

Toksisitas kombinasi ekstrak etanol 70% daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) dan kulit jengkol (*Archidendron jiringa* (Jack) I.C.Nielsen) dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test*

Harry Noviardi¹, Sitaresmi Yuningtyas¹, Diah Ajeng Tri¹, Ahmad Ben¹, Padmono Citreksoko¹

¹Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor, Indonesia

*Email korespondensi: harry.noviardi@gmail.com

Diterima: 14 Mei 2019 ; direvisi: 22 Mei 2019; dipublish: 30 Juni 2019

Abstrak

Latar Belakang: Daun Petai cina dan kulit jengkol mengandung senyawa bahan alam seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid. Senyawa bahan alam tersebut diduga berpotensi sebagai antikanker. Uji toksisitas digunakan untuk mendeteksi potensi senyawa antikanker. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan nilai toksisitas dari kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol.

Metode: Proses ekstraksi menggunakan perbandingan bobot ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol yang digunakan secara berturut-turut 1:1, 1:3, 1:5, 1:7, dan 1:9. Metode toksisitas yang digunakan adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dengan hewan uji *Artemia salina* L. Parameter yang diukur adalah nilai *lethal concentration* (LC₅₀).

Hasil: Nilai LC₅₀ yang diperoleh dari kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol 1:1, 1:3, 1:5, 1:7 dan 1:9 secara berturut-turut sebesar 85.27, 30.41, 21.76, 14.06 & 1.358 ppm. Hasil penelitian ini menunjukkan semua kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol termasuk dalam kategori sangat toksik.

Kesimpulan: Kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol memberikan efek sangat toksik yang diduga berpotensi sebagai antikanker.

Kata Kunci: *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), daun petai cina, kulit jengkol, LC₅₀, toksisitas.

Abstract

Background: Leaves of petai cina and jengkol rind are containing natural compounds such as alkaloids, flavonoids, saponins, tannins and triterpenoids. These natural compounds are thought to have the potential as anticancer agents. Toxicity tests are used to detect potential anticancer compounds. The purpose of this study was to determine the toxicity value of a combination of leaves petai cina and jengkol rind.

Method: The extraction process used leaves petai cina and jengkol rind, which combination of mass 1:1, 1:3, 1:5, 1:7, and 1:9 respectively. The toxicity method used was *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) with test animals *Artemia salina* L. The measured parameters were the value of *lethal concentration* (LC₅₀).

Results: LC₅₀ values obtained from a combination of leaves petai cina and jengkol rind 1:1, 1:3, 1:5, 1:7 and 1:9 were 85.27, 30.41, 21.76, 14.06 & 1,358 ppm respectively. The results of this study showed that all combinations of leaves petai cina and jengkol rind were included in the category of very toxic.

Conclusion: All combinations of leaves petai cina and jengkol rind have a very toxic effect which is thought to have potential as anticancer.

Key words: BSLT, jengkol rind, LC₅₀, leaves of petai cina, toxicity.

PENDAHULUAN

Kanker merupakan suatu kondisi dimana sel telah kehilangan pengendalian dan mengalami pertumbuhan yang tidak normal,

cepat dan tidak terkendali¹. Kanker dapat menyebar ke dalam jaringan melalui pembuluh darah maupun limpa pada kondisi ganas atau metastase². Berdasarkan statistika

pada tahun 2012, jumlah kasus kanker pada negara dengan penghasilan menengah ke bawah, terjadi sebanyak 57% kasus dengan tingkat angka kematian sebesar 65%³. Pengobatan kanker dengan menggunakan obat-obatan maupun kemoterapi umum dilakukan akan tetapi memerlukan biaya cukup tinggi⁴. Selain dari segi biaya yang mahal, penggunaan radioterapi dan kemoterapi menimbulkan toksisitas tinggi dan efek samping yang bersifat merusak⁵. Oleh sebab itu perlu dilakukan pengembangan obat antikanker dengan pemanfaatan bahan alam.

Penggunaan obat herbal dalam pengobatan antikanker telah banyak dilakukan. Obat herbal memiliki efek samping yang lebih rendah dibandingkan dengan penggunaan obat kimia⁶. Contoh tumbuhan yang memiliki potensi toksisitas adalah daun petai cina dan kulit jengkol.

Daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit) memiliki kandungan senyawa aktif alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan triterpenoid⁷. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh [7] ekstrak etanol 70% daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit) memiliki efek toksik terhadap *Artemia salina* L. Metode uji yang digunakan, yaitu *Brine Shrimp Lethality Test* dan diperoleh LC₅₀ sebesar 291 ppm. Tumbuhan lain yang memiliki efek toksisitas adalah kulit jengkol (*Archidendron jiringa* (Jack) I.C.Nielsen) berdasarkan pada hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol kulit jengkol menunjukkan adanya kandungan senyawa kimia, diantaranya alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, glikosida dan steroid/ triterpenoid. Flavonoid memiliki gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik yang dapat berperan sebagai antioksidan dalam menangkap radikal bebas. Satu atom hidrogen disumbangkan untuk menstabilkan radikal peroksi lemak⁸. Ekstrak metanol dari kulit jengkol (*Archidendron jiringa* (Jack) I.C.Nielsen) memiliki efek toksik terhadap larva

udang dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* dan diperoleh LC₅₀ sebesar 39,27 ppm⁹.

Penggunaan kombinasi tanaman obat dalam mengobati suatu penyakit sudah banyak dilakukan dalam beberapa tahun terakhir. Kombinasi ekstrak dalam pengobatan tradisional memiliki kelebihan terkait sinergisitas. Beberapa penyakit memberikan pengaruh yang lebih baik terhadap obat dibandingkan dengan penggunaan obat tunggal^{10,11}. Aktivitas terapi dalam pengobatan kanker dan penyakit degeneratif sangat efektif jika diberikan dalam bentuk kombinasi ekstrak yang sinergis dan simultan^{12,13}. Salah satu penelitian antikanker dalam kombinasi ekstrak adalah kombinasi ekstrak benalu belimbing (*Macrosolen cochinchinensis*) dan bawang sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr.) dalam pengobatan kanker serviks⁶. Sedangkan penelitian pengaruh sinergisitas kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol belum ada dilakukan.

Berdasarkan pada uraian diatas, pada penelitian ini dilakukan uji toksisitas dari kombinasi ekstrak etanol 70% daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit) dan ekstrak etanol 70% kulit jengkol (*Archidendron jiringa* (Jack) I.C.Nielsen) terhadap hewan uji *Artemia salina* L. pengujian toksisitas dilakukan dengan kombinasi dua tanaman diharapkan diperoleh nilai LC₅₀ yang lebih bagus dibandingkan dengan nilai LC₅₀ dari masing-masing ekstrak.

METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor

Ekstraksi daun petai cina dan kulit jengkol. Daun petai cina dan kulit jengkol dipanen kemudian dibersihkan dan dikeringkan. Simplisia kering digiling agar memudahkan dan mengoptimalkan proses ekstraksi. Sebanyak 800 g serbuk simplisia

daun petai cina dan 700 g serbuk simplisia kulit jengkol, masing-masing dimasukkan pada botol cokelat kemudian ditambahkan etanol 70% sampai terendam. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam dan setiap 1x24 jam dilakukan penggantian pelarut untuk menghindari jenuhnya pelarut. Filtrat diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* dan pemekatan dengan *water bath* hingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian pada ekstrak kental dilakukan penapisan fitokimia untuk identifikasi senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan triterpenoid/steroid.

Persiapan air laut buatan. Pembuatan air laut buatan dilarutkan 35 g garam NaCl dalam 1 liter air suling, kemudian ditambahkan soda kue sambil diukur pH air hingga mencapai pH 8. Air laut buatan yang sudah siap disaring menggunakan kertas saring.

Persiapan larva udang. Bejana untuk penetasan larva udang yang telah berisi air laut (pH 8), ditaburkan telur larva udang sebanyak 1 sendok makan (± 1 gram). Bejana tersebut disimpan di bawah lampu (suhu 30°C) dengan sisi terbuka menghadap lampu dan diberi oksigen melalui aerator. Aerator mengalirkan udara yang berisi oksigen ke dalam media penetasan telur larva udang yakni air laut. Setelah 48 jam, telur akan menetas dan siap dipakai untuk pengujian, kemudian dipindahkan ke wadah lain sebagai tempat untuk memudahkan pengambilan larva yang sudah menetas pada saat dilakukan pengujian. Larva udang yang akan diuji diambil dengan cara dipipet.

Persiapan sampel. Ekstrak kental etanol 70% daun petai cina dan kulit jengkol ditimbang masing-masing sebanyak 0,2 g kemudian dilarutkan dengan air laut sampai 100 mL, sehingga konsentrasinya menjadi 2000 ppm sebagai larutan induk ekstrak kental daun petai cina dan kulit jengkol. Kemudian pada penelitian ini dibuat kombinasi bobot ekstrak antara ekstrak etanol 70% daun petai cina (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit)

dikombinasikan dengan kulit jengkol (*Archidendron jiringa* (Jack) I.C.Nielsen) dengan perbandingan 1:1, 1:3, 1:5, 1:7, dan 1:9. Untuk kontrol dilakukan tanpa penambahan ekstrak.

Pembuatan kelompok uji. Sebelum dilakukan pengujian dengan metode BSLT terlebih dahulu dibuat kelompok pengujian dari kedua ekstrak, tujuannya adalah untuk memudahkan pengambilan data dari masing-masing sampel, karena sampel yang digunakan lebih dari satu sampel yakni ekstrak etanol 70% daun petai cina dan ekstrak etanol 70% kulit jengkol. Setiap kedua sampel ekstrak etanol 70% daun petai cina dan ekstrak etanol 70% kulit jengkol dibuat kombinasi dengan 1:1, 1:3, 1:5, 1:7, dan 1:9.

Uji toksistas metode BSLT. Larva *Artemia salina* L berumur 48 jam yang masih bergerak aktif dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Pada tiap-tiap tabung reaksi dimasukkan 10 ekor larva udang menggunakan pipet tetes. Selanjutnya pada tiap-tiap tabung reaksi dimasukkan larutan uji sebanyak 10 mL kecuali pada kontrol negatif. Pada kontrol negatif hanya dimasukkan 10 mL air laut. Semua tabung reaksi baik kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan diletakkan di bawah lampu (suhu 30°C) dan dibiarkan diudara terbuka. Pengamatan dilakukan 20 jam terhadap kematian larva *Artemia salina* L. Percobaan ini dilakukan pengulangan 3 kali (triplo).

Analisis Data. Pengolahan dengan menggunakan regresi linear dengan memplotkan sumbu x adalah log konsentrasi sampel uji dan sumbu y adalah persentase kematian hewan. Berdasarkan pada persamaan garis tersebut, akan dihitung nilai *Lethal concentration* (LC₅₀) pada 50% hewan uji. Dengan menggunakan persamaan garis:

$$y = bx + a$$

Keterangan : x = Log konsentrasi sampel uji
y = % Kematian hewan

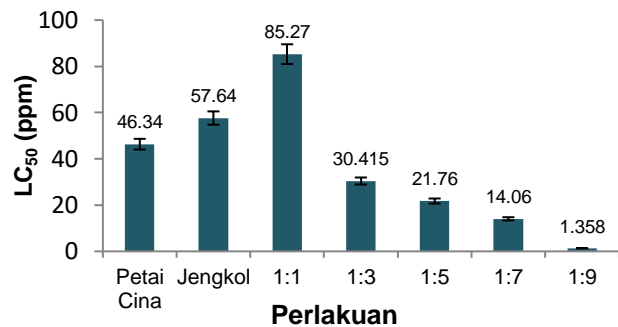
HASIL

Hasil ekstraksi. Ekstraksi secara maserasi dipilih pada proses ekstraksi daun petai cina dan kulit jengkol karena pengerjaannya yang cukup sederhana dan tidak memerlukan pemanasan. Pelarut yang digunakan pelarut etanol 70% karena sifatnya yang semipolar dan merupakan pelarut universal sehingga diharapkan semua metabolit sekunder yang terkandung dalam daun petai cina dan kulit jengkol dapat berdifusi ke dalam pelarut. Proses maserasi dilakukan 3x24 jam dan penggantian pelarut tiap 1x24 jam dengan harapan senyawa yang terkandung dapat terlarut semua ke dalam pelarut. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* dan pemekatan dengan *water bath* sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental daun petai cina diperoleh sebanyak 21 g dari serbuk simplisia 800 g yang digunakan. Sedangkan ekstrak kental kulit jengkol yang diperoleh sebanyak 45 g dari 700 g serbuk simplisia kulit jengkol yang digunakan.

Hasil penapisan fitokimia. Berdasarkan pada penapisan fitokimia yang dilakukan, diperoleh hasil pada ekstrak kulit jengkol mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan triterpenoid. Golongan senyawa di atas merupakan senyawa yang diduga dapat digunakan sebagai antikanker.

Hasil penentuan Toksistas. Uji toksistas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). BSLT merupakan metode yang banyak digunakan sebagai langkah awal pencarian senyawa antikanker baru. Hasil uji toksistas dengan metode tersebut telah terbukti memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa anti kanker. Keuntungan dari metode tersebut diantaranya mudah dilakukan, cepat, mudah diperbanyak, dan dapat menunjukkan adanya korelasi terhadap suatu spesifik anti kanker⁹.

Perbandingan nilai LC_{50} pada masing-masing kombinasi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Perbandingan nilai LC_{50} kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol

PEMBAHASAN

Uji toksistas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* adalah salah satu uji pendahuluan atau penapisan awal yang bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa-senyawa yang bersifat toksik dengan menggunakan larva udang (*Artemia salina* Leach). Hal ini dikarenakan larva udang *Artemia salina* sangat sensitif terhadap senyawa toksik disebabkan oleh kulitnya yang sangat tipis dan selnya masih sederhana. Oleh sebab itu, metode BSLT menggunakan larva udang sebagai uji penapisan awal aktivitas antikanker. Hasil yang didapat dengan menghitung 50% kematian larva udang terhadap konsentrasi uji, dimana mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ ppm. Parameter yang menunjukkan adanya aktivitas antikanker pada suatu senyawa dapat dilihat dari nilai LC_{50} (*Lethal Concentration*). Tingkat toksistas yang didapat akan memberikan makna terhadap potensial aktivitasnya sebagai antikanker¹⁴.

Penelitian ini menggunakan telur *Artemia salina* L. dengan merek dagang *Supreme Plus* produk Amerika. Penetasan telur dilakukan dengan memasukkan telur *A. salina* L. ke dalam air laut buatan yang telah

diukur pH-nya 8 dan dicek temperatur waktu penetasan adalah 30°C. Proses penetasan *Artemia salina* L setelah 24 jam sehingga telur menjadi larva (*nauplius*). *Nauplius* yang digunakan memiliki syarat berumur 48 jam dan aktif bergerak. Pada fase *nauplius* merupakan fase paling aktif membelah secara mitosis. Hal ini menyebabkan naupilus identik dengan sel kanker. *Nauplius* yang berumur di bawah 48 jam mempunyai epitel saluran pencernaan yang belum dapat berkontak dengan medium eksternal. Selain itu, *nauplius* yang berumur di bawah 48 jam hanya hidup dari kantung kuning telurnya sehingga dikhawatirkan kematian larva tidak berhubungan dengan efek toksistas dari kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol.

Penelitian ini menggunakan kombinasi ekstrak etanol 70% daun petai cina dan kulit jengkol. Langkah pertama dibuat larutan induk 1000 ppm dari masing-masing perbandingan kombinasi 1:1, 1:3, 1:5, 1:7, 1:9 dan tiap kombinasi dibuat seri konsentrasi uji 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, 800 ppm, dan 1000 ppm dalam 10 mL air laut buatan. Jumlah hewan uji larva udang 10 ekor setiap pengujian dilakukan 3 kali pengulangan.

Berdasarkan Gambar 1, kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol memberikan efek toksistas lebih baik dibandingkan ekstrak tanpa dikombinasi. Ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol memiliki efek yang sinergis terhadap kematian larva udang *Artemia salina* L. hal ini dapat dilihat dari lebih rendahnya nilai LC₅₀ yang dihasilkan pada kombinasi ekstrak dibandingkan dengan ekstrak tunggal. Efek sinergis obat merupakan efek dua obat atau senyawa yang memiliki efek terapi yang sama sehingga saling menguatkan efek terapi baik dengan mekanisme aksi yang sama maupun berbeda¹⁵. Secara umum, terlihat adanya peningkatan persentase penghambatan sel seiring dengan bertambahnya konsentrasi sampel yang diberikan, hal ini dinamakan

dengan *dose dependent*¹⁶. Pada kombinasi 1:3, 1:5, 1:7 dan 1:9 memberikan nilai LC₅₀ lebih baik dibandingkan dengan kedua ekstrak tunggal. Oleh karena itu kombinasi dari ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol dapat digunakan sebagai agen antikanker.

Berdasarkan pada kategori toksistas menurut Clarkson (2004)¹⁷, semua kombinasi ekstrak menghasilkan nilai LC₅₀ < 100 ppm maka semua kombinasi ekstrak bersifat sangat toksik dan nilai LC₅₀ lebih baik bila konsentrasi dari ekstrak kulit jengkol ditingkatkan pada setiap kombinasi ekstrak.

Pada penelitian kombinasi ekstrak dilakukan uji pendahuluan kandungan fitokimia. Ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Kandungan flavonoid dan tanin pada kadar tertentu dapat berperan dalam menghambat pertumbuhan larva dalam proses kematian larva⁴. Selain itu kandungan flavonoid dan tanin dapat berperan sebagai antikanker. Flavonoid bersifat antioksidan yang dapat menimbulkan proses apoptosis pada sel kanker serta menghambat aktivitas protein kinase pada sel tumor maupun kanker¹⁸.

KESIMPULAN

Berdasarkan pada hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan triterpenoid. Kombinasi ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol berpotensi sebagai kandidat obat antikanker dengan kategori toksik pada nilai toksistas. Nilai toksistas LC₅₀ yang diperoleh pada kombinasi ekstrak ekstrak daun petai cina dan kulit jengkol memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak tunggal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh
Kemenristekdikti dalam skema **Hibah**

Penelitian Dosen Pemula tahun 2019.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada LPPM STTIF Bogor yang telah mendukung terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Suastina IDAR, Ticoalu SHR, Onibala F. Pengaruh Pendidikan Kesehatan Terhadap Tingkat Pengetahuan Siswa Tentang Sadari Sebagai Deteksi Dini Kanker Payudara Di SMA Negeri 1 Manado. *Ejournal Keperawatan* 2013; **1(1)**:1-6.
2. Kusumawardani N. Penanganan Nutrisi pada Penderita Kanker. *Media Libangkea* 1996; **6(4)**:10-15.
3. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Tiesent JL, Jemal A. Global cancer statistics. 2012. CA: A Cancer Journal for Clinicians 2015; **65(2)**: 87–108.
4. Muaja AD, Koleangan HSJ, Runtuwene MRJ. Uji Toksikitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal MIPA Unsrat Online* 2013; **2(2)**:115-118.
5. Prasetyo D, Maryono S, Purwanto B. Pengaruh Ekstrak Propolis terhadap Peningkatan Ekspresi p21, Ekspresi Protein Bax dan Induksi Apoptosis Pada Kultur Sel Kanker Kolon (*Cell Line WiDr*). *Biomedika* 2017; **9(1)**:14-23.
6. Mutiah R, Listyanan A, Suryadinata A. Aktivitas Antikanker Kombinasi Ekstrak Benalu Belimbing (*Macrosolen cochinchinensis*) dan Bawang Sabrang (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr.) pada Sel Kanker Serviks (SEL HeLa). *Trad. Med. J.* 2017; **22(3)**:146-152.
7. Sailillah GS. Toksikitas Ekstrak Air, Etanol dan Etil Asetat Daun Petai Cina (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*. [Skripsi]. Bogor: Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor; 2018.
8. Hamid AA, Aiyelaagbe OO, Usman LA, Ameen OM, Lawal A. Antioxidant : its Medical and Pharmacological Applications. *African Journal of pure and applied chemistry* 2010; **4(8)**: 142-151.
9. Lubis MY, Lamek M, Nasution MP, Simanjuntak P. Uji Fenolik dan Uji Toksikitas Ekstrak Metanol Kulit Jengkol (*Archidendron jiringa*). *Chempublish Journal* 2016; **1(2)**:42-51.
10. Yuan H, Ma Q, Ye L, Piao G. The traditional medicine and modern medicine from natural products. *Molecules* 2016; **21**:559.
11. Kiyohara H, Matsumoto T, Yamada H. Combination effects of herbs in a multi-herbal formula: Expression of juzen-taiho-to's immuno-modulatory activity on the intestinal immune system. *Evid.-Based Complement. Altern. Med.* 2004; **1**:83–91.
12. Li, F.S.; Weng, J.K. Demystifying traditional herbal medicine with modern approach. *Nat. Plants* 2017; **3**:17109.
13. Leonti, M.; Verpoorte, R. Traditional Mediterranean and European herbal medicines. *J. Ethnopharmacol* 2017; **199**:161–167.
14. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin, J L. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. *Planta Medica* 1982; **45**:31-34.
15. Rahmiati S, Woro S. Kajian Interaksi Obat antihipertensi Pada Pasien Hemodialisis Di Bangsal Rawat Inap RSUD Muhammadiyah Yogyakarta Periode Tahun 2010. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 2012; **2(1)**:97-110.
16. Mahardika AB, Subagus W, Mae SHW. Sitotoksitas Senyawa Hasil Isolasi Daun *Tithonia Diversifolia* (Hemsley) A. Gray Terhadap sel T47D, MCF-7 dan EVSA-T. *Majalah Farmaseutik* 2016; **12(2)**: 401-10.

17. Clarkson C, Maharaj VJ, Crouch NR, Grace OM, Pillay P, Matsabisa MG, Bhagwandin N, Smith PJ, Folb PI. *In Vitro* Antiplasmodial Activity of Medicinal Plants Native to or Naturalized in South Africa. *J Ethnopharm* 2004; **92**:177-191.
18. Woo HD, Kim J. Dietary Flavonoid Intake and Risk of Stomach and Colorectal Cancer. *World Journal of Gastroenterology* 2013; **7**:1011-1019.