

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN AKTIVITAS SITOTOKSIK
FRAKSI N HEKSAN DAN ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL 96%
KULIT BIJI KABAU (*Archidendron bubalinum*) TERHADAP SEL
KANKER PAYUDARA MCF-7**

Skripsi

Oleh

Muhamad Farhan Akbar

2218031044



FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS LAMPUNG

BANDAR LAMPUNG

2026

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN AKTIVITAS SITOTOKSIK
FRAKSI N HEKSAN DAN ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL 96%
KULIT BIJI KABAU (*Archidendron bubalinum*) TERHADAP SEL
KANKER PAYUDARA MCF-7**

**Oleh
Muhamad Farhan Akbar**

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

**Pada
Program Studi Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

ABSTRACT

ANTIOXIDANT AND CYTOTOXIC ACTIVITIES OF *N*-HEXANE AND ETHYL ACETATE FRACTIONS OF 96% ETHANOL EXTRACT OF KABAU SEED COAT (*ARCHIDENDRON BUBALINUM*) AGAINST MCF- 7 BREAST CANCER CELLS

By

MUHAMAD FARHAN AKBAR

Background: The development of cancer therapy continues to advance in response to the increasing global incidence of cancer, with the utilization of natural antioxidants emerging as a promising approach for cancer prevention and treatment. Kabau (*Archidendron bubalinum*) has been reported to possess high antioxidant activity; however, studies investigating its potential as an anticancer agent, particularly against breast cancer, remain limited. Therefore, this study aimed to evaluate the antioxidant and cytotoxic activities of kabau seed coat against MCF-7 breast cancer cells.

Methods: In this study, sample extraction was performed using the Ultrasound-Assisted Extraction method with 96% ethanol, followed by fractionation using *n*-hexane and ethyl acetate. The concentrated extracts were qualitatively analyzed to identify their phytochemical constituents, and antioxidant activity was assessed using the DPPH method. Furthermore, cytotoxic activity against MCF-7 breast cancer cells was evaluated using the MTT assay.

Results: The ethyl acetate and *n*-hexane fractions contained saponins, phenolics, tannins, and flavonoids. The IC₅₀ values for antioxidant activity were 35.99 mg/L for the ethyl acetate fraction and 132.29 mg/L for the *n*-hexane fraction. The ethyl acetate fraction exhibited cytotoxic activity against MCF-7 cells with an IC₅₀ value of 268.7 mg/L.

Conclusion: The ethyl acetate fraction demonstrated strong antioxidant activity, whereas the *n*-hexane fraction showed weak antioxidant activity. The ethyl acetate fraction exhibited cytotoxic activity against MCF-7 breast cancer cells; however, the activity was classified as weak.

Keywords: *Archidendron bubalinum*, Fractionation, Antioxidant activity, Cytotoxic activity, Breast cancer, MCF-7 cells

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI N HEKSAN DAN ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL 96% KULIT BIJI KABAU (*Archidendron bubalinum*) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7

Oleh

MUHAMAD FARHAN AKBAR

Latar Belakang: Pengembangan terapi kanker terus meningkat seiring tingginya angka kejadian kanker secara global, salah satunya melalui pemanfaatan antioksidan alami. Tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, namun kajian mengenai potensinya sebagai agen antikanker, khususnya terhadap kanker payudara, masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dan aktivitas sitotoksik tanaman kabau terhadap sel kanker payudara MCF-7

Metode: Pada penelitian ini, ekstraksi sampel dilakukan menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* dengan pelarut etanol 96%, selanjutnya dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat. Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara kualitatif untuk mengidentifikasi kandungan senyawa, serta diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH. Selanjutnya, aktivitas sitotoksik dievaluasi terhadap sel kanker payudara MCF-7 menggunakan metode MTT.

Hasil: Fraksi etil asetat dan n-heksan mengandung senyawa saponin, fenolik, tanin, dan flavonoid. Didapatkan hasil nilai IC_{50} aktivitas antioksidan sebesar 35,99 mg/L pada fraksi etil asetat dan 132,29 mg/L pada n-heksan. Didapatkan aktivitas sitotoksik sebesar 268,7 mg/L pada fraksi etil asetat.

Simpulan: Fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan yang sangat baik dan fraksi n-heksan memiliki aktivitas antioksidan yang lemah. Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas sitotoksik namun tergolong lemah pada sel kanker payudara MCF-7

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

Judul Skripsi : **UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI N HEKSAN DAN ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL 96% KULIT BIJI KABAU (*Archidendron bubalinum*) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7**

Nama Mahasiswa : **Muhamad Farhan Akbar**

No. Pokok Mahasiswa : **2218031044**

Program Studi : **Farmasi**

Fakultas : **Kedokteran**

MENYETUJUI

Komisi Pembimbing

Pembimbing 1

Pembimbing 2

apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc.
NIP.1986120520520222031003

apt. Ramadhan Priyandi, S.Farm., M.Si
NIP.198705202020121015

Dekan Fakultas Kedokteran

Dr. dr. Evi Kurniawati, S.Ked., M.Sc.
NIP. 19760120200312200

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji
Ketua

: apt. Muhammad Iqbal, S.Farm., M.Sc.

Sekretaris

: apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si

Penguji

Bukan Pembimbing

: Prof. Dr. dr. Asep Sukohar, S.Ked.,
M.Kes., Sp.KKLP

2. Dekan Fakultas Kedokteran


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

Tanggal Lulus Ujian: 9 Januari 2026

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI N HEKSAN DAN ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL 96% KULIT BIJI KABAU (*Archidendron bubalinum*) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7”** adalah hasil karya saya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara yang 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, 19 Desember 2025

Pembuat Pernyataan



Muhamad Farhan Akbar

NPM. 2218031044

RIWAYAT HIDUP

Muhamad Farhan Akbar, yang akrab disapa Parhan, lahir di Bandar Lampung pada tanggal 21 November 2003. Penulis merupakan anak dari pasangan Muhamad Fatoni dan Iranita. Pendidikan dasar ditempuh di SD Al-Azhar 2 Bandar Lampung, kemudian dilanjutkan ke jenjang sekolah menengah pertama di Madrasah Tsanawiyah Negeri 2 Bandar Lampung. Setelah itu, penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 7 Bandar Lampung.

Pada tahun 2022, penulis dinyatakan lulus melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) dan diterima sebagai mahasiswa Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung. Selama menempuh pendidikan di tingkat perguruan tinggi, penulis aktif dalam kegiatan organisasi kemahasiswaan, khususnya di Himpunan Mahasiswa Farmasi (HIMAFARSI) Universitas Lampung. Penulis bergabung dalam Departemen Eksternal dan Sosial (EKSOS) dan kemudian dipercaya untuk mengemban amanah sebagai Ketua Himpunan Mahasiswa Farmasi Universitas Lampung.

Sebagai bagian akhir dari proses akademik, penulis menyusun skripsi dengan judul: **“UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI N HEKSAN DAN ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL 96% KULIT BIJI KABAU (*Archidendron bubalinum*) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7.”**

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, penulis dapat menyelesaikan karya ilmiah ini. Penulis juga menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, doa, bimbingan, serta kesempatan selama penyusunan skripsi dan selama menempuh pendidikan tinggi.

SANWACANA

Alhamdulillah Rabbil 'Aalamiin, puji syukur penulis haturkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala yang telah memberikan nikmat, rahmat, hidayah, dan karuniaNya sehingga penulis diberikan kelancaran dan kemudahan untuk menjalani masa perkuliahan, penelitian, dan penyusunan naskah skripsi yang berjudul "**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI N HEKSAN DAN ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL 96% KULIT BIJI KABAU (*Archidendron bubalinum*) TERHADAP 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. apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si 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. Prof. Dr. dr. Asep Sukohar, S.Ked., M.Kes., SP. KKLP selaku penguji skripsi yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan kritik, saran dan masukan mengenai skripsi ini;
7. Atri Sri Ulandari, M.Farm, selaku pembimbing Akademik terimakasih atas bimbingan dan arahan serta masukan kepada penulis selama masa perkuliahan berlangsung;
8. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas bimbingan dan ilmu yang telah disampaikan selama proses perkuliahan;
9. Seluruh staf dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu dalam proses penyiapan penyusunan skripsi ini;
10. Seluruh staf Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu selama proses penelitian;
11. Ayah, Muhamad Fatoni dan Bunda, Iranita, 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;
12. Pugok, Nenek, Biki, Meysya, dan adek Zora yang senantiasa memberikan semangat, bantuan, dukungan, dan doa tanpa henti selama ini.
13. Yoanda Tioria Purwanto, Perempuan manis yang selalu menemani, mendukung, dan memotivasi penulis untuk tetap bertahan dalam kondisi apapun. Terima kasih atas semua kasih yang telah diberikan kepada laki-laki yang masih mencoba untuk menjadi lebih baik untuk kedepannya;
14. Seluruh anggota grup KEBRUT yang telah menemani penulis selama masa perkuliahan, memberikan canda, tawa, serta saling tolong menolong dalam segala keadaan baik suka maupun duka, terima kasih telah membuat kesan baik selama masa perkuliahan, semoga kalian semua sukses pada jalannya masing-masing;
15. Seluruh anggota HIMAFARSI, Presidium, dan BPH yang sudah kebersamaan penulis dalam menjalankan kehidupan berorganisasi dan sudah membantu terlaksananya seluruh program kerja;

16. Teman penelitian penulis, Ardi, Leo, Ressa, Ayudya, Nikken dan semua yang terlibat dalam penelitian penulis yang telah memberikan dukungan dan bantuan dalam proses penelitian yang dilakukan penulis;
17. Teman asisten praktikum analisis penulis, Ayesha, Zahra, Carisa, dan Kallista yang telah memberikan bantuan dalam menyelesaikan penelitian dan dukungannya dalam segala proese penelitian penulis;
18. Nasrullah Wahid Pecalang selaku sahabat penulis semenjak les INTEN yang selalu memberikan bantuan dan menenami penulis baik dalam situasi suka maupun duka, terima kasih atas semua bantuan yang telah diberikan kepada penulis;
19. Teman-Teman Muara, Kak Irfan, Dito, Kiwil, Febri, Aziz, dan Aida yang telah menjadi teman berbincang dikala penulis jenuh dengan proses penelitian yang dihadapi. Terima kasih atas waktu dan pengalaman yang telah diberikan;
20. Teman-Teman *Production*, Bang Botrok, Agung, Ketut, dan Toro yang telah memberikan berbagai perspektif baik dari musisi, penyiar, konten kreator medioker, dan pawang hujan. Terima kasih atas semua motivasi dan semangat yang telah diberikan kepada penulis;
21. 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, 9 Januari 2026
Penulis,

Muhamad Farhan Akbar

*Whatever happens, I have to survive. I'll do whatever I
have to do.*

-RZ-

Melamban bukanlah hal yang tabu
Kadang itu yang kau butuh
Bersandar, hibahkan bebanmu

-Perunggu, 33x-

We suffer more in imagination than reality

-Filosofi Teras, H. Manampiring-

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
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	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Bagi Institusi.....	4
1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti	4
1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tanaman Kabau (<i>Archidendron bubalinum</i>)	5
2.1.1 Taksonomi	5
2.1.2 Morfologi.....	5
2.1.3 Kandungan Senyawa.....	6
2.1.4 Aktivitas Biologi.....	7
2.2 Ekstraksi	9
2.2.1 Definisi.....	9
2.2.2 Metode <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i>	10
2.2.3 Pelarut yang Digunakan.....	11
2.3 Fraksinasi	12
2.3.1 Definisi.....	12
2.3.2 Metode Fraksinasi <i>Liquid-Liquid</i>	12
2.4 Senyawa Metabolit Sekunder	13
2.4.1 Definisi.....	13
2.5 Radikal Bebas	17
2.5.1 Definisi.....	17
2.5.2 Stres Oksidatif.....	17

2.6 Antioksidan.....	18
2.6.1 Definisi.....	18
2.6.2 DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)	20
2.7 Kanker.....	23
2.7.1 Definisi.....	23
2.7.2 Kanker Payudara.....	24
2.7.3 Sel Kanker MCF-7.....	26
2.7.4 Metode Pengujian In vitro Aktivitas Sitotoksik Sel Kanker.....	27
2.8 Spektrofotometri UV-Vis	29
2.9 Kerangka Teori	31
2.10 Kerangka Konsep.....	31
BAB III METODE PENELITIAN	32
3.1 Desain Penelitian	32
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	32
3.2.1 Tempat Penelitian	32
3.2.2 Waktu Penelitian.....	33
3.3 Identitas Variabel Penelitian.....	33
3.3.1 Variabel Bebas.....	33
3.3.2 Variabel Terikat	33
3.4 Definisi Operasional	33
3.5 Alat dan Bahan Penelitian	34
3.5.1 Alat Penelitian.....	34
3.5.2 Bahan Penelitian	34
3.6 Prosedur Penelitian	34
3.6.1 Determinasi.....	34
3.6.2 Preparasi Sampel.....	35
3.6.3 Pembuatan Ekstrak	35
3.6.4 Pembuatan Fraksi.....	36
3.6.5 Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Biji Kabau.....	36
3.6.6 Uji Aktivitas Antioksidan	38
3.6.7 Uji Aktivitas Sitotoksik	40
3.7 Alur Penelitian	43
3.8 Pengolahan dan Analisis Data	44
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	45
4.1 Hasil Penelitian.....	45
4.1.1 Determinasi Tanaman Kabau.....	45

4.1.2 Ekstraksi Kulit Biji Kabau.....	45
4.1.3 Fraksinasi Kulit Biji Kabau	46
4.1.4 Hasil Skrining Fitokimia.....	46
4.1.5 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-heksan dan Etil Asetat Kulit Biji Kabau	49
4.1.6 Uji Aktivitas Sitotoksik Fraksi Etil Asetat Kulit Biji Kabau.....	53
4.2 Pembahasan	55
4.2.1 Ekstraksi dan Fraksinasi Kulit Biji Kabau.....	55
4.2.2 Uji Fitokimia Fraksi N-Heksan dan Etil Asetat Kulit Biji Kabau	56
4.2.3 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan dan Etil Asetat Kulit Biji Kabau	60
4.2.4 Uji Aktivitas Sitotoksik Fraksi Etil Asetat Kulit Biji Kabau.....	63
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	70
5.1 Kesimpulan	70
5.2 Saran	70
DAFTAR PUSTAKA.....	72

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Fraksinasi Kulit Biji Kabau	46
Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Kulit Biji Kabau	47
Tabel 3. Nilai IC50 Asam Askorbat.....	50
Tabel 4. Nilai IC50 Fraksi Etil Asetat Kulit Biji Kabau.....	52
Tabel 5. Nilai IC50 Fraksi N-heksan Kulit Biji Kabau	53
Tabel 6. Nilai IC50 Fraksi N-heksan Kulit Biji Kabau	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Kabau (<i>Archidendron bubalinum</i>)	6
Gambar 2. Mekanisme senyawa fenolik dalam menghambat pertumbuhan sel.....	9
Gambar 3. Skema Diagram <i>Ultrasound-Assisted Extraction</i> (UAE)	11
Gambar 4. Skema Pembentukan Metabolit Sekunder	14
Gambar 5. Jenis Metabolit Sekunder.....	16
Gambar 6. Klasifikasi Antioksidan.	19
Gambar 7. Reaksi DPPH Terhadap Senyawa Antioksidan	21
Gambar 8. Siklus Sel Normal dan Siklus Sel Kanker	24
Gambar 9. Angka Kejadian Kanker Payudara Tahun 2021	25
Gambar 10. Reduksi MTT Menjadi Kristal Formazan.....	28
Gambar 11. Skema Instrumen Spektrofotometri UV-Vis	30
Gambar 12. Kerangka Teori.....	31
Gambar 13. Kerangka Konsep	31
Gambar 14. Alur Penelitian	43
Gambar 15. Kurva Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat	50
Gambar 16. Kurva Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Kulit Biji Kabau.....	51
Gambar 17. Kurva Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Kulit Biji Kabau.....	52
Gambar 18. Kurva Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Biji Kabau	54
Gambar 19. Reaksi Hidrolisis Saponin	57
Gambar 20. Reaksi Pembentukan Endapan Kalium-alkaloid Oleh Pereaksi <i>Wagner</i>	58
Gambar 21. Reaksi Flavonoid dengan Mg dan HCl.....	59
Gambar 22. Reaksi Senyawa Tanin dengan Pereaksi FeCl ₃	60

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Etik Penelitian (<i>Ethical Approval</i>)	87
Lampiran 2. Surat Hasil Determinasi Tanaman Kabau	88
Lampiran 3. Proses Ekstraksi dan Fraksinasi.....	90
Lampiran 4. Uji Skrining Fitokimia.....	95
Lampiran 5. Proses pengujian Antioksidan	97
Lampiran 6. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang DPPH.....	98
Lampiran 7. Hasil Pengukuran Kurva Standar Vitamin C.....	99
Lampiran 8. Hasil Perhitungan % Inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Vitamin C	102
Lampiran 9. Hasil Pembacaan Absorbansi Larutan Sampel Fraksi N-Heksan Kulit Biji Kabau.....	103
Lampiran 10. Hasil Perhitungan % Inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan Kulit Biji Kabau.....	106
Lampiran 11. Hasil Pembacaan Absorbansi Larutan Sampel Fraksi Etil Asetat Kulit Biji Kabau	107
Lampiran 12. Hasil Perhitungan % Inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Kulit Biji Kabau.....	110
Lampiran 13. Pengujian Aktivitas Sitotoksik Fraksi Etil Asetat Kulit Biji Kabau pada Sel Kanker.....	111
Lampiran 14. Hasil Perhitungan % Inhibisi dan Nilai IC ₅₀ Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Biji Kabau	112
Lampiran 15. Surat Menyatakan Telah Melakukan Uji Sitotoksik.....	113

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang paling umum ditemukan pada wanita di seluruh dunia. Menurut WHO (*World Health Organization*), pada tahun 2020 terdapat 685.000 kasus kematian serta 2,26 juta kasus baru untuk kanker payudara dari 10 juta kasus kematian akibat kanker (WHO, 2022). Hal ini menjadi salah satu alasan untuk melakukan pengembangan terhadap pengobatan kanker yang efektif dengan berbagai modalitas terapi, seperti pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi untuk pengobatan konvensional dan pengobatan modern meliputi terapi *stem cell*, imunoterapi, terapi hormon, modalitas anti-angiogenik, dan imunoterapi sel dendritik (Abbas & Rehman, 2018). Pengobatan menggunakan agen kemoterapi memberikan beberapa risiko seperti, kerontokan pada rambut, mual, dan muntah. Pasien pengidap penyakit kanker payudara perlu diperhatikan potensi dari terapi yang akan dipilih dan risiko yang dapat terjadi *pasca* terapi diberikan. Beberapa agen kemoterapi dengan mekanisme dan struktur antitumor yang tidak sama dinilai kurang efektif untuk menjadi terapi pada penderita kanker karena adanya resistensi obat dan menyerang sel normal (Damantia & Da'i, 2022; Yanti et al., 2021)

Beberapa senyawa herbal seperti resveratrol, kurkumin, kapsaisin, andrografolid, kuersetin, dan genistein memiliki aktivitas antiinflamasi dan antikanker sehingga berpotensi sebagai terapi kanker (Wanandi & Maghdalena, 2023). Senyawa alami ini tidak hanya dapat menjadi alternatif kemoterapi, tetapi juga mengurangi efek sampingnya, seperti yang ditunjukkan oleh

Paclitaxel dari *Taxus brevifolia*, ekstrak *Phellodendron* (CPC dan CPA), serta obat herbal Jepang Kampo (Cui et al., 2025). Terapi kanker konvensional sering menimbulkan resistensi, diperlukan senyawa alami yang efektif, toksisitas rendah, dan mampu menghambat pertumbuhan sel kanker. Namun, tantangan utama terletak pada pengembangan produk herbal yang aman dan efektif untuk digunakan pada manusia. Uji sitotoksitas merupakan salah satu penyaringan biologis serta uji evaluasi menggunakan jaringan sel secara *in vitro* untuk diamati pertumbuhan pada sel, reproduksi, dan efek morfologis (LI et al., 2015). Dengan pengembangan secara berkelanjutan pada uji sitotoksitas dapat ditemukan metode terbaru, seperti deteksi kerusakan sel melalui perubahan morfologis, pengukuran pertumbuhan sel, dan penentuan kerusakan pada sel (LI et al., 2015).

Antioksidan mampu mengurangi denaturasi sel akibat stress oksidatif serta mampu menangkal radikal bebas dengan sifat yang dimilikinya, oleh karena itu antioksidan memiliki potensi sebagai terapi alternatif dalam pencegahan dan pengobatan yang disebabkan oleh stress oksidatif seperti kanker (Akanji et al., 2020). Tumbuhan mengandung metabolit sekunder yang memiliki potensi sebagai antioksidan, seperti alkaloid, fenol, steroid, flavonoid, dan terpenoid. Senyawa antioksidan dapat diperoleh dengan menggunakan pelarut yang memiliki perbedaan polaritas sehingga mendapatkan hasil yang berbeda pada jumlah dan jenis senyawa yang didapatkan (Huselan et al., 2015). Senyawa fenolik dan flavonoid dapat diekstraksi dengan pelarut yang memiliki kepolaran yang berbeda, seperti etil asetat dan n-heksan (Puspitasari et al., 2019).

Tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) memiliki kandungan berbagai golongan senyawa seperti flavonoid, tanin, fenol, terpenoid, dan alkaloid melalui uji skrining fitokimia (Riasari et al., 2021). Selain itu, tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) juga memiliki efek farmakologis seperti antioksidan, antikanker, dan antidiabetes (Rahman et al., 2022; Wahidah et al., 2018). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, senyawa antioksidan terbukti memiliki kemampuan antikanker. Ekstrak etanol kulit biji

kabau (*Archidendron bubalinum*) yang diekstraksi menggunakan metode *Ultrasound-assisted Extraction (UAE)* memiliki senyawa antioksidan yang sangat kuat (Rahmawati et al., 2020). Dengan demikian, penelitian ini akan melakukan uji aktivitas sitotoksik dan uji antioksidan fraksi n heksan dan etil asetat ekstrak etanol kulit biji tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) terhadap sel kanker payudara MCF-7.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat dirumuskan beberapa masalah dalam penelitian ini antara lain:

1. Bagaimana profil kandungan metabolit sekunder dari fraksi n-heksan dan etil asetat pada kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*)?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan pada kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) dengan metode fraksinasi n-heksan dan etil asetat?
3. 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 adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan aktivitas sitotoksik yang terkandung dalam fraksi n heksan dan etil asetat pada ekstrak kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) terhadap sel kanker payudara MCF-7.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis profil kandungan metabolit sekunder dari fraksi n-heksan dan etil asetat pada kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*)
2. Menganalisis aktivitas antioksidan pada kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) dengan metode fraksinasi n-heksan dan etil asetat
3. Menganalisis aktivitas sitotoksik kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) terhadap sel kanker payudara MCF-7

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Institusi

Diharapkan penelitian ini dapat memberikan kontribusi dalam mendukung peran institusi dalam mengembangkan potensi pemanfaatan kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) yang dimanfaatkan sebagai sumber diperolehnya senyawa antioksidan

1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti

Diharapkan penelitian ini dapat dijadikan dasar dalam pengembangan obat berbasis bahan alam selanjutnya berdasarkan data terkait senyawa antioksidan dan pengembangan terapi kanker berbasis bahan alam dari kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*)

1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat

Diharapkan penelitian ini dapat menambah pengetahuan dan edukasi bagi masyarakat terkait pemanfaatan kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) yang dapat digunakan sebagai sumber diperolehnya antioksidan alami.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kabau (*Archidendron bubalinum*)

2.1.1 Taksonomi

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

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

(GBIF, 2023)

2.1.2 Morfologi

Tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) ialah anggota keluarga *Fabaceae* yang tumbuh secara alami pada hutan hujan tropis, contohnya Indonesia (Sumatera), Thailand, dan Semenanjung Malaysia (Lim, 2012). Perbedaan nama tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) terjadi di beberapa daerah, antara lain jering utan (Riau), jering kabau (Sumatera Barat), Julang Jaling (Lampung), Kerdas (Malaysia), dan Kabau (Jambi dan Palembang) (Komariah & Hartana, 2016). Kabau (*Archidendron bubalinum*) memiliki daun majemuk yang tersusun spiral dengan 1-2 pasang anak daun per sirip, berbentuk lanset hingga lonjong. Bunganya berwarna putih, berkelamin ganda, dengan kelopak berbentuk

cangkir dan mahkota berbentuk tabung, serta banyak benang sari. Buahnya berupa polong yang lurus atau sedikit melengkung dengan ujung membulat, berwarna hijau dan berisi biji yang tersusun rapat. Biji kabau berbentuk elipsoid hingga bulat telur, pipih menyamping, berwarna putih krem saat muda dan berubah menjadi coklat hingga coklat kemerahan serta mengkilap ketika matang (Lim, 2012)



Gambar 1. Tanaman Kabau (*Archidendron bubalinum*) (Aisyah, 2022)

2.1.3 Kandungan Senyawa

Tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) memiliki kandungan senyawa fenolik, tanin, terpenoid, alkaloid, asam amino, serta pati yang tersebar pada beberapa bagian dari buah kabau (Riasari et al., 2021). Melalui hasil skrining fitokimia didapatkan kandungan senyawa dari berbagai golongan, seperti alkaloid, terpenoid, fenol, flavonoid, tanin, mono/seskuiterpen, dan kuinon. Pada ekstrak n-heksana terdapat banyak senyawa alifatik seperti alkana dan alkena, serta beberapa gugus lainnya, seperti keton, ester, karboksilat, amino, aromatik, dan fenolik. Sementara pada ekstrak etil asetat didapatkan bahwa tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) memiliki kandungan ester asam lemak seperti asam heksadekanoat dan asam 9-oktadekonat dalam bentuk metil esternya, serta asam karboksilat seperti asam heksadekanoat dan asam (Z) -11-oktadekanoat.

Penelusuran lebih lanjut dilakukan pada ekstrak metanol cangkang biji kabau (*Archidendron bubalinum*) mengonfirmasi adanya senyawa flavonoid, tanin, total fenol, dan terpenoid, namun untuk senyawa

alkaloid dan saponin tidak terdeteksi keberadaannya. Menurut data diatas didapatkan bahwa tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) mengandung beragam senyawa bioaktif yang potensial memiliki aktivitas farmakologis (Hanafi et al., 2018; Irawan et al., 2018; Riasari et al., 2019).

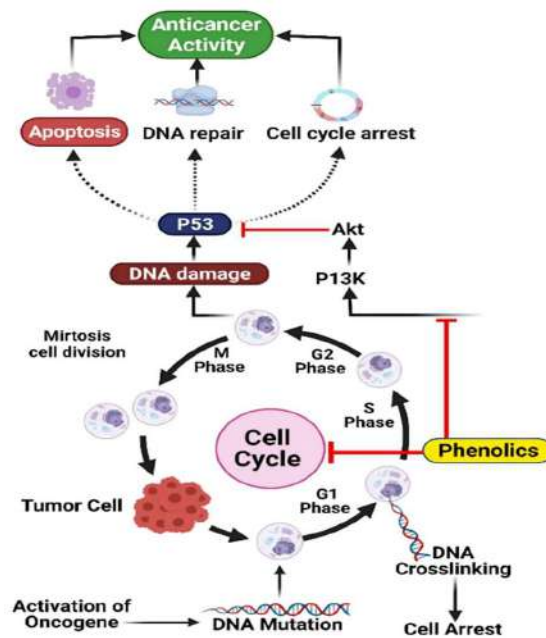
2.1.4 Aktivitas Biologi

Kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) terbukti memiliki sifat farmakologis, salah satunya ialah kandungan antioksidan yang sangat tinggi (Rahmawati et al., 2020; Riasari et al., 2019). Ekstrak etil asetat, heksan, etanol, dan air dari biji kabau (*Archidendron bubalinum*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram negatif maupun gram positif serta memiliki aktivitas antifungi pada jamur berfilamen dan ragi (Teh et al., 2022). Daun kabau (*Archidendron bubalinum*) yang diekstrak dengan metode maserasi dan fraksinasi memiliki aktivitas imunomodulator yang ditandai dengan peningkatan indeks fagositosis pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) (Sofia et al., 2024). Pada ekstrak etanol akar kabau (*Archidendron bubalinum*) memiliki potensi aktivitas anti diabetes karena dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan yang diinduksi dengan diet tinggi lemak dan fruktosa (Annisa Amrian et al., 2021). Sehingga dapat disimpulkan bahwa tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) terbukti memiliki sifat farmakologis yang dapat dikembangkan lebih lanjut.

Sifat farmakologis seperti flavonoid dapat bertindak sebagai antioksidan dengan menyumbangkan sebagian atom hidrogen ke radikal bebas, sehingga dihasilkan kestabilan dan sifat tidak mudah teroksidasi (Hassanpour & Doroudi, 2023). Berbeda dengan alkaloid, cara kerja alkaloid dalam mengatasi stres oksidatif tidak selalu diketahui secara pasti dan kemungkinan melibatkan berbagai mekanisme yang lebih kompleks. Hal tersebut dikarenakan komplektisitas pada sistem ROS (*Reactive oxygen species*)/antioksidan. Terdapat banyak senyawa alkaloid yang telah

terbukti memengaruhi NADPH-oksidase, seperti pembentukan sistem enzimatis multiunit fungsional (Macáková et al., 2019). Pada senyawa fenolik memiliki mekanisme kerja antioksidan dengan meningkatkan atau menurunkan regulasi elemen transkripsi yang terlibat dalam jalur antioksidan, seperti faktor nuklir-faktor eritroid 2-faktor terkait 2 (Nrf-2) (Rahman et al., 2022).

Selain berperan sebagai antioksidan, senyawa fenolik juga menunjukkan aktivitas antikanker melalui mekanisme multitarget, yang berarti senyawa ini bekerja dengan mempengaruhi berbagai proses penting di dalam sel kanker. Senyawa ini juga dapat menyebabkan kerusakan pada DNA sel kanker secara langsung dengan memberhentikan siklus sel dan menghambat terjadinya aktivitas protein Akt dan P13K, sehingga pembelahan pada sel kanker tidak dapat terjadi. Senyawa fenolik berperan dalam memperbaiki kerusakan DNA pada sel kanker, yang pada akhirnya menghambat pertumbuhan sel tersebut. Apabila kerusakan DNA ini tidak diperbaiki, sel kanker berpotensi untuk terus tumbuh dan berkembang (Rahman et al., 2022).



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

2.2 Ekstraksi

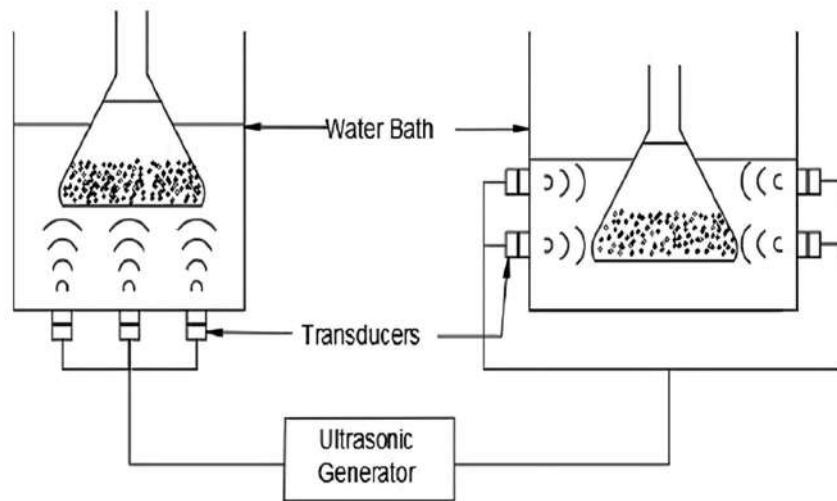
2.2.1 Definisi

Ekstraksi merupakan langkah awal dalam melakukan penelitian untuk memisahkan senyawa potensial yang dapat berasal dari hewan maupun tumbuhan dengan menggunakan teknis ekstraksi yang selektif maka dapat digunakan untuk pengujian aktivitas farmakologis metabolit sekunder serta mengisolasi senyawa yang terdapat didalamnya (Patel et al., 2019). Beberapa tahap yang terjadi pada proses ekstraksi ialah sebagai berikut : Proses ekstraksi bahan alam melibatkan beberapa langkah berurutan, yaitu: (1) pelarut meresap ke dalam bahan padat, (2) senyawa yang diinginkan melarut dalam pelarut, (3) senyawa terlarut bergerak keluar dari bahan padat, dan (4) hasil ekstraksi dikumpulkan. Efisiensi dari proses ini dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jenis pelarut yang digunakan, ukuran partikel bahan baku, perbandingan antara bahan dan pelarut, suhu, serta lama waktu ekstraksi (Q. W. Zhang et al., 2018).

Terdapat beberapa metode ekstraksi yang dapat dikategorikan menjadi konvensional dan modern diantaranya perkolasi, maserasi, rebusan, refluks dan soxhlet untuk yang konvensional, sedangkan ultrasonik, ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro, dan *Hot Extraction* dapat dikategorikan sebagai metode ekstraksi modern. Ekstraksi juga memiliki beberapa teknik ekstraksi seperti ekstraksi cair/cair pelarut (*liquid-liquid extraction*), ekstraksi padatan-cairan (*solid-liquid extraction*), ekstraksi fase padat (*solid phase extraction*) dan *Supercritical Fluid Extraction* (Patel et al., 2019a; M. Zhang et al., 2023). Selain metode diatas, terdapat juga teknik ekstraksi hijau (*green extraction technique*) yang lebih ramah lingkungan. Teknik ini mampu menghasilkan lebih banyak senyawa target dan menghasilkan lebih sedikit limbah. Dengan demikian, teknik ekstraksi hijau dapat mengurangi dampak buruk terhadap lingkungan yang disebabkan oleh penggunaan pelarut yang berpotensi berbahaya bagi kesehatan dan lingkungan (Putra et al., 2023).

2.2.2 Metode *Ultrasound-Assisted Extraction*

Ultrasound-assisted extraction (UAE) atau biasa disebut sonikasi adalah metode ekstraksi dengan memanfaatkan kekuatan gelombang ultrasonik yang akan mempercepat laju disolusi dan difusi sehingga meningkatkan efektivitas dan efisiensi ekstraksi (Q. W. Zhang et al., 2018). Secara mekanis, ultrasonik mampu meningkatkan kontak permukaan matriks sampel dan pelarut sehingga akan menurunkan karakteristik fisik dan kimia pada tanaman, mempercepat terjadinya pelepasan fitokimia, dan memperkuat pergerakan massa sistem tanaman untuk masuk ke dalam sel sampel (Bitwell et al., 2023). Metode ultrasonik menggunakan kekuatan frekuensi 20 KHz sampai 2000 KHz yang dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel, metode ini banyak digunakan untuk mengekstraksi senyawa antioksidan dan antosianin (**Gambar 3**) (Patel et al., 2019a)



Gambar 3. Skema diagram *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) (Sanjaya et al., 2022)

Metode ekstraksi berbantuan ultrasonik (UAE) adalah alternatif yang lebih ramah lingkungan dan ekonomis dibandingkan teknik ekstraksi konvensional. Menurut penelitian (Bitwell et al., 2023; M. Zhang et al., 2023), UAE mampu mempercepat proses ekstraksi, mengurangi kebutuhan energi, dan meningkatkan hasil fitokimia dari berbagai sumber tanaman. Lebih lanjut, metode ini juga lebih efisien dan memerlukan lebih sedikit pelarut dibandingkan metode konvensional.

2.2.3 Pelarut yang Digunakan

Pelarut memiliki peran penting dalam proses ekstraksi dengan mempertimbangkan selektivitas, kelarutan, biaya, sifat polaritas, dan keamanan dari pelarut tersebut (Hakim & Saputri, 2020). Faktor pemisahan, yaitu perbandingan konsentrasi zat terlarut dan pelarut umpan, digunakan untuk menilai kemampuan pelarut dalam memisahkan komponen-komponen. Pelarut yang memiliki selektivitas tinggi akan memudahkan pemisahan. Koefisien distribusi yang tinggi lebih menguntungkan karena mengurangi jumlah pelarut dan tahapan ekstraksi yang diperlukan. Selain itu, pelarut yang ideal adalah yang murah, tidak beracun, dan tidak mudah terbakar (Patel et al., 2019a).

Berdasarkan pada hukum *like dissolve like* suatu pelarut memiliki kinerja yang baik apabila tingkat atau nilai polaritasnya mendekati polaritas zat tertentu, begitupun sebaliknya (Q. W. Zhang et al., 2018). Etanol dan metanol merupakan pelarut universal yang digunakan pada berbagai proses ekstraksi. Hal ini dikarenakan etanol mudah didapatkan, efisien, cenderung aman, biaya murah, dan memiliki efektivitas yang tinggi (Hakim & Saputri, 2020)

2.3 Fraksinasi

2.3.1 Definisi

Fraksinasi adalah proses pemisahan komponen-komponen dalam ekstrak tanaman untuk mendapatkan senyawa tunggal dan lebih murni (Abubakar & Haque, 2020; Agung, Nugroho, 2017). Ekstrak tanaman mengandung banyak senyawa, sehingga fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa-senyawa tersebut dari pengotor (Agung, Nugroho, 2017). Pemisahan senyawa dalam fraksinasi didasarkan pada perbedaan kepolaran (Sudarwati, 2019).

Terdapat berbagai macam tujuan dari proses fraksinasi ini, salah satunya untuk mendapatkan fraksi (bagian) tertentu dari suatu ekstrak. Ekstrak yang sudah melalui proses fraksinasi ini menjadi suatu ekstrak yang lebih murni karena sudah dihilangkan senyawa lain yang mengganggu. Dengan fraksinasi maka pemisahan senyawa pada ekstrak lebih mudah untuk dilakukan isolasi senyawa (Agung, Nugroho, 2017)

2.3.2 Metode Fraksinasi *Liquid-Liquid*

Metode fraksinasi *liquid-liquid* adalah salah satu metode pemisahan suatu senyawa dari kumpulan senyawa dalam sebuah ekstrak. Metode ini dilakukan dengan cara menambahkan jenis pelarut lain yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda sehingga tidak dapat bercampur dengan

pelarut lain yang dilakukan menggunakan labu pisah (Agung, Nugroho, 2017).

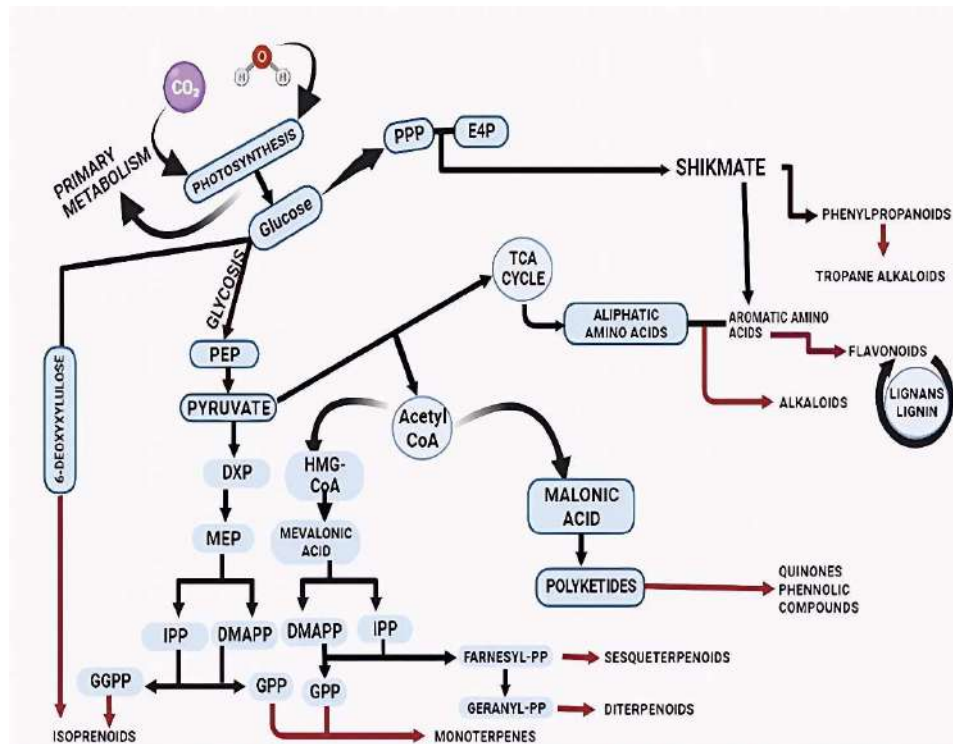
Prinsip dari fraksinasi yaitu adanya dua pelarut sebagai pelarut awal dan pelarut tambahan yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda sehingga pada saat dimasukkan akan terbentuk dua lapisan yang terpisah pada bagian atas dan bawah. Pelarut yang memiliki massa jenis yang lebih ringan akan berada pada bagian atas dan pelarut yang memiliki massa jenis yang lebih berat maka akan terletak pada bagian bawah labu pisah. Pada bagian ini senyawa yang bersifat polar akan ditarik oleh pelarut yang sifatnya polar begitu pula sebaliknya (Agung, Nugroho, 2017)

2.4 Senyawa Metabolit Sekunder

2.4.1 Definisi

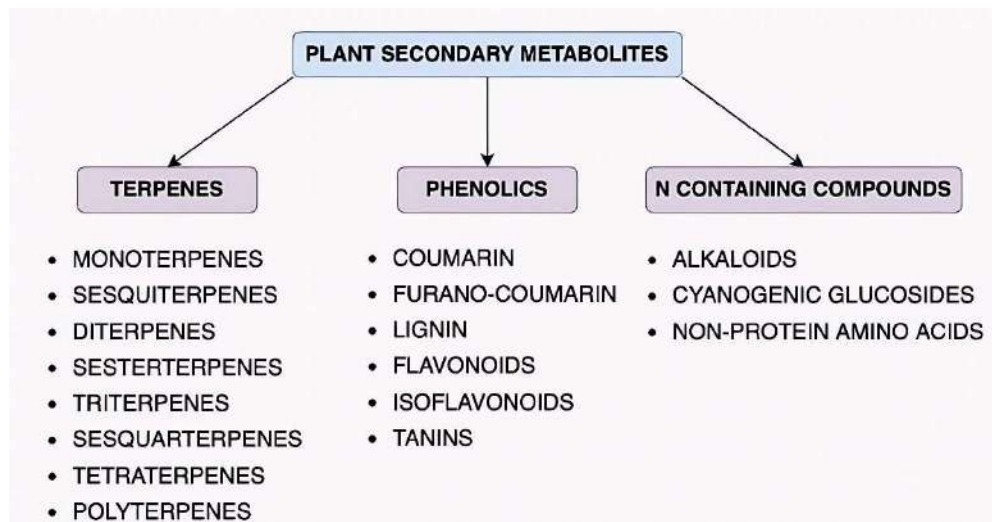
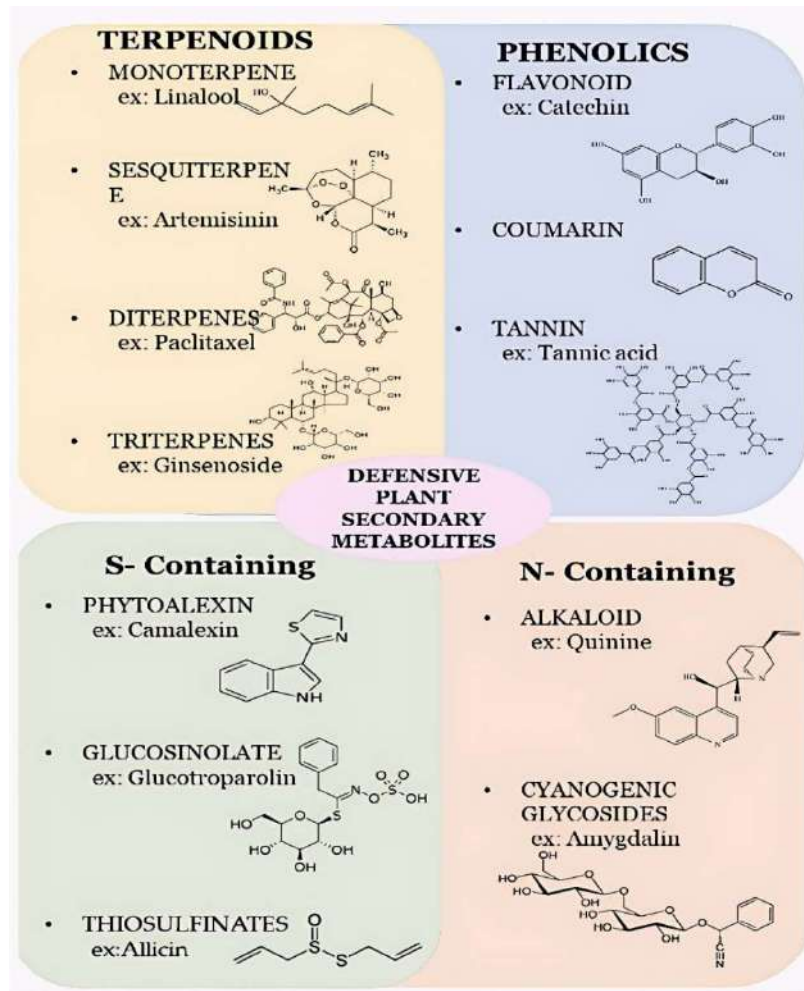
Suatu tumbuhan dapat memiliki keberagaman senyawa organik yang secara biosintesis diperoleh dari metabolit primer dan sebagian besar tidak berperan secara langsung dalam perkembangan dan hanya terakumulasi secara kecil. Metabolit sekunder disintesis oleh tipe sel khusus yang pada tahap perkembangannya berbeda dengan metabolit primer suatu tumbuhan (Jain et al., 2019). Metabolit sekunder mendapat peran penting dalam membantu tanaman untuk bertahan dalam kondisi stres yang proses produksinya sangat bergantung pada tahap perkembangan dan fisiologis tanaman.

Proses produksi metabolit sekunder pada tumbuhan melibatkan tiga jalur utama yaitu jalur asam shikimat, jalur asam mevalonat dan jalur MEP. Jalur asam mevalonat (MVA) yang berlangsung di sitoplasma menggunakan asetil-CoA sebagai bahan awal dan menghasilkan IPP serta DMAPP. Kedua prekursor ini kemudian dikondensasi menjadi farnesil-PP atau geranyl-PP, yang selanjutnya membentuk seskuiterpenoid (C₁₅), triterpenoid (C₃₀), dan sterol. Di sisi lain, jalur MEP berlangsung di plastida dengan piruvat dan GAP sebagai prekursor. Jalur ini juga



Metabolit sekunder dapat diklasifikasikan menjadi berbagai golongan diantaranya terpen (senyawa volatil, sterol, dan karotenoid), polisakarida, senyawa fenolik, fitoaleksin (mengandung sulfur), alkaloid (mengandung

nitrogen), flavonoid, dan hidrokarbon. Berbagai golongan diatas dapat diklasifikasikan berdasarkan gugus fungsi dan struktur kimia yang khas dari tiap golongan metabolit sekunder (Teoh, 2016). Aktivitas biologis pada metabolit sekunder seperti antioksidan didasarkan pada struktur kimianya, unsur penyusun utama, dan dosis efektifnya. Metabolit sekunder juga memiliki potensi dalam aktivitas farmakologis yang dapat berperan sebagai antibiotik, antivirus, antiinflamasi, dan antikanker (Elshafie et al., 2023)



Gambar 5. Jenis metabolit sekunder (Al-Khayri et al., 2023; Nawrot-Chorabik et al., 2022)

2.5 Radikal Bebas

2.5.1 Definisi

Radikal bebas merupakan salah satu produk hasil dari metabolisme sel normal ketika sel membutuhkan oksigen, maka akan terjadi proses redoks menghasilkan radikal bebas biasanya ROS (*reactive oxygen species*) dan RNS (*reactive nitrogen species*). Radikal bebas adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, sehingga bersifat tidak stabil dan sangat mudah bereaksi. Untuk mencapai kestabilan, radikal bebas cenderung bereaksi dengan atom, molekul lain, atau elektron bebas dengan cara menerima atau melepaskan elektron. Dalam proses tersebut, radikal bebas dapat berperan sebagai oksidator maupun reduktor. ROS (*reactive oxygen species*) dapat bersumber dari endogen serta olahraga dan cedera iskemia/reperfusi, ion logam bebas, asap rokok, pelarut industri, dan eksogen seperti polusi lingkungan dan sinar UV. Pembentukan ROS dan RNS yang berlebihan dapat menyebabkan ketidakseimbangan dalam sistem biologis yang dapat menciptakan kerusakan pada struktur seluler (Kotha et al., 2022; Martemucci et al., 2022).

2.5.2 Stres Oksidatif

Stres oksidatif merupakan gangguan kestabilan pada prooksidan dengan antioksidan yang menyebabkan kenaikan radikal bebas, hal ini diakibatkan terjadinya penurunan tingkat konsentrasi dari antioksidan. ROS (*Reactive Oxygen Species*) menyebabkan terjadinya perubahan atau modifikasi pada DNA sehingga beberapa proses aktivasi protein dan produksi sitokin menurun. Radikal bebas mengandung senyawa seperti, radikal oksida nitrat, radikal superoksida, radikal hidroksil, radikal peroksil, dan radikal alkoksil. Dapat dikatakan radikal karena mengikat setidaknya 1 elektron yang tidak berpasangan pada kulit di sekitar inti atom dan mampu berdiri sendiri. Karena terdapat 1 elektron yang tidak berpasangan menyebabkan reaktivitas yang tinggi (Ayudiah et al., 2023).

Stres oksidatif muncul akibat lingkungan seluler yang memiliki kandungan oksigen tinggi, di mana radikal bebas oksigen dan spesies oksigen reaktif (ROS) terbentuk sebagai hasil sampingan dari proses metabolisme aerobik dan aktivitas enzim tertentu. Enzim-enzim yang berperan dalam pembentukan ROS dalam sel meliputi NADPH oksidase, xantin oksidase, nitric oxide synthase (NOS) yang tidak terkopel, serta rantai transport elektron di mitokondria (Ayudiah et al., 2023).

2.6 Antioksidan

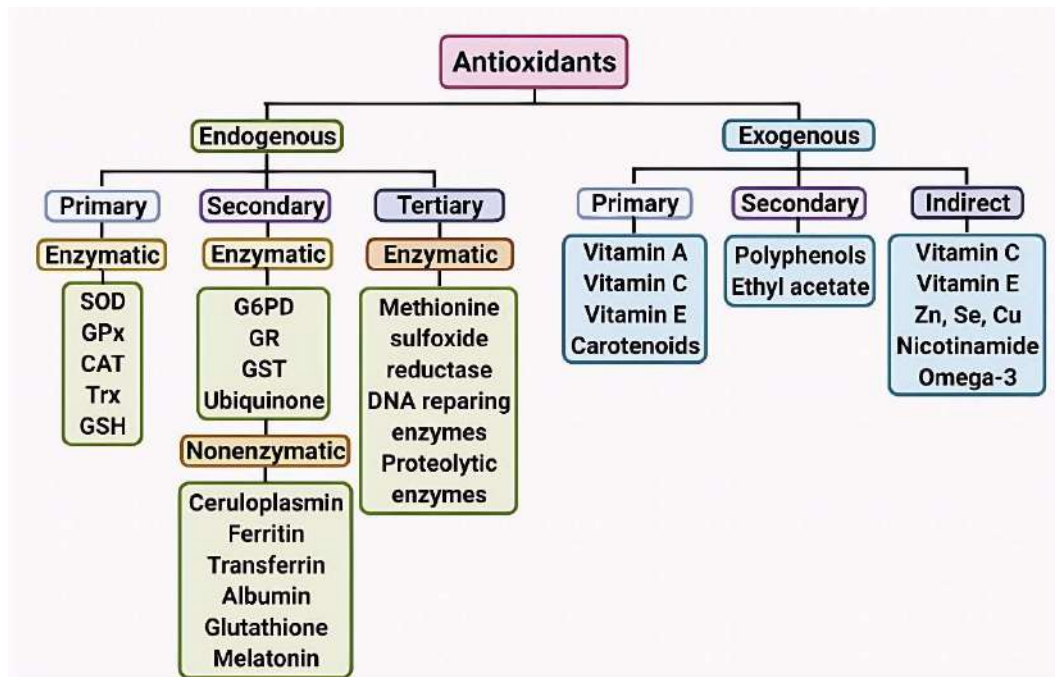
2.6.1 Definisi

Antioksidan adalah senyawa yang, meskipun hadir dalam konsentrasi rendah pada suatu substrat yang rentan mengalami oksidasi, mampu secara efektif menghambat atau memperlambat proses oksidasi pada substrat tersebut (Birangane et al., 2011). Dapat dikatakan juga antioksidan sebagai senyawa yang stabil untuk mendonorkan elektron kepada molekul lain yang bersifat tidak stabil, sehingga antioksidan dapat menunda kerusakan pada sel melalui sifat penangkal radikal bebas (Ibroham et al., 2022). Antioksidan berfungsi melalui tiga mekanisme utama, yaitu transfer atom hidrogen, transfer elektron tunggal, dan pengkelatan logam (Putri et al., 2024).

Aktivitas antioksidan dapat dibedakan ke dalam tiga jalur, yaitu preventif, interupsi, dan inaktivasi. Jalur preventif terjadi saat antioksidan menghambat terbentuknya radikal bebas serta produk turunannya. Jalur interupsi berlangsung ketika antioksidan menghentikan reaksi oksidatif yang disebabkan oleh radikal. Sementara itu, jalur inaktivasi mengacu pada peran antioksidan dalam menetralkan radikal bebas dan senyawa turunannya (Mirończuk-Chodakowska et al., 2018; Putri et al., 2024).

Antioksidan dapat dibedakan menjadi dua jenis, yaitu antioksidan alami dan sintetis. Antioksidan alami merupakan senyawa yang secara alami terdapat dalam buah-buahan, sayuran, dan berbagai bagian tanaman. Contoh dari antioksidan jenis ini meliputi vitamin C, vitamin A, flavonoid, dan

karotenoid (Yadav et al., 2016). Sementara itu, antioksidan sintetis adalah senyawa hasil sintesis kimia yang umumnya ditambahkan ke dalam produk makanan sebagai bahan pengawet, seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA) dan *butylated hydroxytoluene* (BHT) (Katrin et al., 2015). Selain berdasarkan asalnya, antioksidan juga diklasifikasikan menjadi antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen adalah antioksidan yang diproduksi secara alami oleh tubuh, baik dalam bentuk enzim seperti *superoxide dismutase* (SOD), katalase, dan glutathione reduktase, maupun dalam bentuk non-enzimatik hasil metabolisme seperti koenzim Q, albumin, dan asam urat. Disisi lain, antioksidan eksogen merupakan senyawa yang diperoleh dari luar tubuh, misalnya vitamin E, vitamin C, polifenol, dan karotenoid (Martemucci et al., 2022; Mironczuk-Chodakowska et al., 2018; Putri et al., 2024).



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

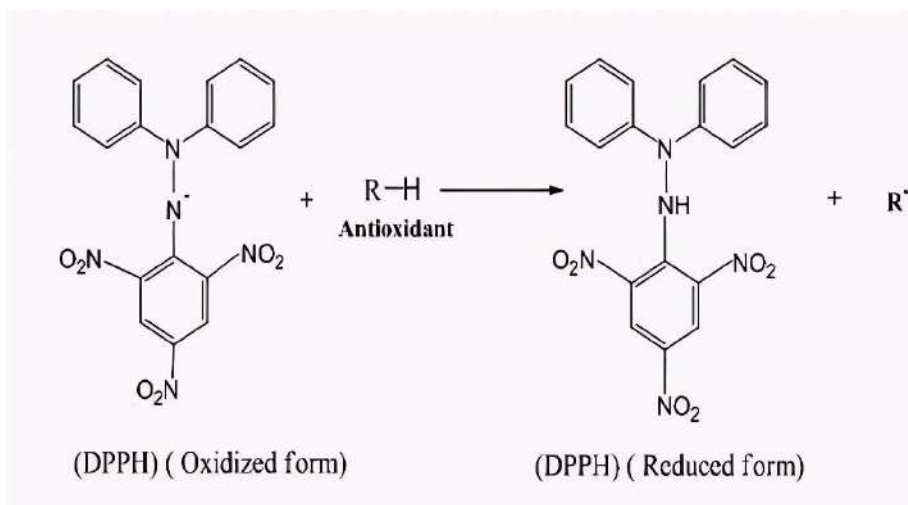
2.6.2 DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Uji penangkapan radikal DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) adalah salah satu metode yang paling sering digunakan untuk menilai aktivitas antioksidan. DPPH sendiri merupakan radikal bebas berbasis nitrogen yang stabil, memiliki umur panjang, dan berwarna ungu tua. Metode ini dikenal karena kesederhanaannya, kecepatan, serta biaya yang relatif rendah, sehingga banyak dimanfaatkan dalam pengujian kemampuan antioksidan. Proses penangkapan radikal DPPH sangat bergantung pada beberapa faktor, seperti waktu reaksi, konsentrasi, dan kondisi eksperimental lainnya (Gulcin, 2025). Elektron tunggal yang terdapat pada atom nitrogen dalam molekul DPPH akan mengalami reduksi menjadi bentuk hidrazin (DPPH-H) setelah menerima atom hidrogen dari senyawa antioksidan. DPPH dikenal karena kestabilannya serta warna ungunya yang kuat, sehingga banyak dimanfaatkan dalam berbagai penelitian ilmiah. Karakteristik ini menjadikan larutan DPPH sangat populer, khususnya dalam bidang kimia polimer, spektroskopi resonansi paramagnetik elektron (EPR), serta dalam pengujian kapasitas antioksidan dari berbagai senyawa kimia (Gulcin, 2025).

Ketika larutan DPPH bereaksi dengan senyawa yang mampu menyumbangkan atom hidrogen, seperti antioksidan, warna ungu khasnya secara bertahap memudar, menghasilkan bentuk tereduksi yang dikenal sebagai DPPH-H. Warna ungu pekat pada DPPH $\cdot$ berasal dari pita serapan spektralnya yang lebar, yang akan berubah menjadi warna kuning pucat setelah mengalami reduksi. Perubahan warna ini terjadi karena adanya transfer atom hidrogen dari antioksidan, dan reaksi tersebut dikenal sebagai “uji DPPH”. Intensitas warna yang dihasilkan dapat diukur secara kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis, sehingga metode ini menjadi standar untuk menilai kapasitas antioksidan dari molekul murni, terutama senyawa fenolik dan ekstrak tumbuhan. DPPH sendiri tetap stabil sebagai radikal bebas berkat delokalisasi elektron tidak berpasangan di seluruh strukturnya, yang mencegah terjadinya dimerisasi berbeda dengan

banyak radikal lainnya. Elektron terdelokalisasi inilah yang menyebabkan warna ungu tua pada DPPH dan penyerapan maksimum di etanol pada panjang gelombang 517 nm. Ketika elektron tidak berpasangan tersebut direduksi, penyerapan menurun, dan perubahan warna yang dihasilkan bergantung pada rasio transfer elektron.(Gulcin, 2025; Gulcin & Alwasel, 2023)

Larutan DPPH dalam konsentrasi 0,5 mM di alkohol mengikuti hukum *Lambert–Beer*. Meskipun DPPH memiliki kelarutan rendah dalam pelarut nonpolar, ia larut dengan baik dalam berbagai pelarut organik polar, namun hampir tidak larut dalam air pada suhu kamar. Reaksi DPPH $\cdot$ terjadi secara selektif dengan radikal maupun donor atom hidrogen, dengan lokasi interaksi yang berbeda: radikal cenderung menyerang cincin fenil, sementara donor hidrogen berinteraksi dengan atom nitrogen divalen. Karena adanya hambatan sterik di sekitar atom nitrogen, radikal besar sulit mendekati area ini. Namun, donor atom hidrogen masih dapat mendekat dan mentransfer hidrogen ke atom nitrogen, menghasilkan senyawa tereduksi berupa DPPH-H (hidrazin) (Gulcin, 2025; Munteanu & Apetrei, 2021).



Gambar 7. Reaksi DPPH terhadap senyawa antioksidan (Tristantini et al., 2016)

Untuk menganalisis hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, diperlukan perhitungan konsentrasi efektif dalam bentuk persentase. Konsentrasi antioksidan yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas DPPH dikenal sebagai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50%*) (Gulcin & Alwasel, 2023). Nilai IC_{50} ini menjadi indikator utama dalam menilai potensi aktivitas antioksidan, yang dihitung menggunakan persamaan regresi berdasarkan data persentase penghambatan dari masing-masing konsentrasi (Gulcin & Alwasel, 2023) Nilai tersebut diperoleh dengan terlebih dahulu menentukan persentase inhibisi pada tiap konsentrasi menggunakan rumus tertentu.

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

Langkah berikutnya setelah memperoleh nilai persentase inhibisi adalah menghitung nilai IC_{50} dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier: $y = A + Bx$. Dalam persamaan ini, x merepresentasikan nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$), sedangkan y adalah persentase inhibisi, yaitu sebesar 50. Melalui pendekatan ini, nilai konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal DPPH dari sampel dapat dihitung secara kuantitatif (Katrin & B Bendra et al., 2015)

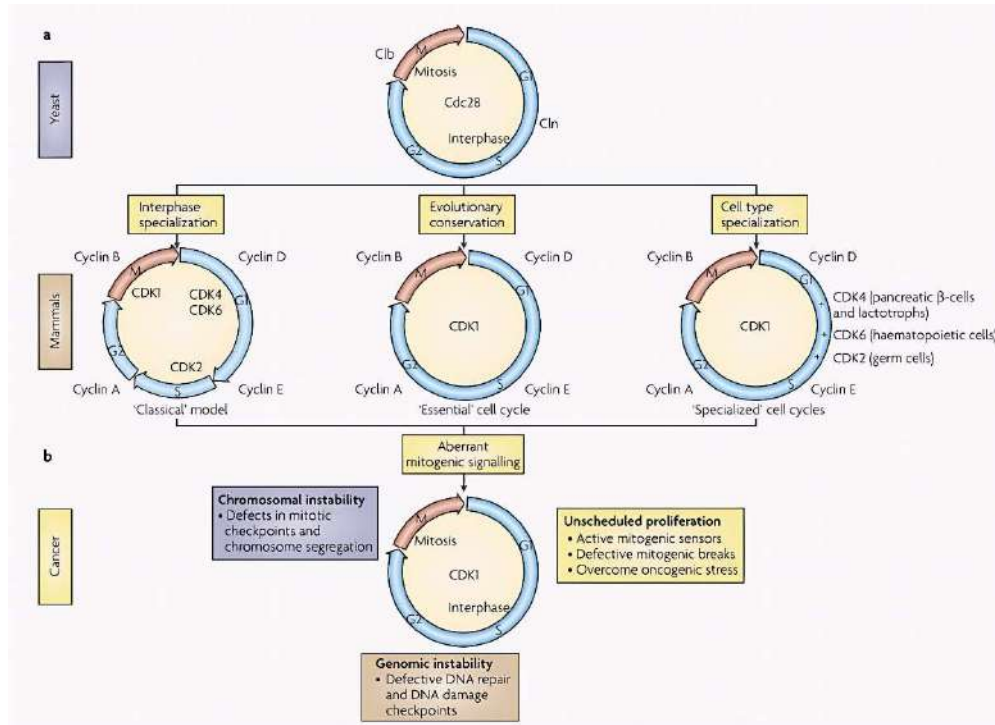
2.7 Kanker

2.7.1 Definisi

Kanker adalah penyakit akibat pertumbuhan tidak normal dari sel-sel jaringan tubuh yang berubah menjadi sel kanker. Dalam perkembangannya, sel-sel kanker ini dapat menyebar ke bagian tubuh lainnya sehingga dapat menyebabkan kematian (Arisandi & Sukohar, 2016; S. Asep et al, 2024). Secara sederhana, kanker adalah sekelompok lebih dari 100 penyakit yang berkembang seiring waktu dan melibatkan sel-sel tubuh yang tidak terkendali. Kanker adalah penyakit yang dapat berkembang di jaringan tubuh mana pun. Karena itu, setiap jenis kanker memiliki karakteristik uniknya sendiri. Kanker dimulai ketika sel melepaskan diri dari hambatan normal pembelahan sel dan mulai mengikuti proliferasinya sendiri (Rajput, 2023). Beberapa faktor risiko seperti merokok, mengonsumsi alkohol, nutrisi yang tidak diperhatikan, dan berat badan yang berlebihan dapat mendorong perkembangan pada kanker (*American Cancer Society, 2023*).

30 triliun sel dalam tubuh normal dan sehat hidup dalam kompleks yang mengatur proliferasi satu sama lain. Sel-sel normal bereproduksi hanya ketika mereka diperintahkan oleh sel lain, kolaborasi tanpa henti ini memastikan bahwa setiap jaringan mempertahankan ukuran dan arsitektur yang sesuai dengan kebutuhan tubuh. Sel kanker melanggar skema ini, mereka menjadi tuli terhadap kontrol proliferasi yang biasa dan mengikuti agenda reproduksi mereka sendiri. Tumor yang terdiri dari sel-sel ganas tersebut menjadi semakin agresif seiring waktu, dan menjadi mematikan ketika mengganggu jaringan dan organ yang dibutuhkan untuk kelangsungan hidup organisme secara keseluruhan (Cairns, 1978; Rajput, 2023; Weinberg, 1996). Faktor utama yang mendorong terjadinya mutasi hingga berkembang menjadi sel kanker adalah adanya kerusakan pada DNA. Kerusakan ini dapat menyebabkan perubahan genetik, terutama ketika sel mengalami pembelahan. Proses pembelahan tersebut, yang sebagian besar bisa dipicu oleh pengaruh hormon, berpotensi memperkuat

mutasi pada lesi DNA, sehingga meningkatkan risiko terbentuknya sel kanker (Ames & Gold, 1997).

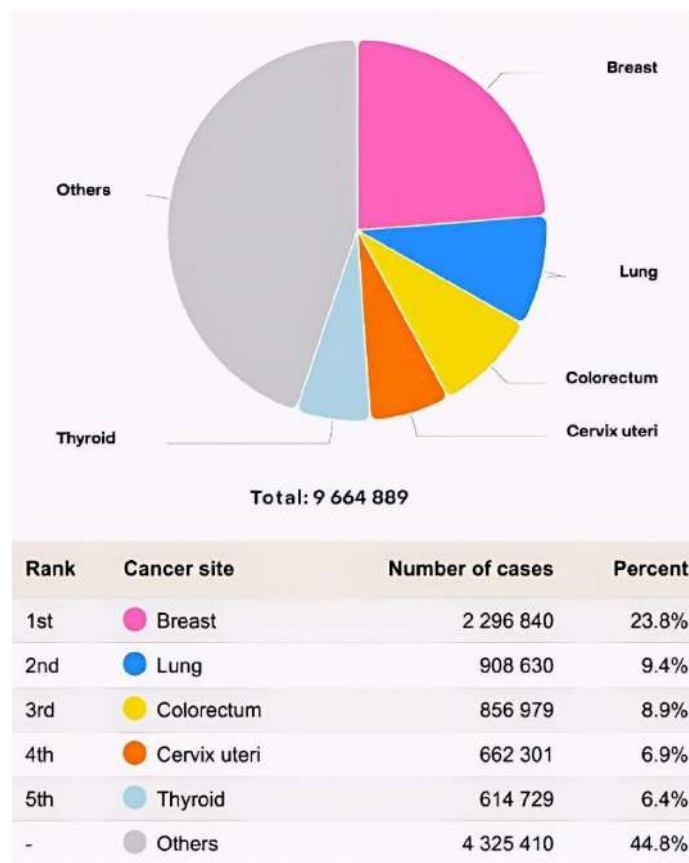


Gambar 8. Siklus sel normal dan siklus sel kanker (M. Malumbres & M. Barbacid, 2009)

2.7.2 Kanker Payudara

Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang paling ditakuti oleh perempuan. Secara umum, kanker payudara adalah tumor ganas yang berasal dari kelenjar payudara, saluran kelenjar, maupun jaringan di sekitar dinding dada. Kondisi ini terjadi ketika sel-sel pada jaringan payudara mengalami perubahan dan berkembang secara tidak terkendali, sehingga membentuk benjolan atau massa. Sebagian besar kasus kanker payudara berawal dari lobulus (kelenjar penghasil susu) atau saluran (ductus) yang menghubungkan lobulus dengan puting (Oktober et al., 2024). Perkembangan dan kemunculannya dipengaruhi oleh berbagai faktor, baik dari dalam tubuh maupun dari luar. Gaya hidup yang tidak sehat, kondisi lingkungan, serta aspek sosial dan psikologis memiliki kaitan erat dengan

timbulnya penyakit ini. Penelitian menunjukkan bahwa sekitar 5% hingga 10% kasus kanker payudara disebabkan oleh mutasi genetik dan riwayat keluarga, sedangkan sekitar 20% hingga 30% lainnya berkaitan dengan faktor-faktor yang dapat diubah atau dikendalikan (Obeagu & Obeagu, 2024). Faktor risiko kanker payudara dapat dibagi menjadi tiga kategori utama, yaitu faktor reproduksi dan hormonal, faktor gaya hidup, serta faktor genetik. Risiko meningkat pada perempuan yang mengalami menarche pada usia muda, menopause di usia lanjut, atau memiliki riwayat menyusui tertentu. Gaya hidup seperti kelebihan berat badan (obesitas) dan konsumsi alkohol juga diketahui berperan besar dalam meningkatkan risiko. Selain itu, keberadaan mutasi genetik tertentu, seperti pada gen BRCA1 dan BRCA2, secara signifikan dapat memperbesar kemungkinan seseorang terkena kanker payudara (Hong & Xu, 2022).



Gambar 9. Angka kejadian kanker payudara tahun 2021 (Ferlay et al., 2021)

Berdasarkan data epidemiologi global pada gambar di atas, kanker payudara tercatat sebagai jenis kanker dengan prevalensi tertinggi di dunia. Dari total 9.664.889 kasus kanker, kanker payudara menyumbang 2.296.840 kasus atau sebesar 23,8%. Angka ini menunjukkan bahwa hampir seperempat dari seluruh kasus kanker yang terdiagnosis adalah kanker payudara, sehingga menjadikannya sebagai beban kesehatan terbesar dibandingkan dengan kanker lainnya. Dibandingkan dengan kanker paru (9,4%), kolorektal (8,9%), serviks uteri (6,9%), dan tiroid (6,4%), insidensi kanker payudara menunjukkan dominasi yang signifikan. Tingginya angka kejadian ini menegaskan urgensi upaya pencegahan melalui edukasi kesehatan, deteksi dini dengan skrining mamografi, serta pengembangan terapi yang lebih efektif dan aman. Dengan demikian, kanker payudara tidak hanya merupakan masalah medis, tetapi juga tantangan besar dalam kesehatan masyarakat global yang memerlukan perhatian khusus melalui strategi komprehensif dan kolaboratif.

2.7.3 Sel Kanker MCF-7

MCF-7 merupakan salah satu lini sel kanker payudara yang paling sering digunakan dan telah dikembangkan oleh berbagai peneliti selama bertahun-tahun. Lini sel ini diakui sebagai model yang tepat untuk studi terkait kanker payudara, termasuk dalam pengujian obat-obatan antikanker. Dibandingkan dengan lini sel kanker payudara lainnya, MCF-7 telah memberikan kontribusi data yang lebih banyak dan relevan untuk pengembangan terapi pasien. Lini sel ini memiliki karakteristik positif terhadap reseptor estrogen (ER) dan reseptor progesteron (PR), serta diklasifikasikan ke dalam subtipe molekuler luminal A. Selain itu, MCF-7 dikenal sebagai sel yang kurang agresif dan tidak invasif, sehingga umumnya dianggap memiliki potensi metastasis yang rendah (*Comsa et al., 2015*)

Sel MCF-7 telah banyak digunakan sebagai model dalam penelitian respons terhadap estrogen, baik dalam sistem *in vitro* maupun *in vivo*. Meskipun begitu, mekanisme pasti bagaimana estrogen merangsang pertumbuhan sel

MCF-7 masih terus diteliti secara intensif. Penelitian awal menyoroti peran estrogen dalam mengatur pensinyalan dan aktivitas faktor pertumbuhan, yang merupakan bagian penting dalam pengendalian siklus sel. Namun, temuan lebih baru mengungkapkan bahwa estrogen tidak hanya mengaktifkan tetapi juga menekan ekspresi banyak gen secara bersamaan, mencerminkan adanya jaringan regulasi kompleks yang bekerja secara terkoordinasi untuk memengaruhi pertumbuhan sel (Lee et al., 2015).

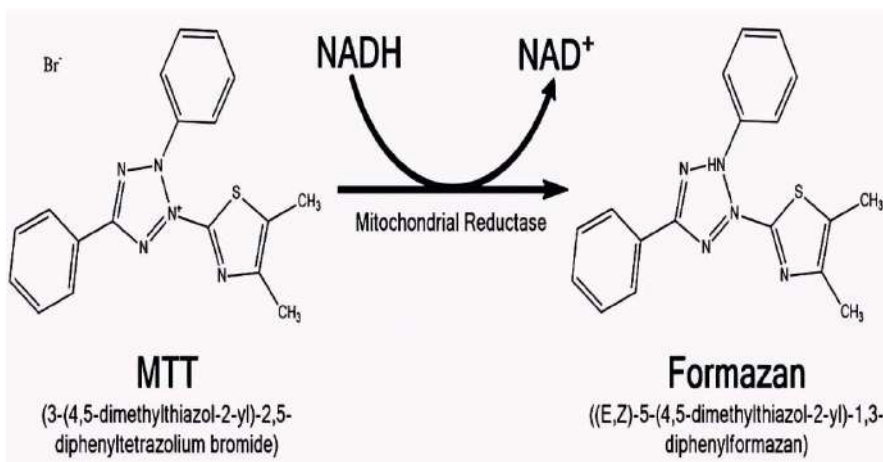
2.7.4 Metode Pengujian *In vitro* Aktivitas Sitotoksik Sel Kanker

Proses pengembangan agen terapeutik baru, mulai dari tahap konseptual hingga pemasaran, merupakan rangkaian yang kompleks, memakan waktu, dan memerlukan biaya yang sangat besar. Oleh karena itu, pengujian praklinis memainkan peranan krusial dalam menyaring kandidat obat yang tidak layak, sebelum dilanjutkan ke tahap uji klinis yang memerlukan investasi lebih tinggi. Dalam hal ini, penggunaan kultur sel telah menjadi metode umum dalam skrining awal senyawa terapeutik karena memungkinkan pemilihan jenis sel yang merepresentasikan penyakit atau kelainan biokimia tertentu (Van Tonder et al., 2015). 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).

Menurut ISO 10993-5 mengenai evaluasi biologis alat kesehatan, terdapat tiga jenis pengujian utama, yaitu uji ekstrak dengan metode dilusi, uji kontak langsung, serta uji kontak tidak langsung. Metode ekstrak umumnya digunakan untuk menilai sitotoksisitas bahan secara *in vitro*, sedangkan uji kontak langsung lebih sensitif sehingga mampu mendeteksi adanya senyawa atau bahan kimia dengan tingkat sitotoksik yang rendah. Sementara itu, uji kontak tidak langsung biasanya dilakukan melalui difusi agar dan lebih sesuai untuk perangkat medis dengan tingkat toksisitas tinggi maupun untuk keperluan skrining dalam jumlah besar. Pemilihan metode

yang paling tepat sangat dipengaruhi oleh sifat sampel, lokasi penggunaannya, serta tujuan penggunaan alat tersebut (Aminuddin et al., 2021).

Berbagai metode uji sitotoksitas *in vitro* seperti Neutral Red Uptake (NRU), MTT assay, *Resazurin reduction assay* (RES), dan Sulforhodamine B assay (SRB) memiliki prinsip yang berbeda namun sama-sama digunakan untuk menilai viabilitas serta aktivitas metabolisme sel setelah paparan suatu senyawa atau bahan. NRU assay bekerja dengan mengukur kemampuan sel hidup dalam menyerap dan menyimpan pewarna netral red di lisosom, sedangkan MTT assay mendeteksi aktivitas enzim mitokondria melalui pembentukan kristal formazan sebagai indikator metabolisme sel. RES assay menilai kemampuan sel viabel mereduksi resazurin menjadi resorufin berwarna yang menunjukkan tingkat aktivitas metabolik, sementara SRB assay mengukur kepadatan sel berdasarkan ikatan pewarna sulforhodamine B pada protein seluler. Dengan menggunakan metode-metode tersebut, peneliti dapat memperoleh gambaran yang lebih menyeluruh mengenai viabilitas, pertumbuhan, dan tingkat sitotoksitas bahan uji. Pemilihan metode yang paling sesuai sangat bergantung pada sifat senyawa yang diuji, jenis sel yang digunakan, serta tujuan dari penelitian yang dilakukan (Aminuddin et al., 2021; Grela et al., 2018)



Gambar 10. Reduksi MTT menjadi kristal formazan (S. Kamiloglu et al, 2020)

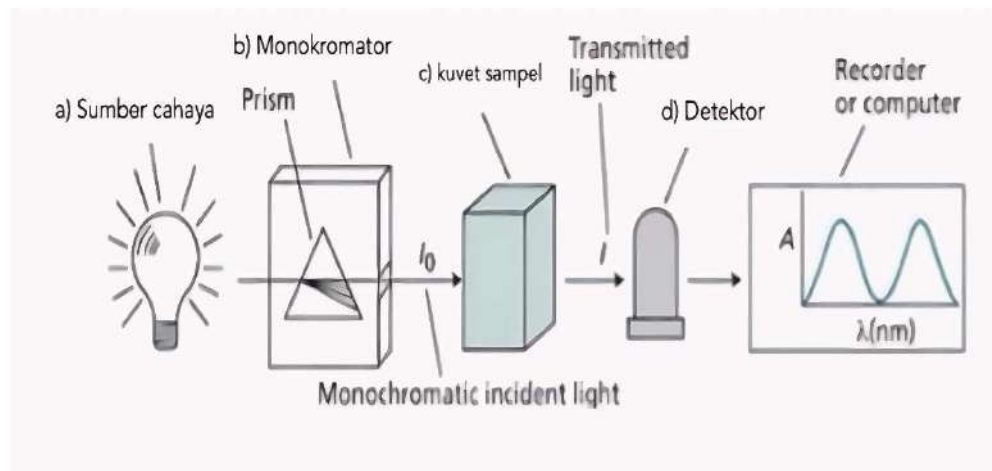
Metode paling umum yang digunakan untuk melihat laju perkembangan sel serta toksisitas kultur adalah menggunakan metode MTT (*metil tiazolil tetrazolium*) merupakan metode kolorimetrik yang digunakan untuk menilai proliferasi sel dan sitotoksitas secara cepat melalui evaluasi aktivitas metabolisme sel (Aminuddin et al., 2021). Prinsip utama uji ini adalah reduksi garam tetrazolium (MTT) oleh enzim dehidrogenase mitokondria pada sel hidup menjadi kristal formazan berwarna ungu. Jumlah kristal formazan yang terbentuk berbanding lurus dengan jumlah dan aktivitas sel, yang kemudian dapat diukur secara spektrofotometri berdasarkan nilai absorbansi (Aminuddin et al., 2021; Grela et al., 2018; Kumar et al., 2018; Van Tonder et al., 2015).

Sitotoksitas dapat ditentukan dengan menggunakan beberapa rumus. Pada sel, sitotoksitas merujuk pada konsentrasi suatu bahan uji atau senyawa yang diperlukan untuk membunuh 50% dari populasi sel. Nilai ini dinyatakan sebagai konsentrasi penghambatan (IC_{50}), yang dihitung berdasarkan rata-rata persentase penurunan viabilitas sel dibandingkan dengan kontrol yang tidak diberi perlakuan (He et al., 2016). Menurut klasifikasi yang ditetapkan oleh *National Cancer Institute* (NCI) Amerika Serikat, tingkat aktivitas sitotoksik suatu senyawa dibedakan berdasarkan nilai IC_{50} . Senyawa dikategorikan memiliki aktivitas sitotoksik tinggi apabila $IC_{50} < 20 \mu\text{g/mL}$, aktivitas sedang jika IC_{50} berada pada rentang 21–200 $\mu\text{g/mL}$, aktivitas lemah bila IC_{50} berkisar antara 201–500 $\mu\text{g/mL}$, dan dianggap tidak bersifat sitotoksik apabila IC_{50} melebihi 500 $\mu\text{g/mL}$ (Artun et al., 2016; Ghanadian, 2015)

2.8 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri adalah teknik analisis yang mengukur absorbansi radiasi elektromagnetik untuk menentukan konsentrasi senyawa dalam larutan. Pada metode UV-Vis, cahaya ultraviolet (200–400 nm) dan cahaya tampak (400–800 nm) yang diserap sampel menghasilkan spektrum yang dapat

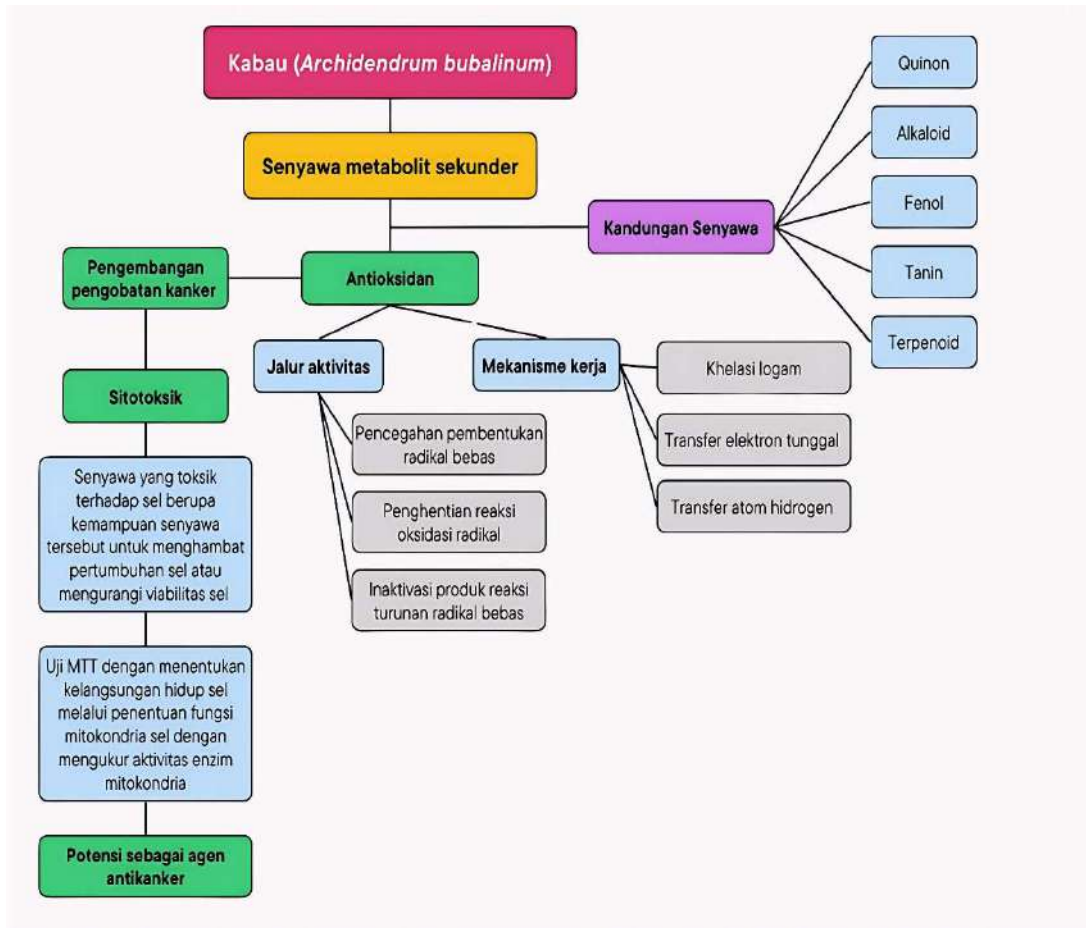
digunakan untuk menganalisis senyawa kimia, struktur molekul, serta komposisi material. Proses ini terjadi karena penyerapan cahaya - menyebabkan elektron dalam molekul berpindah dari tingkat energi dasar ke tingkat energi lebih tinggi (Morales et al., 2020; Patel et al., 2022; Pratiwi & Nandiyanto, 2022).



Gambar 11. Skema instrumen Spektrofotometri UV-Vis (Patel et al., 2022)

Spektrofotometer UV-Vis terdiri atas beberapa komponen utama, yaitu sumber cahaya (lampu deuterium, tungsten, atau xenon), kuvet sebagai wadah sampel, monokromator untuk memisahkan panjang gelombang, serta detektor. Cahaya polikromatis dari sumber akan dipisahkan oleh monokromator menjadi satu panjang gelombang tertentu, kemudian diarahkan ke sampel dalam kuvet. Selanjutnya, cahaya yang diteruskan diubah menjadi sinyal listrik oleh detektor untuk mengukur jumlah radiasi yang diserap sampel. Pengukuran absorbansi sampel mengikuti hukum *Lambert-Beer*, yang menyatakan bahwa konsentrasi suatu zat berbanding lurus dengan intensitas cahaya yang diserap ketika terkena radiasi monokromatik. Prinsip ini digunakan untuk menghitung konsentrasi senyawa melalui persamaan tertentu (Jee, 2022; Morales et al., 2020; Patel et al., 2022)

2.9 Kerangka Teori



Gambar 12. Kerangka teori (Kamilah, 2022)

2.10 Kerangka Konsep



Gambar 13. Kerangka konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam kategori eksperimen laboratorium yang telah dilakukan uji pendahuluan sebelumnya. Bahan yang digunakan berupa kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) yang telah melalui proses determinasi, kemudian diekstraksi menggunakan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) dengan pelarut etanol 96%. Hasil ekstraksi selanjutnya difraksi menggunakan n-heksan dan etil asetat lalu diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak pekat. Fraksi n-heksan dan etil asetat kulit biji kabau tersebut kemudian dianalisis secara kualitatif untuk mengetahui keberadaan metabolit sekunder, meliputi alkaloid, saponin, flavonoid, fenolik, tanin, fitosterol, dan terpenoid. Setelah itu, dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) serta uji sitotoksitas menggunakan metode MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide). Kedua metode tersebut disertai dengan perhitungan nilai **IC₅₀**, sehingga dapat diperoleh data kuantitatif mengenai potensi aktivitas antioksidan dan sitotoksik dari ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini melibatkan beberapa laboratorium, yaitu Laboratorium Botani, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung untuk kegiatan determinasi tanaman; Laboratorium Kimia Farmasi Analisis, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung untuk proses ekstraksi, analisis fitokimia, serta pengujian aktivitas antioksidan;

dan Laboratorium Biochemics Surabaya yang digunakan untuk uji sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli – September 2025.

3.3 Identitas Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan pada fraksi n-heksan dan etil asetat ekstrak etanol dengan *Ultrasound-Assisted* kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas sitotoksik pada fraksi n-heksan dan etil asetat ekstrak etanol hasil *Ultrasound-Assisted Extraction* kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*).

3.4 Definisi Operasional

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis hubungan antara aktivitas antioksidan dan aktivitas sitotoksik dari fraksi n-heksan dan etil asetat ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) yang diperoleh melalui metode *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE). Aktivitas antioksidan, yang berperan sebagai variabel bebas, ditentukan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), dimana penurunan nilai absorbansi larutan DPPH setelah penambahan sampel menunjukkan tingginya aktivitas antioksidan (Kumar et al., 2018; Munteanu & Apetrei, 2021). Hasil pengukuran tersebut kemudian dikorelasikan dengan aktivitas sitotoksik ekstrak etanol kulit biji kabau sebagai variabel terikat, untuk melihat perubahan yang terjadi sebagai respons terhadap variabel bebas. Aktivitas sitotoksik, yang menggambarkan kemampuan ekstrak dalam menghambat proliferasi maupun menginduksi kematian sel kanker, diukur menggunakan metode MTT (*3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide*). Pada metode ini, penurunan viabilitas sel terlihat dari berkurangnya intensitas absorbansi

larutan formazan yang hanya dihasilkan oleh sel hidup (Aminuddin et al., 2021; 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, corong pisah, neraca analitik, kertas perkamen, kertas aluminium, pipet ukur, *bulb filler*, pipet tetes, mikrotip, mikropipet, *ultrasound bath* (Baku, BK-2000), *rotary evaporator* (Buchi, 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), Cisplatin, 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, n-heksan, etil asetat, 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

Sebelum tanaman dikumpulkan sebagai sampel dan melalui proses pengeringan, terlebih dahulu dilakukan determinasi. Proses determinasi bertujuan untuk mengidentifikasi jenis atau nama tumbuhan secara tepat, sehingga dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan sesuai dengan yang dibutuhkan dalam penelitian. Dengan demikian, kesalahan dalam

pemilihan maupun pengumpulan bahan penelitian dapat dihindari (Kamariyah Sani et al., 2023). Tanaman kabau (*Archidendron bubalinum*) didapatkan dari Kabupaten Lampung Utara yang selanjutnya dideterminasi di Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.6.2 Preparasi Sampel

Tahap persiapan sampel tanaman untuk analisis diawali dengan pembersihan bagian tanaman yang digunakan guna menghilangkan kotoran atau pengotor yang tidak diperlukan. Bagian tanaman tersebut kemudian dikeringkan untuk menghentikan aktivitas metabolisme serta menjaga kestabilan enzim. Proses pengeringan dilakukan secara alami dengan cara diangin-anginkan pada ruang terbuka atau semi terbuka yang memiliki sirkulasi udara baik, namun terlindung dari paparan langsung sinar matahari. Setelah kering, sampel digiling hingga menjadi serbuk guna memperoleh homogenitas, kemudian dapat dilanjutkan dengan proses pengayakan (Abubakar & Haque, 2020; Krakowska-Sieprawska et al., 2022)

3.6.3 Pembuatan Ekstrak

Pada proses dalam melakukan ekstraksi kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) dilakukan dengan metode *Ultrasound-Assisted Extraction* Menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan antara serbuk simplisia dan pelarut sebesar 1:10 dengan waktu 30 menit pada frekuensi 40 kHz dan suhu 40 °C menggunakan *Ultrasound bath*. Setelah proses menggunakan *Ultrasound-Assisted Extraction* selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring. Filtrat yang telah terkumpul lalu dilakukan pemekatan menggunakan *Rotary Evaporator* hingga diperoleh ekstrak yang cukup kental (Febrianto et al., 2019).

3.6.4 Pembuatan Fraksi

Fraksinasi pada penelitian ini dilakukan dengan metode fraksinasi cair-cair berdasarkan prosedur yang dikemukakan oleh (Nafi'ah et al., 2024) Sebanyak 20 gram ekstrak dilarutkan terlebih dahulu dalam 200 mL etanol lalu dimasukkan ke dalam corong pisah berkapasitas 500 mL. Setelah itu, ditambahkan 200 mL n-heksana, dikocok hingga tercampur merata, lalu dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan, yaitu fraksi n-heksana dan fraksi etanol. Fraksi n-heksana dipisahkan, sedangkan fraksi etanol selanjutnya diekstraksi kembali dengan penambahan 200 mL etil asetat. Campuran tersebut dikocok hingga homogen, kemudian didiamkan hingga kembali terbagi menjadi dua lapisan, yakni fraksi etil asetat dan fraksi etanol. Semua fraksi yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental. Tahap berikutnya adalah menghitung rendemen fraksi dengan menggunakan rumus yang diadaptasi dari (Fauzi et al., 2017) :

$$\text{Rendemen fraksi} : \frac{\text{Berat fraksi}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\%$$

3.6.5 Uji Fitokimia Ekstrak Kulit Biji Kabau

Uji fitokimia pada penelitian ini dilakukan untuk menilai potensi terapeutik suatu tanaman sekaligus mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas biologis pada kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) (Shaikh & Patil, 2020).

1. Uji Alkaloid

- a. Uji Wagner : Uji wagner dilakukan dengan menambahkan 1-2 tetes pereaksi wagner pada sisi tabung reaksi. Sampel akan membentuk endapan berwarna coklat kemerahan jika sampel positif memiliki kandungan alkaloid (Shaikh & Patil, 2020; Singh & Kumar, 2017)
- b. Uji Iodin : Pengujian ini dilakukan dengan cara menambahkan beberapa tetes larutan iodin ke dalam 3 mL ekstrak yang telah

diencerkan. Adanya kandungan alkaloid ditunjukkan melalui perubahan warna menjadi biru ketika larutan dipanaskan, dan warna tersebut akan muncul kembali setelah larutan didinginkan (Shaikh & Patil, 2020)

2. Uji Saponin

Sebanyak 1,0 mL ekstrak ditambahkan dengan 2,0 mL akuades, kemudian dikocok hingga tercampur merata. Campuran tersebut didiamkan selama 15 menit, dan terbentuknya lapisan busa setebal ± 1 cm menjadi indikator adanya kandungan saponin (Shaikh & Patil, 2020).

3. Uji Flavonoid

- a. Uji *Shinoda* : Ekstrak tanaman dilarutkan dalam 5 mL etanol, kemudian ditambahkan serbuk magnesium dan beberapa tetes HCl pekat. Adanya kandungan positif ditandai dengan munculnya warna merah muda hingga merah tua (*crimson red*) (Shaikh & Patil, 2020)
- b. Uji H_2SO_4 pekat : Beberapa tetes H_2SO_4 pekat ditambahkan ke dalam ekstrak tanaman, dan terbentuknya warna oranye mengindikasikan hasil positif (Shaikh & Patil, 2020)

4. Uji Fenolik

Tambahkan beberapa tetes larutan FeCl 5% pada ekstrak dalam tabung reaksi dan warna biru tua kehijauan gelap menunjukkan adanya senyawa fenolik (Shaikh & Patil, 2020).

5. Uji Tanin

Ekstrak sebanyak 0,4 mL ditambahkan dengan 4 mL 10% NaOH lalu dikocok selama beberapa saat, apabila terbentuk emulsi maka hasil yang didapatkan positif mengandung tanin (Shaikh & Patil, 2020).

6. Uji fitosterol

Pengujian dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam asam asetat anhidrat, kemudian ditambahkan beberapa tetes H_2SO_4 pekat. Adanya hasil positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna secara bertahap (Shaikh & Patil, 2020)

3.6.6 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan menggunakan ekstrak fraksi n-heksan dan etil asetat kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) dengan cara mengukur absorbansi larutan DPPH melalui spektrofotometer UV-Vis. Data kuantitatif mengenai aktivitas antioksidan diperoleh dari hasil pengukuran tersebut, dengan larutan asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif dan larutan DPPH tanpa penambahan sampel sebagai kontrol negatif (Huselan et al., 2015; Katrin & Bendra, 2015).

1. Pembuatan larutan DPPH 50 ppm

Sebanyak 5 mg serbuk DPPH ditimbang dengan teliti, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan menggunakan metanol p.a hingga mencapai tanda batas. Larutan yang diperoleh disimpan dalam botol gelap untuk mencegah paparan cahaya (Riasari et al., 2019).

2. Pembuatan larutan blanko dan penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Larutan blanko disiapkan dengan memipet 1 mL larutan DPPH, kemudian ditambahkan metanol p.a hingga mencapai volume 4 mL dan dihomogenkan. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dibungkus dengan aluminium foil, lalu diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya, panjang gelombang maksimum larutan blanko DPPH ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada 517 nm (Puspitasari et al., 2019; Riasari et al., 2019).

3. Pembuatan larutan kontrol positif dari asam askorbat (Vitamin C) 100 ppm

Asam askorbat digunakan sebagai standar atau kontrol positif sekaligus pembanding dalam uji aktivitas antioksidan. Pada penelitian ini, larutan induk asam askorbat 100 ppm disiapkan dengan menimbang 5 mg serbuk asam askorbat secara teliti, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, ditambahkan metanol p.a hingga tanda batas, dan dikocok hingga homogen. Dari larutan induk tersebut dibuat beberapa seri konsentrasi melalui pengenceran, yaitu 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm. Masing-masing konsentrasi diambil 1 mL, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL larutan DPPH serta 3 mL metanol p.a, kemudian dihomogenkan. Tabung reaksi diberi label, dibungkus dengan kertas aluminium, dan diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit (Handayani et al., 2014)

4. Pembuatan larutan sampel uji

Larutan sampel disiapkan melalui pengenceran larutan induk 500 ppm. Larutan induk dibuat dengan menimbang masing-masing 25 mg ekstrak fraksi n-heksan dan etil asetat dari kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*), kemudian dilarutkan dalam metanol p.a, dihomogenkan, dan volumenya ditambahkan hingga mencapai 50 mL. Selanjutnya dilakukan pengenceran menggunakan metanol sehingga diperoleh konsentrasi sampel 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm. Untuk pengujian aktivitas antioksidan, sebanyak 0,2 mL larutan sampel diambil menggunakan mikropipet, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 3,8 mL larutan DPPH 50 μ M. Campuran tersebut dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap (Marcelinda & Ridhay, 2016)

5. Pengukuran absorbansi menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Absorbansi larutan uji yang telah diinkubasi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH.

6. Perhitungan nilai IC₅₀ larutan sampel uji

IC₅₀ digunakan sebagai indikator untuk menentukan tingkat aktivitas antioksidan, yang dihitung berdasarkan persamaan regresi. Nilai IC₅₀ diperoleh melalui perhitungan persentase inhibisi pada setiap konsentrasi sampel menggunakan rumus (Katrin & Bendra, 2015; Marcelinda & Ridhay, 2016) :

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

3.6.7 Uji Aktivitas Sitotoksik

Pengujian aktivitas sitotoksik fraksi etil asetat kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) dilakukan menggunakan metode MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide). Penurunan viabilitas sel ditunjukkan melalui berkurangnya absorbansi larutan formazan yang dihasilkan oleh sel hidup (Mazumder et al., 2020)

1. Preparasi ekstrak

Sampel uji berupa ekstrak etanol kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) disiapkan dalam variasi konsentrasi 1000, 500, 125, 31,25, 15,63, dan 7,81 µg/mL yang dilarutkan menggunakan media *Roswell Park Memorial Institute Medium* (RPMI). Masing-masing konsentrasi diuji dalam tiga kali pengulangan (Zubaidah et al., 2024)

2. Preparasi kontrol positif Cisplatin

Kontrol positif berupa Cisplatin disiapkan melalui pengenceran hingga diperoleh seri konsentrasi 1000, 500, 125, 31,25, 15,63, dan 7,81 µg/mL dalam media *Roswell Park Memorial Institute Medium* (RPMI). Setiap konsentrasi diuji dalam tiga kali replikasi (Zubaidah et al., 2024)

3. Preparasi sel kanker MCF-7

Preparasi sel kanker MCF-7 dilakukan dengan memastikan sel berada pada konfluensi minimal 70% agar berada pada fase pertumbuhan logaritmik dan siap digunakan untuk pengujian. Sel dilepaskan dari permukaan kultur melalui proses tripsinasi menggunakan larutan Trypsin-EDTA, yang bekerja memutus ikatan adhesi sel sehingga sel dapat terdispersi kembali dalam media. Selanjutnya, suspensi sel dicampurkan dengan media RPMI yang mengandung FBS 10% sebagai sumber faktor pertumbuhan dan antibiotik untuk mencegah kontaminasi. Viabilitas sel kemudian diperiksa menggunakan trypan blue guna memastikan hanya sel hidup yang digunakan. Setelah itu, sel dihitung dan disebarkan ke dalam 96-well plate dengan kepadatan $\pm 1,7 \times 10^4$ sel per sumur, kemudian diinkubasi dalam inkubator CO₂ untuk menstabilkan pH media dan memastikan sel beradaptasi sebelum diberikan perlakuan uji sitotoksik (Zubaidah et al., 2024)

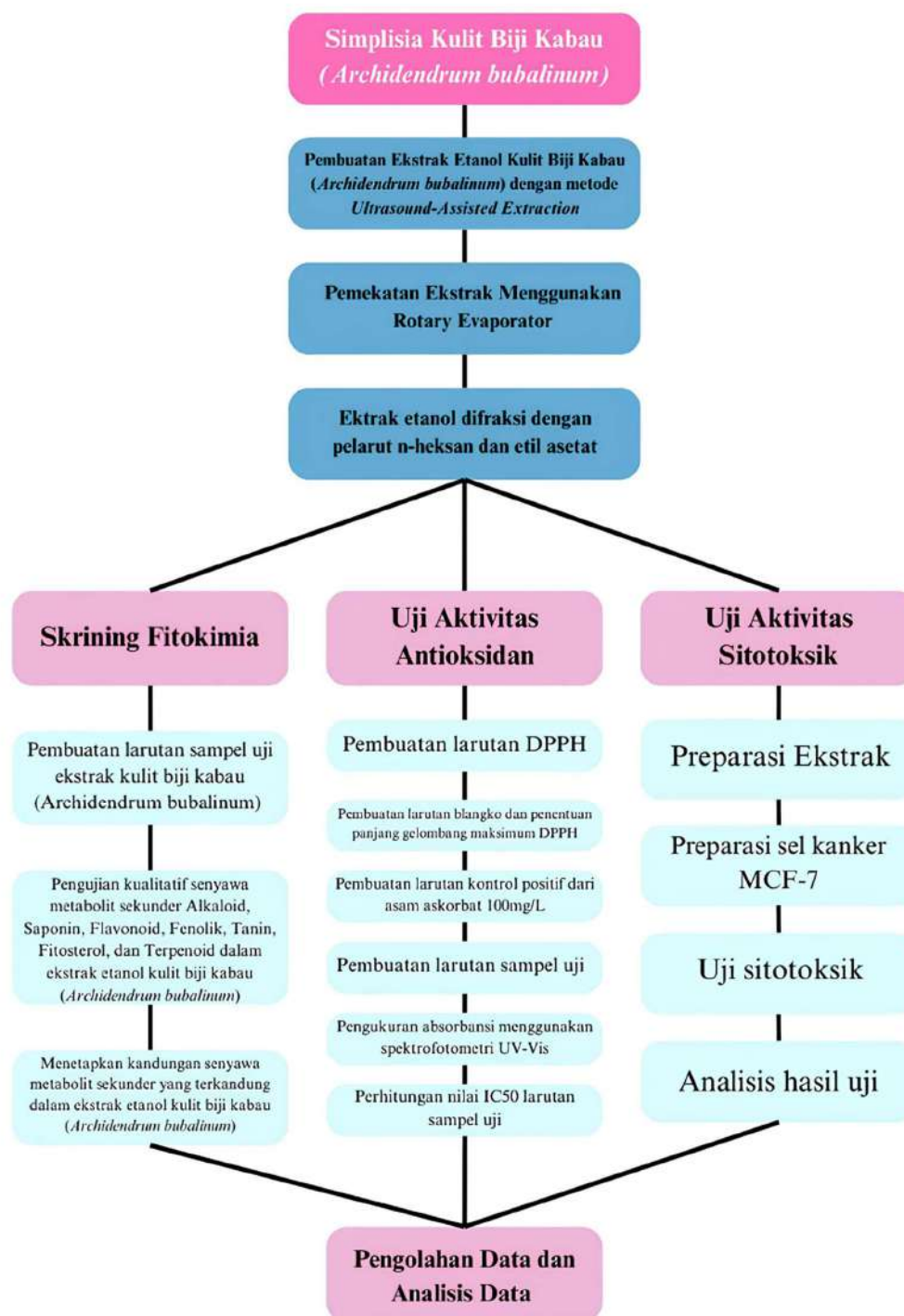
4. Uji Sitotoksik

Sel hasil kultur dimasukkan ke dalam mikrolat 96 sumur, dengan setiap sumur berisi 10^4 sel, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu, ekstrak sampel ditambahkan pada sel target MCF-7 sesuai rancangan plat, dan uji sitotoksik dilakukan dalam empat kali ulangan. Usai inkubasi 24 jam, setiap sumur dicuci dengan PBS (*Phosphate Buffer Saline*) untuk menghilangkan sel mati, lalu ditambahkan 10 μ L reagen MTT yang telah dicampurkan dengan media kultur. Mikrolat kembali diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37°C dengan suplai 5% CO₂. Setelah inkubasi, sel diamati di bawah mikroskop, dan apabila terbentuk kristal formazan berwarna ungu, ditambahkan 150 μ L DMSO (dimetil sulfoksida) untuk melarutkan endapan. Nilai absorbansi kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 492 nm (Khalisha Soediro Abidin & Arsianti, 2023; Nordin et al., 2018; Zubaidah et al., 2024)

5. Analisis data

IC₅₀ didefinisikan sebagai konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker sebesar 50%. Perhitungan nilai IC₅₀ dilakukan menggunakan persamaan regresi linier $y = ax + b$, di mana sumbu y menunjukkan persentase inhibisi sel kanker dan sumbu x merupakan log konsentrasi ekstrak. Nilai a dan b dari persamaan linier tersebut kemudian disubstitusikan ke dalam rumus untuk memperoleh nilai IC₅₀ (Arsianti, A. 2023)

3.7 Alur Penelitian



Gambar 14. Alur penelitian

3.8 Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dianalisis menggunakan Microsoft Excel. Absorbansi yang diperoleh dari spektrofotometer UV-Vis dimasukkan ke dalam Excel untuk dihitung persentase inhibisi radikal bebas. Nilai inhibisi tersebut kemudian diplot terhadap konsentrasi sampel guna memperoleh kurva dosis-respons. Selanjutnya, nilai IC_{50} ditentukan melalui metode non-linear regression dengan memanfaatkan fitur *curve fitting* pada Excel. Selain berfungsi sebagai alat pengolahan data, Excel juga memudahkan visualisasi hasil melalui grafik dan diagram, sehingga analisis dan penyajian data penelitian menjadi lebih informatif.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Fraksi n-heksan dan etil asetat kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) mengandung berbagai metabolit sekunder, termasuk saponin, flavonoid, fenol, dan tanin.
2. Fraksi n-heksan dan etil asetat kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat pada pelarut etil asetat dan aktivitas antioksidan kuat pada pelarut n-heksan ditandai dengan nilai IC_{50} sebesar 35,99 mg/L pada etil asetat dan 132,29 mg/L pada n-heksan.
3. Fraksi etil asetat kulit biji kabau mampu menghasilkan efek penghambatan dengan nilai IC_{50} sebesar 268,7 mg/L terhadap sel kanker payudara MCF-7.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, penulis memberikan beberapa rekomendasi sebagai berikut:

1. Disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan terhadap kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) menggunakan metode ekstraksi tanpa pemanasan lainnya, seperti maserasi, *supercritical fluid extraction*, perkolasi, *counter current extraction*, *enzym assisted extraction*, maupun *Turbo (vortical) extraction*.
2. Perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran lebih beragam guna memperoleh hasil ekstraksi yang lebih optimal.

3. Perlu dilakukan analisis kuantitatif terhadap kandungan senyawa metabolit sekunder pada kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) agar jumlah masing-masing senyawa dapat diketahui secara lebih spesifik.
4. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi potensi aktivitas sitotoksik kulit biji kabau (*Archidendron bubalinum*) menggunakan jenis lini sel kanker lain guna memahami spektrum aktivitasnya secara lebih luas.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, A. R., & Haque, M. (2020). Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. In *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* (Vol. 12, Issue 1, pp. 1–10). Wolters Kluwer Medknow Publications. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_175_19
- Agung, Nugroho, 2017. (2017). Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam. In *Lambung Mangkurat University Press* (Issue January 2017).
- Aisyah, C. &. (2022). *buah jengkol jaling tanaman kabau - Google Search*. Kompas.Com. https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&sca_esv=74352027cc1c8752&sxsrf=AE3TifNrNdqZ0Ko77dOywL8qjyeU5nCBbA:1756396385607&q=buah+jengkol+jaling+tanaman+kabau&uds=AOm0WdE2fekQnsyfYEw8JPYozOKzYlbg5SKT_w2oKt7c6uA2_WpbqMGBN9lmaUXp5YY_xCqQ8xfWq7-DoJMedB
- 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
- Al-Khayri, J. M., Rashmi, R., Toppo, V., Chole, P. B., Banadka, A., Sudheer, W. N., Nagella, P., Shehata, W. F., Al-Mssallem, M. Q., Alessa, F. M., Almaghasla, M. I., & Rezk, A. A. S. (2023). Plant Secondary Metabolites: The Weapons for Biotic Stress Management. *Metabolites*, 13(6), 1–37. <https://doi.org/10.3390/metabo13060716>
- American Cancer Society. (2023). *Cancer Facts and Figures*. American Cancer. (n.d.).
- Ames1, B. N., & Gold1', 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).
- Annisa Amriani, Fitrya, Rennie Puspa Novita, & Dapid Caniago. (2021). Uji. (n.d.).

- Arisandi, R., & Sukohar, A. (2016). Seledri (*Apium Graveolens* L) Sebagai Agen Kemopreventif Bagi Kanker. *Jurnal Majority*, 5(2), 95–100.
- Arsianti, A. (2023). *Cytotoxic Effect Euphorbia tirucalli Extract Towards Breast*. (n.d.).
- Artun, F. T., Karagoz, A., Ozcan, G., Melikoglu, G., Anil, S., & Sutlupinar, N. (2016). Anticancer plant extracts on HeLa and Vero cell lines. *J Buon*, 21(3), 720–725. <https://www.jbuon.com/archive/21-3-720.pdf>
- Athaya, I., Khalily, A., & Megantara, S. (2025). *Targeting Molecular Pathways in Breast Cancer Using Plant-Derived Bioactive Compounds : A Comprehensive Review*. June.
- Ayu Putu Widiarsiani, I., Udayani, N. N. W., Putri Triansyah, G. A., Mahita Kumari Dewi, N. P. E., Eva Wulandari, N. L. W., & Sri Prabandari, A. A. S. (2024). Review Article: The Role of Flavonoid Antioxidants in Inhibiting Free Radicals. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 6(2), 188–197. <https://ejurnal.ung.ac.id/index.php/jsscr/article/view/27055>
- Ayudiah, R. U. ., Dinda T. S., & Felly, T. (2023). Artikel Review : Stres Oksidatif dan Penyakitnya. *Artikel Review*, Vol 10(January), 2–40. <https://www.researchgate.net/publication/366903090>
- Bhar, R. (2024). *BASIC EXTRACTION AND FRACTIONATION PROCEDURES FOR EXPERIMENTAL PURPOSES OF*. 3, 68–74.
- 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>
- 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>
- Cairns, J. (1978). *Cancer: Science and society: Vol. (I-XIV+199*. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(80\)80146-3](https://doi.org/10.1016/0014-5793(80)80146-3)
- Comsa, S., Ciampean, A. M., & Raica, M. (2015). *The Story of MCF-7 Breast*. (n.d.).
- Cui, D., Zhang, C., Zhang, L., Zheng, J., Wang, J., He, L., Jin, H., Kang, Q., Zhang,

- Y., Li, N., Sun, Z., Zheng, W., Wei, J., Zhang, S., Feng, Y., Tan, W., & Zhong, Z. (2025). Natural anti-cancer products: insights from herbal medicine. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 20(1), 1–91. <https://doi.org/10.1186/s13020-025-01124-y>
- 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>
- Damantia, I., & Da'i, M. (2022). Uji Aktivitas Antiproliferasi dan Induksi Apoptosis Ekstrak Etanol Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga* L.) Terhadap Sel MCF-7 Anti-Proliferasi Activity and Apoptosis Induction Test of Etanol Extract of *Alpinia galanga* L. Against MCF-7 Cells. *Usadha: Journal of Pharmacy*, 1(3). <https://jsr.lib.ums.ac.id/index.php/ujp>
- Dasari, S., & Tchounwou, P. B. (2015). *Cisplatin in cancer therapy : molecular mechanisms of action*. 364–378. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.025>. Cisplatin
- Dayem, A. A., Choi, H. Y., Yang, G.-M., Kim, K., Saha, S. K., & Cho, S.-G. (2016). *The Anti-Cancer Effect of Polyphenols against Breast Cancer and Cancer Stem Cells : Molecular Mechanisms*. <https://doi.org/10.3390/nu8090581>
- Desi Suyono Saputri, A., Septiani Besthari, N., Studi DIII Farmasi, P., & Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Surakarta, S. (2023). Penetapan Kadar Alkaloid Total Pada Ekstrak Kasar Dan Ekstrak Terpurifikasi Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Dengan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi Simplisia, Juli*, 2023(1), 28–37.
- 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>
- 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>

- Fauzi, N. P., Sulistiyaningsih, & Runadi, D. (2017). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi daun jawer kotok (*Coleus atropurpureus* (L) Benth.) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* ATTC 1223 dan *Staphylococcus epidermidis* ATTC 12228. *Farmaka*, 15(3), 45–55.
- 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).
- Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A., & Bray, F. (2021). Cancer statistics for the year 2020: An overview. *International Journal of Cancer*, 149(4), 778–789. <https://doi.org/10.1002/ijc.33588>
- GBIF. (2023). *Archidendron bubalinum* (Jack) I.C.Nielsen in GBIF Secretariat (2023). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei> accessed via GBIF.org on 2025-05-28.
- 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>
- Gospel Ajuru, M. (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. <https://doi.org/10.11648/j.jfns.20170505.16>
- Grela, E., Kozłowska, J., & Grabowiecka, A. (2018). Current methodology of MTT assay in bacteria – A review. *Acta Histochemica*, 120(4), 303–311. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2018.03.007>
- Griñan-lison, C., Blaya-c, J. L., Araceli, L., Marta, Á., Navarro-oc, A., Cara, F. E., Lorente, J. A., Marchal, J. A., & Granados-principal, S. (2021). *Antioxidants for the Treatment of Breast Cancer : Are We There Yet ? 2*.
- Gulcin, İ. (2025). Antioxidants: a comprehensive review. In *Archives of Toxicology* (Vol. 99, Issue 5). <https://doi.org/10.1007/s00204-025-03997-2>
- 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*. (n.d.).
- Hanafi, H., Irawan, C., Rochaeni, H., Sulistiawaty, L., Roziafanto, 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. (n.d.). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (Etlingera elatior (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH*.
- Haryanti, S., & Widiyastuti, Y. (2017). Cytotoxic activity of Indonesian plants on MCF-7 cell lines for traditional breast cancer treatment. *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, 27(4), 247–254.
- 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, Y., Zhu, Q., Chen, M., Huang, Q., Wang, W., Li, Q., Huang, Y., & Di, W. (2016). The changing 50% inhibitory concentration (IC₅₀) of cisplatin: A pilot study on the artifacts of the MTT assay and the precise measurement of density-dependent chemoresistance in ovarian cancer. *Oncotarget*, 7(43), 70803–70821. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12223>
- Heleno, S. A., Martins, A., João, M., Queiroz, R. P., & Ferreira, I. C. F. R. (n.d.). *Bioactivity of phenolic acids: metabolites versus parent compounds*.
- 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>
- Huselan, Y. M., Runtuwene, M. R. J., & Wewengkang, D. S. (2015). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan dari daun sesewanua

- (*Clerodendron squamatum* Vahl.). *Pharmacon*, 4(3), 155–163.
- Hussain, Y., Khan, H., Alam, W., Aschner, M., Alsharif, K. F., & Saso, L. (2022). *Review Article Flavonoids Targeting the mTOR Signaling Cascades in Cancer : A Potential Crosstalk in Anti-Breast Cancer Therapy*. 2022.
- Ibroham, M. H., Jamilatun, S., & Kumalasari, I. D. (2022). A Review: Potensi Tumbuhan-Tumbuhan di Indonesia sebagai Antioksidan Alami. *Jurnal UMJ*, 1–13. <http://jurnal.umj.ac.id/index.php/semnaslit>
- Ilmu dan Teknologi Pangan, J., Gede Eka Prayoga, D., Ayu Nocianitri, K., Nyoman Puspawati, N., Program Studi Imu dan Teknologi Pangan, M., Teknologi Pertanian, F., Program Studi Imu dan Teknologi Pangan, D., & Kampus Bukit Jimbaran, U. (2019). *IDENTIFIKASI SENYAWA FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KASAR DAUN PEPE (Gymnema reticulatum Br.) PADA BERBAGAI JENIS PELARUT Identification of Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of Pepe Leaves (Gymnema reticulatum Br.) Crude Extract in Various Solvent Types*. 8(2), 111–121.
- 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. (2022). *A SHORT REVIEW ON ULTRAVIOLET AND VISIBLE SPECTROSCOPY*. <https://doi.org/10.1729/Journal.32451>
- 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).

- Kang Sing Lung, J., Pramita Destiani, D., & Raya Bandung Sumedang km, J. (n.d.). *REVIEW ARTIKEL Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan metode DPPH*.
- Katrin, K., & Bendra, A. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak, Fraksi dan Golongan Senyawa Kimia Daun Premna oblongata Miq. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), 21–31. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i1.3332>
- Khalisha Soediro Abidin, R., & 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>
- Komariah, D., & Hartana, A. (n.d.). VARIASI MORFOLOGI KABAU (ARCHIDENDRON BUBALINUM) DAN PE-MANFAATANNYA DI SUMATRA. 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>
- Kumar, P., Nagarajan, A., & Uchil, P. D. (2018). Analysis of cell viability by the MTT assay. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018(6), 469–471. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot095505>
- 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>
- 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>

- 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>
- Macáková, K., Afonso, R., Saso, L., & Mladěnka, P. (2019). The influence of alkaloids on oxidative stress and related signaling pathways. *Free Radical Biology and Medicine*, 134(October 2018), 429–444. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.01.026>
- Marcelinda, A., & Ridhay, A. (2016). The Atioxidant Activity Of Husk Coffea (Coffea sp) Extract Base On Various Levels Of Polar Solvent. *Online Jurnal of Natural Science*, 5(1), 21–30.
- 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>
- 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>

- Molyneux, P. (n.d.). *The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.*
- Morales, D. G., Valencia, A., Nuñez, A. D., Estrada, M. F., Santos, O. L., & Beltrán, O. G. (2020). Development of A Low-Cost UV-Vis Spectrophotometer and Its Application For The Detection of Mercuric Ions Assisted by Chemosensors. *Sensors (Switzerland)*, 20(3), 4–16.
- Mukhriani, M., Rusdi, M., Arsul, M. I., Sugiarna, R., & Farhan, N. (2019). Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera* L). *Ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(2). <https://doi.org/10.24252/djps.v2i2.11503>
- 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>
- Nafi'ah, L. N., Ismi Rahmawati, & Titik Sunarni. (2024). The Potential of Parijoto Fruit Extract Fraction (*Medinilla speciosa* Blume) as Antibiofilm against *Staphylococcus aureus* Bacteria. *Open Access Indonesian Journal of Medical Reviews*, 4(2), 609–618. <https://doi.org/10.37275/oaijmr.v4i2.547>
- Nasrul, P. I., & Chatri, M. (2024). Peranan Metabolit Sekunder sebagai Antifungi. *Jurnal Pendidikan Tambusai*, 8(1), 15832–15844.
- 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>
- 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>
- 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>
- Obeagu, E. I., & Obeagu, G. U. (2024). Breast cancer: A review of risk factors and diagnosis. *Medicine (United States)*, 103(3), E36905. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000036905>
- Oktober, N., Andela, L. P., Sukohar, A., Wahyuni, A., Farmakologi, B., Kedokteran, F., Lampung, U., Anestesi, B., Kedokteran, F., & Rsudam, L. (2024). Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Residif Kanker Payudara Fakultas Kedokteran Universitas Lampung , Indonesia. *Termometer: Jurnal Ilmiah Ilmu Kesehatan Dan Kedokteran*, 2(4), 266–276. <https://ejurnal.politeknikpratama.ac.id/index.php/Termometer>
- Patel, S., Raulji, A., Patel, D., Panchal, D., Dalwadi, M., & Upadhyay, U. (n.d.). A Review on “Uv Visible Spectroscopy.” *International Journal of Pharmaceutical Research and Applications*, 7, 1144. <https://doi.org/10.35629/7781-070511441151>
- 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>
- Perikanan, J., Tropis, K., Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y., & Dotulong, V. (n.d.). *The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove Sonneratia alba*). 11. <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/JPKT/index>
- Pratiwi, R. A., & Nandiyanto, A. B. D. (2022). How to Read and Interpret UV-VIS Spectrophotometric Results in Determining the Structure of Chemical Compounds. *Indonesian Journal of Educational Research and Technology*, 2(1), 1–20. <https://doi.org/10.17509/ijert.v2i1.35171>
- 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>

- Puspitasari, A. D., Anwar, F. F., & Faizah, N. G. A. (2019). Aktivitas Antioksidan, Penetapan Kadar Fenolik Total Dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol, Etil Asetat, Dan N-Heksan Daun Petai (*Parkia Speciosa* Hassk.). *Jurnal Ilmiah Teknosains*, 5(1). <https://doi.org/10.26877/Jitek.V5i1.3490>
- 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>
- Putri, S. Y., Isadiartuti, M.Si., Apt., D., Isnaeni, I., Aulya Farah Fahreza, Alvina Violita Mulyanto Putri, Zulfa Diana, Nafa Nazilatul Fatihah, I Gede Rekyadji Arimbawa, Alya Fakhirah, Talitha Nabilla Wijayanata, Muhammad Pramudya Pangestu, Azzalia Firdanthi, Oudrey Addriana, & Umi Aida Rohma. (2024). The Effectiveness of Vitamin E Soft Capsules as an Antioxidant. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 11(1), 5–11. <https://doi.org/10.20473/bikfar.v11i1.51902>
- 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., Kurniaty, L., & Bintang, 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.23.3.83-88>
- 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>
- Sanjaya, Y., Tola, P. S., Agency, I., & Rahmawati, R. (2022). *Ultrasound-assisted Extraction as a Potential Method to Enhanced Extraction of Bioactive Compound*. November. <https://doi.org/10.11594/nstp.2022.2729>
- Sari, S. A., Ernita, M., Mara, M. N., & AR, M. R. (2023). *Identification of Active Compounds on Muntingia calabura L. Leaves using Different Polarity Solvent*.
- 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>
- 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. (n.d.). *Immunomodulatory Activity of Ethanol Extract and Kabau (Archidendron Bubalinum) Leaf Fractions on the Macrophage Phagocytosis Index in Male White Rats (Rattus Novergicus)*. <https://doi.org/10.55927/mudima.v4i6.9588>
- Sudarwati, T. P. . & F. H. (2019). *Aplikasi Pemanfaatan Daun Pepaya (Carica Papaya) Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva Aedes Aegypti*. Www.Penerbitgraniti.Com
- Sukohar Asep, Iqbal Muhammad, Triyandi Ramadhan, S. (2024). *Melinjo Seeds (Gnetum gnemon L.) Antioxidant Activity and Cytotoxic Effects on MCF-7 Breast Cancer Cells: A Study Based on Tracing of Resveratrol Compound*. <https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs>
- 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). Medicinal orchids of Asia. *Medicinal Orchids of Asia*, 1–752. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24274-3>
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Gabriel, J. (2016). Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). *Universitas Indonesia*, 2.
- Vaishnavi, N., Varne, A. A., Adnaik, R. S., & Pukale, S. H. (2025). *Review on flavonoids targeting STAT pathway involved in breast cancer*. 10(6), 802–818.
- Van Tonder, A., Joubert, A. M., & Cromarty, A. D. (2015). Limitations of the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay when compared to three commonly used cell enumeration assays. *BMC Research Notes*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13104-015-1000-8>
- Wahidah, L. K., Suri, N., & Komalasari, R. A. (2018). PENGARUH EKSTRAK BIJI KABAU (*Archidendron buballinum* (Jack.) I.C.Nielsen) TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA DARAH MENCIT PUTIH JANTAN DIABETES YANG DIINDUKSI ALOKSAN. *JFL : Jurnal Farmasi Lampung*. <https://doi.org/10.37090/jfl.v7i1.36>
- Wanandi, S. I., & Maghdalena, M. (2023). The Potency of Herbal Active

- Compounds as Immune Modulators for Cancer Therapy. *Indonesian Journal of Cancer*, 17(2), 152. <https://doi.org/10.33371/ijoc.v17i2.956>
- Weinberg, R. A. (1996). How cancers arises. In *Scientific American* (Vol. 275, Issue 3, pp. 62–70).
- Yadav, A., Kumari, R., Yadav, A., Mishra, J. P., Srivatva, S., & Prabha, S. (2016). Antioxidants and its functions in human body-A Review. *Res. Environ. Life Sci.*, 11(09), 1328–1331.
- Yanti, E., Harmawati, H., Irman, V., & Sari Dewi, R. I. (2021). Peningkatan Kesiapan Pasien Kanker Menjalani Kemoterapi. *Jurnal Abdimas Saintika*, 3(1), 85. <https://doi.org/10.30633/jas.v3i1.1102>
- Zhang, H., Hu, J., Fu, R., Liu, X., Zhang, Y., Li, J., & Liu, L. (2018). *Flavonoids inhibit cell proliferation and induce apoptosis and autophagy through downregulation of PI3K γ mediated PI3K / AKT / mTOR / p70S6K / ULK signaling pathway in human breast cancer cells*. February, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29308-7>
- 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>
- Zinovkin, R. A., Lyamzaev, K. G., & Chernyak, B. V. (2023). *Current perspectives of antioxidants in cancer prevention and treatment*. March, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1048177>
- Zubaidah, U., Siregar, M. I. P., Islamatasya, U., Nisa, N., Wibowo, A. T., Sri, Y., & Manuhara, W. (2024). *Gynura procumbens Adventitious Root Ameliorates Oxidative Stress and has Cytotoxic Activity Against Cancer*. 5, 1–9. <https://doi.org/10.15212/bioi-2024-0020>