

Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Buah Pinang (*Areca catechu*) dan Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

Cytotoxic Activity of Pinang Fruit Leather (*Areca Catechu*) and Cinnamon Leaf Ethanol Extract

Herdwiani W¹, Soemardji AA², Elfahmi², Tan MI³, Nabila K¹, Anita K¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta, Indonesia, ²Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung, ³SITH Institut Teknologi Bandung, herdwiani@gmail.com¹

ABSTRAK

Tanaman pinang (*Areca catechu*) dan kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) adalah tanaman tradisional yang diduga memiliki khasiat sebagai antikanker. Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui efek sitotoksik dari ekstrak etanol kulit buah pinang (*Areca catechu*) terhadap kultur sel kanker payudara T47D & ekstrak etanol daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap kultur sel kanker kolon WiDr

Simplisia yang diperoleh selanjutnya dimaserasi untuk memperoleh ekstrak etanol kulit buah pinang dan daun kayu manis. Metode yang digunakan dalam pengujian aktifitas sitotoksik adalah MTT (3-[4,5-dimetilthiazol-2yl]-2, 5-difeniltetrazolium bromide) untuk mendapatkan nilai IC₅₀.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah pinang tidak memiliki efek sitotoksik terhadap kultur T47D dan memiliki nilai IC₅₀ 467,34 µg/mL. Ekstrak daun kulit kayu manis tidak memiliki efek sitotoksik terhadap kultur WiDr dan memiliki nilai IC₅₀ 405,69 µg/ml.

Kata kunci : Kayu manis, pinang, sitotoksik, T47D, WiDr.

ABSTRACT

The areca plant (*Areca catechu*) and cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) have anticancer properties. The aim of this research is to know the cytotoxic effect of *Areca catechu* of ethanol extract on T47D breast cancer cell culture and *Cinnamomum burmannii* leaves of ethanol extract on WiDr colon cancer cell culture.

The obtained simplicia macerated to obtain ethanol extract of pinang peel and cinnamon leaves. The method used in testing cytotoxic activity was MTT (3- [4,5-dimethylthiazol-2yl] -2, 5-diphenyltetrazolium bromide) to obtain IC₅₀ values.

The results showed that ethanol extract of pinang peel and cinnamon leaf did not have cytotoxic effect on T47D culture with IC₅₀ 467,34 µg/mL and on WiDr culture with IC₅₀ 405,69 µg/ml.

Key word : *Areca catechu*, *Cinnamomum burmannii*, cytotoxic, T47D, WiDr

PENDAHULUAN

Kanker adalah suatu penyakit yang ditandai dengan adanya pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal. Sel-sel kanker akan berkembang dengan cepat, tidak terkendali, dan akan terus membelah diri, selanjutnya menyusup ke jaringan sekitarnya dan terus menyebar (metastase) (Katzung, 2002). Kanker merupakan penyebab kematian

terbesar kedua setelah penyakit kardiovaskular (Sukardiman *et al.* 2004). Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang banyak diderita oleh kaum wanita. Jumlah kasus kanker payudara pada tahun 2014 pada wanita sebanyak 48.998 kasus di Indonesia (WHO, 2014). Perkembangan penyakit kanker kolon di Indonesia semakin meningkat tiap tahunnya, dan insidensinya adalah nomor ketiga

setelah kanker paru dan kanker payudara (Riskesdas, 2013).

Penelitian khususnya terhadap pengembangan dan penemuan antikanker yang aman dan efektif mutlak diperlukan. Usaha menemukan antikanker yang lebih spesifik dan sensitif dapat dilakukan melalui pemanfaatan tanaman obat yang diduga berkhasiat sebagai antikanker. Tanaman tradisional yang diduga memiliki khasiat sebagai antikanker adalah tanaman pinang (*Areca catechu*) dan kayu manis (*Cinnamomum burmannii*).

Pinang mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, fenolik, dan tanin (IARC, 2004). Aktivitas sitotoksik secara *in vitro* terhadap sel leukemia L1210 dari ekstrak etanol biji pinang diperoleh nilai IC_{50} 24,73 $\mu\text{g/mL}$ (A'yun, 2016). Aktifitas sitotoksik ekstrak biji pinang diduga salah satunya disebabkan oleh flavonoid yang mampu menghambat proliferasi pada berbagai sel kanker pada manusia, namun tidak toksik terhadap sel normal manusia (Ren *et al.* 2003).

Kandungan senyawa aktif dari tanaman kulit kayu manis adalah minyak atsiri, safrole, sinamaldehyd, eugenol, tanin, damar, kalsium oksalat, flavonoid, saponin serta kandungan gizi lainnya seperti gula, protein, lemak kasar dan pektin. Sinamaldehyd mampu menghambat proliferasi, invasi, dan pertumbuhan tumor. Sinamaldehyd yang diisolasi dari *C. cassia* juga telah terbukti memiliki efek antiangiogenesis atau pengahmabt pertumbuhan pembuluh darah baru dan dapat disimpulkan bahwa sinamaldehyd dan derivatnya memiliki aktivitas antitumor (Kwon *et al.* 1998). Berdasarkan penelitian dari Lean-Teik Ng dan Shu-Jing Wu (2009) potensi antiproliferatif sinamaldehyd dengan IC_{50} $9,76\pm 0,67$ M sebaik dengan obat antikanker 5-fluorouracil dengan IC_{50} $9,57\pm 0,61$ M.

Anjarsari (2013) melaporkan bahwa destilat kayu manis mempunyai efek sitotoksik pada sel T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 75 $\mu\text{g/mL}$. Minyak atsiri kulit kayu manis memiliki nilai IC_{50} terhadap kultur sel WiDr. Ekstrak etanol kayu manis mempunyai efek imunostimulator yang ditandai dari kenaikan jumlah sel T CD4 dan T CD8 (Hasan *et al.* 2013).

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak etanol kulit buah pinang (*Areca catechu*) terhadap kultur sel kanker payudara T47D & ekstrak etanol daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap kultur sel kanker kolon WiDr.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat ekstraksi maserasi, alat identifikasi senyawa aktif, alat *Sterling-Bidwell*, *sentrifuge* Sigma 3K12 (B. Braun Biotech International), *Laminar Air Flow class II* (Labconco), *ELISA reader* (SLT 240 ATC), *Nebauer Haemocytometer* (Olympus CKX41), mikropate 96 sumuran (Nunclone), mikroskop inverted, *magnetic stirrer* dan kamera digital dan alat-alat gelas lazim.

Reagen uji sitotoksik MTT (Axiovert-25), serbuk kulit buah pinang dan kayu manis, etanol p.a, etanol 96%, reagen identifikasi senyawa aktif, kultur sel T47D, kultur sel WiDr, media RPMI 1640 (Gibco), *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10%, v/v (Gibco), larutan PBS (*Phosphat Buffered Saline*) pH 7,2 ; Natrium Dodesil Sulfat 10% dalam HCl 0,1 N sebagai *stopper*, penisillin-streptomisin 1% v/v (Gibco).

METODE PENELITIAN

1. Pembuatan serbuk kulit buah pinang & daun kayu manis

Simplisia yang diperoleh kemudian diserbuk dan diayak dengan ayakan No.40 untuk memperoleh serbuk

simplicia. Serbuk dilakukan penetapan kadar air.

2. Pembuatan ekstrak

Ekstrak etanol kulit buah pinang dan ekstrak etanol daun kayu manis diperoleh dengan metode maserasi. Sebanyak 250 gram serbuk dimasukkan dalam botol coklat ditambah etanol 96% 1875 mL. Maserasi dilakukan kurang lebih selama 5 hari dengan penggojogan. Setelah 5 hari ditambahkan pelarut etanol 96% secukupnya sampai diperoleh sari sebanyak 2500 ml. Kemudian disaring dengan kain flannel. Maserat yang didapat dipisahkan dengan *rotary evaporator* (suhu tetap dijaga pada 40°C-50°C) sampai diperoleh ekstrak kental.

3. Standarisasi ekstrak

Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol kulit buah pinang dan daun kayu manis dilakukan secara kualitatif dengan uji reagen dan uji penegasan dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

4. Uji aktivitas sitotoksik

Metode yang digunakan dalam pengujian aktifitas sitotoksik adalah metode MTT (3-[4,5-dimetilthiazol-2-yl]-2, 5-difeniltetrazolium bromide). Larutan uji sebanyak 100 µL disuspensikan dengan 100 µL sel dalam medium RPMI 1640 (*Foetal Bovine Serum* (FBS) 10% v/v penisillin-streptomisin 1% v/v) (kepadatan 2×10^4 sel/sumuran) kemudian dimasukkan ke dalam *microplate* 96. Sel diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO₂ 5 % dengan kelembapan yang sesuai. Sampel dimasukkan dalam *plate* dengan variasi kadar 500 µg/ml; 250 µg/ml ; 125 µg/ml; 62,5 µg/ml; 31,25 µg/ml ; 15,6 µg/ml; 7,8 µg/ml. Selanjutnya sampel diinkubasi dalam inkubator CO₂ 5 % selama 24 jam. Sel yang hidup akan bereaksi dengan reagen MTT membentuk warna ungu (formazan).

Media sel selanjutnya dibuang, ditambahkan 110 µL reagen MTT ke setiap sumuran, termasuk kontrol media (tanpa sel). Setelah diinkubasi 4 jam, ditambahkan 100 µL SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*) 10 % untuk menghentikan reaksi antara sel hidup dan diinkubasi *over night* (24 jam) pada suhu kamar di tempat gelap. Pada akhir inkubasi serapan dibaca dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 570 nm.

Data absorbansi masing-masing sumuran, kemudian dikonversikan dalam persen viabilitas sel dengan menggunakan persamaan : % viabilitas = $(a-b)/(c-b) \times 100\%$. Keterangan : a=absorbansi sel perlakuan; b=absorbansi kontrol media; c=absorbansi kontrol sel

Nilai IC₅₀ (*Inhibitor Concentration* 50), dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear yang menggambarkan hubungan antara persen (%) viabilitas sel T47D dengan log konsentrasi sampel uji (Setyawan 2006). $Y = bx + a$ Keterangan : x = log konsentrasi senyawa; y = persen viabilitas sel dan IC₅₀ = anti log x

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Serbuk kulit buah pinang & daun kayu manis

Kulit buah pinang yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Desa Topobali Kabupaten Flores Timur-NTT dan daun kayu manis yang diperoleh dari desa Jambu, Ambarawa, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah. Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman pinang (*Areca catechu*) dan tanaman kayu manis (*Cinnamomum burmanni*). Kadar air serbuk kulit buah pinang diperoleh sebesar 8,9% dan serbuk daun kayu manis adalah sebesar 7,5%.

2. Ekstrak simplisia

Ekstrak etanol kulit buah pinang menghasilkan rendemen 6,35%. Ekstrak etanol daun kayu manis menghasilkan rendemen 7,99 %.

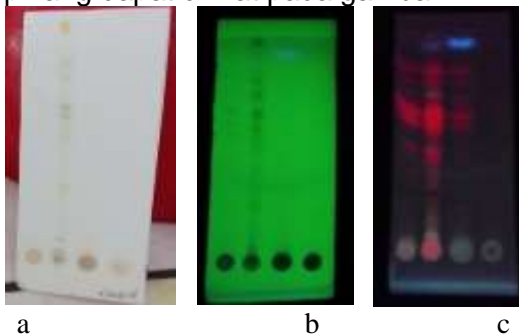
3. Standarisasi ekstrak

Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanol kulit buah pinang dan kulit kayu manis secara kualitatif dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil identifikasi senyawa kimia dengan uji warna ekstrak kulit buah pinang dan daun kayu manis.

Golongan senyawa	Hasil
Alkaloid	+
Saponin	+
Flavonoid	+
Tanin	+
Triterpen	+

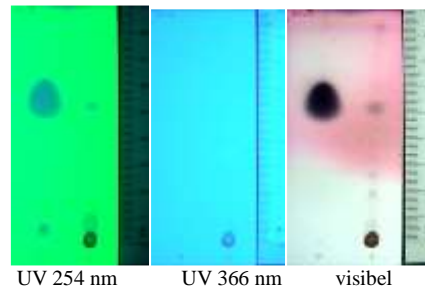
Pemeriksaan KLT ekstrak kulit buah pinang dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. a) sebelum penyemprotan, b) deteksi pada sinar UV 254 nm, c) deteksi pada sinar UV 366 nm.

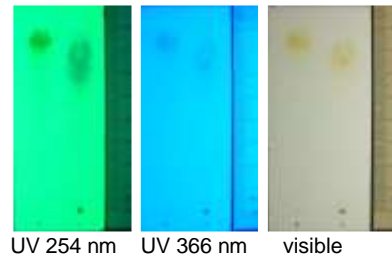
Pemeriksaan KLT terhadap senyawa sinamaldehyd dan flavonoid yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan antiproliferatif (Kuo *et al.* 2005). Diperoleh hasil seperti pada gambar 2.

a. sinamaldehyd



Gambar 2. Profil KLT sinamaldehyd dan ekstrak etanol daun kayu manis (E) dengan fase diam Silicagel 60 F₂₅₄, fase gerak butanol - asam asetat - air (3:1:1) dan disemprot dengan aluminium chlorida serta dideteksi sinar UV a) 254 nm, b) 365, c) visibel.

a. Flavonoid

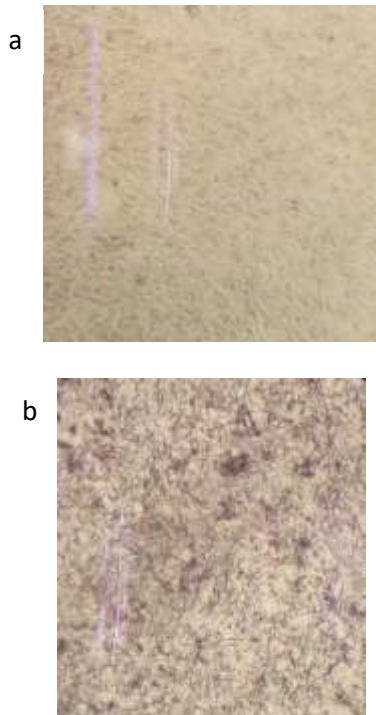


Gambar 3. Profil KLT flavonoid rutin (R) dan ekstrak etanol kulit kayu manis (E) dengan fase diam Silicagel 60 F₂₅₄, fase gerak butanol - asam asetat - air (3:1:1) dan disemprot dengan aluminium chlorida serta dideteksi sinar UV a) 254 nm, b) 365, c) visibel.

4. Hasil uji sitotoksik. Persamaan ekstrak etanol kulit buah pinang adalah $y = -75.381x + 251.24$, ($r = 0.934$). Berdasarkan persamaan linear ini didapatkan nilai IC₅₀ dari ekstrak etanol kulit buah pinang sebesar 467, 34 µg/mL. Berdasarkan kajian pustaka yang dilakukan oleh Mamonto *et al.* (2014), kulit buah pinang mengandung senyawa flavonoid yang juga dibuktikan melalui uji kualitatif menggunakan metode tabung. Sebagian besar senyawa flavonoid diduga mampu menghambat proliferasi pada berbagai sel kanker manusia (Ren *et al.* 2003). Senyawa flavonoid merupakan metabolit sekunder yang terkandung pada pinang yang memiliki khasiat antikanker mempunyai sifat kepolaritasan yang bersifat semipolar.

Kepolaritasan ini diharapkan dapat menembus sel kanker yang bersifat non-polar sehingga dapat memberikan efek terhadap penghambatan sel kanker.

Hasil aktifitas sitotoksik ekstrak kulit buah pinang dapat dilihat pada gambar 4



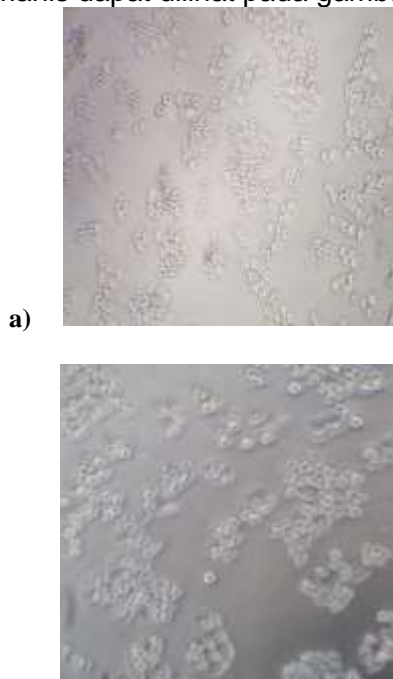
Gambar 4. Morfologi sel WiDr dari ekstrak etanol daun kayu manis sebelum diberi MTT, a) konsentrasi 500 µg/ml; b) konsentrasi 31,25 µg/ml

Persamaan regresi linear yang diperoleh dari ekstrak etanol daun kayu manis yaitu $y = -43,67x + 163,9$ dan nilai $r = 0,983$. Nilai IC_{50} dihitung dengan memasukan nilai y sebesar 50% sehingga diperoleh nilai antilog x sebagai IC_{50} yaitu 405,69 µg/ml.

Kematian sel tersebut disebabkan adanya senyawa yang mampu memicu apoptosis sel. Ekstrak etanol kulit kayu manis mengandung beberapa metabolit sekunder yang bersifat antikanker, diantaranya sinamaldehyd dan flavonoid. Jenis sinamaldehyd yang terkandung dalam kayu manis adalah *trans-cinnamaldehyde*, *alpha-amyl cinnamaldehyde* dan *trans-cinnamic alcohol* (Elahi *et al.* 2004). Sedangkan golongan flavonoid yang terkandung dalam kayu manis adalah quersetin, kaempferol, luteolin, rutin dan pelargonidin (Jayaprakasha *et al.* 2000).

Penelitian terdahulu menyatakan bahwa kandungan sinamaldehyd yang merupakan senyawa aktif dalam minyak kayu manis mampu menginduksi apoptosis melalui induksi apoptosis *mitochondrial permeability transition* (MPT) (Ka *et al.* 2003). Peningkatan permeabilitas membran mitokondria akan meyebabkan pengeluaran sitokrom c yang mengaktifasi caspase 3 dan dapat menyebabkan terjadinya apoptosis (Mizutani *et al.* 2005). Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu bahwa kandungan sinamaldehyd dari minyak

Gambar 4. Morfologi sel kanker payudara T47D setelah pemberian ekstrak etanol kulit buah pinang (a) konsentrasi 1000 µg/ mL; (b) konsentrasi 15,63 µg/ mL Hasil aktifitas sitotoksik ekstrak daun kayu manis dapat dilihat pada gambar 5



atsiri kulit kayu manis mempunyai efek sitotoksik terhadap sel kanker kolon WiDr yaitu IC_{50} sebesar 13,70 $\mu\text{g/ml}$ (Herdwiani, 2014). Kandungan flavonoid juga telah terbukti mampu menghambat proliferasi pada berbagai sel kanker pada manusia. Flavonoid menghambat ekspresi enzim topoisomerase I dan topoisomerase II yang berperan pembentukan DNA (Ren et al. 2003). Namun rendahnya aktivitas sitotoksik ekstrak etanol dan *n*-heksana daun kayu manis terhadap sel WiDr ini kemungkinan disebabkan oleh rendahnya kadar sinamaldehyd dan flavonoid pada daun kayu manis yang berefek sitotoksik.

Flavonoid merupakan agen kemopreventif dengan menghambat protein COX-2, selain itu flavonoid juga menghambat protein COX-2 independen lainnya seperti Akt dan NF-kB. Akt mempunyai peranan penting dalam regulasi pertahanan siklus sel dan proliferasi sel kanker dengan mempengaruhi status fosforilasi berlebihan baik dari Akt. Sehingga blokade signal tersebut menyebabkan hambatan pertumbuhan dengan penghentian siklus sel dan apoptosis dari sel kanker. NF-kB adalah faktor transkripsi yang terlibat dalam fungsi seluler yang luas, di antaranya apoptosis dan kontrol siklus sel. Penelitian yang dilakukan oleh Pan et al.(2002), menjelaskan bahwa flavonoid dapat menginduksi penghentian fase G1 pada siklus sel. Aktivitas antikanker juga ditunjukkan flavonoid melalui induksi apoptosis. Flavonoid menghambat ekspresi enzim topoisomerase I dan topoisomerase II. Inhibitor enzim topoisomerase akan menstabilkan kompleks topoisomerase dan menyebabkan DNA terpotong dan mengalami kerusakan. Kerusakan DNA dapat menyebabkan terekspresinya protein proapoptosis seperti Bax dan Bak dan menurunkan ekspresi protein-

protein antiapoptosis yaitu Bcl-2 dan Bcl-Xl, yang menyebabkan pertumbuhan sel kanker terhambat (Pan et al., 2002). Flavonoid telah terbukti mampu menghambat proliferasi pada berbagai sel kanker pada manusia namun bersifat tidak toksik pada sel normal manusia (Ren et al. 2003).

Ekstrak kayu manis berpotensi menghambat berbagai pertumbuhan sel tumor secara *in vivo* dan mampu menekan perkembangan sel melanoma secara *in vivo*. Efek antikanker dari ekstrak kayu manis dimediasi oleh induksi apoptosis dan blokade NF-kB dan AP1 dan gen targetnya adalah Bcl-2 dan Bcl-xL (Kwon et al. 2010). Berdasarkan penelitian Lean-Teik Ng dan Shu-Jing Wu, Sinamaldehyd yang terkandung dalam kayu manis memiliki aktivitas antiproliferatif paling kuat pada sel Hep G2 dan sinamaldehyd juga dapat menginduksi sinyal apoptosis. Aktivitas *Cinnamomum cortex* diketahui berdasarkan pada stimulasi sistem *reticuloendothelial* (RES) dan telah terbukti terkait erat dengan produksi TNF (*Tumor necrosis factor*) (Haranaka et al. 1985). *Cinnamaldehyde* mampu menginduksi apoptosis sel melalui *reactive oxygen species* (ROS), sehingga menginduksi *mitochondrial permeability transition* (MPT) dan sitokrom C lepas dalam sitosol (Ka et al. 2003).

KESIMPULAN

Ekstrak kulit buah pinang tidak memiliki efek sitotoksik terhadap kultur sel T47D dan memiliki nilai $IC_{50} = 467,34 \mu\text{g/mL}$. Ekstrak daun kulit kayu manis tidak memiliki efek sitotoksik terhadap kultur sel WiDr dan memiliki nilai $IC_{50} = 405,69 \mu\text{g/ml}$.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kemenristek Dikti atas Hibah Penelitian Dosen Pemula.

DAFTAR PUSTAKA

- A'yun, 2016, Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu*) terhadap sel leukemia L1210, Skripsi, Universitas Setia Budi
- Anjarsari, E.Y.,(2013): Potensi destilat kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) sebagai agen ko=kemoterapi Doxorubicin melalui induksi apoptosis pada sel kanker payudara T47D, Skripsi, Yogyakarta, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada
- Depkes, 1985, Sediaan Galenika, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Elahi EN *et al.* 2004. Protein binding and metabolism influence the relative skin sensitization potential of cinnamic compounds. *Chem Res Toxicol* 17:301-310.
- Haranaka *et al.* 1985. Antitumor activities and tumor necrosis factor producibility of traditional chinese medicines and crude drugs. *Cancer Immunol Immunother* 20:1-5.
- Hasan FA, Sri M, Rositawati I. 2013. Efek imunostimulator ekstrak etanol kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap peningkatan jumlah sel T CD4 dan T CD8 pada mencit balb/c. *Program studi Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya*.
- Herdwiani W., Fransiska L, Sari R, Yolanda, Rica, Zahra, Ikawati Z, Hertiani T., (2014): Uji keamanan dan uji aktifitas sitotoksik minyak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) untuk menghasilkan fitofarmaka antikanker, *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, **1**, 2014
- IARC, 2004, Tobacco smoke and involuntary smoking, IARC Monogr Eval Carcinog Risk Hum; 83:1-1438
- Jayaprakasha GK, Jagan M, Rao L, Sakariah KK. 2000. Chemical composition of the flower oil of *Cinnamomum zaylanicum* Blume. *J Agric Food Chem* 48:4294-4295.
- Ka H *et al.* 2003. Cinnamaldehyde induces apoptosis by ROS-mediated mitochondrial permeability transition in human promyelocytic leukemia HL-60. *Cancer Lett* 196:143-152.
- Katzung, B.G. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Buku 2. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, penerjemah. Jakarta : Salemba Medika. Terjemahan dari : *Basic & Clinical Pharmacology*. hlm 449-462.
- Kuo YC, Lin YL, Liu CP, 2005, Antimicrobial agent and chemotherapy, *J Chin Med Assoc*, 68(6):272-5
- Kwon, B.M., Lee, S.H., dan Choi, S.U., (1998): "Synthesis and *in vitro* cytotoxicity of cinnamaldehydes to human solid tumor cells, *Archives of Pharmacology Research*, **21**, 147-152.
- Kwon, H.K., Hwang, J.S., So, J.S., Lee, C.G., Anupama, S., Ryu, J.H., Won, K.J., Byoung, S.K., Im, C.R., Lee, S.H., Zee, Y.P., dan Im, S.H., (2010): cinnamon extract induces tumor cell death through inhibition of Nf_κB and Ap1, *BMC Cancer*, **10**, 392-98.
- Lean-Teik Ng dan Shu-Jing Wu. 2009. Antiproliferative activity of *Cinnamomum cassia* constituents and effects of pifithrin-alpha on their apoptotic signaling pathways in hep G2 cells. *Hindawi Publishing*

- Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2011:1-6.
- Mamonto, I.S., Runtuwene, M.R.J dan Wehantow, F., 2014. Aktifitas antioksidan Ekstrak Kulit Biji Buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke), *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSTRAT*, 3: 263-272.
- Pan MH, Chen WJ, Lin S, Ho CH, Lin JK. 2002. Tangeretin induces cell cycle through inhibiting cyclin dependent kinase 2 & 4 activities as well as elevating cdk inhibitor p21 in human colorectal carcinoma cells. *Carcinogenesis. Oxford University Press* 23:1677-1684.
- Ren W, Qiao Z, Wang H, Zhu L, Zhang L. 2003. Flavonoids: Promising Anticancer Agent. *Medical Research Review* 23:519-534.
- Riskesdas (Riset Kesehatan Dasar), (2013): *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI.*
- Sukardiman, Siswindari and Noor Cholies Zaini, 2004, Anticancer activity of Pinostrobin and Andrographolide Proceeding of Congress of Pharmaceutical Future, Tokyo Japan, October 2005.
- WHO, 2014, The Global burden of disease, World Health Organization.