



ISOLASI SENYAWA FLAVONOID EKSTRAK BIJI PINANG MERAH (*Areca vestiaria* Giseke) DAN UJI SITOTOKSIKNYA MELALUI UJI BRINE SHIRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

ISOLATION OF FLAVONOID COMPOUNDS OF RED PINANG'S SEED EXTRACT (*Areca vestiaria* Giseke) AND CYTOTOXIC TEST BY BRINE SHIRIMP LETHALITY TEST (BSLT)

Febriyanto Rerung*, Syariful Anam, Akhmad Khumaidi
Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Tadulako, Palu.

Received 9 Juni 2016/Accepted 4 Oktober 2016

ABSTRAK

Uji sitotoksik merupakan salah satu pengembangann metode untuk memprediksi adanya seyawa yang bersifat toksik pada sel yang merupakan syarat mutlak untuk obat-obat antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa flavonoid dan menentukan nilai aktivitas LC₅₀ dari ekstrak biji Pinang Merah (*Areca vestiaria* Giseke). Ekstrak dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Isolasi dilakukan melalui serangkaian metode meliputi partisi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, uji pendahuluan dengan menggunakan pereaksi warna dan KLT, isolasi dengan kromatografi lapis tipis preparatif, kromatografi lapis tipis multi eluen, analisis spektrofotometer UV-Vis dan uji sitotoksik isolat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat flavonoid ekstrak biji Pinang Merah (*Areca vestiaria* Giseke) memiliki potensi sedang sebagai agen sitotoksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 583,445 ppm.

Kata kunci : Biji Pinang Merah (*Areca vestiaria* Giseke), Flavonoid, Sitotoksik, *Artemia salina* Leach

ABSTRACT

Cytotoxic test is one method to predict the development of compounds that are toxic to the cell that is an absolute requirement for anticancer drugs. The aim of this study is to isolate flavonoids and determine LC₅₀ value of the activity of the Red Pinang seed extract (*Areca vestiaria* Giseke). Extracts prepared by maceration method using ethanol 96%. Isolation is done through a range of methods includes partitioning using *n*-hexane, a preliminary test using the color reagent and KLT, isolation by preparative thin layer chromatography, thin layer chromatography multi eluent, UV-Vis spectrophotometer analysis and cytotoxic test isolates. The results showed that isolates flavonoid seed extract of Red Pinang (*Areca vestiaria* Giseke) has the medium potential of being a cytotoxic agent with LC₅₀ values of 583.445 ppm.

Keyword: Seed of Red Pinang (*Areca vestiaria* Giseke), flavanoid, cytotoxic, *Artemia salina* Leach

*Coressponding Author : Febriyanto Rerung rerungfebrianto@gmail.com (ph: +62-852-4134-8160)

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu pusat keragaman palem (Palmae) di dunia yang memiliki 190 marga palem (Govaerts & Dransfield, 2005). Salah satu marga palem yang banyak terdapat di Indonesia adalah *Areca*. Dalam klasifikasi botani, *Areca* termasuk dalam anak suku Arecoideae, tribus Areceae, dan anak tribus Arecinae bersama-sama dengan marga *Pinanga*, *Nenga*, dan *Hydriastele*. Marga *Areca* memiliki ukuran yang bervariasi, mulai dari semak belukar hingga pohon yang tinggi. Jenis-jenis dari marga *Areca* antara lain *A. catechu*, *A. vestiaria*, *A. macrocalyx*, *A. novohibernica*, *A. oxycarpa*, *A. tiandra*, dan lain-lain (Dransfield, 2008).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan, biji pinang memiliki potensi sebagai agen anti kanker (Meiyanto, 2008). Hasil penelitian yang dilakukan Miranti (2014), menunjukkan bahwa ekstrak biji pinang merah mempunyai potensi sebagai anti kanker dengan nilai LC₅₀ sebesar 1,972 ppm. Biji pinang merah (*Areca vestiaria* Giseke) mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid, tanin, hidrokuinon dan saponin. Selain pinang merah, jenis pinang lain yang berpotensi sebagai anti kanker adalah *Areca catechu* dimana ekstrak biji pinang memiliki kemampuan untuk menghambat proliferasi dan memacu apoptosis sel kanker payudara (Meiyanto, 2008).

Salah satu pengembangan dalam pencarian obat-obat anti kanker dapat dilakukan dengan uji sitotoksik. Uji sitotoksik merupakan uji invitro dengan menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi tingkat ketoksikan suatu senyawa. Sistem tersebut merupakan uji kualitatif dengan menetapkan kematian sel (Anggriati, 2008).

Isolasi merupakan cara pemisahan komponen-komponen kimia yang terdapat dalam suatu bahan alam. Pada dasarnya isolasi senyawa kimia dari bahan alam

adalah sebuah usaha bagaimana caranya memisahkan senyawa yang bercampur sehingga kita dapat menghasilkan senyawa tunggal yang murni. Biasanya proses isolasi senyawa dari bahan alami ini menargetkan untuk mengisolasi senyawa metabolit sekunder, karena senyawa metabolit sekunder diyakini dan telah diteliti dapat memberikan manfaat bagi kehidupan manusia.

Salah satu contoh senyawa metabolit sekunder yang berperan untuk kesehatan yaitu flavonoid. Flavonoid dalam pengujian sebagai agen sitotoksik menyebabkan gugus -OH pada flavonoid berikatan dengan protein integral membran sel. Hal ini menyebabkan terbendungnya transpor aktif Na⁺ - K⁺. Transpor aktif yang berhenti menyebabkan pemasukan ion Na⁺ yang tidak terkendali dalam sel, hal ini menyebabkan pecahnya membran sel. Pecahnya membran sel inilah yang menyebabkan kematian sel (Miranti, 2014).

Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi kandungan senyawa flavonoid dan menentukan nilai aktivitas LC₅₀ dari ekstrak biji pinang merah.

METODE PENELITIAN

BAHAN

Biji pinang merah (*Areca vestiaria* Giseke) yang diperoleh dari Desa Bobo, Kecamatan Palolo, Kabupaten Sigi Provinsi Sulawesi Tengah, etanol 96%, *n*-heksana, etil asetat, aquades, kloroform, lempeng Silika gel 60 GF₂₅₄, serbuk silika gel PF₂₅₄, etanol, amonia, aluminium klorida, air laut, larva *Artemia salina* Leach.

METODE

Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan dilakukan di UPT. Sumber Daya Hayati Sulawesi, Universitas Tadulako.

Ekstraksi dan Partisi

Sampel serbuk biji pinang merah 500 g dimaserasi dengan pelarut etanol 1500 mL. Ekstraksi dilakukan selama 3 x 24 jam lalu disaring dan dipekatkan. Selanjutnya 6 g ekstrak kental yang diperoleh ditambahkan sedikit etanol 96%, kemudian dipartisi dengan pelarut *n*-heksana sebanyak 15 mL secara berturut-turut selama 15 menit dalam erlenmeyer berisi magnetik stirer hingga pelarut *n*-heksana tidak bewarna lagi. Ekstrak hasil partisi dipisahkan antara ekstrak yang larut *n*-heksana dan yang tidak larut *n*-heksana, lalu diuapkan hingga di peroleh ekstrak yang tidak larut *n*-heksana.

Identifikasi Flavonoid dengan Perekasi Warna dan KLT Ekstrak Tidak Larut *n*-Heksana

Sejumlah 1 ml ekstrak yang tidak larut *n*-heksana yang telah di larutkan dengan etanol 95%, dimasukan dalam tabung reaksi, ditambahkan 100 mg serbuk magnesium dan 0,5 ml asam klorida pekat, apabila terjadi perubahan warna menjadi merah keunguan dinyatakan positif flavonoid (metode shinode).

Pengujian KLT dilakukan dengan melarutkan ekstrak tidak larut *n*-heksana dengan sedikit etanol, kemudian ditotolkan pada plat KLT dan dielusi dengan pelarut *n*-heksana:etil asetat:metanol (1:5:1). Lalu warna noda diamati pada lampu UV 254 dan 366 nm, baik sebelum dan setelah pemberian uap amonia dan pereaksi $AlCl_3$.

Fraksinasi dan Isolasi

Sebanyak 3 g ekstrak yang tidak larut *n*-heksana difraksinasi menggunakan Kromatografi Cair Vakum (KCV) dengan fase diam silika gel 60 GF₂₅₄ sebanyak 14 g dan fase gerak dengan gradien kepolaran yang meningkat yaitu *n*-heksana : etil asetat (1:1) 2 kali, etil asetat 100 %, etil asetat : etanol (80:20), etil asetat : etanol (60:40),

etil asetat : etanol (40:60), etil asetat : etanol (20:80), etanol 100 %, metanol 100 % dengan masing-masing volume sebanyak 25 ml.

Hasil fraksi yang positif mengandung flavonoid kemudian dikromatografi lapis tipis preparatif dengan cara ditotol pada plat KLTP 20 x 20 cm. Penotolan diulangi sebanyak 3 kali dan dikeringkan. Plat dielusi dengan menggunakan eluen *n*-heksana:etil asetat:metanol (1:5:1). Kemudian isolat diuji kemurniannya dengan kromatografi lapis tipis multi eluen serta dianalisis dengan spektrofotometer UV-VIS. Selanjutnya isolat flavonoid diuji sitotoksinya dengan metode BSLT.

Uji Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Isolat dengan bobot 100 mg dilarutkan sedikit dengan DMSO, setelah itu dimasukkan dalam labu ukur 100 ml dan dicukupkan volumenya hingga 100 ml dengan air laut sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 100 mg/100 ml atau 1000 µg/ml (ppm). Untuk pengujiannya digunakan 5 seri kosentrasi yaitu 10 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 500 ppm, 1000 ppm dan tiap kosentrasi pengujiannya 5 kali replikasi. Persentase kematian larva dihitung dengan persamaan:

$$\% \text{ kematian larva} = \frac{\Sigma \text{ kematian} - \Sigma \text{ kematian kontrol}}{\Sigma \text{ larva awal}} \times 100$$

Setelah diketahui jumlah persen kematian larva *Artemia salina* Leach yang telah dikonversikan ke tabel probit, selanjutnya dapat dilakukan perhitungan LC₅₀ dari isolat.

HASIL

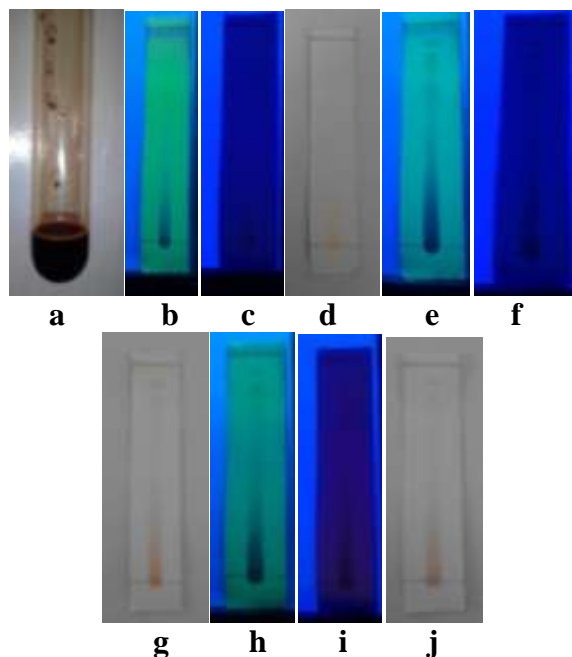
Hasil identifikasi tumbuhan pinang merah yang digunakan pada penelitian ini dengan nomoridentifikasi 500/UN.28.UPT-SDHS/LK/2015 yang dilakukan di UPT. Sumber Daya Hayati Sulawesi Universitas Tadulako adalah *Areca vestiaria* Giseke

Ekstraksi dan Partisi

Hasil ekstrak kental biji pinang merah diperoleh 151,22 g, dengan persen rendemen 30,244 g. Melalui proses partisi diperoleh ekstrak tidak larut *n*-heksan 4,57 g dengan persen rendemen 76,16 %.

Identifikasi Flavonoid dengan Pereaksi Warna dan KLT Pada Ekstrak Tidak Larut *n*-Heksana

Hasil uji warna dan KLT (uap amonia dan pereaksi AlCl_3) dapat dilihat pada gambar 1 berikut.



Gambar 1. Hasil uji ekstrak tidak larut *n*-heksana dengan pereaksi warna, dan foto hasil KLT pada lempeng Silika gel 60 GF₂₅₄, eluen: *n*-heksana:etil asetat:metanol (1:5:1), jarak elusi 7 cm.

- Uji pereaksi warna (metode shinode)
- Visualisasi pada lampu 254
- Visualisasi pada lampu 366
- Visualisasi visibel sebelum diuap amonia
- Visualisasi setelah diuap amonia pada lampu 254
- Visualisasi setelah diuap amonia pada lampu 366
- Visualisasi visibel setelah diuap amonia
- Visualisasi setelah disemprot AlCl_3 pada lampu 254

- Visualisasi setelah disemprot AlCl_3 pada lampu 366
- Visualisasi visibel setelah disemprot AlCl_3

Uji pendahuluan pada ekstrak tidak larut *n*-heksana meliputi uji pereaksi warna (metode shinode), dimana warna yang dihasilkan adalah merah keunguan. Penambahan logam Mg dan HCl pekat pada uji kualitatif flavonoid bertujuan untuk mereduksi intibenzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid sehingga akan terjadi perubahan warna menjadi jingga atau merah. Reduksi dengan magnesium (Mg) dan asam klorida akan menghasilkan warna merah pada flavonol, flavanon, flavanonol dan santon. Pada hasil KLT, setelah dilakukan pemberiandan uap amonia pada lampu UV 254 nm terdapat noda yang berfluoresensi kuning, pada lampu UV 366 nm berfluoresensi biru muda serta dengan penyemprotan menggunakan pereaksi semprot AlCl_3 hasil yang diperoleh adalah adanya noda dengan fluoresensi kuning pada lampu UV 254 nm dan adanya noda berfluoresensi biru muda (agak pudar) pada lampu UV 366 nm. Pereaksi semprot AlCl_3 ini dapat membentuk kompleks tahan asam antara gugus hidroksil dan keton yang bertetangga dan membentuk kompleks tak tahan asam dengan gugus orto-dihidroksi sehingga dapat digunakan untuk mendeteksi kedua gugus tersebut. Gugus OH pada C₃ dan C₅ pada flavon dan flavonol akan membentuk kompleks yang stabil dengan adanya AlCl_3 , sebaliknya kompleks yang terbentuk antara AlCl_3 dengan gugus orto dihidroksi bersifat labil sehingga dengan penambahan asam akan terdekomposisi (Markham, 1988).

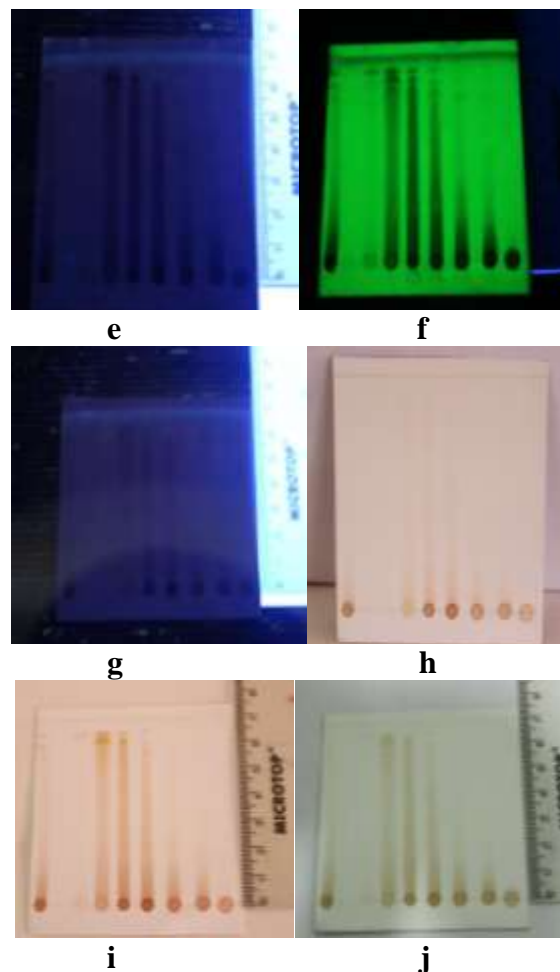
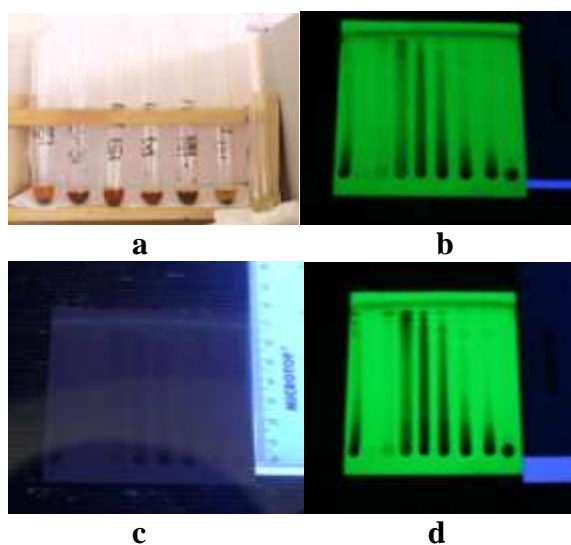
Fraksinasi dengan Kromatografi Cair Vakum

Hasil fraksinasi ekstrak tidak larut *n*-heksana dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 1. Hasil fraksinasi ekstrak tidak larut *n*-heksana

Fraksi	Perbandingan Eluen	Bobot Fraksi (g)	Persen Rendemen
F1	<i>n</i> -heksana : etil asetat (1:1)	0,05	1,66
F2	Etil asetat 100 %	0,06	2
F3	Etil asetat : etanol (80:20)	1,10	36,66
F4	Etil asetat : etanol (60:40)	0,09	3
F5	Etil asetat : etanol (40:60)	0,45	15
F6	Etil asetat : etanol (20:80)	0,70	23,33
F7	Etanol 100 %	0,31	10,13
F8	Metanol 100 %	0,10	3,33
Persen Recovery		2,86	95,31

Hasil uji pereaksi warna dan penampakan noda semua fraksi pada lampu UV 254 dan 366 nm serta sebelum dan sesudah di uap amonia dan disemprot $AlCl_3$ dapat dilihat pada Gambar 2 dibawah ini.

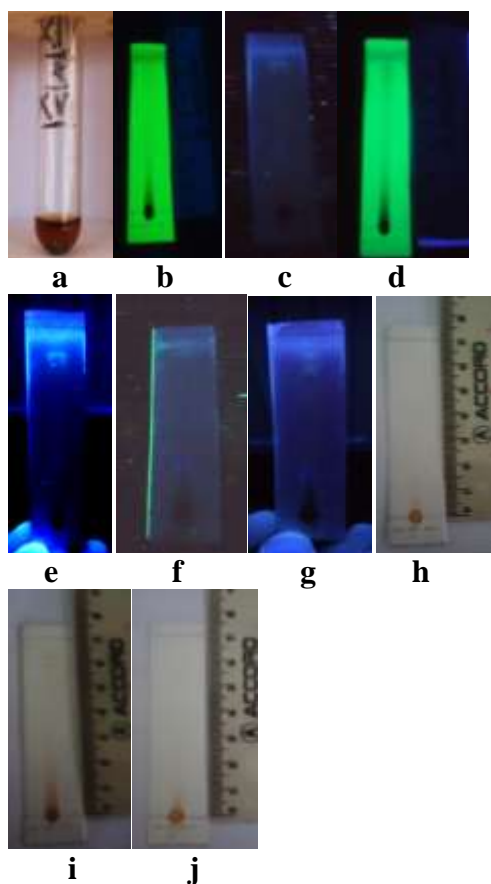


Gambar 2. KLT hasil fraksinasi pada lempeng Silika gel 60 GF₂₅₄, eluen *n*-heksana:etil asetat:metanol (1:5:1); jarak elusi 7 cm dan pengujian dengan pereaksi warna,

- Uji pereaksi warna (metode shinode)
- Visualisasi pada lampu 254
- Visualisasi pada lampu 366
- Visualisasi setelah diuap amonia pada lampu 254
- Visualisasi setelah diuap amonia pada lampu 366
- Visualisasi setelah disemprot $AlCl_3$ pada lampu 254
- Visualisasi setelah disemprot $AlCl_3$ pada lampu 366
- Visualisasi visibel sebelum diuap amonia
- Visualisasi visibel setelah diuap amonia
- Visualisasi visibel setelah disemprot $AlCl_3$ 5 %

Dari hasil pengamatan secara visibel dan di bawah lampu UV 254 dan 366 nm pada Gambar 2, fraksi yang positif mengandung flavonoid yaitu terletak pada fraksi 6 dan 7 dimana dari profil noda (visibel, uap amonia, pereaksi $AlCl_3$) dan nilai Rfnya sama yaitu 0,87. Noda hasil elusi lempeng KLT sebelum

pemberian uap ammonia, pada lampu UV 254 nm tidak terdapat noda dengan fluoresensi, pada lampu UV 366 nm terdapat noda berfluoresensi biru muda, dan setelah di beri uap amonia pada lampu UV 254 nm terdapat noda hijau kekuningan, 366 nm terdapat noda berfluoresensi biru muda, dan setelah disemprotkan pereaksi AlCl_3 pada lampu UV 254 nm terdapat noda kuning kehijauan, 366 nm terdapat noda berfluoresensi biru muda. Berdasarkan hasil yang didapatkan, fraksi 6 dan 7 di gabungkan menjadi satu dan kemudian dilakukan uji kembali yang meliputi uji warna dan KLT (uap amonia dan pereaksi AlCl_3), yang dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil uji warna (metode shinode) didapatkan warna hasil gabungan fraksi 6 dan 7 bewarna merah keunguan dan untuk pengamatan KLT (lampu UV 254 dan 366 nm) diperoleh hasil yang sama pada proses sebelum penggabungan fraksi 6 dan 7. Kemudian fraksi 6 dan 7 dilanjutkan pada proses KLTP untuk mendapatkan isolat flavonoid.

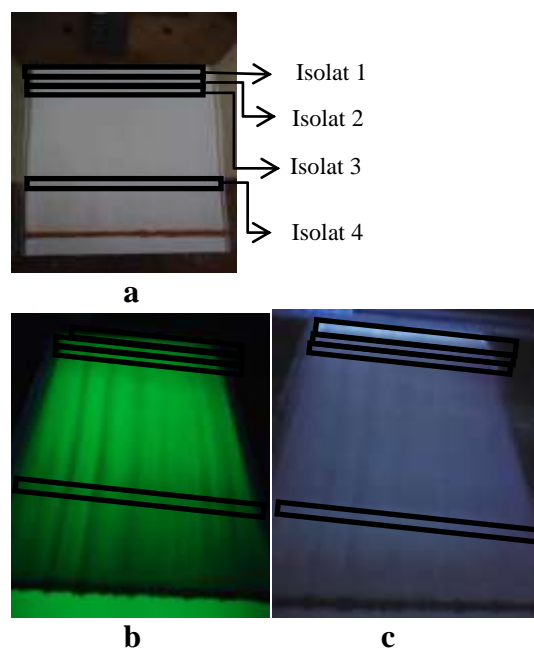


Gambar 3: Hasil penggabungan fraksi (6 dan 7) dengan pengujian pereaksi warna dan hasil KLT pada lempeng silika gel 60 GF_{254} , eluen *n*-heksana : etil asetat : metanol (1:5:1); jarak elusi 7 cm

- Uji pereaksi warna (metode shinode)
- Visualisasi pada lampu 254
- Visualisasi pada lampu 366
- Visualisasi setelah diuap amonia pada lampu 254
- Visualisasi setelah diuap amonia pada lampu 366
- Visualisasi setelah disemprot AlCl_3 pada lampu 254
- Visualisasi setelah disemprot AlCl_3 pada lampu 366
- Visualisasi sebelum diuap amonia
- Visualisasi setelah diuap amonia
- Visualisasi setelah disemprot AlCl_3 5 %

Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Hasil KLTP gabungan fraksi 6 dan 7 dapat dilihat pada gambar 4 dibawah ini

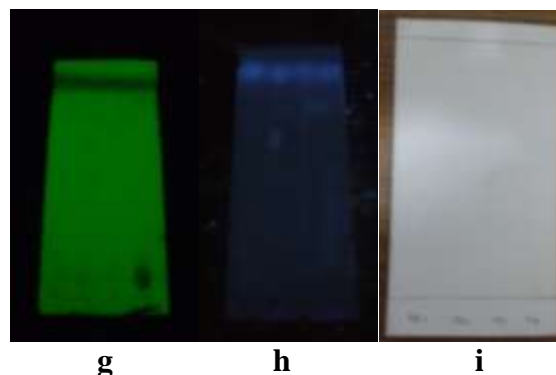
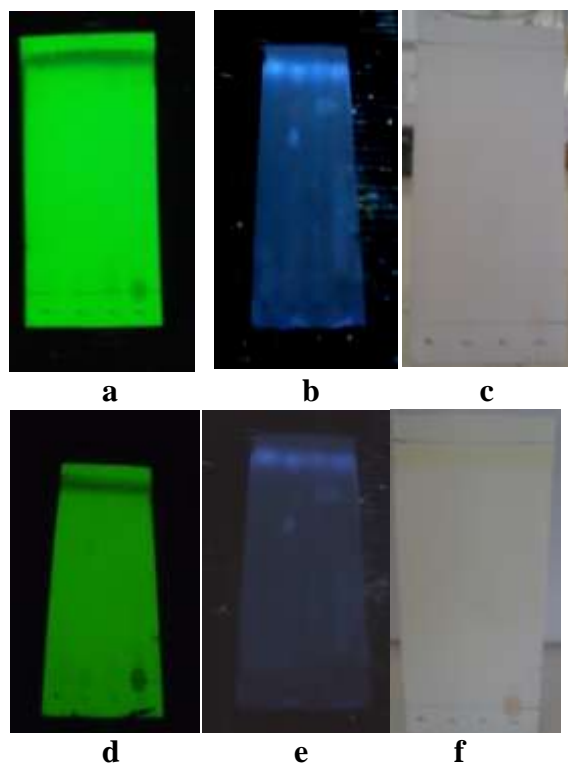


Gambar 4: Hasil isolasi dengan kromatografi lapis tipis preparatif fraksi (gabungan fraksi 6 dan 7).

- Visualisasi KLTP secara visibel
- Visualisasi KLTP pada lampu UV 254
- Visualisasi KLTP pada lampu UV 366

Setelah di elusi dan diamati pada lampu UV 254 dan 366 nm didapatkan 4 isolat (Gambar 4). Selanjutnya keempat

isolattersebut di keruk menggunakan spatula, dan dimasukan kedalam tabung sentrifuge dan ditambahkan dengan pelarut metanol 5 ml kemudian dikocok dengan menggunakan vortex. Setelah isolat terlarut, dilakukan sentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan sentrifugasi 3000 rpm. Pemilihan kecepatan ini agar dapat memisahkan antara komponen senyawa dengan bagian silika gel sehingga isolat yang diperoleh merupakan murni komponen senyawa yang diinginkan. Selanjutnyaisolat ditampung dalam vial dan dibiarkan menguap, setelah pelarutnya menguap isolat-isolat tersebut diKLT kembali untuk melihat profil nodanya. Dari 4 isolat, hanya isolat 2 yang menunjukkan profil KLT untuk senyawaflavonoid, yang dapat dilihat pada gambar 5 dibawah ini.

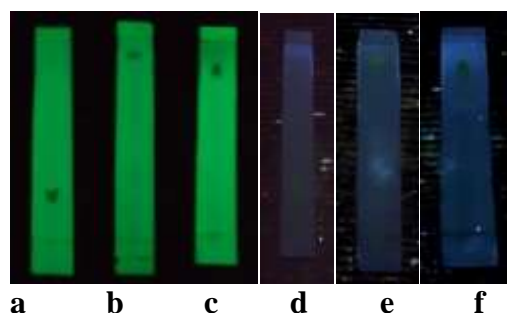


Gambar 5: Hasil KLT empat isolat

- Visualisasi isolat pada lampu 254 nm
- Visualisasi isolat pada lampu 366 nm
- Visualisasi visibel sebelum diuap amonia
- Visualisasi isolat setelah diuap amonia pada lampu 254
- Visualisasi isolat setelah diuap amonia pada lampu 366
- Visualisasi visibel isolat setelah diuap amonia
- Visualisasi isolat setelah disemprot $AlCl_3$ pada lampu 254
- Visualisasi isolat setelah disemprot $AlCl_3$ pada lampu 366
- Visualisasi visibel isolat setelah disemprot $AlCl_3$

Kromatografi Lapis Tipis Multi Eluen

Hasil kromatografi lapis tipis multi eluen menggunakan 4 perbandingan eluen dengan kepolaran berbeda dapat dilihat pada gambar 6 dibawah ini.



Gambar 6: Hasil KLT multi eluen, plat silika gel 60 GF_{254} ; jarak elusi 7 cm

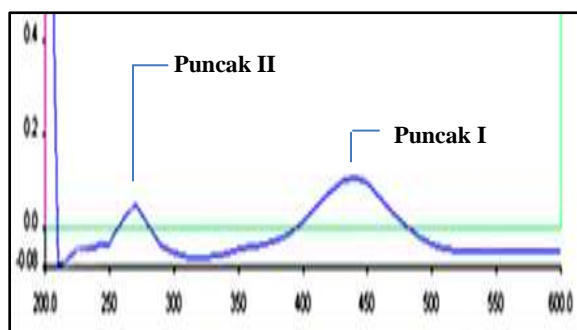
- Eluen kloroform: etil asetat (5:2) pada lampu UV 254 nm
- Eluen kloroform: metanol (2:1) pada lampu UV 254 nm
- Eluen *n*-heksan: metanol (2:4) pada lampu UV 254 nm
- Eluen kloroform: etil asetat (5:2) pada lampu UV 366 nm

- e. Eluen kloroform: metanol (2:1) pada lampu UV 366 nm
- f. Eluen *n*-heksan: metanol (2:4) pada lampu UV 366 nm

Dari Gambar 6 memperlihatkan bahwa pada lempeng KLT yang telah dielus dengan tiga perbandingan eluen dengan kepolaran yang berbeda noda terlihat sudah tunggal. Ini mengindikasikan bahwa isolat telah murni secara KLT.

Hasil Spektrofotometri UV-Vis

Hasil analisis spektrofotometri UV-Vis dengan melakukan scanning panjang gelombang 200-700 nm menghasilkan 2 puncak yang dapat dilihat pada Gambar 7 di bawah ini.



Gambar 7. Spektrum isolat 2

Dari hasil scanning panjang gelombang terlihat spektrum yang mirip dengan golongan senyawa flavonoid jika dibandingkan dengan literatur. Spektrum memperlihatkan 2 puncak pada rentang panjang gelombang (300-550 nm (Puncak I)) dan (240-285 nm (puncak II)) (Markham, 1988), puncak II pada spektrum yaitu (270 nm) sedangkan puncak I (440 nm). Berdasarkan data – data tersebut senyawa yang telah di isolasi hingga sampai proses pemurnian dengan kromatografi lapis tipis multi eluen diduga adalah senyawa flavonoid.

Hasil Uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Pengukuran aktivitas sitotoksik menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan melihat jumlah kematian (LC_{50}) larva *Artemia salina* Leach dari isolat flavonoid biji pinang merah yang diperoleh dari hasil KLTP. Hasil LC_{50} isolat flavonoid biji pinang merah terhadap *Artemia salina* Leach, dapat dilihat pada pada Tabel 2 dibawah ini.

Tabel 2. Hasil LC_{50} isolat flavonoid biji pinang merah terhadap *Artemia salina* Leach.

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (X)	Nilai Probit (Y)	LD_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
10	1	4,01	583,445
100	2	4,36	
200	2,301	4,69	
500	2,698	4,95	
1000	3	5,25	

Dari hasil perhitungan yang dilakukan didapatkan nilai LC_{50} isolat flavonoid melalui uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap larva *Artemia salina* Leach adalah kategori sedang (500-750) dengan nilai sebesar 583,445 ppm (Anderson, 1991).

Ucapan Trima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Prof. Ramadhanil, M.Si dan Bapak Sahlan, S.Si yang telah mengidentifikasi tumbuhan yang digunakan sebagai sampel penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, J. E., Goetz C. M., Mc Laughlin J. L., 1991, *A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as*

Antitumor Prescreens, Natural Product Chemistry, Elsevier, Amsterdam.

Anggriati, P., 2008, *Uji sitotoksik ekstrak etanol 70 % buah kemukus (Piper cubeba L.) terhadap sel Hela*, Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Dransfield, J., 2008. *Genera Palmarum: The Evolution and Classification of Palms*, Kew, Royal Botanic Gardens Kew, UK.

Govaerts R, Dransfield J, 2005. *World Checklist of Areaceae. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew*, Update on the internet; <http://www.kew.org/wcsp/>, akses 7 Februari 2015.

Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, terjemahan Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung.

Meiyanto, E., 2008. *Ekstrak Etanolik Biji Buah Pinang (Areca cathecu Linn) Mampu Menghambat Proliferasi dan Memacu Apoptosis Sel MCF-7*. *Majalah Farmasi Indonesia*, 19 (1): 12-19. (online), <http://mfi.farmasi.ugm.ac.id/files/news/2.Edy.pdf>, diakses 7 Februari 2015.

Miranti, 2014, *Uji Potensi Anti Kanker Ekstrak Biji Pinang Merah dan Implementasinya dalam Pembelajaran Mitosis*, skripsi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Tanjungpura, Pontianak.