

**PENETAPAN KADAR FLAVONOID DAN FENOLIK EKSTRAK ETANOL TANAMAN  
PARIJOTO (*Medinilla speciosa*) SERTA AKTIVITAS SITOTOKSIKNYA TERHADAP  
SEL KANKER SERVIKS HELA**

**DETERMINATION OF FLAVONOID AND PHENOLIC CONTENT OF ETHANOL  
EXTRACT OF PARIJOTO PLANT (*Medinilla speciosa*) AND THEIR CYTOTOXIC  
ACTIVITY AGAINST HELA CERVICAL CANCER CELLS**

**Adha Qudsiya Dewi Lutfiani, Muhammad Da'i\***  
**Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta**  
**\*E-mail: [m.dai@ums.ac.id](mailto:m.dai@ums.ac.id)**

**Abstrak**

Tanaman parijoto mempunyai banyak khasiat untuk tubuh manusia. Satu di antaranya sebagai agen antikanker. Tujuan penelitian ini guna mengetahui berapa kadar flavonoid dan fenolik serta aktivitas sitotoksik yang terjadi pada ekstrak etanol tanaman parijoto terhadap sel kanker serviks HeLa. Digunakan bagian daun dan buah dari tanaman parijoto. Daun dan buah parijoto dimaserasi selama 2 hari dalam pelarut etanol 95% lalu dipekatkan hingga terbentuk ekstrak kental. Senyawa yang terkandung di ekstrak etanol daun dan buah parijoto dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis. Hasil KLT membuktikan dimana ekstrak daun dan buah parijoto didapati senyawa flavonoid dan fenolik. Penetapan kadar flavonoid dan fenolik diuji dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Kadar flavonoid dan fenolik pada ekstrak etanol daun parijoto adalah 56,62 mg QE/g sampel dan 159,61 mg GAE/g sampel. Pada uji sitotoksik dengan menggunakan metode MTT assay, diperoleh ekstrak etanol daun dan buah parijoto mempunyai aktivitas sitotoksik moderat dengan  $IC_{50}$  masing-masing 457,08  $\mu$ g/mL dan 363,07  $\mu$ g/mL.

**Kata Kunci:** parijoto, flavonoid, fenolik, sitotoksik, sel HeLa.

**Abstract**

*Parijoto plants have many benefits for the human body. One of them as an anticancer agent. The purpose of this study was to determine the levels of flavonoids and phenolics as well as the cytotoxic activity that occurred in the ethanol extract of the Parijoto plant against HeLa cervical cancer cells. The leaves and fruit of the parijoto plant are used. Parijoto leaves and fruit were macerated for 2 days in 95% ethanol solvent and then concentrated to form a thick extract. The compounds contained in the ethanol extract of parijoto leaves and fruit were analyzed using thin layer chromatography. The results of TLC proved that the extracts of parijoto leaves and fruits were found to have flavonoid and phenolic compounds. Determination of flavonoid and phenolic levels was tested by UV-Vis spectrophotometry method. The levels of flavonoids and phenolics in the ethanol extract of parijoto leaves were 56.62 mg QE/g sample and 159.61 mg GAE/g sample. In the cytotoxic test using the MTT assay method, the ethanol extract of parijoto leaves and fruit had moderate cytotoxic activity with  $IC_{50}$  of 457.08 g/mL and 363.07 g/mL, respectively.*

**Keywords:** parijoto, flavonoid, phenolic, cytotoxic., HeLa cell.

## PENDAHULUAN

Indonesia memiliki berbagai macam tanaman yang kaya akan manfaat. Salah satu tanaman tersebut adalah parijoto (*Medinilla speciosa*). Lereng Gunung Muria, Kabupaten Kudus Jawa Tengah adalah asal dari tanaman parijoto (Wibowo *et al.*, 2012). Penelitian oleh Tussanti *et al.* (2014), komponen fitokimia golongan flavonoid dan saponin positif terkandung dalam buah parijoto. Wachidah (2013) dalam penelitiannya memperoleh hasil bahwa terkandung senyawa flavonoid dan fenolik pada ekstrak buah parijoto.

Senyawa flavonoid dan fenolik diketahui memiliki aktivitas antikanker yang bisa membuat pertumbuhan sel kanker terhambat dan membunuh sel kanker tersebut (Nuraini *et al.*, 2015). Senyawa fenolik memiliki efek anti-karsinogenik yang dapat menghentikan siklus sel, menghambat kaskade pensinyalan onkogenik yang mengendalikan proliferasi sel, angiogenesis dan apoptosis (Anantharaju *et al.*, 2016). Di dalam asam fenolik terkandung senyawa asam galat. Asam galat telah menunjukkan potensi aktivitas antikanker karena kemampuannya untuk menghambat proliferasi sel dan menginduksi apoptosis (Sun *et al.*, 2016). Abotaleb *et al.*, (2019) dalam penelitiannya telah menunjukkan bahwa flavonoid berpotensi besar sebagai salah satu agen anti kanker sitotoksik yang mempromosikan apoptosis dalam sel kanker. Contoh senyawa flavonoid yang memiliki potensi sebagai antikanker adalah kuersetin. Kuersetin telah mampu memberikan pencegahan oksidasi low-density lipoprotein (LDL) dan dapat membantu dalam penangkalan penyakit tertentu, seperti kanker, peradangan kronis, dan aterosklerosis (Arifin and Ibrahim, 2018).

Kanker maupun tumor ganas adalah penyakit yang dapat menyerang bagian manapun dalam tubuh manusia (WHO, 2018). Menurut globocan (2020), jenis kanker yang kerap diderita oleh perempuan di Indonesia peringkat kedua setelah kanker payudara adalah kanker serviks. Pengobatan kanker memiliki standar yang telah ditentukan diantaranya adalah operasi atau *surgery*, kemoterapi, radiasi dan terapi hormonal yang sudah disesuaikan dengan indikasi patologi (Kemenkes RI, 2013). Telah banyak penelitian yang dikembangkan untuk menemukan senyawa alami dengan potensi aktivitas antikanker dan beberapa agen yang berasal dari tanaman (misalnya, paclitaxel, docetaxel, vinblastine, vincristine, topotecan, irinotecan, etoposide, dll.) yang berhasil digunakan untuk pengobatan kanker (Sak, 2014). Berdasarkan penelitian Artanti *et al.*, (2020) Ekstrak metanol buah parijoto memiliki efek sitotoksik moderat pada sel HeLa. Sementara itu, Tussanti *et al.*, (2014) melakukan penelitian sitotoksik ekstrak etanolik buah parijoto pada sel kanker payudara T47D. Hasil yang diperoleh adalah ekstrak etanolik buah parijoto memiliki toksisitas yang moderat dan dapat berpotensi sebagai agen kemoprevensi. Penelitian ini dilakukan untuk menetapkan kadar flavonoid dan fenolik pada tanaman parijoto. Bagian yang digunakan yaitu daun dan buah dari tanaman parijoto. Kemudian dilakukan uji aktivitas sitotoksik dengan ekstrak etanol tanaman parijoto terhadap sel kanker serviks HeLa. Oleh karena itu, diharapkan ekstrak etanol tanaman parijoto dapat memiliki aktivitas sitotoksik dan dapat menjadi salah satu agen antikanker yang memberikan manfaat baik untuk kesehatan manusia.

## METODE

### Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan diantaranya alat gelas (labu takar, batang pengaduk, gelas beker, corong, gelas ukur, *chamber* KLT, corong pisah, pipet tetes, pipet ukur, cawan petri), *blender*, peralatan maserasi, *rotary evaporator*, corong *vacuum buchner*, kertas saring, *waterbath*

(Mimmert), pipa kapiler, lampu UV, propipet, mikropipet, kuvet, oven, spektrofotometri UV-Vis (UV SHIMADZU 1280), ELISA reader (ELX 800 BioTech), CO2 incubator (Heracus), laminar air flow (Esco), mikroskop inversi (Olympus), hemositometer (Marienfield Germany), counter, kamera, conical tube, timbangan analitik (OHAUS), 96 - well plate, eppendorf, kalkulator.

Bahan-bahan yang digunakan di antaranya daun dan buah dari tanaman parijoto (*Medinilla speciosa*), sel Hela, etanol 95%, etanol p.a, n-hexane, etil asetat, silica gel GF254, aquadest, penampak noda sitoborat, penampak noda FeCl<sub>3</sub>, kuersetin, AlCl<sub>3</sub> 10%, asam asetat 5%, asam galat, Folin- Ciocalteu, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20%, yellow tip, blue tip, RPMI, PBS (Phosphate Buffer Saline), MTT (3-(4,5-dimetil thiazol-2il) - 2,5-difeniltetrazoliumbromida), stopper SDS (Sodium Deodecyl Sulphate) dalam 0,01 N HCl, FBS (Fetal Bovine Serum), penisilin-streptomisin, tripsin-EDTA (tripsin 0,25%), DMSO, aluminium foil, label penanda.

### **Jalannya penelitian**

#### **Persiapan Bahan**

Tanaman parijoto diperoleh dari lereng Gunung Muria yang terletak di Desa Colo, Kabupaten Kudus Jawa Tengah. Daun dan buah dari tanaman parijoto dilakukan uji determinasi terlebih dahulu untuk pemastian sampel yang digunakan. Kemudian dilakukan pengeringan sampel untuk memperoleh simplisia yang akan digunakan untuk maserasi. Daun dan buah parijoto dirajang kecil kemudian dikeringkan dalam almari pengering. Digunakan blender untuk menghaluskan daun dan buah parijoto yang telah kering hingga menjadi serbuk. Serbuk lalu disimpan pada tempat kering, tertutup rapat, dan jauh dari sinar matahari langsung.

#### **Ekstraksi Tanaman Parijoto**

Serbuk daun dan buah tanaman parijoto diekstraksi dengan metode maserasi. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 95 %. Perbandingan serbuk : pelarut adalah 1 : 10 (Vifta and Advistasari, 2018). Maserasi dilakukan selama 2 hari kemudian dilanjutkan dengan remaserasi. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan corong buchner dan filtratnya diuapkan pada suhu 50 °C menggunakan rotary evaporator. Ekstrak yang dihasilkan dipekatkan diatas waterbath selama 5 jam dengan suhu 60 °C hingga terbentuk ekstrak daun dan buah parijoto yang kental dan pekat.

#### **Uji Kromatografi Lapis Tipis**

Senyawa pada ekstrak tanaman parijoto diidentifikasi menggunakan metode KLT. N - heksan : etil asetat digunakan untuk fase gerak dengan perbandingan 8:2. Silika gel GF254 digunakan untuk fase diam. Senyawa flavonoid dideteksi oleh reagen sitroborat yang disemprotkan pada plat KLT. Warna yang dihasilkan adalah warna kuning kehijauan pada sinar UV 366. Senyawa fenolik dideteksi dengan cara menyemprotkan plat KLT menggunakan reagen FeCl<sub>3</sub>. Pada sinar tampak terbentuk warna hitam (Kharima, 2019). Kemudian dihitung nilai R<sub>f</sub> dengan menggunakan rumus:

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh zat yang diteliti}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}} \quad (1)$$

#### **Penetapan Kadar Flavonoid**

##### **Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin**

Kuersetin ditimbang sejumlah 10,0 mg kemudian dilarutkan menggunakan etanol 95 % dalam labu takar 10 mL (konsentrasi menjadi 1000 µg/mL). Larutan kuersetin konsentrasi 100 µg/mL

dibuat dengan cara mengambil 1 mL dari larutan induk 1000 µg /mL dan ditambahkan etanol pro analisis ke dalam labu takar 10 mL. Sejumlah 500 µL larutan kuersetin 100 µg/mL dilakukan reaksi dengan 1,5 mL etanol 95%, 100 µL AlCl<sub>3</sub> 10%, 100 µL asam asetat 5 % dan 2,8 mL etanol pro analisis. Lalu dibaca absorbansi dengan rentang panjang gelombang 350-500 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

#### **Penentuan Operating Time Kuersetin**

Sejumlah 500 µL larutan kuersetin 100 µg/mL dilakukan reaksi dengan 1,5 mL etanol 95%, 100 µL AlCl<sub>3</sub> 10%, 100 µL asam asetat 5 % dan 2,8 mL etanol pro analisis. Absorbansi dibaca dengan panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan setiap menit mulai menit ke 0 sampai menit ke 30 menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

#### **Penentuan Kurva Baku Kuersetin**

Larutan induk kuersetin 1000 µg/mL diambil sejumlah 500 µL, 600 µL, 700 µL, 800 µL, dan 900 µL masing-masing dilarutkan pada etanol pro analisis dalam labu takar 10 mL. Seri konsentrasi yang terbentuk adalah 50 µg/mL, 60 µg/mL, 70 µg/mL, 80 µg/mL, dan 90 µg/mL. Diambil larutan konsentrasi sejumlah 500 µL dan dilakukan reaksi dengan 1,5 mL etanol 95%, 100 µL AlCl<sub>3</sub> 10%, 100 µL asam asetat 5 % dan 2,8 mL etanol pro analisis. Dilakukan inkubasi larutan selama *operating time* dan dibaca absorbansi di panjang gelombang maksimum dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Kurva kalibrasi dibuat dengan cara menghubungkan koordinat (y) untuk nilai absorbansi dan absis (x) untuk konsentrasi larutan standar.

#### **Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun dan Buah Parijoto**

Masing-masing ekstrak ditimbang 10,0 mg lalu dilarutkan pada labu takar 10 mL dengan etanol pro analisis. Diambil masing-masing larutan ekstrak sejumlah 500 µL dan direaksikan dengan 1,5 mL etanol 95%, 100 µL AlCl<sub>3</sub> 10%, 100 µL asam asetat 5 % dan 2,8 mL etanol pro analisis. Dilakukan inkubasi larutan selama *operating time* dan absorbansinya dibaca di spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum. Selanjutnya dilakukan 3 kali pengulangan (Gultom, 2020). Kadar flavonoid total (mg QE/g sampel) dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar flavonoid total (mg QE/g sampel)} = \frac{C_f \times V \times FP}{M} \quad (2)$$

#### **Penetapan Kadar Fenolik**

##### **Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat**

Asam galat ditimbang sebanyak 1,25 mg dan dilarutkan menggunakan metanol pro analisis pada labu takar 10 mL (konsentrasi 125 µg/mL). Diambil 300 µL larutan asam galat 125 µg/mL lalu ditambah 7,7 mL aquabidestilata dan 500 µL larutan *Folin-Ciocalteu*, vortex ± 1 menit. Biarkan 4-8 menit, dan berikan 1,5 mL larutan natrium karbonat 20%. Dilakukan inkubasi selama 90 menit. Kemudian dibaca absorbansi di spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400 - 800 nm.

##### **Penentuan Operating Time Asam Galat**

Diambil 300 µL larutan asam galat 125 µg/mL tambahkan dengan 7,7 mL aquabidestilata dan 500 µL larutan *Folin-Ciocalteu*, vortex ± 1 menit. Biarkan 4-8 menit, dan berikan 1,5 mL larutan natrium karbonat 20%. Absorbansi dibaca dengan panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh setiap menit mulai menit ke 0 sampai menit ke 90 menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

### Penentuan Kurva Baku Asam Galat

Larutan induk asam galat 500 µg/mL dibuat menggunakan 12,5 mg asam galat dan dilarutkan di labu takar 25 mL dengan menggunakan metanol pro analisis. Diambil sejumlah 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, dan 5 mL dimana masing-masing dilarutkan dengan metanol pro analisis dalam labu takar 10 mL. Seri konsentrasi yang terbentuk adalah 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL, 200 µg/mL, dan 250 µg/mL. Diambil masing-masing larutan konsentrasi sejumlah 300 µL ditambahkan dengan 7,7 mL aquabidestilata dan 500 µL larutan *Folin-Ciocalteu*, vortex ± 1 menit. Biarkan 4-8 menit, selanjutnya berikan 1,5 mL larutan natrium karbonat 20%. Dilakukan inkubasi larutan selama *operating time* dan dibaca absorbansi di panjang gelombang maksimum dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Kurva kalibrasi dibuat dengan cara menghubungkan koordinat (y) untuk nilai absorbansi dan absis (x) untuk konsentrasi larutan standar.

#### 2.2.5.4 Penetapan Kadar Fenolik Ekstrak Daun dan Buah Parijoto

Masing-masing ekstrak ditimbang 10,0 mg kemudian dilarutkan pada labu takar 10 mL dengan metanol pro analisis. Diambil masing-masing larutan ekstrak sejumlah 300 µL ditambahkan dengan 7,7 mL aquabidestilata dan 500 µL larutan *Folin-Ciocalteu*, vortex ± 1 menit. Biarkan 4-8 menit, selanjutnya tambahkan 1,5 mL larutan natrium karbonat 20%. Dilakukan inkubasi larutan selama *operating time* kemudian dibaca absorbansinya di panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dilakukan 3 kali pengulangan (Manurung, 2021). Kadar fenolik total (mg GAE/g sampel) dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar fenolik total (mg GAE/g sampel)} = \frac{Cf \times V \times FP}{M} \quad (3)$$

### Uji Sitotoksik Ekstrak Tanaman Parijoto Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa

#### Panen Sel

Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol tanaman parijoto diuji dengan metode MTT assay. Pemanenan sel kanker serviks HeLa dilakukan bila sudah 80 % konfluen. Sel dikeluarkan dari inkubator CO<sub>2</sub>, kemudian media dibuang menggunakan pipet *pasteur* steril, lalu dicuci menggunakan 5 mL PBS (volume PBS ½ volume media awal) kemudian diulang sebanyak 2 kali. Tambahkan 450 µL tripsin- EDTA (tripsin 0,25 %) secara merata dan diinkubasikan selama 4 menit dalam inkubator CO<sub>2</sub>. Selanjutnya tripsin diinaktifkan dengan menambahkan 5 mL media RPMI. Sel diperiksa di bawah mikroskop. Apabila sel belum terpisah (menggerombol) dilakukan resuspensi kembali. Sel yang dilepaskan dipindah dalam *conical tube* baru yang sudah steril (CCRC UGM, 2009a).

#### Perhitungan Sel

Diambil 10 µL hasil panen sel dengan pipet dan diteteskan ke hemasitometer. Jumlah sel dilakukan perhitungan dengan menggunakan *counter* (CCRC UGM, 2009b). Ditentukan jumlah sel yang akan ditransfer dan jumlah media yang akan ditambahkan. Kemudian diambil panen sel dan ditambahkan media hingga volume yang diperlukan. Sel ditransfer ke dalam *96 well-plate*, 100 µL setiap sumuran. Disisakan 6 sumuran kosong sebagai kontrol media. Selanjutnya dilakukan inkubasi sel ke dalam inkubator CO<sub>2</sub> dalam waktu 24 jam.

#### Preparasi Sampel

Ekstrak etanol daun dan buah tanaman parijoto masing-masing ditimbang 10 mg dalam *ependorf*. Tambahkan 100 µL DMSO dan vorteks sampai larut. Serangkaian konsentrasi sampel kemudian disiapkan dengan mengencerkan larutan stok dalam DMSO menggunakan

media kultur RPMI. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah, 50, 100, 250, 500, dan 1000 µg/mL. Dibuat juga larutan untuk kontrol sel, kontrol pelarut, dan kontrol positif (CCRC UGM, 2009c).

### Perlakuan Sampel pada Sel

*Plate* dikeluarkan dari inkubator CO<sub>2</sub> dan diperiksa kondisi selnya. Apabila sel siap untuk diberi perlakuan, maka dapat dilanjutkan dengan membuang media sel (balikkan *plate* 180 °C) di atas tempat buangan yang sudah diberi tisu. *Plate* ditekan secara perlahan untuk meniriskan sisa cairan. Kemudian masukkan 100 µL PBS pada tiap sumuran, dan *plate* dibalik kembali untuk membuang PBS. Dimasukkan seri konsentrasi yang sudah dibuat ke dalam sumuran sesuai peta. Dilakukan 3 kali replikasi tiap konsentrasi. *Plate* kemudian diinkubasi dalam waktu 24 jam di inkubator CO<sub>2</sub>.

### Uji Sitotoksik dengan MTT assay

Setelah selesai inkubasi, dimasukkan reagen MTT pada semua sumuran (termasuk kontrol media) dan kembali diinkubasi dalam waktu 2 jam di inkubator CO<sub>2</sub>. Apabila telah terbentuk kristal formazan, tambahkan reagen *stopper* ( SDS 10 % dalam 0,01 N HCl ) sebanyak 100 µL pada tiap-tiap sumuran. Kemudian bungkus *plate* dengan *aluminium foil*, lalu diinkubasi di ruangan gelap selama semalam dalam suhu kamar. Absorbansi dibaca menggunakan ELISA reader dengan panjang gelombang 595 nm. Dihitung persentase sel hidup dan IC<sub>50</sub> (CCRC UGM, 2013).

### Analisis Data Uji Sitotoksik

Persentase sel hidup yang memiliki nilai hasil absorbansi dari kontrol pelarut sama dengan nilai absorbansi dari kontrol sel bisa dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{Abs perlakuan} - \text{Abs media}}{\text{Abs Sel} - \text{Abs media}} \times 100 \quad (4)$$

Grafik perbandingan log konsentrasi vs % sel hidup dibuat berdasarkan data perhitungan, dan nilai r ditentukan berdasarkan regresi linearnya. Nilai IC<sub>50</sub> sebagai x ditentukan berdasarkan regresi linear grafik log konsentrasi dibanding % sel hidup, dengan menggunakan nilai y = 50% pada persamaan regresi linear (  $y = b x + a$  ) (CCRC UGM, 2013).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Determinasi Tanaman Parijoto

Tanaman Parijoto yang diteliti dideterminasi di Laboratorium Agroteknologi Universitas Darussalam Gontor. Tujuannya untuk mengetahui kebenaran dari klasifikasi tanaman parijoto agar terhindar dari kesalahan dalam pemilihan dan penggunaan sampel. Identifikasi menghasilkan bahwa tanaman parijoto yang digunakan sesuai dengan klasifikasi *Medinilla speciosa* yang berasal dari keluarga *Myrtales*.

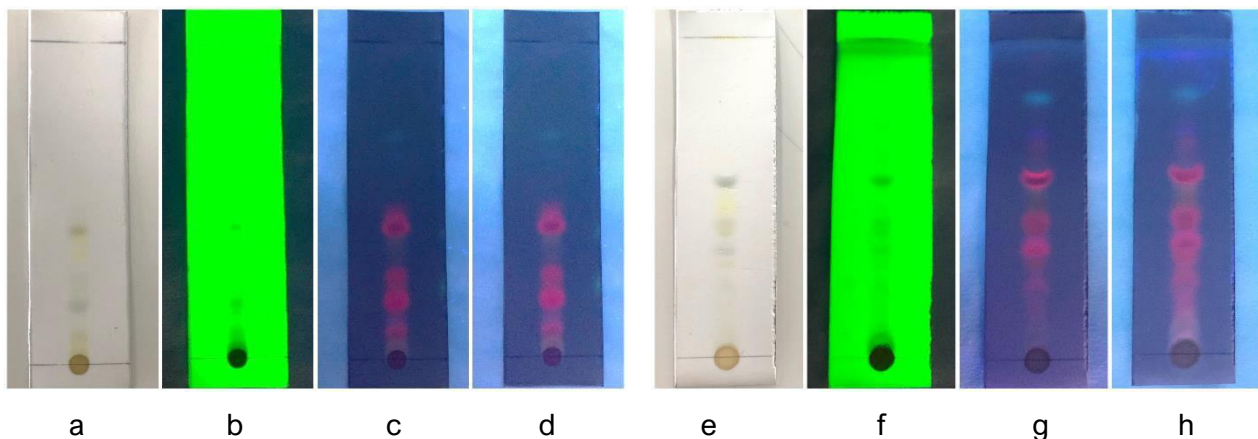
### Ekstraksi Tanaman Parijoto

Metode yang digunakan untuk mengekstrak tanaman parijoto yaitu maserasi. Serbuk simplisia daun dan buah parijoto direndam dalam cairan penyari pada suhu kamar. Simplisia daun parijoto yang dihasilkan setelah melalui proses pengeringan adalah 240 g. Sedangkan pada buah parijoto diperoleh simplisia sejumlah 168 g. Etanol 95 % dipilih sebagai pelarut ekstraksi dikarenakan etanol memiliki sifat yang polar. Bahan aktif yang dihasilkan juga lebih mudah dan optimal untuk berpenetrasi masuk ke dalam sel untuk menarik semua zat aktif baik yang

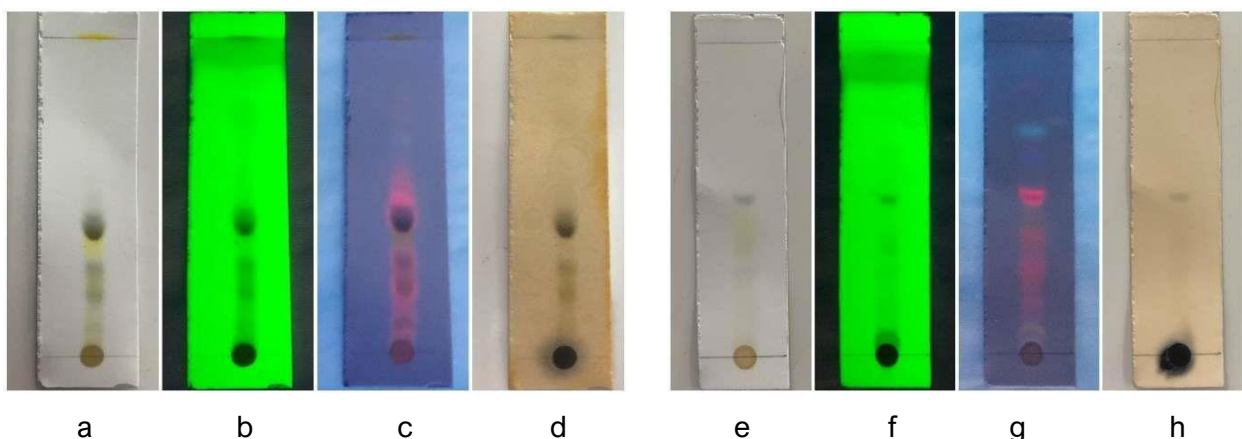
memiliki sifat polar, semipolar, ataupun nonpolar (Rahayu, 2020). Ekstrak kental daun dan buah parijoto yang diperoleh masing-masing yaitu 20,66 g dan 11,92 g dengan masing-masing rendemennya adalah 8,60 % dan 7,09 %.

### Uji Kromatografi Lapis Tipis

Uji kualitatif KLT memiliki banyak kelebihan karena KLT adalah salah satu metode yang sederhana dan hampir semua senyawa dapat diaplikasikan pada teknik pemisahan KLT. Waktu yang dibutuhkan untuk pemisahan senyawa cukup singkat dengan biaya yang tidak terlalu mahal (Rosamah, 2019). Ekstrak daun dan buah parijoto dielusi menggunakan n - heksan : etil asetat (8:2) untuk fase gerak dan silika GF254 untuk fase diam.



**Gambar 1.** Uji KLT Flavonoid daun parijoto pada sinar tampak (a), sinar UV 254 (b), sinar UV 366 (c), sinar UV 366 setelah disemprot sitroborat (d), Uji KLT Flavonoid buah parijoto pada sinar tampak (e), sinar UV 254 (f), sinar UV 366 (g), sinar UV 366 setelah disemprot sitroborat (h).



**Gambar 2.** Uji KLT Fenol daun parijoto pada sinar tampak (a), sinar UV 254 (b), sinar UV 366 (c), sinar tampak setelah disemprot FeCl<sub>3</sub> (d), Uji KLT Fenol buah parijoto pada sinar tampak (e), sinar UV 254 (f), sinar UV 366 (g), sinar tampak setelah disemprot FeCl<sub>3</sub> (h).

Hasil dari uji kualitatif flavonoid dengan metode KLT pada ekstrak daun dan buah parijoto diidentifikasi dengan adanya bercak kuning kehijauan di bawah sinar UV 366. Nilai R<sub>f</sub> yang diperoleh ekstrak daun parijoto yaitu 0,74 dan ekstrak buah parijoto yaitu 0,84. Pada uji

kualitatif fenolik dengan metode KLT pada ekstrak daun dan buah parijoto ditandai dengan adanya bercak berwarna kehitaman yang dapat terlihat pada sinar tampak. Nilai Rf yang diperoleh ekstrak daun parijoto yaitu 0,38 dan ekstrak buah parijoto yaitu 0,5.

### Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Tanaman Parijoto

Senyawa flavonoid merupakan polifenol yang memiliki 15 atom karbon dan tersusun dengan konfigurasi C6-C3-C6, yaitu kerangka karbon yang terdiri atas dua gugus C6 (cincin benzene tersubstitusi) yang disambung oleh rantai alifatik tiga karbon (Wang *et al.*, 2017). Flavonoid adalah golongan metabolit sekunder yang umumnya terdapat di bunga, daun, dan batang tanaman (Wang *et al.*, 2016). Menurut Rahayu dan Roosmarinto (2017), flavonoid ialah senyawa yang berasal dari tanaman dan memiliki aktivitas sebagai antikanker yang sudah banyak diteliti. Flavonoid telah menunjukkan potensi besar sebagai agen antikanker sitotoksik yang mempromosikan apoptosis dalam sel kanker (Abotaleb *et al.*, 2019). Contoh senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antikanker adalah kuersetin. Kuersetin telah mampu memberikan pencegahan oksidasi low-density lipoprotein (LDL) dan dapat membantu dalam penangkalan penyakit tertentu, seperti kanker, peradangan kronis, dan aterosklerosis (Arifin and Ibrahim, 2018).

Kadar flavonoid pada penelitian ini ditentukan berdasarkan metode kalorimetri. Larutan sampel dalam etanol direaksikan dengan  $AlCl_3$  dan asam asetat. Prinsip metode ini ialah pembentukan kompleks  $AlCl_3$  dengan gugus keto dalam atom C-4 dan gugus hidroksi C-3 atau C-5 dari flavonoid dan fenolik (Kamtekar *et al.*, 2014). Kompleks warna yang dihasilkan adalah kuning untuk kemudian absorbansinya dibaca dan digunakan spektrofotometri UV-Vis untuk membacanya.

Ditentukan terlebih dahulu panjang gelombang maksimum kuersetin menggunakan spektrofotometri UV-Vis di rentang panjang gelombang 350-500 nm untuk menentukan daerah absorbansi sehingga diperoleh nilai serapan larutan baku kuersetin (Sukmawati, 2018). Panjang gelombang kuersetin yang dihasilkan adalah 430 nm. Operating time kuersetin dibaca dengan interval waktu 0-30 menit diperoleh di menit ke 15.



**Gambar 3. Grafik Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin**

Kurva baku kuersetin ditentukan dengan membaca absorbansi seri konsentrasi yaitu 50  $\mu\text{g/mL}$ , 60  $\mu\text{g/mL}$ , 70  $\mu\text{g/mL}$ , 80  $\mu\text{g/mL}$ , dan 90  $\mu\text{g/mL}$ . Kemudian diperoleh data absorbansinya



untuk membuat regresi linier guna menghitung kadar flavonoid ekstrak daun dan buah parijoto. Diperoleh hasil regresi linier  $y = 0,0097x - 0,1293$  dengan nilai  $r^2$  adalah 0,9981.

**Tabel 1. Seri Konsentrasi Kuersetin**

Konsentrasi µg/mL	Absorbansi	Regresi Linier
50	0,350	$Y = 0,0097x - 0,1293$
60	0,462	$R^2 = 0,9981$
70	0,556	$r = 0,9990$
80	0,642	
90	0,746	

Dari regresi linier tersebut, dapat dihitung kadar flavonoid ekstrak dari tanaman parijoto yang dipaparkan pada Tabel 2.

**Tabel 2. Kadar Flavonoid Ekstrak Daun dan Buah Parijoto**

Sampel	Replikasi	Abs	Rerata flavonoid total (mg QE/g sampel) ± SD
Ekstrak daun parijoto	1	0,414	56,01
	2	0,424	57,04
	3	0,422	56,83
	<b>Rerata kadar flavonoid total</b>		
Ekstrak buah parijoto	1	0,191	Tidak dapat dihitung
	2	0,190	Tidak dapat dihitung
	3	0,196	Tidak dapat dihitung
	<b>Rerata kadar flavonoid total</b>		

Berdasarkan kurva baku kuersetin, *range* absorbansi yang diperoleh adalah 0,350 – 0,746. Nilai absorbansi yang didapatkan untuk ekstrak daun parijoto ialah 0,414; 0,424; dan 0,422. Kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak daun parijoto dapat dihitung dengan menggunakan rumus regresi linier  $y = 0,0097x - 0,1293$  dan diperoleh kadar flavonoid sebesar 56,62 mg QE/g sampel. Sementara pada ekstrak buah parijoto nilai absorbansinya adalah 0,191; 0,190; dan 0,196. Kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak buah parijoto tidak dapat dihitung karena nilai absorbansi tidak masuk *range* yang diperoleh dari kurva baku. Disarankan untuk menaikkan konsentrasi larutan sampel atau menambah volume larutan sampel yang diambil saat melakukan uji penetapan kadar flavonoid. Agar absorbansi yang dihasilkan dapat masuk dalam *range* yang sudah ditentukan dan kadar flavonoid dapat dihitung.

### Penetapan Kadar Fenolik Ekstrak Daun dan Buah Parijoto

Fenolik merupakan senyawa paling besar yang memiliki peranan antioksidan alami. Fenolik memiliki satu (fenol) atau lebih (polifenol) cincin fenol, berupa gugus hidroksi yang terikat pada cincin aromatis (Dhurhania and Novianto, 2018). Senyawa fenolik memiliki efek anti-karsinogenik yang dapat menghentikan siklus sel, menghambat kaskade pensinyalan onkogenik yang mengendalikan proliferasi sel, angiogenesis dan apoptosis (Anantharaju *et al.*, 2016). Menurut Toric *et al.*, (2020), senyawa polifenol dapat memberikan harapan untuk perbaikan efektivitas kemoterapi dan mengurangi terjadinya efek samping. Asam fenolik

memiliki senyawa asam galat. Asam galat telah menunjukkan potensi aktivitas antikanker karena kemampuannya untuk menghambat proliferasi sel dan menginduksi apoptosis (Sun *et al.*, 2016).

Kadar fenolik dalam penelitian ini menggunakan prinsip Folin-Ciocalteu berdasarkan reaksi redoks. Senyawa fenolik hanya dapat bereaksi dengan Folin dalam kondisi basa supaya terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20% digunakan untuk menciptakan suasana basa dan membentuk larutan berwarna. Kompleks warna yang dihasilkan adalah biru untuk kemudian absorbansinya dibaca menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Wachidah, 2013). Panjang gelombang maksimum asam galat ditentukan terlebih dahulu untuk mengetahui daerah absorbansi sehingga diperoleh nilai serapan dari larutan baku asam galat menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada rentang panjang gelombang 400 - 800 nm (Manurung, 2021). Panjang gelombang asam galat yang dihasilkan adalah 754 nm. Operating time asam galat dibaca dengan interval waktu 0-90 menit diperoleh di menit ke 85.



**Gambar 4. Grafik Panjang Gelombang Maksimum Asam Galat**

Kurva baku asam galat ditentukan dengan membaca absorbansi seri konsentrasi adalah 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL, 200 µg/mL, dan 250 µg/mL. Kemudian diperoleh data absorbansinya untuk membuat regresi linier guna menghitung kadar fenolik yang dikandung oleh ekstrak daun dan buah parijoto. Diperoleh hasil regresi linier  $y = 0,0035x + 0,054$  dengan nilai  $r^2$  adalah 0,9987.

**Tabel 3. Seri Konsentrasi Asam Galat**

Konsentrasi µg/mL	Absorbansi	Regresi Linier
50	0,232	$Y = 0,0035x - 0,054$
100	0,403	$R^2 = 0,9987$
150	0,580	$r = 0,9993$
200	0,737	
2500	0,940	

Dari regresi linier tersebut, dapat dihitung kadar fenolik ekstrak daun dan buah dari tanaman parijoto yang dipaparkan pada Tabel 4.

**Tabel 4. Kadar Fenolik total Ekstrak Daun dan Buah Parijoto**

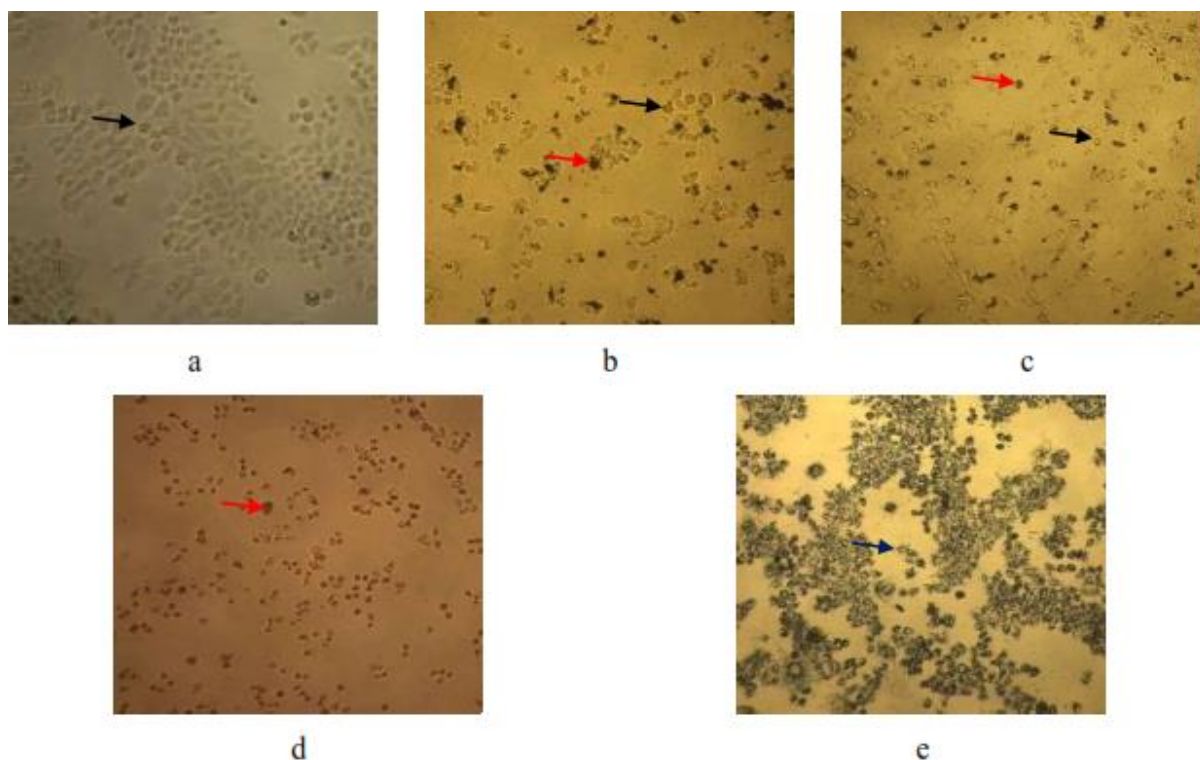
Sampel	Replikasi	Abs	Rerata flavonoid total (mg QE/g sampel) ± SD
Ekstrak daun parijoto	1	0,590	153,14
	2	0,627	163,71
	3	0,621	162,00
	<b>Rerata kadar fenolik total</b>		159,61 ± 5,67
Ekstrak buah parijoto	1	1,535	Tidak dapat dihitung
	2	1,664	Tidak dapat dihitung
	3	1,598	Tidak dapat dihitung
	<b>Rerata kadar fenolik total</b>		Tidak dapat dihitung

Berdasarkan kurva baku asam galat, rentang absorbansi yang diperoleh adalah 0,232–0,940. Nilai absorbansi yang didapatkan untuk ekstrak daun pajoto ialah 0,590; 0,627; dan 0,621. Kandungan senyawa fenolik dalam ekstrak daun parijoto dapat dihitung dengan menggunakan rumus regresi linier  $y = 0,0035x + 0,054$  dan diperoleh kadar fenolik sebesar 159,61 mg GAE/g sampel. Sementara pada ekstrak buah parijoto nilai absorbansinya adalah 1,535; 1,664; dan 1,598. Kandungan senyawa fenolik dalam ekstrak buah parijoto tidak dapat dihitung karena nilai absorbansi tidak masuk *range* yang diperoleh dari kurva baku. Disarankan untuk melakukan pengenceran atau menurunkan konsentrasi larutan sampel saat melakukan uji penetapan kadar fenolik. Agar absorbansi yang dihasilkan dapat masuk dalam *range* yang sudah ditentukan dan kadar fenolik dapat dihitung.

### Sitotoksik dengan MTT assay

Uji sitotoksik merupakan uji toksisitas yang dilakukan secara *in vitro* dengan kultur sel untuk mengetahui adanya aktivitas *antineoplastic* (Haryoto *et al.*, 2013). Metode yang umum digunakan salah satunya ialah metode MTT. Uji MTT berprinsip membentuk reduksi garam tetrazolium MTT (3- (4,5- dimetil tiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolium bromide) oleh sistem reduktase. Kristal formazan yang berwarna ungu terbentuk dari masuknya suksinat tetrazolium kedalam sistem respirasi mitokondria sel hidup. *Reagen stopper* yang memiliki sifat detergenik ditambahkan untuk melarutkan kristal formazan agar dapat diukur absorbansinya. Intensitas warna ungu memiliki proporsi yang sama dengan jumlah sel hidup (CCRC UGM, 2013). IC<sub>50</sub> (konsentrasi penghambatan 50 % populasi) merupakan representasi nilai sitotoksitas dari reagen yang diuji (Mosmann, 1983).

Penelitian ini menggunakan sel kanker serviks yaitu sel HeLa. Kanker serviks ialah keganasan yang asalnya dari serviks atau leher rahim. Pengobatan kanker memiliki standar yang telah ditetapkan diantaranya adalah operasi atau *surgery*, kemoterapi, radiasi dan terapi hormonal yang sudah disesuaikan dengan indikasi patologi (Kemenkes RI, 2013). Sel Kanker Serviks HeLa diberikan perlakuan dengan ekstrak daun dan buah parijoto untuk mengetahui aktivitas sitotoksik yang terjadi antara ekstrak terhadap sel tersebut. Digunakan beberapa konsentrasi yaitu 50 µg/mL, 100 µg/mL, 250 µg/mL, 500 µg/mL, dan 1000 µg/mL. Kontrol positif yang digunakan adalah doksorubisin dengan seri konsentrasi 3,125 µg/mL, 6,25 µg/mL, 12,5 µg/mL, 25 µg/mL, dan 50 µg/mL

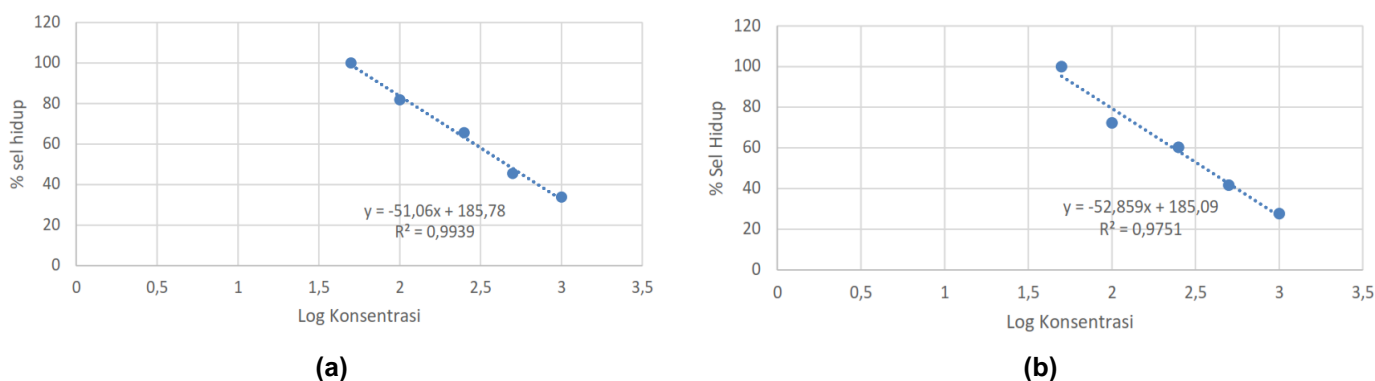


Gambar 5. Kontrol sel HeLa (a), sel HeLa setelah perlakuan ekstrak etanol daun parijoto konsentrasi 500 µg/mL (b), sel HeLa setelah perlakuan ekstrak etanol buah parijoto konsentrasi 500 µg/mL (c), sel HeLa setelah perlakuan control positif doksorubisin konsentrasi 50 µg/mL (d), dan kristal formazan (e), → = sel hidup, → = sel mati, → = Kristal formazan

Tabel 5. Hasil Uji Sitotoksik Ekstrak Daun dan Buah Parijoto Terhadap Sel HeLa

Konsentrasi	Ekstrak Daun Parijoto			Ekstrak Buah Parijoto		
	Absorbansi	% Sel Hidup	IC50	Absorbansi	% Sel Hidup	IC50
50 µg/mL	0,550	100		0,531	100	
100 µg/mL	0,441	81,78		0,402	72,29	
250 µg/mL	0,376	65,63		0,352	60,28	
500 µg/mL	0,291	45,43	457,08	0,276	41,70	363,07
1000 µg/mL	0,243	33,75	µg/mL	0,218	27,66	µg/mL

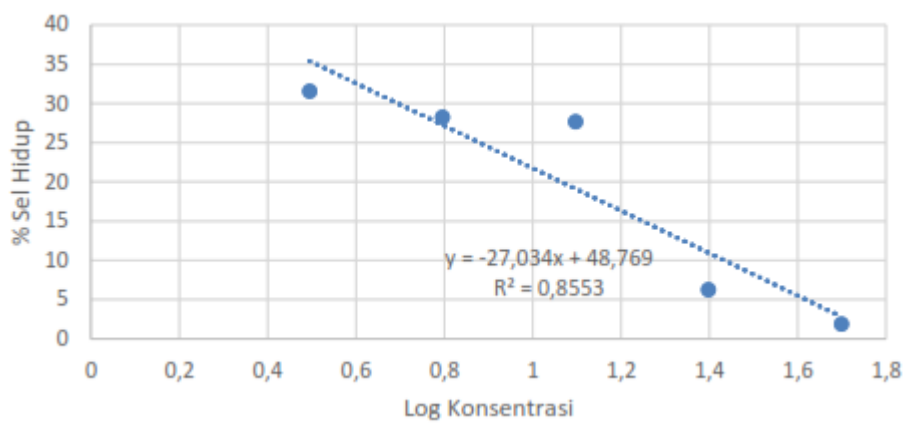
Sitotoksitas dapat dikelompokkan menjadi tiga, yaitu potensial, moderat, dan tidak toksik. Sitotoksik potensial terjadi bila nilai IC<sub>50</sub> < 100 µg/mL; sitotoksik moderat terjadi bila nilai IC<sub>50</sub> berada diantara 100 µg/mL dan 1000 µg/mL; sedangkan tidak toksik memiliki nilai IC<sub>50</sub> > 1000 µg/mL (Prayong *et al.*, 2008). Hasil dari penelitian ini, doksorubisin sebagai kontrol positif mempunyai nilai IC<sub>50</sub> sebesar 0,89 µg/mL yang berarti sangat toksik. Ekstrak etanol daun parijoto memiliki nilai IC<sub>50</sub> 457,08 µg/mL terhadap sel HeLa. Sementara ekstrak buah parijoto mempunyai nilai IC<sub>50</sub> 363,07 µg/mL. Penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak etanol daun dan buah parijoto didapati aktivitas sitotoksik yang moderat.



**Gambar 6. Pengaruh Perlakuan (a) Ekstrak Etanol Daun Parijoto, (b) Ekstrak Buah Parijoto Terhadap % Sel Rata-rata Sel Kanker Serviks HeLa**

**Tabel 6. Hasil Uji Sitotoksik Doksorubisin Terhadap Sel HeLa**

Konsentrasi	Absorbansi	% Sel Hidup	IC <sub>50</sub>
3,125 µg/mL	0,234	31,56	0,89 µg/mL
6,25 µg/mL	0,221	28,23	
12,5 µg/mL	0,218	27,66	
25 µg/mL	0,130	6,24	
50 µg/mL	0,112	1,86	



**Gambar 7. Pengaruh Perlakuan Doksorubisin Terhadap % Sel Hidup Rata-rata Sel Kanker Serviks HeLa**

Flavonoid tidak hanya menjanjikan sebagai senyawa pencegah kanker tetapi juga dapat dianggap sebagai kandidat agen kemoterapi. Senyawa polifenol seperti kuersetin, myricetin, apigenin, baicalein, dll mungkin merupakan agen yang berharga dalam strategi antikanker dan studi penggunaan klinisnya untuk pengembangan obat baru (Sak, 2014). Fenolik juga dapat disebut sebagai kandidat kuat dalam pengobatan berbagai jenis kanker yang bekerja pada berbagai target molekuler, (proliferasi, angiogenesis, pertumbuhan dan diferensiasi, metastasis dan apoptosis) yang dapat menjadi salah satu bahan untuk merancang dan mensintesis obat kemoterapi baru yang berasal dari alam (Abotaleb *et al.*, 2020).

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun dan buah parijoto positif mengandung senyawa flavonoid dan fenolik. Kadar flavonoid dan fenolik yang diperoleh ekstrak daun parijoto adalah 56,62 mg QE/g dan 159,61 mg GAE/g sampel. Kadar flavonoid dan fenolik pada ekstrak buah parijoto tidak dapat dihitung karena nilai absorbansi yang diperoleh tidak masuk dalam *range* kurva baku. Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol daun dan buah parijoto tergolong dalam sitotoksik moderat dengan IC<sub>50</sub> masing-masing 457,08 µg/mL dan 363,07 µg/mL.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abotaleb M., Samuel S.M., Varghese E., Varghese S., Kubatka P., Liskova A. and Büsselberg D., 2019, Flavonoids in cancer and apoptosis, *MDPI Journal Cancers*, 11 (1)
- Abotaleb M., Liskova A., Kubatka P. and Büsselberg D., 2020, Therapeutic potential of plant phenolic acids in the treatment of cancer, *Biomolecules*, 10 (2), 1–23.
- Anantharaju P.G., Gowda P.C., Vimalambike M.G. and Madhunapantula S. V., 2016, An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers, *Nutrition Journal*, 15 (1), 1–16. Terdapat di: <http://dx.doi.org/10.1186/s12937-016-0217-2>.
- Arifin B. and Ibrahim S., 2018, Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid, *Jurnal Zarah*, 6 (1), 21–29.
- Artanti A.N., Pujiastuti U.H., Prihapsara F. and Rakhmawati R., 2020, Synergistic Cytotoxicity Effect by Combination of Methanol Extract of Parijoto Fruit (*Medinilla speciosa* Reinw. ex. Bl) and Cisplatin Against Hela Cell Line, *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 11 (1), 16.
- CCRC UGM, 2009a, *Prosedur Tetap Panen Sel*, Cancer Chemoprevention Research Center Fakultas Farmasi UGM, 1–3.
- CCRC UGM, 2009b, *Prosedur Tetap Perhitungan Sel*, Cancer Chemoprevention Research Center Fakultas Farmasi UGM, 1–4.
- CCRC UGM, 2009c, *Prosedur Tetap Preparasi Sampel*, Cancer Chemoprevention Research Center Fakultas Farmasi UGM
- CCRC UGM, 2013, *Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT*, Cancer Chemoprevention Research Center Fakultas Farmasi UGM, 1–8.
- Dhurhanian C.E. and Novianto A., 2018, Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*), *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5 (2), 62.
- Globocan, 2020, Indonesia-Global Cancer Observatory, *Globocan*, 858, 1–2. Terdapat di: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/360-indonesia-fact-sheets.pdf>.
- Gultom D.S.R., 2020, Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kasar dan Terpurifikasi Biji Pinang (*Areca cetechu* L.), Universitas Ngudi Waluyo.
- Haryoto, H., Muhtadi, M., Indrayudha P., Sujono T.A, and Suhendi A. 2013, Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn) Terhadap Sel HeLa, T47D dan WiDR, *Jurnal Penelitian Saintek*, 18, 21–28.

- Kamtekar S., Keer V. and Patil V., 2014, Estimation of phenolic content, flavonoid content, antioxidant and alpha amylase inhibitory activity of marketed polyherbal formulation, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4 (9), 61–65.
- Kemendes RI, 2013, *Pedoman Teknis Pengendalian Kanker Payudara dan Kanker Leher Rahim*, Igarss 2013, (1), 1–5. Terdapat di: <http://www.p2ptm.kemkes.go.id/dokumen-ptm/pedoman-tekis-pengendalian-kanker-payudara-kanker-leher-rahim>.
- Kharima F.N.U.R., 2019, Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Sel Kanker MCF-7 dan T47D, *Skripsi*, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Manurung A.R., 2021, Penentuan kadar fenol total dan flavonoid total ekstrak etanol dan beberapa fraksi buah biwa (*Eriobotrya japonica* Lindl.), Universitas Sumatera Utara.
- Mosmann T., 1983, Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays, *Journal of Immunological Methods*, 65, 55–63.
- Nuraini, Ilyas A. and lin N., 2015, Identifikasi dan karakterisasi senyawa bioaktif antikanker dari ekstrak etanol kulit batang kayu bitti (*Vitex cofassus*), *Al Kimia*, 15–27.
- Prayong P., Barusrux S. and Weerapreeyakul N., 2008, Cytotoxic activity screening of some indigenous Thai plants, *Fitoterapia*, 79 (7–8), 598–601. Terdapat di: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fitote.2008.06.007>.
- Rahayu M. and Roosmarinto R., 2017, Kajian Aktivitas Antikanker Ekstrak Daun Gude (*Cajanus cajan*) Terhadap Sel Kanker Kolon Secara in Vitro, *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 6 (1), 31.
- Rahayu S., 2020, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Dari Kabupaten Lombok Utara Dan Wonosobo Menggunakan Metode FRAP. Universitas Ngudi Waluyo.
- Rosamah E., 2019, *Kromatografi Lapis Tipis Metode Sederhana Dalam Analisis Kimia Tumbuhan Berkayu*, Mulawarman University Press, Samarinda. Terdapat di: [https://repository.unmul.ac.id/bitstream/handle/123456789/6733/3.Kromatografi lapis tipis %3B metode sederhana dalam analisis kimia tumbuhan berkayu.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.unmul.ac.id/bitstream/handle/123456789/6733/3.Kromatografi%20lapis%20tipis%20metode%20sederhana%20dalam%20analisis%20kimia%20tumbuhan%20berkayu.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
- Sak K., 2014, Cytotoxicity of dietary flavonoids on different human cancer types, *Pharmacognosy Reviews*, 8 (16), 122–146.
- Sukmawati, 2018, Optimasi dan Validasi Metode Analisis Dalam Penentuan Kandungan Total Flavonoid Pada Ekstrak Daun Gedi Hijau (*Abelmoscus manihot* L.) yang Diukur Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis, *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*, 7 (3), 32–41.
- Sun G., Zhang S., Xie Y., Zhang Z. and Zhao W., 2016, Gallic acid as a selective anticancer agent that induces apoptosis in SMMC-7721 human hepatocellular carcinoma cells, *Oncology Letters*, 150–158.
- Torić J., Brozovic A., Lončar M.B., Brala C.J., Marković A.K., Benčić Đ. and Barbarić M., 2020, Biological activity of phenolic compounds in extra virgin olive oils through their phenolic profile and their combination with anticancer drugs observed in human cervical carcinoma and colon adenocarcinoma cells, *MDPI Journal Antioxidants*, 9 (5)
- Tussanti I., Johan A. and Kisdjamiatun R., 2014, Sitotoksisitas in vitro ekstrak etanolik buah parioto (*Medinilla speciosa*, reinw.ex bl.) terhadap sel kanker payudara T47D, *Jurnal Gizi Indonesia (The Indonesian Journal of Nutrition)*, 2 (2), 53–58.

- Vifta R.L. and Advistasari Y.D., 2018, Skrining Fitokimia , Karakterisasi , dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa B.*), *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 1, 8–14.
- Wachidah L.N., 2013, Uji Aktivitas Antioksidan serta Penentuan Kandungan Fenolat dan Flavonoid Total dari Buah Parijoto (*Medinilla speciosa Blume*), Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Wang Q., Jin J., Dai N., Han N., Han J. and Bao B., 2016, Anti-inflammatory effects, nuclear magnetic resonance identification, and high-performance liquid chromatography isolation of the total flavonoids from *Artemisia frigida*, *Journal of Food and Drug Analysis*, 24 (2), 385–391. Terdapat di: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2015.11.004>.
- Wang T. Yang, Li Q. and Bi K. Shun, 2017, Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13 (1), 12–23. Terdapat di: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajps.2017.08.004>.
- WHO, 2018, *Cancer*, World Health Organization, (September 2018), 1–5.
- Wibowo H.A., Wasino and Setyowati D.L., 2012, Kearifan Lokal dalam Menjaga Lingkungan Hidup (Studi Kasus Masyarakat Di Desa Colo Kecamatan Dawe Kabupaten Kudus), *Journal of Educational Social Studies*, 1 (1)