



## Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol, Fraksi Etil Asetat dan n-heksana Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Terhadap Sel Kanker Payudara T47D

Shabarni Gaffar\*, Riza Apriani, Tati Herlina

Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang Km 21 Jatinangor 45363

\* Corresponding author

E-mail: [shabarni.gaffar@unpad.ac.id](mailto:shabarni.gaffar@unpad.ac.id)

DOI: 10.20961/alchemy.14.2.17298.303-313

Received 11 January 2018, Accepted 16 April 2018, Published Online 03 September 2018

### ABSTRAK

Daun Kelor (*Moringa oleifera*) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi memiliki aktivitas antikanker. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa daun *M. oleifera* mengandung sejumlah senyawa bioaktif yang memiliki potensi sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana daun *M. oleifera* terhadap sel kanker payudara T47D. Daun *M. oleifera* dimaserasi dengan pelarut etanol 90%. Ekstrak yang diperoleh dipartisi dengan menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat. Masing-masing ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker payudara T47D menggunakan metode MTS (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxy methoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium). Konsentrasi ekstrak dan fraksi yang digunakan adalah berturut-turut: 750; 375; 187,5; 93,75; 46,87 dan 23,45 µg/mL dengan waktu inkubasi selama 48 jam. Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana daun *M. oleifera* berturut-turut yaitu sebesar 51,31; 20,17; 223,67 µg/mL. Berdasarkan hasil tersebut, terlihat bahwa fraksi etil asetat daun *M. oleifera* memiliki aktivitas sitotoksik yang paling tinggi terhadap sel kanker payudara T47D.

**Kata kunci:** kanker payudara, kelor (*Moringa oleifera*), sel T47D, sitotoksik

### ABSTRACT

**Cytotoxic Activity of Ethanol Extract, Ethyl Acetate and n-hexane Fraction of Kelor Leaves (*Moringa oleifera*) Against Breast Cancer Cell T47D.** *Moringa oleifera* is one plant that has the potential anticancer activity. Several studies have been reported that *M. oleifera* leaves contains bioactives compounds that are potential as anticancer. This study was aimed to determine the cytotoxic activity of ethanol extract, ethyl acetate and n-hexane fraction of *M. oleifera* leaves against breast cancer cell T47D. *M. oleifera* leaves were extracted by being macerated with ethanol solvent. The extracts that have been obtained are partitioned by using n-hexane and ethyl acetate solvents. Each ethanol extract, ethyl acetate fraction and n-hexane fraction were tested for their cytotoxic activity against T47D breast cancer cells using MTS (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium) method. The used concentration of extract and fraction were 750; 375; 187.5; 93.75; 46.87 dan 23.45 µg/mL with an incubation time of 48 hours. IC<sub>50</sub> value of ethanol extract, ethyl acetate and n-hexane fractions of *M. oleifera* leaves were 51.31; 20.17; 223.67 µg/mL. Based on these results, it shown that the ethyl acetate fractions of *M. oleifera* leaves are highly toxic against T47D breast cancer cells.

**Keywords:** breast cancer, cytotoxic, *Moringa (Moringa oleifera)*, , T47D cell line

## PENDAHULUAN

Perkembangan yang pesat dalam bidang isolasi dan identifikasi senyawa fitokimia meningkatkan *trend* penelitian selama dua dekade terakhir ini terhadap pengobatan yang menggunakan tanaman herbal sebagai sumber potensial untuk agen antikanker (Awodele *et al.*, 2012; Elsayed *et al.*, 2015). Studi farmakologis menunjukkan bahwa ekstrak herbal terdiri dari nutrisi penting, beberapa kandungan senyawa yang memiliki aktivitas antitumor, antioksidan dan antimutasi dengan berbagai target yang saling bekerja secara sinergis (Kalappurayil and Joseph, 2017; Leone *et al.*, 2015).

*Moringa oleifera* Lam. atau lebih dikenal dengan nama Kelor merupakan tanaman berupa semak ataupun pohon yang dapat dengan mudah dijumpai di Indonesia. Tanaman ini cukup banyak dimanfaatkan masyarakat untuk mengatasi berbagai keluhan penyakit. Secara tradisional, seluruh bagian dari tanaman Kelor ini digunakan dalam pengobatan seperti penyakit kulit, gangguan pernafasan, infeksi telinga dan mulut, hipertensi, diabetes dan anemia (Patel *et al.*, 2010; Tiloke *et al.*, 2013; Emmanuel *et al.*, 2014; Jung, 2014; Al-Asmari *et al.*, 2015). Dari seluruh bagian tanaman *M. oleifera*, daun merupakan bagian yang paling sering digunakan. Beberapa senyawa bioaktif telah diidentifikasi dari daun *M. oleifera*, diantaranya termasuk dalam golongan vitamin, karotenoid, polifenol, asam fenolat, flavonoid, alkaloid, glukosinolat, isotiosianat, tanin, saponin dan oksalat serta *phytat* (Leone *et al.*, 2015). Berdasarkan kandungan senyawa bioaktif tersebut, beberapa penelitian telah melaporkan bahwa daun *M. oleifera* memiliki berbagai efek farmakologi, diantaranya memiliki aktivitas antioksidan (Mathur *et al.*, 2014; Das *et al.*, 2012; Chumark *et al.*, 2008; Sultana *et al.*, 2009), antiinflamasi dan imunomodulator (Sudha *et al.*, 2010; Gupta *et al.*, 2010; Georgewill *et al.*, 2010), hipoglikemik, hipolipidemik (Mbikay, 2012), hepatoprotektif (Das *et al.*, 2012) dan antikanker (Sreelatha *et al.*, 2011; Sikder *et al.*, 2013).

Dalam hal penyakit kanker, beberapa penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak air dan alkohol daun *M. oleifera* menunjukkan aktivitas antikanker pada beberapa lini sel. Khalafalla *et al.* (2010) melaporkan bahwa ekstrak air dan etanol daun *M. oleifera* menghambat viabilitas myeloid leukemia akut, limfoblastik leukemia akut dan sel karsinoma hepatoseluler. Sreelatha *et al.* (2011) melaporkan bahwa ekstrak air daun *M. oleifera* dapat menghambat proliferasi dan menginduksi apoptosis sel tumor KB manusia. Adanya induksi apoptosis dan aktivitas penghambatan pertumbuhan sel tumor pada sel kanker paru yang telah diberi ekstrak air daun *M. Oleifera* juga telah dilaporkan oleh Jung (2014). Beberapa mekanisme ekstrak daun *M. oleifera* dalam melawan sel kanker juga telah banyak diteliti. Tiloke *et al.* (2013) menemukan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak air daun *M. oleifera* terhadap sel kanker

paru adalah 166,7 µg/mL. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan spesi oksigen reaktif (ROS) bersamaan dengan penurunan tingkat GSH intraseluler, penurunan ekspresi protein Nrf2, peningkatan ekspresi p53, caspase 3/7 dan 9 dan peningkatan ekspresi protein Smac/DIABLO pada sel kanker paru yang telah diberi ekstrak daun *M. oleifera*. Hasil penelitian dari Al-Asmari *et al.* (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *M. oleifera* dapat menghambat pertumbuhan dan pembentukan koloni sel kanker kolon HCT-8 dengan meningkatkan aktivitas apoptosis dan menghambat siklus sel pada fase G2/M. Di samping itu, semua ekstrak yang diuji terbukti tidak memiliki efek toksik terhadap sel normal. Penelitian tersebut menegaskan hasil dari penelitian sebelumnya bahwa ekstrak daun *M. oleifera* menunjukkan sitotoksitas yang lebih besar terhadap sel tumor dibandingkan terhadap sel normal, oleh karena itu diharapkan agar *M. oleifera* dapat dijadikan sebagai agen antikanker yang spesifik terhadap sel kanker.

Hasil penelusuran literatur sampai saat ini belum menemukan adanya pembuktian secara ilmiah bahwa ekstrak daun *M. oleifera* memiliki aktivitas sitotoksik dan anti proliferasi terhadap sel kanker payudara T47D. Lini sel ini merupakan salah satu jenis *continuous cell line* yang sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in-vitro*. Banyak peneliti menggunakan kultur sel ini karena sangat mudah dalam penanganannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi. Sel kanker payudara T47D mengekspresikan protein p53 yang termutasi, sehingga bagian respon elemen p53 tidak dapat berikatan dengan DNA, dan mengurangi atau menghilangkan kemampuan p53 dalam meregulasi siklus sel dan memacu apoptosis (Schafer *et al.*, 2000; Abcam, 2007). Sehingga aktivitas sitotoksik daun *M. oleifera* terhadap sel T47D akan memberi peluang untuk mengungkap mekanisme lain dari aktivitas antikanker *M. oleifera*.

Pada penelitian ini kami melaporkan uji pendahuluan aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan daun *M. oleifera* terhadap sel kanker payudara T47D, untuk mengetahui pengaruhnya terhadap lini sel ini.

## METODE PENELITIAN

Bagian daun dari tanaman kelor (*Moringa oleifera*) diambil dari Sleman, Yogyakarta. Sel T47D yang digunakan merupakan koleksi Laboratorium Aretha Medika Utama. Sel T47D ditumbuhkan pada media kultur yang memiliki komposisi RPMI 1640 (Gibco), 10% FBS (*Fetal Bovine Serum*) (Gibco) dan 1% Pen-Strep (Gibco).

### **Ekstraksi Daun *M. oleifera***

Daun tanaman *M. oleifera* dicuci dengan air mengalir, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu maksimum 40 °C. Setelah kering simplisia tersebut diblender. Serbuk kering kemudian diekstrak dengan pelarut etanol 90% menggunakan metode maserasi. Ekstrak hasil maserasi kemudian disaring menggunakan corong saring lalu dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol yang telah dipekatkan kemudian diekstraksi cair-cair (partisi) menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat.

### **Partisi dengan n-heksana**

Ekstrak etanol yang telah dipekatkan ditimbang sebanyak 4 gram, kemudian dilarutkan dalam 40 mL campuran air dan metanol dengan perbandingan air:metanol yaitu 4:1. Larutan kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah 250 mL lalu ditambahkan 40 mL n-heksana. Larutan dalam corong pisah kemudian dikocok dan didiamkan beberapa saat hingga membentuk dua fasa. Setelah terbentuk larutan dua fasa yang stabil, fasa atas (n-heksana) dipisahkan dari fasa bawah (air). Pelarut n-heksana ditambahkan hingga berwarna bening. Fasa n-heksana yang diperoleh dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*, sedangkan fasa air digunakan untuk partisi dengan pelarut etil asetat.

### **Partisi dengan etil asetat**

Fraaksi air yang dihasilkan pada pemisahan dengan n-heksana dilakukan partisi kembali dengan menggunakan etil asetat. Fraksi air yang dihasilkan diukur volumenya kemudian ditambahkan etil asetat dengan perbandingan volume 1:1 ke dalam corong pisah. Larutan dalam corong pisah dikocok lalu didiamkan beberapa saat hingga terbentuk dua fasa. Setelah terbentuk dua fasa, fasa atas (etil asetat) dipisahkan dari fasa bawah (air). Fraksi etil asetat kemudian dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*.

### **Kultur Sel T47D**

Sel yang inaktif dalam wadah ampul diambil dari tangki nitrogen cair dan segera dicairkan pada suhu 37 °C. Ampul dibuka dan sel dipindahkan ke dalam tabung konikal steril yang berisi media RPMI 1640. Suspensi sel disentrifuse 2000 rpm selama 5 menit, kemudian bagian supernatan dibuang, endapan putih yang terdapat di dasar konikal adalah koloni sel. Setelah supernatan dibuang, diganti media yang baru kemudian disuspensikan perlahan. Suspensi sel disentrifuse lagi selama 5 menit, supernatan dibuang, pellet ditambah 1 mL media penumbuh dengan FBS 10%, diresuspensikan perlahan hingga homogen. Selanjutnya sel ditumbuhkan dalam beberapa *tissue culture flask* kecil (3-4 buah), diinkubasikan dalam

inkubator suhu 37 °C dengan CO<sub>2</sub> 5%. Diamati 2-3 hari, media diganti dan sel ditumbuhkan lagi hingga konfluen (sel telah memenuhi *flask*) dan jumlahnya cukup untuk penelitian.

### Uji Sitotoksik dengan Metode MTS Assay

Ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana daun *M. oleifera* diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel T47D menggunakan metode MTS *assay*. Sel T47D yang sebelumnya disimpan dalam tangki nitrogen disubkultur pada media kultur hingga siap digunakan untuk uji. Sejumlah 1x10<sup>4</sup> sel dimasukkan ke dalam sumuran pada *96 well plate* dan diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% bersuhu 37 °C selama semalam. Ekstrak uji yang sudah dilarutkan dalam *co-solvent* DMSO ditambahkan ke dalam sumuran dengan delapan seri konsentrasi yaitu: 750; 375; 187,5; 93,75; 46,87 dan 23,45 µg/mL selama 48 jam. Pada akhir inkubasi, media dan ekstrak dibuang kemudian sel dicuci dengan PBS. Pada masing-masing sumuran lalu ditambahkan 100 µL media kultur dan 10µL MTS konsenrasi 5 mg/mL. Sel diinkubasi kembali selama 4-6 jam dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% bersuhu 37 °C. Sel yang hidup akan bereaksi dengan MTS membentuk warna ungu. Reaksi MTS dihentikan dengan reagen *stopper* yaitu SDS 10% dalam HCl 0,01 N, lalu diinkubasi semalam pada suhu kamar. Serapan dibaca dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 490 nm.

### Analisis Data

Pada uji sitotoksik, hasil pembacaan absorbansi dengan ELISA *reader* dikonversikan ke dalam bentuk % sel hidup dengan cara sebagai berikut:

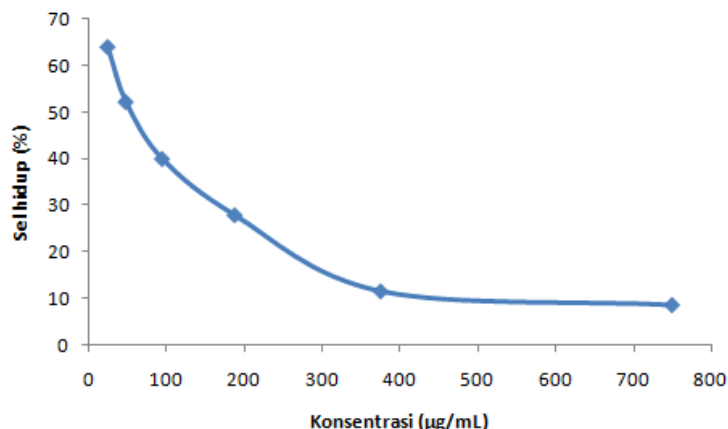
$$\% \text{ Sel hidup} = \frac{\text{Absorbansisel}}{\text{Absorbansikontrol}} \times 100\%$$

Berdasarkan data % sel hidup, dapat dihitung harga IC<sub>50</sub> dengan menggunakan persamaan regresi linier yang merupakan hubungan antara % sel hidup vs kadar ekstrak/fraksi daun *M. oleifera*. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub>, maka ekstrak tersebut semakin berpotensi dalam menghambat pertumbuhan sel T47D.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji sitotoksik ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana daun *M.oleifera* terhadap sel kanker payudara T47D memberikan hasil berupa penurunan % sel hidup seiring dengan peningkatan konsentrasi sampel. Kurva hubungan persen sel hidup T47D dengan konsentrasi ekstrak etanol daun *M. oleifera* ditunjukkan pada Gambar 1. Dari kurva tersebut dibuat persamaan regresi linier. Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah  $y = -11,733x$

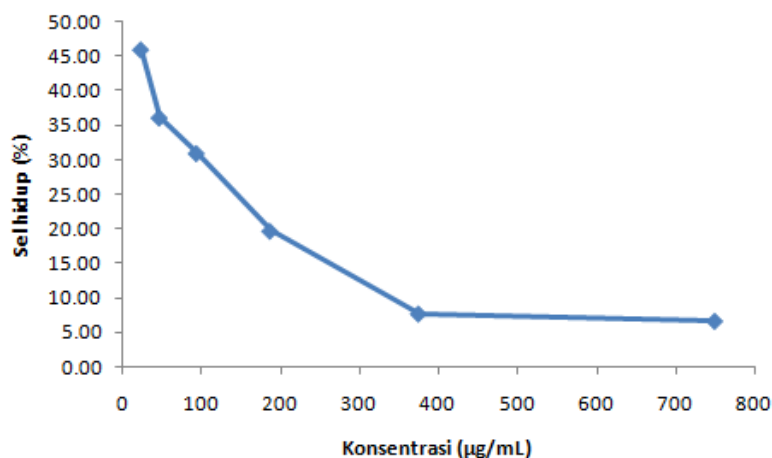
+ 75,021 dengan harga  $R^2 = 0,9845$ . Nilai  $IC_{50}$  dihitung secara intrapolasi menggunakan persamaan tersebut sehingga dihasilkan  $IC_{50}$  sebesar 51,31  $\mu\text{g/mL}$ .



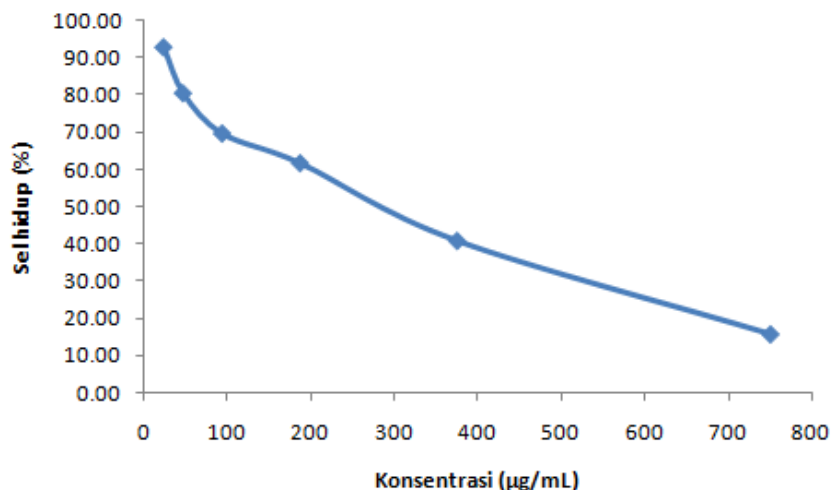
**Gambar 1.** Kurva % sel hidup T47D vs kadar ekstrak etanol daun *M. oleifera*. Ekstrak etanol daun *M. oleifera* diperlakukan terhadap sel T47D dengan konsentrasi 750; 375; 187,5; 93,75; 46,87 dan 23,45  $\mu\text{g/ml}$ .

Adapun kurva hubungan persen sel hidup T47D setelah pemberian fraksi etil asetat daun *M. oleifera* ditunjukkan pada Gambar 2. Dari kurva tersebut dibuat persamaan regresi linier dengan persamaan  $y = -7,3247x + 51,128$  dengan harga  $R^2 = 0,9428$ . Nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh sebesar 20,17  $\mu\text{g/mL}$ .

Sedangkan kurva hubungan persen sel hidup T47D setelah pemberian fraksi n-heksana daun *M. oleifera* ditunjukkan pada Gambar 3. Dari kurva tersebut dibuat persamaan regresi linier dengan persamaan  $y = -14,432x + 111,11$  dengan nilai  $R^2 = 0,9709$ . Nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh untuk fraksi n-heksana sebesar 223,67  $\mu\text{g/ml}$ .

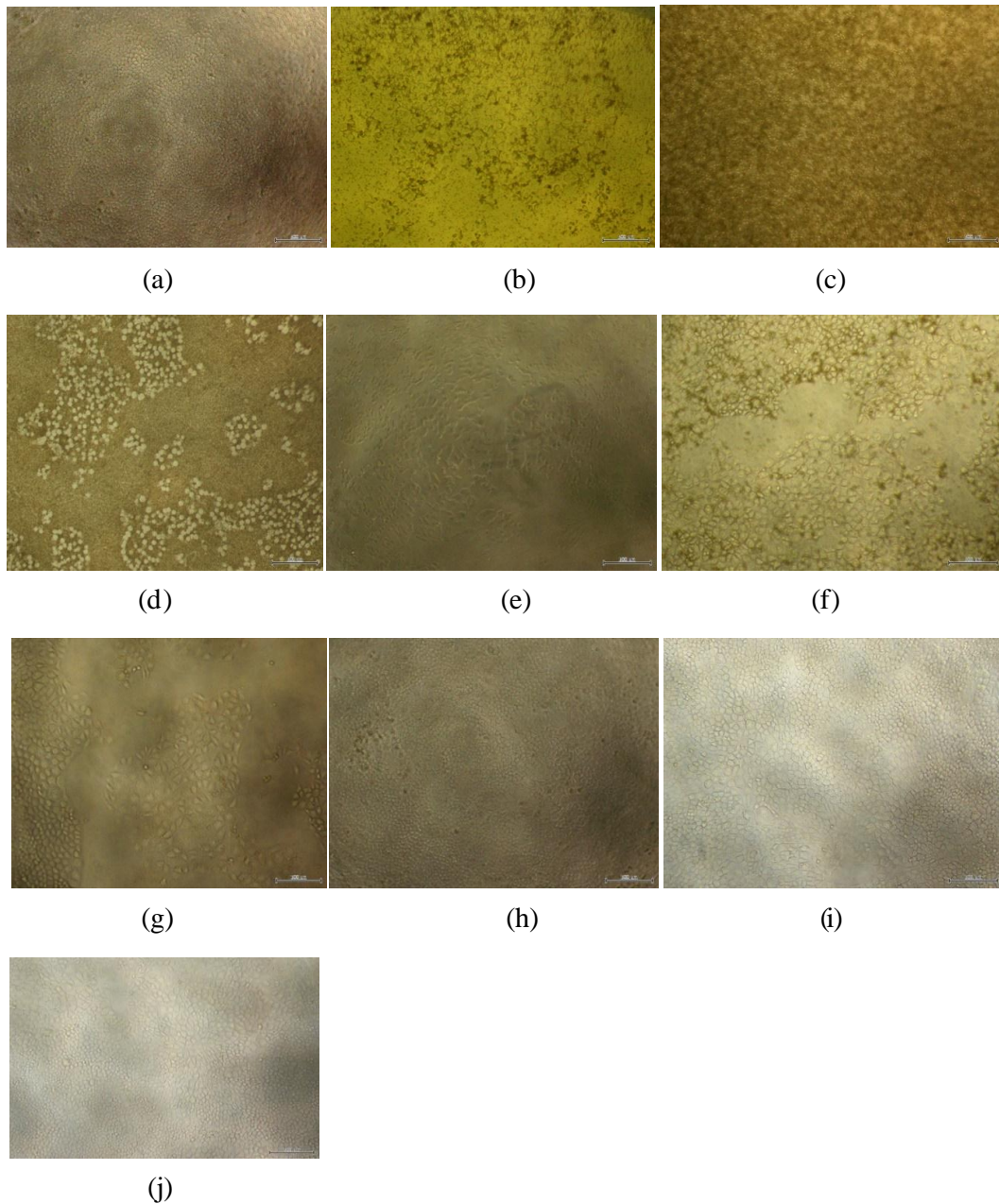


**Gambar 2.** Kurva % sel hidup T47D vs konsentrasi fraksi etil asetat daun *M. oleifera*. Fraksi etil asetat daun *M. oleifera* diperlakukan terhadap sel T47D dengan variasi konsentrasi 750; 375; 187,5; 93,75; 46,87 dan 23,45  $\mu\text{g/ml}$ .



**Gambar 3.** Kurva % sel hidup T47D vs konsentrasi fraksi n-heksana daun *M. oleifera*. Fraksi n-heksana daun *M. oleifera* diperlakukan terhadap sel T47D dengan variasi konsentrasi 750; 375; 187,5; 93,75; 46,87 dan 23,45 µg/ml.

Perubahan morfologi sel T47D setelah pemberian ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana daun *M. oleifera* diamati dengan mikroskop inverted. Pada pengamatan morfologi sel T47D yang tidak diberi perlakuan ditemukan bentuk helaian daun yang melekat pada dasar sumuran. Adanya perlakuan dengan ekstrak uji dapat menyebabkan perubahan morfologi sel T47D. Sel yang mati berbentuk bulat, tampak keruh dan mengapung. Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis, terlihat bahwa ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana daun *M. oleifera* memiliki peranan dan efek dalam kematian sel, dan seiring dengan pertambahan konsentrasi, kematian sel semakin meningkat pula (Gambar 4).



**Gambar 4.** Morfologi sel T47D setelah inkubasi 48 jam: (a) sel tanpa perlakuan; (b) sel dengan perlakuan ekstrak etanol daun *M. oleifera* konsentrasi 750  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; (c) sel dengan perlakuan fraksi n-heksana daun *M. oleifera* konsentrasi 750  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; (d) sel dengan perlakuan fraksi etil asetat daun *M. oleifera* konsentrasi 750  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; (e) sel dengan perlakuan ekstrak etanol daun *M. oleifera* konsentrasi 93  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; (f) sel dengan perlakuan fraksi n-heksana daun *M. oleifera* konsentrasi 93  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; (g) sel dengan perlakuan fraksi etil asetat daun *M. oleifera* konsentrasi 93  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; (h) sel dengan perlakuan ekstrak etanol daun *M. oleifera* konsentrasi 23  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; (i) sel dengan perlakuan fraksi n-heksana daun *M. oleifera* konsentrasi 23  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; (j) sel dengan perlakuan fraksi etil asetat daun *M. oleifera* konsentrasi 23  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .



Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan n-heksan daun *M. oleifera* bersifat sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai  $IC_{50}$  yang berbeda-beda. Berdasarkan nilai  $IC_{50}$ -nya, maka fraksi etil asetat merupakan fraksi yang paling sitotoksik.

Sejumlah penelitian terhadap sel kanker yang berbeda sudah melaporkan aktivitas sitotoksik dari ekstrak *M. oleifera*. Elsayed *et al.*, 2015, melaporkan nilai  $IC_{50}$  ekstrak *M. oleifera* terhadap sel kanker MCF-7, HeLa dan HepG2 adalah berturut 226,1; 422,8 dan 751,9  $\mu\text{g/mL}$ . Pengujian ekstrak air *M. oleifera* terhadap sel kanker paru dengan  $IC_{50}$  166,7  $\mu\text{g/mL}$  menunjukkan sifat anti proliferasif, menyebabkan kerusakan DNA dan menginduksi apoptosis (Tiloke *et al.*, 2013). Hal yang sama juga dilaporkan oleh Sreelatha *et al.* (2011), ekstrak *M. oleifera* bersifat anti proliferasif dan menginduksi apoptosis sel tumor KB manusia dengan  $IC_{50}$  sebesar 150  $\mu\text{g/mL}$ . Sementara itu pengujian ekstrak daun *M. oleifera* terhadap sel leukemia dan hepatokarsinoma menunjukkan nilai  $IC_{50}$  yang jauh lebih kecil yaitu <10  $\mu\text{g/mL}$  (Khalafalla *et al.*, 2010). Sehingga nilai  $IC_{50}$  pemberian ekstrak daun *M. oleifera* terhadap berbagai jenis sel kanker cukup jauh berbeda-beda, hal ini mungkin disebabkan oleh perbedaan genotip dan fenotip dari sel-sel kanker tersebut.

Penelitian lebih lanjut tentang mekanisme sitotoksitas fraksi etil asetat terhadap sel T47D perlu dilakukan, mengingat sel T47D merupakan sel kanker payudara dengan genotip p53 termutasi. Sehingga potensi penggunaan fraksi etil asetat daun *M. oleifera* terhadap genotip ini perlu dikaji lebih mendalam.

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana daun *M. oleifera* menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D yang ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol sebesar 51,31  $\mu\text{g/mL}$ , fraksi etil asetat sebesar 20,17  $\mu\text{g/mL}$  dan fraksi n-heksana sebesar 223,67  $\mu\text{g/mL}$ . Berdasarkan nilai  $IC_{50}$  tersebut, fraksi etil asetat dilaporkan sebagai fraksi yang memiliki aktivitas sitotoksik paling tinggi terhadap sel kanker payudara T47D.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Hibah Internal Unpad skema Riset Fundamental (No. Kontrak 855/UN6.3.1/PL/2017) atas dana yang diberikan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abcam. 2007. *T47D (Human ductal breast epithelial tumor cell line) Whole Cell Lysate (ab14899) datasheet*. <<http://www.abcam.com/index.html?datasheet=14899>> (diakses tanggal 17 Mei 2017).
- Al-Asmari, A.K., Albalawi, S.M., Athar, M.T., Khan, A.Q., Al-Shahrani, H., Islam, M., 2015. *Moringa oleifera* as an Anti-Cancer Agent against Breast and Colorectal Cancer Cell Lines, *PLoS ONE* 10(8), e0135814. doi:10.1371/journal.pone.0135814
- Awodelea, O., Oreagba, I.A., Odoma, S., da Silva, J.A.T., Osunkalu, V.O., 2012. Toxicological evaluation of the aqueous leaf extract of *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae), *Journal of Ethnopharmacology* 139, 330–336.
- Chumark, P., Khunawat, P., Sanvarinda, Y., Phornchirasilp, S., Morales, N.P., Phivthong-ngame, L., Ratanachamnong, P., Srisawatf, S., Klai-upsorn S. Pongrapeeporn, K.S., 2008. The in vitro and ex vivo antioxidant properties, hypolipidaemic and antiatherosclerotic activities of water extract of *Moringa oleifera* Lam. Leaves, *Journal of Ethnopharmacology*. doi:10.1016/j.jep.2007.12.010.
- Das, N., Sikder, K., Ghosh, S., Fromenty, B., and Dey, S., 2012. *Moringa oleifera* Lam leaf extract prevents early liver injury and restores antioxidant status in mice fed with high fed diet, *Indian Journal of Experimental Biology* 50, 404–412.
- Elsayed, E.A., Sharaf-Eldin, M.A., Wadaan, M., 2015. *In vitro* Evaluation of Cytotoxic Activities of Essential Oil from *Moringa oleifera* Seeds on HeLa, HepG2, MCF-7, CACO-2 and L929 Cell Lines, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 16 (11), 4671–4675.
- Emmanuel, S.A., Olajide, O.O., Abubakar, S., Idowu, I.D., Orishadipe, A.T., and Thomas, S.A., 2014. Phytochemical and Antimicrobial Studies of Methanol, Ethyl acetate, and Aqueous Extracts of *Moringa oleifera* Seeds, *American Journal of Ethnomedicine* 1 (5), 346–354.
- Georgewill, O.A., Georgewill, U.O., Nwankwoala, R.N.P., 2010. Anti-inflammatory Effect of *Moringa oleifera* Lam. Extract in Rat, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 133–135.
- Gupta, A., Gautam, M.K., Singh, R.K., Kumar, M.V., Rao, C.V., Goel, R.K., and Anupurba, S., 2010. Immunomodulatory Effect of *Moringa oleifera* Lam. Extract on Cyclophosphamide Induced Toxicity in Mice, *Indian Journal of Experimental Biology* 48, 1157–1160.
- Jung, I.L., 2014. Soluble Extract from *Moringa oleifera* Leaves with a New Anticancer Activity. *PLoS ONE* 9(4), e95492. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095492>.
- Kalappurayil, T.M., Joseph, B.P. 2017. A Review of Pharmacognostical Studies on *Moringa oleifera* Lam. Flowers, *Pharmacognosy Journal* 9(1), 1–7.
- Khalafalla, M.M., Abdellatef, E., Dafalla, H.M., Nassrallah, A.A., Aboul-Enein, K.M., Lightfoot, D.A., El-Deeb, F.E., and El-Shemy, H.A., 2010. Active Principle from *Moringa oleifera* Lam. Leaves Effective against Two Leukemias and a Hepatocarcinoma, *African Journal of Biotechnology* 9(49), 8467–8471.
- Leone, A., Spada, A., Battezzati, A., Schiraldi, A., Aristil, J., and Bertoli, S., 2015. Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of

*Moringa oleifera* Leaves: An Overview, *International Journal of Molecular Sciences* 16, 12791–12835. doi:10.3390/ijms160612791.

- Mathur, M., Yadav, S., Katariya, P.K., Kamal, R. 2014. In vitro propagation and biosynthesis of steroidal saponin from various morphogenetic stages of *Moringa oleifera* Lam., and their antioxidant potential, *Acta Physiologiae Plantarum* 36 (7), 1749–1762.
- Mbikay, M., 2012. Therapeutic potential of *Moringa oleifera* Leaves in Chronic Hyperglycemia and Dyslipidemia: A Review, *Frontiers in Pharmacology*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2012.00024>.
- Patel, S., Thakur, A.S., Chandy, A., and Manigauha, A., 2010. *Moringa Oleifera*: A Review of There Medicinal and Economical Importance to the Health and Nation, *Drug Invention Today* 2(7), 339–342.
- Schafer, J.M., Lee, E.S., O'Regan, R.M., Yao, K. & Jordan, V.C. 2000. Rapid Development of Tamoxifen-Stimulated Mutant p53 Breast Tumors (T47D) in Athymic Mice. *Clinical Cancer Research* 6(11), 4373–4380.
- Sikder, K., Sinha, M., Das, N., Das, D.K.R., Datta, S., and Dey, S., 2013. *Moringa oleifera* Leaf Extract Prevents in Vitro Oxidative DNA Damage, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 6(2), 159–163.
- Sreelatha, S., Jeyachitra, A., and Padma, P.R., 2011. Antiproliferation and Induction of Apoptosis by *Moringa oleifera* Leaf Extract on Human Cancer Cells, *Food and Chemical Toxicology* 49, 1270–1275.
- Sudha P., Asdaq, S.M.B., Dhamingi, S.S., and Chandrakala, G.K., 2010. Immunomodulatory Activity of Methanolic Leaf Extract of *Moringa oleifera* in Animals, *Indian Journal of Physiology and Pharmacology* 54 (2), 133–140.
- Sultana, B., Anwar, F., and Ashraf, M., 2009. Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts, *Molecules* 14(6), 2167-2180. doi:10.3390/molecules14062167.
- Tiloke, C., Phulukdaree, A., and Chuturgoon, A.A., 2013. The Antiproliferative Effect of *Moringa oleifera* Crude Aqueous Leaf Extract on Cancerous Human Alveolar Epithelial Cells, *BMC Complementary and Alternative Medicine* 13, 226.