
Profil Fraksi Sitotoksik terhadap Sel Murine Leukemia P-388 dari Ekstrak Biji Honje (*Etligeria elatior*)

Alfindah Rusanti, Dede Sukandar, Tarso Rudiana, Adawiah

Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

E-mail: sukandarkimia@uinjkt.ac.id; adawiah@uinjkt.ac.id;

Received: Maret 2017; Revised: April 2017; Accepted: Mei 2017; Available Online: Mei 2017

Abstrak

Penelitian mengenai profil fraksi sitotoksik terhadap terhadap sel murine leukemia P-388 hasil isolasi dari ekstrak biji honje (*Etligeria elatior*) telah dilakukan. Penelitian ini dimaksudkan untuk melakukan isolasi dan karakterisasi fraksi sitotoksik terhadap sel murine leukemia P-388 dari ekstrak biji *E. elantior*. Ekstraksi biji *E. elantior* dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol, dilanjutkan dengan partisi menggunakan etil asetat, dan n-heksan, pengujian aktivitas sitotoksik terhadap sel murine leukemia P-388 dengan 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida (MTT) assay yang dipandu dengan uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Ekstrak paling aktif difraksinasi menggunakan kromatografi kolom, dan uji kemurnian dengan KLT. Senyawa murni hasil isolasi diuji aktivitas sitotoksik dan dikarakterisasi dengan metode spektroskopi UV-Vis, FTIR, , dan LCMS. Ekstrak etil asetat biji honje memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel leukemia P-388 dengan IC₅₀ sebesar 19.210 µg/mL. Berdasarkan analisis menggunakan MassLynx software (Version 4.1) serta database *Massbank* dan *Chemspider* secara online, fraksi yang menunjukkan sifat sitotoksik terhadap sel leukemia P-388 dengan nilai IC₅₀ 19.555 µg/mL diperkirakan merupakan campuran beberapa senyawa golongan fenolik seperti *resveratrol* dan jenis flavonoid diantaranya *lapachol*, *apigenin*, *methylated chrysin*, *6,2'-dihydroxyflavanone*, *3-Hydroxy-3,4'-dymethoxyflavone* dan *4'-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavanone*.

Kata kunci: *Etligeria elatior*, sitotoksik, sel murine leukemia P-388, BSLT

Abstract

The research characterization of cytotoxic fraction against P-388 leukemia murine cells from the extract honje (*Etligeria elatior*) seed have been reported. This research lead to isolation and characterization of cytotoxic compounds against P-388 leukemia murine cells from the extract of *E. elantior* seed. The extract of *E. elantior* seed was maserated by methanol, *n*-hexane, and ethyl acetate, respectively and estimated their cytotoxic activity against P-388 leukemia murine cell with 3- (4, 5-dimetiltiazol-2-yl) -2,5-difeniltetrazolium bromide (MTT) assay guided toxicity test against of shrimp *Artemia salina* Leach. Brine shirmp Lethality Test (BSLT) method. The active extracts will be separated by fractionation using column chromatography, , and for analyzing the purity of isolate will estimate by TLC. The chemical structure of pure isolate will be identified by spectroscopies data UV Vis, FTIR, and LCMS. The ethyl acetate extract from honje seed have cytotoxic activity by leukemia P-388 cell with IC₅₀ 19.21 µg/mL. The fraction toxic as cytotoxic against P-388 leukemia murine cells with IC₅₀ 19.555 µg/mL is flavonoid compounds their is *resveratrol*, *lapachol*, *apigenin*, *methylated chrysin*, *6,2'-dihydroxyflavanone*, *3-hydroxy-3,4'-dymethoxyflavone* and *4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavanone*.

Keyword: *Etligeria elatior*, cytotoxic, P-388 leukemia murine cell, BSLT.

DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/jkv.v0i0.3640>

1. PENDAHULUAN

Honje atau kecombrang (*Etilingera elatior*) merupakan salah satu jenis tanaman rempah-rempah yang telah lama dikenal dan dimanfaatkan sebagai pemberi citarasa pada masakan dan obat-obatan terutama berkhasiat sebagai obat luka, penghilang bau badan dan mulut (Hidayat dan Hutapea 1991). Hasil penelitian Jaafar *et al.*, (2007) menunjukkan adanya beberapa jenis minyak esensial yang bersifat bioaktif pada daun, batang, bunga dan rimpang tanaman ini. Kandungan minyak esensial pada daun sebesar 0.0735%, bunga 0.0334%, batang 0.0029% dan rimpang 0.0021%. Hasil penelitian lainnya melaporkan bahwa ekstrak methanol bunga, daun dan rimpang honje mengandung senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri dan antikanker (Chan *et al.*, 2007; Habsah *et al.*, 2005). Fakta lainnya menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat bunga *E. elantior* memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 68.24 µg/mL (Maimulyanti and Prihadi, 2015). Hal ini tidaklah mengejutkan karena bunga, batang, rimpang dan daun honje memiliki kandungan senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan glikosida yang berkaitan dengan aktivitas antibakteri, antioksidan dan sitotoksik terhadap kultur sel murine leukemia P-388 (Naufalin, 2005; Antoro, 1995).

Kanker merupakan penyakit degeneratif yang menjadi penyebab kematian kedua di dunia setelah serangan jantung. Menurut data yang didapatkan dari *International Union Against Cancer* (UICC) suatu organisasi kanker di Amerika Serikat, menunjukkan pada tahun 2008 terdapat 12.4 juta kasus kanker baru 7.6 juta kematian akibat kanker, dan 25 juta orang hidup dengan menderita kanker. Pada tahun 2030 diprediksi terjadi peningkatan penderita kanker lebih dari 300% (Atta-ur-Rahman, 2001). Salah satu jenis kanker yang dapat menyebabkan kematian adalah leukemia. Leukemia atau kanker darah merupakan jenis kanker yang mempengaruhi sumsum tulang dan jaringan getah bening (Saputra, *et al.*, 2000). Di Indonesia dilaporkan kematian akibat kanker ini meningkat setiap tahunnya mulai 1.4% pada tahun 1972 sampai 4.4% pada tahun 1992 (Atta-ur-Rahman, 2001). Mengingat tingginya jumlah penderita leukemia dan pengobatan melalui kemoterapi belum memberikan hasil yang baik, maka saat ini

penelitian mengenai leukemia dilakukan melalui pencarian obat-obatan alami dalam tumbuhan yang berpotensi sebagai alternatif agen antikanker.

Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai sumber senyawa aktif antileukemia adalah honje. Hal ini, didukung penelitian Hasbah *et al.*, (2005) yang melaporkan bahwa senyawa pada rimpang honje dapat menghambat pertumbuhan kanker. Dengan demikian menunjukkan bahwa penelitian mengenai antileukemia dari tanaman honje berpeluang untuk dikembangkan secara lebih luas pada bagian lainnya seperti bunga, kulit buah, dan biji termasuk melakukan karakterisasi fraksi aktif sitotoksik yang terkandung di dalamnya.

2. METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah, alat penghalus (*grinding mill*), alat-alat gelas, botol vial, kuvet, pipet tetes, corong pisah, timbangan analitik, penangas air listrik, kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan alumunium berlapis silika gel Kieselgel 60 F₂₅₄ 0.25 mm (Merck), kromatografi kolom gravitasi, kromatografi radial. Peralatan lain yang digunakan adalah *rotary evaporator* Heidolph, lampu ultraviolet (UV) dengan λ 254 dan 366, spektrofotometri UV-Vis Perkin Elmer Lambda 25, FTIR Perkin Elmer Spectrum One, dan LCMS/MS merk XEVO G2 S QTOF).

Bahan yang digunakan adalah biji honje (*E. elatior*) yang berasal dari desa Cintaratu Kecamatan Parigi Kabupaten Pangandaran dan dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong, Bogor. Bahan kimia berupa beberapa pelarut seperti metanol, etil asetat, *n*-heksan, kloroform, *n*-butanol, diklorometana, asam asetat yang berkualitas teknis terdestilasi, aseton, asam sulfat 2 N, AlCl₃, HCl, NaOAc, H₃BO₃, larva udang (*Brine Shrimp*), DMSO (*Dimethyl sulfoxide*), (sel leukemia P-388 yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi LIPI Serpong, FBS (*Fetal Bovine Serum*) 2%, dan larutan MTT (*3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida*).

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol dan

dipartisi menggunakan pelarut *n*-heksana dan etil asetat, uji fitokimia menggunakan pereaksi uji fitokimia (pereaksi Dragendorff, Meyer, dan Wagner: *alkaloid*, pereaksi Liberman-Burchard: *steroid dan terpenoid*, serbuk Mg dalam HCl 2N: *flavovoid*, akuades dan HCl 2 N: *saponin*, pereaksi etanol 70% dengan larutan FeCl₃ 5%: *fenol*) (Harborne, 1996), fraksinasi dengan metode kromatografi kolom gravitasi (KKG) menggunakan silika gel Kiesel 60 (merck) F₂₅₄ (0.20-0.50 mm), pemurnian isolat dengan cara rekristalisasi yang dianalisa dengan uji titik leleh dan KLT.

Uji Stotoksik

Uji sitotoksik terhadap sel murine leukemia P-388 secara *in vitro* dengan metode 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida(MTT) assay (Hidayati, 2012) yang dipandu uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (McLaughlin, et al, 1991) dengan perhitungan akumulasi mati dan hidup serta % mortalitas (Juniarti et al, 2009) dan penentuan nilai LC₅₀ menggunakan persamaan regresi linier (Meyer 1982), dan karakterisasi senyawa aktif menggunakan metode spektroskopi UV-VIS, FTIR, dan LCMS melalui tahapan preparasi sampel, pemeriksaan sampel, dan analisa data (Lukis dan Ersam, 2010).

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi pada biji honje yang diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol berupa ekstrak kental berwarna coklat sebanyak 326,18 gram dari 7.3 kg serbuk biji honje dengan rendemen sebesar 4.46% (Tabel 1). Ekstrak kasar metanol biji honje kemudian difraksinasi bertahap dengan cara ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut dengan kepolaran bertingkat menggunakan etil asetat dan *n*-heksan (Day dan Underwood, 2001). Ekstrak yang diperoleh dari hasil partisi dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40-50 °C.

Tabel 1. Hasil partisi ekstrak metanol biji honje

Jenis Ekstrak	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
<i>n</i> -Heksan	70.10	21.49
Etil asetat	86.5	26.51
Metanol-air	15.16	4.64

Tabel 2. Hasil uji fitokimia ekstrak biji honje

Golongan Kimia	Hasil Pengamatan		
	Ekstrak <i>n</i> -heksana	Ekstrak Etil asetat	Ekstrak Metanol-air
Flavonoid	-	+	+
Alkaloid	-	-	-
Triterpenoid	+	-	-
Steroid	-	-	-
Tannin	-	+	+
Saponin	-	-	-
Kuinon	-	-	-

Keterangan : + = Terdeteksi, - = Tidak terdeteksi

Tabel 3. Hasil uji toksisitas ekstrak biji honje

Sampel	LC ₅₀ (µg/mL)
Ekstrak Metanol-Air	780.74
Ekstrak Etil Asetat	163.871
Ekstrak <i>n</i> -heksana	361.498

Berdasarkan hasil uji fitokimia (tabel 2), ekstrak *n*-heksana biji honje mengandung terpenoid, ekstrak etil asetat dan metanol-air masing-masing mengandung flavonoid dan tanin. Uji toksisitas dengan metode BSLT dilakukan pada sampel biji honje hasil partisi menggunakan hewan uji larva udang *Artemia salina* Leach.

Hasil uji toksisitas berdasarkan metode BSLT menunjukkan bahwa ketiga ekstrak hasil partisi cair-cair biji honje memiliki potensi sebagai antikanker karena memiliki nilai LC₅₀<1000 µg/mL (tabel 3). Menurut Meyer (1982), suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai LC₅₀< 1000 µg/mL untuk ekstrak dan < 30 µg/mL untuk senyawa murni. Nilai LC₅₀ merupakan angka yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang dapat menyebabkan kematian sebesar 50% dari jumlah hewan uji. Berdasarkan uji toksisitas, ekstrak etil asetat biji honje memiliki nilai paling toksik yakni 163.871 µg/mL. Fraksinasi dilakukan menggunakan kromatografi kolom pada ekstrak etil asetat yang memiliki nilai LC₅₀ terendah. Hasil fraksinasi dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan menunjukkan adanya empat fraksi pada Rf 0.30; 0.44; 0.54; dan 0.66. Keempat fraksi tersebut memiliki berat masing-masing F1 2.89 gram, F2 2.83 gram, F3 0.47 gram dan F4 0.32 gram. Hasil uji toksisitas keempat fraksi menggunakan metode BSLT, menunjukkan F2

memiliki toksisitas paling tinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 19.555 $\mu\text{g/mL}$ (tabel 4).

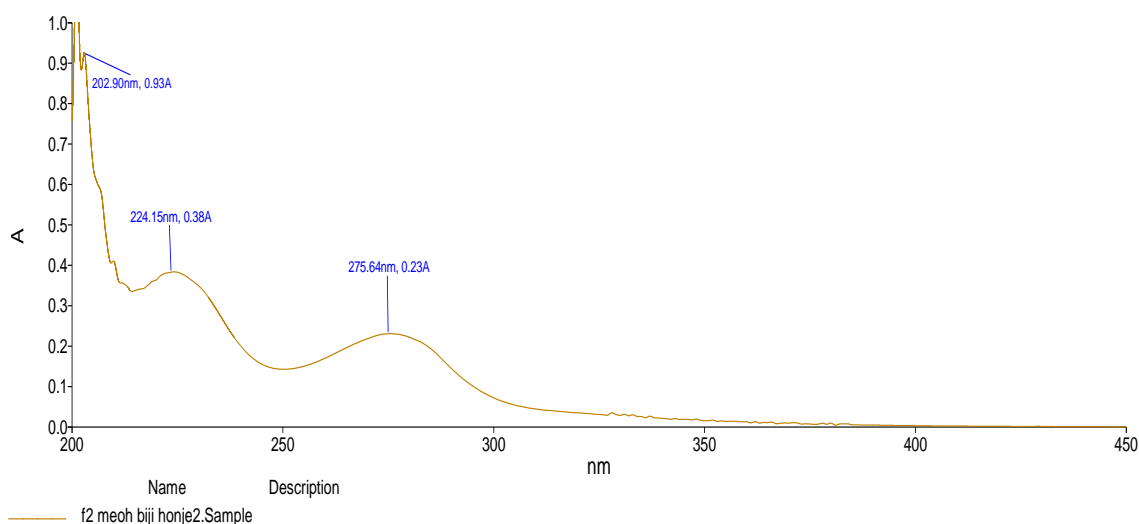
Tabel 4. Hasil uji toksisitas fraksi biji honje

Sampel	LC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Fraksi 1	27.859
Fraksi 2	19.555
Fraksi 3	58.753
Fraksi 4	105.005

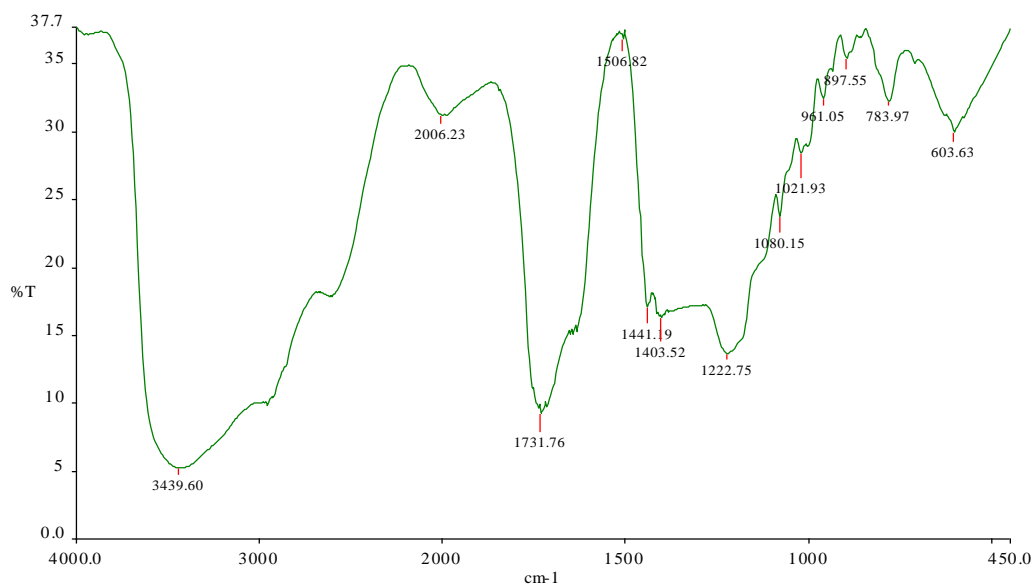
Fraksi 2 dari ekstrak etil asetat biji honje tersebut dianalisa menggunakan KLT dengan fase gerak etil asetat dan *n*-heksana (7:3) menunjukkan adanya tiga noda dengan nilai R_f masing-masing R_f 0.36 cm, 0.58 cm dan 0.64. Setelah dialisis menggunakan lampu UV, noda dengan R_f 0.58 cm merupakan noda yang paling dominan. Noda yang paling dominan tersebut kemudian diisolasi dari KLT preparatif dengan cara dilarutkan kedalam metanol, disaring agar terpisah dari silika KLT dan filtrat yang tersisa dikering udarakan sehingga didapatkan isolat fraksi 2. Hasil uji secara *in vitro* pada sel Leukemia P-388 menunjukkan bahwa isolat fraksi 2 memiliki sitotoksik sedang terhadap sel Leukemia P-388 dengan nilai IC_{50} sebesar 19.210 $\mu\text{g/mL}$ (Cho *et al.*, 1998). Berdasarkan hasil analisis spektrofotometri UV-Vis isolat fraksi 2 (Gambar 1) menunjukkan adanya dua serapan pada panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) 225.15 dan 275.64 nm. Serapan pada panjang gelombang 225,15 nm menunjukkan adanya transisi elektron $n \rightarrow \sigma^*$ yang disebabkan kromofor C-O (Creswell *et al.*, 2005).

Sedangkan transisi yang terjadi pada panjang gelombang 275.64 nm menunjukkan adanya transisi elektron $n \rightarrow \pi^*$ yang berasal dari kromofor C=O (Supratman, 2010).

Berdasarkan data kromatogram LCMS didapatkan beberapa senyawa yang dapat teridentifikasi berdasarkan waktu retensi menggunakan MassLynx software (Version 4.1) serta database *Massbank* dan *Chemspider* secara online pada tingkat kemiripan rata-rata diatas 90%. Terdapat 7 senyawa yang diduga bersifat antikanker, masing-masing pada waktu retensi 1.54 yang merupakan senyawa *resveratrol* (**1**) dengan massa molekul $[M+H]^+$ 229.0350 m/z. Senyawa pada waktu retensi 2.67 menit diduga merupakan senyawa *lapachol* (**2**) dengan berat molekul $[M+H]^+$ 243.0510 m/z. Senyawa pada waktu retensi 3.6 menit merupakan senyawa *6,2'-Dihydroxy flavanone* (**3**) dengan berat molekul $[M+H]^+$ 256.0660 m/z. Senyawa pada waktu retensi 4.61 menit merupakan senyawa *apigenin* (**4**) dengan berat molekul $[M+H]^+$ 271.0823 m/z. Senyawa pada waktu retensi 5.35 menit merupakan *Methylated chrysin* (**5**) dengan massa molekul $[M+H]^+$ 285.0982 m/z, terdeteksi pada waktu retensi 5.35 menit. Senyawa pada waktu retensi 6.09 menit merupakan senyawa *3-Hydroxy-3',4'-Dimethoxy flavone* (**6**) dengan massa molekul $[M+H]^+$ 299.1130 m/z. Senyawa pada waktu retensi 9.37 menit merupakan senyawa *4'-Hydroxy-5,7-Dimethoxy flavanone* (**7**) dengan massa molekul $[M+H]^+$ 301,1140 m/z. Spektrum senyawa isolate fraksi 2 pada masing-masing waktu retensi dapat dilihat pada tabel 6.



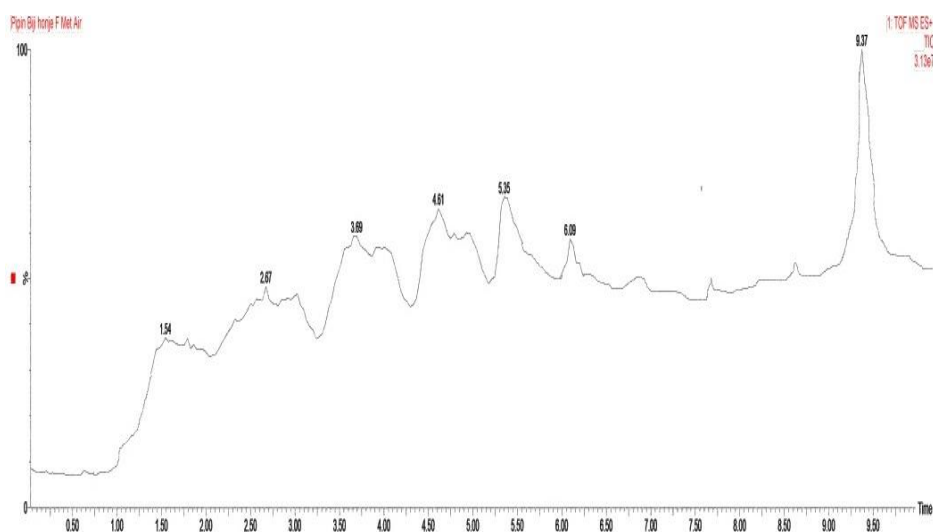
Gambar1. Spektrum UV-Vis isolat fraksi 2 ekstrak etil asetat biji honje



Gambar 2. Spektrum IR fraksi 2 dari ekstrak etil asetat biji honje

Tabel 5. Analisa gugus fungsi spektrum ftir isolat fraksi 2 dan referensi

Isolat	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)			Prakiraan Gugus Fungsi
	Sukadana (2010)	Creswell, et al, (2005)	Akbar (2010)	
3439.60	3000-3500	3200-3400	3000-3500	Regangan O-H
1731.76	1700-1725	1650-1900	-	Regangan C=O
1403.52 dan 1441.19	1400-1650	1475-1500	1450-1650	Tekukan C=C aromatic
1080.15; dan 1222.75	990-1100	1000-1260	1000-1230	Regangan C-O alcohol
897.55 dan 783.97	650-1000	650-1000	650-950	Regangan C-H



Gambar 3. Spektrum LCMS fraksi 2 biji honje

Tabel6. Senyawa aktif hasil analisa LCMS isolat fraksi 2

Waktu retensi	Massa Molekul [M+H] ⁺	Senyawa Dugaan	% Kemiripan
1.54	229.0350	Resveratol	96
2.67	243.0510	Lapachol	96
3.69	256.0660	6,2'-Dihydroxyflavanone	97
4.61	271.0823	Apigenin	98
5.35	285.0982	Methylated chrysin	95
6.09	299.1130	3-Hydroxy-3',4'-dimethoxyflavone	93
9.37	301.1143	4'-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavanone	95

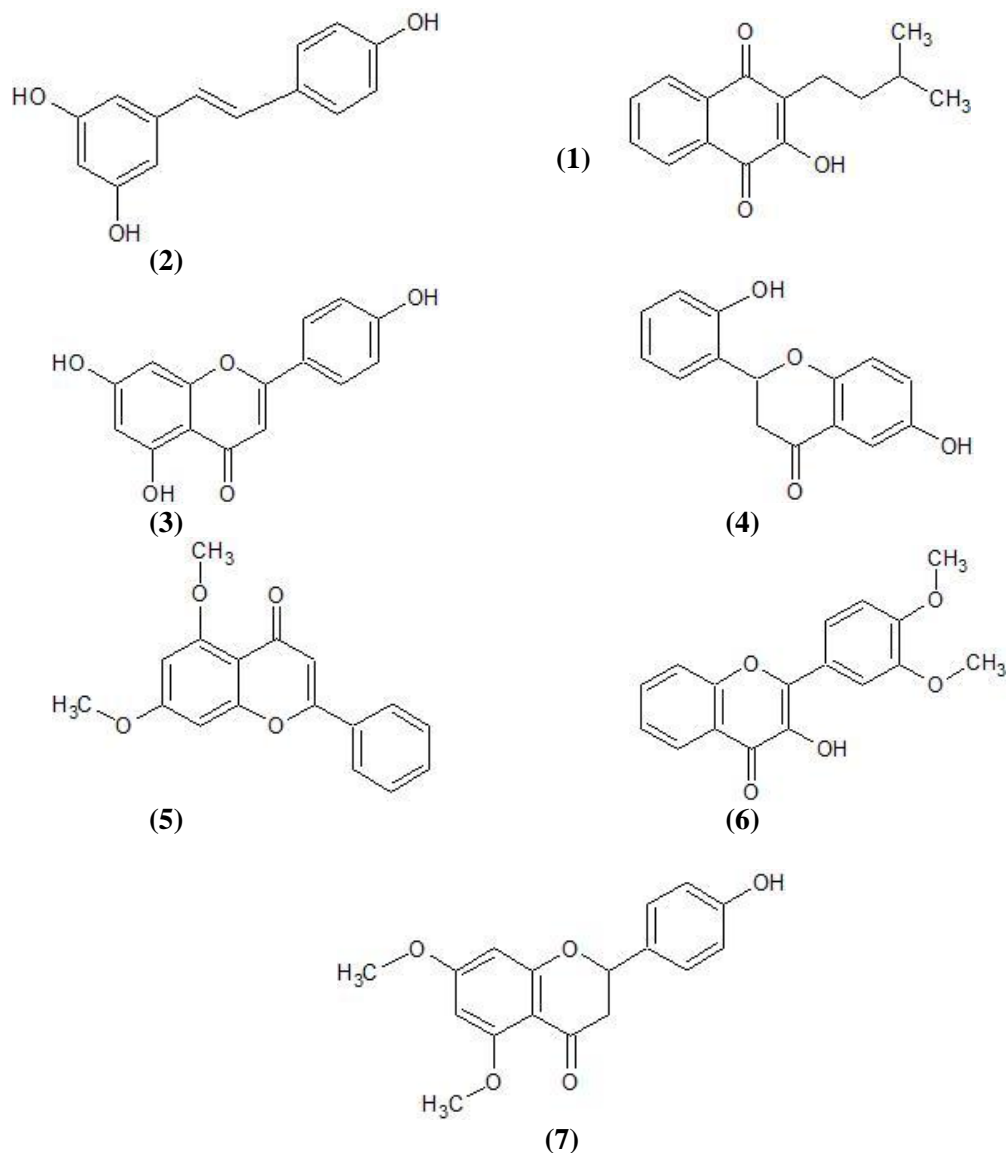
Senyawa-senyawa yang teridentifikasi ini merupakan senyawa dari golongan flavonoid. Hal ini sesuai dengan hasil serapan FTIR dan UV-Vis yang menunjukkan adanya gugus-gugus fungsi dari senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid yang terdapat pada isolate fraksi 2 ekstrak biji honje diduga memiliki hubungan dengan kematian larva *Artemia salina* Leach pada metode uji toksisitas BSLT. Adanya kandungan flavonoid pada fraksi 2 menyebabkan isolate bersifat toksik yang pada kadar tertentu dapat menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach.

Menurut Scheuer (1994) sifat toksik suatu tanaman dapat disebabkan karena adanya senyawa fenol seperti senyawa flavonoid, maka dapat dikatakan bahwa senyawa-senyawa flavonoid yang terkandung pada fraksi ekstrak etil asetat biji honje merupakan senyawa yang dapat mematikan larva udang pada uji toksisitas. Gugus OH pada flavonoid berikatan dengan protein integral membran sel larva. Hal ini menyebabkan ter bendungnya transport aktif Na⁺ - K⁺. Transpor aktif yang berhenti menyebabkan pemasukan ion Na⁺ yang tidak terkendali ke dalam sel, hal ini menyebabkan pecahnya membrane sel (Scheuer, 1994). Pecahnya membrane sel inilah yang menyebabkan kematian larva *Artemia salina* Leach.

Senyawa-senyawa flavonoid yang terkandung dalam isolate fraksi 2 diperkirakan memiliki kemampuan dalam menghambat sel Leukemia P-388. Menurut Wang *et al.*, (1999) senyawa golongan flavonoid seperti *apigenin*, *quercetin*, *myricetin* dan *chalcones* merupakan senyawa flavonoid yang dapat menghambat

aktivitas sel kanker Leukemia pada manusia. Hal ini sesuai dengan hasil analisis LCMS fraksi dari etil asetat biji honje mengandung salah satu senyawa sitotoksik apigenin.

Senyawa apigenin telah terbukti sebagai senyawa antikanker (Ruela-de-Sousa *et al.* 2010). Mekanisme apigenin dalam menghambat siklus kanker adalah dengan cara menghambat aktivitas protein faktor pemicu siklus sel yakni tirosin kinase (Huang, *et al.*, 1996). Protein tirosin kinase (PTK) merupakan enzim tirosin kinase yang terlibat dalam berbagai jalur signaling dan meregulasi fungsi fundamental sel seperti regulasi terhadap proliferasi dan diferensiasi sel, siklus sel, migrasi sel, keberlangsungan hidup sel, dan modulasi pada metabolisme seluler. Aktivitas yang tidak terkontrol dari enzim ini karena mutasi atau overekspresi, dapat menyebabkan kanker (Ikawati, 2008). Senyawa apigenin bertugas menghambat jalur transduksi sinyal dari membran ke sel inti dengan cara bersaing dengan ATP dalam berikatan dengan ATP-binding sites sehingga tidak terjadi perubahan ATP menjadi cAMP yang merupakan molekul signaling intraseluler atau *second messenger* yang dapat mengaktifkan protein tirosin kinase (Huang, 1996). Selain itu senyawa apigenin juga dapat menghambat protein *growth factor* TNF yang merupakan senyawa protein pemicu timbulnya sel kanker. TNF merupakan polipeptida atau agen karsinogenik yang dapat mempengaruhi proliferasi tumor, mengubah struktur sel dan berperan dalam metastasis sel kanker. Apigenin dapat menghambat produksi TNF dengan cara menurunkan progresifitas tumor (Junedy, 2005).



Gambar 4. Struktur senyawahasil analisa LCMS isolat fraksi 2: *resveratrol* (1), *lapachol* (2), *6,2'-dihydroxy flavanone* (3), *apigenin* (4), *methylated chrysin* (5), *3-hydroxy-3',4'-dimethoxy flavone* (6) dan *4'-hydroxy-5,7-dimethoxy flavanone* (7).

4. SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan pada biji honje maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ekstrak etil asetat biji honje memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel leukemia P-388 MTT *essay* dengan IC_{50} sebesar 19.210 $\mu\text{g/mL}$ yang dipandu uji toksisitas terhadap udang *Artemia salina* Leach. menggunakan metode BSLT.
2. Hasil karakterisasi fraksi 2 dengan menggunakan UV-Vis, FTIR dan LCMS menunjukkan adanya senyawa-senyawa *resveratrol*, *lapachol*, *apigenin*, *methylated*

chrysin, *6,2'-dihydroxyflavanone*, *3-hydroxy-3,4'-dymethoxyflavone* dab *4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavanone*. Senyawa yang diduga bersifat toksik dan dapat menghambat sel leukemia P-388 adalah senyawa golongan flavonoid.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Kepala Pusat Penelitian dan Penerbitan Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat UIN Syarif Hidayatullah Jakarta yang telah membantu mendanai penelitian, Kepala Pusat Laboratorium Terpadu UIN

Syarif Hidayatullah Jakarta yang telah memfasilitasi penelitian ini, serta Pimpinan dan staf Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Cibinong Jawa Barat, yang telah membantu mengidentifikasi spesimen tumbuhan.

DAFTAR PUSTAKA

- Antoro ED. 1995. Skrinng fitokimia rimpang *Nicolaia speciosa* Horan. secara mikrokimiawi kromatografi lapis tipis, dan spektrofotometri UV. [Skripsi]. Yogyakarta (ID): Fakultas Farmasi UGM.
- Atta-ur-Rahman, Choudhary MI, Thomsen WJ. 2001. *Bioassay Techniques for Drug Development*. USA: Har-wood Academic Publisher.
- Chan EWC, Lim YY, Omar M. 2007. Antioxidant and antibacterial activity of leaves of *Etlingera* species (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia. *Food Chemistry*. 104: 1586–1593.
- Cho S, Kim HH, Lee MJ, Lee S, Park CS, Nam SJ. 1988. Novel cytotoxic polyphenylated xanthenes from *Garcinia gaudichaudii* (Guttiferae). *Journal of Tetrahedron Research*. (54): 10915-10924.
- Day RA, AL Underwood. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif. Edisi Keenam*. Jakarta (ID): Erlangga.
- Habsah M, Lajis NH, Sukari MA, Yap YH, Kikuzaki H, Nakatani N, Ali AM. 2005. Antitumour-promoting and cytotoxic constituentss of *Etlingera elatior*. *Malaysian Journal of Medical Sciences*. 12: 6-12.
- Hidayat SS, Hutapea JR. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Edisi I: 440-441. Badan Penelitian dan Pengembangan Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Huang Y, Kuo M, Liu J, Huang S, Lin J. 1996. Inhibitions of protein kinase C and proto-oncogene expressions in NIH 3T3 cells by apigenin. *Europe Journal of Cancer*. 32: 146–151.
- Ikawati Z. 2008. *Pengantar Farmakologi Molekuler*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press
- Jaafar FM, Osman CP, Ismail NH, Awang K. 2007. Analysis of essential oils of leaves, stems, flowers and rhizomes of *Etlingera elatior* (JACK) R. M. SMITH. *The Malaysian Journal of Analytical Sciences*. 11 (1): 269-273.
- Juniarti D, Osmeli, Yuhernita. 2009. Kandungan senyawa kimia, uji toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan antioksidan (1,1-diphenyl-2-pikrilhidrazyl) dari ekstrak daun saga (*Abrus precatorius L.*). *MAKARA SAINS*. 13(1): 50-54.
- Lukis PA, Ersam T. 2010. Dua Senyawa Mangostin dari ekstrak n-heksan pada kayu akar Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Asal Kabupaten Nganjuk Jawa Timur. Prosiding Kimia FMIPA ITS. Surabaya: ITS Surabaya.
- Maimulyati A, Prihadi AR. 2015. Cehmical composition, phytochemical and antioxidant activity from extract of *Etlingera elantior* flower from Indonesia. *Journal of Pharmacognocny and Phytochemistry*. 3(6): 233-238.
- Meyer BNNR, ML Ferrigni. 1982. Brine shrimp a convinient general bioassay for active plant constituents. *Journal of Plant Medical Research*. 45: 31-34.
- Mc Laughlin JL, Chang CJ, Smith DL. 1991. *Bench-Top, Bioassay for The Discovery of Bioactive Naturals Products, An Update, Natural Product Chemistry*. Amsterdam (NL): Elseiveir.
- Naufalin R. 2005. Kajian Sifat Antimikroba Bunga Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap Berbagai Mikroba Patogen dan Perusak Pangan. [Disertasi]. Bogor (ID): Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Ruela-de-Sousa, Fuhler GM, Blom N, Ferreira CV, Aoyama H, Peppelenbosch MP. 2010. Cytotoxicity of Apigenin on leukemia cell lines: implications for prevention and therapy. *Cell Death Dis*. 1(1): 19.
- Saputra K. 2000. *Terapi Biologi Untuk Kanker*. Surabaya (ID): Airlangga University Press.2010.
- Supratman U. 2010. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Bandung (ID): Widya Padjajaran.
- Scheuer PJ. 1994. Ciguatera and its offshoots: encounters en route to a molecular structure. *Tetrahedron*.50:318.

Wang IKI, Lin-Shiau SY, Lin JK. 1999. Induction of apoptosis by apigenin and related flavonoids through cytochrome c release and activation of caspase-9 and caspase-3 in leukemia HL-60 cells. *European Journal of*

Cancer. 35(1): 1517-1525.

Creswell J, Clifford, Ollaf AR, Malcolm C. 2005. *Analisis Spektrum Senyawa organik*. Bandung (ID): ITB.