

**EKSPLORASI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN AKTIVITAS
SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL 96% KULIT BIJI KABAU
(*Archidendron bubalinum*) : STUDI ANTIKANKER PADA
SEL KANKER PAYUDARA MCF-7**

(Skripsi)

Oleh:

Fatimah Kamilah Hakim



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG**

2025

**EKSPLORASI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN AKTIVITAS
SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL 96% KULIT BIJI KABAU
(*Archidendron bubalinum*) : STUDI ANTIKANKER PADA
SEL KANKER PAYUDARA MCF-7**

Oleh

Fatimah Kamilah Hakim

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA FARMASI**

Pada

**Program Studi Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi

**EKSPLORASI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
DAN AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK
ETANOL 96% KULIT BIJI KABAU
(*Archidendron bubalinum*) : STUDI
ANTI KANKER PADA SEL KANKER
PAYUDARA MCF-7**

Nama Mahasiswa

Fatimah Kamilah Hakim

No. Pokok Mahasiswa

2118031043

Program Studi

Farmasi

Fakultas

Kedokteran



MENYETUJUI,

1. Komisi Pembimbing

apt. Muhammad Iqbal, M.Sc.
NIP. 198612052022031003

Atri Sri Ulandari, S.Si, M.Farm.
NIP. 199407022023212053

2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, M.Sc.
NIP. 197601202003122001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: apt. Muhammad Iqbal, M.Sc.

Sekretaris

: Atri Sri Ulandari, S.Si., M.Farm.

Penguji

Bukan Pembimbing

: apt. Mirza Junando, M.Farm.Klin.



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, M.Sc.

NIP. 197601202003122001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 22 Januari 2025

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **"EKSPLORASI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL 96% KULIT BIJI KABAU (*Archidendron bubalinum*) : STUDI ANTIKANKER PADA SEL KANKER PAYUDARA MCF-7"** adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme.
2. Atas pernyataan ini apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, Januari 2025
Pembuat Pernyataan



Fatimah Kamillah Hakim
NPM. 2118031043

RIWAYAT HIDUP

Fatimah Kamilah Hakim lahir di Palembang pada tanggal 6 November 2002. Penulis merupakan anak semata wayang dari pasangan Bapak Lukmanul Hakim dan Ibu Umi Murdika.

Penulis memulai pendidikan di Taman Kanak-kanak (TK) di TK UNILA pada tahun 2007 dan Saijo Hoikusho, Higashi-hiroshima, Jepang pada tahun 2008, pendidikan Sekolah Dasar (SD) di Saijo Shogakko Elementary School, Higashi-hiroshima, Jepang pada tahun 2009, SDN 1 Palembang dan SD Al-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2010 hingga 2015. Kemudian, penulis melanjutkan pendidikan tingkat Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Al-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2015 hingga 2018. Pada tahun 2018 penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Al-Kautsar Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2021.

Penulis diterima menjadi mahasiswa Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2021. Selama menjadi mahasiswa, penulis menjalani perkuliahan dengan aktif dan ikut serta dalam beberapa organisasi kemahasiswaan. Penulis diberi kesempatan untuk bergabung dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Farmasi (Himafarsi) Universitas Lampung sebagai staff Departemen Eksternal dan Sosial (EKSOS) selama dua tahun serta dalam organisasi Forum Studi Islam (FSI) Ibnu Sina. Pada tahun ke tiga perkuliahan, penulis berkesempatan mendapatkan beasiswa Polri Presisi tahun 2023. Penulis juga aktif dalam aktivitas akademik sebagai asisten praktikum.

Penulis mengucapkan rasa syukur yang sebesar-besarnya setelah melalui proses yang panjang dan penuh tantangan, akhirnya penulis berhasil menyelesaikan skripsi yang berjudul "Eksplorasi Aktivitas Antioksidan dan Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol 96% Kulit Biji Kabau (*Archidendron bubalinum*): Studi Antikanker Pada Sel Kanker Payudara MCF-7".

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Bismillahirrahmanirrahim

وَمِنْ رَحْمَتِهِ جَعَلَ لَكُمُ اللَّيْلَ وَالنَّهَارَ لِتَسْكُنُوا فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ
وَلَعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ﴿٧٣﴾

*"Dan adalah karena rahmat-Nya, Dia jadikan untukmu malam dan siang, agar kamu beristirahat pada malam hari dan agar kamu mencari sebagian karunia-Nya (pada siang hari) dan agar kamu bersyukur kepada-Nya."
QS. Al-Qasas 28:73*

Ku persembahkan untuk
kedua orang tua yang aku sayangi,
ayah dan ibu

SANWACANA

Alhamdulillah Rabbil 'Aalamiin, puji syukur penulis haturkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala yang telah memberikan nikmat, rahmat, hidayah, dan karunia-Nya sehingga penulis diberikan kelancaran dan kemudahan untuk menjalani masa perkuliahan, penelitian, dan penyusunan naskah skripsi yang berjudul "**Eksplorasi Aktivitas Antioksidan dan Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol 96% Kulit Biji Kabau (*Archidendron bubalinum*): Studi Antikanker Pada Sel Kanker Payudara MCF-7**".

Dengan penuh syukur, penulis mengapresiasi kerja keras penulis dalam menyelesaikan penelitian dan penyusunan naskah skripsi ini. Dalam prosesnya, tentu penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan. Penulis mendapatkan banyak bimbingan, masukan, bantuan, saran, kritik, dukungan dan doa dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked, M. Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. dr. Rani Himayani, SpM., selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
4. apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc., selaku pembimbing I serta pembimbing akademik atas kesediaannya meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan ilmu, bimbingan, arahan, motivasi, masukan, kritik, dan saran membangun kepada penulis selama penyusunan skripsi ini;
5. Atri Sri Ulandari, S.Si., M.Farm., selaku pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan arahan, arahan,

motivasi, masukan, kritik, dan saran membangun kepada penulis selama penyusunan skripsi ini;

6. apt. Mirza Junando, S.Farm., M.Farm.Klin., selaku penguji skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan kritik, saran dan masukan mengenai skripsi ini;
7. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas bimbingan dan ilmu yang telah disampaikan selama proses perkuliahan;
8. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu dalam proses penyiapan penyusunan skripsi ini;
9. Seluruh staf Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu selama proses penelitian;
10. Ayah, Lukmanul Hakim dan Ibu, Umi Murdika, kedua orang tua tercinta atas doa, kasih sayang, dukungan, semangat, nasihat, dan perhatian yang sangat berarti bagi penulis. Terimakasih telah selalu menyertai di setiap perjalanan penulis dalam segala kondisi serta menjadi motivasi terkuat bagi penulis;
11. Keluarga besarku yang senantiasa memberikan semangat, bantuan, dukungan, dan doa tanpa henti selama ini.
12. Teman-teman sejawat familiYaa, Selly, Sania, Yuk Ghina, Lukii, Mewtron, Sapiwa, Jipa empew, Irfun, Reja yang selalu memberikan bantuan, motivasi, semangat, dan menjadi sahabat terbaik sekaligus keluarga selama perkuliahan. Terimakasih telah menjadi teman curhat, teman berkeluh kesah, teman belajar, dan teman berbagi cerita untuk menguatkan satu sama lain hingga kita sampai di tahap ini;
13. Dian, Najel, Haya, Lydia, dan Sabrina selaku sahabat terbaik sejak sekolah serta Gihon yang senantiasa memotivasi dan menjadi tempat bercerita penulis dalam segala keluh kesah selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini;
14. Teman penelitian dan asisten praktikum analisis, Pipit, Nata, Aga, Nopa, dan kak suci yang telah memberikan dukungan dan bantuan dalam proses penelitian yang dilakukan penulis;
15. Famili Atlas yang telah menjadi keluarga kecil pertama di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan memberikan banyak arahan, pembelajaran, dukungan, serta sebagai teman baik penulis selama perkuliahan;

16. Keluarga Purin-Pirimidin Angkatan 2021 Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas semangat dan kebersamaannya selama perkuliahan.
17. Teman-teman KKN Desa Sidomukti, Tanjung Sari, Lampung Selatan yang memberikan canda tawa, dan cerita hidup berharga selama 40 hari yang tak akan terulang dan sama-sama berjuang dalam perkuliahan di Universitas Lampung.
18. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu baik secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan studi di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua orang dan menambah pengetahuan serta informasi bagi pembaca.

Bandar Lampung, Januari 2025
Penulis,

Fatimah Kamilah Hakim

ABSTRACT

EXPLORATION OF ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC ACTIVITY OF 96% ETHANOLIC EXTRACT OF KABAU SEED SHELLS (*Archidendron bubalinum*): AN ANTICANCER STUDY ON MCF-7 BREAST CANCER CELLS

By

FATIYAH KAMILAH HAKIM

Background: Cancer treatment continues to evolve rapidly in line with the increasing incidence of cancer worldwide. One potential approach currently being developed for cancer prevention and treatment is the use of natural antioxidants. Previous studies have reported high antioxidant activity in the *Archidendron bubalinum*. However, no studies have linked this plant to its anticancer potential, particularly against breast cancer, which has a high prevalence globally. Therefore, this study aimed to explore the antioxidant and cytotoxic activities of *Archidendron bubalinum* seed shells extract on MCF-7 breast cancer cells.

Methods: In this study, extraction was performed using the Ultrasound-Assisted Extraction method with 96% ethanol as the solvent. The crude extract was then qualitatively analyzed for its compound content and its antioxidant activity was evaluated using the DPPH method, the cytotoxic activity against MCF-7 breast cancer cells was assessed using the MTT assay.

Result: The ethanolic extract of kabau seed shells contained saponins, phenolics, tannins, and flavonoids. The results showed a high IC₅₀ value for antioxidant activity at 38,23 mg/L. No significant cytotoxic activity was observed, indicating that the sample did not achieve 50% inhibition of MCF-7 breast cancer cells.

Conclusion: The ethanolic extract of kabau seed shells exhibited excellent antioxidant activity, but did not demonstrate cytotoxic activity against MCF-7 breast cancer cells.

Keywords: Archidendron bubalinum, antioxidant activity, cytotoxic activity, breast cancer, MCF-7 cell line.

ABSTRAK

EKSPLORASI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL 96% KULIT BIJI KABAU (*Archidendron bubalinum*) : STUDI ANTIKANKER PADA SEL KANKER PAYUDARA MCF-7

Oleh

FATIYAH KAMILAH HAKIM

Latar Belakang: Pengobatan kanker terus berkembang pesat seiring dengan masifnya kejadian kanker di dunia. Salah satu potensi yang dikembangkan saat ini untuk pengobatan dan pencegahan kanker adalah antioksidan alami. Beberapa penelitian terdahulu melaporkan bahwa adanya aktivitas antioksidan yang tinggi pada tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*). Namun, belum ada penelitian yang menghubungkan tanaman kabau dengan potensinya sebagai antikanker, seperti kanker payudara yang prevalensinya tinggi di dunia. Sehingga, dalam penelitian ini dilakukan eksplorasi aktivitas antioksidan dan aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara MCF-7.

Metode: Dalam penelitian ini, proses ekstraksi dilakukan dengan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak kental selanjutnya dilakukan identifikasi senyawa secara kualitatif dan diteliti aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH. Kemudian, dilakukan uji aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara MCF-7 menggunakan metode MTT.

Hasil: Ekstrak etanol kulit biji kabau mengandung senyawa saponin, fenolik, tanin, dan flavonoid. Didapatkan hasil nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan yang tinggi sebesar 38,23 mg/L. Tidak didapatkan adanya aktivitas sitotoksik yang berarti bahwa sampel tidak mencapai penghambatan 50% pada sel kanker payudara MCF-7.

Simpulan: Ekstrak etanol kulit biji kabau memiliki aktivitas antioksidan yang sangat baik, tetapi tidak menunjukkan aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara MCF-7.

Kata kunci: *Archidendron bubalinum*, Aktivitas antioksidan, Aktivitas sitotoksik, Kanker payudara, Sel MCF-7

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	13
DAFTAR TABEL	15
DAFTAR GAMBAR	16
DAFTAR LAMPIRAN	17
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Bagi Peneliti.....	4
1.4.2 Bagi Peneliti Lain.....	4
1.4.3 Bagi Institusi Terkait.....	4
1.4.4 Bagi Masyarakat.....	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 5
2.1 Kabau (<i>Archidendron bubalinum</i>)	5
2.1.1 Taksonomi.....	5
2.1.2 Morfologi	5
2.1.3 Kandungan Senyawa	7
2.1.4 Aktivitas Biologis.....	7
2.2 Ekstraksi	9
2.2.1 Definisi.....	9
2.2.2 Metode Ultrasound-Assisted Extraction	10
2.2.3 Pemilihan Pelarut	12
2.3 Senyawa Metabolit Sekunder.....	12
2.3.1 Definisi.....	12
2.4 Radikal Bebas.....	14
2.4.1 Definisi.....	14
2.4.2 Stres Oksidatif.....	15
2.5 Antioksidan	16
2.5.1 Definisi.....	16
2.5.2 Metode Pengujian Antioksidan	17
2.5.3 DPPH.....	18
2.6 Kanker	20
2.6.1 Definisi.....	20
2.6.2 Kanker Payudara	22

2.6.3 Sel Kanker MCF-7	23
2.6.4 Metode Pengujian In vitro Aktivitas Sitotoksik Sel Kanker	24
2.7 Spektrofotometri UV-Vis	27
2.7.1 Prinsip Kerja	27
2.7.2 Instrumentasi Alat	27
2.8 Kerangka Teori	29
2.9 Kerangka Konsep	29
BAB III METODE PENELITIAN	30
3.1 Desain Penelitian	30
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	30
3.2.1 Tempat Penelitian	30
3.2.2 Waktu Penelitian	31
3.3 Identitas Variabel Penelitian	31
3.3.1 Variabel Bebas	31
3.3.2 Variabel Terikat	31
3.4 Definisi Operasional	31
3.5 Alat dan Bahan Penelitian	32
3.5.1 Alat Penelitian	32
3.5.2 Bahan Penelitian	32
3.6 Prosedur Penelitian	33
3.6.1 Determinasi	33
3.6.2 Preparasi Sampel	33
3.6.3 Pembuatan Ekstrak	33
3.6.4 Perhitungan Rendemen Ekstrak	34
3.6.5 Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Biji Kabau	34
3.6.6 Uji Aktivitas Antioksidan	35
3.6.7 Uji Aktivitas Sitotoksik	38
3.7 Alur Penelitian	40
3.8 Pengolahan dan Analisis Data	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	42
4.1 Hasil Penelitian	42
4.1.1 Determinasi Tanaman Kabau	42
4.1.2 Ekstraksi Kulit Biji Kabau	42
4.1.3 Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Biji Kabau	43
4.1.4 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Biji Kabau	44
4.1.5 Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Biji Kabau	47
4.2 Pembahasan	49
4.2.1 Ekstraksi Kulit Biji Kabau	49
4.2.2 Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Biji Kabau	50
4.2.3 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Biji Kabau	54
4.2.4 Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Biji Kabau	57
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	62
5.1 Kesimpulan	62
5.2 Saran	62
DAFTAR PUSTAKA	64

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Hasil ekstraksi kulit biji kabau	43
Tabel 2. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol kulit biji kabau	43
Tabel 3. Nilai IC ₅₀ Asam Askorbat	45
Tabel 4. Nilai IC ₅₀ Ekstrak etanol kulit biji kabau (<i>Archidendron bubalinum</i>) ...	46
Tabel 5. Nilai IC ₅₀ Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Biji Kabau	48
Tabel 6. Nilai IC ₅₀ Aktivitas Sitotoksik Kontrol Positif Doxorubicin HCl	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Tanaman Kabau (<i>Archidendron bubalinum</i>)	6
Gambar 2. Mekanisme senyawa fenolik menghambat pertumbuhan sel kanker ..	9
Gambar 3. Skema diagram <i>ultrasound-assisted extraction</i> (UAE)	11
Gambar 4. Skema ilustrasi pembentukan metabolit sekunder	13
Gambar 5. Tiga jenis utama metabolit sekunder	14
Gambar 6. Klasifikasi antioksidan	16
Gambar 7. Mekanisme penetralan radikal DPPH oleh antioksidan	19
Gambar 8. Mutasi somatik DNA yang memiliki lesi	21
Gambar 9. Siklus sel normal	21
Gambar 10. Angka kejadian kanker payudara tahun 2022	23
Gambar 11. Metode uji MTT	25
Gambar 12. Struktur Kimia MTT	26
Gambar 13. Instrumen Spektrofotometri UV-Vis	27
Gambar 14. Kerangka Teori	29
Gambar 15. Kerangka Konsep	29
Gambar 16. Alur penelitian	40
Gambar 17. Kurva aktivitas antioksidan asam askorbat	45
Gambar 18. Kurva aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit biji kabau	46
Gambar 19. Kurva aktivitas sitotoksik ekstrak etanol kulit biji kabau	47
Gambar 20. Kurva Aktivitas Sitotoksik Kontrol Positif Doxorubicin HCl	48
Gambar 21. Reaksi Hidrolisis saponin	51
Gambar 22. Reaksi pembentukan endapan oleh pereaksi <i>Wagner</i>	52
Gambar 23. Reaksi flavonoid dengan Mg dan HCl	53
Gambar 24. Reaksi senyawa tanin dengan pereaksi FeCl ₃	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Surat Izin Penelitian (<i>Ethical Clearence</i>)	80
Lampiran 2. Surat Hasil Determinasi Tanaman	81
Lampiran 3. Proses Penyiapan Sampel	83
Lampiran 4. Proses Ekstraksi	84
Lampiran 5. Hasil Skrining Fitokimia.....	85
Lampiran 6. Pengujian Aktivitas Antioksidan	89
Lampiran 7. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang DPPH	90
Lampiran 8. Hasil Pengukuran Kurva Standar Vitamin C	91
Lampiran 9. Hasil Perhitungan % Inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Vitamin C	97
Lampiran 10. Hasil Pembacaan Absorbansi Ekstrak Etanol Kulit Biji Kabau ...	98
Lampiran 11. Hasil Perhitungan % Inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Biji Kabau	104
Lampiran 12. Pengujian Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Biji Kabau	105
Lampiran 13. Pengujian Aktivitas Sitotoksik Doxorubicin HCl.....	107
Lampiran 14. Pengujian Aktivitas Sitotoksik Kontrol Negatif DMSO 0,4% ...	108
Lampiran 15. Hasil Perhitungan % Inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Biji Kabau	109
Lampiran 16. Hasil Perhitungan % Inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Aktivitas Sitotoksik Kontrol Positif Doxorubicin.....	110
Lampiran 17. Hasil Pengujian Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Biji Kabau pada Sel Kanker MCF-7	111

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Pengobatan kanker merupakan salah satu pengobatan yang berkembang pesat selama ini. Hal ini dikarenakan banyaknya kasus kematian akibat kanker. Menurut data WHO secara global, pada tahun 2020 terdapat 10 juta kasus kematian akibat kanker dan salah satu diantaranya yaitu kanker payudara yang menyumbang 685.000 kasus kematian dan 2,26 juta kasus baru sehingga menjadikan kanker payudara sebagai salah satu jenis kanker yang prevalensinya tinggi di dunia (WHO, 2022). Oleh karena itu, berbagai pendekatan mengenai pengobatan kanker yang aman dan efektif terus dikembangkan dan disempurnakan. Terdapat berbagai macam jenis pengobatan kanker yang dibedakan menjadi pengobatan konvensional seperti radioterapi, pembedahan, dan kemoterapi serta pengobatan modern meliputi terapi hormon, modalitas anti-angiogenik, terapi *stem cell*, imunoterapi dan imunoterapi sel dendritik (Abbas & Rehman, 2018). Pengobatan modern belum mencapai tingkat yang dapat menahan angka kematian dan mengurangi perpanjangan waktu kelangsungan hidup kanker metastasis (Debela *et al.*, 2021). Pengobatan kanker konvensional, meskipun cukup efektif dalam pengobatan kanker, masih memiliki efek samping yang signifikan dalam penggunaannya (Abbas & Rehman, 2018). Di sisi lain, antioksidan dengan sifatnya yang mampu mengurangi kerusakan akibat stres oksidatif dan efektif menangkal radikal bebas, memiliki potensi sebagai alternatif dalam upaya pencegahan dan pengobatan penyakit yang berkaitan dengan stres oksidatif seperti kanker (Akanji *et al.*, 2020; Munteanu & Apetrei, 2021).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi antioksidan endogen (enzim) dan antioksidan eksogen atau antioksidan alami (He *et al.*, 2017). Antioksidan alami merupakan senyawa bioaktif yang terdapat dalam makanan maupun tanaman obat yang meliputi fitokimia fenolik, vitamin, dan karotenoid (Mendonça *et al.*, 2022). Vitamin E terbukti dalam menurunkan risiko kanker dan penyakit kardiovaskular dengan kemampuannya melindungi lipid dari oksidasi serta sebagai antioksidan pemecah rantai fase lipid (Mangge *et al.*, 2014). Vitamin C bekerja dengan menghentikan reaksi berantai radikal bebas dan melindungi dari kerusakan peroksidatif (Nimse & Pal, 2015). Karotenoid berkaitan dengan penurunan risiko kanker dan juga terbukti dapat menonaktifkan radikal peroksil yang berkontribusi terhadap stress oksidatif di dalam sel (Nimse & Pal, 2015; Rodriguez-Amaya, 2015). Fitokimia fenolik terdapat dalam berbagai bagian tumbuhan dan merupakan sumber penting antioksidan yang bekerja mengatasi atau mencegah oksidasi (Yousfi *et al.*, 2021). Secara keseluruhan, penelitian menunjukkan bahwa antioksidan alami memiliki potensi besar dalam pencegahan dan pengobatan kanker.

Kaitan antara antioksidan dan kanker telah menjadi fokus penelitian yang berkembang pesat selama ini. Studi terbaru menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) yang diekstraksi dengan metode maserasi memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi dibanding dengan menggunakan pelarut lainnya sehingga ekstrak etanol kulit biji tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) memiliki potensi sebagai agen antioksidan (Irawan *et al.*, 2018; Liyana *et al.*, 2019; Rahmawati *et al.*, 2020; Riasari *et al.*, 2019). Antioksidan memiliki peran dalam terapi kanker karena dapat menghilangkan radikal bebas pengoksidasi, sehingga mencegah kerusakan sel (Ammar *et al.*, 2020). Akan tetapi, sampai saat ini penelitian spesifik mengenai potensi tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) sebagai agen anti kanker masih sangat terbatas. Namun, banyak tanaman dalam famili yang sama dengan *Archidendron bubalinum* (*Fabaceae*) telah menunjukkan potensi aktivitas anti kanker

yang baik dengan menurunkan risiko kanker serta efektif dalam pencegahan dan pengobatan kanker (Usman *et al.*, 2022).

Berdasarkan penelitian tersebut, senyawa yang terdapat pada tanaman dalam famili *Fabaceae* berpotensi sebagai antioksidan serta terbukti memiliki kemampuan anti kanker. Sebagai anggota famili *Fabaceae*, tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) belum diteliti secara spesifik mengenai potensinya sebagai antikanker. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis potensi ekstrak etanol kulit biji tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) sebagai agen antioksidan dan antikanker pada sel kanker payudara MCF-7.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

- a. Bagaimana profil kandungan aktif metabolit sekunder kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*)?
- b. Bagaimana aktivitas antioksidan kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*)?
- c. Bagaimana aktivitas sitotoksik kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) terhadap sel kanker payudara MCF-7?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan aktivitas sitotoksik yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) terhadap sel kanker payudara MCF-7 menggunakan *Ultrasound-Assisted Extraction*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Berikut merupakan tujuan khusus dari penelitian ini:

- a. Mengetahui profil kandungan aktif metabolit sekunder kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*).
- b. Mengetahui aktivitas antioksidan kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*).
- c. Mengetahui aktivitas sitotoksik kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) terhadap sel kanker payudara MCF-7.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Diharapkan hasil penelitian ini dapat meningkatkan wawasan, pengetahuan, serta informasi bagi peneliti dalam bidang analisis bahan alam.

1.4.2 Bagi Peneliti Lain

Diharapkan hasil penelitian ini dapat menjadi referensi untuk penelitian lanjutan dan dasar untuk mengembangkan pengobatan kanker alami serta pengembangan antioksidan berbasis kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*).

1.4.3 Bagi Institusi Terkait

Diharapkan hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai referensi untuk studi lanjutan di Program Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

1.4.4 Bagi Masyarakat

Diharapkan hasil penelitian ini dapat meningkatkan pemahaman masyarakat mengenai pemanfaatan kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) sebagai agen antioksidan serta antikanker penunjang alami.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kabau (*Archidendron bubalinum*)

2.1.1 Taksonomi

Berdasarkan taksonominya, kabau (*Archidendron bubalinum* (Jack) I.C. Nielsen) diklasifikasikan sebagai berikut:

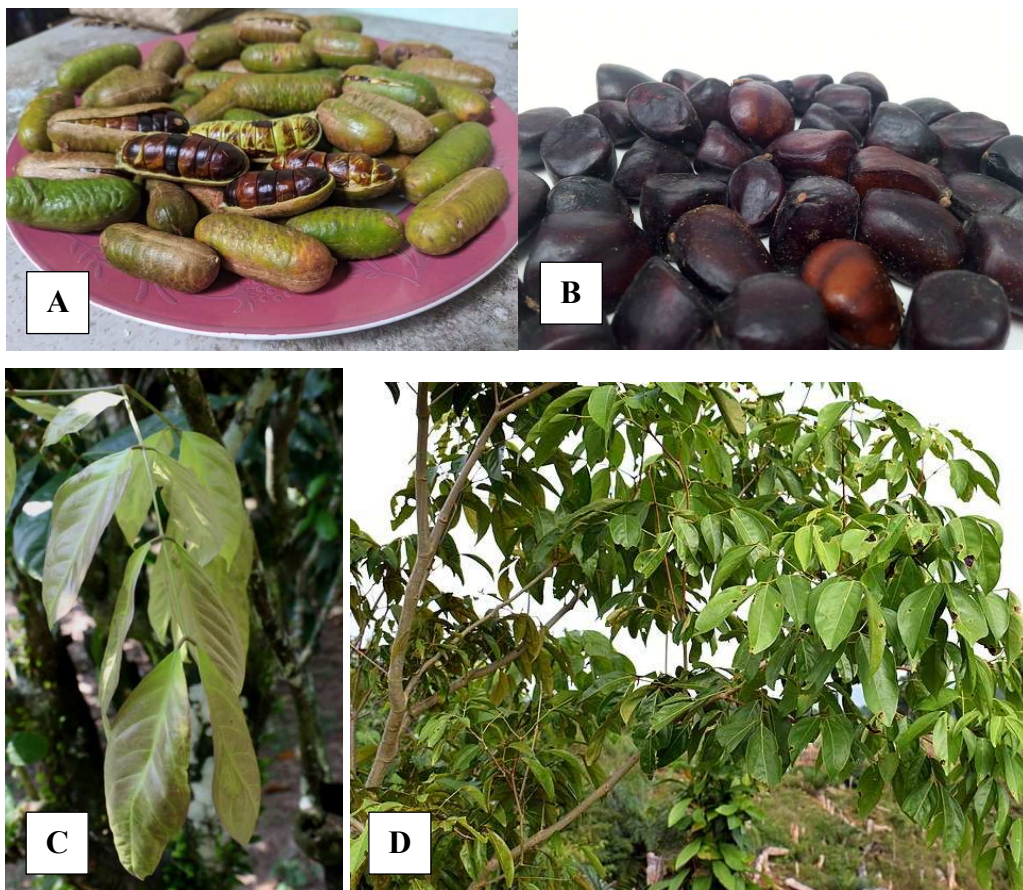
(*Archidendron bubalinum* (Jack) I.C.Nielsen in GBIF Secretariat, 2023)

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Tracheophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Orde	: <i>Fabales</i>
Famili	: <i>Fabaceae</i>
Genus	: <i>Archidendron</i> F.Muell
Spesies	: <i>Archidendron bubalinum</i> (Jack) I.C.Nielsen

2.1.2 Morfologi

Tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) merupakan anggota famili *Fabaceae* yang berasal dari Semenanjung Malaysia, Thailand, dan Sumatra di Indonesia serta tumbuh secara alami di hutan hujan tropis sekunder di dataran rendah dan perbukitan (Lim, 2012). Kabau memiliki nama yang berbeda di setiap daerah, seperti kabau (Jambi, Palembang, Riau), jering utan (Riau), kabeu (Bengkulu), jering kabau (Sumatra Barat), julang-jaling (Lampung), kerdas atau jering tupai (Malaysia), dan nieng-nok (Thailand) (Komariah & Hartana, 2016). Tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) memiliki daun yang tersusun spiral, majemuk menyirip ganda berbentuk

lanset hingga elips-lanset hingga lonjong dengan anak daun 1–2 pasang per pina dan memiliki bunga berwarna putih, bunga sempurna (hermafrodit atau biseksual), memiliki kelopak yang berbentuk cangkir dan mahkota berbentuk tabung serta terdapat banyak benang sari (Lim, 2012). Buah tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) berbentuk polong, lurus sampai agak melengkung dengan ujung membulat, berwarna hijau yang memiliki biji yang tersusun rapat di dalamnya, berbentuk elipsoid hingga bulat telur, pipih menyamping, berwarna putih krem, berubah warna menjadi coklat hingga coklat kemerahan, dan mengkilat saat matang (**Gambar 1**) (Lim, 2012).



Gambar 1. Tanaman Kabau (*Archidendron bubalinum*), Buah (A); Biji dan kulit (B); Daun (C); Pohon kabau (D) (Chaniago & Aisyah, 2022; Djatmiko, 2017; Morad, 2012)

2.1.3 Kandungan Senyawa

Tanaman Kabau (*Archidendron bubalinum*) memiliki kandungan senyawa fenolik, tanin, alkaloid, terpenoid, protein/asam amino, pati yang tersebar berbeda pada bagian-bagian biji kabau (Riasari *et al.*, 2021). Hasil skrining fitokimia secara keseluruhan menunjukkan adanya berbagai golongan senyawa seperti alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, terpenoid/steroid, mono/seskuiterpen, dan kuinon. Pada ekstrak etil asetat dari tanaman kabau teridentifikasi mengandung ester asam lemak seperti asam heksadekanoat dan asam 9-oktadekanoat dalam bentuk metil esternya, serta asam karboksilat seperti asam heksadekanoat dan asam (Z) -11- oktadekanoat. Sementara itu, ekstrak n-heksana kaya akan senyawa alifatik seperti alkana dan alkena, serta berbagai gugus fungsi lainnya seperti ester, keton, karboksilat, amino, fenolik, dan aromatik. Lebih lanjut, skrining fitokimia pada ekstrak metanol cangkang biji *Archidendron bubalinum* juga mengkonfirmasi adanya flavonoid, tanin, total fenol, dan terpenoid, namun alkaloid dan saponin tidak terdeteksi. Keragaman senyawa ini mengindikasikan kabau mengandung beragam senyawa bioaktif yang potensial memiliki aktivitas farmakologis (Hanafi *et al.*, 2018; Irawan *et al.*, 2018; Riasari *et al.*, 2019).

2.1.4 Aktivitas Biologis

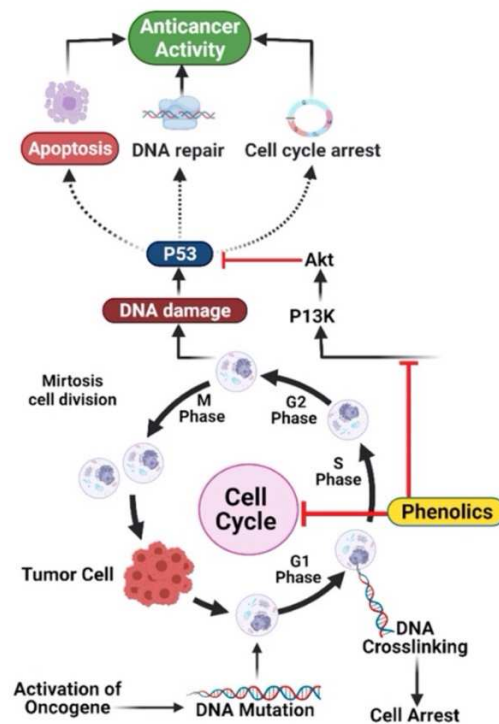
Berdasarkan penelitian sebelumnya yang pernah dilakukan, setiap bagian kabau (*Archidendron bubalinum*) memiliki berbagai sifat farmakologis sebagai berikut: Kulit biji tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi (Rahmawati *et al.*, 2020; Riasari *et al.*, 2019). Ekstrak heksan, etil asetat, etanol, dan air dari biji kabau (*Archidendron bubalinum*) memiliki aktivitas antibakteri baik terhadap bakteri gram negatif maupun bakteri gram positif serta bersifat anti fungi pada ragi dan jamur berfilamen (Teh *et al.*, 2022). Ekstrak etanol akar kabau (*Archidendron bubalinum*) memiliki potensi sebagai anti diabetes karena terbukti dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan yang diinduksi diet tinggi lemak dan fruktosa (Annisa Amriani *et al.*,

2021). Selain itu, daun kabau (*Archidendron bubalinum*) yang dimaserasi dan difraksinasi memiliki aktivitas imunomodulator sebagai imunostimulan yang ditandai dengan peningkatan indeks fagositosis pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) (Sofia *et al.*, 2024). Sehingga secara keseluruhan, tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) telah terbukti memiliki sifat-sifat farmakologis yang berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut.

Sifat farmakologis juga dimiliki oleh senyawa-senyawa seperti fenolik, tanin, alkaloid, dan flavonoid yang terkandung dalam tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) yaitu bersifat sebagai antioksidan (Muscolo *et al.*, 2024). Flavonoid dapat bertindak sebagai antioksidan dengan menyumbangkan atom hidrogen ke radikal bebas, sehingga menghasilkan radikal antioksidan yang lebih stabil dan tidak mudah mengalami auto-oksidasi (Hassanpour & Doroudi, 2023). Berbeda halnya dengan alkaloid, mekanisme kerja alkaloid yang tepat terhadap stres oksidatif tidak selalu jelas dan dapat mencakup lebih banyak mekanisme. Hal tersebut karena terdapat kompleksitas pada sistem ROS/antioksidan. Banyak alkaloid telah terbukti memengaruhi NADPH-oksidase, baik dengan menghalangi translasi unit enzimatik atau pembentukan sistem enzimatik multiunit fungsional ini. Alkaloid juga memiliki kemampuan dapat bertindak sebagai pro-oksidan atau antioksidan (Macáková *et al.*, 2019). Mekanisme kerja antioksidan senyawa fenolik dilakukan dengan meningkatkan atau menurunkan regulasi elemen transkripsi yang terlibat dalam jalur antioksidan, seperti faktor nuklir- κ B (NF- κ B) atau faktor nuklir-faktor eritroid 2-faktor terkait 2 (Nrf-2) (Rahman *et al.*, 2022). Namun, keseluruhan mekanisme aktivitas antioksidan senyawa fenolik dapat melalui mekanisme HAT atau elektron tunggal (Zeb, 2020).

Selain bersifat sebagai antioksidan, senyawa fenolik juga memiliki mekanisme antikanker dengan cara yang multitarget, yaitu menyerang berbagai proses penting dalam sel kanker. Senyawa fenolik dapat menyebabkan kerusakan pada DNA sel kanker secara langsung dengan

menghentikan siklus sel pada fase tertentu dan menghambat aktivitas protein Akt dan PI3K, sehingga sel kanker tidak dapat membelah diri dan tumbuh. Kerusakan DNA yang parah akan memicu mekanisme perbaikan atau apoptosis. Senyawa fenolik dapat membantu memperbaiki kerusakan DNA pada sel kanker, sehingga menghambat pertumbuhannya. Jika kerusakan DNA ini tidak diperbaiki, sel kanker dapat terus tumbuh dan berkembang (**Gambar 2**) (Rahman *et al.*, 2022).



Gambar 2. Mekanisme senyawa fenolik dalam menghambat pertumbuhan sel kanker (Rahman *et al.*, 2022)

2.2 Ekstraksi

2.2.1 Definisi

Ekstraksi dilakukan sebagai langkah awal penelitian untuk memisahkan zat atau senyawa yang potensial dari sumbernya yang dapat berupa tanaman atau hewan dengan menggunakan teknik ekstraksi yang selektif sehingga hasilnya dapat digunakan sebagai obat herbal atau untuk pengujian aktivitas biologis metabolit sekundernya serta mengisolasi senyawa yang terkandung

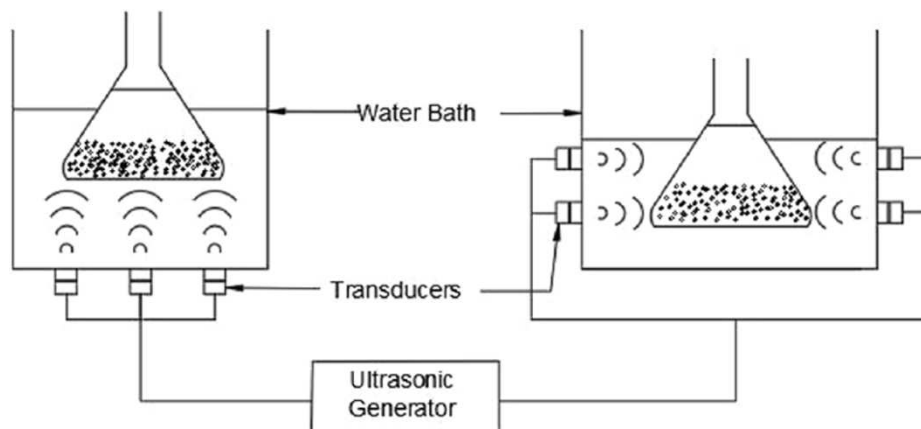
(K. Patel *et al.*, 2019b). Proses ekstraksi bahan alam dilakukan dengan melewati tahapan berikut: (1) pelarut menembus ke dalam matriks padat; (2) zat terlarut larut dalam pelarut; (3) zat terlarut terdifusi keluar dari matriks padat; (4) zat terlarut yang diekstraksi dikumpulkan, efisiensi ekstraksi dapat dipengaruhi oleh sifat pelarut, ukuran partikel bahan baku, rasio pelarut, suhu dan durasi ekstraksi (Q. W. Zhang *et al.*, 2018).

Berdasarkan metodenya, ekstraksi dapat dikategorikan ke dalam metode konvensional (maserasi, perkolasi, rebusan, ekstraksi refluks, ekstraksi Soxhlet) dan modern (ultrasonik, ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro) (M. Zhang *et al.*, 2023). Terdapat beberapa teknik ekstraksi seperti ekstraksi cair-cair/pelarut (*liquid-liquid extraction*), ekstraksi fase padat (*solid phase extraction*), ekstraksi padatan-cairan (*solid-liquid extraction*), dan *Supercritical Fluid Extraction* (K. Patel *et al.*, 2019a). Selain itu, terdapat pula teknik ekstraksi hijau (*green extraction technique*) yang merupakan teknik ekstraksi ramah lingkungan dengan menghasilkan rendemen senyawa target yang lebih tinggi dan mengurangi produksi limbah dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional sehingga dapat mengurangi dampak lingkungan yang buruk dengan penggunaan pelarut yang dapat berdampak negatif pada kesehatan manusia dan lingkungan sehingga teknik ini hanya menggunakan pelarut tidak beracun, seperti air atau karbon dioksida, dan/atau metode ekstraksi seperti *microwave-assisted extraction*, *ultrasound-assisted extraction*, serta *pressurized liquid extraction* (Putra *et al.*, 2023).

2.2.2 Metode Ultrasound-Assisted Extraction

Ultrasound-assisted extraction (UAE) biasa juga disebut sebagai sonikasi merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan gelombang ultrasonik dalam prosesnya yang akan mempercepat disolusi dan difusi zat terlarut serta perpindahan panas, sehingga meningkatkan efisiensi ekstraksi (Q. W. Zhang *et al.*, 2018). Perambatan gelombang ultrasonik dalam medium, menyebabkan partikel dalam medium bergetar dalam jangkauan spasialnya,

sehingga meningkatkan difusi dan perpindahan massa dalam medium (M. Zhang *et al.*, 2023). Secara mekanis, ultrasonik meningkatkan kontak permukaan antara molekul pelarut dan matriks sampel tanaman sehingga akan memodifikasi dan mengganggu karakteristik fisik dan kimia bahan tanaman, mempercepat pelepasan fitokimia, dan selanjutnya memperkuat pergerakan massa sistem pelarut ke dalam sel tanaman (Bitwell *et al.*, 2023). Proses *ultrasound-assisted extraction* (UAE) menggunakan frekuensi antara 20 KHz hingga 2000 KHz serta dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel dan proses ini banyak digunakan ekstraksi antosianin dan antioksidan dan juga berguna dalam bidang nanoteknologi (**Gambar 3**) (K. Patel *et al.*, 2019a).



Gambar 3. Skema diagram ultrasound-assisted extraction (UAE) (Sanjaya *et al.*, 2022)

Metode *ultrasound-assisted extraction* (UAE) merupakan teknik yang ramah lingkungan dan murah jika dibandingkan dengan teknik ekstraksi konvensional serta metode ini dapat mempercepat proses ekstraksi, menurunkan konsumsi energi, dan meningkatkan perolehan fitokimia dari berbagai tanaman seperti stroberi, jeruk, kulit anggur, dan biji tanaman kesumba (Bitwell *et al.*, 2023). Selain itu, metode ini dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi dan juga mengurangi penggunaan pelarut dibanding dengan metode konvensional (M. Zhang *et al.*, 2023).

2.2.3 Pemilihan Pelarut

Dalam ekstraksi pelarut, pemilihan pelarut merupakan hal yang sangat penting dengan mempertimbangkan selektivitas, kelarutan, biaya dan keamanan serta pengaruh sifat kepolaran pelarut (Hakim & Saputri, 2020). Berdasarkan hukum *like dissolves like* pelarut dengan nilai polaritas yang mendekati polaritas zat terlarut cenderung memiliki kinerja yang lebih baik dan sebaliknya (Q. W. Zhang *et al.*, 2018). Pertimbangan rasio konsentrasi zat terlarut terhadap pelarut umpan dalam pemilihan pelarut yang biasa disebut sebagai faktor pemisahan merupakan ukuran efektivitas pelarut untuk memisahkan konstituen dan jika semakin tinggi selektivitasnya maka semakin mudah pula pemisahannya dengan nilai koefisien distribusi yang lebih tinggi umumnya diinginkan karena jumlah pelarut yang lebih sedikit dan jumlah tahapan ekstraksi yang diperlukan untuk tugas ekstraksi tertentu lebih sedikit serta pelarut harus murah, tidak beracun dan tidak mudah terbakar (K. Patel *et al.*, 2019a).

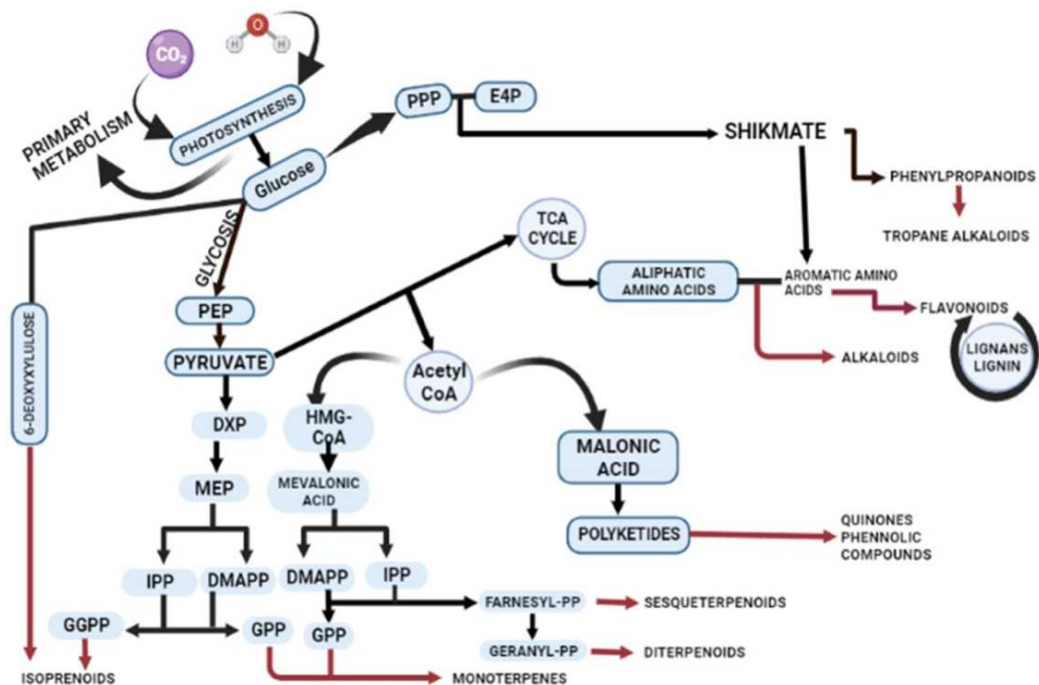
Etanol dan metanol merupakan pelarut universal yang digunakan dalam ekstraksi fitokimia (Q. W. Zhang *et al.*, 2018). Etanol merupakan pelarut organik yang sering digunakan dalam proses ekstraksi karena mudah didapatkan, efisien, aman untuk lingkungan dan untuk dijadikan obat dan makanan, relatif tidak toksik, biaya murah serta memiliki tingkat ekstraksi yang tinggi. Namun, penggunaan etanol dalam senyawa flavonoid dan senyawa fenolik yang optimal sangat tergantung kepada faktor konsentrasi, suhu, waktu dan pemilihan metode ekstraksi (Hakim & Saputri, 2020).

2.3 Senyawa Metabolit Sekunder

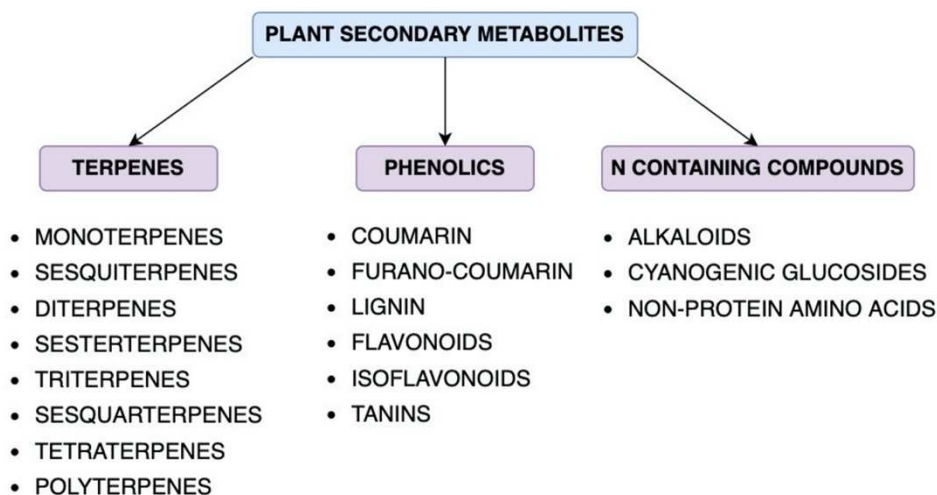
2.3.1 Definisi

Tumbuhan menghasilkan beragam senyawa organik yang secara biosintesis berasal dari metabolit primer dan sebagian besar tidak berperan langsung dalam pertumbuhan dan perkembangan serta sering terakumulasi dalam jumlah yang lebih kecil dan cenderung disintesis oleh tipe sel khusus pada

tahap perkembangan berbeda (Jain *et al.*, 2019). Metabolit sekunder memainkan peran penting dalam membantu tanaman mengatasi berbagai kondisi stres serta produksinya sangat bergantung pada tahap perkembangan dan kondisi fisiologis tanaman. Pembentukan metabolit sekunder pada tumbuhan melibatkan tiga jalur utama. Jalur asam shikimat bermula dari hasil siklus TCA dan PPP, menghasilkan senyawa aromatik yang menjadi prekursor untuk berbagai metabolit sekunder seperti fenilpropanoid dan flavonoid. Jalur asam mevalonat, berawal dari asetil-CoA, menghasilkan IPP dan DMAPP yang merupakan unit dasar pembentukan terpenoid seperti monoterpen dan diterpen. Sementara itu, jalur MEP juga menghasilkan IPP dan DMAPP dari piruvat dan gliseraldehida-3-fosfat, yang kemudian digunakan dalam sintesis terpenoid. Ketiga jalur ini saling terkait dan berawal dari hasil metabolisme primer, menunjukkan bahwa metabolisme primer merupakan fondasi bagi pembentukan senyawa-senyawa yang lebih kompleks ini (**Gambar 4**) (Reshi *et al.*, 2023).



Gambar 4. Skema ilustrasi pembentukan metabolit sekunder (Reshi *et al.*, 2023)



Gambar 5. Tiga jenis utama metabolit sekunder (Nawrot-Chorabik *et al.*, 2022)

Berdasarkan gugus fungsi dan struktur kimianya, metabolit sekunder diklasifikasikan menjadi berbagai golongan antara lain terpen (termasuk senyawa volatil, sterol, dan karotenoid), polisakarida, senyawa fenolik, fitoaleksin (senyawa yang mengandung sulfur), alkaloid (senyawa yang mengandung nitrogen), flavonoid, dan hidrokarbon (**Gambar 5**) (Teoh, 2016). Metabolit sekunder banyak terdapat pada tanaman yang banyak digunakan dalam industri obat dan farmasi karena memiliki khasiat dan terbukti efektif bagi kesehatan manusia (Jain *et al.*, 2019). Aktivitas biologis metabolit sekunder tanaman seperti antimikroba dan antioksidan didasarkan oleh struktur kimianya, unsur utama dan dosis efektifnya. Begitu juga dengan aktivitas farmakologis metabolit sekunder seperti antibiotik, antivirus, antiinflamasi, dan antikanker terus diteliti karena potensinya yang tinggi dalam pengobatan (Elshafie *et al.*, 2023).

2.4 Radikal Bebas

2.4.1 Definisi

Radikal bebas merupakan produk hasil metabolisme sel normal ketika sel membutuhkan oksigen maka proses redoks akan menghasilkan radikal bebas, biasanya ROS (*reactive oxygen species*) dan RNS (*reactive nitrogen species*). Radikal bebas mengandung satu atau lebih elektron tidak

berpasangan yang tidak stabil dan sangat reaktif (radikal). Radikal bebas akan berusaha untuk berikatan dengan molekul lain, atom, atau bahkan elektron individu untuk menciptakan senyawa yang stabil dengan menyumbangkan atau menerima elektron dari molekul lain, bertindak sebagai zat pengoksidasi atau pereduksi. ROS (*reactive oxygen species*) dapat bersumber dari endogen serta olahraga dan cedera iskemia/reperfusi, ion logam bebas, asap rokok, pelarut industri dan eksogen seperti polutan lingkungan dan sinar UV. Pembentukan ROS dan RNS yang berlebihan menyebabkan ketidakseimbangan dalam sistem biologis sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai struktur seluler (Kotha *et al.*, 2022; Martemucci *et al.*, 2022; Mirończuk-Chodakowska *et al.*, 2018).

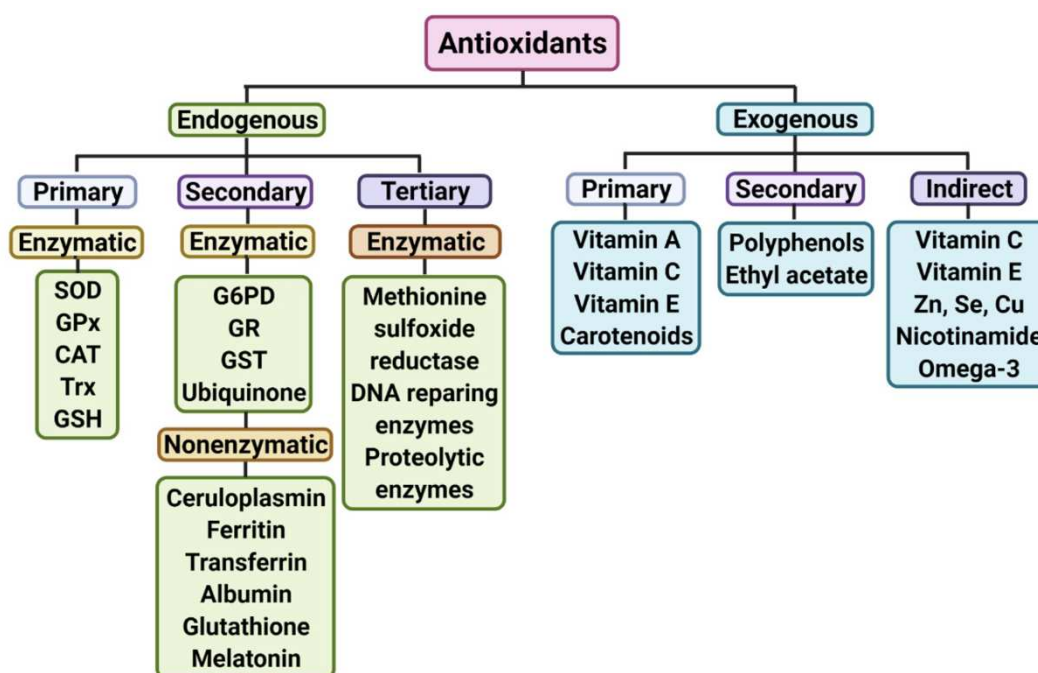
2.4.2 Stres Oksidatif

Oksidatif stress dapat terjadi karena adanya gangguan pada kestabilan pro-oksidan dengan antioksidan sehingga terdapat peningkatan radikal bebas akibat penurunan konsentrasi antioksidan (Neha *et al.*, 2019). *Stress oxidative* memiliki mekanisme yang dapat menyebabkan peradangan kronis sehingga dapat terjadi berbagai penyakit seperti kanker (Ammar *et al.*, 2020). Produksi ROS yang lebih tinggi dalam tubuh dapat mengubah struktur DNA, mengakibatkan modifikasi protein dan lipid, aktivasi beberapa faktor transkripsi yang dipicu oleh stres, dan produksi sitokin proinflamasi dan antiinflamasi. Selain itu, ROS (*reactive oxygen species*) dapat menyebabkan modifikasi DNA dalam beberapa cara, yang melibatkan degradasi basa, pemutusan DNA beruntai tunggal atau ganda, modifikasi purin, pirimidin atau terikat gula, mutasi, penghapusan atau translokasi, dan ikatan silang dengan protein. Meskipun kerusakan DNA untai tunggal yang disebabkan oleh kerusakan oksidan dapat dengan mudah ditoleransi oleh sel, kerusakan DNA untai ganda yang dapat menjadi ancaman yang signifikan bagi kelangsungan hidup sel (Birben *et al.*, 2012).

2.5 Antioksidan

2.5.1 Definisi

Antioksidan merupakan suatu zat berupa apapun yang terdapat dalam konsentrasi rendah pada substrat yang dapat teroksidasi dan secara signifikan menunda atau mencegah oksidasi substrat tersebut (Birangane *et al.*, 2011). Antioksidan bekerja berdasarkan tiga mekanisme transfer atom hidrogen, transfer elektron tunggal, dan khelasi logam serta aktivitasnya melalui tiga jalur yaitu pencegahan pembentukan radikal bebas dan turunannya (preventif), menghentikan reaksi oksidasi radikal (interupsi), serta menonaktifkan produk reaksi turunan radikal bebas/radikal (inaktivasi) (Kotha *et al.*, 2022).



Gambar 6. Klasifikasi antioksidan (Riveros *et al.*, 2022)

Secara luas, terdapat berbagai klasifikasi antioksidan yaitu alami dan sintesis; polar dan non-polar; enzimatis dan non-enzimatis; endogen dan eksogen; dan berdasarkan mekanisme keterlibatan mereka (Kotha *et al.*, 2022). Antioksidan endogen pada dasarnya adalah enzim yang merupakan pertahanan lini pertama (enzimatis) dengan mengubah superoksida reaktif

dan hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Sedangkan antioksidan non-enzimatik bertindak sebagai pertahanan lini kedua terhadap ROS (*reactive oxygen species*) dengan menonaktifkan radikal dan oksidan secara cepat. Selain itu, antioksidan eksogen berupa vitamin, karotenoid, polifenol, flavonoid, dan bioflavonoid juga terbukti memiliki aktivitas *in vivo* (**Gambar 6**) (Martemucci *et al.*, 2022; Mirończuk-Chodakowska *et al.*, 2018; Neha *et al.*, 2019).

2.5.2 Metode Pengujian Antioksidan

Selama beberapa dekade ini, pengujian antioksidan sangat berkembang pesat. Berdasarkan teknik yang digunakan, pengujian antioksidan dibedakan menjadi spektrometri, elektrokimia, dan kromatografi (Munteanu & Apetrei, 2021). Aktivitas antioksidan tiap sampel bergantung pada struktur kimianya, kemampuan untuk menyumbangkan hidrogen dan elektron, kelasi logam, dan kemampuannya mendelokalisasi elektron tidak berpasangan dalam struktur aromatik (Kotha *et al.*, 2022).

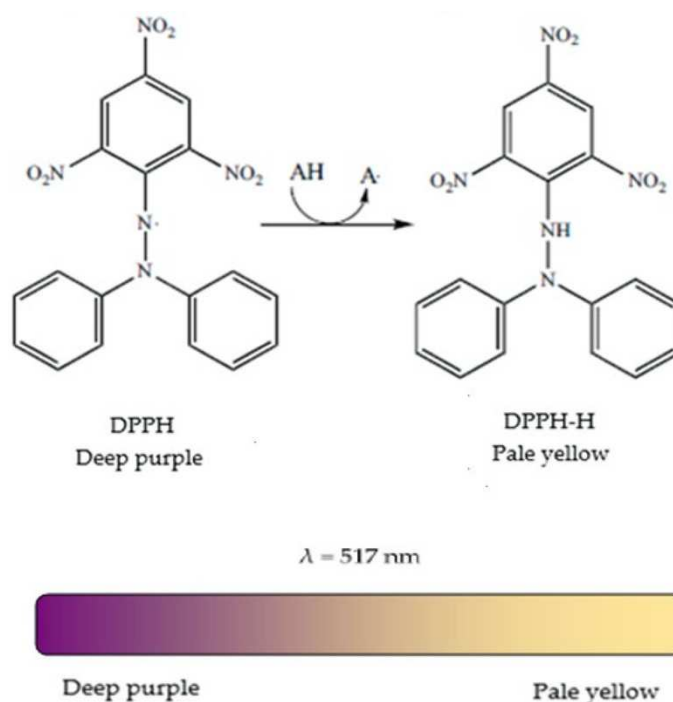
Berdasarkan struktur kimianya, pengujian antioksidan dapat dibagi menjadi tiga kategori yaitu metode berbasis reaksi transfer atom hidrogen (HAT), transfer elektron tunggal (SET) serta metode gabungan antara transfer atom hidrogen (HAT) dan transfer elektron tunggal (SET). Metode dengan reaksi transfer atom hidrogen (HAT) bekerja dengan cara mengukur kemampuan antioksidan untuk menghilangkan radikal bebas dengan menyumbangkan atom hidrogen. Reaksi berbasis transfer atom hidrogen (HAT) meliputi metode *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC), metode *Hydroxyl Radical Antioxidant Capacity* (HORAC), metode *Total Peroxyl Radical Trapping Antioxidant Parameter* (TRAP), serta metode *Total Oxyradical Scavenging Capacity* (TOSC). Selain itu terdapat metode reaksi berbasis transfer elektron tunggal (SET) yaitu, *Folin-Ciocalteu*, FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), dan CUPRAC (*Cupric Reducing Antioxidant Capacity*) dengan melihat kemampuan antioksidan untuk mentransfer elektron untuk mereduksi ion logam, gugus karbonil, dan radikal bebas.

Terdapat juga metode gabungan antara transfer atom hidrogen (HAT) dan transfer elektron tunggal (SET), ABTS/TEAC (*2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)/Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*), DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*), serta DMPD (*N,N-Dimethyl-p-phenylenediamine*) yang bekerja berdasarkan penghapusan kromofor stabil seperti ABTS (*2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)*) dan DPPH (*1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*)². Namun, selain tiga jenis kategori berdasarkan uji kimia, terdapat pula pengujian berdasarkan kelasi logam (antioksidan kelat dengan logam transisi seperti Fe(II) dan Cu(II)), oksidasi lipid (kemampuan antioksidan dalam mengurangi/mencegah oksidasi lipid dan membersihkan ROS dan RNS), serta uji enzimatik (sistem enzim antioksidan yang mengkatalisis reaksi untuk mengimbangi radikal bebas dan spesies oksigen reaktif termasuk superoksida dismutase dan katalase) (Kotha *et al.*, 2022; Munteanu & Apetrei, 2021).

2.5.3 DPPH

1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) merupakan radikal bebas yang stabil berdasarkan delokalisasi elektron cadangan di atas molekul, yang mencegah dimerisasi molekul dan menghasilkan warna ungu serta menyerap pada 520 nm dalam larutan etanol dan 515 nm dalam metanol (Mendonça *et al.*, 2022; Mishra *et al.*, 2012). Radikal DPPH ditemukan kurang lebih 100 tahun yang lalu dan mulai dikembangkan sebagai metode pengujian aktivitas antioksidan pada tahun 1958 oleh Blois (Blois, 1958) dan terus berkembang untuk mengukur aktivitas antioksidan dengan menggunakan standar antioksidan sebagai asam askorbat (AsCH₂), *butylated hydroxyl toluene* (BHT), *a-tocopherol*, *butylated hydroxyl anisole* (BHA), asam galat dan Trolox. Pengujian antioksidan dengan metode DPPH didasarkan oleh prinsip menetralkan radikal DPPH dengan menerima atom hidrogen (H) dari molekul penetral yaitu antioksidan, sehingga terjadi reduksi DPPH menjadi DPPH-H (**Gambar 7**). Sebagai indikator aktivitas antioksidannya, dapat dilihat dari terjadinya perubahan warna ungu menjadi

kuning pucat yang selanjutnya dipantau secara spektrofotometri untuk penentuan parameter sifat antioksidannya (Gulcin & Alwasel, 2023; Mishra *et al.*, 2012; Munteanu & Apetrei, 2021). Selain itu, metode pengujian aktivitas antioksidan dengan DPPH cenderung cepat, sederhana, murah, mudah dan dapat direproduksi (Kotha *et al.*, 2022; Mendonça *et al.*, 2022).



Gambar 7. Mekanisme penetralan radikal DPPH oleh antioksidan (Munteanu & Apetrei, 2021)

Untuk menafsirkan hasil pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH, diperlukan perhitungan presentase konsentrasi efektif. Konsentrasi antioksidan yang diperlukan untuk menghambat 50% DPPH disebut juga “EC₅₀”, kependekan dari “konsentrasi efisien” atau bisa juga sebagai “IC₅₀”, kependekan dari “konsentrasi penghambatan” (Gulcin & Alwasel, 2023). Nilai IC₅₀ digunakan sebagai parameter untuk mengukur aktivitas antioksidan dengan perhitungan menggunakan rumus persamaan regresi. Nilai IC₅₀ diperoleh dengan menghitung persentase inhibisi dari setiap konsentrasi menggunakan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorban blangko} - \text{absorban sampel}}{\text{Absorban blangko}} \times 100\%$$

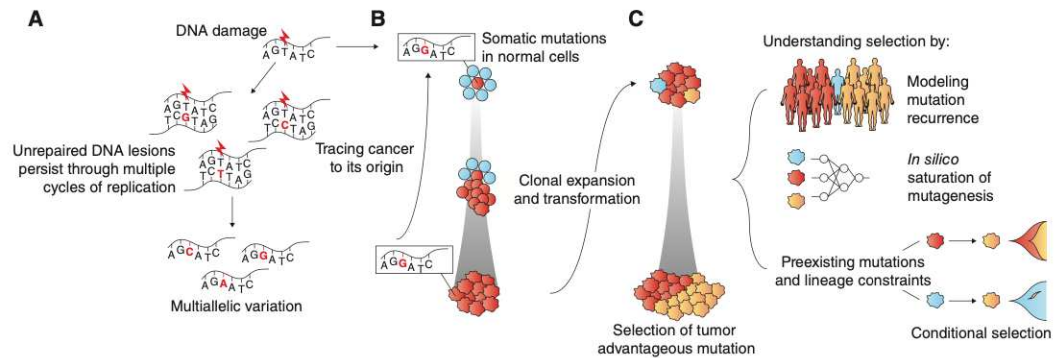
Selanjutnya hasil perhitungan persentase inhibisi dilanjutkan menggunakan rumus persamaan regresi linier $y = A + Bx$, dimana nilai x merupakan nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) dan nilai y merupakan persen inhibisi yaitu senilai 50 sehingga dapat diketahui secara kuantitatif nilai konsentrasi penghambatan 50% radikal DPPH yang dimiliki sampel tersebut (Katrin & Bendra, 2015).

2.6 Kanker

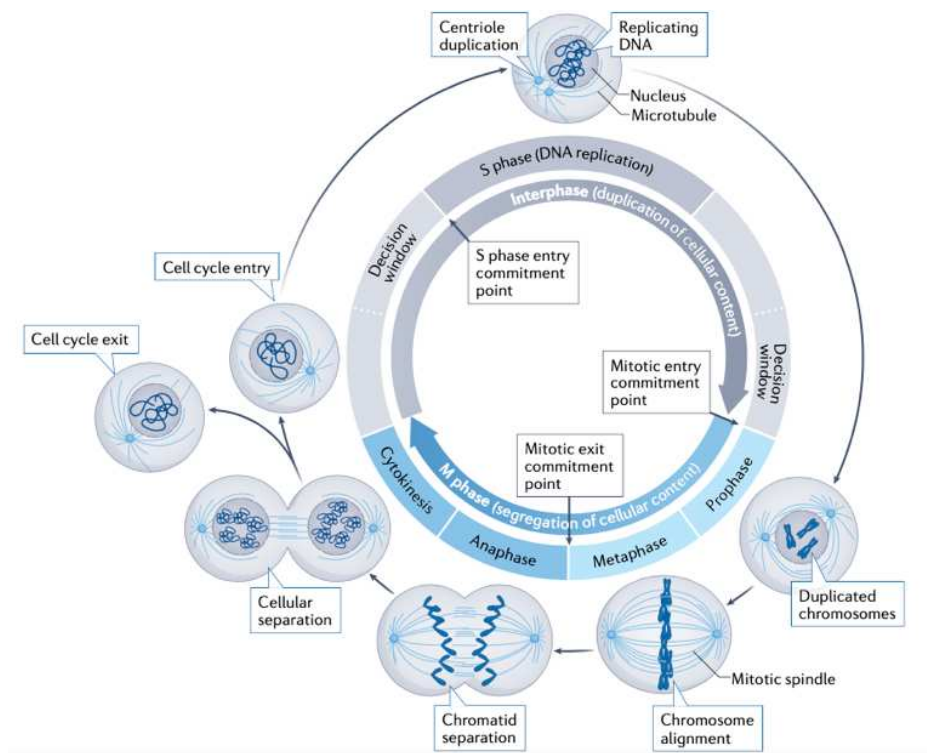
2.6.1 Definisi

Kanker merupakan penyakit yang berkembang biak secara tidak terkendali oleh sel-sel yang mengalami transformasi dan mengalami evolusi melalui seleksi alam (Brown *et al.*, 2023). Penyebab pasti perkembangan kanker belum diketahui secara mutlak sehingga masih dibutuhkan penelitian lebih lanjut. Namun, terdapat faktor risiko yang menyebabkan berkembangnya kanker seperti penggunaan rokok/tembakau, konsumsi alkohol, nutrisi yang buruk dan kelebihan berat badan yang dapat bertindak secara bersamaan atau berurutan untuk mendorong pertumbuhan kanker (American Cancer Society, 2023). Selain itu, faktor utama yang menyebabkan berkembangnya mutasi menjadi sel kanker adalah lesi pada DNA yang merupakan akibat rusaknya DNA dan pembelahan sel yang menyebabkan mutasi pada lesi tersebut yang pembelahannya mungkin sebagian besar dapat dirangsang oleh hormon sehingga hal tersebut dapat meningkatkan terjadinya kanker (**Gambar 8**) (Ames & Gold, 1997). Sel memiliki siklus normal yaitu serangkaian peristiwa yang terjadi dalam sel untuk tumbuh dan membelah diri memiliki dua tahapan utama meliputi interfase dan Fase M. Sel memiliki mekanisme perbaikan DNA untuk memperbaiki kerusakan yang terjadi. Namun, jika kerusakan terlalu parah atau mekanisme perbaikan tidak berfungsi dengan baik, sel dapat mengalami apoptosis (kematian sel terprogram) atau memasuki fase senesensi (penuaan sel). Kerusakan pada DNA sel selama siklus sel, khususnya pada fase S (sintesis DNA), dapat

memicu terjadinya mutasi. Mutasi ini dapat mengubah informasi genetik sel sehingga sel kehilangan kemampuan untuk mengontrol pertumbuhan dan pembelahannya yang dapat mengakibatkan kanker (**Gambar 9**) (Matthews *et al.*, 2022).



Gambar 8. Mutasi somatik DNA yang memiliki lesi (Ciriello *et al.*, 2024)

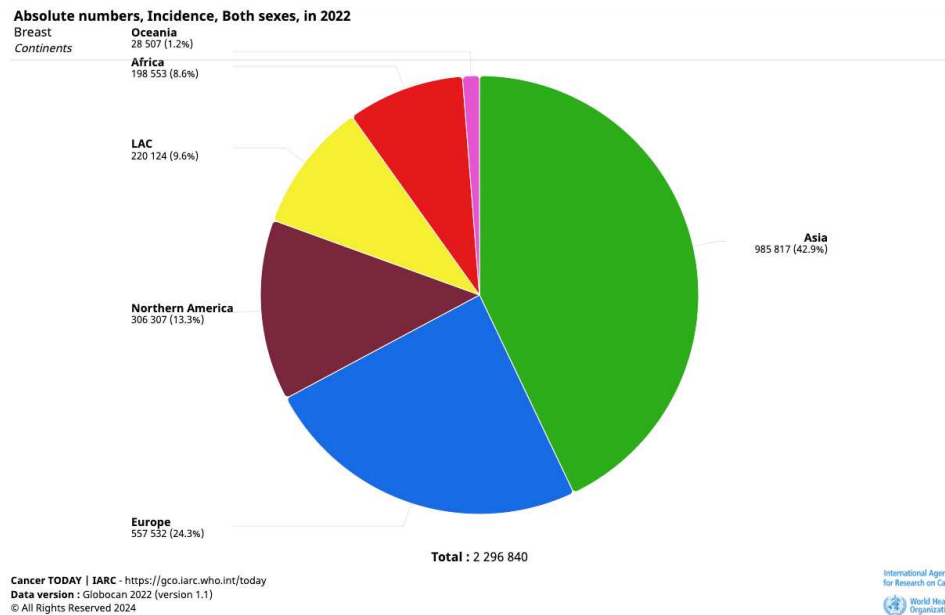


Gambar 9. Siklus sel normal (Matthews *et al.*, 2022)

Saat ini, terdapat berbagai macam jenis kanker dan yang paling umum terjadi adalah kanker kandung kemih, kanker tiroid, kanker payudara, kanker prostat, kanker kulit, kanker paru, kanker ginjal, kanker usus, kanker pancreas serta Limfoma *Non-Hodgkin*. Selain itu, ada lima kategori kanker berdasarkan jaringan dan darah yaitu karsinoma, sarkoma, limfoma (kanker darah), leukimia, serta myeloma (Rajput, 2023). Sebagian besar kejadian kanker berhubungan erat dengan gaya hidup. Pendidikan dan pengetahuan masyarakat menjadi suatu peran penting dalam kesehatan masyarakat, seperti pengetahuan akan faktor risiko kanker dapat menjadi salah satu upaya dalam pencegahan kanker (Lewandowska *et al.*, 2021).

2.6.2 Kanker Payudara

Kanker payudara merupakan suatu keadaan ketika sel-sel abnormal di payudara tumbuh tidak terkendali dan membentuk tumor yang dimulai di jaringan payudara kemudian dapat menyebar ke bagian tubuh lain (WHO, 2024). Kasus kejadian kanker payudara menempati peringkat tertinggi di antara jenis kanker yang didiagnosis pada wanita sehingga menjadi kontributor utama kematian akibat kanker pada populasi perempuan (**Gambar 10**). Data epidemiologi terbaru menunjukkan prevalensi yang signifikan dari kanker payudara invasif, terutama di Amerika Serikat, di mana penyakit ini menyumbang sekitar sepertiga dari seluruh kasus kanker pada wanita (Siegel *et al.*, 2023). Faktor risiko kanker payudara dapat dikategorikan menjadi tiga kelompok utama: faktor reproduksi dan hormonal, faktor gaya hidup, dan faktor genetik. Faktor reproduksi seperti usia menarche dini dan menopause lanjut, serta riwayat menyusui, telah terbukti terkait dengan peningkatan risiko. Selain itu, faktor gaya hidup seperti obesitas dan konsumsi alkohol juga merupakan faktor risiko yang signifikan. Adanya mutasi pada gen tertentu, seperti BRCA1 dan BRCA2, juga dapat meningkatkan risiko secara signifikan (Hong & Xu, 2022).



Gambar 10. Angka kejadian kanker payudara tahun 2022 (GLOBOCAN, 2024)

2.6.3 Sel Kanker MCF-7

Sel kanker payudara MCF-7 merupakan garis sel kanker yang dikembangkan dari efusi pleura pada pasien dengan metastasis kanker payudara. Sel-sel dari efusi pleura tumbuh dalam suspensi dan kemudian membentuk lapisan tunggal pada plastik yang tumbuh sebagai kultur berkelanjutan yang akhirnya menghasilkan garis sel yang disebut MCF-7, dinamai sesuai dengan *Michigan Cancer Foundation* (Lee *et al.*, 2015). MCF-7 dianggap memiliki potensi metastasis yang rendah dan cenderung kurang agresif dan non-invasif. Garis sel MCF-7 payudara manusia sering dianggap sebagai satu kesatuan, padahal terdiri dari sejumlah besar fenotipe individu yang sebagian besar hanya terdapat pada sebagian kecil total populasi. Fenotipe ini berbeda dalam profil ekspresi gen, ekspresi reseptor, dan jalur pensinyalan serta terdapat perbedaan dalam laju proliferasi fenotipe individu, tetapi keseimbangan beberapa fenotipe masih dapat dipertahankan selama kultur progresif garis tersebut (Comsa *et al.*, 2015).

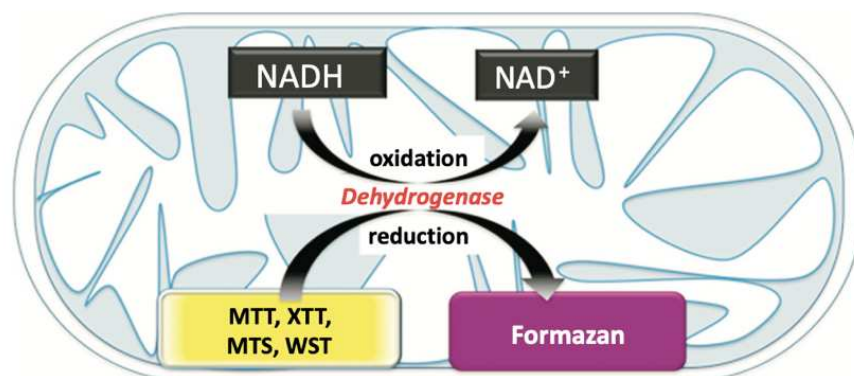
MCF-7 banyak digunakan dalam penelitian eksperimental terhadap sel kanker payudara ER-positif yang kebanyakan meneliti terkait resistensi obat anti-estrogen. Sel MCF-7 sangat cocok untuk studi resistensi terapi anti-hormon karena mudah dikultur dan mempertahankan ekspresi reseptor estrogen (ER) saat dilakukan terapi. Untuk mengetahui sifat-sifat sel kanker payudara yang resisten terhadap antihormon yang didapat, maka diciptakan populasi sel MCF-7 yang dapat beradaptasi dengan berbagai lingkungan anti-hormon. Sel kanker MCF-7 digunakan dengan cara dibuat menjadi model kanker payudara *in vitro*. Selain itu, MCF-7 juga dapat ditanamkan ke hewan untuk membuat model *in vivo* guna mempelajari pertumbuhan tumor dan metastasis (Comsa *et al.*, 2015).

2.6.4 Metode Pengujian In vitro Aktivitas Sitotoksik Sel Kanker

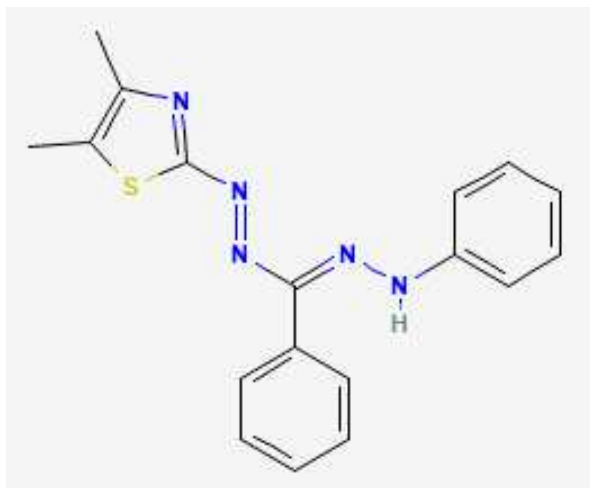
Selama beberapa tahun terakhir, pengujian *in vitro* dalam pengembangan agen terapeutik oleh industri farmasi sangat meningkat. Berbagai metode *in vitro* diperlukan dalam proses pengujian agen baru dalam pengembangan obat salah satunya dalam bidang onkologi. Metode *in vitro* yang digunakan dalam pengembangan pengobatan dalam bidang onkologi merupakan uji aktivitas sitotoksik (Mazlumoglu, 2023). Sitotoksitas merupakan istilah yang secara umum digunakan untuk senyawa atau zat yang bersifat toksik terhadap sel berupa kemampuan senyawa tersebut untuk menghambat pertumbuhan sel atau mengurangi viabilitas sel (Aminuddin *et al.*, 2021). Pengujian sitotoksitas *in vitro* ini memiliki beberapa keunggulan, seperti kecepatan, biaya yang lebih rendah, dan potensi untuk otomatisasi, serta pengujian menggunakan sel manusia mungkin lebih relevan daripada beberapa pengujian hewan *in vivo*. Namun, metode ini memiliki beberapa kelemahan karena belum cukup maju secara teknis untuk menggantikan uji hewan (Aslantürk, 2018).

Berdasarkan rekomendasi dalam ISO 10993-5, terdapat tiga klasifikasi pengujian meliputi uji pengenceran ekstrak, uji kontak langsung, dan uji kontak tidak langsung. Metode uji pengenceran ekstrak umumnya diadopsi

untuk evaluasi sitotoksitas bahan secara *in vitro* yang cocok untuk mendeteksi toksisitas zat terlarut dari perangkat medis dan biasanya konsisten dengan hasil uji toksisitas hewan. Terdapat beberapa metode yang digunakan untuk uji pengenceran ekstrak seperti uji berbasis garam tetrazolium; uji MTT, MTS, dan WST serta uji merah netral. Selain itu, pengujian dengan metode kontak langsung adalah metode dengan sensitivitas yang paling tinggi untuk menguji sitotoksitas yang lemah. Sedangkan, metode uji kontak tidak langsung biasanya melibatkan difusi agar yang cocok untuk alat kesehatan dengan toksisitas tinggi dan penyaringan massal. Pemilihan metode terbaik untuk evaluasi sitotoksitas bergantung pada karakteristik sampel, lokasi potensial, sifat penggunaan, serta pertumbuhan sel dan aspek spesifik metabolisme sel (Aminuddin *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2015).



Gambar 11. Metode uji MTT (Adan *et al.*, 2016)



Gambar 12. Struktur Kimia MTT (National Center for Biotechnology Information, 2025)

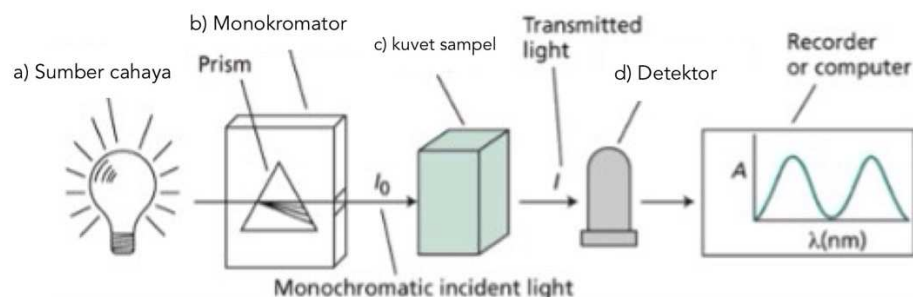
Metode pengujian yang paling umum digunakan untuk menguji laju pertumbuhan sel dan toksisitas kultur adalah metode MTT (*metil tiazolil tetrazolium*) yang merupakan salah satu uji kolorimetri dengan prinsip pengukuran aktivitas mitokondria untuk menilai sitotoksitas atau kelangsungan hidup sel. Uji MTT didasarkan pada konversi MTT ((3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5 difenil tetrazolium bromida) (**Gambar 12**) menjadi kristal *formazan* yang tidak larut oleh enzim oksidoreduktase bergantung NAD(p)H mitokondria yang dilepaskan dalam sel hidup (**Gambar 11**). Sel yang berproliferasi memiliki tingkat reaksi konversi MTT yang lebih tinggi sementara sel yang mati atau tumbuh lambat memiliki metabolisme yang rendah sehingga menghasilkan tingkat reduksi MTT yang lebih rendah. Penggunaan paling umum untuk uji MTT digunakan untuk mendeteksi efek sitotoksik dari agen yang berbeda dalam kondisi atau konsentrasi yang berbeda (Adan *et al.*, 2016; Aminuddin *et al.*, 2021; Aslantürk, 2018; Li *et al.*, 2015). Kategorisasi aktivitas sitotoksik merujuk berdasarkan *National Cancer Institute* (NCI) Amerika Serikat yang mengklasifikasikan sitotoksik suatu senyawa memiliki aktivitas sitotoksik tinggi jika $IC_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$, aktivitas sitotoksik sedang jika IC_{50} berkisar antara 21-200 $\mu\text{g/mL}$, aktivitas sitotoksik lemah jika IC_{50} berkisar antara 201-500 $\mu\text{g/mL}$, dan tidak ada aktivitas sitotoksik jika $IC_{50} > 500 \mu\text{g/mL}$ (Ghanadian, 2015).

2.7 Spektrofotometri UV-Vis

2.7.1 Prinsip Kerja

Spektrofotometri UV-Vis merupakan teknik analisis yang sering digunakan untuk mengkarakterisasi bahan dalam bentuk gugus anorganik atau organik, padat atau cair, seperti molekul organik dan gugus fungsi yang bergantung pada tingkat serapan atau transmitansi panjang gelombang cahaya yang berbeda dan berbagai respons sampel (D. Patel *et al.*, 2022). Spektrofotometri UV-Vis bekerja dengan prinsip penyerapan sinar UV atau *visible* oleh senyawa kimia yang akan mengalami eksitasi dan de-eksitasi sehingga membentuk spektrum yang berbeda. Penyerapan tersebut terjadi ketika frekuensi cahaya yang masuk sama dengan perbedaan energi antara keadaan dasar dan keadaan tereksitasi suatu molekul (S. Patel *et al.*, 2022). Ketika molekul menyerap frekuensi radiasi UV, elektron dalam molekul tersebut mengalami transisi dari tingkat dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi (Jee *et al.*, 2022).

2.7.2 Instrumentasi Alat



Gambar 13. Instrumen Spektrofotometri UV-Vis (D. Patel *et al.*, 2022)

Instrumen spektrofotometri meliputi komponen berikut (Jee *et al.*, 2022; D. Patel *et al.*, 2022; S. Patel *et al.*, 2022; Verma & Mishra, 2018):

a) Sumber cahaya (*Light*)

Sumber menghasilkan radiasi sinar elektromagnetik dalam rentang panjang gelombang *ultraviolet* (UV) dan sinar tampak (*visible*) yang akan digunakan untuk mengukur serapan sampel. Terdapat berbagai

jenis sumber cahaya yang umum digunakan yaitu lampu deuterium, lampu tungsten, lampu xenon, dan lampu LED.

b) Monokromator

Radiasi yang memiliki lebih dari satu panjang gelombang masuk ke monokromator melalui celah dan dikolimasi lalu kemudian mengenai elemen pendispersi pada suatu sudut. Berkas tersebut dipecah menjadi panjang gelombang komponennya melalui kisi atau prisma. Dengan menggerakkan elemen pendispersi atau celah keluar, radiasi dengan panjang gelombang tertentu keluar monokromator melalui celah keluar.

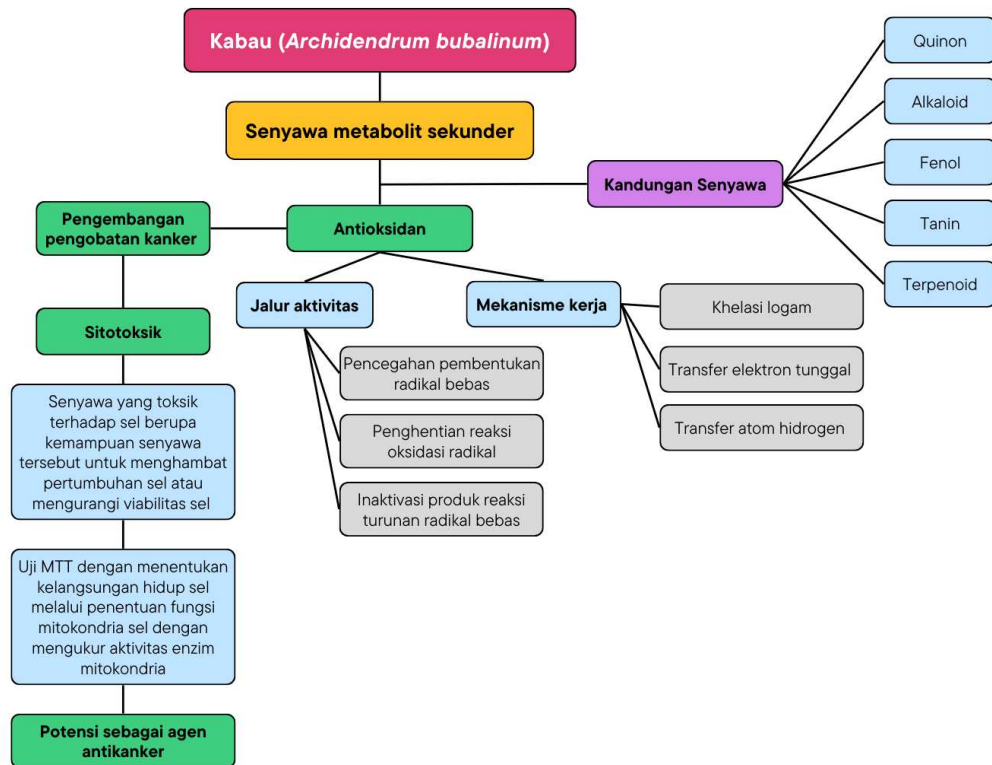
c) Kuvet

Kuvet merupakan wadah untuk sampel dan larutan referensi/baku yang harus transparan semua panjang gelombang radiasi yang melewatinya

d) Detektor

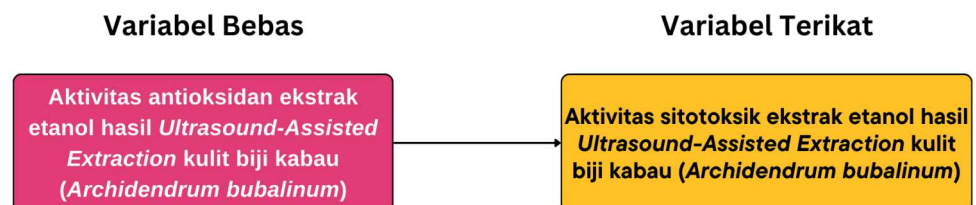
Detektor mengubah energi cahaya menjadi impuls listrik yang selanjutnya dibaca oleh pembaca. Radiasi yang ditransmisikan mengenai detector lalu akan menentukan jumlah radiasi yang diserap oleh sampel. Terdapat berbagai jenis detektor, diantaranya adalah *Barrier layer cell/Photovoltaic cell*, *Phototubes/ Photo emissive tube*, dan *Photomultiplier tube*.

2.8 Kerangka Teori



Gambar 14. Kerangka Teori

2.9 Kerangka Konsep



Gambar 15. Kerangka Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental skala laboratorium. Kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) yang sebelumnya telah dideterminasi, diekstraksi dengan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) menggunakan pelarut etanol 96% yang dipekatkan dengan *Rotary evaporator*. Ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) diuji kandungan fitokimia secara kualitatif untuk mengidentifikasi ada tidaknya senyawa metabolit sekunder alkaloid, saponin, flavonoid, fenolik, tanin, fitosterol, dan terpenoid. Selanjutnya, ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dan aktivitas sitotoksiknya menggunakan metode MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide). Metode uji DPPH dan uji MTT digunakan bersama dengan perhitungan persentase IC₅₀ untuk selanjutnya dapat menentukan besar aktivitas antioksidan dan aktivitas sitotoksik secara kuantitatif pada ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di beberapa tempat yaitu Laboratorium Botani, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung untuk melakukan determinasi tanaman, Laboratorium Kimia Farmasi Analisis, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung untuk ekstraksi serta

uji fitokimia dan uji aktivitas antioksidan, dan di Laboratorium Kultur Sel Universitas Padjajaran untuk pengujian aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September – November 2024.

3.3 Identitas Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan ekstrak etanol hasil *Ultrasound-Assisted Extraction* kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas sitotoksik ekstrak etanol hasil *Ultrasound-Assisted Extraction* kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*).

3.4 Definisi Operasional

Penelitian ini menganalisis korelasi antara aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) yang diekstraksi menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) terhadap aktivitas sitotoksik ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*). Aktivitas antioksidan sebagai variabel bebas diukur dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dimana penurunan absorbansi larutan DPPH setelah penambahan sampel menandakan semakin tinggi aktivitas antioksidan sampel tersebut (Munteanu & Apetrei, 2021). Pengaruh variabel bebas ini dikorelasikan dengan aktivitas sitotoksik ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) sebagai variabel terikat yang diukur untuk melihat perubahannya sebagai respons terhadap

variabel bebas. Variabel terikat yaitu aktivitas sitotoksik yang merupakan kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau menyebabkan kematian sel kanker, diukur dengan uji MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide), dimana penurunan viabilitas sel ditunjukkan oleh penurunan absorbansi larutan berwarna *formazan* yang dihasilkan oleh sel hidup (Mazumder et al., 2020).

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *handscoon*, masker, jas laboratorium, erlenmeyer, gelas *beaker*, gelas ukur, *plastic wrap*, gunting, *cutter*, kertas saring, rak dan tabung reaksi, labu ukur, batang pengaduk, sendok tanduk, corong kaca, neraca analitik, kertas perkamen, kertas aluminium, pipet ukur, *bulb filler*, pipet tetes, mikrotip, mikropipet, *ultrasound bath* (Baku, BK-2000), *rotary evaporator* (Butchi, R-100), labu alas bulat, *laminar air flow*, plat yang berisi 96 sumur mikro, *filter*, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu, UV-2700i), dan kuvet (Shimadzu).

3.5.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*), etanol 96%, media kultur, *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM), *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10% (FBS, Gibco, 306.00301), Doxorubicin HCl, penisilin 100 U/mL (Sigma, P4333), streptomisin 25 µg/mL (Sigma, P4333), reagen MTT, mikroskop, DMSO (dimetil sulfoksida), serbuk DPPH (Sigma), metanol p.a (Merck, 106007), serbuk asam askorbat, aquades (Onemed), asam asetat anhidrat, FeCl 5%, Fragmen pita Mg, H₂SO₄ pekat, reagen Iodin, larutan timbal asetat, reagen Wagner, dan kultur sel MCF-7 (ATCC).

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Determinasi

Dilakukan determinasi pada tanaman yang akan diteliti sebelum dikumpulkan menjadi sampel dan dikeringkan. Determinasi tanaman merupakan proses dalam menentukan nama/jenis tumbuhan secara spesifik. Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman tersebut, apakah tanaman tersebut benar-benar tanaman yang diinginkan sehingga kesalahan dalam pengumpulan bahan yang akan diteliti dapat dihindari (Kamariyah et al., 2023). Kabau (*Archidendron bubalinum*) didapatkan dari Kabupaten Lampung Barat kemudian dideterminasi di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.6.2 Preparasi Sampel

Persiapan sampel bahan tanaman untuk analisis meliputi membersihkan permukaan bagian tanaman yang digunakan dengan menghilangkan pengotor yang tidak diinginkan. Bagian tanaman yang akan digunakan, dikeringkan untuk menghambat proses metabolisme yang terjadi dan enzim tanaman dapat bekerja dengan baik. Pengeringan dilakukan secara alami dengan dianginkan di udara terbuka atau ruangan semi terbuka yang memiliki sirkulasi udara bebas namun tidak terpapar sinar matahari langsung. Selanjutnya, sampel digiling menjadi serbuk untuk homogenisasi sampel yang berikutnya dapat dilakukan pengayakan sampel yang telah menjadi serbuk (Krakowska-Sieprawska et al., 2022).

3.6.3 Pembuatan Ekstrak

Proses ekstraksi kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) dilakukan dengan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan serbuk simplisia dan pelarut sebesar 1:10 dengan lama waktu ekstraksi 30 menit pada frekuensi 40 kHz dan suhu 40°C menggunakan *Ultrasound bath*. Setelah dilakukan ekstraksi, dilakukan

penyaringan dengan kertas saring dan pisahkan filtrat yang terkumpul dan lakukan pemekatan filtrat dengan *Rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental (Febrianto *et al.*, 2019).

3.6.4 Perhitungan Rendemen Ekstrak

Rendemen merupakan perbandingan berat kering yang dihasilkan dengan berat bahan baku sehingga rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan bobot ekstrak yang dihasilkan dengan berat simplisia yang digunakan dan dikali dengan 100% (Senduk *et al.*, 2020).

$$\text{Rendemen Ekstrak (\%)} = \frac{\text{bobot ekstrak yang dihasilkan (g)}}{\text{berat simplisia yang digunakan (g)}} \times 100\%$$

3.6.5 Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Biji Kabau

Uji fitokimia dilakukan dalam penelitian ini untuk mengevaluasi potensi pengobatan dari suatu tanaman serta memastikan kandungan senyawa aktif metabolit sekunder yang bertanggung jawab terhadap aktivitas biologis yang terkandung dalam kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) (Shaikh & Patil, 2020).

1) Uji alkaloid

a) Uji Wagner

Uji ini dilakukan dengan menambahkan 1-2 tetes pereaksi wagner di sisi tabung reaksi. Sampel akan membentuk endapan berwarna coklat kemerahan jika positif mengandung alkaloid (Singh & Kumar, 2017).

b) Uji Iodin

Uji ini dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes larutan iodin ke dalam 3 mL ekstrak yang telah dilarutkan. Hasil positif mengandung alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru jika dipanaskan dan muncul kembali ketika didinginkan (Shaikh & Patil, 2020).

- 2) Uji saponin
ditambahkan 2,0 mL akuades pada 1,0 mL ekstrak, dikocok hingga homogen. Campuran reaksi didiamkan selama 15 menit, di mana pengamatan lapisan busa setebal 1 cm menunjukkan adanya saponin (Perumal *et al.*, 2021).
- 3) Uji flavonoid
 - a) Uji *Shinoda*: Ekstrak tanaman dilarutkan dengan 5 mL ethanol, kemudian tambahkan fragment pita magnesium serta beberapa tetes HCl pekat. Hasil positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna merah muda atau *crimson red* (Shaikh & Patil, 2020).
 - b) Uji H₂SO₄ pekat: Ekstrak tanaman ditambahkan beberapa tetes H₂SO₄ pekat lalu dilihat terbentuknya warna oranye yang menunjukkan hasil positif (Tyagi, 2017).
- 4) Uji fenolik dan tannin
Tambahkan beberapa tetes larutan FeCl 5% pada ekstrak dalam tabung reaksi dan warna biru tua kehijauan gelap menunjukkan adanya senyawa fenolik dan tannin (Nortjie *et al.*, 2022). Pengujian tanin menggunakan metode *wohler* dilakukan dengan menambahkan beberapa tetes larutan timbal asetat untuk melihat reaksi positif dengan timbulnya endapan putih (Ajuru *et al.*, 2017).
- 5) Uji fitosterol
Pengujian dilakukan dengan melarutkan ekstrak dengan asam asetat anhidrat, kemudian ditambahkan beberapa tetes H₂SO₄ pekat. Hasil menunjukkan positif jika terjadi serangkaian perubahan warna (Shaikh & Patil, 2020).

3.6.6 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menggunakan sampel ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) dengan mengukur

absorbansi DPPH dalam sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Dari hasil pengujian tersebut didapatkan data kuantitatif aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) dengan larutan asam askorbat sebagai kontrol positif dan larutan DPPH tanpa sampel sebagai kontrol negatif (Katrin & Bendra, 2015).

1) Pembuatan larutan DPPH 50 ppm

Sebanyak 5 mg serbuk DPPH ditimbang dengan seksama, masukkan pada labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan metanol p.a ke dalam labu ukur sampai tanda batas. Larutan ini disimpan dalam botol gelap agar terlindung dari cahaya (Katrin & Bendra, 2015; Riasari *et al.*, 2019)

2) Pembuatan larutan blanko dan penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Larutan blanko dibuat dengan memipet 1 mL larutan DPPH dan ditambahkan dengan metanol p.a hingga 4 mL dan dihomogenkan dan dipindahkan ke tabung reaksi dan lapiasi bagian luar tabung reaksi dengan kertas aluminium dan simpan dalam ruang gelap selama 30 menit untuk tujuan inkubasi. Tentukan panjang gelombang maksimum DPPH larutan blanko dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Handayani *et al.*, 2014; Riasari *et al.*, 2019).

3) Pembuatan larutan kontrol positif dari asam askorbat 100 ppm

Asam askorbat digunakan sebagai standar atau kontrol positif dan pembanding dalam analisis antioksidan. Pada penelitian ini, dibuat beberapa seri konsentrasi larutan asam askorbat yang diperoleh dari pengenceran larutan induk asam askorbat 100 ppm. Larutan induk dibuat dengan cara menimbang 5 mg serbuk asam askorbat dengan seksama lalu dimasukkan dalam labu ukur 50 mL, cukupkan dengan metanol p.a hingga tanda batas, tutup labu ukur dan kocok hingga homogen. Selanjutnya dilakukan pengenceran menjadi beberapa seri

konsentrasi yaitu 1, 2, 3, 4, 5 ppm. Tiap seri konsentrasi tersebut dipipet 1 mL ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH dan metanol p.a 3 mL lalu homogenkan. Tiap tabung reaksi diberi label dan permukaannya dilapisi dengan kertas aluminium. Simpan tabung reaksi tersebut dalam ruangan gelap selama 30 menit untuk diinkubasi (Handayani *et al.*, 2014).

4) Pembuatan larutan sampel uji

Larutan sampel dibuat dari hasil pengenceran larutan induk 500 ppm. Larutan induk dibuat dengan cara menimbang ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) sebanyak 25 mg dan dilarutkan dengan metanol p.a dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 50 ml. Selanjutnya, dibuat seri konsentrasi 20, 30, 40, 50 dan 60 mg/L. Berikutnya pipet sebanyak 1 mL larutan sampel ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH dan metanol p.a sebanyak 3 mL dan homogenkan. Tiap tabung reaksi diberi label dan permukaannya dilapisi dengan kertas aluminium. Simpan tabung reaksi tersebut dalam ruangan gelap selama 30 menit untuk inkubasi (Handayani *et al.*, 2014).

5) Pengukuran absorbansi menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Dilakukan pengukuran absorbansi larutan uji yang telah dilakukan inkubasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimal DPPH.

6) Perhitungan nilai IC₅₀ larutan sampel uji

Nilai IC₅₀ digunakan sebagai parameter untuk mengukur aktivitas antioksidan dengan perhitungan menggunakan rumus persamaan regresi. Nilai IC₅₀ diperoleh dengan menghitung persentase inhibisi dari setiap konsentrasi menggunakan rumus (Katrin & Bendra, 2015):

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorban blangko} - \text{absorban sampel}}{\text{Absorban blangko}} \times 100\%$$

Absorbansi blangko adalah absorbansi 1 mL DPPH dan 3 mL metanol p.a dan Absorbansi sampel adalah absorbansi dari larutan sampel yang diujikan.

3.6.7 Uji Aktivitas Sitotoksik

Uji aktivitas sitotoksik ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) ini dilakukan dengan metode MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide), dimana penurunan viabilitas sel ditunjukkan oleh penurunan absorbansi larutan berwarna *formazan* oleh sel hidup (Mazumder *et al.*, 2020).

1) Preparasi ekstrak

Ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) sebagai sampel uji dibuat dengan konsentrasi 1000; 500; 125; 31,25; 15,63 dan 7,81 µg/mL yang dilarutkan dalam media *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM). Setiap seri konsentrasi dilakukan dalam rangkap tiga (Mardina *et al.*, 2020).

2) Preparasi Kontrol Positif Doxorubicin HCl

Kontrol positif doxorubicin HCl dibuat dengan pengenceran menjadi beberapa seri konsentrasi yaitu 0,15; 3,13; 6,25; 12,5 dan 60 ppm. µg/mL yang dilarutkan dalam media *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM). Setiap seri konsentrasi dilakukan dalam rangkap tiga (Arsianti, 2023).

3) Preparasi sel kanker MCF-7

DMEM merupakan media utama yang digunakan dengan suplemen *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10%, penisilin 1%, streptomisin 1%. Sel diinkubasi hingga konfluen 80% pada suhu 37°C dengan aliran 5% CO₂. Pemanenan sel (konfluen 80%) ditandai dengan kultur jaringan labu isi (Mardina *et al.*, 2020).

4) Uji sitotoksik

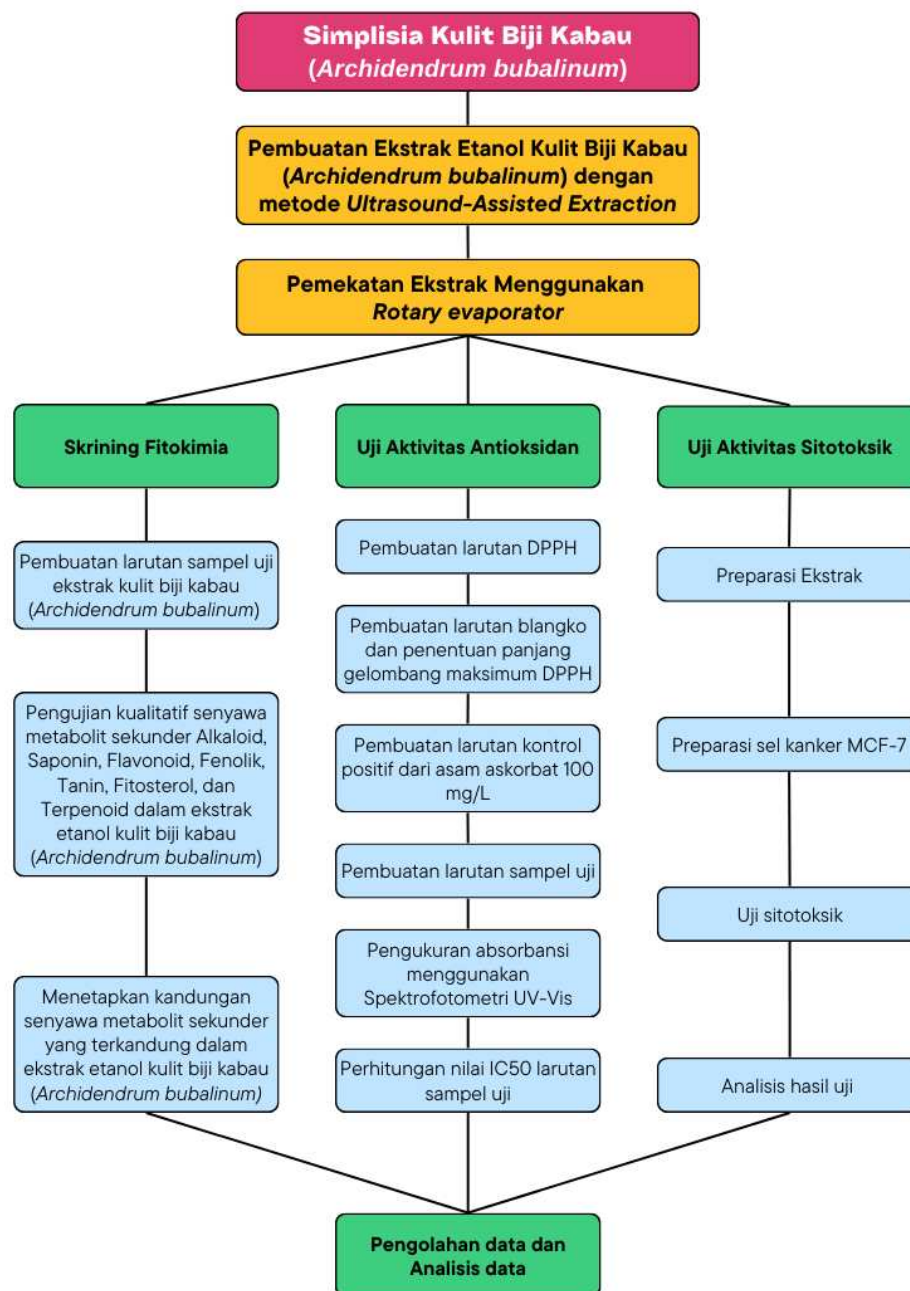
Sel yang telah dikultur ditambahkan ke dalam plat yang berisi 96 sumur mikro. Setiap sumur berisi 10^4 sel. plat akan diinkubasi selama 24 jam. Sampel ekstrak ini ditambahkan ke target sel MCF-7 sesuai dengan *plat design*. Percobaan untuk mengevaluasi aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara MCF-7 dilakukan sebanyak empat rangkap. Setelah masa inkubasi 24 jam, tiap *well* dicuci kembali dengan PBS (*Phosphate buffer saline*) untuk menghilangkan sel mati, selanjutnya ditambahkan dengan 10 μ L reagen MTT yang telah dicampur dengan media kultur. Plat kemudian dibiarkan diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37°C dengan aliran 5% CO₂. Setelah itu sel diperiksa dengan mikroskop, jika terbentuk kristal formazan berwarna ungu, ditambahkan 150 μ L DMSO (dimetil sulfoksida) untuk melarutkan sedimen. Absorbansinya dibaca menggunakan 492 nm pada spektrofotometer UV-Vis (Arsianti, 2023).

5) Analisis data

Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat 50% pertumbuhan sel kanker. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan persamaan regresi linier; $y = ax+b$ antara persentase inhibisi garis sel kanker pada sumbu y dan log konsentrasi ekstrak pada sumbu x, dengan mensubstitusi nilai a dan b dari persamaan linear ke rumus (Arsianti, 2023):

$$IC_{50} = 10^{(50-b)/a} \quad (12)$$

3.7 Alur Penelitian



Gambar 16. Alur penelitian

3.8 Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH akan dianalisis menggunakan Microsoft excel. Data absorbansi yang diperoleh dari spektrofotometer UV-Vis diinput ke dalam Excel, kemudian dilakukan

perhitungan persentase inhibisi radikal bebas. Selanjutnya, nilai persentase inhibisi diplot terhadap konsentrasi sampel untuk mendapatkan kurva dosis-respons. Nilai IC_{50} kemudian dihitung menggunakan metode non-linear regression dengan bantuan fitur *curve fitting* pada Excel. Excel merupakan alat yang sangat berguna dalam pengolahan data hasil analisis antioksidan dan sitotoksik. Selain itu, Excel juga memungkinkan visualisasi data yang menarik melalui grafik dan diagram, sehingga memudahkan kita dalam menganalisis dan menyajikan hasil penelitian.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari hasil dan pembahasan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti saponin, flavonoid, fenol, dan tanin.
2. Ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 38,23 mg/L dengan % inhibisi tertinggi pada konsentrasi 60 ppm sebesar 85,96%.
3. Ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) tidak mencapai 50% penghambatan sel kanker payudara MCF-7.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka penulis menyarankan:

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) menggunakan metode ekstraksi tanpa pemanasan yang berbeda seperti maserasi, *supercritical fluid extraction*, perkolasi, *counter current extraction*, *enzym assisted extraction*, atau *Turbo (vortical) extraction*.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait ekstraksi kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) menggunakan pelarut dengan kepolaran yang lebih variatif.

3. Perlu dilakukan perhitungan kadar senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) agar dapat diketahui jumlah senyawa metabolit sekunder secara spesifik.
4. Perlu dilakukan penelitian lanjutan aktivitas sitotoksik kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) dengan variasi waktu inkubasi yang berbeda.
5. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait potensi aktivitas sitotoksik kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) menggunakan lini sel kanker lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, Z., & Rehman, S. (2018). An Overview of Cancer Treatment Modalities. In *Neoplasms*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76558>
- Abidin, R. K. S., & Arsianti, A. (2023). Phytochemical Screening, Antioxidant Activity, and Cytotoxicity of Ethanol, Ethyl Acetate, and n-Hexane Kluwak (*Pangium edule*) Extract on MCF-7 Breast Cancer Cells. *Indonesian Journal of Medical Chemistry and Bioinformatics*, 2(2). <https://doi.org/10.7454/ijmcb.v2i2.1027>
- Achmad, A. B. (2021). In Vitro Cytotoxic Test of Red Okra (*Abelmoschus esculentus*) Fruit Ethanolic Extract on HeLa Cells Uji Sitotoksik In Vitro Ekstrak Etanol Buah Okra Merah (*Abelmoschus esculentus*) pada Sel HeLa. *Journal of Applied Veterinary Science and Technology*, 22–26. <https://doi.org/10.20473/javest.V3.01.2022.22-26>
- Adan, A., Kiraz, Y., & Baran, Y. (2016). The international international journal journal for timely for timely in-depth reviews in in-depth reviews in Pharmaceutical Pharmaceutical Biotechnology Impact Factor: 1.802 BENTHAM. *Current Biotechnology Pharmaceutical*, 17(14), 1873–4316. <https://doi.org/10.2174/13892010176661608081605>
- Ajuru, M. G., Williams, L. F., & Ajuru, G. (2017). Qualitative and Quantitative Phytochemical Screening of Some Plants Used in Ethnomedicine in the Niger Delta Region of Nigeria. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 5(5), 198–205. <https://doi.org/10.11648/j.jfns.20170505.16>
- Akanji, M. A., Fatinukun, D., Rotimi, E., Afolabi, L., & Adeyemi, O. S. (2020). *The Two Sides of Dietary Antioxidants in Cancer Therapy*. www.intechopen.com

- American Cancer Society. (2023). Cancer Facts and Figures. *American Cancer Society*.
- Ames, B. N., & Gold, L. S. (1997). The Causes and Prevention of Cancer: Gaining Perspective. In *Environ Health Perspect* (Vol. 1).
- Aminuddin, M., Shafiee, M., Ashraf, M., Asri, M., Sakinah, S., & Alwi, S. (2021). Review on the In Vitro Cytotoxicity Assessment in Accordance to the International Organization for Standardization (ISO). In *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences* (Vol. 17, Issue 2).
- Ammar, H. O., Shamma, R. N., Elbatanony, R. S. E., & Khater, B. (2020). Antioxidants in cancer therapy: Recent trends in application of nanotechnology for enhanced delivery. In *Scientia Pharmaceutica* (Vol. 88, Issue 1). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/scipharm88010005>
- Annisa Amriani, Fitrya, Rennie Puspa Novita, & Dapid Caniago. (2021). Uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol akar kabau (*Archidendron bubalinum* (Jack) I.C. Nielsen) terhadap tikus putih jantan yang diinduksi diet tinggi lemak dan fruktosa. *Jurnal Penelitian Sains*, 23(2), 102–109.
- Archidendron bubalinum* (Jack) I.C.Nielsen in GBIF Secretariat. (2023). *Archidendron bubalinum* (Jack) I.C.Nielsen. GBIF Backbone Taxonomy. <https://www.gbif.org/species/2941202>
- Arsianti, A. (2023). Cytotoxic Effect *Euphorbia tirucalli* Extract Towards Breast MCF-7 And Colorectal HT-29 Cancer Cell Lines. *International Journal of Current Research*, 15(6).
- Aslantürk, Ö. S. (2018). In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages. In *Genotoxicity - A Predictable Risk to Our Actual World*. InTech. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71923>
- Birangane, R. S., Chole, D. G., Sathya Prakash Reddy, K., & Shivaji. (2011). A review of antioxidants. *Journal of Indian Academy of Oral Medicine and Radiology*, 23(SUPPL.3). <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10011-1167>
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). *Oxidative Stress and Antioxidant Defense*.
- Bitwell, C., Indra, S. Sen, Luke, C., & Kakoma, M. K. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting

- phytochemicals from plants. In *Scientific African* (Vol. 19). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01585>
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199–1200.
- Brown, J. S., Amend, S. R., Austin, R. H., Gatenby, R. A., Hammarlund, E. U., & Pienta, K. J. (2023). Updating the Definition of Cancer. *Molecular Cancer Research*, 21(11), 1142–1147. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-23-0411>
- Chaniago, S. W. P., & Aisyah, Y. (2022, October 28). *Apa Itu Kabau, Buah Mirip Jengkol untuk Lalapan dari Sumatera?* Kompas.com. <https://www.kompas.com/food/read/2022/10/28/083300475/apa-itu-kabau-buah-mirip-jengkol-untuk-lalapan-dari-sumatera->
- Ciriello, G., Magnani, L., Aitken, S. J., Akkari, L., Behjati, S., Hanahan, D., Landau, D. A., Lopez-Bigas, N., Lupiáñez, D. G., Marine, J. C., Martin-Villalba, A., Natoli, G., Obenauf, A. C., Oricchio, E., Scaffidi, P., Sottoriva, A., Swarbrick, A., Tonon, G., Vanharanta, S., & Zuber, J. (2024). Cancer Evolution: A Multifaceted Affair. In *Cancer Discovery* (Vol. 14, Issue 1, pp. 36–48). American Association for Cancer Research Inc. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-23-0530>
- Comsa, S., Cîampean, A. M., & Raica, M. (2015). The Story of MCF-7 Breast Cancer Cell Line: 40 years of Experience in Research. *Anticancer Research*, 35, 3147–3154.
- D'Amelia, V., Aversano, R., Chiaiese, P., & Carputo, D. (2018). The antioxidant properties of plant flavonoids: their exploitation by molecular plant breeding. In *Phytochemistry Reviews* (Vol. 17, Issue 3, pp. 611–625). Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9568-y>
- Debela, D. T., Muzazu, S. G. Y., Heraro, K. D., Ndalama, M. T., Mesele, B. W., Haile, D. C., Kitui, S. K., & Manyazewal, T. (2021). New approaches and procedures for cancer treatment: Current perspectives. In *SAGE Open Medicine* (Vol. 9). SAGE Publications Ltd. <https://doi.org/10.1177/20503121211034366>

- Dias, M. C., Pinto, D. C. G. A., & Silva, A. M. S. (2021). Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. In *Molecules* (Vol. 26, Issue 17). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>
- Djarmiko, W. (2017, March 10). *Berkas:Archid bubal 170310-5304898 mko.JPG - Wikipedia bahasa Indonesia, ensiklopedia bebas*. Wikipedia. https://id.m.wikipedia.org/wiki/Berkas:Archid_bubal_170310-5304898_mko.JPG
- Eko, S. S., Zauhara, F. W., & Murni, S. S. (2018). Analisis Kualitatif Kandungan Senyawa Aktif (Flavonoid, Alkaloid, Polifenol, Saponin, Terpenoid dan Tanin) pada Ekstrak Metanol Daun dan Rhizoma Phymatodes scolopendria (Burm.) Ching di Taman Nasional Baluran. *Prosiding Seminar Nasional VI Hayati 2018*.
- Elshafie, H. S., Camele, I., & Mohamed, A. A. (2023). A Comprehensive Review on the Biological, Agricultural and Pharmaceutical Properties of Secondary Metabolites Based-Plant Origin. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Issue 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms24043266>
- Fatmawati, I. S., Haeruddin, & Mulyana, W. O. (2023). S A I N S Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Daun Belimbing Wuluh (*Aveerrhoa bilimbi* L.) dengan Metode DPPH. *Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia*, 12. <http://sains.uho.ac.id/index.php/journal>
- Febrianto, Y., Chakim, A., & Farmasi Nusaputera Semarang, A. (2019). Potensi Metode Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) Dalam Mengekstrak Senyawa Aktif dari Bahan Alam. In *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia, Oktober* (Vol. 2, Issue 1).
- Fitrianingsih, Maharini, I., & Utami, D. T. (2020). Development of Ethanolic Extract of Pinang Masak Jambi (*Areca Catechu* L.) as A Modulator of Doxorubicin Cytotoxic Effect in Breast Cancer Therapy. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(1), 45–50.
- Ghanadian, M. (2015). Cytotoxic effect of *Cousinia verbascifolia* Bunge against OVCAR-3 and HT-29 cancer cells. In *Journal of HerbMed Pharmacology* *Journal homepage: J HerbMed Pharmacol* (Vol. 4, Issue 1). <http://www.herbmedpharmacol.com>

- GLOBOCAN. (2024). *Cancer Today*. International Agency for Research on Cancer WHO.
https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=population&group_populations=0&cancers=20
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. In *Processes* (Vol. 11, Issue 8). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
<https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Hakim, A. R., & Saputri, R. (2020). Narrative Review: Optimasi Etanol Sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik. *Jurnal Surya Medika*, 6(1), 177–180.
- Hanafi, H., Irawan, C., Rochaeni, H., Sulistiawaty, L., Roziyanto, A. N., & Supriyono. (2018). Phytochemical screening, LC-MS studies and antidiabetic potential of methanol extracts of seed shells of *Archidendron bubalinum* (Jack) I.C. Nielson (Julang Jaling) from Lampung, Indonesia. *Pharmacognosy Journal*, 10(6), S77–S82. <https://doi.org/10.5530/pj.2018.6s.15>
- Handayani, V., Roskiana Ahmad, A., & Sudir, M. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH. *Pharmaceutical Science Research*, 1(2).
- Hassanpour, S. H., & Doroudi, A. (2023). Review of the antioxidant potential of flavonoids as a subgroup of polyphenols and partial substitute for synthetic antioxidants. In *Avicenna Journal of Phytomedicine* (Vol. 13, Issue 4, pp. 354–376). Mashhad University of Medical Sciences.
<https://doi.org/10.22038/AJP.2023.21774>
- He, L., He, T., Farrar, S., Ji, L., Liu, T., & Ma, X. (2017). Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species. In *Cellular Physiology and Biochemistry* (Vol. 44, Issue 2, pp. 532–553). S. Karger AG. <https://doi.org/10.1159/000485089>
- Heleno, S. A., Martins, A., Queiroz, M. J. R. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. In *Food Chemistry* (Vol. 173, pp. 501–513). Elsevier Ltd.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.057>

- Hong, R., & Xu, B. (2022). Breast cancer: an up-to-date review and future perspectives. In *Cancer Communications* (Vol. 42, Issue 10, pp. 913–936). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/cac2.12358>
- Irawan, C., Foliatini, Hanafi, Sulistiawaty, L., & Sukiman, M. (2018). Volatile compound analysis using GC-MS, phytochemical screening and antioxidant activities of the husk of “Julang-jaling” (*Archidendron bubalinum* (Jack) I.C Nielsen) from Lampung, Indonesia. *Pharmacognosy Journal*, 10(1), 92–98. <https://doi.org/10.5530/pj.2018.1.17>
- Jain, C., Khatana, S., & Vijayvergia, R. (2019). Bioactivity Of Secondary Metabolites Of Various Plants: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(2), 494. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10\(2\).494-04](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10(2).494-04)
- Jee, K., Meenu, Shivani, Kumar, R., & Gupta, N. (2022). A Short Review On Ultraviolet and Visible Spectroscopy. *International Journal of Scientific Development and Research*, 7(12), 683–687. <https://doi.org/10.1729/Journal.32451>
- Kalangit, R. B., & Octarina. (2024). Metode uji sitotoksisitas biomaterial dengan bentuk scaffold padatan dan berpori spons. *Jurnal Kedokteran Gigi Terpadu*, 6(1), 53–56. <https://doi.org/10.25105/jkgt.v6i1.20886>
- Kamariyah Sani, S., Erna, B., Sri Ulandari Fakultas Kesehatan, A., Qamarul Huda Badaruddin Bagu, U., Tenggara Barat, N., & Korespondensi, P. (2023). *Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Jarak Kepyar (Ricinus communis) Dengan Analisis Fitokimia dan GC-MS Sebagai Kandidat Senyawa Obat* (Vol. 8, Issue 1).
- Karak, P. (2019). Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *International Journal of Prahmaceutical Sciences and Researches*, 10(4), 1567–1574.
- Karakaş, D., Ari, F., & Ulukaya, E. (2017). The MTT viability assay yields strikingly false-positive viabilities although the cells are killed by some plant extracts. *Turkish Journal of Biology*, 41(6), 919–925. <https://doi.org/10.3906/biy-1703-104>

- Katrin, & Bendra, A. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak, Fraksi dan Golongan Senyawa Kimia Daun Premna oblongata Miq. *Pharmaceutical Science and Research*, 2(1), 21–31.
- Komariah, D., & Hartana, A. (2016). Variasi Morfologi Kabau (Archidendron bubalinum) Dan Pemanfaatannya di Sumatera. In *Floribunda* (Vol. 5, Issue 5).
- Kotha, R. R., Tareq, F. S., Yildiz, E., & Luthria, D. L. (2022). Oxidative Stress and Antioxidants—A Critical Review on In Vitro Antioxidant Assays. In *Antioxidants* (Vol. 11, Issue 12). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antiox11122388>
- Krakowska-Sieprawska, A., Kielbasa, A., Rafińska, K., Ligor, M., & Buszewski, B. (2022). Modern Methods of Pre-Treatment of Plant Material for the Extraction of Bioactive Compounds. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27030730>
- Lee, A. V., Oesterreich, S., & Davidson, N. E. (2015). MCF-7 Cells - Changing the Course of Breast Cancer Research and Care for 45 Years. In *Journal of the National Cancer Institute* (Vol. 107, Issue 7). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/jnci/djv073>
- Lewandowska, A. M., Lewandowski, T., Rudzki, M., Rudzki, S., & Laskowska, B. (2021). Cancer prevention – review paper. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 28(1), 11–19. <https://doi.org/10.26444/aaem/116906>
- Li, W., Zhou, J., & Xu, Y. (2015). Study of the in vitro cytotoxicity testing of medical devices. *Biomedical Reports*, 3(5), 617–620. <https://doi.org/10.3892/br.2015.481>
- Lim, T. K. (2012). Edible medicinal and non-medicinal plants: Volume 2, fruits. In *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 2, Fruits*. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-1764-0>
- Liyana, N., Afar, J. ', Pui Teng, C., Syafiqa, N., Rosmi, A. M., Nur, S., Rambli, A., Shafie, N. H., Arapoc, D. J., & Bahari, H. (2019). Total Antioxidant Activity and Enzymatic Inhibition against Alpha-Amylase, Alpha-Glucosidase and

- Pancreatic Lipase of Irradiated Archidendron bubalinum. In *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences* (Vol. 15, Issue SP1).
- Lorent, J. H., Quetin-Leclercq, J., & Mingeot-Leclercq, M. P. (2014). The amphiphilic nature of saponins and their effects on artificial and biological membranes and potential consequences for red blood and cancer cells. In *Organic and Biomolecular Chemistry* (Vol. 12, Issue 44, pp. 8803–8822). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c4ob01652a>
- Lung, J. K. S., & Destiani, D. P. (2017). Review Artikel: Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan metode DPPH. *Farmaka*, 15, 53–62.
- Macáková, K., Afonso, R., Saso, L., & Mladěnka, P. (2019). The influence of alkaloids on oxidative stress and related signaling pathways. In *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 134, pp. 429–444). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.01.026>
- Mangge, H., Becker, K., Fuchs, D., & Gostner, J. M. (2014). Antioxidants, inflammation and cardiovascular disease. *World J. Cardiol*, 462–477.
- Mardina, V., Harmawan, T., Halimatussakdiah, H., Ilyas, S., & Tanjung, M. (2020). Anticancer Activity of N-Hexane Extract from *Sphagneticola trilobata* (L.) J.F Pruski Against MCF-7 Breast Cancer Cell. *Elkawanie*, 6(1), 48. <https://doi.org/10.22373/ekw.v6i1.6183>
- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., & D'Alessandro, A. G. (2022). Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. *Oxygen*, 2(2), 48–78. <https://doi.org/10.3390/oxygen2020006>
- Matthews, H. K., Bertoli, C., & de Bruin, R. A. M. (2022). Cell cycle control in cancer. In *Nature Reviews Molecular Cell Biology* (Vol. 23, Issue 1, pp. 74–88). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00404-3>
- Mazlumoglu, B. S. (2023). In Vitro Cytotoxicity Test Methods: MTT and Neutral Red Uptake. *Pharmata*, 3(2), 50–53. <https://doi.org/10.5152/Pharmata.2023.1287964>
- Mazumder, K., Biswas, B., Raja, I. M., & Fukase, K. (2020). A review of cytotoxic plants of the Indian subcontinent and a broad-spectrum analysis of their

- bioactive compounds. In *Molecules* (Vol. 25, Issue 8). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/molecules25081904>
- Mendonça, J. da S., Guimarães, R. de C. A., Zorgetto-Pinheiro, V. A., Fernandes, C. D. Pietro, Marcelino, G., Bogo, D., Freitas, K. de C., Hiane, P. A., Melo, E. S. de P., Vilela, M. L. B., & Do Nascimento, V. A. (2022). Natural Antioxidant Evaluation: A Review of Detection Methods. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27113563>
- Mironczuk-Chodakowska, I., Witkowska, A. M., & Zujko, M. E. (2018). Endogenous non-enzymatic antioxidants in the human body. In *Advances in Medical Sciences* (Vol. 63, Issue 1, pp. 68–78). Medical University of Białystok. <https://doi.org/10.1016/j.advms.2017.05.005>
- Mishra, K., Ojha, H., & Chaudhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH- assay: A critical review and results. *Food Chemistry*, 130(4), 1036–1043. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.127>
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2), 211–219.
- Morad, A. F. Bin. (2012, July 12). *Archidendron bubalinum (Jack)* I.C.Nielsen | Jeniang, Kedah, ... | Flickr. Flickr. <https://www.flickr.com/photos/adaduitokla/7618659306/in/photostream/>
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 7). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Muscolo, A., Mariateresa, O., Giulio, T., & Mariateresa, R. (2024). Oxidative Stress: The Role of Antioxidant Phytochemicals in the Prevention and Treatment of Diseases. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 25, Issue 6). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms25063264>
- National Center for Biotechnology Information. (2025). *Mtt formazan* | C18H17N5S | CID 16218671 - PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Mtt-Formazan>.

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Mtt-formazan#section=2D-Structure>

- Nawrot-Chorabik, K., Sułkowska, M., & Gumulak, N. (2022). Secondary Metabolites Produced by Trees and Fungi: Achievements So Far and Challenges Remaining. In *Forests* (Vol. 13, Issue 8). MDPI. <https://doi.org/10.3390/f13081338>
- Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., & Yar, M. S. (2019). Medicinal prospects of antioxidants: A review. In *European Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 178, pp. 687–704). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.010>
- Ngibad, K. (2019). Phytochemical Screening of Sunflower Leaf (*Helianthus annuus*) and Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn) Plant Ethanol Extract. *Borneo Journal of Pharmacy*, 2(1), 24–30. <https://doi.org/10.33084/bjop.v2i1.689>
- Nimse, S. B., & Pal, D. (2015). Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv*, 27986–28006.
- Nordin, M. L., Abdul Kadir, A., Zakaria, Z. A., Abdullah, R., & Abdullah, M. N. H. (2018). In vitro investigation of cytotoxic and antioxidative activities of *Ardisia crispa* against breast cancer cell lines, MCF-7 and MDA-MB-231. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2153-5>
- Nortjie, E., Basitere, M., Moyo, D., & Nyamukamba, P. (2022). Extraction Methods, Quantitative and Qualitative Phytochemical Screening of Medicinal Plants for Antimicrobial Textiles: A Review. In *Plants* (Vol. 11, Issue 15). MDPI. <https://doi.org/10.3390/plants11152011>
- Patel, D., Panchal, D., Patel, K., Dalwadi, M., & Upadhyay, U. (2022). “A Review on UV Visible Spectroscopy.” www.ijcrt.org
- Patel, K., Panchal, N., & Ingle. Pradnya. (2019a). Review of Extraction Techniques Extraction Methods: Microwave, Ultrasonic, Pressurized Fluid, Soxhlet Extraction, Etc. *International Journal of Advanced Research in Chemical Science*, 6(3). <https://doi.org/10.20431/2349-0403.0603002>

- Patel, K., Panchal, N., & Ingle. Pradnya. (2019b). Techniques Adopted for Extraction of Natural Products Extraction Methods: Maceration, Percolation, Soxhlet Extraction, Turbo distillation, Supercritical Fluid Extraction. *International Journal of Advanced Research in Chemical Science*, 6(4). <https://doi.org/10.20431/2349-0403.0604001>
- Patel, S., Raulji, A., Patel, D., Panchal, D., Dalwadi, M., & Upadhyay, U. (2022). A Review on “Uv Visible Spectroscopy.” *International Journal of Pharmaceutical Research and Applications*, 7, 1144. <https://doi.org/10.35629/7781-070511441151>
- Pertamawati. (2007). Pengaruh Sitotoksik Ekstrak Buaj Mahkotadewa [Phaleria macrocarpa (Scheff) Boerl.] Terhadap Sel Kanker Lestari HeLA. *Jurnal Sains Dan Teknologi Indonesia*, 9(1), 39–43. <http://www.biotech.ist.unige.it/cldb/cl11601.html>
- Perumal, A., AlSalhi, M. S., Kanakarajan, S., Devanesan, S., Selvaraj, R., & Tamizhazhagan, V. (2021). Phytochemical evaluation and anticancer activity of rambutan (*Nephelium lappaceum*) fruit endocarp extracts against human hepatocellular carcinoma (HepG-2) cells. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(3), 1816–1825. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.12.027>
- Prayoga, D. G. E., Nocianitri, K. A., & Puspawati, N. N. (2019). Identifikasi Senyawa Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (*Gymnema reticulatum* Br.) Pada Berbagai Jenis Pelarut. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*, 8(2), 111–121.
- Priamsari, M. R., & Danti, P. M. (2022). Effect of Drying Method on Total Phenolic LeveSingkil Leaf Extract (*Premna corymbosa* Rottl et Wild). *Indonesian Journal on Medical Science*, 9(1), 65–69. <https://doi.org/10.55181/ijms.v9i1.349>
- Putra, N. R., Yustisia, Y., Heryanto, R. B., Asmalayah, A., Miswarti, M., Rizkiyah, D. N., Yunus, M. A. C., Irianto, I., Qomariyah, L., & Rohman, G. A. N. (2023). Advancements and challenges in green extraction techniques for Indonesian natural products: A review. In *South African Journal of Chemical Engineering* (Vol. 46, pp. 88–98). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2023.08.002>

- Rahman, M. M., Rahaman, M. S., Islam, M. R., Rahman, F., Mithi, F. M., Alqahtani, T., Almikhlaifi, M. A., Alghamdi, S. Q., Alruwaili, A. S., Hossain, M. S., Ahmed, M., Das, R., Emran, T. Bin, & Uddin, M. S. (2022). Role of phenolic compounds in human disease: Current knowledge and future prospects. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 1). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27010233>
- Rahmawati, F., Kurniatyb, L., & Bintanga, M. (2020). Antioxidant potential and identification of active compounds on Kabau seed (Archidendron bubalinum) flesh and husk extract. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 23(3), 83–88. <https://doi.org/10.14710/jksa.233.83-88>
- Rajput, J. M. (2023). *Cancer: A Comprehensive Review*. <https://www.researchgate.net/publication/368285195>
- Ramprasath, V. R., & Awad, A. B. (2015). Role of phytosterols in cancer prevention and treatment. *Journal of AOAC International*, 98(3), 735–738. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.SGERamprasath>
- Reshi, Z. A., Ahmad, W., Lukatkin, A. S., & Javed, S. Bin. (2023). From Nature to Lab: A Review of Secondary Metabolite Biosynthetic Pathways, Environmental Influences, and In Vitro Approaches. In *Metabolites* (Vol. 13, Issue 8). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/metabo13080895>
- Riasari, H., Fitriansyah, S. N., Hartati, R., Anggadiredja, K., & Sukrasno. (2019). Comparison of extraction methods, antioxidant activities, total phenol in seeds and seed shells of Kabau (Archidendron bubalinum (Jack) I.C. Nielsen) from Lampung and South Sumatra. *Pharmacognosy Journal*, 11(6), 1278–1284. <https://doi.org/10.5530/pj.2019.11.198>
- Riasari, H., Hartati, R., Anggadiredja, K., & Sukrasno. (2021). Histochemical investigation on archidendron bubalinum (Jack) nielsen.) from Lampung, Sumatera, Indonesia. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 13(Special Issue 3), 12–16. <https://doi.org/10.22159/IJAP.2021.V13S3.02>
- Riveros, M. E., Ávila, A., Schruers, K., & Ezquer, F. (2022). Antioxidant Biomolecules and Their Potential for the Treatment of Difficult-to-Treat Depression and Conventional Treatment-Resistant Depression. In

- Antioxidants* (Vol. 11, Issue 3). MDPI.
<https://doi.org/10.3390/antiox11030540>
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2015). Status of carotenoid analytical methods and in vitro assays for the assessment of food quality and health effects. *Food Sci*, 56–63.
- Sanjaya, Y. A., Tola, P. S., & Rahmawati, R. (2022). Ultrasound-assisted Extraction as a Potential Method to Enhanced Extraction of Bioactive Compound. *3rd International Conference Eco-Innovation in Science, Engineering, and Technology*, 191–198.
<https://doi.org/10.11594/nstp.2022.2729>
- Saputri, A. D. S., & Besthari, N. S. (2023). Penetapan Kadar Alkaloid Total Pada Ekstrak Kasar Dan Ekstrak Terpurifikasi Bunga Cengkeh (*Syzigium aromaticum*) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi Simplisia, Juli, 2023*(1), 28–37.
- Sari, S. A., Ernita, M., Mara, M. N., & AR, M. R. (2023). Identification of Active Compound on *Muntingia calabura* L. Leaves Using Different Polarity Solvent. *Indonesian Journal of Chemical Science and Technology*, 3, 1–7.
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (2020). The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove *Sonneratia alba*). *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1).
<https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/JPKT/index>
- Shaikh, J. R., & Patil, M. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), 603–608. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
- Siegel, R., Miller, K., Wagle, N., & Jemal, A. (2023). Cancer statistics, 2023. *A Cancer Journal for Clinicians*, 73(1), 17–48.
- Singh, V., & Kumar, R. (2017). Study of Phytochemical Analysis and Antioxidant Activity of *Allium sativum* of Bundelkhand Region. *International Journal of Life-Sciences Scientific Research*, 3(6), 1451–1458.
<https://doi.org/10.21276/ijlssr.2017.3.6.4>
- Sofia, I., Aulia, I., Wijayanti, T., Saptarini, O., Setia Budi, U., & Corresponding, S. (2024). Immunomodulatory Activity of Ethanol Extract and Kabau

- (Archidendron Bubalinum) Leaf Fractions on the Macrophage Phagocytosis Index in Male White Rats (*Rattus Novergicus*). *Jurnal Multidisiplin Madani*, 4(6), 830–842. <https://doi.org/10.55927/mudima.v4i6.9588>
- Sugiarna, R., Farhan, N., Rusdi, M., & Ikhlas Arsul, M. (2019). Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera* L). *J.Pharm.Sci*, 2(2).
- Teh, K., Wong, Y., & Sit, N. (2022). *Antibacterial, Antifungal, and Antioxidant Activities and Polyphenol Content of the Edible Seeds of Archidendron bubalinum*. 40–49. <https://doi.org/10.5220/0011595600003430>
- Teoh, E. S. (2016). Secondary Metabolites of Plants. In *Medicinal Orchids of Asia* (pp. 59–73). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24274-3_5
- Tyagi, T. (2017). Phytochemical Screening of Active Metabolites present in *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms and *Pistia stratiotes* (L.): Role in Ethanomedicine. *Asian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 6(4), 40–56. <https://www.researchgate.net/publication/325216063>
- Usman, M., Khan, W. R., Yousaf, N., Akram, S., Murtaza, G., Kudus, K. A., Ditta, A., Rosli, Z., Rajpar, M. N., & Nazre, M. (2022). Exploring the Phytochemicals and Anti-Cancer Potential of the Members of Fabaceae Family: A Comprehensive Review. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 12). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27123863>
- Verma, G., & Mishra, M. (2018). Development and Optimization Of UV-Vis Spectroscopy-A Review. *Govinda et al. World Journal of Pharmaceutical Research*, 7. <https://doi.org/10.20959/wjpr201811-12333>
- Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Maróstica Junior, M. R. (2019). Phenolic Compounds. In *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications* (pp. 33–50). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>
- WHO. (2022). *WHO-Cancer*. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
- WHO. (2024). *Breast cancer*. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast->

cancer#:~:text=Breast%20cancer%20cells%20begin%20inside,producing%20lobules%20of%20the%20breast.&text=Overview,of%20control%20and%20form%20tumours.&text=Over%20time%2C%20cancerous%20cells%20may,%2C%20liver%2C%20brain%20and%20bones.

- Yousfi, F., Abrigach, F., Petrovic, J. D., Sokovic, M., & Ramdani, M. (2021). Phytochemical screening and evaluation of the antioxidant and antibacterial potential of *Zingiber officinale* extracts. *S. Afr. J. Bot*, 433–440.
- Zeb, A. (2020). Concept, mechanism, and applications of phenolic antioxidants in foods. In *Journal of Food Biochemistry* (Vol. 44, Issue 9). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13394>
- Zhang, M., Zhao, J., Dai, X., & Li, X. (2023). Extraction and Analysis of Chemical Compositions of Natural Products and Plants. In *Separations* (Vol. 10, Issue 12). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/separations10120598>
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. In *Chinese Medicine (United Kingdom)* (Vol. 13, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>
- Zhang, Y., Wu, S., Qin, Y., Liu, J., Liu, J., Wang, Q., Ren, F., & Zhang, H. (2018). Interaction of phenolic acids and their derivatives with human serum albumin: Structure–affinity relationships and effects on antioxidant activity. *Food Chemistry*, 240, 1072–1080. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.100>