan.

HASIL PENELITIAN



Sampel, Determinasi, dan Pengolahan Daun Sirsak (*Annona muricata*)

Sejumlah sampel tanaman yang diyakini spesies *Annona muricata* atau sirsak dideterminasi. Sebanyak 700 gram daun sirsak disortasi basah, dicuci, dikeringkan dan dihaluskan. Didapatkan 200 gram simplisia kering daun sirsak dan diolah menjadi ekstrak

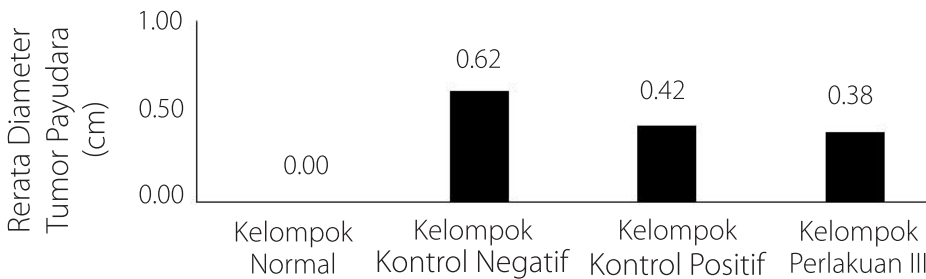
etanol 96% daun sirsak.

Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Daun Sirsak

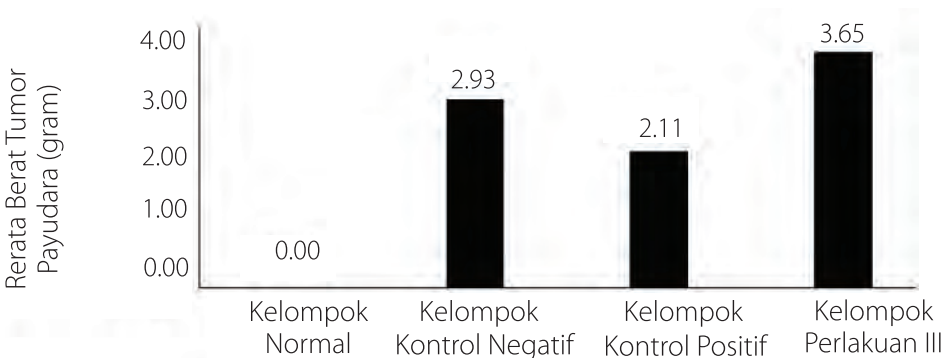
Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 96% daun sirsak dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun sirsak

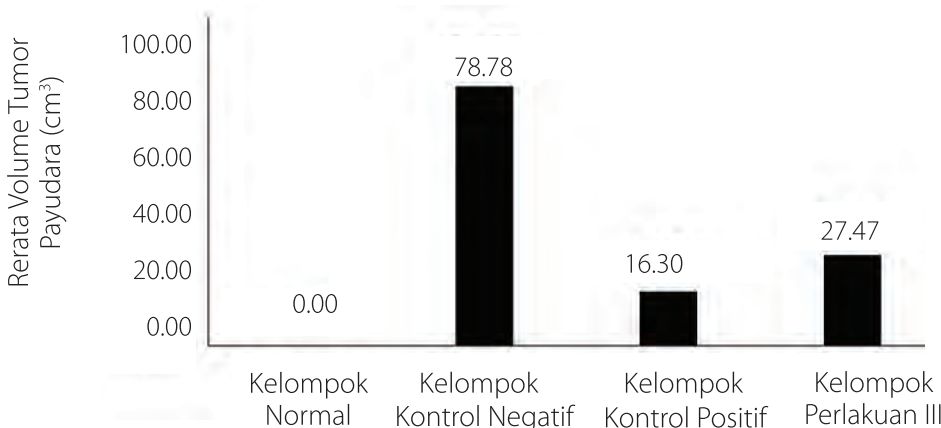
Parameter Uji	Kandungan
Alkaloid	Positif
Flavonoid	Positif
Saponin	Positif
Terpenoid	Negatif
Steroid	Positif
Fenolik	Positif



Gambar 1. Grafik rerata diameter tumor payudara



Gambar 2. Grafik rerata berat tumor payudara



Gambar 3. Grafik rerata volume tumor payudara

Efek Ekstrak Etanol Daun Sirsak terhadap Diameter Tumor Payudara

Diameter tumor diukur menggunakan jangka sorong dengan mengambil diameter terbesar daerah tumor atau yang telah menjadi luka. Luka dengan bentuk tidak beraturan diameternya diukur menggunakan menu analisis *Feret's Diameter* pada aplikasi *ImageJ*. Didapatkan hasil data diameter tumor payudara terdistribusi normal, bersifat homogen dan dari uji analisis *One-Way ANOVA* diperoleh $p = 0,105$ ($p > 0,05$) (Gambar 1).

Efek Ekstrak Etanol Daun Sirsak terhadap Berat Tumor Payudara

Berat tumor diukur menggunakan timbangan analitik dengan satuan gram. Pada tumor yang telah menjadi luka, diambil jaringan sekeliling luka untuk diukur beratnya. Diperoleh hasil data berat tumor payudara terdistribusi normal, bersifat homogen dan hasil uji analisis *One-Way ANOVA* didapatkan $p = 0,365$ ($p > 0,05$) (Gambar 2).

Hasil Efek Ekstrak Etanol Daun Sirsak terhadap Volume Tumor Payudara

Volume tumor, diukur menggunakan rumus $V \text{ (cm}^3\text{)} = (4/3) \times \pi \times R_1 \times R_2 \times R_3$; R_1 , R_2 , dan R_3 didapatkan dari radius tumor paling besar diukur dari tiga dimensi.⁸

$V = \pi = 3,14$; R = radius tumor dalam satuan cm.

Radius tumor diukur menggunakan jangka sorong dengan mengambil radius paling besar dari daerah tumor atau yang telah menjadi luka.

Didapatkan data volume tumor payudara terdistribusi normal, bersifat homogen, dan hasil uji analisis *One-Way ANOVA* diperoleh $p = 0,060$ ($p > 0,05$) (Gambar 3).

Hasil Efek Ekstrak Etanol Daun Sirsak terhadap Berat Badan Tikus

Berat tikus diukur menggunakan timbangan hewan *digital* dengan satuan gram. Didapatkan hasil data berat badan tikus terdistribusi normal, tetapi tidak homogen. Uji analisis *Kruskal-Wallis* memperoleh hasil $p = 0,026$ ($p < 0,05$), didapatkan perbedaan bermakna, sehingga dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dengan hasil tampak pada Gambar 4.



PEMBAHASAN

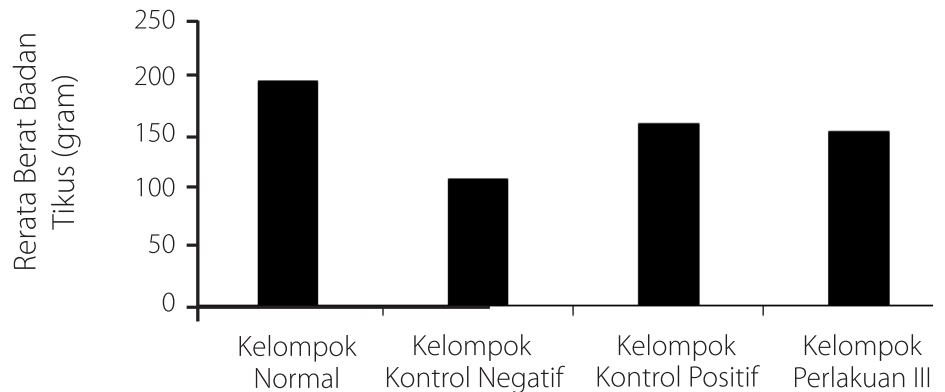
Hewan uji dibuat menderita tumor payudara dengan diinjeksi DMBA dan estrogen.^{9,10} Hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus betina *Rattus norvegicus* galur *Sprague-Dawley*.

DMBA adalah hidrokarbon aromatik polisiklik yang digunakan dalam banyak penelitian untuk menginduksi kanker payudara.^{9,11,12} Pada tikus betina galur *Sprague-Dawley*, DMBA menstimulasi lonjakan konsentrasi hormon estrogen.⁹ Inisiasi karsinogenesis DMBA pada payudara terjadi dengan konversi DMBA menjadi epoksida, metabolit aktif yang mampu merusak molekul DNA dan memicu mutasi jaringan payudara.⁹ Satu di antara mekanisme yang menjelaskan perkembangan tumor payudara oleh DMBA adalah teori aktivasi reseptor/faktor transkripsi *Aryl Hydrocarbon Receptor* (AHR) dan aksi sitokrom P450 yang memicu konversi metabolit genotoksik yang dapat merusak DNA.^{11,12} Paparan estrogen berkepanjangan dan meningkat seiring pertambahan umur terlibat dalam inisiasi dan perkembangan kanker payudara.¹⁰

Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata*) terhadap Pertumbuhan Tumor Payudara Secara Makroskopik

Analisis data diameter, berat, dan volume tumor payudara dengan uji *One-way ANOVA* tidak mendapatkan perbedaan bermakna antara kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, dan kelompok perlakuan III (**Gambar 1, 2, dan 3**). Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dosis 300 mg/kgBB tidak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan tumor payudara secara makroskopik pada tikus *Rattus norvegicus* galur *Sprague-Dawley*.

Pada beberapa penelitian sebelumnya, ekstrak daun sirsak telah terbukti memiliki aktivitas antikanker.^{6,13} Namun, berdasarkan hasil penelitian ini, ekstrak etanol daun sirsak tidak memiliki daya hambat terhadap diameter, berat, dan volume tumor payudara. Hasil ini sesuai dengan penelitian Husaana, *et al*, yang menyimpulkan bahwa ekstrak daun sirsak tidak mampu mengurangi luas (mm²) tumor.¹⁴ Hasil ini mungkin karena sangat beragamnya kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak kasar daun sirsak, sehingga mengurangi kinerja zat antikanker di dalamnya.¹³ Beragamnya kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak kasar daun sirsak mungkin dipengaruhi oleh



* : Hasil uji *Mann-Whitney* $p < 0,05$

Gambar 4. Grafik rerata berat badan tikus.

kondisi lingkungan seperti kelembapan, suhu, dan komposisi tanah tempat sampel daun sirsak dibudidayakan.¹³

Efek Ekstrak Etanol Daun Sirsak terhadap Berat Tikus yang Mengidap Tumor Payudara

Berat badan penderita tumor payudara saat menerima terapi dapat turun ataupun naik.¹⁵ Jika penderita *underweight*, status gizi penderita dapat menurun, sehingga meningkatkan komplikasi pengobatan kanker,¹⁶ antara lain malnutrisi dan kakeksia yang diinduksi tumor.¹⁷ Malnutrisi penderita tumor dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu umur, pengetahuan gizi, asupan makanan, infeksi, jenis tumor, dan terapi pengobatan.¹⁷ Kakeksia merupakan kondisi hilangnya massa otot dengan atau tanpa lipolisis yang tidak dapat dipulihkan dengan dukungan nutrisi konvensional.¹⁸ Kakeksia diinduksi tumor disebabkan oleh anoreksia, hipermetabolisme, adanya *proteolysis-inducing factor* (PIF) dalam serum yang mampu menginduksi secara seimbang degradasi protein dan penghambatan sintesis protein, sehingga menurunkan sintesis protein tubuh dan meningkatkan aktivitas lipolitik melalui aktivasi *hormone-sensitive lipase*, turunya efek anti-lipolitik insulin adiposit, sehingga penyerapan lipid sangat terhambat.^{7,18}

Kenaikan berat badan penderita tumor payudara dapat meningkatkan risiko kematian.¹⁹ Pasien yang mengalami kenaikan berat badan sebesar 10,0% atau lebih setelah didiagnosis tumor payudara mempunyai risiko kematian lebih tinggi dibandingkan dengan yang mengalami kenaikan berat badan sedang (<10,0%).¹⁹ Berat badan

penderita tumor payudara meningkat bisa karena sebelumnya telah obesitas sehingga saat terapi tumor, penderita mengurangi kebiasaan beraktivitas fisik.²⁰

Berat tikus yang mendapat induksi DMBA dan estrogen pada penelitian ini mengalami penurunan dibandingkan berat tikus kelompok normal (**Gambar 4**). Penurunan berat tikus-tikus yang mendapat induksi DMBA dan estrogen tersebut mungkin disebabkan oleh tumor payudara.¹⁵ Tumor dapat menyebabkan malnutrisi hingga penurunan berat badan.¹⁷ Penurunan berat badan pada penderita tumor terkait dengan kelainan fisiologis seperti malabsorpsi, muntah, diare, anoreksia, hipermetabolisme, dan kakeksia.^{7,17}

Hasil uji *Mann-Whitney* (**Gambar 4**) menunjukkan bahwa berat tikus kelompok normal, kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif berbeda bermakna, sedangkan berat tikus kelompok perlakuan III tidak berbeda bermakna dengan kelompok normal, kontrol negatif, dan kontrol positif. Nilai rerata berat tikus kelompok perlakuan III berada di antara nilai rerata berat badan kelompok kontrol negatif - yang paling rendah, dengan nilai rerata berat badan kelompok normal - yang paling tinggi. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dosis 300 mg/kgBB tidak berefek pada berat hewan uji yang mengidap tumor payudara.

SIMPULAN

Ekstrak etanol daun sirsak tidak mempunyai daya hambat terhadap diameter, berat,



dan volume tumor payudara tikus (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague-Dawley*. Pemberian

ekstrak etanol daun sirsak juga tidak berefek terhadap berat tikus (*Rattus norvegicus*) galur

Sprague-Dawley yang mengidap tumor payudara.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins basic pathology. 9th ed. Canada: Elsevier Saunders; 2013.
2. Kementerian Kesehatan RI. Hasil utama Riset Kesehatan Dasar 2018 [Internet]. 2018. Available from: http://www.depkes.go.id/resources/download/info-terkini/materi_rakorpop_2018/Hasil_Riskesdas_2018.pdf
3. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *Ca Cancer J Clin*. 2018;68:394–424.
4. Ismail. Faktor yang mempengaruhi keputusan masyarakat memilih obat tradisional di Gampong Lam Ujong. *Idea Nurs J*. 2015;VI(1):7–14.
5. Prayitno A, Artanti A, Dewangga V, Abdullah I, Hartati M, Fitriana M, et al. Tetrahydrofurane is a component of annona muricata leaf will induce apoptosis program in cancer cell because the virus: A proxy for cancer treatment. *Immunome Res [Internet]*. 2016;12(2). Available from: <https://www.omicsonline.com/open-access/tetrahydrofurane-is-a-component-of-annona-muricata-leaf-will-induceapoptosis-program-in-cancer-cell-because-the-virus-a-proxy-for-1745-7580-10000120.php?aid=78925>
6. Gavamukulya Y, Wamunyokoli F, El-Shemy HA. *Annona muricata*: Is the natural therapy to most disease conditions including cancer growing in our backyard? A systematic review of its research history and future prospects. *Asian Pac J Trop Med [Internet]*. 2017;10(9):835–48. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.08.009>
7. Ryan AM, Power DG, Daly L, Cushen SJ, Ní Bhuachalla E, Prado CM. Cancer-associated malnutrition, cachexia and sarcopenia: The skeleton in the hospital closet 40 years later. *Proc Nutr Soc*. 2016;75(2):199–211.
8. Berriel E, Russo S, Monin L, Festari MF, Berois N, Fernández G, et al. Antitumor activity of human hydatid cyst fluid in a murine model of colon cancer. *Sci World J*. 2013;2013:230176. doi: 10.1155/2013/230176.
9. Kerdelhué B, Forest C, Coumoul X. Dimethyl-Benz(a)anthracene: A mammary carcinogen and a neuroendocrine disruptor. *Biochimie Open* 2016;3:49–55.
10. Jerry DJ, Shull JD, Hadsell DL, Rijnkels M, Dunphy KA, Schneider SS, et al. Genetic variation in sensitivity to estrogens and breast cancer risk. *Mamm Genome* 2018;29(1–2):24–37.
11. Fukumasu H, Rangel MMM, Dagli MLZ, Tedardi MV, Oliveira KD De, Avanzo GU, et al. Chemical carcinogenesis by DMBA (7,12-dimethylbenzanthracene) in female BALB/c mice: new facts. *Brazilian J Vet Res Anim Sci*. 2015;52(2):125–33.
12. Arroyo-Acevedo J, Chávez-Asmat RJ, Anampa-Guzmán A, Donaires R, Ráez-González J. Protective effect of piper aduncum capsule on DMBA-induced breast cancer in rats. *Breast Cancer Basic Clin Res*. 2015;9:41–8.
13. Najmuddin SUFS, Romli MF, Hamid M, Alitheen NB, Rahman NM. Anti-cancer effect of annona muricata linn leaves crude extract (AMCE) on breast cancer cell line. *BMC Complement Altern Med [Internet]*. 2016;16:311. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12906-016-1290-y>
14. Hussaana A, Djam Q, Goenarwo E. Ekstrak daun sirsak (*annona muricata*) sebagai penghambat perkembangan tumor payudara. *J Farm Sains Terapi*. 2015;2(2):41–4.
15. Vagenas D, DiSipio T, Battistutta D, Demark-Wahnefried W, Rye S, Bashford J, et al. Weight and weight change following breast cancer: Evidence from a prospective, population-based, breast cancer cohort study. *BMC Cancer* 2015;15(1):1–9.
16. Habsari A, Pradigdo SF, Aruben R. Hubungan beberapa faktor gizi dan kemoterapi dengan status gizi penderita kanker (studi kasus di instalasi rawat jalan poli onkologi rsud dr. Soehadi Prijonegoro kabupaten Sragen tahun 2017). *J Kes Masy*. 2017;5(4):593–9.
17. Susetyowati, Pangastuti R, Dwidanarti SR, Wulandari H. Asupan makan, status gizi, dan kualitas hidup pasien kanker payudara di RSUP DR Sardjito Yogyakarta. *J Gizi Klin Indones*. 2018;14(4):146.
18. Marischa S, Anggraini DI, Putri GT. Malnutrisi pada pasien kanker. *J Medula*. 2017;7(4):107–11.
19. Playdon MC, Bracken MB, Sanft TB, Ligibel JA, Harrigan M, Irwin ML. Weight gain after breast cancer diagnosis and all-cause mortality: Systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2015;107(12):djv275.
20. Berg MMGA, Winkels RM, Kruif JTCM, Laarhoven HWM, Visser M, Vries JHM, et al. Weight change during chemotherapy in breast cancer patients: A meta-analysis. *BMC Cancer* 2017;17(1).