

Penghambatan Proliferasi Sel Kanker Payudara T47D oleh Ekstrak Air Daun Kelor (*Moringa oleifera*) dan Doxorubicin dengan Metode MTT Assay

Inhibition of Proliferation T47D Breast Cancer Cell by Water Extract of Moringa (*Moringa oleifera*) Leaf and Doxorubicin using The MTT Assay Method

Laili Nailul Muna^{(a)*}, Fradhika Maulidina^(b)

^(a) ^(b) Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan, Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga

Article info:

Received Date : 03/10/2022

Revised Date : 06/10/2022

Accepted Date : 09/10/2022

Keywords:

Cytotoxic

Moringa Leaf Water Extract

T47D

Doxorubicin

Corresponding Authors:

Laili Nailul Muna, Program Studi Pendidikan Kimia, Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan, Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga, Jl. Laksda Adisucipto, Ngentak, Caturtunggal, Kec. Depok, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta

Email: lailinailulmuna@gmail.com

Abstrak:

Kanker merupakan jenis penyakit dengan prevalensi tertinggi yang dapat menyebabkan kematian, salah satunya kanker payudara. Pengobatan kemoterapi saat ini yang dilakukan banyak menimbulkan risiko terhadap penderitanya, misalnya menimbulkan resistensi, efek samping, daya efikasi yang semakin menurun. Model pengobatan yang efektif yakni mengombinasikan agen kemoterapi dengan agen kemopreventif sebagai komplementer, sehingga dapat meminimalkan efek samping. Tujuan pada penelitian ini yakni mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak air daun kelor dengan kontrol positif doxorubicin terhadap sel kanker payudara T47D. Metode yang digunakan pada penelitian ini dengan MTT assay dengan hasil data berupa IC₅₀. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan IC₅₀ lebih dari 1000 µg/ml, sedangkan doxorubicin memberikan nilai IC₅₀ sebesar 8,17 µg/ml. Berdasarkan nilai IC₅₀ tersebut ekstrak air daun kelor kurang poten dalam memberikan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D, namun memberikan perubahan morfologi sel.

Abstract

Cancer is the type of disease with the highest prevalence that can cause death. The current chemotherapy treatment that is carried out poses a lot of risks to the sufferer, for example, causing resistance, side effects, and decreasing efficacy. An effective treatment model combines chemotherapy agents with complementary chemopreventive agents to minimize side effects. This study aimed to determine the cytotoxic activity of Moringa leaf aqueous extract with positive control of doxorubicin against T47D breast cancer cells. The method used in this study was using the MTT assay with data results in the form of IC₅₀. This study showed cytotoxic activity against T47D breast cancer cells with an IC₅₀ of more than 1000 g/ml, while doxorubicin gave an IC₅₀ value of 8.17 g/ml. Based on the IC₅₀ values, the aqueous extract of Moringa leaves are less potent in providing cytotoxic activity against T47D breast cancer cells but gave changes in cell morphology.

PENDAHULUAN

Kanker merupakan jenis penyakit yang ditandai dengan adanya proliferasi sel yang abnormal serta dapat menyerang dan berpindah antar sel dan jaringan di dalam tubuh (Ningrum *and* Rahayu, 2021). Menurut WHO, kanker merupakan jenis penyakit dengan prevalensi tertinggi yang dapat menyebabkan kematian bagi penderitanya. Salah satu jenis kanker yang mempunyai prevalensi tinggi di Indonesia yakni kanker payudara yang mampu menyerang laki-laki maupun wanita (Komite Penanggulangan Kanker Nasional, 2015). Kanker payudara disebabkan karena terjadinya proliferasi sel secara abnormal sehingga diperlukan senyawa yang mampu mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara. Faktor risiko yang berkaitan dengan peningkatan kejadian kanker payudara antara lain, jenis kelamin wanita, usia lebih dari 50 tahun, riwayat keluarga yang mempunyai riwayat kanker, wanita yang tidak memiliki anak dan tidak menyusui, menstruasi dini (kurang dari 12 tahun), hormonal, obesitas, riwayat dalam konsumsi alkohol, paparan lingkungan (American Cancer Society, 2020).

Peningkatan angka kematian akibat kanker payudara semakin meningkat, sehingga menyebabkan perkembangan jenis pengobatan banyak dilakukan untuk mencegah kematian (Marfianti, 2021). Pengobatan kemoterapi saat ini yang dilakukan banyak menimbulkan risiko terhadap penderitanya, misalnya menimbulkan resistensi, efek samping, daya efikasi yang semakin menurun terhadap pasien kanker stadium lanjut (Ambarwati *and* Wardani, 2014). Saat ini diperlukan pengobatan yang efektif sehingga mampu mengurangi risiko dari penggunaan agen kemoterapi. Model pengobatan yang efektif yakni mengombinasikan agen kemoterapi dengan agen kemopreventif sebagai komplementer, sehingga dapat meminimalkan efek samping yang ditimbulkan dari agen kemoterapi (Jenie *and* Meiyanto, 2009). Kemoprevensi merupakan suatu substansi yang mampu menghambat terjadinya proliferasi sel kanker yang abnormal dan membalikkan tahapan pada proses karsinogenesis. Salah satu pendekatan yang dilakukan untuk menemukan senyawa kemopreventif yakni eksplorasi bahan alam terkait kandungan senyawa yang mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara. Salah satu jenis tanaman yang mempunyai aktivitas sitotoksik yakni daun kelor (*Moringa oleifera*) (Kusmardika, 2020).

Daun kelor, yang merupakan tanaman yang banyak dijumpai di Indonesia serta banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai sayuran serta lalapan, ternyata mempunyai efek sitotoksik dan modulasi siklus sel. Tanaman kelor juga mempunyai khasiat dalam bidang kesehatan, antara lain sebagai antibakteri, antifungi,

antioksidan, antikanker, antitumor, dan antiulser (Yusuf *and* Tungadi, 2022). Kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada daun kelor secara umum antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, tanin (Muna, 2022). Daun kelor banyak mengandung senyawa polifenol yang mempunyai peran dalam proses antioksidan, selain itu jenis kandungan flavonoidnya yang terkandung yakni lutein, serta jenis alkaloidnya yakni moringinin (Prasanth *et al.*, 2011). Flavonoid yang terkandung dalam daun kelor mampu menghambat proliferasi sel kanker melalui induksi apoptosis dan penghambatan terhadap siklus sel.

Penelitian yang dilakukan oleh Gaffar, Apriani *and* Herlina (2018) menjelaskan bahwa fraksi *n*-heksana daun kelor mempunyai aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara T47D serta dapat menginduksi terjadi apoptosis dan siklus sel dengan nilai IC_{50} fraksi *n*-heksana sebesar 235,58 μ g/mL. Hasil fraksi etil asetat juga mempunyai aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara T47D dengan nilai IC_{50} sebesar 243,58 μ g/mL (Gaffar, Apriani *and* Herlina, 2018). Selain mempunyai aktivitas sitotoksik, ekstrak etanolik daun kelor juga mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} 4,289 mg/ml (Susanty *et al.*, 2019). Kandungan metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas antioksidan yakni golongan senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun kelor. Penelitian yang dilakukan oleh Kusmardika (2020) menjelaskan bahwa daun kelor mempunyai kandungan antioksidan dan senyawa bioaktif tinggi yang mampu menghambat stress oksidatif dan kanker. Kombinasi dari banyak kandungan antioksidan pada daun kelor menyebabkan lebih efektif dan sinergis daripada tunggal dengan mekanisme peningkatan *cascade* antioksidan tunggal (Berawi, Wahyudo *and* Pratama, 2019). Selain senyawa antioksidan, ekstrak air daun kelor juga mengandung senyawa isothiocyanate yang mempunyai aktivitas antiangiogenesis, yakni dengan menghambat aktivitas transduksi sinyal HIF-1 dan menurunkan ekspresi VEGF (Hartono, Sulisetyawati *and* Jularso, 2019). Kandungan asam amino yang mempunyai mekanisme dalam peningkatan sistem imun (Paikra, Dhongade *and* Gidwani, 2017). Pengembangan penelitian ini melakukan uji sitotoksik ekstrak air daun kelor serta doxorubicin sebagai kontrol positif terhadap sel kanker payudara T47D yang belum pernah dilakukan pada penelitian sebelumnya. Selain itu, ekstrak air daun kelor diekstraksi menggunakan maserasi bertingkat untuk memaksimalkan jumlah kandungan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *autoclave* (Hirayama HV-25 020585175, Hirayama Manufacturing Co., Jepang), nitrogen cair, *Labconco purifier class II biosafety cabinet* (Delta Series, Labconco Corporation, Missouri, USA), inkubator CO₂ (Heraeus), *inverted microscope* (Nikon, Eclipse, TE 2000-U), *hemocytometer* (Nebauer improved 0,100 mm Tiefe Depth Profondeur 0,0025 mm², Germany), *Cell counter*, mikropipet (Pipetman® neo Gilson, France), kamera digital, *centrifuge* (Sigma 203, B.Braun Biotech International), neraca digital (Mettler Toledo, AG204 DeltaRange®), stirrer (Nuova, Thermolyne), mixer (Maxi Mix II, Thermolyne type 37600 mixer, Iowa, USA), oven (Memmert), ELISA reader (Bio-Rad microplate reader Benchmark serial no. 11565, Jepang), peralatan *disposables* meliputi *Tissue Culture Dish* dengan diameter 10 cm (Iwaki), conical tube 15 ml (Iwaki), *yellow tip* (Brand), *blue tip* (Brand), Eppendorf steril (plastic brand), 24-well *plate* dan 96-well *plate* (Iwaki), 6-well *plate* (SPL lifescience) dan *cover slip* diameter 13 mm (Thermanox®).

Bahan

Bahan uji diperoleh dari Merapi Farma Kalasan, Yogyakarta. Ekstrak air daun kelor dilarutkan dengan Dimetilsulfoksida (DMSO) dengan konsentrasi maksimal DMSO 1% dalam medium kultur. Agen kemoterapi yang digunakan adalah doxorubicin (Sigma).

Bahan Kultur Sel Kanker Payudara T47D

Sel kanker payudara yang digunakan adalah sel kanker payudara T47D yang merupakan koleksi Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada. Kultur sel T47D ditumbuhkan pada media kultur DMEM *high glucose (Dulbecco's Modified Eagle Media)* (Gibco) yang mengandung *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10% (v/v) (FBS Qualified, Gibco, Invitrogen USA), penisilin-streptomisin 1% (v/v) (Gibco, Invitrogen USA dan Fungizone 0,5% v/v (Gibco). Pemanenan sel dari *Tissue Culture Dish* (IWAKI brand) menggunakan tripsin-EDTA 0,25% (Gibco, Invitrogen Canada).

Bahan Uji Sitotoksitas

Uji sitotoksitas tunggal dilakukan dengan menggunakan metode MTT. Reagen yang digunakan untuk uji sitotoksitas menggunakan metode MTT adalah 3-(4,5-dimetilthiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida (MTT) (Sigma Aldrich, USA). Larutan induk MTT 5 mg/mL dibuat dengan melarutkan MTT dalam *phosphat buffer saline* (PBS) 1 x pH 7,4. Pereaksi kerja dibuat dengan mengencerkan pereaksi stok 10 kali menggunakan media kultur. *Phosphat buffer*

saline (PBS) 1 x pH 7,4 dibuat dengan melarutkan 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 0,2 g KH₂PO₄ dan 1,15 g Na₂HPO₄, dalam 1 liter akuabides. Pereaksi stopper, mengandung 10% (b/v) *Sodium Dodecyl Sulphate* (SDS) (Merck-Schuchardt, Germany) dalam 0,01 N HCl (Merck, Darmstadt, Germany) yang digunakan untuk menghentikan reaksi MTT dan melarutkan formazan.

Prosedur Preparasi Bahan Uji

Bahan uji berupa serbuk daun kelor dipreparasi dengan menggunakan metode maserasi bertingkat dengan pelarut air. Maserat yang diperoleh dari simplisia masing-masing dipekatkan hingga didapatkan ekstrak kental.

Prosedur Uji Sitotoksik MTT Assay

Pengamatan viabilitas sel dilakukan dengan *MTT assay*. Kultur sel yang telah konfluen dipanen kemudian didistribusikan ke dalam sumuran *96-well microplate* dengan jumlah 10 x 10³ sel/sumuran. Sel tersebut diinkubasi selama 24 jam di dalam inkubator CO₂ agar dapat beradaptasi dan siap untuk perlakuan. Larutan uji dengan seri konsentrasi yang ditentukan dimasukkan ke dalam sumuran (*triplo*) setelah sel dicuci dengan PBS. Sel diinkubasi kembali selama 24 jam di dalam inkubator CO₂. Setelah inkubasi, larutan uji dibuang dan ditambahkan pereaksi MTT sejumlah 100 µl/sumuran. Pereaksi *stopper* ditambahkan setelah 3 jam inkubasi dengan MTT. Sel diinkubasi semalam pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Pada akhir inkubasi, *plate* digoyang dengan *horizontal shaker* selama 10 menit kemudian dibaca dengan *ELISA reader* pada panjang gelombang 595 nm (Bahuguna *et al.*, 2017).

Analisa Data

Pada metode uji sitotoksitas menggunakan metode MTT, penghitungan % sel hidup akibat perlakuan adalah dengan membandingkan antara selisih absorbansi larutan dari kontrol sel dengan absorbansi larutan dari sel yang mendapatkan perlakuan terhadap absorbansi larutan dari kontrol sel itu sendiri dikalikan 100%. Hasil pembacaan absorbansi pada sel hidup dikonversi dalam satuan % sel hidup dengan cara:

$$\% \text{ sel hidup} =$$

$$\frac{\text{Abs Sel dengan perlakuan} - \text{Abs Kontrol media}}{\text{Abs Kontrol sel} - \text{Abs Kontrol Media}} \times 100\%$$

Untuk menentukan ada atau tidaknya efek sitotoksik dilakukan analisis regresi linier antara konsentrasi senyawa uji dengan % viabilitas dengan *Microsoft excel* untuk memperoleh nilai IC₅₀. Semakin kecil konsentrasi IC₅₀ senyawa uji maka semakin poten senyawa tersebut terhadap efek sitotoksiknya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengolahan sampel

Sebanyak 500 gram sampel daun kelor diekstraksi menggunakan metode maserasi bertingkat untuk meningkatkan jumlah zat aktif yang dapat terlarut ke dalam pelarut *aquadest*. Pelarut *aquadest* yang digunakan untuk maserasi sebanyak 2,5 liter, kemudian sampel daun kelor dilakukan perendaman selama 2 hari. Selanjutnya, dilakukan penyaringan dan sisa maserat dilakukan perendaman kembali dengan 1 liter *aquadest*. Hasil maserat yang terkumpul dilakukan penyaringan terlebih dahulu untuk menghilangkan pengotor yang masuk ke dalam pelarut. Selanjutnya, maserat dilakukan pemekatan dengan *rotary evaporator* sampai terbentuk ekstrak cair. Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan pemekatan pada suhu 60°C sampai didapatkan ekstrak kental. Hasil ekstrak yang diperoleh sebanyak 25,726 gram, sehingga didapatkan rendemen ekstrak sebesar 5,15%.

Aktivitas Sitotoksik Tunggal Ekstrak Air Daun Kelor

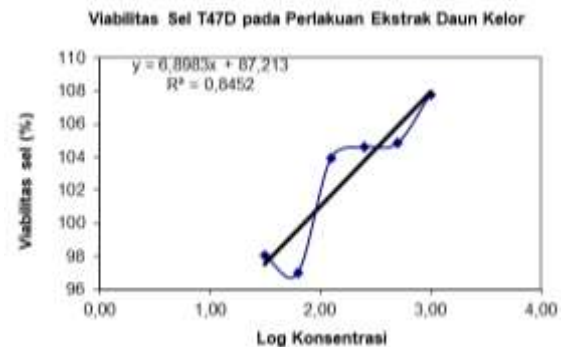
Uji sitotoksik dilakukan menggunakan metode MTT *assay*. Prinsip dari penggunaan metode ini yakni pengukuran secara kolorimetri terhadap pembentukan garam formazan yang tidak larut dalam air dan berwarna ungu yang berasal dari reaksi reduksi tetrazolium yang larut air dengan menghasilkan larutan berwarna kuning (Ghasemi *et al.*, 2021). Pada uji sitotoksik ekstrak air daun kelor menggunakan beberapa tingkatan konsentrasi yakni 31,25; 62,5; 125; 250; 500 dan 1000 µg/ml. Pada penelitian ini, pengujian ekstrak air daun kelor dengan konsentrasi senyawa uji yang semakin tinggi tidak memberikan pengaruh terhadap % viabilitas sel, sehingga didapatkan IC_{50} lebih dari 1000µg/ml. Suatu senyawa jika mempunyai IC_{50} lebih dari 1000µg/ml kurang poten apabila dikembangkan menjadi agen sitotoksik (Machana *et al.*, 2011). Hasil pengamatan uji sitotoksik ekstrak air daun kelor dapat dilihat pada tabel 1 serta kurva persamaan regresi linier pada gambar 1.

Kandungan senyawa yang terkandung dalam daun kelor yang mempunyai peran sebagai antikanker yakni senyawa antioksidan yang mampu menghambat terjadinya stress oksidatif sehingga menghambat pembentukan sel kanker, selain itu juga terdapat *potassium* yang mampu mendegradasi sel kanker (Bhattacharya *et al.*, 2018). Senyawa beta karoten yang terdapat dalam daun kelor juga mempunyai aktivitas sebagai antioksidan sehingga dapat meningkatkan mekanisme *cascade* antioksidan (Berawi, Wahyudo and Pratama, 2019). Kandungan isothyocyanate mempunyai aktivitas sebagai penghambat terjadinya proses angiogenesis dan menurunkan ekspresi VEGF (Hartono, Sulisetyawati and Juliarso, 2019). Kandungan

yang terdapat dalam ekstrak air daun kelor masih terlalu banyak sehingga perlu dilakukan isolasi kandungan senyawa aktif sehingga didapatkan senyawa uji yang selektif (Putra, Dharmayudha and Sudimartini, 2016). Kandungan flavonoid yang terdapat dalam ekstrak air daun kelor mempunyai mekanisme penghambatan proliferasi terhadap sel kanker payudara dengan cara menginduksi terjadinya apoptosis dan siklus sel (Yusuf and Tungadi, 2022).

Tabel 1. Hasil Uji Sitotoksik Ekstrak Air Daun Kelor

Kon-sentrasi µg/ml	viabilitas sel (%)				
	v1	v2	v3	rata-rata	SD
1000	109,11	105,63	108,65	107,80	1,89
500	101,32	105,70	107,49	104,84	3,17
250	99,99	106,91	106,96	104,62	4,01
125	100,74	106,40	104,68	103,94	2,90
62,5	95,69	98,20	97,19	97,03	1,27
31,25	103,06	94,91	96,27	98,08	4,37



Gambar 1. Persamaan regresi linier Viabilitas Sel (Y) dan Log Konsentrasi (X)

Berdasarkan pengamatan secara mikroskopik, pada uji sitotoksik daun kelor terjadi perubahan morfologi sel T47D serta perubahan kerapatan sel. Dengan demikian, semakin tinggi konsentrasi ekstrak air daun kelor yang digunakan maka akan mengubah morfologi sel (sel tampak membulat), sel terlihat mengambang, perubahan kerapatan sel dan tidak menempel antar sel. Morfologi sel T47D setelah diberi perlakuan ekstrak air daun kelor dapat dilihat pada gambar 2.

Aktivitas Sitotoksik Tunggal Doxorubicin

Pada uji sitotoksik doxorubicin digunakan beberapa tingkatan konsentrasi yakni 0,625; 1,25; 2,5; 5; 10 dan 20 µg/ml. Doxorubicin pada penelitian ini digunakan sebagai kontrol positif, sehingga semakin tinggi konsentrasi yang digunakan akan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap penurunan % viabilitas sel. Pada pengujian ini didapatkan IC_{50} doxorubicin pada pengujian sitotoksik T47D sebesar 8,17 µg/ml. Suatu senyawa uji mempunyai efek sitotoksik yang bagus apabila IC_{50} kurang dari 100 µg/ml (Machana *et al.*, 2011). Hasil pengamatan

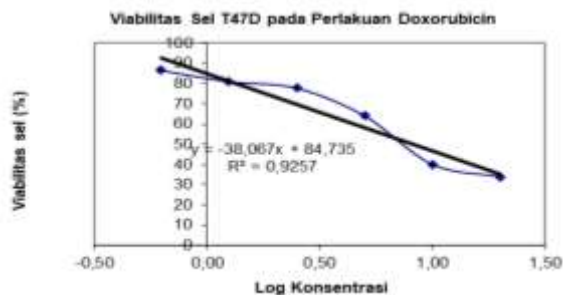
uji sitotoksik doxorubicin dapat dilihat pada tabel 2 serta kurva persamaan regresi linier pada gambar 3.



Gambar 2. Morfologi sel kanker payudara T47D setelah inkubasi 24 jam. Kontrol sel T47D (A), Ekstrak Air Daun Kelor konsentrasi 250 µg/ml (B), Ekstrak Air Daun Kelor konsentrasi 500 µg/ml (C)

Tabel 2. Hasil Uji Sitotoksik Doxorubicin

Kon-sentrasi µg/ml	viabilitas sel (%)				
	v1	v2	v3	rata-rata	SD
1000	109,11	105,63	108,65	107,80	1,89
500	101,32	105,70	107,49	104,84	3,17
250	99,99	106,91	106,96	104,62	4,01
125	100,74	106,40	104,68	103,94	2,90
62,5	95,69	98,20	97,19	97,03	1,27
31,25	103,06	94,91	96,27	98,08	4,37



Gambar 3. Persamaan regresi linier Viabilitas Sel (Y) dan Log Konsentrasi (X)

Doxorubicin merupakan antibiotik golongan tetrasiklin yang digunakan untuk pengobatan pada berbagai macam kanker, salah satunya kanker payudara (Donowati, Pramodhawardhani and Lestari, 2013).

DAFTAR PUSTAKA

American Cancer Society, 2020, Breast cancer risk and prevention breast cancer risk factors you cannot change, www.cancer.org, accessed on July 2022.

Bahuguna, A., Khan, I., Bajpai, V.K., Kang, S.C., 2017, MTT assay to evaluate the cytotoxic potential of a drug, *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 12(2):115-118.

Berawi, K.N., Wahyudo, R., Pratama, A.A., 2019, Potensi terapi *Moringa oleifera* (Kelor) pada penyakit degeneratif, *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*, 3(1):210-214.

Bhattacharya, A., Tiwari, P., Sahu, P.K., Kumar, S., 2018, Review of the phytochemical and pharmacological characteristics of *Moringa oleifera*, *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 10(4):181-191.

Mekanisme aksi doxorubicin yakni berinterkalasi dengan DNA serta menghambat sintesis DNA dan RNA dengan mengacau *template* dan halangan sterik. Selain itu, doxorubicin berinteraksi dengan topoisomerase II dengan membentuk pemotong DNA (Fita *et al.*, 2015). Morfologi sel T47D setelah diberi perlakuan doxorubicin dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Morfologi sel kanker payudara T47D setelah inkubasi 24 jam. Doxorubicin konsentrasi 20 µg/ml (A), Doxorubicin konsentrasi 5 µg/ml (B), Doxorubicin konsentrasi 1,25 µg/ml (C)

Penelitian lebih lanjut mengenai hasil isolasi ekstrak air daun kelor perlu dilakukan agar didapatkan senyawa aktif yang murni sehingga dapat dikembangkan senyawa yang lebih poten dan selektif pada efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D.

KESIMPULAN

Ekstrak air daun kelor menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan IC_{50} lebih dari 1000 µg/ml, sedangkan doxorubicin memberikan nilai IC_{50} sebesar 8,17 µg/ml. Berdasarkan nilai IC_{50} tersebut ekstrak air daun kelor kurang poten dalam memberikan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D, namun memberikan perubahan morfologi sel. Oleh karenanya, perlu dilakukan pemurnian atau isolasi kandungan senyawa aktif ekstrak air daun kelor.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada UIN Sunan Kalijaga yang memberikan kontribusi penelitian ini melalui Hibah BOPTN sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik dan lancar.

Donowati, M.W., Pramodhawardhani, A.Y.N., Lestari, I., 2013, Penggunaan obat sitostatika pada anak-anak yang melakukan kemoterapi di RSUP Dr. Sardjito Yogyakarta tahun 2010, *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 10(1): 14-21.

Putra, I.W.D.P., Dharmayudha, A.A.G.O., Sudimartini, L.M., 2016, Identifikasi senyawa kimia ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) di Bali, *Indonesia Medicus Veterinus*, 5(5):464-473.

Fita, F.E., Listianingsih, D., Hapsari, Y.A., Pradana, R.G., Safitri, E.I., Arifin, I., 2015, Efek sitotoksik kombinasi ekstrak metanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dan doksirubisin terhadap sel kanker payudara T47D secara in-vitro dan in-silico, *Prosiding Seminar Nasional Peluang Herbal Sebagai Alternatif Medicine*, 3: 49-58.

Gaffar, S., Apriani, R., Herlina, T., 2018, Aktivitas sitotoksik ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan *n*-heksana daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap sel kanker payudara T47D, *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*, 14(2): 302.

Ghasemi, M., Turnbull, T., Sebastian, S., Kempson, I., 2021, The MTT assay: utility, limitations, pitfalls, and interpretation in bulk and single-cell analysis, *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23): 12827.

Hartono, D.R.N., Sulisetyawati, T.I.B., Jularso, E., 2019, The potential effect of *Moringa oleifera* leaves extract on vascular endothelial growth factor expression in Wistar rat oral cancer cells, *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 52(2): 71–75.

Jenie, R.I., Meiyanto, E., 2009, Aplikasi ko-kemoterapi fraksi etil asetat ekstrak etanolik daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) pada sel kanker payudara MCF-7, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, VI(3): 132–141.

Komite Penanggulangan Kanker Nasional, 2015, *Panduan Nasional Penanganan Kanker Payudara*, Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Kusmardika, D.A., 2020, Potensi aktivitas antioksidan daun kelor (*Moringa oleifera*) dalam pencegahan kanker, *Journal of Health Science and Physiotherapy*, 2(1): 46–50.

Machana, S., Weerapreeyakul, N., Barusrux, S., Nonpunya, A., Sripanidkulchai, B., Thitimetharoch, T., 2011, Cytotoxic and apoptotic effects of six herbal plants against the human hepatocarcinoma (HepG2) cell line, *Chinese Medicine*, 6: 39.

Marfianti, E., 2021, Peningkatan pengetahuan kanker payudara dan ketrampilan periksa payudara sendiri (SADARI) untuk deteksi dini kanker payudara di Semutan Jatimulyo Dlingo, *Jurnal Abdimas Madani dan Lestari*, 3(1): 25–31.

Muna, L.N., 2022, Aktivitas antioksidan ekstrak air daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan metode DPPH serta analisis kualitatif kandungan metabolit sekunder, *Sasambo Journal of Pharmacy*, 3(2): 91-96.

Ningrum, M.P., Rahayu, R.S.R., 2021, Determinan kejadian kanker payudara pada wanita usia subur (15-49 Tahun), *Indonesian Journal of Public Health and Nutrition*, 1(3): 362–370.

Paikra, B.K., Dhongade, H.K.J., Gidwani, B., 2017, Phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* Lam., *Journal of Pharmacopuncture*, 20(3): 194–200.

Prasanth, D.S.N.B.K., Sreedhara, C.S., Deepak, M., Sangli, V.K., Gururaj, V.M., 2011, Comparative study on estimation of polyphenols in different extracts of *Moringa oleifera* leaves and fruits with respect to tannic acid, *Journal of Pharmacy Research*, 4(9): 3224–3225.

Susanty, Ridnugrah, N.A., Chaerrudin, A., Yudistirani, S.A., 2019, Aktivitas antioksidan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) sebagai zat tambahan pembuatan moisturizer, *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi*, Fakultas Teknik Universitas Muhammadiyah, Jakarta.

Ambarwati, W.N., Wardani, E.K., 2014, Efek samping kemoterapi secara fisik pasien penderita kanker servik, *Prosiding Seminar Nasional & Internasional Universitas Muhammadiyah Semarang*, 2(2): 97–106.

Yusuf, M.S., Tungadi, R., 2022, Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) sebagai antikanker payudara : narrative review, *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(1): 237–243.