AKTIVITAS STIMULASI KOMPONEN BIOAKTIF RIMPANG JAHE (*Zingiber officinale* Roscoe) PADA SEL LIMFOSIT B MANUSIA SECARA *IN VITRO*

[Effects of Bioactive Compounds of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) Root on B Cell Lymphocyte Function using *In Vitro* System]

Tejasari [1], Fransiska R Zakaria [2], dan Dondin Sajuthi [3]

[1] Staf Pengajar Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember
[2] Staf Pengajar Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta-IPB
[3] Peneliti Pada Pusat Studi Satwa Primata IPB

ABSTRACT

The effect of two fractions of oleoresin compounds from ginger root on lymphocyte function were studied by observing B cell proliferations, which were measured by the incorporation of 3H-thymidine during cell incubation. The doses of oleoresin compounds and its two fractions tested were 50,100, 150, and 200 μg per ml. Lymphocyte from human peripheral blood were isolated using ficoll density gradient technique, and cultured in the presence of the compounds in RPMI-1640 medium for 4 days, with or without the addition of 3 mM paraquat as the oxidizing agent.

The results showed that the effects of oleoresin and its two fractions depended on its doses. Oleoresin and its two fractions increased B cell proliferation with the highest activity of 456 percent at low dose of 50 μg per ml. These result showed a positive effect of oleoresin compound and its two fractions on B cell functions at low doses. It indicated that bioactive compounds of ginger root at low concentration have positive effects on humoral immune response and this supports the traditional belief that ginger increases body resistance to common cold.

Key words : bioactive compound, proliferation, humoral immune responds, stress oxidative, in vitro, and lymphocyte

PENDAHULUAN

Pangan, selain memberi sumbangan zat gizi yang telah diketahui sebagai zat yang mutlak diperlukan tubuh, juga memberikan zat lain, atau komponen bioaktif, yang memberikan efek fisiologis positif pada tubuh manusia. Komponen bioaktif pangan yang menimbulkan efek fisiologis atau biasa disebut dengan khasiat pangan, terutama banyak terdapat pada pangan kelompok buah dan sayur, dan bumbu atau rempah.

Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) merupakan salah satu jenis rempah yang sejak dulu dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Sejak akhir abad ke- 20, jahe selalu digunakan dalam formula makanan dan minuman kesehatan, seperti STMJ (Susu Telur Madu Jahe), *wedang* jahe dan lainnya. Hal ini didasari oleh khasiat jahe yang secara tradisi dan empiris dirasakan oleh masyarakat, terutama sebagai bahan anti masuk-angin, walaupun secara ilmiah belum dibuktikan efeknya pada kesehatan manusia. Menurut Tang dan Eisenbrand (1992) khasiat jahe ditimbulkan oleh kandungan senyawa bioaktif jahe.

Senyawa bioaktif jahe, seperti oleoresin, gingerol, dan shogaol sudah banyak diteliti dari aspek aktivitasnya sebagai antibakteri, antitusif, dan antioksidan. Senyawa gingerol, dan zingeron memiliki sifat sporostatik terhadap bakteri *Bacillus subtilis* (Al-Khayat dan Blank, 1985). Senyawa (6)-shogaol, dan (6)-gingerol bersifat antitusif (Suekawa et al., 1984). Aktivitas senyawa gingerol, shogaol, dan zingeron telah diteliti oleh Kikuzaki dan Nakatani (1993); Tejasari (2000) meneliti efek antioksidatif senyawa oleoresn, gingerol dan shogaol terhadap kadar peroksida, khususnya MDA (malonaldehida), dan kadar radikal bebas sel limfosit yang dikultur secara in vitro.

Selain bersifat antioksidatif, ekstrak jahe telah dibuktikan oleh Zakaria et al., (1996), Nurahman et al., (1998), Prangdimurti et al.,(1999), dan Zakaria et al., (1999) dapat meningkatkan ketahanan tubuh tikus, dan manusia pada sistem *in vivo* dan *in vitro*. Pengaruh ekstrak jahe tersebut bergantung pada kondisi kultur dan dosis ekstrak jahe.

Tujuan penelitian ini adalah untuk meneliti pengaruh jenis, dan konsentrasi senyawa bioaktif jahe terhadap fungsi sel limfosit pada sistem *in vitro*. Hasil penelitian ini diharapkan memberikan informasi ilmiah khasiat jahe, khususnya efek senyawa bioaktif jahe terhadap fungsi sel imun dan ketahanan tubuh manusia.

METODOLOGI

Penelitian dilakukan dalam 2 tahap percobaan laboratorium, yaitu: 1) fraksinasi komponen bioaktif jahe (gingerol dan shogaol) dan 2) uji *in vitro* efek senyawa oleoresin dan fraksi 1 (gingerol) dan fraksi 2 (shogaol) jahe terhadap fungsi limfosit B. Penelitian tahap 1 dilakukan di laboratorium Kimia Pangan PAU Pangan dan Gizi-IPB, sedangkan tahap ke 2 dilakukan di laboratorium Biokimia TPG-IPB, laboratorium Virologi Pusat Studi Satwa Primata IPB (PSSP-IPB), dan laboratorium Imunologi U.S. NAMRU-2 (*Naval American Medical Research Unit-2*), Jakarta.

Fraksinasi komponen oleoresin rimpang jahe (Wikandari, 1994)

Senyawa oleoresin diekstrak dari tepung jahe kering beku (60 mesh) dalam pelarut etanol dengan metode soxhlet. Fraksi 1 atau gingerol dan fraksi 2 atau shogaol diperoleh dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan menggunakan plat GF-254 (E-merck) dan eluen heksana dan dietileter rasio 3:7 (V:V). Senyawa fraksi 1 dan 2 diekstrak dari silika dengan pelarut aseton, disentrifugasi pada 2800 x g selama 15 menit, berulang-ulang dan disaring lalu diuapkan. Masing-masing senyawa oleoresin, gingerol dan shogaol dilarutkan dalam media RPMI – 1640 dan dengan pengenceran bertingkat dibuat larutan dengan 4 tingkat konsentrasi 250, 500, 1000 dan 2000 μg/ml. Larutan disterilkan dengan penyaringan membran 0,22 μm (Millipore).

Persiapan medium dan larutan paraquat

Medium yang digunakan untuk kultur adalah media basal dan media semi lengkap. Media basal digunakan untuk pencucian dan dibuat dari bubuk RPMI-1640 (Sigma, R-7755) sebanyak 10,42 gram dilarutkan dengan akuades steril hingga 1 liter, lalu ditambah 2 gram $NaHCO_3$. Medium semi lengkap merupakan media basal yang ditambah 1% L-glutamin (Sigma G 2150) 2 mM dan 1% antibiotik gentamisin (Sigma G1522).

Larutan paraquat 10 mM dibuat dengan melarutkan 0,02572 gr paraquat diklorida (Sigma, M-2254) (BM=257,2) dalam 10 ml media basal. Semua larutan media dan parakuat disterilkan dengan penyaringan melalui membran steril berpori-pori 0,22 μm.

Isolasi dan kultur limfosit (Rose et al., 1994; Freshney, 1994)

Limfosit diisolasi dari sampel darah tepi laki-laki dewasa sehat dengan cara sentrifugasi dan pemisahan melalui perbedaan densitas *ficoll hypaque* (1,77 + 0,001 g/ml) (Sigma 1077 –1). Pemisahan komponen seluler dilakukan dengan sentrifugasi 514 x g selama 10 menit, diperoleh lapisan *buffy coat*, yang sebagian besar berisi limfosit. Pemisahan limfosit dilakukan dengan melewatkan lapisan tersebut diatas larutan *ficoll-hypaque* secara perlahan, lalu disentrifugasi pada 1430 x g selama 30 menit. Lapisan atas yang berisi limfosit, monosit dan platelet dicuci 2 kali dengan media basal dan disentrifugasi pada 288 x g selama 10 menit. Limfosit (dalam presipitat) terpisah dari platelet, monosit, plasma dan *ficoll* (dalam supernatan). Sel limfosit tersebut dihitung dengan pewarnaan biru trifan pada hemasitometer (Neubauer). Suspensi limfosit yang memiliki viabilitas di atas 95%, dengan konsentrasi $2x10^6$ sel/ml disiapkan dengan penambahan media basal.

Analisis respons proliferasi limfosit (Rose et al., 1994; Zakaria et .al., 2000)

Metode uji aktivitas proliferasi limfosit didasarkan pada inkorporasi *tritiated thymidine* atau [^{3}H]-timidin pada saat sintesis DNA limfosit. Sinar β dari [^{3}H]-timidin yang terinkorporasi dihitung oleh β-*counter* dan diperoleh nilai *count per minute* (cpm).

Sejumlah 100 μl suspensi limfosit (2x 10^6 sel/ml) yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam sumur-sumur lempeng mikro. Lalu ditambahkan berturut-turut ke setiap sumur masing-masing sejumlah 20 μl senyawa oleoresin, gingerol atau shogaol dengan konsentrasi 500, 1000, 1500 dan 2000 μg/ml untuk ketiganya, dan masing-masing 80 μl mitogen lipopolisakarida (LPS) 12,5 μg/ml. Konsentrasi akhir setiap sumur lempeng mikro masing-masing senyawa adalah 50, 100, 150 dan 200 μg/ml, dan untuk mitogen adalah 5 μg/ml. Mitogen LPS digunakan untuk stimulasi proliferasi sel limfosit B. Pada sumur lempeng mikro sebagai kontrol hanya ditambahkan media RPMI 1640 saja.

Untuk kondisi stres oksidatif, ke dalam setiap sumur ditambahkan 100 μl suspensi limfosit (2x 10^6 sel/ml), 20 μl senyawa oleoresin, gingerol atau shogaol yang telah disiapkan dengan konsentrasi 500, 1000, 1500 dan 2000 μg/ml untuk ketiganya, 60 μl mitogen LPS 16,67 μg/ml dan 20μl larutan paraquat 30 mM. Konsentrasi akhir paraquat pada setiap sumur lempeng mikro (200 μl) menjadi 3mM. Untuk kontrol stres oksidatif hanya ditambahkan medium RPMI 1640 dan paraquat.

Kultur diinkubasi selama 96 jam, 18 jam sebelum inkubasi berakhir dilakukan penambahan sebanyak 50 μl [^{3}H]-timidin 25μCi/mL. Setelah inkubasi berakhir, limfosit dipanen dengan alat pemanen sel yang dilengkapi dengan membran 1 μm. Membran tersebut dikeringanginkan lalu dibungkus dengan *aluminium foil* untuk dilakukan pembacaan dengan β-*counter*.

Analisis Data

Analisis ragam (ANOVA) pada model percobaan dilakukan untuk menilai pengaruh konsentrasi dan kondisi kultur limfosit serta pengaruh interaksinya, untuk masing-masing senyawa oleoresin, gingerol dan shogaol. Model regresi digunakan untuk menyimpulkan sifat hubungan antar respon dengan konsentrasi komponen oleoresin jahe dan kondisi kultur limfosit. Analisis ragam regresi dilakukan dengan menggunakan program statistik *Statistical Analysis* System (SAS) for *Windows release* 6.12 (SAS Institute, 1985).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa oleoresin, gingerol dan shogaol Jahe

Analisis kualitatif KLT menunjukkan ada 5 fraksi dengan spot yang cukup tajam dengan nilai Rf fraksi 1 = 0,24, fraksi 2 = 0,42, fraksi 3 = 0,54, fraksi 4= 0,60 dan fraksi 5 = 0,68. Fraksi 1 dan fraksi 2 yang masing-masing merupakan senyawa gingerol dan shogaol (Chen et al., 1986; Wikandari, 1994) memiliki kemampuan antioksidan yang tinggi (Kikuzaki dan Nakatani, 1993). Kadar gingerol atau 1(4-hidroksi-3-metoksifenil)-hidroksialkan-3-one dan shogaol atau 1(4-hidroksi-3-metoksifenil)-4-dekena-3-one yang diperoleh adalah 0,52 dan 0,24 persen berat kering. Konsentrasi senyawa oleoresin, gingerol dan shogaol yang diuji, ditentukan berdasarkan jumlah konsumsi satu gelas wedang jahe dari 25 gram jahe segar, yaitu 50 μg per ml, dan dicobakan juga dengan tingkat konsentrasi 100, 150 dan 200 μg per ml.

Pengaruh senyawa oleoresin, gingerol, dan shogaol terhadap respons proliferasi limfosit B manusia

Proliferasi adalah proses perbanyakan sel melalui pembelahan sel atau mitosis sebagai respons terhadap antigen atau mitogen. Pada proses tersebut dihasilkan sel-sel efektor aktif yang berperan pada respons spesifik atau non spesifik untuk eliminasi mikroorganisme patogen dan zat asing lainnya. Proliferasi merupakan fungsi dasar biologis limfosit (Rose et al., 1994) dan respons proliferasi secara *in vitro* dapat menggambarkan fungsi limfosit. Penambahan LPS dalam media kultur limfosit berfungsi sebagai mitogen yang terutama menstimulsi proliferasi sel limfosit B. (Zakaria et al., 1996).

Pengaruh konsentrasi senyawa oleoresin, gingerol dan shogaol terhadap proliferasi sel limfosit B sangat tergantung pada kondisi kultur limfosit. Pada kondisi tanpa stres oksidatif, senyawa oleoresin, gingerol dan shogaol secara nyata meningkatkan proliferasi sel limfosit B masing-masing dengan peningkatan tertinggi berturut-turut sebesar 456 dan 390 persen, terjadi pada konsentrasi rendah (50 μg/ml).

Kurva respons proliferatif sel limfosit B terhadap senyawa oleoresin, gingerol dan shogaol bersifat kubik (Gambar 1.), dengan persamaan regresi pada Tabel 1. Artinya setelah nilai optimal, terjadi penurunan respons poliferatif sel B, namun masih diatas nilai kontrol. Pada kondisi tanpa stres oksidatif pengaruh senyawa oleoresin, gingerol dan shogaol bersifat positif sampai taraf konsentrasi 200 μg/ml.

Peningkatan respons proliferasi sel limfosit B menunjukkan pertambahan jumlah sel limfosit B yang ada sehingga memperkuat pertahanan terhadap mikroorganisme yang setiap saat dapat saja masuk ke dalam tubuh, dan ini berarti efek positif terhadap kemampuan mensintesis antibodi. Peningkatan respons proliferatif sel limfosit B tersebut menunjukkan kemampuan memacu respons humoral senyawa oleoresin, gingerol dan shogaol rimpang jahe secara *in vitro*.

Peningkatan respons proliferasi tersebut mungkin dijelaskan oleh dua sebab yaitu 1) karena sifat fenol dari tanaman yang mudah terikat pada protein, dan 2) karena sifat antioksidatif fenol sehingga dapat melindungi limfosit dari molekul oksigen reaktif. Senyawa fenol tumbuhan memiliki kemampuan untuk membentuk kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen (Suradikusumah, 1989). Hal ini memungkinkan pengikatan senyawa fenol jahe pada protein reseptor membran limfosit sehingga mengaktivasi sistem enzim membran yang berperan dalam proliferasi. Gambar 2. menjelaskan kemungkinan mekanisme aktivasi sel limfosit B oleh senyawa oleoresin, gingerol dan shogaol rimpang jahe.

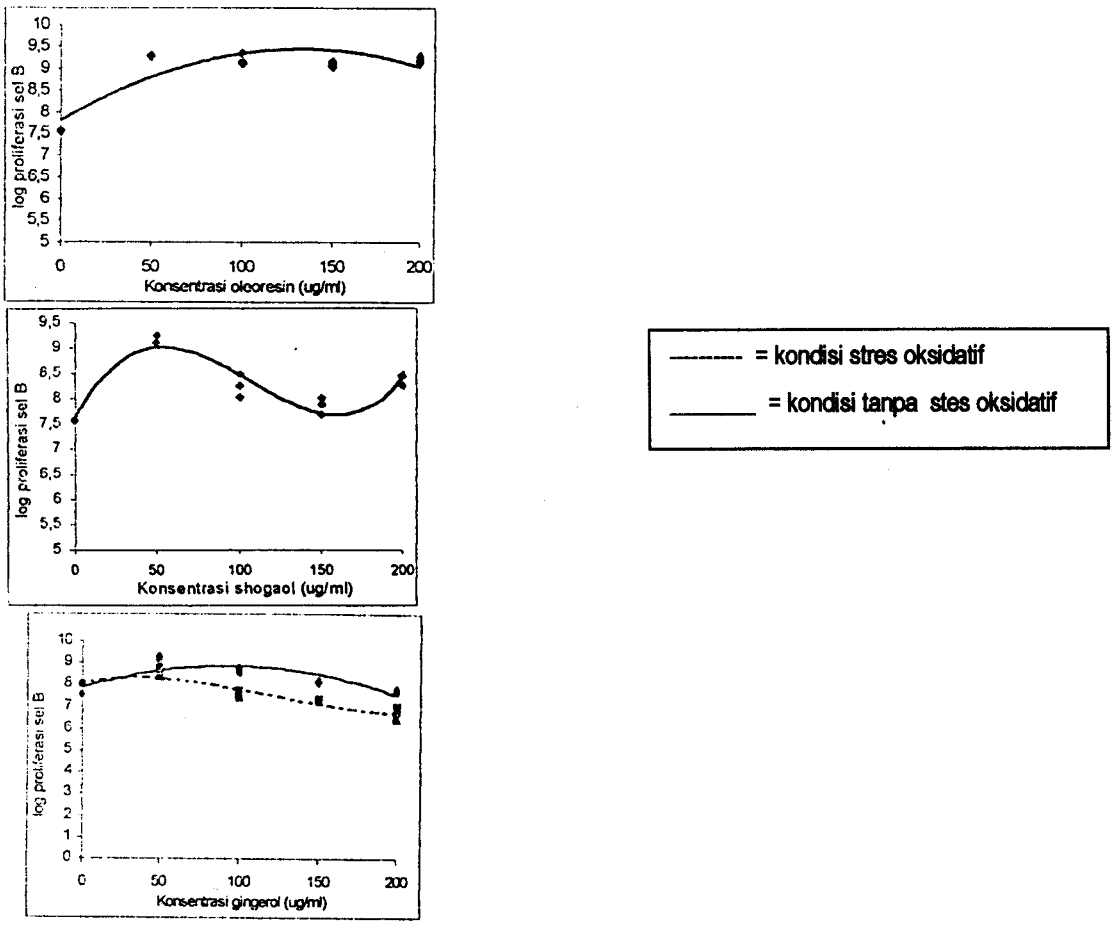
Pada kultur limfosit, pengikatan komponen oleoresin jahe pada protein reseptor permukaan sel limfosit B berakibat pada aktivasi protein G yang kemudian mengaktivasi enzim fofolipase C. Fosolipase memecah fosfatidil inositol bifosfat (PIP_2) menjadi diasilgliserol (DAG) dan inositol trifosfat (IP_3), dua molekul yang berperan dalam penandaan membran sel (Roitt, 1991)

Inositol trifosfat berdifusi dari membran plasma ke sitosol dan berikatan dengan protein reseptor pada permukaan sitoplasmik *Calcium-sequestering Compartment*. Pengikatan tersebut menyebabkan terbukanya pintu saluran Ca^{2+} dan berakibat pada peningkatan konsentrasi Ca^{2+} sitosol. Diasigliserol dan peningkatan ion Ca^{2+} mengaktivasi enzim protein kinase C. Protein kinase C teraktivasi memfosforilasi atau memindahkan gugus fosfat ke residu serin atau treonin spesifik pada protein membran sehingga mengaktivasi pertukaran Na^{+}-H^{+} dan berakibat pada peningkatan pH. Peningkatan pH tersebut memberi tanda pada sel untuk melakukan proliferasi (Alberts et al., 1994). Pengikatan ion Ca^{2+} pada kalmodulin menyebabkan perubahan konformasi protein dan mengaktivasi enzim protein kinase C yang berperan dalam produksi interleukin-2 (IL-2) yang mengaktivasi sel limfosit B untuk berpoliferasi (Roitt, 1991).

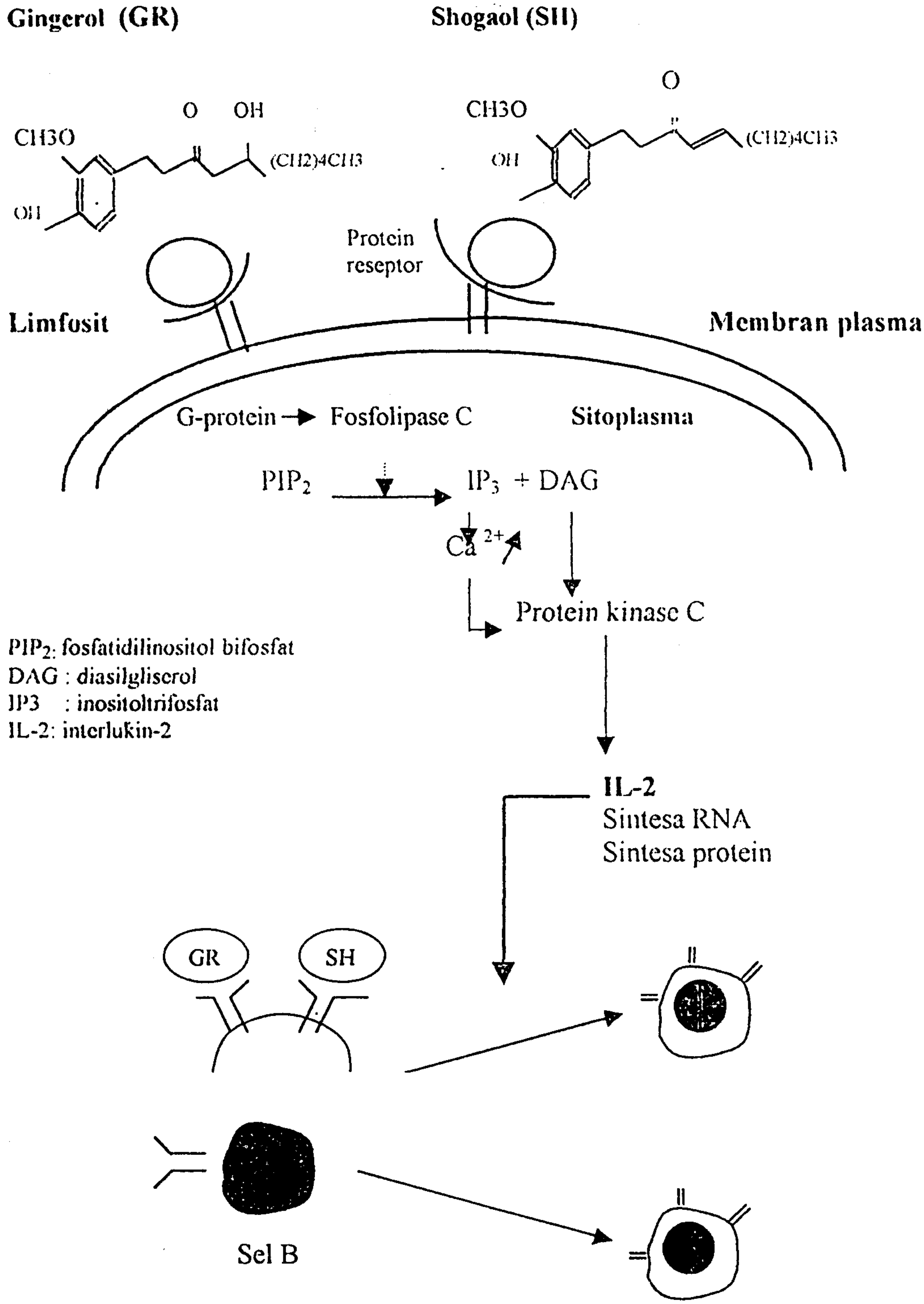
Tabel 1. Persamaan regresi respons proliferatif sel B terhadap komponen oleoresin jahe pada dua kondisi kultur limfosit

Kondisi Kultur	Komponen Oleoresin	F-nyata	R2	Persamaan Regresi
Tanpa	1. Oleoresin	0,000	0,79	$Y = 7{,}791 + 0{,}0246X - 0{,}0009X^2$
stres	2. Gingerol	0,000	0,68	$Y = 7{,}825 + 0{,}0218X - 0{,}0001X^2$
oksidatif	3. Shogaol	0,000	0,90	$Y = 7{,}606 + 0{,}05884X - 0{,}0073X^2 + (2{,}28x10\text{-}6)X^3$
Stres	1. Oleoresin	tn		
oksidatif	2. Gingerol	0,000	0,89	$Y = 8{,}0576 - 0{,}00023\,X^2$
	3. Shogaol	tn		

tn = tidak nyata



Gambar 1. Kurva respons proliferatif sel limfosit B terhadap senyawa oleoresin, gingerol dan shogaol pada dua kondisi kultur



Gambar 2. Teori kemungkinan proses biokimia sel limfosit B oleh komponen oleoresin jahe (dimodifikasi dari Roiit, 1991; Alberts et al., 1994)

Kemungkinan pengikatan komponen oleoresin jahe pada protein reseptor permukaan sel limfosit B masih perlu dibuktikan antara lain dengan penggunaan antibodi anti reseptor protein permukaan sel limfosit B. Jika anti reseptor protein tersebut berikatan dengan protein reseptor maka senyawa fenol tidak dapat berikatan sehingga proliferasi akan berkurang. Pengukuran aktivitas protein kinase C juga dapat dilakukan untuk menguji apakah senyawa fenol jahe tersebut mengaktivasi sistem enzim ini.

Kemampuan antioksidatif senyawa fenol jahe yaitu gingerol dan *diarylheptanoid* yang tinggi pada konsentrasi rendah, 0,2 mM (Nakatani dan Kikuzaki, 1993) memungkinkan senyawa tersebut untuk melindungi limfosit dari radikal bebas endogen sehingga limfosit tetap dapat melakukan fungsi proliferatifnya.

Pada kondisi stres oksidatif, paraquat yang ditambahkan pada kultur limfosit, melalui reaksi redoks dapat membentuk molekul radikal bebas kation bipiridil (PQ^+) atau anion superoksida (O_2^*). Radikal bebas tersebut dapat merusak lipid dan enzim membran sehingga mengganggu penandaan transmembran dan berakibat pada gangguan proliferasi limfosit. Pada kondisi tersebut senyawa gingerol secara nyata masih meningkatkan respons proliferasi sel limfosit B. Respons bersifat kuadratik (Gambar 1), dengan persamaan regresi pada Tabel 1 menunjukkan bahwa respons proliferatif tertinggi sebesar 90 persen, terjadi pada konsentrasi rendah (50μg/ml), setelah itu menurun dengan nilai lebih kecil dari kontrol.

Penurunan respons proliferasi sel limfosit B tersebut kemungkinan ada hubungannya dengan sifat antioksidatif senyawa gingerol yang semakin menurun dengan meningkatnya konsentrasi gingerol. Pada konsentrasi tinggi, senyawa fenol jahe tersebut bersifat sebagai prooksidan (Cillard et al., 1980; Gordon, 1990) sehingga mampu mengoksidasi fosfolipid dan protein membran sel serta inaktivasi membran sel (Davidson, 1983) yang berakibat gangguan proliferasi sel. Sebaliknya senyawa oleoresin dan shogaol tidak berpengaruh nyata terhadap respon proliferasi sel limfosit B. Hal ini kemungkinan ada hubungannya dengan kemampuan antioksidatif shogaol dan komponen fraksi lainnya yang lebih rendah dari gingerol sehingga gingerol lebih dapat melindungi komponen membran sel limfosit B dari efek toksik radikal bebas yang berasal dari paraquat.

Hasil analisis statistik tersebut diatas membawa pada kesimpulan bahwa pada kondisi tanpa stress oksidatif senyawa oleoresin, gingerol dan shogaol memberi efek positif terhadap fungsi proliferatif sel limfosit B terutama pada konsentrasi rendah. Sedangkan pada kondisi stress oksidatif hanya senyawa gingerol yang memberi efek positif terhadap fungsi proliferatif sel limfosit B, dan hanya pada konsentrasi rendah. Hal ini menunjukkan kemampuan imunogenik senyawa oleoresin, gingerol dan shogaol.

KESIMPULAN

Pada kondisi tanpa stres oksidatif, senyawa oleoresin, gingreol, dan shogaol jahe meningkatkan proliferasi sel limfosit B secara optimal pada konsentrasi rendah (50 μg/ml), dengan peningkatan terbesar 456 persen. Sedangkan pada kondisi stres oksidatif, hanya senyawa gingerol pada konsentrasi rendah (50 μg/ml), yang meningkatkan proliferasi sel limfosit B, yaitu sebesar 90 persen. Mekanisme induksi pada level reseptor seluler masih perlu diteliti lebih lanjut. Penelitian ini menunjukkan kemampuan senyawa bioaktif jahe dalam memperbaiki sistem imun atau kekebalan tubuh, terutama pada kondisi normal tanpa stres oksidatif, meskipun demikian potensi melindungi sistem imun dalam keadaan stres oksidatif cukup nyata. Hasil penelitian ini mendukung kepercayaan tradisional bahwa jahe bermanfaat bagi kesehatan dengan cara menaikkan daya tahan tubuh.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan pada DIKTI (Proyek URGE) yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Alberts, B., D. Bray, J.Lewis, M. Raff, K. Roberts and J.D. Watson. 1994. Molecular Biology of the Cell Garland Pub. Co New York.

Al-Khayat, M.A. and G. Blank. 1985. Phenolic spice components sporostatics to *B. substilis*. J. Food Sci. 50: 972-974.

Chen, C., C.K. May and C.T. Ho. 1986. High performance liquid chromatographic determination of pungent gingerol compound of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) J. of Food Sci. 51 (12) 1364-1365.

Cillard, J., P. Cillard and M. Cormier. 1980. Effect of experimental factors on the prooxidant behavior of tocopherol. J. Am. Oil Chem. Soc., 57:255-261

Davidson, P.M. 1983. Phenolic compounds. In : Branen A.L. and P.M. Davidson (eds). Antimicrobials in Foods. Marcel Dekker, Inc., New York.

Freshney, R.I. 1994. Animal cell culture: a practical approach. IRL Press. Oxford, Washingtion D.C.

Gordon, M.H. 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro. In : Hudson, B.J. F. (ed). Food Antioxidants. Elsevier Applied Science. London.

Kikuzaki, H. and N. Nakatani. 1993. Antioxidant effect of some ginger constituents. J. Food Sci. 58:1407-1410.

Nurahman, F.R. Zakaria, Sanjaya dan Sajuthi D. 1999. Pengaruh konsumsi jahe terhadap perlindungan sel limfosit dari stress oxidatif pada mahasiswa di Pondok Pesantren Ulil Albaab, Kedung Badak, Bogor. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan, PATPI& MENPANGHOR

Prangtimurti, E., F.R. Zakaria, S. Fardiaz dan D. Sajuthi. 1999 Efek perlindungan ekstrak jahe terhadap respon imun mencit yang diberi perlakuan stres oxidatif oleh pestisida paraquat. Prosiding. Seminar. Makanan Tradisional UGM, Yogyakarta

Roitt, I.M. 1991. Essential Immunology. Blackwell Scientific Publication, London.

Rose, N.R., E.C. de Macario, J.L. Fahey, H. Friedman and G.M. Penn. 1994. Manual of Clinical Laboratory Immunology. American Society for Microbiology, Wanshington, D.C.

SAS Institute. 1985. SAS User's Guide: Statistic. SAS Institute, Cary, New York.

Suekawa, M.A., K. Ishige, K. Yuasa, M. Sudo, M. Aburada dan E. Hosoya. 1984. Pharmacological studies on ginger I. Pharmacological actions of pungent constituents, (6)-ginger and (6)-shogaol. J. Pharmacobiodyn 7 : 836-848.

Suradikusumah, E. 1989. Kimia Tumbuhan. Depdikbud. Dirjen DIKTI, PAU.

Tang, W. and G. Einsenbrand. 1992. Chinese Drugs of Plant Origin: chemistry, pharmacology and use in traditional and modern medicine. Spring-Verlag, New York. Pp. 1011-1015.

Tejasari dan F.R. Zakaria 2000 Sifat fungsional jahe: fraksi 1 dan 2 senyawa bioaktif oleoresin rimpang jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) menurunkan produk peroxidasi lipid membran sel limfosit secara in vitro. Prosiding Seminar Nasional Industri Pangan,Vol II. PATPI, Bogor

Wikandari, P. 1994. Pengembangan Metode Ekstraksi Dalam Analisa Gingerol dari Jahe Segar dan Beberapa Produk Jahe Olahan. Tesis Pascasarjana IPB. Bogor.

Zakaria, F.R., L. Darsana, H. Wijaya. 1996. Immunity enhancement and cell protection activity of ginger bud and fresh on mouse spleen lymphocyte. Symposium Non Nutritive Health Factors for Future Food. Korean Society of Foods Science and Technology (KoSFoST), September 28-30, 1996.

Zakaria, F.R., J. Wiguna dan A. Hartoyo. 1999. Konsumsi minuman jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) meningkatkan aktivitas sel *Natural Killer* Mahasiswa pesantren Ulil Albab di Bogor. Jur. Teknol. dan Industri Pangan X (2): 40-45.

Zakaria , F.R., Bus Irwan, S.M. Pramudya, Sanjaya. 2000. Intervensi sayur dan buah pembawa vitamin C dan E meningkatkan sistem imun populasi buruh di Bogor. Bul Teknol dan Industri Pangan XI, 2, 21-17