

Identifikasi Senyawa Flavonoid Daun Jinten (*Plectranthus amboinicus*) Menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS) dan Potensinya sebagai Antikanker Secara In-Vitro

*Identification of Flavonoid Compounds in Cumin Leaves (*Plectranthus amboinicus*) Using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) and Their Potential as Anticancer In-Vitro*

Rahma Diyan Martha^{1*}, Danar², Yunita Diah Safitri³, Hesty Parbuntari⁴

¹Program Studi Farmasi, STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung

²Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Malang

³Program Studi Analis Kesehatan, STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung

⁴Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Padang

*corr_author: rahma100291@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini mengungkapkan potensi senyawa flavonoid dalam daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) sebagai agen antikanker. Melalui identifikasi menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS), ditemukan delapan senyawa flavonoid, termasuk Kaempferol 3-(5"-feruloylapioside), Kaempferol 3-(6"-caffeoylglucoside), dan Kaempferol 3-glucosyl-(1 2)-galactosyl-(1 2)-glucoside. Senyawa-senyawa ini telah terbukti memiliki potensi antikanker melalui penelitian sebelumnya. Metode LC-MS dipilih untuk identifikasi senyawa karena memberikan data yang informatif, termasuk informasi tentang massa molekul senyawa yang teridentifikasi. Proses penelitian melibatkan beberapa langkah, mulai dari pembuatan simplisia daun jinten, pembuatan ekstrak melalui maserasi, fraksinasi, hingga identifikasi senyawa menggunakan LC-MS. Temuan ini mengindikasikan bahwa daun jinten memiliki potensi sebagai sumber senyawa antikanker yang bernilai, yang dapat menjadi dasar untuk penelitian lebih lanjut dalam memanfaatkannya dalam terapi kanker.

Kata-kata kunci: Flavonoid, potensi terapeutik, sifat anticancer, daun jinten, kromatografi cair-massa spektrometri (LC-MS)

ABSTRACT

*This research reveals the potential of flavonoid compounds in the leaves of the Cuban oregano (*Plectranthus amboinicus*) as anticancer agents. Through identification using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS), eight flavonoid compounds were found, including Kaempferol 3-(5"-feruloylapioside), Kaempferol 3-(6"-caffeoylglucoside), and Kaempferol 3-glucosyl-(1 2)-galactosyl-(1 2)-glucoside. These compounds have been proven to have anticancer potential through previous research. The LC-MS method was chosen for compound identification because it provides informative data, including information about the molecular mass of the identified compounds. The*

research process involved several steps, ranging from the preparation of Cuban oregano leaf simplisia, extraction through maceration, fractionation, to compound identification using LC-MS. These findings indicate that Cuban oregano leaves have the potential as a valuable source of anticancer compounds, which can serve as a basis for further research in utilizing them in cancer therapy.

Keywords: *Flavonoids, therapeutic potential, anticancer properties, cumin leaves, liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS)*

PENDAHULUAN

Flavonoid merupakan kelompok senyawa polifenol yang ditemukan secara luas dalam tanaman. Mereka berperan penting dalam berbagai aspek kehidupan tanaman, termasuk pertumbuhan, perkembangan, reproduksi, dan respons terhadap stres lingkungan (Falcone, 2020). Flavonoid juga berkontribusi dalam respons tanaman terhadap stres biotik, seperti infeksi penyakit, dan stres abiotik, seperti sinar ultraviolet (UV), kekeringan, dan suhu ekstrem (Agati, 2021). Mekanisme pertahanan flavonoid meliputi penghambatan enzim patogen, peningkatan sistem pertahanan tanaman, serta penghambatan peradangan dan oksidasi (Xie, 2021).

Flavonoid memiliki beberapa potensi lain, diantaranya sebagai agen terapeutik dalam terapi kanker dengan fokus pada kemampuan mereka untuk menghambat proliferasi sel kanker dan merangsang apoptosis (Ravishankar). Potensi terapeutik apigenin, salah satu flavonoid, dalam pengobatan berbagai kondisi seperti kanker, diabetes, penyakit kardiovaskular, dan penyakit neurodegenerative (Salehi, 2019). Selain itu, flavonoid memiliki efek antiinflamasi kaempferol, pada sel-sel RAW264.7 yang diinduksi LPS dan pada model hewan peradangan. Hasilnya menunjukkan bahwa kaempferol memiliki potensi sebagai agen antiinflamasi melalui penghambatan aktivasi inflamasi dan jalur sinyal piropitosis (Guo, 2020).

Flavonoid, dalam berbagai varietasnya, juga digunakan sebagai komponen dalam terapi kanker di bidang kesehatan. Penelitian telah menunjukkan bahwa flavonoid memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker dan merangsang apoptosis, proses di mana sel kanker mengalami kematian program yang terkontrol (Ramos, 2008). Selain itu, flavonoid juga dapat memberikan efek protektif terhadap sistem kardiovaskular. Mekanisme aksi flavonoid dalam melindungi jantung dan pembuluh darah melibatkan peningkatan fungsi endotelium, penghambatan agregasi trombosit, penurunan tekanan darah, dan pengurangan peradangan (Hollman et al., 2011). Flavonoid memiliki potensi dalam menghambat angiogenesis, yaitu proses pembentukan pembuluh darah baru yang mendukung pertumbuhan tumor (Lamy et al., 2010). Dengan menghambat angiogenesis, flavonoid dapat membantu mencegah penyebaran dan pertumbuhan tumor kanker. Flavonoid yang sering dipelajari dalam konteks terapi kanker termasuk quercetin, kaempferol, apigenin, genistein, dan isoflavonoid lainnya. Flavonoid ditemukan secara alami dalam berbagai sumber salah satunya pada sayuran yang umumnya terdapat pada bagian daun (Gates et al., 2019).

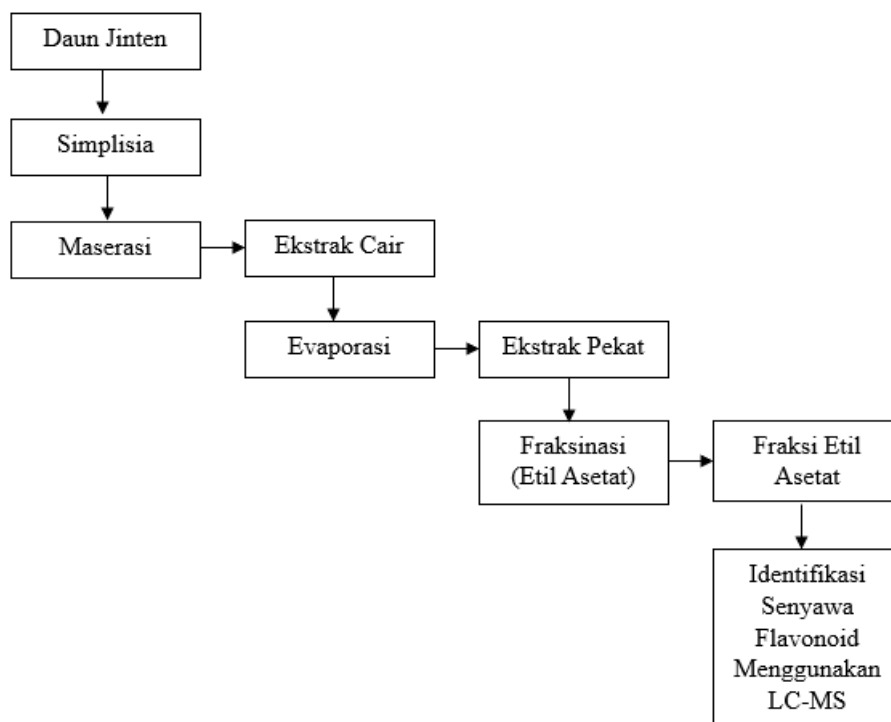
Daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) adalah bagian dari tanaman yang telah lama digunakan secara tradisional dalam pengobatan herbal di berbagai budaya. Daun jinten kaya akan senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, minyak atsiri, dan senyawa terpenoid lainnya. Banyak penelitian telah dilakukan untuk mengeksplorasi potensi farmakologis dan manfaat kesehatan dari daun jinten. Studi-studi ini telah mengungkapkan sifat antiinflamasi (Park, 2018), antioksidan (Yulianan, 2020), antimikroba (Gomathi, 2019), antikanker dan imunomodulator dari daun jinten (Tatiya, 2021). Selain itu, daun jinten juga telah diteliti

untuk potensi pengobatan penyakit pernapasan, gangguan pencernaan, diabetes dan penyakit neurodegenerative (Singh, 2022). Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa flavonoid pada daun jinten, guna menggali potensi tanaman ini sebagai sumber senyawa antikanker yang potensial.

Identifikasi komponen senyawa ini menggunakan *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS) yang dapat digunakan secara luas dalam bidang ilmu kimia, biologi, dan farmasi untuk mengidentifikasi dan mengukur senyawa-senyawa kimia kompleks. LC-MS menggabungkan dua teknik yaitu kromatografi cair (LC) yang memisahkan campuran senyawa dan spektrometri massa (MS) yang mengidentifikasi dan mengukur massa molekul senyawa tersebut (Olivares, 2019). Penggunaan LC-MS dipilih karena teknik ini memberikan data yang dapat memberikan informasi mengenai analisis fisika maupun analisis kimia, antara lain informasi tentang m/z (berat molekul) dari senyawa yang teridentifikasi (Saibaba et al., 2016).

METODE PENELITIAN

Daun jinten yang masih segar dicuci dengan air mengalir sampai bersih, kemudian dikeringkan. Setelah kering daun tanaman majapahit dihaluskan kemudian diayak menggunakan ayakan dengan ukuran 80 mesh. Kemudian 100 gram hasil ayakan tersebut dimaserasi menggunakan etanol 96% sebanyak 600 ml. Proses maserasi dilakukan di dalam tabung maserasi dan didiamkan selama 3 hari. Ekstrak tersebut dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* yang hasilnya berupa ekstrak pekat. Kemudian difraksinasi menggunakan pelarut etil asetat. Senyawa yang terdapat dalam daun jinten diidentifikasi menggunakan instrumen LC-MS 8040 dari Shimadzu. Diagram alir pelaksanaan penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram alir pelaksanaan penelitian

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pembuatan Simplisia

Langkah pertama yaitu membuat simplisia dari daun jinten (*Plectranthus amboinicus*) dengan menggunakan daun segar yang dipetik langsung, memastikan bahwa daun tersebut hijau segar, tidak layu, dan tidak terserang oleh serangga, serta memiliki bentuk yang baik. Daun jinten segar kemudian disortasi menjadi dua jenis, yaitu sortasi basah untuk memisahkan kotoran dan benda asing sebelum pengeringan dilakukan, serta sortasi kering untuk membersihkan simplisia dari benda asing dan bagian tanaman yang tidak diperlukan. Langkah selanjutnya adalah memotong daun jinten menjadi potongan dengan ukuran seragam, agar memudahkan proses pengeringan menggunakan pisau. Pengeringan dilakukan secara alami dengan diangin-anginkan untuk mencegah kerusakan kandungan kimia akibat sinar matahari langsung, sementara oven dihindari karena suhu yang terlalu tinggi dapat mempengaruhi kualitas. Setelah itu, simplisia daun jinten dihaluskan menggunakan blender dan disaring dengan ukuran mesh 80 untuk menyamakan ukuran dan meningkatkan efisiensi proses ekstraksi. Kelebihan dari ukuran serbuk simplisia yang halus adalah mempercepat proses ekstraksi menggunakan metode maserasi.

2. Pembuatan Ekstrak Daun Jinten (Maserasi)

Proses pembuatan ekstrak daun jinten menggunakan metode maserasi, di mana serbuk simplisia direndam dalam botol kaca dengan pelarut etanol 70% dalam perbandingan tertentu. Penggunaan etanol 70% dipilih karena sifatnya yang lebih polar, mampu menarik lebih banyak senyawa dari simplisia daun jinten, serta aman dan non-toksik. Metode maserasi dipilih karena praktis, mudah, dan sederhana. Proses maserasi dilakukan dengan pengulangan perendaman, yang disebut remaserasi, untuk memaksimalkan penarikan senyawa dari daun jinten.

3. Proses Evaporasi

Hasil maserasi dan remaserasi kemudian dimasukkan ke dalam *evaporator rotary* untuk pemekatan, yang prinsipnya mirip dengan proses destilasi, di mana tekanan diturunkan dan sampel diputar untuk mempercepat pemisahan. *Evaporator rotary* bekerja pada tekanan di bawah titik didih pelarut, memisahkan pelarut dari ekstrak dengan suhu yang telah ditentukan, sehingga ekstrak yang dihasilkan memiliki konsentrasi dan kandungan yang lebih pekat.

4. Fraksinasi

Maserat seberat 5 gram dilarutkan dalam 25 ml Aquadest dan 25 ml n-heksan. Setelah itu, larutan tersebut digojok dan kedua fraksi dipisahkan. Aquades yang telah tersari dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan dengan 25 ml etil asetat. Kembali, larutan tersebut digojok dan fraksi-fraksi dipisahkan. Proses penyarian diulang sebanyak 3 kali untuk beberapa larutan fraksi yang sama. Filtrat yang diperoleh dari penyaringan kemudian diuapkan menggunakan *Waterbath*. Hasil fraksinasi menghasilkan dua lapisan, dan yang diambil adalah bagian atasnya. Bagian bawah larutan kemudian difraksinasi kembali dengan urutan yang sama untuk proses lanjutan.

5. Identifikasi Senyawa Menggunakan LCMS

Proses identifikasi dimulai dengan ekstraksi daun jinten yang diendapkan untuk menghilangkan protein. Selanjutnya, ekstrak tersebut disaring menggunakan filter selulosa asetat 0,45 μm dan proses penghilangan gas dilakukan. Sebanyak 1 liter ekstrak daun jinten yang telah diendapkan kemudian diinjeksikan dan dianalisis menggunakan UPLC-MS (*Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*) dengan pompa biner. LC

(Kromatografi Cair Kinerja Tinggi) terhubung dengan spektrometer massa *Quadrupole Time-of-Flight* (QTOF) yang dilengkapi dengan sumber ionisasi *Electrospray Ionization* (ESI). Sistem massa spektrometri (MS) yang digunakan adalah QTOF dengan mode ionisasi positif. Kolom UPLC yang digunakan adalah Shimadzu Shim Pack FC-ODS dengan ukuran 2mm x 150mm dan ukuran partikel 3µm. Pelarut yang digunakan dalam analisis adalah campuran 90% metanol dan air. Aliran eluen diatur pada laju total 0,5 ml/menit.

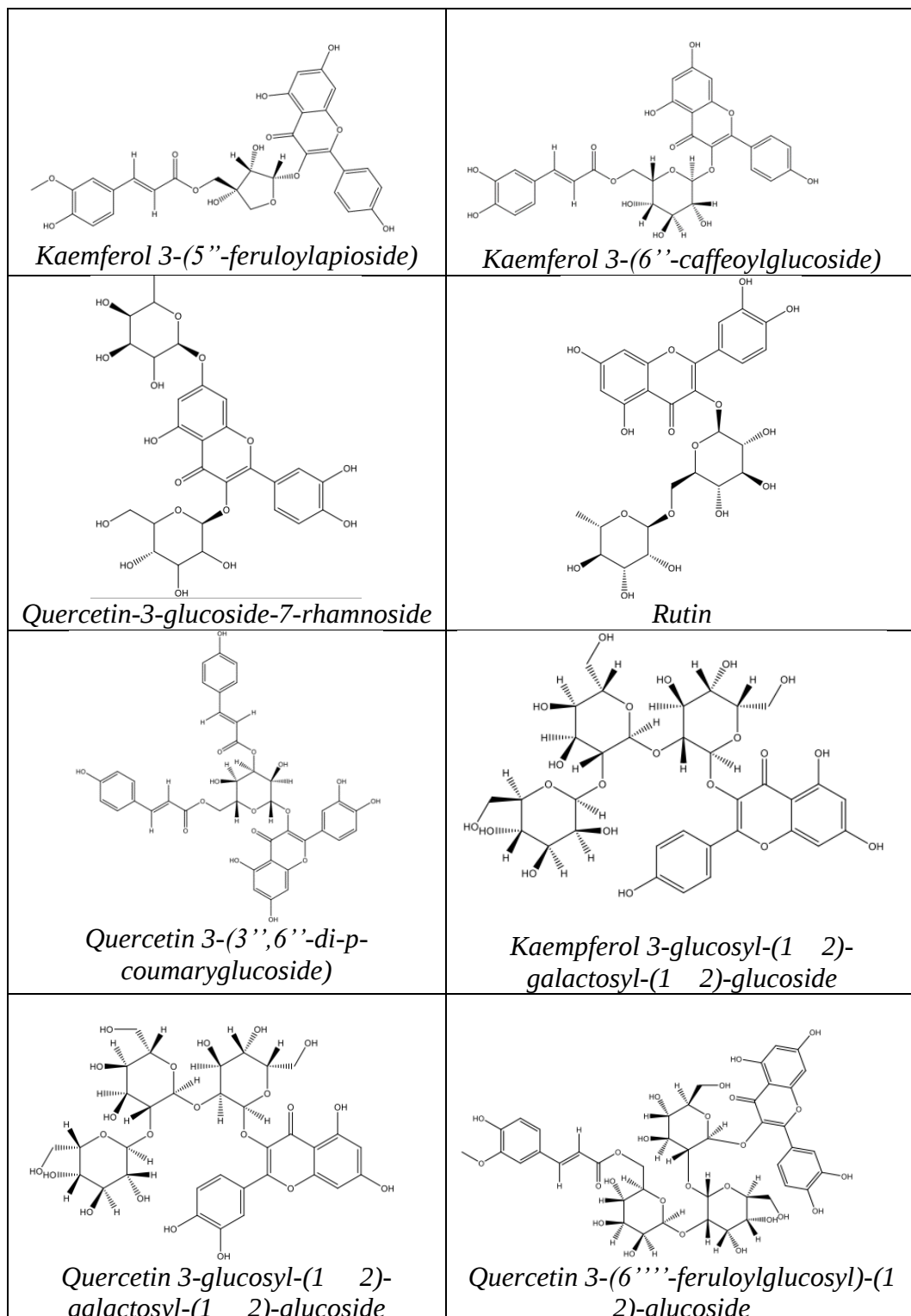
Hasil identifikasi senyawa menggunakan LCMS, ditemukan bahwa fraksi etil asetat daun jinten mengandung sekitar 8 senyawa yang kemungkinan termasuk dalam kelompok flavonoid. Senyawa tersebut yaitu *Kaempferol 3-(5''-feruloylapioside)*, *Kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside)*, *Quercetin-3-glucoside-7-rhamnoside*, *Rutin*, *Quercetin 3-(3'',6''-di-p-coumarylglucoside)*, *Kaempferol 3-glucosyl-(1→2)-galactosyl-(1→2)-glucoside*, *Quercetin 3-glucosyl-(1→2)-galactosyl-(1→2)-glucoside* & *Quercetin 3-(6'''-feruloylglucosyl)-(1→2)-glucoside*. Struktur kimia dari masing-masing kelompok flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2 dengan hasil LCMS senyawa flavonoid fraksi etil asetat daun jinten pada Tabel 1.

Daun jinten memiliki potensi sebagai agen antikanker. Hal ini terkait dengan adanya senyawa flavonoid yang terdeteksi berdasarkan informasi yang tertera dalam Tabel 1. *Kaempferol* adalah senyawa flavonoid yang terdapat pada tanaman, seperti sayuran dan bahan pangan lainnya. *Kaempferol* telah menarik minat dalam penelitian kanker karena memiliki potensi sebagai senyawa antikanker. Tiga senyawa *kaempferol* yang terdeteksi dalam daun jinten adalah *Kaempferol 3-(5''-feruloylapioside)*; *Kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside)* dan *Kaempferol 3-glucosyl-(1→2)-galactosyl-(1→2)-glucoside*.

Kaempferol 3-(5''-feruloylapioside) merupakan senyawa yang berasal dari *kaempferol* yang diesterifikasi dengan gugus *feruloylapiosida*. Senyawa ini telah menunjukkan aktivitas antikanker potensial dalam beberapa penelitian. Sebuah penelitian yang relevan dilakukan oleh Lee et al. (2012) yang menggunakan garis sel kanker manusia, yang menunjukkan aktivitas antiproliferasi yang signifikan terhadap sel kanker payudara. Selain itu, senyawa ini juga menghambat invasi dan migrasi sel kanker melalui penghambatan aktivitas enzim metaloproteinase matriks (MMP).

Kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside) adalah senyawa yang terbentuk dari *kaempferol* yang diesterifikasi dengan gugus *caffeoylglucosida*. Senyawa ini juga telah menunjukkan potensi sebagai senyawa antikanker melalui beberapa penelitian. Salah satu penelitian yang mengevaluasi aktivitas antikanker dari *Kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside)* dilakukan oleh Yao et al. (2016). Penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki efek antiproliferasi pada garis sel kanker hati manusia. *Kaempferol 3-(6''-caffeoylglucoside)* menginduksi apoptosis (kematian sel program) melalui regulasi jalur sinyal yang terlibat dalam siklus sel dan ekspresi protein yang terlibat dalam apoptosis.

Kaempferol 3-glucosyl-(1,2)-galactosyl-(1,2)-glucoside, yang dikenal juga sebagai KGG, merupakan senyawa yang terbentuk dari *kaempferol* yang mengalami glikosilasi dengan dua gugus glukosa dan satu gugus galaktosa. Beberapa penelitian telah menunjukkan potensi KGG sebagai agen antikanker. KGG memiliki efek antiproliferasi pada sel kanker kolorektal manusia (Kim et al, 2013). KGG diidentifikasi sebagai penyebab penghentian siklus sel pada fase G2/M dan meningkatkan ekspresi protein yang terkait dengan apoptosis, seperti Bax dan caspase-3. Selain itu, penelitian oleh Zhang et al. (2014) menunjukkan bahwa KGG dapat menghambat invasi sel kanker hati manusia dengan menekan ekspresi MMP-2 dan MMP-9, yang berperan dalam proses invasi sel kanker.



Gambar 2. Struktur kimia dari masing-masing kelompok flavonoid

Tabel 1. Hasil LCMS Senyawa Flavonoid Fraksi Etil Asetat Daun Jinten

No	Compound	Retention Time (min)	Composition (%)	Analisis
1	<i>Kaemferol 3-(5''-feruloylapioside)</i>	34,016	2,40295	Chemical Formula: $C_{30}H_{26}O_{13}$ Exact Mass: 594,1373 Molecular Weight: 594,5250 m/z: 594.1373 (100.0%), 595.1407 (32.4%), 596.1441 (2.7%), 596.1416 (2.7%), 596.1441 (2.4%)
2	<i>Kaemferol 3-(6''-caffeoylglucoside)</i>	35,508	3,26109	Chemical Formula: $C_{30}H_{26}O_{14}$ Exact Mass: 610,1323 Molecular Weight: 610,5240 m/z: 610.1323 (100.0%), 611.1356 (32.4%), 612.1365 (2.9%), 612.1390 (2.7%), 612.1390 (2.4%)
3	<i>Quercetin-3-glucoside-7-rhamnoside</i>	35,511	2,30749	Chemical Formula: $C_{27}H_{30}O_{16}$ Exact Mass: 610,1534 Molecular Weight: 610,5210 m/z: 610.1534 (100.0%), 611.1567 (29.2%), 612.1576 (3.3%), 612.1601 (2.7%), 612.1601 (1.4%)
4	<i>Rutin</i>	35,517	1,93509	Chemical Formula: $C_{27}H_{30}O_{16}$ Exact Mass: 610,1534 Molecular Weight: 610,5210 m/z: 610.1534 (100.0%), 611.1567 (29.2%), 612.1576 (3.3%), 612.1601 (2.7%), 612.1601 (1.4%)
5	<i>Quercetin 3-(3'',6''-di-p-coumarylglucoside)</i>	46,566	2,64456	Chemical Formula: $C_{39}H_{32}O_{16}$ Exact Mass: 756,1690 Molecular Weight: 756,6690 m/z: 756.1690 (100.0%), 757.1724 (42.2%), 758.1757 (8.7%), 758.1733 (3.3%), 759.1766 (1.4%)
6	<i>Kaempferol 3-glucosyl-(1 2)-galactosyl-(1 2)-glucoside</i>	47,018	3,26141	Chemical Formula: $C_{33}H_{40}O_{21}$ Exact Mass: 772,2062 Molecular Weight: 772,6620 m/z: 772.2062 (100.0%), 773.2096 (35.7%), 774.2129 (6.2%), 774.2105 (4.3%), 775.2138 (1.5%)
7	<i>Quercetin 3-glucosyl-(1 2)-galactosyl-(1 2)-glucoside</i>	49,935	3,13724	Chemical Formula: $C_{33}H_{40}O_{22}$ Exact Mass: 788,2011 Molecular Weight: 788,6610 m/z: 788.2011 (100.0%), 789.2045 (35.7%), 790.2078 (6.2%), 790.2054 (4.5%), 791.2087 (1.6%)
8	<i>Quercetin 3-(6''''-feruloylglucosyl)-(1 2)-glucoside</i>	58,135	2,74956	Chemical Formula: $C_{43}H_{48}O_{25}$ Exact Mass: 964,2485 Molecular Weight: 964,8320 m/z: 964.2485 (100.0%), 965.2518 (46.5%), 966.2552 (10.6%), 966.2527 (5.1%), 967.2561 (2.4%)

Senyawa-senyawa lain yang ditemukan di daun jinten yaitu *Quercetin-3-glucoside-7-rhamnoside*, *Quercetin 3-(3'',6''-di-p-coumarylglucoside)*, *Quercetin 3-glucosyl-(1,2)-galactosyl-(1,2)-glucoside*, dan *Quercetin 3-(6''''-feruloylglucosyl)-(1,2)-glucoside*, merupakan turunan quercetin yang memiliki potensi sebagai senyawa antikanker. Dalam penelitian-penelitian yang dilakukan, senyawa-senyawa ini telah menunjukkan aktivitas antikanker yang menarik.

Quercetin-3-glucoside-7-rhamnoside adalah senyawa yang terbentuk dari quercetin yang terglukosilasi dengan gugus glukosa dan gugus rhamnosa. Senyawa ini telah

menunjukkan potensi sebagai agen antikanker dalam beberapa penelitian. Aktivitas antikanker dari senyawa ini terkait dengan efeknya dalam menghambat proliferasi sel kanker, menginduksi apoptosis, dan menghambat angiogenesis (Chao, et al 2014).

Quercetin 3-(3'',6''-di-p-coumarylglucoside) adalah senyawa yang mengandung gugus p-coumarylglucosida yang terikat pada quercetin. Senyawa ini telah diteliti untuk aktivitas antikanker dan menunjukkan efek menghambat pertumbuhan sel kanker, menginduksi apoptosis, dan menghambat invasi serta migrasi sel kanker (Lee. J, et al, 2017). Penelitian menunjukkan bahwa senyawa ini dapat menghambat aktivitas enzim yang terlibat dalam proliferasi sel kanker (Lee et al, 2017).

Quercetin 3-glucosyl-(1,2)-galactosyl-(1,2)-glucoside adalah senyawa yang terdiri dari quercetin yang terglukosilasi dengan gugus glukosa dan gugus galaktosa. Senyawa ini telah diteliti untuk aktivitas antikanker dan menunjukkan efek penghambatan pertumbuhan sel kanker, menginduksi apoptosis, serta menghambat migrasi dan invasi sel kanker (Yang, 2014).

Quercetin 3-(6'''-feruloylglucosyl)-(1,2)-glucoside adalah senyawa yang mengandung gugus feruloylglucosida yang terikat pada quercetin. Senyawa ini telah diteliti untuk aktivitas antikanker dan menunjukkan efek inhibisi pertumbuhan sel kanker, menginduksi apoptosis, serta menghambat invasi dan migrasi sel kanker (Liu, 2012). Temuan penelitian juga menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki kemampuan untuk menghambat proses angiogenesis, yaitu pembentukan pembuluh darah baru yang penting untuk pertumbuhan tumor (Liao Y, 2016).

Rutin telah menunjukkan potensi sebagai agen antikanker berdasarkan beberapa penelitian. Senyawa ini telah terbukti memiliki efek antiproliferasi pada berbagai jenis sel kanker, diantaranya kanker hati dan kanker paru-paru. Rutin mampu menghambat pertumbuhan sel kanker melalui mekanisme yang melibatkan penghambatan siklus sel, stimulasi apoptosis, dan penghambatan angiogenesis (Wu, 2016).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian pada daun jinten yaitu identifikasi senyawa golongan flavonoid menggunakan LCMS ini diketahui terdapat 8 jenis senyawa flavonoid dan diketahui berpotensi sebagai antikanker.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung atas dukungan dan dana yang telah diberikan, dan kerabat dosen yang sudah membantu dalam proses penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agati, G., Biricolti, S., Guidi, L., Ferrini, F., & Fini, A. (2021). Flavonoids as antioxidants in plants under abiotic stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3520.
- Araújo, J. R., Gonçalves, P., & Martel, F. (2011). Chemopreventive effect of dietary polyphenols in colorectal cancer cell lines. *Nutrition Research*, 31(2), 77–87. doi: 10.1016/j.nutres.2011.01.006.
- Chao J, Dai Y, Verpoorte R, Lam W, Cheng YC, Pao LH, Hsu JL, Chao LK. Anti-cancer effects of emodin on HepG2 cells as revealed by 1H-NMR based metabolic profiling. *J Pharm Biomed Anal*. 2014;90:160-165.

- Falcone Ferreyra, M. L., Casas, M. I., Questa, J. I., Herrera, A. L., Deblasio, S., Wang, J., ... & Casati, P. (2020). Evolution and functional diversification of flavonoid biosynthesis in terrestrial plants. *The Plant Journal*, 101(5), 756-778.
- Guo, R., Guo, H., Hao, W., Yao, P., & Chen, L. (2020). Kaempferol exhibits anti-inflammatory effects in LPS-stimulated RAW264. 7 cells and inflammation-induced mice by inflammasome activation and pyroptosis signaling pathway. *Inflammation*, 43(3), 776-789.
- Gomathi, D., Kalaiselvi, M., & Ravikumar, G. (2019). Phytochemical composition and antimicrobial activity of essential oil from *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng. *International Journal of Green Pharmacy*, 13(1), 61-66.
- Imran M, Salehi B, Sharifi-Rad J, Aslam Gondal T, Saeed F, Imran A, Shahbaz M, Tsouh Fokou PV, Umair Arshad M, Khan H, Guerreiro SG, Martins N, Estevinho LM. Kaempferol: A Key Emphasis to Its Anticancer Potential. *Molecules*. 2019; 24(12):2277.
- Kim YH, Woo H, Kim JS, Shin KO, Lee JH, Jang DS, Choi JH. Kaempferol 3-glucosyl-(1-->2)-galactosyl-(1-->2)-glucoside from the leaves of *Ailanthus altissima*. *J Korean Soc Appl Biol Chem*. 2013;56(6):731-737.
- Liu L, Su X, Zhang X, Qi J, Yang Y, Zhou Q. Antiproliferative and proapoptotic activities of quercetin-3-O-(6"-feruloyl)-beta-D-glucopyranoside in human breast cancer cells. *Nutr Cancer*. 2012;64(8):1228-1236.
- Liao Y, Shen W, Kong G, Lv H, Tao W, Bo P, et al. Antitumor activities of quercetin and quercetin-5',8-disulfonate in human colon and breast cancer-derived cells. *Tumour Biol*. 2016;37(6):7939-7949.
- Lee JK, Cho YS, Park K. Enhancement of antioxidant and anticancer activities of soybean koji fermented with *Bacillus amyloliquefaciens*. *Food Sci Biotechnol*. 2017;26(6):1699-1706.
- Lee J, Park SY, Kim YS, Kim YH. Quercetin 3-(3",6"-di-p-coumarylglucoside) induces apoptosis in human breast cancer cells by inhibiting EGFR signaling. *Free Radic Biol Med*. 2017;112:228-236.
- Lee SJ, Kim JY, Kang DG, Lee HS. Kaempferol 3-O-(5"-feruloylapioside) isolated from *Perilla frutescens* suppresses invasion and MMP-9 expression of HT1080 cells. *Nat Prod Sci*. 2012;18(1):29-34.
- Ravishankar, D., Rajora, A. K., Greco, F., Osborn, H. M., & Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 89, 232-246.
- Olivares, M., Pourmasoumi, M., Ruiz, F. G., Câmara, J. S., Trindade, R. C., & Lorenzo, J. M. (2019). Liquid chromatography-mass spectrometry: A versatile tool in food chemistry. *Food Research International*, 115, 23-63.
- Park, J. Y., Han, X. H., & Ko, E. J. (2018). Anti-inflammatory effects of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng (Mexican mint) essential oil in vitro and in vivo models. *Journal of Ethnopharmacology*, 227, 155-162.
- Salehi, B., Venditti, A., Sharifi-Rad, M., Kręgiel, D., Sharifi-Rad, J., Durazzo, A., ... & Zucca, P. (2019). The therapeutic potential of apigenin. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6), 1305.
- Sghaier, M. B., Pagano, A., Mousslim, M., Ammari, Y., Kovacic, H. & Luis, J. (2016). Rutin Inhibits Proliferation, Attenuates Superoxide Production and Decreases

- Adhesion and Migration of Human Cancerous Cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 1972–1978.
- Singh, A. P., De, P., Singh, R., Mishra, A., & Jaiswal, A. (2022). Neuroprotective potential of *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng against rotenone-induced neurotoxicity in rat model of Parkinson's disease. *Journal of Ethnopharmacology*, 282, 114579.
- Tatiya, A. U., Saluja, A. K., & Surana, S. J. (2021). Evaluation of antihyperglycemic activity of *Plectranthus amboinicus* in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 12(1), 524-529.
- Xie, X. Y., Liu, J. Y., Hao, Q., & Yang, C. Q. (2021). Flavonoids in plant–rhizobium interactions: potential roles and molecular mechanisms. *Plant Molecular Biology*, 105(1-2), 163-177.
- Yuliana, N. D., Iqbal, M., Susilowati, R., & Darwati, I. (2020). Evaluation of antimicrobial activity of *Plectranthus amboinicus* Lour. extracts against *Streptococcus mutans*. *Journal of International Dental and Medical Research*, 13(4), 1340-1344.
- Yang X, Li X, Ren X, Meng X, Pang J, Wen L. Antitumor activities of quercetin and quercetin-5',8-disulfonate in human colon and breast cancer cell lines. *Food Chem Toxicol*. 2014;70:151-161.
- Yao F, Wang P, Luo J, Zhang G. Cytotoxic and apoptotic effects of kaempferol 3-O-(6"-O-E-caffeoyl-glucoside) on the hepatocellular carcinoma cell line HepG2. *Biomed Pharmacother*. 2016;81:64-71
- Yang F, Song L, Wang H, Wang J, Xu Z, Xing N. Quercetin in prostate cancer: Chemotherapeutic and chemopreventive effects, mechanisms and clinical application potential (Review). *Oncol Rep*. 2015; 33(6):2659-68)
- Wu Y, Zhang H, Dong Y, et al. Rutin improves spatial memory in Alzheimer's disease transgenic mice by reducing A β oligomer level and attenuating oxidative stress and neuroinflammation. *Behav Brain Res*. 2016;296:296-304.
- Zhang L, Liu Y, Lu XT, Xu J, Ding K. Kaempferol 3-glucosyl-(1-2)-galactosyl-(1-2)-glucoside inhibits invasion of hepatocellular carcinoma via down-regulation of matrix metalloproteinases-2 and -9. *Phytother Res*. 2014;28(1):69-75.