



## In Vitro Cytotoxic Test of Red Okra (*Abelmoschus esculentus*) Fruit Ethanolic Extract on HeLa Cells

Uji Sitotoksik In Vitro Ekstrak Etanol Buah Okra Merah (*Abelmoschus esculentus*) pada Sel HeLa

Research Report

Agung Budiando Achmad 

Department of Health, Faculty of Vocational Studies, Universitas Airlangga, Surabaya-Indonesia

### ABSTRACT

**Background:** Cancer is one of the leading causes of death in pets. Among various therapeutic methods, chemotherapy is still the main choice to treat advanced and metastatic cancers. However, because of its non-target-specific mode of action, chemotherapy often causes severe side effects in patients. **Purposes:** To analyze the cytotoxic effect of red okra fruit extract (*Abelmoschus esculentus*) on HeLa cells with a comparison of several incubation periods of therapy. **Methods:** Red okra fruit was extracted by the maceration method using 96% ethanol. Then its cytotoxic potency was tested in vitro on HeLa cells based on the MTT tetrazolium reduction assay. **Results:** The results of the MTT test showed a decrease in the viability of HeLa cells along with an increase in the concentration of red okra extract (400, 800, dan 1,600 ppm), where the highest percentage of cell inhibition was obtained at a concentration of 1,600 ppm for each group of 24, 48, and 72 hours of therapy. The lowest IC50 value was obtained by the 48-hour therapy group, which was 631.78 ppm, indicating the optimal duration of therapy of red okra against HeLa cells. **Conclusion:** The ethanolic extract of red okra (*Abelmoschus esculentus*) has an anticancer effect by inhibiting the growth and proliferation of HeLa cells. Thus, red okra fruit has potential benefits in the management of animals diagnosed with cancer.

### ABSTRAK

**Latar Belakang:** Kanker merupakan salah satu penyebab utama kematian pada hewan kesayangan. Di antara berbagai metode terapi, kemoterapi masih menjadi pilihan utama untuk mengatasi jenis kanker stadium lanjut dan telah bermetastasis, namun karena cara kerjanya yang tidak spesifik, kemoterapi seringkali menimbulkan efek samping yang signifikan pada pasien. **Tujuan:** Untuk menganalisis efek sitotoksik ekstrak buah okra merah (*Abelmoschus esculentus*) pada sel HeLa dengan perbandingan lama inkubasi terapi. **Metode:** Buah okra merah diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Kemampuan sitotoksik ekstrak etanol okra merah diuji secara in vitro pada sel HeLa berdasarkan metode MTT tetrazolium reduction assay. **Hasil:** Hasil uji MTT menunjukkan penurunan viabilitas sel HeLa seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak okra merah (400, 800, dan 1.600 ppm), dimana persentase penghambatan sel tertinggi diperoleh pada konsentrasi 1.600 ppm dari setiap kelompok waktu terapi 24, 48, dan 72 jam. Nilai IC50 terendah dihasilkan oleh kelompok waktu terapi 48 jam, yaitu 631,78 ppm, mengindikasikan waktu terapi optimal dari buah okra merah terhadap sel HeLa. **Kesimpulan:** Ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus*) memiliki efek antikanker dengan cara menghambat pertumbuhan dan proliferasi sel HeLa. Dengan demikian, buah okra merah memiliki potensi yang bermanfaat dalam manajemen hewan yang didiagnosa kanker.

### ARTICLE INFO

Received: 22 Desember 2021  
Revised: 5 April 2022  
Accepted: 14 April 2022  
Online: 30 March 2022

Correspondence:  
Agung Budiando Achmad  
E-mail:  
ab.achmad@vokasi.unair.ac.id

**Keywords:**  
Cancer, Cytotoxic, HeLa Cell,  
Red Okra

**Kata kunci:**  
Kanker, Sitotoksik, Sel HeLa,  
Okra Merah



## PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyebab utama kematian pada hewan kesayangan (North and Banks, 2009). Diperkirakan satu dari empat ekor anjing dan kucing mengalami kematian akibat kanker atau penyakit terkait lainnya (Dobson, 2016). Hingga saat ini, pilihan terapi yang umum diterapkan masih meliputi pembedahan, kemoterapi, dan radiasi. Di antara metode tersebut, kemoterapi umumnya menjadi pilihan utama untuk mengatasi jenis kanker stadium lanjut dan telah bermetastasis. Di sisi lain, kemoterapi konvensional seringkali menimbulkan efek samping yang signifikan disebabkan oleh cara kerjanya yang tidak spesifik target. Oleh karena itu, kebutuhan akan terapi adjuvan alternatif kini semakin meningkat (Gavamukulya *et al.*, 2014).

Model kanker menggunakan sel HeLa yang berasal dari sel kanker yang menyerang organ reproduksi (serviks), merupakan model yang paling banyak dilakukan untuk menguji kandidat obat kanker baru. Penggunaan sel tersebut umum, mudah didapatkan, dapat dijadikan model kanker yang menyerang reproduksi hewan, dan relatif lebih murah dibandingkan dengan menggunakan jenis sel lain. Kesuksesan dari penelitian ini dengan menggunakan sel HeLa dapat bermanfaat ke depannya, tidak hanya untuk kesehatan hewan, namun juga untuk manusia, dimana jumlah penderita kanker serviks menempati urutan keempat pada wanita di seluruh dunia dan banyak terjadi di negara berpenghasilan rendah (Proboningrat *et al.*, 2019). Kurang lebih sebanyak 530.000 wanita telah didiagnosa menderita kanker serviks pada tahun 2012 dan diperkirakan jumlah ini akan meningkat hingga lebih dari 700.000 pada tahun 2030 (Ginsburg *et al.*, 2017).

Sejak beberapa tahun terakhir, agen target molekuler mulai dipelajari dalam berbagai segi terapi termasuk kemoprevensi, yang didefinisikan sebagai penggunaan agen diet non-esensial alami maupun sintetis dengan tujuan untuk menghambat proses karsinogenesis dan mencegah atau menunda pertumbuhan tumor (Gavamukulya *et al.*, 2014). Terapi herbal yang telah digunakan selama bertahun-tahun dalam pengobatan tradisional banyak dilaporkan memiliki tingkat efek samping yang sangat rendah (Khazaei *et al.*, 2017). Produk alami yang berasal dari tanaman bersifat non-toksik terhadap sel normal dan juga ditoleransi lebih baik sehingga mendapatkan perhatian lebih dalam upaya penemuan obat modern (Singh *et al.*, 2016).

*Abelmoschus esculentus*, juga dikenal sebagai okra, merupakan tanaman dari keluarga *Malvaceae* yang tumbuh di wilayah tropis, subtropis, dan beriklim hangat di seluruh dunia (Hayaza *et al.*, 2019). Bagian-bagian yang berbeda dari tanaman okra mengandung berbagai macam bahan aktif yang bermanfaat untuk kesehatan manusia (Benchasri *et al.*, 2012). Daun dan polong bijinya yang berwarna hijau umumnya dikonsumsi sebagai sayuran. Asam folat, karotenoid, riboflavin, tiamin, niacin, vitamin c, asam amino, asam oksalat, dan senyawa polifenol merupakan bahan bioaktif penting yang terkandung di dalam

polong okra (Jain *et al.*, 2012; Roy *et al.*, 2014). Okra telah dilaporkan terlibat dalam banyak aktivitas biologis termasuk sebagai antiinflamasi, antipiretik, antidiabetes dll. Pengaruh antitumornya juga mulai menjadi fokus utama dalam studi biomedis dikarenakan oleh manfaatnya yang beragam dalam berbagai status fisiologis (Islam *et al.*, 2018). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis efek sitotoksik ekstrak buah okra (*Abelmoschus esculentus*) pada sel HeLa dengan perbandingan beberapa waktu terapi.

## MATERIAL DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Buah okra merah (*Abelmoschus esculentus*), sel HeLa (ATCC® CCL-2™), Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPMI, Gibco), Fetal Bovine Serum (FBS, Gibco), Amphotericin B (Gibco), Penicillin Streptomycin (Gibco), Dimethyl Sulfoxide (DMSO, BioWORLD), Trypan Blue Dye 0,4% (Bio-Rad), 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (MTT, Invitrogen), Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (dPBS, Gibco), TrypLE™ Express Enzyme (Gibco).

Buah okra merah diperoleh dari pasar tradisional di Kabupaten Batu, Jawa timur-Indonesia. Buah okra segar dicuci bersih dan dipotong kecil-kecil, kemudian dikeringanginkan pada suhu ruang selama tujuh hari dan dihaluskan hingga menjadi serbuk kering. Serbuk okra merah kemudian direndam dalam pelarut etanol 96% selama tiga hari. Maserat yang diperoleh selanjutnya disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 250 rpm pada suhu 60° hingga didapatkan ekstrak kental. Sel HeLa disediakan oleh Pusat Penelitian dan Pengembangan Stem Cell, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia. Sel HeLa ditumbuhkan dan diperbanyak dalam media RPMI 1640 yang telah diperkaya dengan Fetal Bovine Serum 10%, Amphotericin B 0,5%, dan Penicillin Streptomycin 2%. Kultur sel diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5% pada suhu 37°.

Kemampuan sitotoksik ekstrak etanol okra merah diuji secara kolorimetri menggunakan metode *MTT tetrazolium reduction assay*. Sel HeLa ditanam pada 96-well microplate dengan kepadatan 1×10<sup>4</sup> sel/well dan diinkubasi selama semalam (CO<sub>2</sub> 5%, 37°). Sebelum diberi perlakuan, media dibuang dari seluruh well dan dilakukan pemberian ekstrak okra merah dengan serial konsentrasi 400, 800, dan 1.600 ppm. Kemudian sel diinkubasi dengan waktu terapi selama 24, 42, dan 72 jam pada suhu 37° dalam inkubator CO<sub>2</sub> 5%. Kemudian dilakukan pemberian 25 µL larutan MTT dan diinkubasi selama 4 jam (CO<sub>2</sub> 5%, 37°). Kondisi morfologi sel diamati menggunakan mikroskop *inverted* untuk melihat pembentukan kristal formazan. Selanjutnya, ditambahkan 50 µL pelarut DMSO dan diinkubasi di ruang gelap pada suhu ruang selama 10 menit. Absorbansi dari kristal formazan yang terlarut diukur pada panjang gelombang 600 nm menggunakan GloMax® Explorer Multimode Microplate Reader (Promega). Data absorbansi uji MTT dikalkulasi dengan rumus:

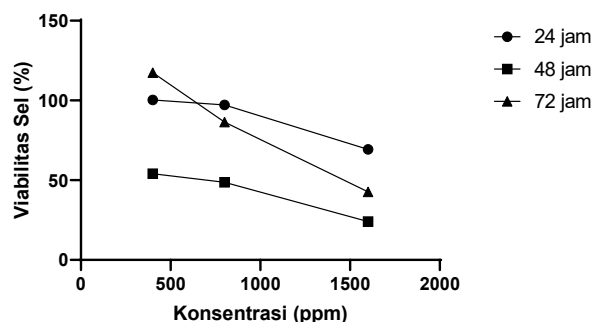
$$\text{Viabilitas sel (\%)} = \frac{(\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media})}{(\text{Absorbansi kontrol sel} - \text{Absorbansi kontrol media})} \times 100\%$$

Persentase viabilitas sel yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan regresi linier menggunakan GraphPad Prism 8 untuk menentukan *inhibition concentration* 50%.

## HASIL

Aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol buah okra merah dievaluasi berdasarkan metode MTT tetrazolium karena memiliki reliabilitas yang baik, sederhana, dan mudah diaplikasikan pada berbagai jenis lini sel. Uji ini berprinsip pada reaksi kolorimetrik dari reagen MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) yang mereduksi enzim dehidrogenase yang terdapat pada sel hidup menjadi kristal formazan ((E,Z)-5-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-1,3-diphenylformazan). Kristal yang tampak berwarna biru keunguan tersebut mengindikasikan jumlah sel yang hidup (*viabile*).

Dari hasil uji MTT dapat dilihat bahwa viabilitas sel HeLa mengalami penurunan persentase sejalan dengan peningkatan konsentrasi ekstrak okra merah (400, 800, dan 1.600 ppm). Persentase viabilitas sel terendah dari masing-masing kelompok waktu terapi (24, 48, dan 72 jam) didapatkan pada konsentrasi 1.600 ppm ekstrak etanol okra merah, yaitu 69,36%, 24,11%, dan 42,65% (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa buah okra merah memiliki aktivitas penghambatan sel HeLa yang bergantung pada dosis, semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin tinggi sitotoksitas yang dihasilkan (Gambar 1).



Gambar 1. Kurva viabilitas sel HeLa setelah pemberian terapi ekstrak etanol okra merah selama 24, 48, dan 72 jam

Dari hasil penentuan *inhibition concentration* 50%, ekstrak etanol okra merah menunjukkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 2.372,69, 631,78, dan 1.458,24 ppm pada kelompok perlakuan 24, 48, dan 72 jam. Hasil ini mengindikasikan bahwa ekstrak etanol okra merah memiliki aktivitas penghambatan proliferasi sel HeLa yang bergantung pada waktu dan dosis, yaitu dengan waktu perlakuan optimal selama 48 jam yang ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$  terendah (Tabel 1).

## PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, perbedaan waktu inkubasi terapi menunjukkan perbedaan pengaruh terhadap potensi sitotoksitas ekstrak etanol okra merah pada sel HeLa. Zulfafamy *et al.* (2018) mengklasifikasikan indeks aktivitas dari ekstrak kasar bahan alami menjadi empat kelas berdasarkan nilai  $IC_{50}$ , yaitu sitotoksitas tinggi (<20 ppm), sedang (20-100 ppm), rendah (100-1.000 ppm), dan inaktif (>1.000 ppm). Berdasarkan

Tabel 1. Persentase viabilitas dan nilai *inhibition concentration* 50% sel HeLa setelah pemberian terapi ekstrak etanol okra merah selama 24, 48, dan 72 jam

Waktu Inkubasi	Konsentrasi (ppm)	Viabilitas Sel (%)	$IC_{50}$ (ppm)
24 jam	400	100,37	2.372,69
	800	97,21	
	1.600	69,36	
48 jam	400	54,04	631,78
	800	48,64	
	1.600	24,11	
72 jam	400	117,49	1.458,24
	800	86,44	
	1.600	42,65	

klasifikasi tersebut, terapi ekstrak etanol okra merah selama 48 jam memiliki efek sitotoksik yang rendah terhadap sel HeLa, yaitu dengan nilai IC<sub>50</sub> 631,78 ppm. Sementara sitotoksitas ekstrak etanol okra merah pada kelompok terapi 24 dan 72 jam dikatakan inaktif atau tidak menimbulkan efek sitotoksik yang bermakna (Tabel 1). Hal ini mengindikasikan bahwa dengan kedua waktu terapi tersebut, sel HeLa memiliki resistensi terhadap ekstrak etanol buah okra merah. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa waktu terapi selama 48 jam merupakan waktu terapi yang paling optimal dari ekstrak etanol okra merah terhadap sel HeLa meskipun aktivitas sitotoksiknya masih tergolong lemah. Hasil ini sejalan dengan penelitian Chaemsawang *et al.* (2019), dimana ekstrak biji okra mempunyai aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara (MCF-7), karsinoma hepatoseluler (HepG2), dan karsinoma serviks (HeLa) yang bergantung pada dosis namun dengan efek yang minimal.

Kanker merupakan salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia. Meskipun bidang pengembangan obat telah mengalami kemajuan yang pesat, masih ada kebutuhan untuk mengembangkan obat-obatan baru yang berasal dari tumbuhan, termasuk alkaloid vinca dan taxane (Alexandrova and Beykov, 2017). Flavonoid dan fenol yang terkandung dalam buah (Ahiakpa *et al.*, 2013) dan bunga okra (Deng *et al.*, 2020) mempunyai efek antitumor pada sel kanker kolon baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Flavonoid menghambat proliferasi sel kanker kolon dengan menginduksi aktivasi p53 dan menekan fungsi mitokondria, yang menyebabkan induksi apoptosis dan penghambatan autofagi. Flavonoid okra juga menghambat migrasi dan invasi sel kanker kolon dengan mengatur keseimbangan kadar ekspresi MMP2/TIMP2 dan MMP9.

Aktivitas antikanker dari ekstrak tanaman okra juga telah diteliti melalui studi *in vitro* pada beberapa jenis sel kanker. Salah satu senyawa glikosida flavonoid yang ditemukan pada spesies tanaman *Abelmoschus* adalah hyperin. Senyawa ini dilaporkan memiliki potensi antikanker pada sel kanker lambung CCK8 melalui penghambatan proliferasi, migrasi, dan invasi sel, serta menginduksi apoptosis dengan menekan jalur pensinyalan Wnt/ $\beta$ -catenin (Ping, 2020). Senyawa lectin yang diisolasi dari biji okra menyebabkan kematian sel berupa apoptosis dengan memodulasi aktivitas caspase-3 dan 7 pada sel glioblastoma U87 (Musthafa *et al.*, 2021). Pada penelitian yang dilakukan Khan *et al.*, (2022) juga diamati bahwa sel HepG2 yang diterapi dengan ekstrak biji okra mengalami perubahan morfologis, peningkatan ROS intraseluler, dan apoptosis. Meskipun dalam penelitian ini efek sitotoksik buah okra merah masih tergolong rendah, pengembangan dan penggalan lebih dalam masih perlu dilakukan, seperti fraksinasi dan purifikasi senyawa aktif penting dengan tujuan dapat lebih meningkatkan potensi sitotoksiknya, khususnya pada sel HeLa.

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol buah okra merah (*Abelmoschus esculentus*) memiliki efek antikanker dengan cara menghambat pertumbuhan dan proliferasi sel HeLa. Dengan demikian, buah okra merah memiliki potensi yang bermanfaat dalam manajemen hewan yang didiagnosa kanker. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengisolasi senyawa spesifik dari ekstrak dan dievaluasi aktivitas dan mekanismenya pada sel kanker secara *in vitro* maupun *in vivo*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan pada Fakultas Vokasi dan Pusat Penelitian dan Pengembangan Stem Cell Universitas Airlangga yang telah mendukung jalannya penelitian ini, serta kepada Annise Proboningrat yang telah membantu pelaksanaan penelitian dan pengolahan data. Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terlibat dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahiakpa, J.K., Quartey, E.K., Amoatey, H.M., Klu, G.Y.P., Achel, D.G., Achoribo, E., Agbenyegah, S., 2013. Total flavonoid, phenolic contents and antioxidant scavenging activity in 25 accessions of okra (*Abelmoschus* spp L.). *African J. Food Sci. Technol.* Vol.4(5), Pp.129–135.
- Alexandrova, R., Beykov, P., 2017. Medicinal plants and alkaloids in the fight against cancer. No Title. In: In: A. Tiezzi, T.M. Karpinski (Eds.). *New Aspects in Medicinal Plants and Pharmacognosy*. JB Books, Poznan, Poland.
- Benchasri, S., 2012. Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) as a valuable vegetable of the world. *Ratar. i Povrt.* 49, Pp.105–112.
- Chaemsawang, W., Prasongchean, W., Papadopoulou, K.I., Ritthidej, G., Sukrong, S., Wattanaarsakit, P., 2019. The Effect of Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) Seed Extract on Human Cancer Cell Lines Delivered in Its Native Form and Loaded in Polymeric Micelles. *Int. J. Biomater.* 2019, Pp.1–13.
- Deng, Y., Li, S., Wang, M., Chen, X., Tian, L., Wang, L., Yang, W., Chen, L., He, F., Yin, W., 2020. Flavonoid-rich extracts from okra flowers exert antitumor activity in colorectal cancer through induction of mitochondrial dysfunction-associated apoptosis, senescence and autophagy. *Food Funct.* Vol.11(12), Pp.10448–10466.
- Dobson, J.M., 2011. Introduction: cancer in cats and dogs. In: *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology*. British Small Animal Veterinary Association, Pp. 1–5.

- AEI-Shemy, H., 2014. Phytochemical screening, anti-oxidant activity and in vitro anticancer potential of ethanolic and water leaves extracts of *Annona muricata* (Graviola). *Asian Pac. J. Trop. Med.* Vol.7(1), Pp.S355-S363.
- Ginsburg, O., Bray, F., Coleman, M.P., Vanderpuye, V., Eniu, A., Kotha, S.R., Sarker, M., Huong, T.T., Allemanni, C., Dvaladze, A., Gralow, J., Yeates, K., Taylor, C., Oommen, N., Krishnan, S., Sullivan, R., Kombe, D., Blas, M.M., Parham, G., Kassami, N., Conteh, L., 2017. The global burden of women's cancers: a grand challenge in global health. *Lancet* Vol.389(10071), Pp.847-860.
- Hayaza, S., Wahyuningsih, S.P.A., Susilo, R.J.K., Permanasari, A.A., Husen, S.A., Winarni, D., Punnapayak, H., Darmanto, W., 2019. Anticancer activity of okra raw polysaccharides extracts against human liver cancer cells. *Trop. J. Pharm. Res.* Vol.18(8), 1667-1672.
- Islam, S., Debnath, K.C., Shaon, F.T.U., Das, M., Hasan, M.F., 2018. The Role of Active Constituents of *Abelmoschus esculentus* (Okra) on Tumor Biology: A Review. *IJRSM* Vol.10(1), Pp.111-116.
- Jain, N., Jain, R., Jain, V., Jain, S., 2012. A REVIEW ON: ABELMOSCHUS ESCULENTUS. *Pharmacia* Vol.1(3), Pp.84-89.
- Khan, S., Rafi, Z., Baker, A., Shoaib, A., Alkhatami, A., Asiri, M., Alshahrani, M., Ahmad, I., Alraey, Y., Hakamy, A., Saeed, M., Mansoor, S., 2022. Phytochemical Screening, Nutritional Value, Anti-Diabetic, Anti-Cancer, and Anti-Bacterial Assessment of Aqueous Extract from *Abelmoschus esculentus* Pods. *Processes*. Vol.10(183), Pp.1-19.
- Khazaei, S., Ramachandran, V., Abdul hamid, R., Mohd Esa, N., Etemad, A., Moradipoor, S., Ismail, P., 2017. Flower extract of *Allium atroviolaceum* triggered apoptosis, activated caspase-3 and down-regulated antiapoptotic Bcl-2 gene in HeLa cancer cell line. *Biomed. Pharmacother.* 89, Pp.1216-1226.
- Musthafa, S.A., Muthu, K., Vijayakumar, S., George, S.J., Murali, S., Govindaraj, J., Munuswamy-Ramanujam, G., 2021. Lectin isolated from *Abelmoschus esculentus* induces caspase mediated apoptosis in human U87 glioblastoma cell lines and modulates the expression of circadian clock genes. *Toxicol* 202, Pp.98-109.
- North, S., Banks, T., 2009. Chapter 1 - The Human-Animal Bond and Why Veterinary Oncology is Important. In: In: S. North and T. Banks (Eds.). *Small Animal Oncology: An Introduction*. W.B. Saunders, China.
- Ping, M.-H., 2020. Hyperin Controls the Development and Therapy of Gastric Cancer via Regulating Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling. *Cancer Manag. Res.* Volume 12, Pp.11773-11782.
- Proboningrat, A., Fadholly, A., Iskandar, R.P.D., Achmad, A.B., Rantam, F.A., Sudjarwo, S.A., 2019. The potency of chitosan-based *Pinus merkusii* bark extract nanoparticles as anti-cancer on HeLa cell lines. *Vet. World.* Vol.12(10), Pp.1616-1623.
- Roy, A., Shrivastava, S.L., Mandal, S.M., 2014. Functional properties of Okra *Abelmoschus esculentus* L. (Moench): traditional claims and scientific evidences. *Plant Sci. Today.* Vol.1(3), Pp.121-130.
- Singh, A.K., 2016. *Engineered Nanoparticles*, Elsevier. Elsevier.
- Zulfafamy, K.E., Ardiansyah, A., Budijanto, S., 2018. Antioxidative Properties and Cytotoxic Activity Against Colon Cancer Cell WiDr of *Rhizopus Oryzae* and *Rhizopus Oligosporus*-Fermented Black Rice Bran Extract. *Curr. Res. Nutr. Food Sci. J.* Vol.6(1), Pp.23-34.