

Efektivitas Ekstrak Umbi *Typhonium flagelliforme* Fraksi Diklorometanolik dalam Menghambat Proliferasi Sel MCF-7 Kanker Payudara

Agung Putra,* Tjahjono,** Winarto***

*Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, Semarang, Indonesia

**Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

***Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

Abstrak

Pendahuluan: Kanker payudara mempunyai kemampuan *survival* dengan terus menerus proliferasi. *Typhonium flagelliforme* (Lodd) di Indonesia dikenal sebagai keladi tikus, mempunyai kemampuan anti proliferasi pada sel murine P388 kanker leukemia dan NCI-H23 non-small cell lung carcinoma cell line, tergantung pada polaritas pelarut dan jenis sel kanker. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efektivitas ekstrak umbi dan daun *Typhonium flagelliforme* dalam menghambat proliferasi sel MCF-7 kanker payudara.

Metode: Penelitian eksperimental laboratorik *in vitro* pada sel MCF-7 dengan rancangan *Posttest control group only design*, dibagi dalam 49 kelompok: tidak diberi perlakuan, dan diberi perlakuan ekstrak *Typhonium flagelliforme* berasal dari umbi fraksi DCM, umbi fraksi etanolik, umbi fraksi heksanolik, daun fraksi DCM, daun fraksi etanolik, dan daun fraksi heksanolik, masing-masing dengan kadar 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,62 7,81 µg/mL. Uji hambatan proliferasi sel dengan metode MTT dan uji statistik dengan log probit.

Hasil: Ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM menghambat proliferasi sel pada $IC_{50} = 63,08 \mu\text{g/mL}$ (nilai $p < 0.001$), dibandingkan ekstrak daun *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM pada $IC_{50} = 68,65 \mu\text{g/mL}$.

Kesimpulan: Ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM mempunyai potensi hambatan proliferasi sel MCF-7 lebih baik dibandingkan ekstrak daun. *J Indon Med Assoc.* 2012;62;10-5

Kata kunci: Antiproliferasi, *Typhonium flagelliforme*, Metode MTT, IC_{50}

The Effectiveness of *Typhonium flagelliforme* Tuber Extract of Diklorometanolic fraction on The Inhibition of Proliferation of MCF-7 Human Breast Cancer Cell-Line

Agung Putra,* Tjahjono,** Winarto***

* Anatomical Pathology, Faculty of Medicine Universitas Islam Sultan Agung, Semarang, Indonesia

**Anatomical Pathology, Faculty of Medicine Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

***Microbiology Faculty of Medicine Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia

Abstract

Introduction: Breast cancer has been shown to have the ability to survive by proliferation. *Typhonium flagelliforme* (Lodd), known as *keladi tikus* has ability of anti-proliferation on the murine P388 leukemia cell and NCI-H23 non-small cell lung carcinoma cell line, depend on the polarity of solvent and structure of cancer cell. The aim of this study was to compare the effectiveness of tuber and leave extract of *Typhonium flagelliforme* to inhibit the cell proliferation of MCF-7 breast cancer cell line.

Methods: in-vitro experimental study on the MCF-7 cell "Post test control group only design" the cell lines were divided into 49 groups that include the control group, 3 groups treated with DMC, ethanolic, hexanolic extract of *Typhonium flagelliforme* and 3 groups treated with DCM, ethanolic, and hexanolic extract of the leave of *Typhonium flagelliforme* at concentration of 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,62, 7,81 µg/mL. Cell proliferation was estimated by MTT assay, log probit was used for the statistical analysis.

Results: DMC extract of the tuber of *Typhonium flagelliforme* inhibit the cell proliferation at $IC_{50} = 63.08 \mu\text{g/mL}$ (nilai $p < 0.001$), and the DMC extract of the leave of *Typhonium flagelliforme* inhibit cell proliferation at $IC_{50} = 68.65 \mu\text{g/mL}$.

Conclusion: The tuber extract of *Typhonium flagelliforme* is a better potent inhibitor of proliferation in the MCF-7 breast cancer cell line compared to the leave extract. **J Indon Med Assoc. 2012;62;10-5**

Keywords: antiproliferation, *Typhonium flagelliforme*, MTT Method, IC_{50}

Pendahuluan

Kanker masih merupakan salah satu penyebab utama kematian didunia dan menjadi penyebab kematian terbanyak kelima akibat kanker,¹ terutama di negara berkembang. Jenis kanker yang sering ditemukan pada wanita adalah kanker payudara, disamping kanker serviks, dengan angka kejadian sebesar 1,29 juta, dan angka kematian sebesar 519 000.² Kanker dipandang sebagai sebuah penyakit abnormalitas genetik progresif, akibat akumulasi mutasi gen tertentu dan atau abnormalitas kromosom,³ di samping perubahan epigenetik,⁴ yang menimbulkan penyimpangan regulasi transkripsi dan/atau perubahan pola ekspresi gen,⁵ yang berpengaruh pada dominasi kemampuan proliferasi dan diferensiasi dibandingkan apoptosis.

Tanaman *typhonium flagelliforme* (keladi tikus) termasuk ke dalam famili *Araceae*, genus *typhonium*, termasuk salah satu tanaman yang mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Kandungan kimianya tergantung pelarutnya, dengan heksan didapatkan komponen hidrokarbon tersaturasi dan asam aliphatik,⁶ dengan etil asetat ditemukan

asam lemak aromatik,⁷ dengan *dicholoromethane* (DCM) dijumpai *hexadeconoid acid*, *1-hexadecene*, *phytol* dan derivat *phytol*,^{8,9} Kandungan lain berupa alkaloid dan flavonoid yang bervariasi, juga terpenoid, dan steroid dalam jumlah kecil.¹⁰

Penelitian pengaruh *typhonium flagelliforme* terhadap inhibisi proliferasi beberapa sel kanker secara *invitro* telah dilakukan, dengan hasil yang berbeda-beda, tergantung jenis kanker dan bagian tanaman yang digunakannya. Uji sitotoksitas dengan metode MTT menggunakan pelarut kloroform dan heksan pada umbi dan daun *typhonium flagelliforme* terhadap sel murine P388 leukemia, menghasilkan data bahwa ekstrak kloroformolik umbi ($IC_{50} = 6.0 \mu\text{g/mL}$) dan heksanolik umbi ($IC_{50} = 15.0 \mu\text{g/mL}$), menunjukkan aktivitas sitotoksik lebih baik dibandingkan dengan ekstrak kloroformolik batang-daun ($IC_{50} = 8.0 \mu\text{g/mL}$) dan heksanolik batang-daun. ($IC_{50} = 65.0 \mu\text{g/mL}$).⁶ Penelitian lain pada sel NCI-H23 non-small cell lung carcinoma cell line, menggunakan seluruh *typhonium flagelliforme* dengan pelarut metanol, diklorometanol, dan heksan didapatkan ekstrak metanolik

typhonium flagelliforme $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$, ekstrak diklorometanolik $IC_{50} = 15,43 \mu\text{g/mL}$, ekstrak heksan $IC_{50} = 53,89 \mu\text{g/mL}$.⁸ Penelitian di atas mengungkapkan bahwa zat yang terlarut dalam pelarut diklorometan sangat dominan dalam menghambat sel kanker.

Peranan *typhonium flagelliforme* baik umbi maupun daun-batang terhadap sel kanker payudara sendiri, baru dilakukan pada pelarut etanol terhadap sel MCF-7 secara *in vitro*, dengan hasil $IC_{50} = 89,15 \mu\text{g/mL}$,¹¹ sedangkan dengan pelarut diklorometan dan heksan belum pernah dilakukan. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan mengetahui potensi efektivitas ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM, fraksi etanolik dan heksanolik dalam menghambat pertumbuhan sel MCF-7 dibandingkan ekstrak daun *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM, fraksi etanolik dan heksanolik.

Metode

Penelitian eksperimental laboratorik *in vitro* pada *cell-line* MCF-7 kanker payudara dengan rancangan *Post-test control group only design*. Data diuji metode log probit analysis. Telah dimintakan persetujuan Komisi Etik Penelitian Kesehatan FK UNDIP.

Bahan tanaman

Umbi dan daun tanaman *Typhonium flagelliforme* berasal dari Taman Marina Semarang tahun 2011 dan telah dideterminasi di Fakultas Biologi Lab Taksonomi Tumbuhan UGM.

Ekstraksi *Typhonium flagelliforme*

Umbi dan daun *Typhonium flagelliforme* segar dikeringkan suhu 45°C selama 48 jam, haluskan hingga serbuk, kemudian diekstraksi-maserasi bertingkat. Pertama dengan pelarut nonpolar heksana 600 mL, aduk 30 menit dengan *stiller (Ishtar Hitz Stir)*, diamkan 24 jam, saring dan ulangi 3 kali. Kedua dengan semipolar diklorometana (DCM) 400 mL, dengan cara sama, diamkan 48 jam, saring dan ulangi 3 kali. Ketiga dengan polar etanol 600 mL, dengan cara seperti nomor satu. Uapkan ketiga ekstrak dengan *rotary vacuum evaporator* (Eyela, Tokyo, Co.Ltd) suhu 70°C sampai ekstrak pekat, lalu timbang.⁸

Pembuatan Larutan Stok, Larutan Induk dan Larutan Uji

Ekstrak umbi 5mg dan 50 μL DMSO dilarutkan hingga diperoleh larutan stok $10^5 \mu\text{g/mL}$. Larutan stok 20 μL dicampurkan dengan 980 μL RPMI menjadi larutan induk. Larutan induk 500 μL dimasukkan ke dalam *ependroff tube* ke-1 yang telah berisi 500 μL RPMI, seterusnya sampai *ependroff* ke-8, sehingga diperoleh larutan uji 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,62, 7,81 $\mu\text{g/mL}$.

Proses Thawing, Inisiasi dan Panen Kultur Cell-line MCF-7

Sel MC-7 diambil dari tangki nitrogen, dicairkan pada suhu 37° , dipindahkan pada media RPMI dengan FBS 10%, 100 $\mu\text{g/mL}$ streptomisin, 100 unit/mL penisilin, kemudian disentrifugasi dan diinkubasi pada suhu 37°C , dengan aliran 5% CO_2 24 jam. Sel dipanen setelah membentuk *monolayer* konfluens 80%.

Uji sitotoksitas dengan MTT

Sebanyak 100 μL suspensi sel (berisi 2×10^4 sel MCF-7) didistribusikan ke dalam 96 *well plate*, kemudian ditambahkan 100 ml MK yang berisi larutan uji secara triplo, sedangkan kontrol dengan DMSO 0,1%, kemudian diinkubasi selama 68 jam, ditambahkan MTT 100 μL , dan diinkubasi kembali selama 4 jam. Setelah itu ditambahkan *stopper* 100 μL SDS 10%, dan diinkubasi kembali selama 12 jam, lalu dibaca dengan *ELISA reader* $\lambda = 595 \text{ nm}$,¹² berupa absorbansi sel dalam bentuk warna. Sel hidup dinyatakan dengan warna ungu, sedangkan sel mati ditunjukkan dengan warna kuning. Setelah itu nilai IC_{50} ditentukan (kadar yang diperlukan ekstrak dalam menghambat sel hidup sebesar 50%).

Hasil

% hambatan proliferasi =

$$\frac{\text{Optical density kontrol sel} - \text{Optical density perlakuan} \times 100}{\text{Optical density kontrol sel}}$$

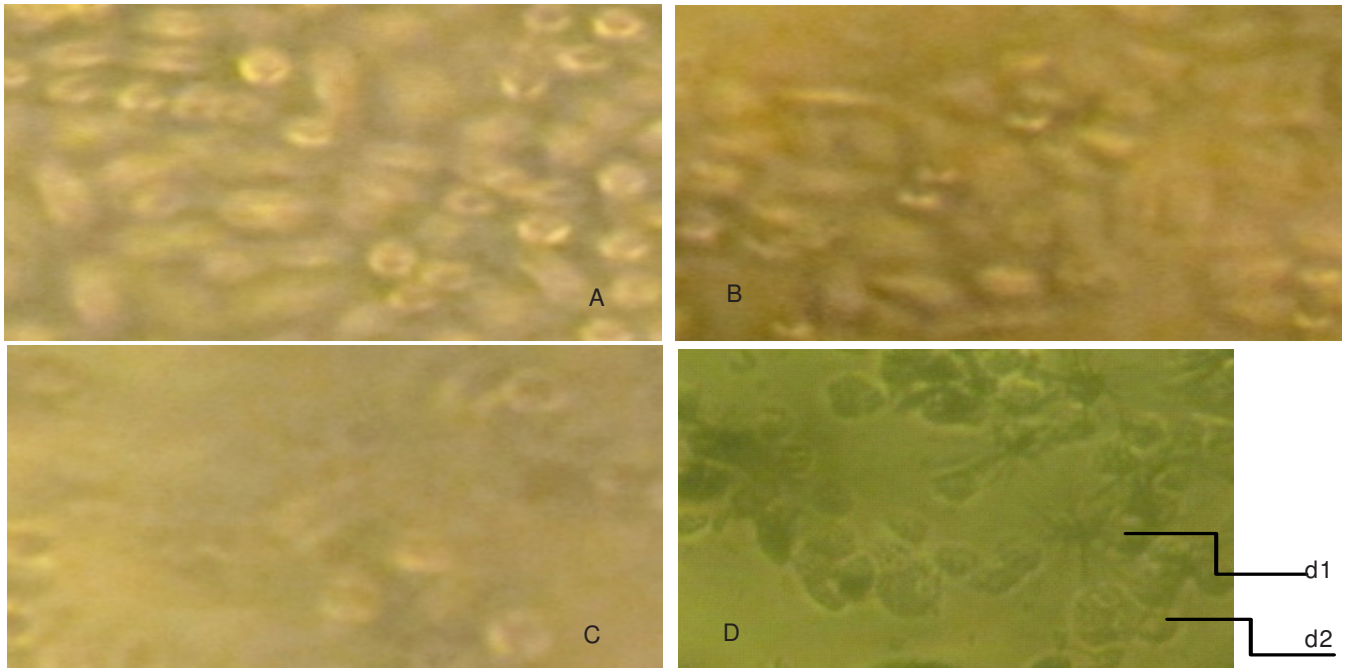
Bedasarkan rumus di atas didapatkan hasil hambatan proliferasi untuk masing-masing ekstrak seperti tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan bahwa senyawa semipolar dari ekstrak umbi maupun daun DCM mempunyai daya hambat proliferasi sel MCF-7 kanker payudara yang lebih tinggi

Tabel 1. Hambatan Proliferasi sel MCF-7 dalam Berbagai Kosentrasi Ekstrak

Perlakuan	Jenis Ekstrak	Konsentrasi								Kontrol
		1000	500	250	125	62.5	31.25	15.62	7.81	
Umbi	Ekstrak DCM	91.52	90.20	88.33	82.42	32.50	1.78	-3.03	-5.83	1 286
	Etanol	50.38	37.09	28.77	16.71	5.98	1.94	-1.55	-1.78	1 286
	Heksanolik	93.39	23.87	10.88	13.21	10.73	6.22	3.96	-1.32	1 286
Daun	Ekstrak DCM	91.11	90.97	74.87	62.49	34.63	11.26	10.49	4.82	1 429
	Etanolik	82.50	69.20	31.00	18.40	2.79	-2.16	-3.00	-4.47	1 429
	Hexanolik	86.42	32.05	27.78	26.59	19.87	12.31	7.97	3.70	1 429

Berkurangnya Jumlah sel MCF-7 dan Pembentukan Kristal Formazan



Gambar 1. Sel MCF-7 dengan Inkubasi 68 jam

a. Kontrol sel. b. Sel dengan perlakuan (diberi ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM kadar 62,5 µg/mL c. Sel diberi ekstrak umbi keladi tikus fraksi DCM kadar 125 µg/mL. d1.Kristal formazan (sel hidup) d2. Sel mati (tidak membentuk kristal)

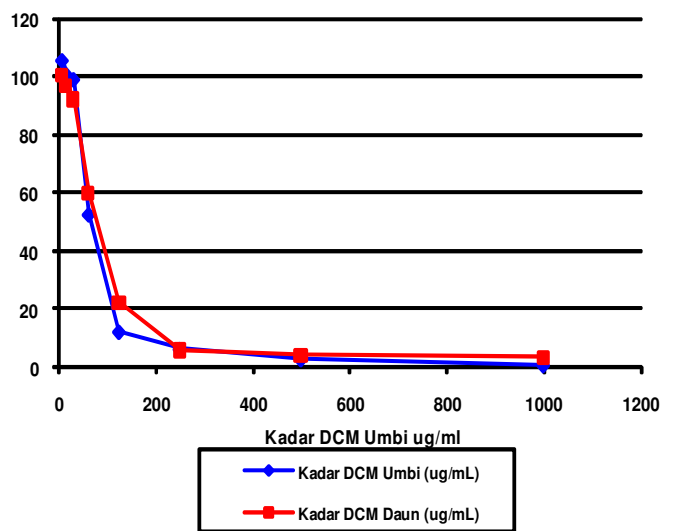
dibandingkan senyawa polar dari ekstrak etanol dan senyawa nonpolar dari ekstrak heksan.

Jumlah sel berkurang hampir 50% pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM kadar 62,5 µg/mL (gambar 1B) dibandingkan kontrol (gambar 1A), dan hampir 90% ketika diberi ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM kadar 125 µg/mL (gambar 1C). Viabilitas sel diperlihatkan dengan terbentuknya kristal formazan.

Diskusi

Hasil ekstraksi menggunakan berbagai pelarut dengan polaritas berbeda memperlihatkan bahwa senyawa semipolar yang terkandung dalam ekstrak *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM lebih baik dalam menghambat proliferasi sel MCF-7 kanker payudara, dibandingkan dengan senyawa polar dalam ekstrak etanol dan senyawa nonpolar dalam ekstrak heksan. Hambatan proliferasi sel MCF-7 kanker payudara terdeteksi dengan adanya absorbansi sel dalam bentuk warna. Sel hidup berwarna ungu, membentuk kristal formazan akibat reaksi reduksi garam tetrazolium MTT pada rantai respirasi mitokondria sel hidup tersebut, sedangkan sel mati berwarna kuning. (gambar tidak diperlihatkan) Pada penelitian ini terjadi perubahan intensitas warna pada kelompok perlakuan sesuai kadar ekstrak yang diberikan. Deteksi lebih lanjut dengan *ELISA reader* λ=595 nm,¹² diketahui bahwa nilai IC₅₀ ekstrak umbi dan daun *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM sebesar 63,08 µg/mL dan 68,65 µg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa

Perbedaan nilai IC₅₀ ekstrak umbi dan daun *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM



Gambar 2. Grafik Perbandingan Ekstrak Umbi dan Daun *Typhonium flagelliforme* Fraksi DCM terhadap Viabilitas Sel.

ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM lebih baik dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara dibandingkan dengan ekstrak daun *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM.

Banyaknya kandungan kimia suatu tanaman sangat berkaitan dengan polaritas senyawa tersebut terhadap pelarut. Secara kuantitatif kandungan kimia terbesar dari *Typhonium flagelliforme* adalah berupa senyawa polar yang terikat pada pelarut etanol terutama dalam umbi, sedangkan dalam jumlah sedikit terdapat dalam senyawa nonpolar dalam ekstrak heksan dan semipolar dalam ekstrak DCM. Penelitian sebelumnya dengan mengekstraksi *Typhonium flagelliforme* dengan menggunakan pelarut polar etanolik juga menghasilkan jumlah jauh lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut semipolar dan nonpolar.⁶ Aktivitas fitofarmaka suatu ekstrak tidaklah tergantung pada banyaknya kandungan senyawa, akan tetapi pada struktur senyawa suatu ekstrak dan target molekuler dari sel kanker itu sendiri. Dengan demikian ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM mempunyai aktivitas fitofarmaka yang paling sesuai dalam menghambat proliferasi sel kanker payudara, akan tetapi pada penelitian ini tidak dilakukan fraksinasi ekstrak DCM umbi dengan *vacuum liquid chromatography* (VLC), sehingga tidak diketahui secara persis senyawa fraksi DCM umbi yang berperan. Penelitian ini juga tidak melakukan pemeriksaan molekuler yang terlibat dalam jalur proliferasi (tirosin kinase) dan jalur apoptosis, sehingga tidak diketahui secara pasti target molekuler mana yang dihambat oleh ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM.

Senyawa yang terkandung dalam ekstrak DCM umbi *Typhonium flagelliforme* dengan IC_{50} sebesar 63,08 $\mu\text{g/mL}$, dianggap poten dalam menghambat proliferasi sel kanker payudara MCF-7. Suatu senyawa dianggap potent bila nilai $IC_{50} < 100 \mu\text{g/ml}$.¹³ Kemampuan ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM dalam menghambat proliferasi sel kanker, juga ditunjukkan pada penelitian sebelumnya, diantaranya pada human T4 lymphoblastoid,⁷ P388 leukemia,⁶ NCI-H23 dan *non-small cell lung carcinoma*.⁸ Secara umum efek sitotoksik ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM menunjukkan fenomena *dose dependent*, dimana efek sitotoksik meningkat seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak, dan lamanya masa inkubasi. Hal itu sesuai dengan penelitiannya sebelumnya.^{7,8} Daya hambatan proliferasi sel pada ekstrak DCM menunjuk pola keteraturan, daya hambatan proliferasi terus berlangsung hingga dosis terkecil.

Terjadinya hambatan proliferasi sel MCF-7 kanker payudara diduga akibat kandungan senyawa asam linoleat terkonjugasi yang terkandung dalam konsentrasi tinggi pada ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM. Asam linoleat memperlihatkan aktivitas antikanker dengan cara menginduksi apoptosis sel kanker payudara,¹⁴ baik pada *in vivo* model hewan, maupun secara *in vitro* pada beberapa *cell-line*, di samping itu terdapat pula komponen *hexadecanoic acid* dan *9-hexadecanoic acid*, merupakan kandungan lemak tak jenuh terkonjugasi, yang juga terbukti mampu menginduksi apoptosis melalui aktivasi caspase-3.¹⁵

Studi lain menyebutkan beberapa isomer asam linoleat terkonjugasi, di antaranya *c9*, *t11-CLA* dan *t10*, *c12-CLA*

merupakan zat potent yang berperan dalam menghambat proliferasi sel tumor,¹⁶ terutama dengan reseptor estrogen positif. Paparan estrogen menyebabkan terjadinya *up-regulation* protein Bcl-2 yang berperan dalam signal anti apoptosis, berakibat ketidakmampuan sel tumor melakukan fungsi apoptosis.¹⁴⁻¹⁶

Bedasarkan hasil berbagai studi *in vitro* diatas, baik pada sel leukemia, *non-small cell lung carcinoma cel*, sel kanker payudara dan sel limfosit normal, maka zat yang terkandung dalam *Typhonium flagelliforme* diduga bekerja dengan cara menghambat proliferasi sel kanker, melalui induksi apoptosis. Oleh karenanya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan melihat indeks apoptosis yang terjadi pada sel kanker payudara, jalur molekulernya dan efek toksisitas pada sel payudara normal, dengan menggunakan senyawa fraksinasi dari ekstrak DCM *Typhonium flagelliforme*, sehingga diharapkan dapat dikembangkan menjadi agen kemo-prevensi maupun adjuvan kemoterapi yang lebih spesifik dan efektif.¹⁷

Kesimpulan

Ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi DCM lebih efektif dalam menghambat proliferasi sel MCF-7 dibandingkan ekstrak umbi fraksi heksanolik, umbi fraksi etanolik, daun fraksi DCM, daun fraksi etanolik dan daun fraksi heksanolik *Typhonium flagelliforme*. Ekstrak umbi *Typhonium flagelliforme* fraksi diklorometanolik memiliki prospek baik untuk dikembangkan sebagai agen kanker, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan fraksinasi senyawa yang terkandung terhadap induksi apoptosis sel kanker payudara.

Daftar Pustaka

1. International Agency for Research on cancer. World Cancer Report. 2003. [cited: 26-03-2009]. [Http://www.iarc.fr/en/publications/PDFs-online/word-cancer-report](http://www.iarc.fr/en/publications/PDFs-online/word-cancer-report).
2. WHO. Global Cancer Control; Worldwide Cancer Burden. Geneva, Switzerland. WHO Press. 2008:42-55.
3. Vogelstein B, Kinzler KW. Cancer genes and the pathways they control. *Nat Med*. 2004;10:789-99. [PubMed: 15286780].
4. Widschwendter M, Jones PA. DNA methylation and breast carcinogenesis. *Oncogene*. 2002;21:5462-82.
5. Esteller M. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. *Nat Rev Genet*. 2007;8:286-98.
6. Choo CY, Chan KL, Sam TW, Hitotsuyanagi Y, Takeya K. The cytotoxicity and chemical constituents of the hexane fraction of *Typhonium flagelliforme* (Araceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 2001;77:129-31.
7. Syam M, Bustamam A, Ibrahim S, Al-Zubairi AS, Aspollah M. *Typhonium flagelliforme* induces apoptosis in CEMss cells via activation of caspase-9, PARP cleavage and cytochrome c release. *J Ethnopharmacol*. 2010;131(3):592-600.
8. Choon SL, Rosemal HMH, Nair NK, Majid MIA, Mansor SM, Navaratnam V. *Typhonium flagelliforme* inhibits cancer cell growth in vitro and induce apoptosis: An evaluation by the bioactivity guided approach. *J Ethnopharmacol*. 2008;118:14-20.
9. Syam M, Bustamam A, Ibrahim S, Al-Zubairi AS, Aspollah M, Abdullah R, et al. In vitro Ultramorphological Assessment of Apoptosis on CEMss Induced by Linoleic Acid-rich Fraction

- from *Typhonium flagelliforme* Tuber. eCAM. 2010;1-13.
10. Nobakht, G. M., Kadir, M. A. and Stanlas, J. Analysis of preliminary phytochemical screening of *Typhonium flagelliforme*. Af J Biotechnol. 2010; 9(11):1655-57.
 11. Widowati L dan Harfia M. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 50% Umbi Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme*) Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 *In-vitro*. (Media Litbangkes. 2009;19(1): 9-14 Availableform:http://www.litbang.depkes.go.id/risbinkes/Buku%20laporan%20penelitian%201997-2006/28-uji_aktivitas_ekstrak_etanol_50.htm
 12. Lau CS, Ho CY, Kim CF, Leung KN, Fung KP, Tse TF, Chan HL, Chow MS. Cytotoxic activities of *Coriolus versicolor* (Yunzhi) extract on human leukemia and lymphoma cells by induction of apoptosis. Life Sci. 2004;75:797-808.
 13. Ueda JY, Tezuka Y, Banskota AH, Tran QL, Tran QK, Harimaya Y, *et al*. Antiproliferative Activity of Vietnamese Medicinal Plants. Biol Pharm Bull. 2002;25(6):753-60
 14. Wang LS, Huang YW, Liu S, Yan P, Lin YC. Conjugated linoleic acid induces apoptosis through estrogen receptor alpha in human breast tissue. BMC Cancer 2008;8:208.
 15. Yoo YC, Shin BH, Hong JH, Lee J, Chee HY, Song KS, *et al*. Isolation of Fatty Acids with Anticancer Activity from *Protactia brevitarsis* Larva. Arch Pharm Res. 2007;30:361-5.
 16. Ip MM, Masso-Welch PA, Ip C. Prevention of mammary cancer with conjugated linoleic acid: role of the stroma and the epithelium. J Mammary Gland Biol Neoplasia 2003;8:103-18.
 17. Adams LS, Seeram NP, Hardy ML, Carpenter C, Heber D. Analysis of the interactions of botanical extract combinations against the viability of prostate cancer cell lines. eCAM. 2006;3:117-24.

