

ARTIKEL PENELITIAN

Profil Jumlah Limfosit Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina Galur Sprague Dawley yang Terpajan 7,12 Dimetilbenz(A)Antracene dan Mendapat Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.)

Nabilah Aulia Rahmah¹, Muhammad In'am Ilmiawan², Syarifah Nurul Yanti RSA³

1. Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat; 2. Departemen Biologi dan Patobiologi, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat; 3. Departemen Farmakologi, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat

Korespondensi: Nabilah Aulia Rahmah; nabilahauliarah@gmail.com; 081347235261

Abstrak

Tujuan: Mengetahui efek ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) terhadap jumlah limfosit tikus putih galur *Sprague Dawley* yang terpajan 7,12 Dimetilbenz(α)antracene (DMBA). **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen menggunakan tikus betina galur *Sprague Dawley* yang diinduksi DMBA. Tikus dibagi secara acak menjadi 6 kelompok perlakuan, yaitu kelompok normal, kontrol negatif (DMSO 5%), kontrol positif (Tamoxifen), perlakuan I (ekstrak bawang dayak 180mg/kgBB), perlakuan II (ekstrak bawang dayak 360 mg/kgBB), dan perlakuan III (ekstrak bawang dayak 720 mg/kgBB). **Hasil:** Data jumlah limfosit kemudian dianalisis menggunakan uji *One-way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post hoc LSD*. Ekstrak etanol umbi bawang dayak memiliki perbedaan bermakna ($p < 0,05$) terhadap jumlah limfosit. Uji *Post hoc LSD* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok perlakuan I, II, dan III terhadap kelompok kontrol negatif. **Kesimpulan:** Ekstrak etanol umbi bawang dayak memiliki efek terhadap tikus yang mengalami tumor payudara yaitu dengan meningkatkan jumlah limfosit pada tikus.

Kata kunci: Umbi bawang dayak; Kanker payudara; 7,12 Dimetilbenz(α)antracene; Limfosit

Abstract

Objective: To determine the effect of the ethanolic extract of dayak onion bulbs (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) on the lymphocyte count of *Sprague Dawley* rats exposed to 7,12 Dimethylbenz(α)anthracene (DMBA). **Methods:** This study was an experimental study used female rats of the *Sprague Dawley* strain induced by DMBA, were randomly divided into 6 treatment groups; normal group that weren't treated DMBA; negative control group that treated by DMBA and DMSO 5%; positive control group that treated by DMBA and Tamoxifen; treatment I, II, III groups were treated by DMBA and extract 180mg/kgBW; treatment II group were treated by DMBA and extract 360 mg/kgBW; and treatment group III were treated by DMBA and extract 720 mg/kgBW. **Results:** The data of lymphocyte has analyzed using the *One-way ANOVA* test and followed by the *Post hoc LSD* test. The ethanol extract of dayak onion bulbs had a significant difference ($p < 0.05$) on the number of lymphocytes. *Post hoc LSD* test showed that there was a significant difference ($p < 0.05$) in the treatment groups I, II, and III against the negative control group. **Conclusion:** The ethanol extract of dayak onion bulbs had an effect on rats with breast tumors by increasing the number of lymphocytes in rats.

Keywords: Dayak onion bulb; Breast cancer; 7,12 Dimethylbenz(α)anthracene; Lymphocyte

PENDAHULUAN

Kanker merupakan pertumbuhan sel secara tidak normal dari sel normal menjadi sel tumor ganas. Sel-sel ganas tersebut dapat menyebar ke organ dan jaringan tubuh lainnya sehingga dapat menyebabkan kematian. Kanker merupakan penyebab kematian terbanyak kedua di dunia dengan angka kejadian 9,6 juta kematian pada tahun 2018.¹ Kejadian kanker di dunia pada tahun 2020 menurut *Global Burden of Cancer* (GLOBOCAN) mencapai 19,3 juta kasus baru. Kanker payudara merupakan kanker yang memiliki angka kejadian tertinggi dengan jumlah kasus baru mencapai 2,2 juta kasus dan diikuti oleh kanker paru. Kanker payudara merupakan kasus kanker terbanyak pada wanita dan paling umum terjadi dengan persentase kejadian 11,7%.² Di Indonesia, angka kejadian kanker terbanyak pada tahun 2020 adalah kanker payudara dengan kasus baru 65.858 kemudian diikuti kanker serviks 36.633 kasus baru, dan kanker paru yang mencapai 34.189 kasus.³ Prevalensi kejadian kanker payudara di Kalimantan Barat pada tahun 2013 mencapai 441 kasus.⁴

Kanker payudara merupakan jaringan payudara yang tumbuh tidak terkendali sehingga menjadi suatu keganasan dan dapat menyebar ke jaringan dan organ di sekitarnya.⁵ Angka kejadian kanker payudara meningkat karena beberapa faktor risiko yaitu wanita, usia di atas 50 tahun, riwayat genetik (membawa mutasi gen BRCA1, BRCA2, ATM atau TP53 (p53)) dan riwayat keluarga, riwayat penyakit payudara sebelumnya (*Ductal Carcinoma In Situ* (DCIS), densitas tinggi pada mamografi), usia menstruasi dini (< 12 tahun), usia *menopause* >55 tahun, riwayat konsumsi alkohol, obesitas, riwayat reproduksi

(melahirkan dan menyusui), hormon, dan faktor lingkungan.⁶

Kanker payudara pada tikus galur *Sprague Dawley* dapat disebabkan oleh senyawa karsinogenik berupa 7,12 *Dimetilbenz(a)anthracene* (DMBA). DMBA merupakan senyawa hidrokarbon aromatik polisiklik yang menimbulkan efek karsinogen terutama pada tikus galur *Sprague Dawley*. Senyawa DMBA akan meningkatkan ekspresi AgNOR, C-erbB-2, PCNA, Ki-67, dan MCM2 pada jaringan epitel payudara tikus sehingga jaringan epitel menjadi hiperplasia dan timbul efek karsinogenesis secara bersamaan.⁷ Senyawa DMBA juga dapat memengaruhi hematopoiesis pada sumsum tulang sehingga dapat menurunkan kadar limfosit.¹¹

Limfosit merupakan sel leukosit yang berukuran paling kecil, memiliki satu inti besar yang memenuhi sel dan memiliki sedikit atau bahkan tidak memiliki granula. Limfosit berperan penting dalam sistem imunitas atau sistem pertahanan tubuh. Terdapat dua jenis limfosit, yaitu limfosit B dan limfosit T. Limfosit B menghasilkan antibodi yang bertanggung jawab dalam imunitas humoral. Antibodi akan berikatan dengan antigen spesifik. Limfosit T bertanggung jawab terhadap imunitas seluler, yang secara langsung akan menyerang sel sasaran. Limfosit T atau sel T mampu mengenali dan menghancurkan sel tumor yang baru terbentuk atau sel yang berpotensi menjadi kanker.⁸

Bawang dayak merupakan tanaman yang memiliki khasiat yang bermanfaat untuk pengobatan kanker payudara dan sering digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat Kalimantan.⁹ Kandungan flavonoid pada bawang dayak diketahui berperan sebagai antioksidan yang berpotensi sebagai anti kanker.¹⁰ Sebuah penelitian telah dilakukan untuk menguji

efek penghambatan siklus dan apoptosis sel dari umbi bawang dayak terhadap sel kanker payudara T47D. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak umbi bawang dayak, fraksi semipolar memiliki aktivitas sitotoksik paling tinggi terhadap sel T47D, dilihat dari nilai IC₅₀ yang diperoleh. Penelitian lainnya juga membuktikan bahwa ekstrak umbi bawang dayak fraksi etanol memiliki efek antikanker pada sel T47D.⁹ Ekstrak *Eleutherine bulbosa* dilaporkan juga dapat meningkatkan kadar leukosit, limfosit, dan monosit.²²

Berdasarkan uraian diatas dan belum adanya penelitian mengenai efek ekstrak bawang dayak terhadap jumlah limfosit pada tikus putih yang diberi induksi 7,12 *dimetilbenz(a)antracene*, peneliti berupaya untuk melakukan penelitian mengenai efek ekstrak bawang dayak terhadap jumlah limfosit tikus putih galur *Sprague Dawney* yang mengalami tumor payudara akibat induksi DMBA.

Efek Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak terhadap Jumlah Limfosit Hewan Uji

Pengamatan terhadap jumlah limfosit dilakukan setelah hewan uji diberi perlakuan selama 71 hari. Penelitian ini dimulai dengan pembuatan preparat apusan darah tepi hewan uji, dilanjutkan

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen menggunakan rancangan acak terkontrol dengan *posttest-only control group design*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi, UPT Laboratorium Terpadu Univeristas Tanjungpura dengan melakukan pembacaan preparat apusan darah tepi dan kemudian menghitung jumlah limfosit. Apusan darah tepi berasal dari 30 ekor tikus yang terbagi menjadi 6 kelompok perlakuan yaitu kelompok normal, kontrol negatif (DMBA+DMSO 5%), kontrol positif (DMBA+Tamoxifen), perlakuan I (DMBA+ ekstrak bawang dayak 180mg/kgBB), perlakuan II (DMBA+ ekstrak bawang dayak 360 mg/kgBB), dan perlakuan III (DMBA+ ekstrak bawang dayak 720 mg/kgBB). Hasil perhitungan limfosit yang didapat kemudian dinalisis menggunakan uji statistik *One-way ANOVA dan Post Hoc LSD*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

pewarnaan Giemsa terhadap apusan darah, selanjutnya dilakukan pengamatan dengan mikroskop pada pembesaran lensa objektif 100x. Hasil perhitungan jumlah limfosit yang dilakukan pada semua kelompok dengan melihat jumlah limfosit dalam 100 sel leukosit (Tabel 1).

Keterangan: kelompok normal diberi makan dan minum; kelompok negatif diberi DMBA dan DMSO 5%; kelompok positif diberi DMBA dan Tamoxifen; kelompok perlakuan I (P I) diberi DMBA dan ekstrak etanol umbi bawang dayak dengan dosis 180 mg/kgBB; kelompok perlakuan II (P II) diberi DMBA dan ekstrak etanol umbi bawang dayak dengan dosis 360 mg/kgBB; kelompok perlakuan III (P III) diberi DMBA dan ekstrak etanol umbi bawang dayak dengan dosis 720 mg/kgBB.

Tabel 1. Hasil Hitung Jumlah Limfosit

Kelompok	Jumlah Limfosit				Mean±SD
	Tikus 1	Tikus 2	Tikus 3	Tikus 4	
Normal	45	44	43	39	42,75±5,72
Negatif	18	17	23	17	18,75±5,72
Positif	41	45	40	60	47,4±8,26
P I	54	51	44	45	50,6±6,21
P II	40	51	46	45	50,4±11,63
P III	67	59	57	63	59,6±5,72

Jumlah limfosit yang telah didapat kemudian dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, apabila nilai p lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) maka data terdistribusi normal. Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa nilai p semua kelompok lebih dari 0,05, sehingga diketahui semua data dari penelitian ini terdistribusi normal. Uji homogenitas variansi data dilakukan setelah *Shapiro-Wilk* yaitu menggunakan uji *Levene*, apabila didapatkan nilai p lebih dari 0,05 ($p > 0,05$), maka variansi data bersifat

homogen. Berdasarkan uji *Levene* pada data jumlah limfosit hewan uji, didapatkan nilai p lebih dari 0,05 ($p = 0,292$), maka dapat disimpulkan bahwa variansi data bersifat homogen. Uji analisis *One-Way ANOVA* dan didapatkan hasil p kurang dari 0,05 ($p = 0,000$), sehingga diketahui bahwa data jumlah limfosit hewan uji memiliki perbedaan yang bermakna antar kelompok. Uji statistik dilanjutkan menggunakan analisis *post-hoc LSD*, sebagai berikut:

(Tabel 2)

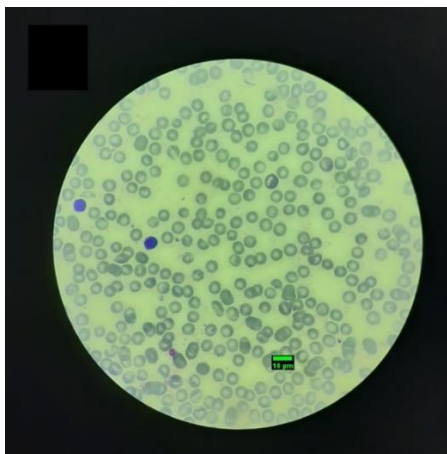
Tabel 2. Hasil Uji Statistik *Post-Hoc LSD*

Kelompok	Negatif	Positif
Normal	0,000*	0,140
Negatif	-	0,000*
Positif	-	-
Perlakuan I	-	-
Perlakuan II	-	-

Keterangan:

¹ Notasi * menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$).

² Kelompok negatif=kontrol DMBA; kelompok positif= kontrol tamoxifen; kelompok perlakuan I=DMBA 180 mg/kgBB; perlakuan II=DMBA 360 mg/kgBB; perlakuan III=DMBA 720 mg/kgBB.



Gambar 1. Gambaran limfosit pada pengamatan jumlah limfosit. (Pewarnaan Giemsa, 100x)

Berdasarkan analisis statistik menggunakan uji *One-Way ANOVA* dengan

post-hoc LSD (Tabel 2) pada jumlah limfosit tikus putih menunjukkan bahwa kelompok perlakuan I, II, dan III memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol normal dan kontrol negatif, serta kelompok perlakuan III memiliki perbedaan signifikan terhadap kelompok kontrol positif, namun perlakuan II tidak

memiliki perbedaan signifikan dengan perlakuan I dan II. Kelompok kontrol negatif memiliki perbedaan signifikan terhadap kelompok normal dan kelompok positif (Gambar 1).

Hewan uji pada penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur *Sprague Dawley*. Tikus galur *Sprague Dawley* dipilih karena tikus galur ini sensitif terhadap DMBA. Waktu pemberian DMBA sangat penting diperhatikan sejak tikus berusia 21 hari, karena jumlah *terminal end buds* (TEBs) mencapai maksimal. Sedangkan pada usia 30-42 hari, pengaruh hormon siklus estrus pada pubertas merangsang pembelahan TEB dan berdiferensiasi menjadi tunas alveolar. Jaringan payudara paling sensitif pada saat berusia 55-60 hari. Pada usia ini, zat karsinogenik akan bekerja pada tunas alveolar dan membentuk lesi.^{12,13}

Berdasarkan hasil pengamatan jumlah limfosit pada tabel 1, diketahui nilai rata-rata setiap kelompok yaitu kelompok normal sebesar 40,4%, kelompok kontrol negatif sebesar 18,2%, kelompok kontrol positif sebesar 47,4%, kelompok perlakuan I sebesar 50,6%, kelompok perlakuan II sebesar 50,4%, dan kelompok perlakuan III sebesar 59,6%.

Keberhasilan pemberian DMBA pada tikus putih galur *Sprague Dawley* pada penelitian ini dapat dilihat dengan terbentuknya nodul tumor pada kelenjar payudara tikus yang diperiksa dengan melakukan palpasi. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang telah dilakukan, diketahui bahwa nodul tumor teraba pada semua tikus pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan I, perlakuan II, dan perlakuan III, serta didapati bahwa kelompok kontrol negatif memiliki rerata diameter paling besar dibanding kelompok lain.²³

Setelah dilakukan uji statistik, diketahui bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kelompok normal, kelompok kontrol positif, dan kelompok perlakuan I, II, dan III dibandingkan kelompok kontrol negatif. Kelompok kontrol negatif yang hanya diberi DMBA memiliki jumlah limfosit paling rendah. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan Saltuk, et. al yang menunjukkan jumlah limfosit mengalami penurunan dibandingkan kelompok normal.¹⁴ Senyawa DMBA diketahui bersifat immunosuppresor, yaitu menekan kerja sistem imun. *Ultimate* karsinogen pada DMBA terbukti menekan aktivitas sumsum tulang sehingga menghambat proses eritropoiesis dan pembentukan limfosit, serta menyebabkan sel splenosit menjadi toksik.^{14,15}

Berdasarkan hasil uji statistik diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan

signifikan pada jumlah limfosit pada kelompok perlakuan; yaitu diberi DMBA dan ekstrak etanol umbi bawang dayak, baik antara kelompok perlakuan I (180 mg/kgBB), perlakuan II (360 mg/kgBB), dan perlakuan III (720 mg/kgBB), serta didapati bahwa dosis ekstrak etanol umbi bawang dayak pada kelompok perlakuan III dapat meningkatkan jumlah limfosit lebih tinggi dibanding dosis pada kelompok perlakuan I dan II. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semakin besar dosis ekstrak yang diberikan, semakin baik pula jumlah limfosit hewan uji. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Toemon et. al yang menyatakan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanol umbi bawang dayak yang diberikan maka semakin meningkat jumlah sel penghasil IFN- γ atau mencegah terjadinya penurunan sel penghasil IFN- γ .²⁴

Kelompok normal dan kelompok kontrol negatif memiliki perbedaan signifikan terhadap kelompok perlakuan I, II, dan III. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak etanol umbi bawang dayak yang diberikan memiliki efek terhadap jumlah limfosit tikus yang mengalami tumor payudara. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol umbi bawang dayak secara oral terhadap peningkatan jumlah sel yang terkspresi IFN- γ .²⁴ Peningkatan IFN- γ akan menghasilkan sel NK dan limfosit T. Ekstrak etanol umbi bawang dayak efektif meningkatkan jumlah limfosit. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam bawang dayak berperan sebagai antioksidan yang mampu mencegah terjadinya reaksi penggabungan antara molekul karsinogen dan sel DNA sehingga sel kanker tidak terbentuk. Flavonoid juga memiliki efek meningkatkan aktivitas IL-2 dan merangsang proliferasi limfosit termasuk

sel T *helper* dan T sitotoksik (CD8+). Sel Th1 akan memengaruhi *interferon gamma* yang dapat mengaktifkan makrofag, sedangkan sel T sitotoksik akan berperan menghancurkan sel tumor.^{16,17,18,19,24}

Kelompok normal tidak memiliki perbedaan signifikan terhadap kelompok kontrol positif (diberi tamoxifen), serta jumlah limfosit kelompok kontrol positif hampir sama dengan kelompok normal. Tamoxifen merupakan terapi yang digunakan pada kanker payudara terutama pada tumor payudara yang mengekspresikan reseptor estrogen (ER+). Tamoxifen akan bekerja pada jaringan payudara dengan berikatan pada *binding sites* estrogen sehingga menimbulkan efek anti estrogenik dan anti tumor.⁴⁴ Tamoxifen diketahui dapat berperan sebagai imunomodulator respon imun. Tamoxifen terbukti meningkatkan jumlah

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) dapat meningkatkan jumlah limfosit pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur *Sprague Dawley* yang terpajan DMBA dan dosis ekstrak etanol umbi bawang dayak pada perlakuan III (720mg/kgBB) paling besar meningkatkan jumlah limfosit pada

DAFTAR PUSTAKA

1. International Agency for Research on Cancer. Latest global cancer data: Cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018. World Health Organization: Cancer. 2018. Diakses melalui

limfosit CD4+ dan CD8+ pada pasien dengan kanker payudara yang telah menjalankan radioterapi.²¹

Berdasarkan hasil uji statistik; *One-Way ANOVA* dan *Post Hoc LSD*, didapati bahwa kelompok kontrol positif (Tamoxifen) tidak memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok perlakuan I (180 mg/kgBB) dan II (360 mg/kgBB). Namun diketahui bahwa kelompok kontrol positif memiliki perbedaan signifikan terhadap kelompok perlakuan III (720 mg/kgBB) serta didapati bahwa jumlah limfosit pada kelompok kontrol positif (diberi Tamoxifen) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan (diberi ekstrak etanol umbi bawang dayak). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol umbi bawang dayak dapat meningkatkan jumlah limfosit lebih baik dibandingkan tamoxifen.

tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur *Sprague Dawley* yang terpajan DMBA.

DUKUNGAN FINANSIAL

Tidak ada.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tidak ada.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada.

<https://www.who.int/cancer/PRGlobocanFinal.pdf>.

2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021 Feb 4. doi: 10.3322/caac.21660.

3. World Health Organization. The Global Cancer Observatory: Indonesia. 2019.
4. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Situasi Penyakit Kanker. Buletin Jendela Data dan Infomasi Kesehatan. 2015.
5. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Oktober 2016 Bulan Peduli Kanker Payudara. Infodatin: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2016.
6. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Panduan Penatalaksanaan Kanker Payudara. Komite Penanggulangan Kanker Nasional. 2015.
7. Zhao JA, Chen JJ, Ju YC, Wu JH, Geng CZ dan Yang HC. The Effect of Childbirth on Carcinogenesis of DMBA-Induced Breast Cancer in Female SD Rats. *Chinese Journal of Cancer*. 2011; 30.
8. Sherwood, L. Fisiologi Manusia: dari Sel ke Sistem. Ed. 9. Jakarta: EGC. 2018.
9. Putri ENA, Haryoto. Aktivitas Antikanker Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Americana Merr.*) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D. *University Research Colloquium*. 2018.
10. Lestari D, Kartika R, Marliana E. Antioxidant and anticancer activity of *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. On Leukemia cells L₁₂₁₀. *IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series* 1277. 2019.
11. Galván N, Page TJ, Czuprynski CJ, Jefcoate CR. Benzo(a)pyrene and 7,12-dimethylbenz(a)anthrecene differentially affect bone marrow cells of the lymphoid and myeloid lineages. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2006;213(2):105-116. doi:10.1016/j.taap.2005.09.018.
12. Kerdelhué B, Forest C, Coumoul X. Dimethyl-Benz(a)anthracene: A mammary carcinogen and a neuroendocrine disruptor. *Biochim Open*. 2016;3:49–55.
13. Costa E, Goncalves TF, Cardoso M, Coelho JMP, Gaspar MM, Faisca P, *et.al*. A Step Forward in Breast cancer Research: From a Natural-Like Experimental Model to a Preliminary Photothermal Approach. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. doi:10.3390/ijms21249681.
14. Baltaci SB, Mogulkoc R, Baltaci AK, Emsen A, Artac H. The Effect of Zinc and Melatonin Supplementation on Immunity Parameters in Breast Cancer Induced by DMBA in Rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2018; 124(3): 247-252. <https://doi.org/10.1080/13813455.2017.1392580>
15. Hidayati T, Akrom A, Indrayanti I, Sun S. Thymoquinone Increased Expression of CD4CD25T reg in Sprague-Dawley Rats Induced Dimethylbenzanthracene. *Open Access Maced J Med Sci*. 2021 Mar 04; 9(T4):87-91. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2021.5855>
16. Meiliana N. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia (L.) Merr.*) Secara Oral pada Mencit Balb/C terhadap Pencegahan Penurunan Jumlah NK Sel dan CD8⁺. *Jurnal Biosains Pascasarjana*. 2016; 18(1).
17. Zalisar L. Flavonoid of Phyllanthus Niruri as Immunomodulator: A Prospect to Animal Disease Control. *ARPN Journal of Science and Technology*. 2013; 3(5): 529-30.
18. Diana D, Kusmardi. Tumor-infiltrating lymphocytes dan Peranannya pada

- Karsinoma Payudara. *Majalah Patologi Indonesia*. 2020; 29(1): 30-40.
19. Sholikhah AR, Rahayuningsih HM. Pengaruh Ekstrak Lompong (*Colocasia esculenta* L. Schoot) 30 Menit Pengukusan Terhadap Aktivitas Fagositosis dan Kadar NO (Nitrit Oksida) Mencit BALB/C Sebelum Dan Sesudah Terinfeksi *Listeria monocytogenes*. *Jurnal of Nutrition College*. 2015;4(2):463-468.
 20. Farrar M, Jacobs T. Tamoxifen. In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-; 2020. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532905>
 21. Ray A, Ficek M. Immunomodulatory Effect of Anti-Estrogenic Drugs. *Acta Pharm*. 2012. Doi: 10.2478/v10007-012-0012-3
 22. Nugroho RA, Meylianawati, Asokawati OF, Sari YP, Hardi EH. The effects of dietary *Eleutherine bulbosa* on the growth, leukocyte profile, and digestive enzyme activity of the striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus*. *Nusantara Bioscience*. 2018; 10(1); 46-51pp.
 23. Sitompul SE. Efek Protektif Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Bulbosa* (Mill.) Urb.) Terhadap Diameter dan Volume Tumor Payudara Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina Galur *Sprague Dawley* Diinduksi 7,12-*Dimetlibenz(a)Antracene* [SKRIPSI]. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. 2020.
 24. Toemon AN. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Bulbosa* (Mill.) Urb.) Secara Oral pada Mencit BALB/C Terhadap Pencegahan Penurunan Jumlah Sel yang Tereksresi IFN- γ dan Peningkatan Jumlah Sel yang Tereksresi CD 14. *Jurnal Biosains Pascasarjana*. 2015;17(3).