

STUDI LITERATUR PEMANFAATAN SINTESIS SENYAWA PIPERIDINIL-P- KUMARAMIDA DARI ASAM-P-KUMARAT YANG DIPEROLEH DARI LIMBAH SEKAM PADI (*ORYZAE SATIVA*) SEBAGAI OBAT ANTI KANKER LEUKEMIA

Steven^{1a}, Athalia Theda Tanujaya¹, Norman Emil Ramadhan¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

^aEmail Korespondensi: Steven71@ui.ac.id

ABSTRAK

Pendahuluan: Pada tahun 2018, angka kejadian kanker di Indonesia mencapai 136,2 per 100.000 penduduk serta kanker leukemia menduduki posisi kelima sebagai kanker paling mematikan dan telah merenggut 11.314 jiwa. Tingginya biaya pengobatan leukemia menjadikan penyerapan anggaran pembiayaan dalam program JKN-KIS sebesar Rp3,4 triliun. Melihat masalah tersebut, para peneliti mencoba memanfaatkan bahan alam untuk mengembangkan agen anti-leukemia yang baru.

Isi: Salah satu senyawa yang dapat menghambat kanker leukemia adalah piperidinil-p-kumaramida, turunan dari asam-p-kumarat yang dapat ditemukan dan diisolasi dari limbah tanaman padi atau *Oryzae sativa*. Setiap tahunnya, 79,2 juta ton tanaman padi diproduksi dan menghasilkan 19,8 juta ton limbah sekam. Tujuan dari artikel ini adalah untuk mengoptimalkan pemanfaatan limbah sekam padi sebagai prekursor piperidinil-p-kumaramida untuk antikanker leukemia.

Metode: Metode yang digunakan adalah ekstraksi bertingkat limbah sekam dengan menggunakan larutan air-metanol dan etil asetat. Ekstrak lalu diisolasi dan dipurifikasi KLT. Setelah itu, penetapan kadar dianalisis menggunakan KCKT. Asam-p-kumarat dimodifikasi menjadi piperidinil-p-kumaramida dengan cara mereaksikannya dengan piperidin.

Kesimpulan: Aktivitas piperidinil-p-kumaramida sebagai anti kanker leukemia pada sel p388 dapat diuji secara *in vitro* dan *in vivo*. Berdasarkan studi literatur yang telah dilakukan, sebanyak 100 gram limbah sekam padi dapat menghasilkan 265.4 ± 2.4 mg asam p-kumarat. Setiap 0,5 gram asam-p-kumarat dapat yang dapat disintesis menjadi piperidinil-p-kumaramida yang mempunyai IC50 sebesar 5,34 $\mu\text{g/mL}$ sehingga dapat dimanfaatkan sebagai agen anti kanker leukemia.

Kata kunci: antikanker, asam-p-kumarat, leukemia, piperidinil-p-kumaramida, sekam padi

ABSTRACT

Introduction: In 2018, the incidence of cancer in Indonesia reached 136.2 per 100,000 population and leukemia cancer was in the fifth position as the deadliest cancer and has killed 11,314 lives. The high cost of treating leukemia has costed the funding budget in the JKN-KIS program up to Rp3.4 trillion. Researchers have tried to use natural ingredients to develop new anti-leukemia agents.

Content: One of the compounds that can inhibit leukemia cancer is piperidinyl-p-coumaramide, a derivative of p-coumaric acid which can be found and isolated from rice plant waste or *Oryzae sativa*. Each year, 79.2 million tons of rice are produced and generate 19.8 million tons of husk. The aim of this article is to utilize rice husk as a piperidinyl-p-coumaramide precursor for leukemia drug.

Method: The method used was stratified extraction of the husk waste using a water-methanol and ethyl acetate solution. The extract was then isolated and purified by TLC. After that, the assay was analyzed using HPLC. P-coumaric acid is modified into piperidinyl-p-coumaramide by reacting it with piperidine.

Conclusion: The activity of piperidinyl-p-coumaramide as an anti-leukemic cancer on p388 cells can be tested in vitro and in vivo. According to the literature study, 100 grams rice husk may generate 265.4 ± 2.4 milligrams p-coumaric acid that can be synthesized into piperidinyl-p-coumaramide which has IC50 around 5,34 $\mu\text{g/mL}$ thus can be utilized as an anti-leukemia cancer.

Keywords: anticancer, p-coumaric acid, leukemia, piperidinyl-p-coumaramide, rice husk

PENDAHULUAN

Pola hidup masyarakat yang cenderung tidak sehat pada zaman ini telah menyebabkan banyak masalah kesehatan terjadi. Salah satunya adalah penyakit yang berpengaruh pada genetik manusia, penyakit ini kemudian dapat diturunkan ke generasi berikutnya dan menyebabkan semakin banyaknya populasi yang menderita penyakit tersebut. Salah satu contohnya adalah penyakit kanker yang angka kejadiannya di Indonesia menurut data dari Kementerian Kesehatan telah mencapai 136,2 per 100.000 penduduk.^[1] Kanker leukemia yang telah merenggut nyawa 11.314 penduduk di Indonesia pada tahun 2018, menduduki posisi kelima sebagai kanker paling mematikan di Indonesia.^[2] Kanker darah ini terjadi karena adanya perubahan pada gen yang mempengaruhi fungsi sel, terutama pada pertumbuhan dan pembelahan sel darah putih.^[3]

Prevalensi kejadian kanker yang tinggi diikuti dengan biaya pengobatan yang mahal menjadikan kanker masuk ke dalam daftar penyakit katastrofik yang paling menyerap anggaran dalam pembiayaan program Jaminan

Kesehatan Nasional Kartu Indonesia Sehat (JKN-KIS). Menurut berita yang dilansir pada beritasatu.com pada tahun 2018, penyakit katastrofik menyerap 25,77% dari total pengeluaran untuk pembayaran klaim di rumah sakit dan penyakit kanker menempati posisi kedua terbesar setelah penyakit jantung dengan biaya sebesar Rp3,4 triliun atau 17% dari seluruh biaya penyakit katastrofik. Tingginya tanggungan biaya tersebut, membuat Kementerian Kesehatan mempertimbangkan untuk mengeluarkan beberapa obat penyakit kanker dari daftar obat yang dapat ditanggung oleh program JKN-KIS.

Apabila dilihat pada Formularium Nasional tahun 2018, hanya terdapat delapan obat kanker leukemia yang dapat ditanggung oleh BPJS. Apabila angka yang sudah sedikit ini masih dikurangi lagi, maka pasien kanker leukemia akan sulit mendapatkan pengobatan yang diperlukan. Menurut data dari Yayasan Kanker Indonesia yang dilansir dalam health.detik.com, rata-rata biaya yang harus dikeluarkan untuk pengobatan kanker adalah 102—106 juta/bulan. Biaya yang cukup tinggi ini terkadang membuat pasien enggan

untuk mendapatkan pengobatan yang dibutuhkan dan menurunkan tingkat kepatuhan pasien terhadap anjuran pengobatan yang disarankan dokter. Selain masalah biaya pengobatan yang mahal, obat kemoterapi kanker juga dapat menyebabkan beberapa efek samping karena agen tersebut tidak hanya menyerang sel kanker, tetapi juga menyerang sel tubuh yang normal. Oleh karena itu, beberapa obat kanker bahkan dapat menyebabkan timbulnya kanker sekunder. Beberapa peneliti sedang berusaha untuk memanfaatkan sumber daya alam untuk menemukan agen terapi baru yang dapat dijadikan sebagai alternatif untuk obat kanker leukemia.^[4]

Padi merupakan sumber makanan pokok utama bagi orang Indonesia dan setiap tahunnya 79,14 juta ton padi diproduksi untuk memenuhi kebutuhan tersebut. Sekam padi merupakan limbah atau produk sampingan dari padi dan setiap tahunnya dihasilkan 19,8 juta ton limbah sekam padi.^[5] Penulis telah melakukan studi literatur dan menemukan bahwa sebagian besar kandungan kimia dalam limbah sekam padi merupakan asam-p-kumarat, yakni sebesar 265.4 ± 2.4 mg/100 gram.^[6] Banyaknya jumlah limbah sekam padi yang dihasilkan ini membuat ketersediaan asam-p-kumarat terjamin. Asam-p-kumarat berpotensi sebagai agen anti kanker leukemia, tetapi apabila dimodifikasi menjadi piperidinil-p-kumaramida, maka efektivitas sebagai

anti kanker leukemia akan lebih meningkat.^[7]

Melihat hal-hal tersebut, penulis berusaha untuk memanfaatkan limbah sekam padi untuk memproduksi senyawa piperidinil-p-kumaramida yang disintesis dari asam-p-kumarat. Apabila hasil gagasan ini positif, penulis berharap agar agen ini dapat dikembangkan, diformulasikan, dan diuji klinis sebagai obat kanker leukemia. Penulis berharap dengan gagasan untuk memanfaatkan sumber daya alam lokal sebagai sumber agen obat anti kanker leukemia yang baru, Indonesia dapat lebih mandiri dan dapat mengatasi permasalahan biaya pengobatan yang tinggi, khususnya pengobatan kanker leukemia.

PEMBAHASAN

Pemanfaatan piperidinil-p-kumaramida sebagai agen anti kanker leukemia harus melalui beberapa tahapan, yakni pengambilan sekam padi dari padi; ekstraksi, isolasi, dan purifikasi asam-p-kumarat; sintesis piperidinil-p-kumaramida; dan uji efektivitas secara *in vitro* dan *in vivo* untuk membuktikan efikasi dari piperidinil-p-kumaramida.

Proses Pengambilan Sekam Padi

Proses pengambilan sekam padi dilakukan dengan cara proses pengolahan padi menjadi beras dihasilkan sekam padi sebagai produk samping. Gabah dipisahkan terlebih dahulu dari malainya dengan cara

perontokkan. Selanjutnya dilakukan penjemuran dengan dialasi tikar atau plastik pada lantainya, sehingga gabah tidak terkena panas yang berlebihan dari lantai semen tersebut. Gabah yang sudah dijemur dapat disebut Gabah Kering Giling (GKG) dan selanjutnya dibersihkan dari segala kotoran. Setelah itu, gabah dimasukkan ke mesin pemecah kulit dan pada proses inilah, sekam dilepaskan dari gabah.^[9]

Ekstraksi Sekam Padi

Ekstraksi dilaksanakan dengan cara berikut.^[8] Sekam padi sebanyak satu gram diekstraksi dua kali menggunakan 10 ml air:metanol (20:80 v/v) dengan sentrifugator pada kecepatan 2500 rpm selama 20 menit. Bagian residu diambil dan dihidrolisasi dengan menggunakan NaOH 2 M sebanyak 20 ml pada suhu 25°C dalam inkubator dengan dialiri gas N₂ selama 1 jam. Selanjutnya, cairan dinetralisasi dengan HCl 12 M dan diekstraksi kembali dengan heksana untuk menghilangkan lipidnya. Cairan kemudian diekstraksi sebanyak lima kali dengan etil asetat. Fraksi etil asetat dievaporasi dan dilarutkan dalam 10 ml metanol, sehingga dapat dianalisis dengan menggunakan HPLC.

Isolasi dan Purifikasi Asam-p-kumarat

Larutan ekstrak kasar ditotolkan secara manual pada plat kaca KLT preparatif (20cm×20 cm; ketebalan 1500 μm) dengan menggunakan indikator fluoresen anorganik. Setelah

pengeringan, plat dikembangkan, menggunakan fase gerak kloroform:metanol:asam format (85:10:5 v/v) dalam chamber yang sudah dijenuhkan sebelumnya. Dalam setiap percobaan, dua plat digunakan secara paralel. Salah satu plat dari setiap rangkaian percobaan disemprotkan dengan larutan besi klorida 0,5% b/v dan pita-pita yang dihasilkan dikerok dengan hati-hati dari plat. Sampel tersebut kemudian dilarutkan dalam metanol khusus KCKT dan disentrifugasi dengan kecepatan 12000 rpm selama 15 menit untuk menghilangkan silika gelnya. Supernatan dikumpulkan, disaring dengan filter 0,22 μm, dan dikeringkan dengan tekanan rendah. Selanjutnya, semua sampel kering dilewatkan di bawah gas nitrogen selama 5 menit dan kemudian dilarutkan dalam metanol untuk karakterisasi lebih lanjut dan dianalisis kuantitatif dengan KCKT. Seluruh proses pemurnian dilakukan dalam kondisi cahaya gelap atau redup.

Penetapan Kadar Asam-p-kumarat

Analisis penetapan kadar dilakukan dengan menggunakan KCKT. Kromatografi distabilkan selama sekitar 45 menit dengan fase gerak yang terdiri dari air:metanol:asam asetat glasial (65:34:1 v/v). Laju alir diatur pada 1,0 mL/menit. Larutan standar dibuat dalam lima variasi konsentrasi yang berkisar antara 2-10 μg/mL, kemudian diambil 20,0 μL dan disuntikkan ke dalam kromatografi. Kurva kalibrasi dibuat

dengan menggunakan konsentrasi dan luas area puncak yang didapat. Larutan sampel sebanyak 20 μL yang dibuat dari ekstrak metanol disuntikkan pada kondisi yang sama seperti larutan standar dan luas area puncak dicatat. Kadar asam-p-kumarat dalam sampel ekstrak dihitung dengan menggunakan persamaan $y = a + bx$ yang didapat dari kurva kalibrasi.^[10]

Sintesis Piperidinil-p-kumaramida dari Asam-p-kumarat

Sintesis piperidinil-p-kumaramida dari asam-p-kumarat dilakukan pertama-tama, siapkan sebanyak 0,5 gram (3 mmol) asam p-kumarat yang dilarutkan dengan 10 mL dimetilformamida (DMF) pada gelas kimia. Hasil larutan tersebut kemudian dimasukkan kedalam labu alas bulat tiga, ditambahkan 0,0558 gram (0,9 mmol) H_3BO_3 dan 20 mL DMF. Setelah itu, diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 5 menit dan kemudian ditambahkan 0,3 mL (3 mmol) piperidina. Hasil campuran tersebut kemudian direfluks pada suhu 146°C selama 16 jam dan didinginkan pada suhu ruang. Endapan kemudian disaring dengan kertas Whatmann, filtrat yang diperoleh ditambahkan dengan aquadest dan diekstraksi dengan dietil eter 20 mL sebanyak lima kali. Ekstrak dietil eter dicuci dengan 30 mL larutan NaCl jenuh sebanyak satu kali dan 30 mL dengan aquadest sebanyak dua kali. Kemudian, ekstrak dikeringkan dengan Na_2SO_4 anhidrat, lalu didekantasi dan filtratnya dievaporasi hingga kental.

Residu kental selanjutnya dituang kedalam silika gel 7733, kemudian difraksinasi dengan kromatografi kolom grafitasi menggunakan eluen n-heksan 100% dan n-heksana:etil asetat (95,5:4,5 %). Fraksi yang memiliki nilai R_f yang sama digabung dan dievaporasi. Kristal yang terbentuk direkristalisasi dengan menggunakan etil asetat hingga larut sempurna, selanjutnya ditambahkan dengan n-heksan sampai terbentuk endapan. Endapan kemudian disaring dengan penyaring kristal, dikeringkan pada suhu ruang, dan diukur titik lelehnya. Terakhir, dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer FTIR, serta spektrometer H-NMR dan C-NMR.^[7]

Uji Efektivitas Piperidinil-p-kumaramida sebagai Agen Anti Kanker Leukemia

Uji efektivitas piperidinil-p-kumaramida sebagai agen anti kanker leukemia dapat dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*.^[11]

Pengujian secara *in vitro*

Uji *in vitro* dilakukan dengan menggunakan sel p388 yang merupakan sel kanker leukemia. Sel p388 dibiakkan pada medium RPMI 1640 yang mengandung 10% fetal calf serum, 2 mM l-glutamin, 100 unit/ml penisilin, 100 $\mu\text{g/ml}$ streptomisin, dan 10 mM dapar asam 4-(2-hidroksietil)-1-piperazinetsulfonat pada pH 7,4. Parameter proliferasi sel diukur dengan menggunakan Microculture Tetrazolium Assay (MTA). Sel dibiakkan 48 jam

sebelum pemberian piperidinil-p-kumaramida. Densitas sel ditentukan untuk menjaga kondisi sel tetap berada pada fase pertumbuhan eksponensial, kurang lebih sebesar 70—80%. Hal ini bertujuan untuk memperoleh hasil yang linear antara absorbansi dan jumlah sel. Kemudian, sel diberikan sejumlah konsentrasi piperidinil-p-kumaramida dan diinokulasikan selama 1 jam. Setelah itu, sel dicuci dan diinkubasikan pada medium yang bebas dari piperidinil-p-kumaramida selama 7 hari. Pada akhir masa inkubasi, ditambahkan 3-(4,5-dimetiltiazol-2y)-2,5-difenil-2H-tetrazolium bromide sebanyak 0,5mg/ml dan diinkubasikan lagi selama 4 jam pada suhu 37°C. Kemudian plat berisi sampel tersebut disentrifugasi selama 5 menit, bagian supernatannya dibuang, dan digantikan dengan dimetil sulfoksida sebanyak 100µl. Selanjutnya, plat digoyangkan dan dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Hasilnya berupa nilai IC50 yang dapat dibandingkan antara kelompok sampel dan kelompok kontrol yang tidak diberikan agen apapun.

Pengujian secara *in vivo*

Uji *in vivo* dilakukan dengan menggunakan mencit berusia 5—6 minggu dengan berat badan sebesar 20—23gram yang telah diinokulasikan sel p388 sebanyak 106 sel secara intraperitoneal. Sebelumnya, mencit diaklimatisasikan selama 7 hari pada suhu ruang 12h/12h siklus cahaya

terang dan gelap. Pengujian dilakukan berdasarkan protokol NCI yang sudah dipublikasikan sebelumnya. Aktivitas anti kanker dilihat dengan membandingkan nilai Median Survival Time (MST) antara kelompok sampel dan kelompok kontrol. Hasilnya dapat dihitung dengan persamaan sebagai berikut.

$$T/C = \frac{MST \text{ dari kelompok sampel}}{MST \text{ dari kelompok kontrol}} \times 100$$

Manfaat Piperidinil-p-kumaramida sebagai Agen Anti Kanker Leukemia

Manfaat pemakaian piperidinil-p-kumaramida dapat ditinjau dari beberapa aspek di bawah ini, yaitu:

Bidang Kesehatan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan *piperidinil-p-kumaramida* berpotensi sebagai anti kanker.^[7] Hal ini dapat dibuktikan dari nilai IC50 yang dihasilkan, yakni sebesar 5,34 µg/mL. IC50 dalam hal ini merupakan nilai yang menggambarkan kemampuan menghambat sel P388 yang merupakan sel tumor leukemia. Nilai IC50 dari piperidinil-p-kumaramida sudah terbukti lebih tinggi dibandingkan senyawa turunan asam p-kumarat lainnya. Melalui hasil penelitian ini, maka piperidinil-p-kumaramida dapat dipertimbangkan untuk menjadi agen anti kanker leukemia yang baru.

Piperidinil-p-kumaramida yang diperoleh dengan memanfaatkan sekam padi

dapat menekan biaya pengobatan untuk kanker leukemia karena bahan dasar utamanya berasal dari sumber daya alam lokal Indonesia yang memang ketersediaannya cukup tinggi. Berdasarkan data yang dipaparkan oleh Kementerian Kesehatan RI, penderita kanker seringkali berujung pada kematian karena harga obat kanker yang terlampaui mahal serta kesulitan dari penderita untuk menyelesaikan anjuran pengobatan dari dokter. Penyediaan obat kanker piperidinil-p-kumaramida dengan harga yang lebih murah dibandingkan dengan obat kanker leukemia yang sudah tersedia, diharapkan dapat meningkatkan kepatuhan pasien dalam mengonsumsi obat tersebut, sehingga pada akhirnya jumlah pasien yang sembuh dari kanker leukemia dapat meningkat.

Bidang Ekonomi

Obat baru yang dikembangkan dari piperidinil-p-kumaramida yang disintesis dari asam-p-kumarat hasil isolasi sekam padi merupakan suatu gagasan yang menjanjikan karena sekam padi merupakan produk samping dari padi, ketersediaannya melimpah di Indonesia, dan harganya yang tergolong murah, yaitu Rp 50,00/kg.^[12] Dengan demikian, biaya untuk memperoleh bahan baku dapat ditekan. Selain itu, apabila produksi dilakukan sendiri di Indonesia, negara akan lebih mandiri dalam penyediaan obat kanker. Pemanfaatan sumber daya alam dan dibukanya produksi lokal di Indonesia juga dapat

membuka suatu lapangan kerja baru di berbagai bidang, mulai dari petani, pengelola sekam padi, hingga pada industri farmasi itu sendiri.

Kemudian, apabila kapasitas produksi obat kanker leukemia ini sudah memadai, Indonesia berpotensi untuk menjadi salah satu negara pengekspor obat kanker leukemia. Hal ini tentunya dapat meningkatkan devisa negara dan perekonomian Indonesia. Pada akhirnya, dana yang dialokasikan untuk pengobatan kanker leukemia di Indonesia dapat dialokasikan untuk mengatasi permasalahan kesehatan yang lain.

KESIMPULAN

Asam-p-kumarat yang didapatkan dari limbah sekam padi dimanfaatkan sebagai agen anti kanker leukemia diprediksi akan lebih meningkat apabila dilakukan modifikasi struktur menjadi piperidinil-p-kumaramida. Setelah dilakukan sintesis piperidinil-p-kumaramida, dilakukan pengujian efektivitas secara *in vitro* dan *in vivo* untuk mengetahui aktivitas dari senyawa ini. Manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah manfaat ekonomi dan kesehatan. Apabila ditinjau dari segi ekonomi pemanfaatan limbah sekam padi dinilai ekonomis dan dapat menggantikan obat BPJS yang ada saat ini, sehingga diharapkan dapat mengurangi beban defisit BPJS. Apabila ditinjau dari segi kesehatan, piperidinil-p-kumaramida terbukti memiliki nilai

IC50 yang baik, sehingga efektif digunakan sebagai obat anti kanker leukimia. Selain itu, dengan harga yang lebih ekonomis diharapkan dapat meningkatkan kepatuhan pasien dalam menjalani pengobatan kanker leukemia.

SARAN

Apabila hasil gagasan ini positif, maka diharapkan dapat diformulasikan dan dilanjutkan ke uji klinis, sehingga pada akhirnya dapat dipasarkan menjadi salah satu obat terapi anti kanker leukemia.

DAFTAR PUSTAKA

- Indonesia, K. K. R. Hari Kanker Sedunia 2019. Retrieved from <http://www.depkes.go.id/article/view/19020100003/hari-kanker-sedunia2019.html>. (2019).
- Organization, W. H. *Latest Global Cancer Data*. Retrieved from http://gco.iarc.fr/today/onlineanalysispie?v=2018&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=total&sex=2&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=6&ages_group%5B%5D=13&nb_items=7&group_. (2018).
<https://doi.org/10.1177/1082013210366966>
- Nall, R. *What to know about cancer*. Retrieved from <https://www.medicalnewstoday.com/articles/323648.php>. (2018).
- Lucas, D. M., Still, P. C., Pérez, L. B., Grever, M. R., & Kinghorn, A. D. *Potential of plant-derived natural products in the treatment of leukemia and lymphoma*. *Current drug targets*, 11(7) : 812–822. (2010).
- Setyawan, N. Biosilika dari Sekam Tingkatkan Produktivitas Padi dan Tekan Serangan Blast. Retrieved from <http://lampung.litbang.pertanian.go.id/ind/index.php/berita/4-infoaktual/909-biosilika-dari-sekam-tingkatkan-produktivitas-padi-dan-tekanserangan-blast>. (2017).
- Minh, T. N., Xuan, T. D., Ahmad, A., Elzaawely, A. A., Teschke, R., & Van, T. M.. *Efficacy from different extractions for chemical profile and biological activities of rice husk*. *Sustainability* (Switzerland), 10(5): 1–15. (2018).
- Soekamto, N. H., & Permatasari, N. U. Sintesis Senyawa Turunan Sekunder dan Tersier p-Kumaramida dan Uji Aktivasnya Sebagai Anti Tumor Sel Leukimia P388. 5(2). (2012).
- Butsat, S., & Siriamornpun, S. *Phenolic Acids and Antioxidant Activities in Husk of Different Thai Rice Varieties*. 329–336. (2016).
- M., Ismunadji, Syam, M. dan Yuswadi. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor. 363 - 375. (2011).
- Ciulu, Marco. et al. *Extraction and Analysis of Phenolic Compounds in Rice: Review*. *Molecules*, 23(11) : 2890. (2018).
- Gao, Yue. et al. *A full utilization of rice husk to evaluate phytochemical bioactivities and prepare cellulose nanocrystals*. *Scientific reports*, 8(1) : 1-8. (2018).
- Pertanian, K.. Cara Membuat Arang Sekam Padi. ISBN : 978-979-3595-62- 7. (2015)
- Indonesia, K. K. R. Formularium Nasional 2018. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor HK.01.07/Menkes/707/2018, 121. (2018).
- Parks, P. J. *Leukemia Diseases and Disorders*. San Dieago, CA. (2010).
- Renu Sharma et al. Studies on Rice Bran and its benefits- A review. *Int. Journal of Engineering Research and Applications*. ISSN : 2248-9622. 5(5) : 107 – 112. (2015).
- Rich, I. N., Worthington-White, D., Garden, O. A., & Musk, P. *Apoptosis of leukemic cells accompanies reduction in intracellular pH after targeted*

- inhibition of the Na⁺/H⁺exchanger.* Blood, 95(4) : 1427–1434. (2000).
17. School, H. M. Leukemia. Retrieved from <https://www.health.harvard.edu/cancer/leukemia> (2014).
 18. Shafer A. W. *Etiology of leukemia. A review. California medicine*, 104(3) : 161–165. (1966).
 19. Shargel, L., & Yu, A. B. C. *Applied Biopharmaceutical and Pharmacokinetics* (7th ed.). McGraw Hill. (2016).
 20. Society, A. C., & Institute, N. C. *Questions and answers about leukemia. Cancer Disease Control and Prevention*. 2. <https://doi.org/10.1097/00017285-196703000-00006>. (1967).
 21. The Leukemia and Lymphoma Society. *Understanding Leukemia*. (2012).
 22. KK, Tripathi, W, Ranjini, Govila, OP, Vibha A. *Biologi of Oryza sativa L (Rice). Department of Biotechnology Ministry of Science and Technology & Ministry of Environment and Forest Government of India*. (2011).