

Kadar Flavonoid, Senyawa Biomarker Antikanker pada Tumbuhan Famili Asteraceae dari Daerah Kopeng Kabupaten Semarang Indonesia

Elizabeth Betty Elok Kristiani¹, Sri Kasmiyati¹
¹Fakultas Biologi, Universitas Kristen Satya Wacana
Jl. Diponegoro 52-60 Salatiga 50711
Email: betty.elok@uksw.edu

Abstract

The Asteraceae family plants are reported to have various abilities as drugs. Artemisia belongs to the Asteraceae family has been used as a drug for malaria, and recent developments have been studied for its ability as anticancer agents. *Cosmos caudatus*, a member of the Asteraceae family that believed by many people for its ability to heal cancer. The aims of this study were to determine the content of quercetin, kaempferol, and artemisinin which is an anticancer biomarker compound in *A. annua*, *A. vulgaris* Linn., *A. chinese* Berg ex Poljakov, and *Cosmos caudatus* Kunth which grow in Kopeng blood, Semarang Regency, Province Central Java. The plant samples were dried and mashed up. The content of biomarker compounds was determined using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The artemisinin levels in *A. annua*, *A. vulgaris* Linn., *A. china* Berg Poljakov, and *Cosmos caudatus* Kunth were 0.2800; 0.3000; 0.1700; and 0.0300% respectively. The kaempferol was detected in the three Artemisia were 0.2987; 0.0013; and 0.0074%. In all four plants, quercetin was only detected in *A. annua*.

Keywords: Asteraceae, Artemisia, *Cosmos caudatus*, flavonoid, HPLC.

Abstrak

Tanaman famili Asteraceae banyak dilaporkan memiliki berbagai kemampuan sebagai obat. *Artemisia* merupakan tumbuhan famili Asteraceae yang telah banyak dimanfaatkan sebagai obat malaria, dan perkembangan akhir-akhir ini mulai dikaji kemampuannya sebagai agen antikanker. *Cosmos caudatus*, anggota famili Asteraceae yang banyak dipercaya orang mempunyai kemampuan sebagai obat kanker. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan kuersetin, kaempferol, dan artemisinin yang merupakan senyawa biomarker antikanker pada tumbuhan *A. annua*, *A. vulgaris* Linn., *A. china* Berg ex Poljakov, dan *Cosmos caudatus* Kunth yang tumbuh di daerah Kopeng, Kabupaten Semarang, Propinsi Jawa Tengah. Sampel tumbuhan dikeringkan dan kemudian diblender. Kadar senyawa biomarker ditentukan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Kadar artemisinin pada tumbuhan *A. annua*, *A. vulgaris* Linn., *A. china* Berg ex Poljakov, dan *Cosmos caudatus* Kunth berturut-turut sebesar 0,2800; 0,3000; 0,1700; dan 0,0300 %. Kaempferol terdeteksi pada ketiga tanaman Artemisia yaitu 0,2987; 0,0013; dan 0,0074 %. Pada keempat tumbuhan uji, kuersetin hanya terdeteksi pada *A. annua*.

Kata kunci: Asteraceae, Artemisia, *Cosmos caudatus*, flavonoid, HPLC.

Pendahuluan

Kanker merupakan penyebab kematian nomor dua di dunia. IARC (2018) melaporkan pada tahun 2018, kasus kanker di dunia meningkat menjadi 18,1 juta kasus baru dan 9,6 juta di antaranya menyebabkan kematian. Pengobatan kanker saat ini masih mahal, tidak nyaman bagi penderita, dan tidak jarang menimbulkan efek samping bagi penderita. Oleh karena itu menjadi tantangan bagi dunia kesehatan untuk mendapatkan obat baru dengan potensi dan spesifitas tinggi, efek samping rendah, dan biaya murah. Salah satu cara yang bisa digunakan yaitu melalui *ethnobotanical bioprospecting approach* (Kashani *et al.*, 2012; Raharjo, 2013). Tradisi nenek moyang menggunakan tumbuhan sebagai obat telah berkontribusi secara nyata terhadap perkembangan industri farmasi dalam pengembangan obat, baik dalam isolasi zat

bioaktif maupun dalam sintesis obat dari senyawa bioaktif yang berasal dari tumbuhan (Sundur *et al.*, 2014).

Artemisia merupakan tumbuhan anggota Asteraceae. Terdapat berbagai jenis *Artemisia* yang dapat tumbuhan di Indonesia. Selama ini banyak dimanfaatkan sebagai obat malaria. *Cosmos caudatus* juga merupakan tumbuhan anggota Asteraceae, dengan nama daerah Jawa Tengah Kenikir. Masyarakat daerah Kopeng Jawa Tengah mengenal *Artemisa* sebagai gulma dengan nama daerah Semarang.

Tumbuhan *Artemisia* telah banyak dimanfaatkan sebagai sumber obat malaria karena adanya senyawa artemisinin. Studi oleh Hussain *et al.* (2017) menunjukkan bahwa senyawa bioaktif dalam *Artemisia* menunjukkan aktivitas antimikroba, antimalarial, antioksidan, antelmintik, dan antikanker. Perkembangan penelitian terhadap tanaman *Artemisia*, diperoleh

hasil bahwa tanaman ini berpotensi sebagai agen antikanker. Beberapa peneliti melaporkan aktivitas farmakologi *C. caudatus* seperti mencegah peningkatan berat badan, massa lemak, kadar trigliserida plasma, LDL, insulin dan leptin (Rahman *et al.*, 2017), sitotoksik terhadap sel kanker payudara (Fita *et al.*, 2015) dan sel Hela (Nurhayati *et al.*, 2018). Berbagai senyawa antikanker pada Asteraceae selain artemisinin, flavonoids, steroids, glycosides, terpenoids, caffeoylquinic acids, acetylenes, coumarins dan sterols (Hussain *et al.* (2017).

Saat ini masyarakat Kopeng mengenal Artemisia sebagai gulma saja sehingga tumbuhan ini dibuang tanpa dimanfaatkan sedangkan kenikir biasa dimakan oleh masyarakat dan saat ini banyak dipercaya berkhasiat sebagai obat termasuk obat kanker. Peneliain ini bertujuan untuk menentukan kandungan kuersetin, kaempferol, dan artemisinin yang merupakan senyawa biomarker antikanker pada tumbuhan *A. annua*, *A. vulgaris* Linn., *A. cina* Berg ex Poljakov, dan *Cosmos caudatus* Kunth yang tumbuh di darah Kopeng, Kabupaten Semarang, Propinsi Jawa Tengah.

Metode

Penelitian dilaksanakan pada bulan Nopember 2018 – Januari 2019. Jenis penelitian merupakan kuasi-eksperimen. Pada penelitian tidak ada perlakuan maupun manipulasi terhadap variabel penelitian. Hasil dari penelitian dimaksudkan untuk memprediksi keadaan sebenarnya. Tahapan penelitian meliputi pengambilan sampel di lokasi yang telah ditentukan kemudian dilanjutkan dengan preparasi sampel di Laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Biologi Universitas Kristen Satya Wacana Salatiga Indonesia. Selanjutnya, analisis kadar artemisinin, kaempferol, dan kuersein di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Sains dan Matematika UKSW Salatiga.

Preparasi Sampel

Sampel tumbuhan diambil dari *A. annua*, *A. vulgaris* Linn., *A. cina* Berg ex Poljakov, dan *Cosmos caudatus* Kunth yang tumbuh di darah Kopeng, Kabupaten Semarang, Propinsi Jawa Tengah. Keseluruhan bagian tumbuhan dikeringkan secara keringangin sampai layu. Selanjutnya sampel dibungkus kertas dan dioven pada suhu oven (Memmert 854) 30°C selama 4-5 jam. Tanaman kering diblender (Philips HR2071) sehingga diperoleh sampel dalam bentuk serbuk.

Pengukuran kadar kuercetin dan kaempferol

(Tokuşoğlu dan Yıldırım, 2003 yang dimodifikasi).

Sebanyak 2,5 g sampel ditambah dengan 25 ml metanol yang mengandung 1% HCl kemudian disonikasi (Sonikator Krisbow DSA50-GL2-2,5L) selama selama 30 menit. Filtrat

disaring kemudian digenapkan menggunakan pelarut yang sama hingga 25 ml dan ditambah dengan 5 ml HCL 1,2 M. Selanjutnya campuran direfluks pada suhu 90°C selama 2 jam. Setelah selesai proses refluks, ekstrak didinginkan sampai mencapai suhu ruang, disonikasi kembali selama 3 menit kemudian disaring menggunakan membran filter 0,45 µm. Filtrat berupa aglikon flavonoid siap untuk diinjeksikan pada HPLC (Knauer Germany Seri Smartline). Kondisi HPLC dimodifikasi meliputi kolom chromosorb RP C18 (150x5 mm id) Knauer, fase gerak 0.1% H₃PO₄ : acetonitril (60:40), kecepatan aliran 1 ml/menit, volume injeksi 20 µl, temperatur ambient, dan detector UV 370 nm. Senyawa kuercetin dan kaempferol murni digunakan untuk membuat kurva standar.

Pengukuran kadar artemisinin

(Pras *et al.*, 1991 yang dimodifikasi).

Sebanyak 100 mg sampel ditambah dengan 100 mg granular quartz dan 2 ml toluen kemudian digeris menggunakan mortar. Filtrat disaring dan ditampung dalam wadah. Sebanyak 500 µl filtrat dievaporasi hingga kering. Residu kering dilarutkan kembali dengan 200 µl methanol, ditambah dengan 800 µl larutan NaOH (0,2% w/v) kemudian diagitasi dengan *vortex mixer*. Larutan campuran dipanaskan selama 30 menit dalam waterbath bersuhu 50°C kemudian didinginkan kembali. Setelah dingin, campuran larutan ditambah dengan 200 µl metanol dan 800 µl asam asetat 0,2 M, dihomogenkan kemudian disaring menggunakan membran filter 0,45 µm. Filtrat berupa derivat artemisinin siap untuk diinjeksikan pada HPLC. Kondisi HPLC dimodifikasi meliputi kolom chromosorb RP C18 (150x5 mm id) Knauer, fase gerak 0,01 M buffer Phosphate pH7 : metanol (55:45), kecepatan alir 0,5 ml/menit, volume injeksi 20 µl, temperature ambient, detector UV 260 nm. Senyawa artemisinin murni digunakan untuk membuat kurva standar

Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini, sampel (Gambar 1) diambil dari tumbuhan dalam satu famili Asteraceae yaitu *A. Annua*, *A. vulgaris* Linn., *A. cina* Berg Ex Poljakov, dan *Cosmos caudatus* dengan asumsi mereka akan memiliki senyawa bioaktif yang mirip. Hal tersebut didasarkan pada pernyataan Liu *et al.* (2017) bahwa kesamaan dalam konten metabolit dapat digunakan untuk menilai kesamaan filogenik tanaman yang lebih tinggi. Dengan demikian, keberadaan senyawa metabolit sekunder dapat digunakan sebagai marker taksonomi. Sebaliknya, dengan mengetahui kesamaan taksonomi tanaman dapat diprediksi kesamaan senyawa metabolit sekunder pada tanaman tersebut.



Gambar 1. Tanaman sampel untuk ditentukan kadar senyawa bioaktif artemisinin, kaempferol, dan quercetinnya. a. *A. annua* b. *A. vulgaris* Linn., c. *A. cina* Berg Ex Poljakov, d. *Cosmos caudatus*

Kemampuan farmakologis tanaman dipengaruhi oleh kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman tersebut (Arullappan *et al.*, 2013; Prakash dan Gupta, 2013). Metabolit sekunder bukan suatu metabolit primer tetapi merupakan senyawa unik yang diperoleh dari metabolisme metabolit primer pada jalur khusus (Raharjo, 2013).

Kandungan senyawa bioaktif antikanker pada tumbuhan yang dianalisis bervariasi baik dalam jenis maupun jumlahnya (Tabel 1). Secara umum kandungan artemisinin pada tumbuhan artemisia jauh lebih besar dibandingkan dengan kedua senyawa lain yang dianalisis. *A. annua* mengandung semua senyawa antikanker yang dianalisis yaitu artemisinin, kaempferol, dan kuersetin yaitu berturut-turut sebesar 0,2800 %, 0,2987 %, dan 0,0007 % sedangkan *Cosmos caudatus* hanya mengandung artemisinin sebesar 0,0300 %.

Tabel 1. Asteraceae, Artemisia, Cosmos caudatus, flavonoid, HPLC

Tumbuhan	Kadar senyawa (%)		
	Artemisinin	Kaempferol	Kuersetin
<i>A. annua</i>	0,2800	0,2987	0,0007
<i>A. vulgaris</i> Linn.	0,3000	0,0013	nd
<i>A. cina</i> Berg ex Poljakov	0,1700	0,0076	nd
<i>Cosmos caudatus</i>	0,0300	nd	nd

Catatan: nd : nilai tidak terdeteksi pada kurva standar yang digunakan

Banyak laporan menunjukkan bahwa pada setiap tanaman Artemisia hampir selalu mengandung artemisinin, tetapi kadar antar spesies berbeda-beda, tetapi kebanyakan menyatakan bahwa kadar artemisinin pada *A. annua* lebih tinggi dibandingkan spesies lain. Pada penelitian ini, kadar artemisinin *A. vulgaris* Linn. dan *A. cina* Berg ex Poljakov lebih kecil daripada *A. annua* yaitu 0,030% dan 0,1700 %. Kadar artemisinin tertinggi pada *A. annua* yaitu 0,2800 %. Hal tersebut senada dengan laporan Mannan *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa dari 14 spesies Artemisia yang dianalisis, kadar Artemisia berbeda-beda pada kisaran 0,05 - 0,35 % dan tertinggi ada pada daun dan bunga *A. annua* yaitu sekitar 0,43 %. Peneliti lain melaporkan kadar artemisinin pada *A. annua* sebesar 0,29 - 0,85 % (Bayarmaa *et al.*, 2011; Domokos *et al.*, 2018). Hasil analisis Delabays *et al.*, (1993) mendapatkan kadar artemisinin dari tanaman *A. annua* asal Eropa sebesar 0,03 – 0,22 %, Cina sebesar 1,1 %. Delebays juga melakukan klon antara *A. annua* dari Cina dengan *A. annua* dari daerah lain, dan mampu meningkatkan kadar artemisininnya, seperti dengan tumbuhan asal Itali menjadi 0,64 %, asal Yugoslavia menjadi 0,73 %, dan asal Spanyol menjadi 0,95 %. Kadar artemisinin pada *A. annua* asal Vietnam sebesar 0,86 % (Woerdenbag *et al.*, 1994).

Berbagai faktor dapat mempengaruhi keberadaan senyawa metabolit sekunder. Menurut Liu *et al.* (2017) faktor yang mempengaruhi produksi senyawa metabolit sekunder dapat dibagi dalam dua faktor yaitu ekstrinsik dan intrinsik. Faktor ekstrinsik berupa kondisi iklim dan tanah tempat tumbuh sedangkan faktor intrinsik berupa gen tumbuhan yang bersangkutan. Selanjutnya diperinci oleh Liu *et al.* (2017) bahwa kondisi iklim meliputi suhu, curah hujan, pencahayaan, dan ketinggian tanah sedangkan kondisi tanah meliputi kandungan unsur hara, mineral, kelembaban, pH, batuan, pasir, lumpur. Pada penelitian ini, sampel diambil langsung dari lapangan dan yang digunakan pada bagian pucuk. Kondisi tersebut memungkinkan keberagaman dalam hal kecepatan metabolisme, umur tanaman, kondisi lingkungan tempat tanaman tumbuh sehingga senyawa bioaktif yang diproduksi berbeda dengan tanaman lain (dari pustaka) walaupun spesiesnya sama.

Kaempferol pada *A. annua* (0,0299 %) lebih besar daripada kedua Artemisia yang lain yaitu 0,0013 % pada *A. vulgaris* Linn. dan 0,0076 % pada *A. cina* Berg ex Poljakov (Tabel 1). Beberapa laporan menyatakan bahwa kadar kuersetin pada Artemisia pada kisaran setara *A. vulgaris* Linn dan *A. cina* Berg ex Poljakov. Kursat *et al.*, (2014 dan 2015) menganalisis berbagai spesies Artemisia dan mendapatkan kadar kuersetin sebesar 0,0036 % pada *A. absinthium*, 0,0037 % pada *A. vulgaris*, 0,0052 % pada *A.*

verlotiorum, 0,0031 % pada *A. caucasica*, 0,0003 % pada *A. austriaca*, 0,0036 % pada *A. armeniaca*, 0,0021 % pada *A. tournefortiana*, sedangkan pada *A. scoparia* kadar kuersetin lebih besar yaitu 0,0262 %.

Kuersetin hanya terdeteksi *A. annua* dalam jumlah kecil yaitu 0,0007 % (Tabel 1). Lima spesies *Artemisia* yang dianalisis oleh Kursat *et al.* (2014 dan 2015) menunjukkan kadar kuersetin lebih tinggi yaitu 0,0645 % pada *A. scoparia* dan 0,0240 % pada *A. absinthium*, 0,0223 % pada *A. armeniaca*, 0,0101 % pada *A. tournefortiana* dan 0,0450 % pada *A. verlotiorum*. Tiga spesies lain mengandung kuersetin lebih rendah yaitu spesies *A. vulgaris*, *A. austriaca*, *A. incana* yaitu berturut-turut sebesar 0,0053 %, 0,0015 %, dan 0,0013 %, seperti *A. vulgaris* Linn dan *A. cina* Berg ex Poljako yang dianalisis pada penelitian ini kemungkinan kadarnya terlalu kecil sehingga tidak terdeteksi dengan menggunakan kisaran konsentrasi senyawa standar yang dibuat. Spesies *A. haussknechtii* tidak mengandung kaempferol maupun kuersetin.

Cosmos caudatus hanya mengandung artemisinin dalam jumlah sekitar sepuluh kali lebih kecil (0,0300 %) daripada tiga tumbuhan *Artemisia* yang diuji (Tabel 1). Tidak banyak laporan penelitian tentang kadar senyawa bioaktif dalam *C. caudatus*, tetapi banyak publikasi tentang aktivitas antikanker tumbuhan tersebut. Ekstrak lipid dari *C. caudatus* mengandung quercetin 0,35% (Seyedreihani *et al.*, 2017). Ekstrak etanol daun *C. caudatus* efektif mencegah peningkatan berat badan, massa lemak, kadar trigliserida plasma, LDL, insulin dan leptin (Rahman dkk., 2017). Kombinasi ekstrak etanol daun kenikir (*C. caudatus* Kunth) dengan doxorubicin memberikan efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara yang sangat sinergis dengan nilai IC_{50} 130 μ g/ml (Fita dkk., 2015). Efek sitotoksitas ekstrak etanol *C. caudatus* terhadap sel HeLa dengan nilai IC_{50} 89,90 \pm 1,30 μ g/ml bersifat lebih lemah dibandingkan senyawa kuersetin murni (nilai IC_{50} 13,30 \pm 0,64 μ g/ml (Nurhayati dkk., 2018). Apabila saat ini masyarakat percaya bahwa tumbuhan tersebut

bekhasiat mengobati kanker kemungkinan khasiat itu ditimbulkan dari artemisinin dan senyawa lain yang tidak diuji pada penelitian ini.

Hasil penelitian ini menunjukkan kandungan tiga senyawa antikanker membuka peluang untuk memanfaatkan tumbuhan gulma *A. annua* asal daerah Kopeng Jawa Tengah Indonesia sebagai sumber obat kanker. Berbagai laporan ilmiah dapat digunakan sebagai pendukung hal tersebut. Ekstrak etanol daun *A. annua* memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan 61,07% dan 57,24% terhadap sel kanker HeLa dan sel AGS (Ryu *et al.* 2011). Studi *in vivo* pada tikus dengan kanker payudara (BC) menunjukkan bahwa setelah penerapan artemisinin dari *A. annua* terjadi penurunan volume sel tumor secara signifikan (Koleva *et al.* 2007). Interaksi flavonoid-protein dan dengan sifat antioksidannya menjadi sifat utama untuk manfaat kesehatan potensial mereka. Flavonoid mampu menginduksi apoptosis dan *cell cycle arrest* (Batra dan Sharma, 2017).

Simpulan

Berdasarkan keberadaan tiga senyawa yang dianalisis yaitu artemisinin, kaempferol, dan kuersetin dapat disimpulkan bahwa tumbuhan *A. annua* mengandung ketiga senyawa uji dalam jumlah paling banyak di antara semua sampel tumbuhan uji. *A. vulgaris* Linn dan *A. cina* Berg ex Poljakov mengandung dua senyawa uji yaitu artemisinin dan kaempferol. *Cosmos caudatus* hanya mengandung artemisinin.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Pimpinan UKSW (PR V) yang telah memberikan dana guna terlaksananya penelitian ini. Terima kasih juga kepada Dekan Fakultas Biologi dan Fakultas Pertanian atas dukungannya kepada para peneliti. Semoga hasil dari penelitian ini berguna bagi kemajuan UKSW dan nantinya dapat diaplikasikan bagi kesehatan masyarakat.

Daftar Referensi

- Arullappan, S. Muhamad, S., Zakaria, Z. 2013. Cytotoxic Activity of the Leaves and Stem Extracts of *Hibiscus rosasinensis* (*Malvaceae*) against Leukaemic Cell Line (K-562). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12 (5), pp 743 – 746.
- Batra, P. dan Sharma, A.K. 2013. Anti-cancer Potential of Favonoids: Recent Trends and Future Perspectives. *Biotech*, [e-journal]. 3:439–459. Bayarmaa, J., De Zorzi, G., 2011. Determination of Artemisinin Content in *Artemisia annua* L. *Mongolian Journal of Biological Sciences*, 9 (1-2), pp 47 – 51.
- Delabays, N., Collet, G., Benakis, A., 1993. Selection and Breeding for High Artemisinin (Qinghaosu) Yielding Strain of *Artemisia annua*. 60(3).
- Dewick, P.M. 2002. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. New York: John Wiley & Sons.
- Domokos, E., Jakab-Farkas, L., Darko, B., Biro-Janka, B., Mara, G., Albert, C., Balog, A. 2018. Increase in *Artemisia annua* Plant Biomass Artemisinin Content and Guaiacol

- Peroxididase Activity using the Arbuscular Mycorrhizal Fungus *Rhizophagus irregularis*. *Frontiers in Plant Science*, 9 (478), pp 1 – 9.
- Fita, F.E., Listianingsih, D., Hapsari, Y.A., Pradana, R.K., Indah E.S., Arifin, I. 2015. Efek Sitotoksik Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*, Kunth) dan Doksorubisin terhadap Sel Kanker Payudara T47D Secara *In Vitro* dan *In Silico*. Prosiding Seminar Nasional Peluang Herbal Sebagai *Alternatif Medicine*. ISBN: 978-602-19556-2-8.
- Hussain, M., Raja, N.I., Mashwani, Z-U-R., Iqbal, M., Sabir, S., Yasmeen, F. 2017. In Vitro Seed Germination and Biochemical Profiling of *Artemisia absinthium* Exposed to Various Metallic Nanoparticles. *Biotech*, 7:101-108.
- International Agency for Research on Cancer. 2018. Latest Global Cancer Data: Cancer Burden Rises to 18.1 Million New Cases and 9.6 Million Cancer Deaths in 2018. World Health Organisation, 12 September 2018.
- Kashani, H.H., Hoseini, E.S., Nikzad, H., Aarabi, M.H. 2012. Pharmacological Properties of Medicinal Herbs by Focus on Secondary Metabolites. *Life Science Journal*, 9 (1), pp 509 - 520.
- Koleva, D., Kasimova, Z., Kerim, A., Ahmed, A., Chamova, R. 2007. Anticancer Potential of *Artemisia annua*. *Scripta Scientifica Vox Studentium*.
- Kurşat M., Yılmaz Ö., Emre I., Civelek Ş., Gökçe Z. 2014. Some Biological Contents and Radical Scavenging Activities of Five *Artemisia* L. Species Growing in Turkey. *J Drug Metab Toxicol*, 5 (6), pp 172-176.
- Kursat, M., Emre, I., Yilma, O., Civelek, S., Demir, E., Turkoglu, I. 2015. Phytochemical Contents of Five *Artemisia* Species. 2015. *Nat Sci Biol*, 7(4), 495-499.
- Liu, K., Abdullah, A.A., Huang, M., Nishioka, N., Altaf-Ul-Amin, Md., Kanaya, S. 2017. Novel Approach to Classify Plants Based on Metabolite-Content Similarity. *Biomed Res Int*, 2017, pp 1 – 12.
- Mannan, A., Ahmed, I., Arshad, W., Asim, M.F., Qureshi, R.A., Hussain, I., Mirza, B., 2010. Survey of Artemisinin Production by Diverse *Artemisia* Species in Northern Pakistan. *Malaria Journal*, 9, pp.310 – 318.
- Nurhayati, B., Rahayu, I.G., Rinaldi, S.F., Zaini, W.S., 2018. The Antioxidant and Cytotoxic Effects of *Cosmos caudatus* Ethanolic Extract on Cervical Cancer. *The Indonesian Biomedical Journal*, 10 (3), pp 243-249.
- Prakash, E dan Gupta D.K. 2013. In Vitro Study of Extracts of *Ricinus communis* Linn on Human Cancer Cell Lines. *Journal of Medical Sciences and Public Health*, 2 (1), pp 15 – 20.
- Pras, N., Visser, J. F., Batterman, S., Woerdenbag, H. J., Malingré, T. M., & Lugt, C. B. 1991. Laboratory Selection of *Artemisia annua* L. for High Artemisinin Yielding Types. *Phytochemical Analysis*, 2 (2), 80-83.
- Raharjo, T.J. 2013. *Kimia Hasil Alam*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rahman, H.A., Sahib, N.G., Saari, N., Abas, F., Ismail, A., Mumtaz, M.W., Hamid, A.A. 2017. Anti-obesity Effect of Ethanolic Extract from *Cosmos caudatus* Kunth Leaf in Lean Rats Fed a High Fat Diet. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17, pp 122 - 138.
- Ryu, J-H., Lee, S.H., Kim, M-J., Shin, J-L., Sung, N-J. 2011. Antioxidant and Anticancer Activities of *Artemisia annua* L. and Determination of Functional Compounds. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 40 (4).
- Seyedreihani, S.F., Tan, T-Calkarkhi, A.F.M., Easa, A.M. 2017. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Ulam raja (*Cosmos caudatus*) and Quantification of its Selected Marker Compounds: Effect of Extraction. *International Journal of Food Properties*, 20 (2), pp 260 – 270.
- Sundur, S., Shrivastava B., Sharma P., Raj S.S., Jayasekhar V.L. 2014. A Review Article of Pharmacological Activities and Biological Importance of *Calophyllum inophyllum*. *International Journal of Advanced Research*, 2 (12), pp 599-603.
- Tokuşoğlu & Yıldırım, 2003. HPLC-UV and GC-MS Characterization of the Flavonol Aglycons Quercetin, Kaempferol and Myricetin in Tomato Pastes and Other Tomato-Based Products. *Acta Chromatogr*. 13, 196-207.
- Woerdenbag, H.J., Pras, N., Chan, N.G., Bang, B.T., Bos, R., van Uden W., Van Y.P., Van, B.N., Batterman, S., Lugt, C.B., 1994. Artemisinin, Related Sesquiterpenes, and Essential Oil in *Artemisia annua* During a Vegetation Period in Vietnam. [e-journal] 60(3).