

ARTIKEL

PROFIL SENYAWA BIOAKTIF DAN AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) DAN FRAKSINYA TERHADAP SEL MCF-7

[*Bioactive Compound Profile and Cytotoxic Activity of Ethanol Extract of Dewa Crown Fructus and its Fractions against MCF-7 Cells*]

Marya Salfia Khoerunisah¹, Marissa Angelina^{2*}, Yan Wisnu Prajoko¹, Ngatinem², Agus Himawan Subiantoro²

¹ Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Semarang, Jawa Tengah 50275

² Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Serpong, Tangerang Selatan, Banten 15314

ABSTRAK

Mahkota dewa merupakan tanaman asli Indonesia yang secara luas telah dikenal sebagai tanaman obat. Beberapa studi telah menunjukkan bahwa buah tanaman ini mengandung senyawa aktif seperti phalerin dan asam galat yang berpotensi sebagai agen antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas sitotoksik ekstrak etanol buah Mahkota Dewa (CEPM) dan fraksinya terhadap sel kanker payudara MCF-7, serta mengidentifikasi senyawa bioaktif di dalamnya. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan etanol 70%, dilanjutkan dengan fraksinasi bertingkat menggunakan n-heksana, etil asetat, dan n-butanol. Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT Assay. Profil senyawa dianalisis menggunakan LC-HR/MS. Hasil menunjukkan bahwa fraksi n-heksana (HFPM) dari ekstrak etanol buah mahkota dewa (CEPM) memiliki aktivitas sitotoksik paling kuat dengan nilai IC_{50} sebesar $118,96 \pm 14,55 \mu\text{g/mL}$. Tujuh dari total 18 senyawa yang teridentifikasi pada HFPM, telah dilaporkan memiliki aktivitas antikanker. Temuan ini menunjukkan bahwa HFPM memiliki potensi sebagai sumber senyawa antikanker alami. Penelitian lanjutan diperlukan untuk isolasi senyawa aktif, pengujian mekanisme molekuler, serta uji lanjut *in vivo* guna mendukung pemanfaatannya dalam pengembangan terapi kanker.

Kata Kunci: *Phaleria macrocarpa*, Mahkota Dewa, Buah, LC-HR/MS

ABSTRACT

*Mahkota dewa is a plant native to Indonesia that is widely known as a medicinal plant. Several studies have demonstrated that the fruit of this plant contains active compounds, including phalerin and gallic acid, which have potential as anticancer agents. This study aims to evaluate the cytotoxic activity of the ethanol extract of *P. macrocarpa* fruit (CEPM) and its fractions against MCF-7 breast cancer cells, as well as to identify the bioactive compounds within it. Extraction was carried out using 70% ethanol, followed by multistage fractionation with *n*-hexane, ethyl acetate, and *n*-butanol. The cytotoxic test was conducted using the MTT assay method. The compound profile was analyzed using LC-HR/MS. The results showed that the *n*-hexane fraction (HFPM) of the ethanol extract of mahkota dewa fruit (CEPM) exhibited the strongest cytotoxic activity, with an IC_{50} value of $118.96 \pm 14.55 \mu\text{g/mL}$. Seven of the 18 compounds identified in HFPM have been reported to have anticancer activity. These findings suggest that HFPM has potential as a source of natural anticancer compounds. Further research is needed to isolate the active compounds, examine their molecular mechanisms, and conduct additional in vivo studies to support their application in the development of cancer therapies.*

Keywords: *Phaleria macrocarpa*, Crown of God, Fruit, Fructus, LC-HR/MS

PENDAHULUAN

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.) merupakan tanaman asli Indonesia yang termasuk dalam famili Thymelaeaceae. Tanaman ini memiliki berbagai nama botani termasuk *Phaleria calantha* Gilg, *Phaleria papuana* Warb. Ex. K. Schum & Lauterb., *Phaleria papuana* var. *wichmannii* (Valeton) Backer, dan *Phaleria wichmannii* Valeton. Mahkota dewa diklasifikasikan sebagai semak atau pohon hijau berdasarkan morfologinya. Ketinggiannya bisa mencapai 1 hingga 18 m. Tanaman ini dapat tumbuh pada ketinggian 10-1200 m di atas permukaan laut dengan masa produktif hingga 20 tahun (Ahmad *et al.*, 2023; Mamatha *et al.*, 2020).

Pemanfaatan mahkota dewa secara tradisional sebagai herbal telah meluas di masyarakat, terutama untuk membantu mengatasi gangguan ginjal, jantung, serta tumor; umumnya melalui konsumsi air rebusan buahnya (Ahmad *et al.*, 2023; Altaf *et al.*, 2013). Potensi antikanker buah mahkota dewa telah didukung oleh berbagai studi yang mengidentifikasi senyawa aktif seperti phalerin dan asam galat sebagai kontributor utama aktivitas sitotoksiknya (Altaf *et al.*, 2013). Hal ini menjadikan mahkota dewa sebagai salah satu kandidat potensial dalam pengembangan agen antikanker berbasis bahan alam.

Kanker payudara menjadi penyumbang kasus kanker terbanyak di Indonesia yaitu sekitar 16,2% (66.271 kasus) IARC (WHO), 2022a dengan kematian tertinggi pada wanita yaitu sekitar 19,8% (IARC WHO 2022b). Pengobatan konvensional kanker seringkali menghadapi kendala karena mekanisme kemoresistensi dan sitotoksitas. Pemanfaatan bahan alam sebagai agen sitotoksik menjadi strategi yang potensial karena aktivitas sitotoksik yang baik dengan efek samping yang minimal (Zhang *et al.*, 2021). Beberapa obat kemoterapi yang digunakan saat ini, seperti paklitaksel dan vinkristin, juga berasal dari tanaman, sehingga semakin memperkuat relevansi eksplorasi bahan alam sebagai sumber terapi kanker (Li *et al.*, 2009; Buyel, 2018; Shoji *et al.*, 2021; Zhang *et al.* 2021). Beberapa studi telah mengeksplorasi aktivitas antikanker dari tanaman mahkota dewa, khususnya terhadap sel kanker payudara. Ekstrak daun menunjukkan efek antiproliferasi kuat terhadap sel T47D (Christina *et al.*, 2022) namun memiliki nilai korelasi rendah terhadap sel MCF-7 ($R = -0,372$) (Amir *et al.*, 2017). Sebaliknya, ekstrak etanol buah mahkota dewa dan fraksinya menunjukkan aktivitas sitotoksik yang kuat terhadap sel MCF-7 meskipun hasilnya dapat bervariasi tergantung metode ekstraksi yang digunakan (Hasim *et al.*, 2022; Hendra *et al.*, 2011; Lay *et al.*, 2014). Variasi ini menunjukkan pentingnya pemilihan metode ekstraksi yang tepat untuk mengoptimalkan aktivitas bioaktifnya.

Dalam penelitian ini, digunakan pelarut etanol 70% untuk ekstraksi buah mahkota dewa karena etanol dikenal sebagai pelarut universal yang efektif mengekstrak senyawa polar hingga nonpolar (Astarina *et al.*, 2012; Syarif *et al.*, 2023). Kombinasi etanol dengan air dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi karena perbedaan polaritas (Fan *et al.*, 2020; Nugraha *et al.*, 2023). Selain itu, etanol dinilai aman, ramah lingkungan, dan cocok digunakan untuk produk obat dan makanan (Chen

et al., 2020; Nugraha *et al.*, 2023). Etanol 70% juga merupakan pelarut yang direkomendasikan oleh BPOM dalam penyiapan bahan baku obat bahan alam berbasis ekstrak atau fraksi (Bpom RI, 2023).

Meskipun penelitian terdahulu telah melaporkan aktivitas sitotoksik buah mahkota dewa terhadap sel MCF-7, namun hasilnya bervariasi tergantung pada metode ekstraksi yang digunakan (Hendra *et al.* 2011; Lay *et al.* 2014; Hasim *et al.*, 2020; Hasim *et al.*, 2022). Evaluasi dengan ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% terhadap garis sel kanker MCM-B2 telah dilaporkan (Hasim *et al.*, 2020), namun hingga saat ini penggunaannya terhadap sel kanker payudara MCF-7 belum dilaporkan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas sitotoksik ekstrak etanol buah mahkota dewa (CEPM) beserta fraksinya terhadap sel kanker payudara MCF-7, serta mengidentifikasi senyawa bioaktif yang terkandung dalam tiap fraksi. Meskipun aktivitas sitotoksik dari fraksi-fraksi mahkota dewa telah banyak dikaji, data mengenai komposisi senyawa pada masing-masing fraksi masih terbatas. Oleh karena itu, studi ini diharapkan dapat memberikan pemahaman yang lebih mendalam mengenai hubungan antara kandungan senyawa dan potensi sitotoksik dari setiap fraksi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia, Laboratorium Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Baik (CPOTB), dan Laboratorium Pengembangan Teknik Industri Agro dan Biomedika, Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Serpong, Kota Tangerang Selatan. Simplisia buah *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. dipanen dari Lampung, Indonesia, pada 2 April 2024. *Doxorubicin hydrochloride* diperoleh dari OBG (Sanbe, Indonesia) sedangkan Sel MCF-7 yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Elabscience®. RPMI 1640 powder (Gibco, USA), natrium bikarbonat (NaHCO₃) (Darmstadt, Germany), Fetal Bovine Serum (FBS) (Sigma dan Gibco, USA), *Phosphate Buffered Saline* (PBS) (Sigma, USA), *penicillin-streptomycin* (Gibco, USA), tripsin-EDTA 0,25% (Gibco, USA), dan reagen MTT (Sigma, USA) digunakan dalam penelitian ini. Pelarut yang digunakan meliputi etanol (C₂H₅OH), n-heksana (C₆H₁₄), n-butanol (C₄H₉OH), dan etil asetat (C₄H₈O₂) (seluruhnya dari Merck), serta dimetil sulfoksida (DMSO) (Thermo Scientific, France).

Preparasi Sampel

Buah mahkota dewa matang dipanen dari Lampung, Indonesia pada tanggal 2 April 2024. Buah kemudian dipotong-potong tipis dan dikeringkan. Simplisia buah mahkota dewa kering dihaluskan menggunakan grinder. Sebanyak 166,8 g serbuk simplisia buah mahkota dewa dimaserasi dengan pelarut etanol 70% (1:15 b/v) selama 24 jam, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Proses maserasi diulang sebanyak tiga kali. Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* (Buchi Heating Bath B-100, Switzerland) pada suhu 50 °C hingga diperoleh ekstrak kental, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 50 °C. Prosedur ini mengacu pada Aminullah *et al.* (2022) dan Christina *et al.* (2022) dengan beberapa modifikasi. CEPM difraksinasi lebih lanjut berdasarkan prosedur yang dimodifikasi dari Lay *et al.* (2014) dan Pham *et al.* (2023). Sebanyak 35 g CEPM dilarutkan dalam campuran metanol dan akuades (1:3 v/v), kemudian difraksinasi secara bertahap menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, dan n-butanol. Fraksi yang diperoleh meliputi fraksi n-heksana (HFPM), etil asetat (EAFPM), n-butanol (BUFPM), dan air (AQFPM). Seluruh fraksi diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi kental, selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C dan disimpan dalam vial. Rendemen dihitung berdasarkan rumus berikut (Anggestia *et al.*, 2024):

$$\frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat Bahan Baku}} \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

Uji Fitokimia LC-HR/ MS

Identifikasi senyawa dilakukan menggunakan instrumen *Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry* (LC-HR/ MS) (Della *et al.*, 2022). Instrumen yang digunakan terdiri dari *Vanquish™ UHPLC Binary Pump* (Thermo Scientific™, Germany), *Q Exactive™ Hybrid Quadrupole-Orbitrap™ High Resolution Mass Spectrometer* (Thermo Scientific™, Germany), dan *Thermo Scientific™ Accucore™ Phenyl-Hexyl* (100 mm × 2.1 mm ID × 2.6 μm). Fase gerak yang digunakan adalah 0,1% asam format dalam air (Fase Gerak A) dan 0,1% asam format dalam asetonitril (Fase Gerak B) dengan laju alir sebesar 0,3 mL/ menit. Sampel ditimbang sebanyak 5 mg dan dilarutkan dalam 1 mL metanol. Larutan sampel disonikasi selama 30 menit dan disaring menggunakan *syringe filter* PTFE dengan pori 0,22 mm. Injeksi komposisi fase Gerak B dimulai dari 5% dan ditingkatkan secara bertahap hingga 90% dalam waktu 16 menit, Fase Gerak B dipertahankan pada tingkat 90% selama 4 menit kemudian diturunkan kembali menjadi 5% dan dipertahankan selama 25 menit. Suhu kolom diatur pada 40°C dengan volume injeksi 3 μL. Data dianalisis menggunakan perangkat lunak *Compound Discoverer™ 3.2*. Identifikasi senyawa dilakukan berdasarkan database otomatis dan pustaka spektrum seperti *mzCloud™* dan *Chemspider™*.

Cytotoxicity MTT Assay

Medium yang digunakan untuk pertumbuhan sel MCF-7 terdiri dari RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) 1640, FBS 10%, dan penstrep (*penicillin-streptomycin*) 1-1,5% (Lay *et al.*, 2014; Hermawan *et al.*, 2011; Amalina *et al.*, 2017). Sampel ditimbang sebanyak 1 mg dan dilarutkan dalam 50 μL DMSO (Larutan stok). Larutan stok diencerkan dengan medium pertumbuhan sel hingga diperoleh konsentrasi pengujian 12,5; 25; 50; 100; 200; dan 400 ppm. Sel MCF-7 ditanam sebanyak 2×10^4 sel/ well pada 96 *multi-well plates* dan diinkubasi selama 24 jam (37 °C, 5% CO₂). Setelah itu, sel diberi perlakuan sampel selama 48 jam. Kelompok perlakuan meliputi kelompok intervensi, kontrol sel, kontrol media, dan kontrol solvent (DMSO 2%). Medium dibuang, diganti dengan 100 μL larutan MTT 10% (MTT 100% = 5 mg/mL), diinkubasi selama 1–4 jam (37 °C, 5% CO₂). Setelah terbentuk kristal formazan ungu, larutan MTT kemudian diganti dengan 100 μL DMSO. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 570 nm (CCRC, 2014; Bestari, 2018; Fitriyari, 2010; Sajjadi *et al.*, 2015). Nilai IC₅₀ ditentukan melalui analisis regresi linier. Persentase viabilitas sel dihitung berdasarkan data absorbansi menggunakan Microsoft Excel dengan rumus berikut (Ikalinus *et al.*, 2015; Khoerunisah *et al.*, 2023):

$$\% \text{ Viabilitas sel} = \frac{\text{Absorbansi sampel} - \text{Absorbansi media}}{\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{Absorbansi media}} \times 100\% \dots \dots (2)$$

HASIL

Proses ekstraksi terhadap 166,8 g serbuk simplisia buah mahkota dewa menghasilkan CEPM sebanyak 56,7 g (33,99%). Proses fraksinasi menghasilkan HFPM sebanyak 0,3 g (0,86%), EAFPM sebanyak 4,9 g (14%), BUFPM sebanyak 1,72 g (4,91%), dan AQFPM sebanyak 13,16 g (37,6%). Rendemen tertinggi secara berturut-turut didapatkan dari AQFPM, EAFPM, fraksi BUFPM, dan HFPM. Hasil identifikasi senyawa CEPM disajikan pada Tabel 1, sedangkan fraksinya (HFPM, EAFPM, BUFPM) disajikan pada Tabel 2. Efek sitotoksik CEPM dan fraksinya terhadap sel kanker payudara MCF-7 ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 1. Prediksi Senyawa yang Terkandung pada CEPM berdasarkan Analisis Instrumen LC-HR/MS (*Prediction of Compounds Contained in CEPM based on LC-HR/MS Instrument Analysis*)

Nama Senyawa (Compound Name)	Formula	MW	RT (Min)	Grup (Groups)
NP-019811	C ₆ H ₇ NO ₂	125,05	1,01	Ester (Wonorahardjo <i>et al.</i> , 2023)
Quercetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302,04	4,23	Flavonoid (Hendra <i>et al.</i> , 2011b; Rajhard <i>et al.</i> , 2021)
Isophalerin	C ₂₀ H ₂₂ O ₁₀	422,12	4,82	Derivat benzophenone (Mamatha <i>et al.</i> , 2020)
Mahkoside A	C ₂₀ H ₂₂ O ₁₀	422,12	4,82	Derivat benzophenone (Mamatha <i>et al.</i> , 2020)
2,3-Dihydroxy-5-(4-methoxybenzoyl) Phenyl-D-allopyranoside	C ₂₀ H ₂₂ O ₁₀	422,12	4,82	Derivat benzophenone
Dibenzylamine	C ₁₄ H ₁₅ N	197,12	5,69	Amina (Wonorahardjo <i>et al.</i> , 2023)
NP-000925	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	300,10	7,52	-
Matairesinol	C ₂₀ H ₂₂ O ₆	358,14	8,62	Lignan (Hussain <i>et al.</i> , 2023)
1-Linoleoyl glycerol	C ₂₁ H ₃₈ O ₄	354,28	14,11	Alkohol (Wonorahardjo <i>et al.</i> , 2023)
α -Linolenic acid	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278,22	14,40	Fatty acid (Mercola & D'Adamo, 2023)
Monoolein	C ₂₁ H ₄₀ O ₄	356,29	14,72	Monoasilgliserol (Nitbani <i>et al.</i> , 2020)
Oleamide	C ₁₈ H ₃₅ NO	281,27	14,74	Fatty acid (Naumoska <i>et al.</i> , 2020)
1-Stearoylglycerol	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	358,31	15,37	Monoasilgliserol (Mondul <i>et al.</i> , 2014)
Stearamide	C ₁₈ H ₃₇ NO	283,29	15,45	Amida (Wonorahardjo <i>et al.</i> , 2023)
9(Z),11(E),13(E)-Octadecatrienoic Acid methyl ester	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292,24	16,17	Fatty acid methyl ester (Tomaz <i>et al.</i> , 2012)
Stigmasterol	C ₂₉ H ₄₈ O	412,37	19,00	Steroid (Hazimah <i>et al.</i> , 2023)

Ket. CEPM = *Crude Extract of Phaleria macrocarpa*, MW = *Molecular Weight*, RT = *Retention Time*

Sebanyak 16 prediksi senyawa teridentifikasi dalam ekstrak etanol buah *Phaleria macrocarpa* (CEPM). Senyawa-senyawa tersebut termasuk ke dalam beberapa golongan metabolit, yaitu ester, flavonoid, derivat benzophenone, amina, lignan, alkohol, asam lemak, monoasilgliserol, amida, ester asam lemak, serta steroid.

Tabel 2. Prediksi Senyawa yang Terkandung pada fraksi CEPM berdasarkan Analisis Instrumen LC-HR/MS (*Prediction of Compounds Contained in CEPM's fraction based on LC-HR/MS Instrument Analysis*)

Nama Senyawa (Compound Name)	Formula	HFPM		EAFPM		BUFPM		Bioaktivitas (Bioactivities)
		MW	RT (Min)	MW	RT (Min)	MW	RT (Min)	
NP-019811	C ₆ H ₇ NO ₂			125,05	0,79			-
Pyridoxine	C ₈ H ₁₁ NO ₃			169,07	0,8			Antiinflamasi (Mikkelsen <i>et al.</i> , 2023), <i>Chemosensitizing agent</i> (Banerjee <i>et al.</i> , 2020)
Phloroglucinol	C ₆ H ₆ O ₃			126,03	2,20			Antikanker (Kang <i>et al.</i> , 2014), Antiinflamasi (Bare 2022)
2,3-Dihydroxy-5-(4-methoxybenzoyl) phenylD-allopyranoside	C ₂₀ H ₂₂ O ₁₀	422,12	4,82	422,12	4,82	422,12	4,82	-
Isophalerin	C ₂₀ H ₂₂ O ₁₀	422,12	4,82	422,12	4,82	422,12	4,82	Antikanker (Winarno & Katrin 2010)
Mahkoside A	C ₂₀ H ₂₂ O ₁₀	422,12	4,82	422,12	4,82	422,12	4,82	-
icariside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂			464,1	5,92			Antikanker (Xu <i>et al.</i> , 2021; Hou <i>et al.</i> , 2024)
Mahkoside B	C ₂₂ H ₂₄ O ₁₁			464,13	6,50			-
NP-000925	C ₁₇ H ₁₆ O ₅			300,1	7,52			-
Matairesinol	C ₂₀ H ₂₂ O ₆			358,14	8,63			Antikanker (Mahajan <i>et al.</i> , 2021), Antioksidan, Antiinflamasi (Wu <i>et al.</i> , 2021)
Quercetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇			302,04	8,65	302,04	4,23	Antikanker (Shahbaz <i>et al.</i> , 2023), antiinflamasi (Aggarwal <i>et al.</i> , 2025), Antioksidan (Xu <i>et al.</i> ,

Nama Senyawa (Compound Name)	Formula	HFPM		EAFPM		BUFPM		Bioaktivitas (Bioactivities)
		MW	RT (Min)	MW	RT (Min)	MW	RT (Min)	
DEET	C ₁₂ H ₁₇ NO	191,1	9,2					2019; Qi <i>et al.</i> , 2022), Antivirus (Qi <i>et al.</i> , 2022)
Curcumin	C ₂₁ H ₂₀ O ₆			368,13	10,96			Antimikroba, repelan (Kalayci <i>et al.</i> , 2014)
α -Eleostearic acid	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278,2	12,5					Antiinflamasi, antioksidan, antimikroba, antivirus, antikanker, neuroprotektif, antimalaria, <i>wound healing</i> (Urošević <i>et al.</i> , 2022)
Monoolein	C ₂₁ H ₄₀ O ₄	356,3	12,9	356,29	12,95			Antikanker (Zhuo <i>et al.</i> , 2014; Moon <i>et al.</i> , 2010; Moon <i>et al.</i> , 2010), neuromodulator & antioksidan (Kung & Lin, 2021)
Dibutyl hexanedioate	C ₁₄ H ₂₆ O ₄					258,18	13,13	Antimikroba (Roy <i>et al.</i> , 2006)
Palmitoyl ethanolamide	C ₁₈ H ₃₇ NO ₂	299,3	13,7					Antikanker (Pagano <i>et al.</i> , 2021), Neuroprotektif, analgesik, antimikroba (Clayton <i>et al.</i> , 2021), antiinflamasi (Clayton <i>et al.</i> , 2021; Sá & Castor, 2023), immunomodulator (Clayton <i>et al.</i> , 2021; Sá & Castor, 2023)
1-Linoleoyl glycerol	C ₂₁ H ₃₈ O ₄	354,3	14,1					-
9(Z),11(E),13(E)-Octadecatrienoic Acid methyl ester	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292,2	14,2					-
Palmitoleic acid	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254,2	14,6					Antibakteri (Watanabe <i>et al.</i> , 2021), Anti-inflamasi (Souza <i>et al.</i> , 2017)
Citroflex A-4 Oleamide	C ₂₀ H ₃₄ O ₈ C ₁₈ H ₃₅ NO	402,2 281,3	14,6 14,8					- Antikanker (Torres-Román <i>et al.</i> , 2020), Antiinflamasi (Moon <i>et al.</i> , 2018), antialergenik (Yang <i>et al.</i> , 2016)
1-Stearoylglycerol	C ₂₁ H ₄₂ O ₄			358,31	15,38	358,31	15,39	-
Stearamide	C ₁₈ H ₃₇ NO	283,3	15,45	283,29	15,45			-
Linolenic acid ethyl ester	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306,3	16,7					Melanogenesis (Ko & Cho 2018), anti-inflamasi (Park <i>et al.</i> , 2014)
Bis(2-ethylhexyl) phthalate	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390,3	17,37	390,28	17,37	390,28	17,37	Antikanker (Lotfy <i>et al.</i> , 2018), Antitumor (Habib and Karim 2012), Antimikroba (Lotfy <i>et al.</i> , 2018), Antibakteri (Javed <i>et al.</i> , 2022), Larvasidal (Javed <i>et al.</i> , 2022), Antimutagenik (Cruz-Ramírez <i>et al.</i> , 2021)
Ethyl oleate	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310,3	17,7					Antikanker, antibakteri (Aller & Aller 1998)
β -sitosterol	C ₂₉ H ₅₀ O	414,39	18,61					Antiinflamasi (Sun <i>et al.</i> , 2020), antikanker (Manral <i>et al.</i> , 2016; Bao <i>et al.</i> , 2022)
Stigmasterol	C ₂₉ H ₄₈ O	412,37	19,06	412,37	19,06			Antidiabetes, antioksidan, antiastmatik, antikanker, antiepileptik, antithyroid, immunomodulator (Goswami <i>et al.</i> , 2023)

Ket. CEPM = *Crude Extract of Phaleria macrocarpa*, HFPM = *N-hexane Fraction of Phaleria macrocarpa*, EAFPM = *Etyl Acetate Fraction of Phaleria macrocarpa*, BUFPM = *Butanol Fraction of Phaleria macrocarpa*, MW = *Molecular Weight*, RT = *Retention Time*

Sebanyak 18 prediksi senyawa teridentifikasi dalam fraksi n-heksan, 17 senyawa pada fraksi etil asetat, dan 7 senyawa pada fraksi butanol. Beberapa senyawa terdeteksi pada lebih dari satu fraksi, yaitu 2,3-Dihydroxy-5-(4-methoxybenzoyl) phenylD-allopyranoside, isophalerin, mahkoside

A, quercetin, Bis(2-ethylhexyl) phthalate, Stearamide, 1-Stearoylglycerol, monoolein, dan stigmasterol, sedangkan lainnya hanya muncul pada fraksi tertentu.

Tabel 3. Efek sitotoksik CEPM dan fraksinya terhadap MCF-7 (*Cytotoxic effect of CEPM and its fractions against MCF-7*)

Ekstrak (Extract)	Durasi Pemaparan (Treatment Duration) (Jam) (h)	Nilai IC ₅₀ (IC ₅₀ Value) (µg/ mL, Mean ± SD, n=3)
CEPM	48	472,13 ± 59,18
HFPm		118,96 ± 14,55
EAFPM		753,26 ± 27,48
BUFPM		680,99 ± 79,49
AQFPM		909,32 ± 185,94

Nilai IC₅₀ hasil uji sitotoksik terhadap sel MCF-7 menunjukkan bahwa fraksi n-heksan (HFPm) memiliki aktivitas paling tinggi dengan IC₅₀ sebesar 118,96 ± 14,55 µg/mL, dibandingkan dengan CEPm (472,13 ± 59,18 µg/mL), fraksi etil asetat (753,26 ± 27,48 µg/mL), fraksi butanol (680,99 ± 79,49 µg/mL), dan fraksi air (909,32 ± 185,94 µg/mL).

PEMBAHASAN

Isophalerin dan Mahkoside A teridentifikasi terkandung di dalam ekstrak dan fraksi buah mahkota dewa. Keberadaan kedua senyawa tersebut sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa Isophalerin dan mahkoside A merupakan senyawa turunan benzophenon yang berhasil diisolasi dari buah mahkota dewa (Susilawati *et al.*, 2015; Eff *et al.*, 2018). Selain itu, senyawa flavonoid utama yaitu quercetin juga teridentifikasi dalam CEPm, EAFPM, dan BUFPM (Altaf *et al.*, 2013; Mamatha *et al.*, 2020), namun tidak ditemukan pada HFPm. Perbedaan ini dapat dijelaskan oleh sifat kimia senyawa dan jenis pelarut yang digunakan. Quercetin merupakan senyawa yang bersifat semipolar sedangkan heksan merupakan pelarut yang bersifat nonpolar sehingga quercetin tidak terekstraksi pada HFPm (Batubara *et al.*, 2017; Rajhard *et al.*, 2021; Vollmannová *et al.*, 2024). Senyawa lainnya yang terdeteksi pada sampel adalah stigmasterol yang termasuk dalam golongan senyawa sterol (Hazimah *et al.*, 2023). Stigmasterol telah dilaporkan terkandung pada buah mahkota dewa pada temuan sebelumnya (Mamatha *et al.*, 2020). Stigmasterol bersifat semipolar-nonpolar sehingga memiliki rentang kelarutan yang lebih luas (Jannah *et al.*, 2013). Stigmasterol ditemukan pada CEPm, HFPm, EAFPM namun tidak ditemukan pada BUFPM.

Beberapa senyawa bioaktif yang sebelumnya dilaporkan terkandung dalam buah mahkota dewa, seperti asam galat, kaempferol, dan myricetin, tidak teridentifikasi pada sampel. Ketidakhadiran senyawa tersebut dapat disebabkan oleh variasi kandungan metabolit sekunder pada tanaman yang dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Faktor biotik seperti patogen, simbiosis, herbivora, serta faktor abiotik seperti cahaya, suhu, ketinggian, kesuburan tanah, dan stres lingkungan dapat mempengaruhi biosintesis senyawa bioaktif pada tanaman (Alami *et al.*, 2024; Qaderi *et al.*, 2023). Faktor biotik yang mencakup interaksi dengan organisme seperti herbivora dan patogen dapat memicu produksi metabolit sekunder sebagai mekanisme pertahanan. Sementara itu, faktor abiotik seperti suhu, cahaya, nutrisi tanah, dan ketersediaan air juga berpengaruh signifikan terhadap biosintesis metabolit sekunder (Alami *et al.*, 2024). Penurunan intensitas cahaya dilaporkan dapat menurunkan produksi senyawa fenolik pada beberapa spesies tanaman (Qaderi *et al.*, 2023). Dalam studi sebelumnya, dari 10 metabolit flavonoid yang dianalisis, sebanyak 8 diantaranya mengalami penurunan dibawah kondisi cahaya rendah (Hou *et al.*, 2010; Ibrahim and Jaafar 2012; Jung *et al.*, 2013; Ibrahim *et al.*, 2014; Peng *et al.*, 2015). Secara umum, terdapat kecenderungan peningkatan kandungan senyawa fenolik di bawah intensitas cahaya tinggi dan penurunan fenolik di bawah

intensitas cahaya rendah yang kemungkinan diatur oleh ekspresi genetik yang berbeda (Alami *et al.*, 2024; Qaderi *et al.*, 2023).

HFBM menunjukkan aktivitas sitotoksik paling kuat terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC_{50} terendah dibandingkan CEPM dan fraksi lainnya. Sebaliknya, AQFBM yang bersifat sangat polar, menunjukkan aktivitas sitotoksik paling rendah (Rajhard *et al.*, 2021). Perbedaan nilai IC_{50} antar fraksi mencerminkan variasi kandungan metabolit sekunder yang diekstraksi oleh masing-masing pelarut dengan polaritas berbeda (Lay *et al.*, 2014). Analisis profil senyawa menunjukkan bahwa HFBM mengandung tujuh senyawa bioaktif yang dilaporkan memiliki aktivitas antikanker dari total senyawa yang teridentifikasi sebanyak 18 senyawa dan berkontribusi terhadap aktivitas sitotoksik yang lebih kuat terhadap sel MCF-7. Pada EAFBM dan BUFBM, masing-masing teridentifikasi delapan dan tiga senyawa yang juga memiliki aktivitas antikanker dari total senyawa yang teridentifikasi masing-masing sebanyak 17 dan 7 senyawa, namun aktivitas sitotoksiknya lebih rendah dibandingkan HFBM. Hasil ini berbeda dengan penelitian Lay *et al.* (2014) yang menunjukkan sitotoksik paling kuat pada fraksi etil asetat, maupun penelitian Hendra *et al.* (2011) yang juga mendapatkan aktivitas sitotoksik tinggi pada ekstrak buah mahkota dewa. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh variasi metode ekstraksi dan perbedaan lokasi atau kondisi tempat tumbuh tanaman yang dapat mempengaruhi biosintesis senyawa bioaktif pada tanaman.

Pada studi lebih lanjut, fraksi etil asetat buah mahkota dewa dilaporkan dapat merangsang ekspresi protein pro apoptosis (BAX, Bid, P21, P27, P53, caspase-3, caspase-8, sitokrom c) dan menghambat ekspresi protein anti-apoptotik (BCL-2, BCL-W, XIAP, survivin) pada sel MDA-MB-231 (Kavitha *et al.*, 2022). Studi serupa dilakukan oleh Tandrasasmita *et al.* (2010) yang menunjukkan adanya peningkatan ekspresi gen pro apoptotik (BAX, BAD, PUMA) dan penekanan jalur persinyalan PI3K/ AKT melalui penurunan kadar transkrip PI3K dan fosforilasi AKT pada sel MDA-MB-231 yang diberikan ekstrak buah mahkota dewa. Regulasi ekspresi gen apoptosis Bax, BCL-2, fragmentasi DNA, dan aktivasi caspase-9 dilaporkan pada penelitian Tjandrawinata *et al.* (2010).

Selain senyawa yang dilaporkan memiliki aktivitas antikanker, teridentifikasi senyawa lain yang tidak dapat diabaikan perannya karena kemungkinan adanya interaksi antar senyawa dalam masing-masing sampel yang dapat turut mempengaruhi potensi sitotoksik secara keseluruhan. Aktivitas biologis tiap sampel merupakan hasil dari interaksi kompleks antar berbagai senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya (Chaachouay, 2025). Nilai IC_{50} HFBM yang lebih rendah dibanding CEPM menunjukkan bahwa proses fraksinasi efektif dalam meningkatkan potensi sitotoksik pada HFBM. Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi senyawa dimana 50% viabilitas sel dihambat. Nilai IC_{50} berperan sebagai parameter untuk menilai efektivitas senyawa terapeutik potensial (Sanchez-Diez *et al.*, 2025). Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin potensial senyawa tersebut karena besaran konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% viabilitas sel semakin kecil. Fraksinasi berperan dalam memisahkan senyawa aktif dari senyawa lain yang dapat menghambat aktivitas biologis, sehingga meningkatkan kemurniaan dan efektivitasnya (Julinda *et al.*, 2021).

KESIMPULAN

Fraksi n-heksana (HFBM) dari CEPM menunjukkan aktivitas sitotoksik paling kuat terhadap sel MCF-7. Tujuh dari total 18 senyawa yang teridentifikasi pada HFBM, dilaporkan memiliki aktivitas antikanker. Interaksi antar senyawa tersebut memberikan efek sitotoksik paling kuat dibandingkan ekstrak dan fraksi lainnya. Temuan ini membuka prospek untuk pengembangan lebih lanjut senyawa bioaktif dalam HFBM sebagai kandidat terapi antikanker, khususnya untuk kanker payudara. Studi lanjutan diperlukan untuk mengisolasi senyawa mayor, mengevaluasi mekanisme kerja secara molekuler, serta melakukan uji *in vivo* untuk menilai keamanan dan efektivitas biologisnya secara menyeluruh. Selain itu, eksplorasi potensi kombinasi juga dapat menjadi langkah strategis dalam optimalisasi efektivitas antikanker.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Direktorat Manajemen Talenta, Sumber Daya Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), khususnya Program Asisten Riset yang telah memfasilitasi penelitian ini, dan kepada Rumah Program Purwarupa Hasil Riset dan Inovasi Obat dan Vaksin OR Kesehatan BRIN atas pendanaan penelitian ini pada tahun 2025.

KONTRIBUSI PENULIS

MSK: Mengumpulkan data penelitian, membuat draf artikel, merevisi naskah akhir; MA: Membuat konsep penelitian, mengumpulkan data penelitian, merevisi naskah akhir; YWP: Membuat konsep penelitian, merevisi naskah akhir; N: Membuat material dan konsep penelitian; AHS: Membuat material dan konsep penelitian.

REFERENSI

- Aggarwal, D., Chaudhary, M., Mandotra, S. K., Tuli, H. S., Chauhan, R., Joshi, N. C., Kaur, D., Dufossé, L., Chauhan, A. 2025. Anti-inflammatory potential of quercetin: From chemistry and mechanistic insight to nanoformulations. *Current research in pharmacology and drug discovery*, 8, p.100217.
- Ahmad, R., Khairul Nizam Mazlan, M., Firdaus Abdul Aziz, A., Mohd Gazzali, A., Amir Rawa, M. S., Wahab, H.A. 2023. *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.: An updated review of pharmacological effects, toxicity studies, and separation techniques. *Saudi pharmaceutical journal : SPJ : the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, 31(6), pp.874–888.
- Alami, M.M., Guo, S., Mei, Z., *et al.* 2024. Environmental factors on secondary metabolism in medicinal plants: Exploring accelerating factors. *Medicinal Plant Biology*, 3, pp.1–11.
- Aller, R., Aller, M., 1998. Ethyl oleate, hexadecenoic acid, phytol profiling of *Onosma bracteatum*: Antibacterial, anticancer and molecular docking studies. *Asian Journal of Chemistry*, 26, pp.70–73.
- Altaf, R., Asmawi, M.Z. Bin, Dewa, A., *et al.* 2013. Phytochemistry and medicinal properties of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. extracts. *Pharmacognosy Reviews*, 7, pp.73–80.
- Amalina, N., Nurhayati, I.P., Meiyanto, E., 2017. Doxorubicin induces lamellipodia formation and cell migration. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 8, pp.61–67.
- Aminullah, L., Christina, Y.I., Rifa'i, M., Djati, M.S., 2022. *Phaleria macrocarpa* leaves extract reduce tumors growth and improve histological changes of liver and kidney on 4T1 breast cancer mice model. *Journal of Experimental Life Science*, 12, pp.46–54.
- Amir, H., Murcitra, B.G., Ahmad, A.S., Kassim, M.N.I., 2017. The potential use of *Phaleria macrocarpa* leaves extract as an alternative drug for breast cancer among women living in poverty. *Asian Journal of Poverty Studies*, 3, pp.138–145.
- Anggestia, W., Utami, S.P., Darmawangsa, *et al.* 2024. Effect of solvent type on the amount of yield from maceration of moringa plants (*Moringa oleifera*). *Interdental: Jurnal Kedokteran Gigi*, 20, pp.164–169.
- Astarina, N.W., Astuti, K.W., Warditiani, N.K., 2012. Skrining fitokimia ekstrak metanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Jurnal Farmasi Udayana*, 5, pp.93–94.
- Banerjee, S., Mukherjee, S., Bhattacharya, A., *et al.* 2020. Pyridoxine enhances chemoresponsiveness of breast cancer stem cells via redox reconditioning. *Free Radical Biology and Medicine*, 152, pp.152–165.
- Bao, X., Zhang, Y., Zhang, H., Xia, L., 2022. Molecular mechanism of β -sitosterol and its derivatives in tumor progression. *Frontiers in Oncology*, 12, p.926975.
- Bare, Y., 2022. Interaksi senyawa phloroglucinol sebagai terapi inflamasi melalui penghambatan gen cyclooxygenase-2 (COX-2). *Jurnal Ilmiah Medicamentum*, 8, pp.14–21.
- Batubara, I., Suparto, I.H., Wulandari, N.S., 2017. The best extraction technique for kaempferol and quercetin isolation from guava leaves (*Psidium guajava*). *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 58, p.012060

- Bestari, R., 2018. Uji aktivitas antikanker ekstrak daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) terhadap model sel kanker kolon WiDr. Tesis, Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara, Medan.
- BPOM RI, 2023. *Pedoman penyiapan bahan baku obat bahan alam berbasis ekstrak / fraksi*. Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, pp. 45.
- Buyel, J.F., 2018. Plants as sources of natural and recombinant anti-cancer agents. *Biotechnol*, 8, 36, pp. 506–520.
- CCRC, 2014. *Prosedur tetap uji sitotoksik metode MTT: preparasi sampel*. Cancer Chemoprevention Research Center, pp.1–8.
- Chaachouay, N., 2025. Synergy, additive effects, and antagonism of drugs with plant bioactive compounds. *Drugs and Drug Candidates*, 4(1), p.4.
- Chen, H., Xiao, H., Pang, J., 2020. Parameter optimization and potential bioactivity. *Plants*, 9(3), p. 392.
- Christina, Y. I., Rifa'i, M., Widodo, N., Djati, M. S. 2022. Comparative Study of Antiproliferative Activity in Different Plant Parts of *Phaleria macrocarpa* and the Underlying Mechanism of Action. *The Scientific World Journal*, 2022, p.3992660.
- Clayton, P., Hill, M., Bogoda, N., Subah, S., Venkatesh, R. 2021. Palmitoylethanolamide: A Natural Compound for Health Management. *International journal of molecular sciences*, 22(10), p.5305.
- Cruz-Ramírez, S.G., López-Saiz, C.M., Rosas-Burgos, E.C., *et al.* 2021. Antimutagenic bis (2-ethylhexyl) phthalate isolated from octopus (*Paraoctopus vulgaris*). *Food Science and Technology*, 41, pp.314–320.
- Della Vedova, L., Ferrario, G., Gado, F., Altomare, A., Carini, M., Morazzoni, P., Aldini, G., Baron, G. 2022. Liquid Chromatography-High-Resolution Mass Spectrometry (LC-HRMS) Profiling of Commercial Enocianina and Evaluation of Their Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 11(6), p.1187.
- Eff, A.R.Y., Pertiwi, R.D., Rakhmawati, I., Utami, T.P., 2018. In-vitro and in-vivo sunscreen activity of active compounds isolated from fruits of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. *Journal of Young Pharmacists*, 10, pp.106–S110.
- Fan, S., Yang, G., Zhang, J., *et al.* 2020. Optimization of ultrasound-assisted extraction using response surface methodology for. *Molecules*, 25, pp.1–24.
- Fan S, Yang G, Zhang J, Li J, Bai B. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction Using Response Surface Methodology for Simultaneous Quantitation of Six Flavonoids in Flos Sophorae Immaturus and Antioxidant Activity. *Molecules*, 25(8), p.1767.
- Fitriasari, A., 2010. *Cancer Chemoprevention Research Center Fakultas Farmasi UGM*. Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta, Indonesia, pp. 1–8.
- Goswami, M., Priya, Jaswal, S., Gupta, G. D., Verma, S. K. 2023. A comprehensive update on phytochemistry, analytical aspects, medicinal attributes, specifications and stability of stigmasterol. *Steroids*, 196, p.109244.
- Habib, M.R., Karim, M.R., 2012. Antitumour evaluation of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) isolated from *Calotropis gigantea* L. flower. *Acta Pharm*, 62, pp.607–615.
- Hasim, H., Kurniawati, S.O., Priosoeryanto, B.P., *et al.* 2020. Antiproliferation activity of God's crown fruit (*Phaleria macrocarpa*) extract and fractions against MCM-B2 breast cancer cells. *J Appl Pharm Sci*, 10, pp.52–58.
- Hasim, H., Kurniawati, S.O., Priosoeryanto, B.P., Faridah, D.N., Puspita, R. 2020. Antiproliferation activity of God's crown fruit (*Phaleria macrocarpa*) extract and fractions against MCM-B2 breast cancer cells. *J Appl Pharm Sci*, 10(03), pp.52–58.
- Hasim, H., Mantik, Y.A., Husnawati, H. *et al.* 2022. Antiproliferative potency of God's Crown fruit (*Phaleria macrocarpa*) extract against breast cancer cell. *Borneo J Pharm*, 5(4), pp.307–314.

- Hazimah, F., Fadhli, H., Fitriyah, D. 2023. Stigmasterol (Steroid) dari daun tanaman *Solanum ferox* L (terung asam). *Al-Kimia*, 11(1), pp.20–27.
- Hendra, R., Ahmad, S., Oskoueian, E., Sukari, A., Shukor, M. Y. 2011. Antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxicity of *Phaleria macrocarpa* (Boerl.) Scheff Fruit. *BMC complementary and alternative medicine*, 11, p.110
- Hendra R, Ahmad S, Sukari A, *et al.* 2011. Flavonoid analyses and antimicrobial activity of various parts of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl fruit. *Int J Mol Sci*, 12, pp.3422–3431.
- Hermawan, A., Fitriyasati, A., Junedi, S., *et al.* 2011. Pgv-0 dan Pgv-1 meningkatkan induksi apoptosis dari doxorubicin pada sel kanker payudara Mcf-7. *Pharmacon J Farm Indones*, 12(2), pp.55–59.
- Hou, J.L., Li, W.D., Zheng, Q.Y. *et al.* 2010. Effect of low light intensity on growth and accumulation of secondary metabolites in roots of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38, pp.160–168.
- Hou, M., Li, H., He, T., *et al.* 2024. Icariside I reduce breast cancer proliferation, apoptosis, invasion, and metastasis probably through inhibiting IL-6/STAT3 signaling pathway. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 76, pp.499–513.
- Hussain Zaki, U.K., Fryganas, C., Trijsburg, L., *et al.* 2023. Influence of different processing method on lignan content of selected Malaysian plant-based foods. *Food Chemistry*, 404(2023), pp.1–7.
- IARC WHO, 2022a. Absolute numbers, Incidence, Both Sexes, in 2022 Indonesia. https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&group_populations=1&populations=360&prev_time=5&types=0
- IARC WHO, 2022b. Absolute numbers, Mortality, Females, in 2022 Indonesia. https://gco.iarc.fr/today/en/dataviz/pie?mode=cancer&group_populations=1&populations=360&prev_time=5&types=1&sexes=2
- Ibrahim, M.H. dan Jaafar, H.Z.E., 2012. Primary, secondary metabolites, H₂O₂, malondialdehyde and photosynthetic responses of *Orthosiphon stimanus* Benth. to different irradiance levels. *Molecules*, 17, pp.1159–1176.
- Ibrahim, M. H., Jaafar, H. Z., Karimi, E., Ghasemzadeh, A. 2014. Allocation of secondary metabolites, photosynthetic capacity, and antioxidant activity of Kacip Fatimah (*Labisia pumila* Benth) in response to CO₂ and light intensity. *The Scientific World Journal*, 2014, p.360290
- Ikalinus, R., Widyastuti, S., Eka Setiasih, N. 2015. Skrining fitokimia ekstrak etanol kulit batang kelor (*Moringa oleifera*). *Indones Med Veterinus*, 4, pp. 77.
- Jannah, H., Sudarma, I.M., Andayani, Y. 2013. Application of thin layer chromatography (TLC) and gas chromatography–mass spectroscopy (GC-MS) as analysis technique of phytosterol compounds in water extract of bean fruit (*Phaseolus vulgaris* L.). *Prism Sains: Jurnal Pengkajian Ilmu dan Pembelajaran Matematika dan IPA IKIP Mataram*, 1, pp. 143.
- Javed, M. R., Salman, M., Tariq, A., Tawab, A., Zahoor, M. K., Naheed, S., Shahid, M., Ijaz, A., Ali, H. (2022). The Antibacterial and Larvicidal Potential of Bis-(2-Ethylhexyl) Phthalate from *Lactiplantibacillus plantarum*. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(21), p.7220.
- Julinda, M., Sumarsongko, T., dan Alamsyah, G.N., 2021. Comparison of the retentive ability on incisal bite force between aloe vera and poly(methyl-vinyl-ether) adhesive materials in complete acrylic denture measured by modified pressure transducer. *Padjadjaran J Dent*, 33, p.81.
- Jumina, J., Lavendi, W., Singgih, T., Triono, S., Steven Kurniawan, Y., Koketsu, M. 2019. Preparation of Monoacylglycerol Derivatives from Indonesian Edible Oil and Their Antimicrobial Assay against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Scientific reports*, 9(1), p.10941.
- Jung, E.S., Lee, S., Lim, S.H., *et al.* 2013. Metabolite profiling of the short-term responses of rice leaves (*Oryza sativa* cv. Ilmi) cultivated under different LED lights and its correlations with antioxidant activities. *Plant Science*, 210, pp.61–69.

- Kalayci, S., Demirci, S., Sahin, F. 2014. Determination of antimicrobial properties of Picaridin and DEET against a broad range of microorganisms. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(2), pp.407–411.
- Kang, M.H., Kim, I.H., Nam, T.J. 2014. Phloroglucinol induces apoptosis via apoptotic signaling pathways in HT-29 colon cancer cells. *Oncology Reports*, 32(3), pp.1341–1346.
- Kavitha N, Ein Oon C, Chen Y, *et al.* 2017). *Phaleria macrocarpa* (Boerl.) fruit induce G0/G1 and G2/M cell cycle arrest and apoptosis through mitochondria-mediated pathway in MDA-MB-231 human breast cancer cell. *J Ethnopharmacol*, 201, pp.42–55.
- Khoerunisah, M.S., Angelina, M. Kasiyati, K. 2023. Cytotoxic Test of *Cassia alata* L. Leaves Ethanol Extracts, Fractions, and Main Compounds against MCF-7 Cells. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 13(3), pp.144–151.
- Ko, G.A. Cho, S.K., 2018. Ethyl linoleate inhibits α -MSH-induced melanogenesis through AKT/GSK3 β / β -catenin signal pathway. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, 22(1), pp.53–61.
- Kung, W. M., Lin, M. S. (2021). Beneficial Impacts of Alpha-Eleostearic Acid from Wild Bitter Melon and Curcumin on Promotion of CDGSH Iron-Sulfur Domain 2: Therapeutic Roles in CNS Injuries and Diseases. *International journal of molecular sciences*, 22(7), p.3289.
- Lay, M. M., Karsani, S. A., Mohajer, S., Abd Malek, S. N. 2014. Phytochemical constituents, nutritional values, phenolics, flavonols, flavonoids, antioxidant and cytotoxicity studies on *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl fruits. *BMC complementary and alternative medicine*, 14, p.152.
- Li, J.W., Vederas, J.C. 2009. Drug discovery and natural products: End of an era or an endless frontier? *Science*, 325, pp. 161–165.
- Lotfy, M.M., Hassan, H.M., Hetta, M.H., *et al.* 2018. Di-(2-ethylhexyl) Phthalate, a major bioactive metabolite with antimicrobial and cytotoxic activity isolated from River Nile derived fungus *Aspergillus awamori*. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(3), pp.263–269.
- Mahajan, M., Suryavanshi, S., Bhowmick, S., Alasmary, F. A., Almutairi, T. M., Islam, M. A., Kaul-Ghanekar, R. 2021. Matairesinol, an active constituent of HC9 polyherbal formulation, exhibits HDAC8 inhibitory and anticancer activity. *Biophysical chemistry*, 273, p.106588.
- Mamatha, S., Reddy, P.P., Voruganti, A. dan lainnya, 2020. *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl: A phytochemical and pharmacological review. *Chemical Research Journal*, 2020, pp.51–61.
- Manral, C., Roy, S., Singh, M. dan lainnya, 2016. Effect of β -sitosterol against methyl nitrosourea-induced mammary gland carcinoma in albino rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16, pp.1–10.
- Mercola, J., D'Adamo, C. R. 2023. Linoleic Acid: A Narrative Review of the Effects of Increased Intake in the Standard American Diet and Associations with Chronic Disease. *Nutrients*, 15(14), 3129.
- Mikkelsen, K., Dargahi, N., Fraser, S., Apostolopoulos, V., 2023. High-Dose Vitamin B6 (Pyridoxine) Displays Strong Anti-Inflammatory Properties in Lipopolysaccharide-Stimulated Monocytes. *Biomedicines*, 11(2578), pp.1–23.
- Mondul, A.M., Moore, S.C., Weinstein, S.J. *et al.* 2014. Results From Serum Metabolomic Profiling. *Metabolomics*, 10, pp.1036–1041
- Moon, H.S., Guo, D.D., Lee, H.G. *et al.* 2010. Alpha-eleostearic acid suppresses proliferation of MCF-7 breast cancer cells via activation of PPAR γ and inhibition of ERK 1/2. *Cancer Science*, 101, pp.396–402.
- Moon, S.M., Lee, S.A., Hong, J.H., *et al.* 2018. Oleamide suppresses inflammatory responses in LPS-induced RAW264.7 murine macrophages and alleviates paw edema in a carrageenan-induced inflammatory rat model. *International Immunopharmacology*, 56, pp.179–185.
- Naumoska, K., Jug, U., Metličar, V., Vovk, I., 2020. Oleamide, a bioactive compound, unwittingly introduced into the human body through some plastic food/beverages and medicine containers. *Foods*, 9, pp.1–13.

- Nitbani, F.O., Jumina, Siswanta, D., *et al.* 2020. An improved synthesis of 1-monoolein. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 823(1), pp.1–8.
- Notarstefano, V., Pisani, M., Bramucci, M., *et al.* 2022. A vibrational in vitro approach to evaluate the potential of monoolein nanoparticles as isofuranodiene carrier in MDA-MB 231 breast cancer cell line: New insights from Infrared and Raman microspectroscopies. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 269, pp.1–10.
- Nugraha, D., Yusuf, A.L., Wahianto, P., 2023. Narrative Review: Optimization of Ethanol as a Solvent for Flavonoid Compounds in Papaya Leaf Extraction. *Ad-Dawaa: Jurnal Farmasi*, 1(2), pp.107–110.
- Pagano, E., Venneri, T., Lucariello, G., *et al.* 2021. Palmitoylethanolamide reduces colon cancer cell proliferation and migration, influences tumor cell cycle and exerts in vivo chemopreventive effects. *Cancers (Basel)*, 13, pp.1–16.
- Park, S.Y., Seetharaman, R., Ko, M.J., *et al.* 2014. Ethyl linoleate from garlic attenuates lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory cytokine production by inducing heme oxygenase-1 in RAW264.7 cells. *International Immunopharmacology*, 19, pp.253–261.
- Peng, L.X., Zou, L., Su, Y.M., *et al.*, 2015. Effects of light on growth, levels of anthocyanin, concentration of metabolites in *Fagopyrum tataricum* sprout cultures. *International Journal of Food Science & Technology*, 50, pp.1382–1389.
- Pham, D.C., Truong, D.H., Tran, Q.H., *et al.* 2023. Fractionation, identification of chemical constituents, and biological properties of cashew (*Anacardium occidentale* L.) leaf extracts. *Food Science & Nutrition*, 11, pp. 7996–8008.
- Qaderi, M.M., Martel, A.B., Strugnell, C.A., 2023. Environmental factors regulate plant secondary metabolites. *Plants*, 12, pp.1–27.
- Qi, W., Qi, W., Xiong, D., Long, M., 2022. Quercetin: Its antioxidant mechanism, antibacterial properties and potential application in prevention and control of toxipathy. *Molecules*, 27, pp.1–15.
- Rajhard, S., Hladnik, L., Vicente, F.A. *et al.* 2021. Solubility of luteolin and other polyphenolic compounds in water, nonpolar, polar aprotic and protic solvents by applying FTIR/HPLC. *Processes*, 9, pp.1–15.
- Roy, R.N., Laskar, S., Sen, S.K., 2006. Dibutyl phthalate, the bioactive compound produced by *Streptomyces albidoflavus* 321.2. *Microbiological Research*, 161, pp.121–126.
- Sá, M. C. I. d., Castor, M. G. M. 2023. Therapeutic Use of Palmitoylethanolamide as an Anti-Inflammatory and Immunomodulator. *Future Pharmacology*, 3(4), pp.951–977.
- Sajjadi, S.E., Ghanadian, M., Haghighi, M., Mouhebat, L., 2015. Cytotoxic effect of *Cousinia verbascifolia* Bunge against OVCAR-3 and HT-29 cancer cells. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 4, pp.15–19.
- Sánchez-Díez M, Romero-Jiménez P, Alegría-Aravena N, *et al.* 2025. Assessment of Cell Viability in Drug Therapy: IC50 and Other New Time-Independent Indices for Evaluating Chemotherapy Efficacy. *Pharmaceutics*, 17(247), pp. 1–22.
- Shahbaz, M., Naeem, H., Momal, U., *et al.* 2023. Anticancer and apoptosis inducing potential of quercetin against a wide range of human malignancies. *International Journal of Food Properties*, 26, pp.2590–2626.
- Shoji, T.; Yuan, L. 2021. ERF gene clusters: Working together to regulate metabolism. *Trends Plant. Sci.*, 26, pp. 23–32.
- Souza, C. O., Teixeira, A. A., Biondo, L. A., Silveira, L. S., Calder, P. C., Rosa Neto, J. C. 2017. Palmitoleic acid reduces the inflammation in LPS-stimulated macrophages by inhibition of NFκB, independently of PPARs. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 44, pp.566–575.
- Sun, Y., Gao, L., Hou, W., Wu, J. 2020. β-Sitosterol alleviates inflammatory response via inhibiting the activation of ERK/p38 and NF-κB pathways in LPS-exposed BV2 cells. *Biomed Research International*, 2020, pp.1–10.

- Susilawati, Matsjeh, S., Pranowo, H.D., Anwar, C. 2015. Two isophalerin compounds from ethyl acetate of leave and fruit of mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) and its antibacterial activity. *Indonesian Journal of Chemistry*, 15, pp.179–186.
- Syarif, R.A., Faradiba, F., Tenri, A., Sari, N.P., Gani, M. 2023. GC-MS analysis of lemongrass with various extraction methods. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 10(3), pp.101–108.
- Tandrasasmita, O.M., Lee, J.S., Baek, S.H., Tjandrawinata, R.R. 2010. Induction of cellular apoptosis in human breast cancer by DLBS1425, a *Phaleria macrocarpa* compound extract, via downregulation of PI3-kinase/AKT pathway. *Cancer Biol Ther*, 10, pp.814–823.
- Tjandrawinata, R. R., Arifin, P. F., Tandrasasmita, O. M., Rahmi, D., Aripin, A. 2010. DLBS1425, a *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. extract confers anti proliferative and proapoptosis effects via eicosanoid pathway. *J Exp Ther Oncol*, 8, pp.187–201
- Tomaz, A.C. de A., Miranda, G.E.C. de, Souza, M. de F.V. de, da Cunha, E.V.L. 2012. Analysis and characterization of methyl esters of fatty acids of some *Gracilaria* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 44, pp.303–306.
- Torres-Román, A. L., García-Hernández, V. M., Rangel-López, E., Ruiz-García, E., Meneses-García, A., Santamaría, A., Aschner, M., Prospero-García, O., Ortega-Gómez, A. 2020. Oleamide induces cell death in glioblastoma RG2 cells by a cannabinoid receptor-independent mechanism. *Neurotoxicology Research*, 38, pp.941–956.
- Urošević, M., Nikolić, L., Gajić, I., Nikolić, V., Dinić, A., Miljković, V. 2022. Curcumin: Biological Activities and Modern Pharmaceutical Forms. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(2), p.135.
- Vollmannová, A., Bojňanská, T., Musilová, J., Lidiková, J., Cifrová, M. 2024. Quercetin as one of the most abundant represented biological valuable plant components with remarkable chemoprotective effects - A review. *Heliyon*, 10(12), p.e33342.
- Watanabe, T., Yano, S., Kawai, T., Jinbo, Y. and Nonomura, Y. 2021. Selective antibacterial activity of palmitoleic acid in emulsions and other formulations. *Jurnal Surfactants and Detergents*, 24, pp.973–979.
- Winarno, H., Katrin, W.E. 2010. Benzophenone glucoside isolated from the ethyl acetate extract of the bark of mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.] and its inhibitory activity on leukemia L1210 cell line. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9(2), pp.142–145.
- Wonorahardjo, S., Sari, D.P., Salsabila, A., Putri, N.K., Dewi, E.K. 2023. Physicochemical Changes and Role of Analytical Chemistry in Black Garlic (*Allium sativum* L.) Processing. *Makara Journal of Science*, 27(2), pp.148–159.
- Wu, Q., Wang, Y., Li, Q. 2021. Matairesinol exerts anti-inflammatory and antioxidant effects in sepsis-mediated brain injury by repressing the MAPK and NF-κB pathways through up-regulating AMPK. *Aging (Albany NY)*, 13(18), pp.23780–23795.
- Xu, D., Hu, M. J., Wang, Y. Q., Cui, Y. L. 2019. Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(6), p.1123.
- Xu, F., Wu, Q., Li, L., Gong, J., Huo, R., Cui, W. 2021. Icariside II: Anticancer Potential and Molecular Targets in Solid Cancers. *Frontiers in Pharmacology*, 12, pp.1–10.
- Yang, W. S., Lee, S. R., Jeong, Y. J., Park, D. W., Cho, Y. M., Joo, H. M., Kim, I., Seu, Y. B., Sohn, E. H., Kang, S. C. 2016. Antiallergic Activity of Ethanol Extracts of *Arctium lappa* L. Undried Roots and Its Active Compound, Oleamide, in Regulating FcεRI-Mediated and MAPK Signaling in RBL-2H3 Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, pp.3564–3573.
- Zhuo, R. J., Wang, F., Zhang, X. H., Zhang, J. J., Xu, J., Dong, W., Zou, Z. Q. 2014. α-eleostearic acid inhibits growth and induces apoptosis in breast cancer cells via HER2/HER3 signaling. *Molecular Medicine Reports*, 9, pp.993–998.