

Uji Antikanker dan Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Pasote (*Dysphania ambrosioides* L.)
Anticancer and Antioxidant Test of Pasote (*Dysphania ambrosioides* L.)
Leaves Methanol Extract

Praise Frena Maningkas^{1*)}, Dingse Pandiangan¹⁾, Febby Ester Fany Kandou¹⁾
Jurusan Biologi, FMIPA, UNSRAT, Manado
*E-mail: praisefrena@gmail.com

Diterima 10 Juli 2019, diterima untuk dipublikasi 10 Agustus 2019

Abstrak

*Uji antikanker dan antioksidan ekstrak metanol daun Pasote (*Dysphania ambrosioides* L.) telah dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan informasi ilmiah mengenai potensi antikanker dan antioksidan ekstrak metanol serbuk daun Pasote. Pengujian antikanker dilakukan dengan metoda uji MTT pada sel leukemia P388. Uji antioksidan dilakukan dengan metode DPPH dan ditentukan dengan Spektro UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Hasil pengamatan dan pengukuran diuji dengan program Origin Lab untuk antikanker, dan program Excel untuk analisis data antioksidan. Ekstak metanol Pasote memiliki aktivitas antikanker kategori kuat sebagai antikanker dengan IC_{50} sebesar 53,37 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Hasil pengujian antioksidan ekstrak metanol daun Pasote termasuk kategori kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 50,131 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun Pasote potensial untuk dijadikan antioksidan dan tidak berbeda nyata dengan antioksidan vitamin C. Kesimpulannya bahwa ekstrak metanol daun Pasote potensial untuk dijadikan antikanker dan antioksidan.*

Kata Kunci: Antikanker; Antioksidan; Leukemia P388; MTT assay; DPPH

Abstract

*Anticancer and antioxidant test of Pasote (*Dysphania ambrosioides* L.) leaf methanol extract have been done. The purpose of this study was to obtain scientific information about the potential anticancer and antioxidant of Pasote methanol leaf extract. Anticancer testing was carried out by the MTT assay method on P388 leukemia cells. The antioxidant test was carried out using the DPPH method and determined by UV-Vis spectra at a wavelength of 517 nm. The results of observations and measurements were tested with the Origin Lab program for anticancer, and the Excel program for analysis of antioxidant data. The methanol Pasote extract has a strong anticancer activity as an anticancer with IC_{50} value 53.37 $\mu\text{g} / \text{mL}$. The results of the antioxidant test of the Pasote leaf methanol extract included a strong category with IC_{50} values 50,131 $\mu\text{g} / \text{mL}$. This shows that Pasote leaf methanol extract is potential to be used as an antioxidant and not significantly different from antioxidant vitamin C. In conclusion, Pasote leaf methanol extract is potential to be used as an anticancer and antioxidant.*

Keywords: Anti-cancer; Anti-oxida; Leukemia P388; MTT assay; DPPH

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang dikenal dengan keanekaragaman hayati yang terbesar di dunia (Sampurno 2009). Indonesia memiliki kawasan hutan tropis terkaya kedua di dunia setelah Brazil dan disebut juga sebagai kawasan mega-biodiversitas (Pandiangan 2011). Masih banyak kekayaan alam berupa tumbuhan obat yang belum dikelola dengan baik (Sampurno 2009). Salah satu contoh kekayaan keanekaragaman jenis tumbuhan obat yaitu tumbuhan Pasote (*Dysphania ambrosioides* L.) Indonesia khususnya Sulawesi Utara tumbuhan ini sering disebut dengan Pasote atau Sambote. Penelitian yang telah dilakukan oleh Ghareeb *et al.* (2016), menyatakan genus ini mengandung adanya flavonoid, terpen, seskiterpen pigmol, xilosida, kumarin, dan minyak esensial. Aktivitas biologis yang ditunjukkan dari tumbuhan Pasote seperti antimikroba, sitotoksitas, antioksidan, larvisida, antidiabetes, antiparasit, antivirus, dan moluskidal (Ghareeb *et al.* 2016).

Senyawa antioksidan secara alami pada obat-obatan herbal sangat dibutuhkan. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menghambat atau menunda oksidasi suatu molekul dengan cara mengakhiri reaksi berantai inisiasi dan penyebarannya (Molyneux 2004). Manfaat antioksidan yaitu, melindungi tubuh dari berbagai penyakit seperti degeneratif, kanker, serta membantu menekan proses penuaan (Tapan 2005).

Pengujian antioksidan yang sering digunakan adalah metode DPPH (1,1-dyphenil-2-picrylhydrazyl). Metode ini merupakan metode yang cepat, sederhana dan tidak memerlukan biaya yang banyak (Zou *et al.* 2004). Mengetahui adanya potensi tumbuhan sebagai antioksidan dapat dihitung menggunakan parameter IC₅₀

(Winarno 2011).

Penelitian antikanker menjadi perhatian dan prioritas para peneliti Farmasi. Antikanker merupakan obat untuk mencegah dan mengobati pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal, sedangkan kanker merupakan penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal (Hafil, 2016). Sekarang ini telah banyak masyarakat yang memanfaatkan tumbuhan obat tradisional sebagai obat antikanker. Tumbuhan yang digunakan sebagai obat, hanya berdasarkan pengalaman masyarakat sehari-hari.

Uji antikanker yang banyak dilakukan adalah menggunakan mencit (*in vivo*) yang relatif lama dan keberhasilannya rendah. Tetapi, sekarang telah ada teknik kultur sel (*in vitro*), yaitu suatu teknik untuk mengisolasi secara aseptik dalam tabung dan ditumbuhkan dalam media buatan (Pandiangan 2011). Oleh karena itu maka perlu diteliti potensi antikanker dan antioksidan ekstrak methanol daun Pasote (*Dysphania ambrosioides* L.).

METODE

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Sampel diambil di daerah Langowan, Sulawesi Utara. Setelah Pasote diambil kemudian dicuci bersih, tiriskan dan diiris kecil-kecil, lalu ditimbang sebanyak satu kg. Hasil penimbangan tersebut dinyatakan sebagai berat basah. Daun tersebut selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 45°C sampai beratnya konstan (berat kering). Sampel daun yang telah kering, dihaluskan menggunakan blender. Hasil blender diayak dan disaring sebanyak 2 kali sampai didapatkan serbuk halus daun Pasote.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan merendam 100 gram serbuk halus daun Pasote dalam toples kaca dengan penambahan satu liter metanol teknis. Sampel direndam selama 7 x 24 jam dan setiap 6 jam dilakukan pengadukan. Hasil rendaman tersebut disaring menggunakan kertas saring whatman 43 (15.0 cm). Selanjutnya ekstrak hasil saringan diisi ke dalam cawan arloji dan diuapkan dalam suhu ruang 37°C sampai kering. Ekstrak metanol kering seberat 1 mg selanjutnya digunakan untuk uji aktivitas antikanker dan 5 mg ekstrak kering untuk uji antioksidan.

Uji Aktivitas Antikanker

Pengujian antikanker diawali dengan persiapan buffer dan media serta sterilisasi dilakukan sesuai dengan yang dilakukan oleh Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam (KOBA) ITB. Uji antikanker dilakukan dengan menggunakan sel leukemia P388. Sel dipelihara dalam botol kultur pada media RPMI (Roswell Park Memorial Institute) dalam *multiwell plate*. Pengkulturan sel dilakukan dalam kondisi steril. Kultur sel dipelihara sampai memenuhi 80% substrat. Subkultur dilakukan mengikuti metoda yang digunakan Alley (1988) dalam Pandiangan (2008). Kultur sel yang telah memenuhi 80% substrat diasosiasi. Diasosiasi dilakukan dengan cara pencucian kultur sel dengan FBS (*Fetal Bovine Serum*) sebanyak 3 kali, lalu dibilas dengan EDTA 0,02% dan diberi tripsin 0,25%. Sel diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator CO₂ selama 2 menit sampai sel lepas dari substrat botol kultur. Suspensi sel ditambah dengan medium pemeliharaan yang mengandung 5% FBS (*Fetal Bovine Serum*) dengan perbandingan volume 1:1. Supernatan hasil sentrifugasi dibuang dan pelet sel diberi medium pemeliharaan. Sel hidup dihitung

menggunakan hemositometer tipe *Improved Neubauer* dengan rumus perhitungan menurut Freshney, (2000) dalam Sahid (2013).

Ekstrak metanol daun Pasote yang telah dikeringkan sebanyak satu mg ditambahkan dengan satu mL DMSO (*Dimethyl sulfoxide*) sampai larut sebagai stok larutan ekstrak untuk membuat variasi konsentrasi. Kemudian dibuat variasi konsentrasi ekstrak mulai dari 0,1; 0,3; 1; 3; 10; 30 dan 100 µg/mL. Masing-masing ekstrak dimasukkan ke kultur sel leukemia P388. Sel yang telah diberi ekstrak dipelihara pada medium dasar yang mengandung 2% FBS dan diinkubasi selama 24 jam agar sel melekat pada substrat (KOBA ITB). Aktivitas pertumbuhan sel setelah perlakuan diukur dengan pemberian larutan MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid).

Mediumnya dibuang dan diberi 200 µL medium dasar yang mengandung 2% FBS (*Fetal Bovine Serum*) dan 50 µL larutan MTT untuk setiap sumur. Sel diberi MTT untuk mengukur efek sitotoksik sampel. Sel diinkubasi selama 4 jam pada suhu 37°C dengan kondisi gelap. Setelah itu, medium dibuang dan diberi 200 µL DMSO (*Dimethyl sulfoxide*) dan 25 µL bufer glisin. Intensitas absorbansi warna diukur dengan menggunakan *microplate spectrophotometer* (Bio Rad) pada panjang gelombang 540 nm. Intensitas absorbansi warna dibuat untuk mencari nilai Inhibition concentration sebanyak 50% (IC₅₀) dari ekstrak daun Pasote. Pengukuran dilakukan 3 kali dari tiap konsentrasi, masing-masing konsentrasi diulang tiga kali (KOBA ITB).

Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Penetapan IC₅₀ dari ekstrak metanol Pasote (sampel) dan vitamin C (standar) dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas dengan menggunakan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan spektrofotometri

UV-Visible. Prosedur yang dilakukan dalam pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah sebagai berikut:

a. Pembuatan larutan DPPH : Serbuk DPPH sebanyak 0.4 mg dilarutkan dengan metanol 50 mL dalam Erlenmeyer disimpan pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya.

b. Penempatan panjang gelombang (λ) maksimal DPPH : Larutan DPPH 10 mL dipipet ke dalam labu ukur. Metanol ditambahkan hingga volumenya mencapai 100 mL. Homogenkan dan dibiarkan selama 30 menit lalu diukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometri UV- Visibel dan diperoleh panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 517 nm.

c. Pengukuran aktivitas antioksidan Vit.C: Penelitian ini sebagai standar yaitu, vitamin C (Ascorbic acid) 100 mg dalam 2 mL. Vitamin C dilarutkan dengan metanol sampai volumenya 50 mL diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm. Dibuat bebrapa volume yaitu 0,1; 0,2; 0,4 dan 0,8 mL dimasukkan ke dalam labu ukur. Selanjutnya ditambahkan 1 mL DPPH ke dalam labu ukur yang berisi vitamin C. Metanol ditambahkan sampai volumenya mencapai 5 mL dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar. Masing-masing larutan tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm, dilakukan sebanyak 3 Ulangan.

Pengukuran aktivitas antioksidan Pasote

Ekstrak Pasote ditimbang sebanyak 50 mg lalu dilarutkan dengan metanol sebanyak 50 mL diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 mg/mL. Pipet sebanyak 0,1, 0,2, 0,4 dan 0,8 mL dimasukkan ke dalam labu ukur.

Selanjutnya ditambahkan 1 mL DPPH ke dalam labu ukur yang berisi ekstrak ditambahkan metanol sampai volumenya mencapai 5 mL. Larutan dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar lalu diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm, dilakukan sebanyak tiga kali Ulangan (Suhaling 2010).

Analisis Data

Potensi aktivitas antikanker dan antioksidan ekstrak metanol daun Pasote dapat diketahui dengan melakukan uji IC_{50} (*Inhibition Concentration* 50%) melalui persamaan logaritma. Analisis data uji potensi antikanker menggunakan aplikasi Originlab 9.0 32-bit (Originlab Corporation USA) dan antioksidan menggunakan aplikasi Excel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi

Hasil penentuan kadar air simplisia daun Pasote diperoleh berat segar sebanyak 800 gram, dan diperoleh berat kering 112,98 gram dengan kadar airnya 85,8% (Gambar 1). Kadar air daun Pasote cukup besar.

Sampel serbuk halus direndam dengan metanol agar dinding sel daun Pasote akan terlarut dalam pelarut yang digunakan (Haryadi 2012). Sampel daun yang direndam dengan metanol diuapkan menghasilkan ekstrak sebanyak 25,61 gram. Hasil yang didapat pada penelitian ini berupa ekstrak kasar, dengan nilai rendemen yaitu 3,2%. Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Abdillah 2006). Hasil ekstraksi selanjutnya diuji antikanker secara *in vitro* dan antioksidan.



(a) (b)

Gambar 1. Hasil ekstraksi secara maserasi menggunakan metanol: (a) ekstrak kasar untuk pengujian aktivitas antioksidan, (b) ekstrak kering untuk pengujian antikanker.

Pengujian antioksidan

Pengujian antioksidan diawali dengan menimbang dan membuat larutan stok DPPH, vitamin C dan sampel yang digunakan, masing-masing didapat larutan stok sebanyak 50 mL. Panjang gelombang serapan maksimum ditentukan menggunakan larutan kontrol yaitu metanol. Panjang gelombang maksimum yang didapat yaitu 517 nm dengan nilai absorbansi kontrol ekstrak metanol Pasote yaitu 0,612. Pengujian antioksidan vitamin C diperoleh nilai absorbansi kontrol yaitu 0,650. Ekstrak metanol Pasote terdapat empat konsentrasi yaitu: 20, 38, 74 dan 138 $\mu\text{g/mL}$. Mencari konsentrasi Pasote didapat dari konsentrasi Vitamin C dimana menggunakan rumus $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$. Setiap konsentrasi dilakukan tiga kali ulangan, semakin besar konsentrasi maka semakin kecil pula nilai absorbansinya (Tabel 1).

Hasil pengujian antioksidan ekstrak metanol daun Pasote pada setiap konsentrasi terjadi perubahan warna secara bertahap dari warna ungu berubah menjadi kuning. Perubahan warna ungu menjadi kuning pada uji aktivitas antioksidan menandakan terjadinya penghambatan aktivitas radikal bebas sebanyak 50 persen. Interaksi

antioksidan dengan DPPH baik transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan karakter radikal bebas dari DPPH dan membentuk DPPH tereduksi. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang (Rohman *et al.* 2010). Penelitian ini menggunakan vitamin C cair 100 mg/2 mL sebagai senyawa pembanding. Vitamin C merupakan antioksidan yang larut dalam air. Penggunaan vitamin C sebagai pembanding pada pengujian aktivitas antioksidan ini adalah untuk mengetahui seberapa kuat potensi antioksidan yang ada pada ekstrak metanol daun Pasote jika dibandingkan dengan vitamin C.

Dari hasil perhitungan didapat nilai IC_{50} ekstrak metanol Pasote adalah 50,131 $\mu\text{g/mL}$ termasuk kategori kuat sebagai antioksidan, untuk nilai IC_{50} vitamin C 48,552 $\mu\text{g/mL}$ termasuk kategori sangat kuat karena $<50 \mu\text{g/mL}$. Penelitian Sebelumnya dari Agustikawati *et al.* (2017), uji aktivitas antioksidan dan penapisan fitokimia dari ekstrak daun pokoasi dan kluwih sebagai sumber antioksidan alami dengan nilai IC_{50} vitamin C sebesar 46,74 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai IC_{50} ekstrak daun pokoasi dan kluwih berturut-turut 89,659 $\mu\text{g/mL}$ dan 54,719 $\mu\text{g/mL}$ dimana vitamin C yang digunakan memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak. Hasil penelitian ini dapat dilihat dari hasil IC_{50} daun Pasote aktif dan berpotensi sebagai antioksidan, dari nilai IC_{50} dimana tingkat kekuatan antioksidan senyawa termasuk sangat kuat jika $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$, kuat $IC_{50} 50-100 \mu\text{g/mL}$, sedang $IC_{50} 101-150 \mu\text{g/mL}$, lemah $IC_{50} > 150 \mu\text{g/mL}$. Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Ariyanto 2006). Penyebab aktivitas antioksidan

ekstrak metanol Pasote lebih rendah dari vitamin C konsentrasi yang digunakan masih terlalu besar dan

masih dalam ekstrak metanol Pasote dalam bentuk ekstrak tidak murni.

Tabel 1. Hasil pengukuran nilai absorbansi, persen inhibisi ekstrak metanol daun Pasote (*Dysphania ambrosioides* L.) dan persamaan regresi linear menggunakan Excel

Ekstrak	Konsentrasi (µg/mL)	Nilai Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi linear
Kontrol	0	0,612	0	0
Ulangan 1	20	0,071	49,598	Y = 0.0218X + 48.906 R ² = 0.9569
	38	0,071	49,598	
	74	0,067	50,252	
	138	0,056	52,049	
Ulangan 2	20	0,073	49,108	Y = 0.0167X + 49.164 R ² = 0.8623
	38	0,067	50,252	
	74	0,066	50,415	
	138	0,060	51,396	
Ulangan 3	20	0,080	48.128	Y = 0.0261X + 48.691 R ² = 0.6885
	38	0,061	50.579	
	74	0,065	51.232	
	138	0,057	51.886	

Tabel 2. Hasil pengukuran nilai absorbansi dan % inhibisi vitamin C ekstrak metanol daun Pasote (*Dysphania ambrosioides* L.)

Ekstrak	Konsentrasi (µg/mL)	Nilai Absorbansi	% Inhibisi	Persamaan regresi linear
Kontrol	0	0,650	0	0
Ulangan 1	20	0,102	49,308	Y = 0,0349X + 48,297 R ² = 0,9182
	38	0,099	49,769	
	74	0,097	50,077	
	138	0,075	53,462	
Ulangan 2	20	0,103	49,154	Y = 0,0347X + 48,309 R ² = 0,9676
	3	0,099	49,769	
	7	0,095	50,385	
	4	0,076	53,308	
Ulangan 3	2	0,102	49,308	Y = 0,0337X + 48,378 R ² = 0,9423
	0			
	38	0,099	49,769	
	7	0,096	50,231	
	4			
	138	0,076	53,308	

Tabel 3. Hasil IC_{50} ekstrak metanol daun Pasote dan vitamin C ekstrak metanol daun Pasote (*Dysphania ambrosioides* L.)

Ekstrak Metanol Daun Pasote			
Replikasi	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	\bar{X} ($\mu\text{g/mL}$)	$\bar{X} \pm SD$
1	50,183	50,131	50,131 \pm 0,064
2	50,153		
3	50,059		
Vitamin C			
Replikasi	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	\bar{X} ($\mu\text{g/mL}$)	$\bar{X} \pm SD$
1	48,796	48,552	48,552 \pm 0,300
2	48,731		

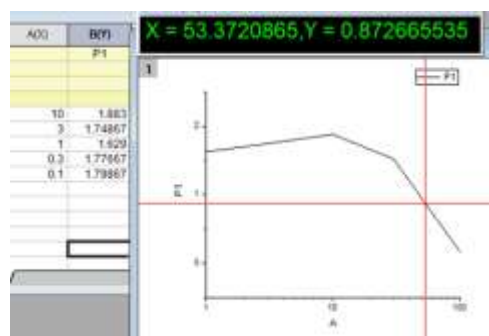
Pengujian Antikanker

Penelitian ini menggunakan sel kanker leukemia (P388) yang dapat digunakan dalam penelitian untuk mengetahui toksisitas suatu ekstrak terhadap sel kanker leukemia secara *in vitro*. Pengujian antikanker menggunakan metode MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) yang berwarna ungu. Pengujian antikanker memiliki enam konsentrasi 100, 30, 10, 3, 1 dan 0,3 $\mu\text{g/mL}$.

Hasil pengujian ekstrak metanol Pasote pada penelitian ini diperoleh nilai IC_{50} nya adalah 53,37 $\mu\text{g/mL}$ (Gambar 2). Pembanding yang digunakan adalah senyawa aktif antikanker Quersetin dengan nilai IC_{50} sebesar 87,78 $\mu\text{g/mL}$. Hasil pengujian tersebut termasuk kategori potensial atau kuat, hal itu dikarenakan IC_{50} < 100 $\mu\text{g/mL}$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun Pasote memiliki potensi kuat sebagai antikanker (Prayong, 2008).

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Ghareeb *et al.* (2016), menyatakan bahwa tumbuhan Pasote mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, terpen, sesquiterpen pigmol, xilosida, kumarin, dan minyak esensial. Kemampuan atau potensi antikanker tersebut kemungkinan juga akibat adanya senyawa metabolit sekunder yang

dihasilkan oleh tumbuhan itu sendiri (Pandiangan, 2009).



Gambar 2. Grafik persamaan logaritma antara rata-rata absorbansi dengan konsentrasi ekstrak dalam menentukan nilai IC_{50} ekstrak metanol daun Pasote (*Dysphania ambrosioides* L.) terhadap sel leukemia P388 sebesar 53,37 menggunakan aplikasi Originlab 9.0 32-bit.

Penelitian Ngama *et al* (2015), menunjukkan bahwa nilai IC_{50} dari ekstrak metanol *P. vittata* diperoleh sebesar 82,81 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penelitian ekstrak metanol daun Pasote lebih potensial sebagai antikanker. Sitotoksitas suatu ekstrak berdasarkan nilai IC_{50} digolongkan menjadi 3 yaitu: sitotoksitas potensial (IC_{50} < 100 $\mu\text{g/L}$), sitotoksitas sedang (IC_{50} < 1000 $\mu\text{g/L}$) dan rendah (IC_{50} > 1000 $\mu\text{g/L}$) (Prayong, 2008). Oleh sebab itu ekstrak metanol daun Pasote

potensial untuk dijadikan antikanker.

KESIMPULAN

Ekstak metanol daun Pasote (*D. ambrosioides*) memiliki nilai IC_{50} sebesar 50,131 $\mu\text{g/mL}$ dengan metode DPPH yang berpotensi kuat sebagai antioksidan. Hasil uji aktivitas antikanker P388 dengan metode MTT Assay diperoleh IC_{50} sebesar 53,37 $\mu\text{g/mL}$ berpotensi kuat sebagai antikanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah A (2006) Aktivitas Antiproliferasi Ekstrak Air Daun Sisik Naga (*Pyrrhosia nummularifolia* (Sw.) Ching) terhadap Sel Lestari Tumor HeLa secara *In vitro* [skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan IPB, Bogor.
- Agustikawati N, Andayani Y, dan Suhendra D (2017) Uji Aktivitas Antioksidan dan Penapisan Fitokimia dari Ekstrak Daun Pokoasi dan Kluwih Sebagai Sumber Antioksidan Alami. JPPIPA 3(2): 60-67.
- Ariyanto R (2006) Uji Aktivitas antioksidan, Penentuan Kandungan Fenolik dan Flavonoid Total Fraksi Kloroform dan Fraksi Air Ekstrak Metanolik Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban). Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada (tidak dipublikasikan).
- Freshney RI (2000) Culture of Animal Cells : A Manual of Basic Technique, 4th ed. Willey-Liss Inc, Canada.
- Ghareeb MA, Saad AM, Abdou AM, Refahy LAG, and Ahmed WSA (2016) New Kaempferol Glycoside with Antioxidant Activity from *Chenopodium ambrosioides* Growing in Egypt. Orient J Chem 32(6): 3054-3061.
- Hafil (2016) Farmakologi (Anti Kanker).<http://darknessthe.blogspot.com/2012/01/farmakologi-anti-kanker.html> [17 Oktober 2018].
- Haryadi D (2012) Senyawa Fitokimia dan Sitotoksitas Ekstrak Daun Surian (*Toona sinensis*) terhadap Sel Vero dan MCF-7 [skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan IPB, Bogor.
- Molyneux P (2004) The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology 26(2): 211- 219.
- Pandiangan D, Esyanti R, dan de Queljoe E (2008). Aktivitas Antikanker Katarantin pada Sel Mouse Mammary Cancer MmT06054. Jurnal Ilmiah Sains 8(1): 107-113.
- Pandiangan D (2011) Produksi Katarantin Melalui Kultur Jaringan. Lubuk Agung, Bandung.
- Prayong J, Barusrux S, and Weerapreeyakul N (2008) Cytotoxic Activity Screening of some Indigenous Thai plants. Fitoterapia 79(7): 598-601.
- Rohman A, Riyanto S, Yuniarti N, Saputra WR, Utami R, and Mulatsih W (2010) Antioxidant Activity, Total Phenolic and Total Flavonoid of Extracts and Fractions of Red Fruit (*Padanus conoideus* Lam). International Food Research Journal 17: 97-106.
- Sampurno H (2009) Prospek Pengembangan Obat Herbal Indonesia, Pergumulan Kompleks Bagi Kesehatan Rakyat. PT. Combiphar Jakarta.
- Suhaling S (2010) Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) dengan Metode DPPH [Skripsi]. Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Islam

- Negeri Alauddin, Makassar.
- Tapan E (2005) Kanker, Antioksidan, dan Terapi Komplementer. Jakarta: PT Gramedia.
- Winarno E (2011) Uji Sitotoksik Ekstra Kapang *Aspergillus* sp. terhadap Sel Kanker Payudara T47D [Skripsi]. Program Studi Biologi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia (UI), Depok.
- Zou Y, Lu Y, and Wei D, (2004) Antioxidant Activity of a Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum perforatum* L. in Vitro. *J. Agric. Food Chem* 52(16): 5032-5039.