

PROSIDING  
SEMINAR NASIONAL SAINS

*Peran Sains dalam  
Kebangkitan Pertanian*



BOGOR, 1 NOVEMBER 2008



Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Pertanian Bogor  
Bogor

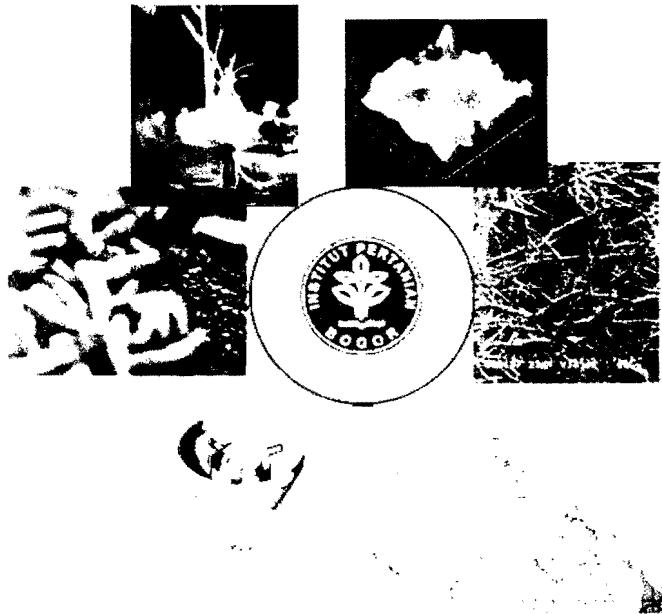
2008

ISBN: 978-979-95093-4-5

PROSIDING  
SEMINAR NASIONAL SAINS

*Peran Sains dalam  
Kebangkitan Pertanian*

BOGOR, 1 NOVEMBER 2008



Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Pertanian Bogor  
Bogor

2008

---

Copyright© 2008

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Institut Pertanian Bogor (IPB)

Prosiding Seminar Nasional Sains: "***Peran Sains dalam Kebangkitan Pertanian***"

Bogor, 1 November 2008

FMIPA-IPB, Jalan Meranti Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

Telp/Fax: 0251-8625481/8625708

<http://fmipa.ipb.ac.id>

vii + 269 halaman

ISBN: 978-979-95093-4-5

## KATA PENGANTAR

Sektor pertanian selain merupakan tumpuan perekonomian bangsa Indonesia, juga sangat berpengaruh terhadap ketahanan bangsa. Terjadinya krisis pangan dan energi merupakan contoh ketidaksiapan sektor pertanian menghadapi tuntutan zaman. Oleh karena itu, peningkatan produktivitas pertanian secara signifikan baik kuantitas maupun kualitas merupakan keharusan untuk mengatasi berbagai krisis terkait pertanian ini.

Penguasaan, pengembangan dan penerapan sains merupakan langkah yang strategis untuk peningkatan produktivitas pertanian secara signifikan. Berkembangnya bioteknologi adalah contoh nyata dari pentingnya sains dalam menjawab tantangan ini. Kini, nanoteknologi merupakan tantangan dan peluang bagi peneliti sains untuk mengembangkannya ke arah pertanian (Nanoteknologi Pertanian). Pemodelan dan teknologi sensor telah dimanfaatkan untuk mengembangkan *precision farming* dan meningkatkan efisiensi pertanian merupakan contoh lain pentingnya sains dalam pertanian. Dukungan sains, juga sangat diperlukan dalam upaya mengatasi krisis energi dengan berbagai sumber energi alternatif. Sains akan berperan dalam memahami dan mengembangkan proses biologis, kimiai maupun fisik sehingga energi alternatif menjadi menguntungkan secara ekonomi dan ramah lingkungan.

Seminar Nasional Sains yang dilaksanakan pada tanggal 1 Nopember 2008 mengambil tema "**Peran sains dalam kebangkitan pertanian**" dengan tujuan untuk mengidentifikasi potensi hasil-hasil penelitian sains, pengembangan dan prospeknya untuk mendukung kebangkitan pertanian dalam upaya mengatasi krisis pangan dan energi. Seminar Nasional Sains ini juga merupakan bagian dari kegiatan Pesta Sains 2008 tingkat nasional yang diselenggarakan oleh FMIPA-IPB setiap tahun yang termasuk kegiatan rangkaian Dies Natalis IPB.

Satu makalah utama dari Menteri Pertanian yang diwakili oleh Sekretaris Jendral Departemen Pertanian, dan tiga makalah undangan dengan tiga topik utama, yaitu nanoteknologi untuk pertanian, pemodelan untuk pertanian, dan sumber energi alternatif dipresentasikan dan didiskusikan pada Seminar Nasional Sains ini. Selain itu 25 makalah hasil penelitian dipresentasikan pada tiga kelas paralel, yaitu Biosains, Sensor dan Pemodelan, serta Energi Alternatif dan Nanosains. Makalah-makalah hasil penelitian ini merupakan isi dari prosiding ini. Seminar dihadiri oleh kalangan dosen dan peneliti dari Perguruan Tinggi, peneliti dari Litbang-litbang Departemen Teknis, Mahasiswa Pascasarjana, dan guru-guru SLTA dengan asal institusi yang terbentang dari Nangro Aceh Darussalam sampai Manado dan Makassar.

Ucapan terima kasih disampaikan kepada FMIPA-IPB yang telah mendukung penuh kegiatan Seminar Nasional Sains yang pertama ini. Ucapan terima kasih juga untuk seluruh Panitia Seminar dan mahasiswa dari tim dari Pesta Sains 2008, serta semua pihak yang telah mensukseskan acara seminar ini. Kami sangat berterima kasih juga kepada semua pemakalah atas kerjasamanya, sehingga memungkinkan prosiding ini terbit. Akhir kata, kami menunggu kritik dan saran dari sidang pembaca untuk perbaikan ke depan, dan semoga prosiding ini bermanfaat bagi semua pihak.

Bogor, Desember 2008

*Panitia Seminar Nasional Sains 2008  
FMIPA-IPB Bogor*

## **Panitia Seminar Nasional Sains**

Penanggung Jawab : Kiagus Dahlia (Wakil Dekan FMIPA IPB)

Ketua Pelaksana : Ence Darmo (Koordinator Komisi Penelitian FMIPA IPB)

Sekretaris : Suryani

Bendahara : Dyah Iswantini

Sie Publikasi & Dokumentasi : Irman Hermadi, Kusman Sadik, Indahwati

Sie Dana & Pameran : Nur Aidi, Idung Risdianto

Sie Ilmiah & Persidangan : Miftahudin, Zaenal Hasan

Sie Perlengkapan & Logistik : Juharuddin, Akhiruddin

Sie Konsumsi : Fitri dkk

Pameran Departemen & Workshop : Ali Kusnanto, Sobri Effendy

## DAFTAR ISI

No.	PENULIS	JUDUL	HALAMAN
<b>BIOSAINS</b>			
1	Dyah Iswantini, Gustini Syabirin, Wiwi Pratiwi	<u>Daya Inhibisi Ekstrak air dan Etanol Temu Putih (<i>Curcuma zedoaria</i>) terhadap Aktivitas Enzim Tirozin Kinase secara <i>In Vitro</i></u>	1
2	Lisiard Dimara, Ferdy S Rondonuwu, Leenawaty Limantara	<u>Uji Fisika-Kimia Stabilitas Pigmen Karetoid pada Ekstrak Kasar Buah Merah Papua (<i>Pandanus conoideus Lam.</i>) Potensi sebagai Pewarna Alami</u>	17
3	Ani Rosiyanti, Leenawaty Limantara	<u>Degradasi Bakteriofagofobia dalam Pelarut Methanol oleh Asam</u>	33
4	Fahruddin	<u>Penggunaan Bahan Organik Tanah sebagai Sumber Inokulum dalam Mengatasi Lahan Tercemar Lumpur Minyak</u>	44
5	AE Zainal Hasan, IM Artika, Popi, M Lasmiyanti	<u>Alternatif Antikaries Gigi: Propolis</u>	51
6	Arinana, Yudi Rismayadi, Mustika Dewi	<u>Efikasi Fumigan Aluminium Phosphida terhadap Rayap Kayu Kering <i>Cryptotermes cynocephalus</i> (Isoptera: Kalotermitidae)</u>	71
7	Elsa Lisanti, Nurmasari S, Maria Ulfa, Herdis	<u>Pengaruh Pengencer Susu Kedelai dengan Penambahan Fruktosa terhadap Motilitas dan Daya Tahan Hidup Spermatozoa pada Semen Cair Domba (<i>Ovis aries</i>)</u>	80
8	Priatna Sasmita	<u>Daya Kultur Antera Berbagai Genotipe Padi Sawah <i>Oryza sativa</i> L. subsp. <i>indica</i></u>	88
9	Widaningrum, Abubakar	<u>Inovasi teknologi Pengolahan Sayuran: Sayuran Kering dan Sayuran Siap Santap</u>	98
10	Abubakar, Widaningrum	<u>Penentuan Critical Control Points (CCP) dan Control Points (CP) pada Proses pembuatan Mi Basah dari Tepung Ubi Jalar dengan Campuran Pati Ubi Kayu</u>	111
11	Winarsih, Sri Mulyaningsih	<u>Kadar Unsur Hara Kompos Bahan Baku Sampah Rumah Tangga</u>	128
<b>ENERGI ALTERNATIF</b>			
12	Hamim, Miftahudin	<u>Tantangan dan Kendala Pengembangan Komoditas Penghasil Bahan Bakar Minyak Nabati (Biofuel): Studi Kasus Nusa Tenggara dan Bali</u>	136
13	Eniya Listiani Dewi, MA Rachman	<u>Pembuatan Fuel Cell sebagai Sumber Energi Alternatif Menggunakan BioHidrogen sebagai Bahan Bakar baru</u>	144
14	M Rifki, Irzaman, H Alatas	<u>Optimasi Efisiensi Tungku Sekam dengan Variasi Lubang Utama pada Badan Kompor</u>	151

No.	PENULIS	JUDUL	HALAMAN
15	Heru Wahyudi	<u>Alat Penghemat Listrik untuk Semua Jenis Setrika Menggunakan Sistem Sensor</u>	162
16	Bilalodin	<u>Desain Sistem Sensor Kecepatan Angin Secara Real Time</u>	170
17	Suprihatin	<u>Perolehan Kembali Bahan Bernilai Ekonomis dari Limbah Cair Industri Pertanian</u>	176

## NANOSAINS

18	Akhiruddin Maddu, F Mourad, ST Wahyudi, M Kurniati	<u>Fotoelektroda Nanokristal TiO<sub>2</sub> Termodifikasi ZnO untuk Aplikasi Sel Surya Tersensitisasi Dye dengan Elektrolit Konduktor Hole CuSCN</u>	187
19	Irzaman, J Zamal, N Sabani	<u>Atomic Force Microscopy Nanoscale Study of Aluminum Thin Film on Si (100) Substrate</u>	198
20	Henny Purwaningsih, E Johan, N Matsue, T Henmi	<u>Sintesis dan Uji Aktivitas Adsorpsi Nano-tubular Imogolite Tersubstitusi Cu</u>	202
21	Kiagus Dahlia, AN Laeny, A Maddu, S Giat,	<u>Synthesis of Amorphous Calcium Phosphate made of Eggshell by Low Temperature-Precipitation Method</u>	207

## MODEL DAN SENSOR

22	Eti Dwi Wiraningsih, Widodo, L Aryati, S Toaha	<u>Model SIS dengan Pertumbuhan Logistik</u>	215
23	Sri Nurdiani	<u>Information Extraction Using Knowledge Graft Method</u>	226
24	Yiyi Sulaeman, R Shofiyati, S Bachri	<u>Integrasi Teknologi GIS dan Web dalam Konservasi dan Diseminasi Informasi Spasial Sumberdaya Lahan Pertanian</u>	236
25	Effendi Tri Bahtiar	<u>Optimalisasi Produksi Glulam Melalui Pemilahan Lamina</u>	256

## Daya Inhibisi Ekstrak air dan Etanol Temu Putih (*Curcuma zedoaria*) terhadap Aktivitas Enzim Tirosin Kinase secara *In Vitro*

Dyah Iswantini<sup>1,2</sup>, Gustini Syabirin<sup>1</sup> dan Wiwi Pratiwi<sup>1</sup>.

<sup>1)</sup> Departemen Kimia FMIPA IPB, Bogor.

<sup>2)</sup> Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB, Bogor

### Abstrak

Enzim tirosin kinase merupakan enzim yang berperan penting dalam mengatur perkembangan sel kanker. Suatu zat yang dapat menginhibisi aktivitas enzim tirosin kinase akan mampu menghambat perkembangan sel kanker. Temu putih merupakan tanaman yang memiliki potensi sebagai antikanker. Tujuan penelitian ini untuk menguji potensi ekstrak air demineralisasi (akuadem), ekstrak air panas, dan ekstrak etanol 70% dari rimpang temu putih sebagai antikanker dengan menentukan daya inhibisinya terhadap enzim tirosin kinase secara *in vitro*. Penentuan daya inhibisi tersebut dilakukan dengan menggunakan metode ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) dengan genistein sebagai kontrol positif. Simplisia rimpang temu putih yang berkadar air 10,42% mempunyai rendemen ekstrak dalam pelarut etanol 70%, air demineralisasi (akuadem), dan air panas diperoleh berturut-turut sebesar 24,51%; 9,65%; dan 12,22%. Ketiga ekstrak yang mengandung alkaloid dan flavonoid tersebut mampu menghambat aktivitas enzim tirosin kinase lebih besar daripada genistein pada konsentrasi ekstrak 700 ppm. Penghambatan terbesar dihasilkan oleh ekstrak etanol dengan daya hambat sebesar 27,77%, diikuti oleh ekstrak akuadem dan ekstrak air panas berturut-turut sebesar 26,13% dan 24,50%. Adanya daya hambat dari ekstrak temu putih terhadap aktivitas tirosin kinase menunjukkan potensi tanaman tersebut untuk digunakan sebagai obat antikanker.

**Kata kunci:** daya inhibisi, temu putih (*curcuma zeodaria*), enzim tirosin kinase, kanker

### 1. PENDAHULUAN

Kanker atau tumor merupakan penyakit paling mematikan di dunia setelah jantung koroner. Kanker menyebabkan 6 juta kematian setiap tahunnya atau 12% dari populasi dunia (WHO 2004). Pengobatan kanker secara medis yang biasa dilakukan selama ini adalah radioterapi, kemoterapi, immunoterapi, gen terapi, dan pembedahan. Meskipun saat ini pengobatan tersebut merupakan pengobatan utama dalam kanker tetapi masih banyak masyarakat yang tidak mau melaksanakannya karena alasan-alasan tertentu seperti alasan psikologis, ekonomi, dan adanya efek samping. Efek samping yang biasa timbul antara lain cacing, diare, gangguan pencernaan (Simadibrata 2004), pengurangan sel darah putih, anemia (Hukom 2004), terjadinya malnutrisi, kulit kering dan berubah warna (Hariani 2004),

pendarahan, infeksi, dan kebotakan. Hal ini menyebabkan banyak penderita kanker cenderung mencari alternatif pengobatan lain.

Penemuan tanaman-tanaman obat yang menunjukkan efek farmakologis terhadap penyakit kanker terutama yang telah mengalami uji secara ilmiah telah memberikan alternatif dalam mengatasi dan mengobati penyakit kanker. Penggunaan tanaman obat untuk kanker selain diketahui ampuh, juga tidak menimbulkan efek samping serta murah.

Salah satu dari tanaman obat di Indonesia yang berpotensi sebagai obat kanker adalah temu putih (*Curcuma zedoaria*) disamping tanaman obat lain seperti sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness), keladi tikus (*Typonium flagelliforme*), dan mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Scheff). Chan Minyi (2001), menyebutkan bahwa tanaman temu putih mempunyai efektivitas tinggi untuk mengatasi kanker dan tumor. *American Institut Cancer Report* (New York Time) melaporkan bahwa temu putih mengandung protein penginaktif ribosom (RIP) yang mampu membasmikan sel kanker, sebagai senyawa antioksidan dan antiradang. Senyawa monoterpen yang terkandung dalam minyak atsiri temu putih berkhasiat sebagai antineoplastik (antikanker) dan telah terbukti dapat menonaktifkan pertumbuhan sel kanker payudara. Iswantini *et al.* (2003) melaporkan bahwa temu putih yang mengandung terpenoid, alkaloid, dan flavonoid berpotensi tinggi sebagai antikanker. Ekstrak kasar flavonoid temu putih pada berbagai konsentrasi di bawah nilai LC<sub>50</sub>-nya mempunyai daya hambat terhadap aktivitas tirosin kinase melebihi inhibitor sintetis genistein. Daya hambat tertinggi diperoleh dari fraksi teraktif ekstrak kasar flavonoid temu putih, yaitu sebesar 93,4%.

Tirosin kinase memainkan peranan penting dalam pengaturan pertumbuhan sel dan diferensiasi. Aktivitas tirosin kinase sebagai reseptör faktor pertumbuhan dan produk protein onkogen sangat penting bagi perbanyakannya sel. Inhibitor spesifik yang ditargetkan terhadap domain aktivitas tirosin kinase mungkin merupakan obat antiperkembangbiakan yang potensial. Salah satu inhibitor tirosin kinase yang telah diketahui adalah isoflavan alami genistein dan deidzein (Challem *et al.* 2002).

Setiawan (2004) menyimpulkan bahwa ekstrak flavonoid dari rimpang temu putih berpotensi menghambat aktivitas enzim tirosin kinase. Berdasarkan penelitian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut, salah satunya adalah menentukan daya inhibisi ekstrak air dan ekstrak etanol dari rimpang temu putih terhadap tirosin kinase.

Penelitian ini bertujuan menguji dan membandingkan khasiat dari ekstrak akadem, ekstrak air panas, dan ekstrak etanol 70% dari rimpang temu putih sebagai antikanker berdasarkan daya inhibisinya terhadap aktivitas tirosin kinase. Hipotesis yang diajukan ialah

terdapat perbedaan daya inhibisi dari ketiga ekstrak yang diuji terhadap aktivitas tirosin kinase.

## 2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini terdiri atas tiga bagian, yaitu (1) analisis bahan, ekstraksi, penentuan rendemen, dan uji fitokimia ekstrak; (2) uji toksitas  $LC_{50}$  ekstrak; (3) penentuan daya inhibisi ekstrak terhadap aktivitas tirosin kinase. Bagan alir penelitian terdapat pada Lampiran 3.

### 2.1. Pengeringan dan Penentuan Kadar Air

Proses pengeringan dilakukan untuk memperoleh sampel rimpang temu putih kering yang selanjutnya akan digunakan untuk proses ekstraksi. Rimpang temu putih yang sudah dicuci, diiris tipis, dan dikeringkan dalam oven suhu  $40^{\circ}\text{C}$  sampai diperoleh kadar air  $\pm 10\%$ , kemudian digiling sampai menjadi serbuk berukuran 40 mesh.

Penentuan kadar air sampel sebelum diekstraksi, dilakukan untuk mengetahui kandungan air dalam sampel yang berhubungan dengan tingkat kestabilannya terhadap aktivitas mikrob. Cawan porselin dikeringkan pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit kemudian didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Serbuk rimpang temu putih kering sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam cawan porselin dan dikeringkan dalam oven pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 3 jam kemudian didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Serbuk temu putih kering dalam cawan dikeringkan lagi selama 3 jam pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$ , didinginkan dan ditimbang kembali. Prosedur dilakukan berulang-ulang sampai diperoleh bobot yang tetap.

### 2.2. Ekstraksi dengan Pelarut Etanol 70%

Sebanyak 150,01 g serbuk rimpang temu putih kering dicuci dengan 600 mL pelarut *n*-heksana selama 3 jam. Sampel kemudian diekstraksi dengan 600 mL etanol 70% selama 2 hari lalu disaring. Ekstraksi dilakukan 3 kali. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan labu penguap putar pada suhu di bawah  $50^{\circ}\text{C}$  sampai diperoleh residu kering. Hasil ekstrak ini selanjutnya digunakan untuk penentuan nilai  $LC_{50}$  dan diuji daya inhibisinya terhadap aktivitas tirosin kinase.

### 2.3. Ekstraksi dengan Pelarut Air Demineralisasi (Akuadem)

Sebanyak 150,02 g serbuk rimpang temu putih kering dicuci dengan 600 mL pelarut *n*-heksana selama 3 jam. Kemudian sampel diekstrak secara maserasi dengan 600 mL akuadem selama 2 hari. Ekstraksi dilakukan 3 kali. Filtrat yang dihasilkan dikeringkan

menggunakan metode pengering beku (*freeze-dried*). Ekstrak kering yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk penentuan nilai LC<sub>50</sub> dan pengujian daya inhibisi terhadap aktivitas tirosin kinase.

#### 2.4. Ekstraksi dengan Pelarut Air Panas (Air Seduhan)

Sebanyak 150,10 g serbuk rimpang temu putih diseduh dengan 900 mL air mendidih kemudian diaduk terus sampai menjadi dingin lalu disaring. Penyeduhan dilakukan 2 kali. Filtrat yang diperoleh dikeringkan menggunakan metode pengering beku (*freeze-dried*). Ekstrak kering yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk penentuan nilai LC<sub>50</sub> dan pengujian daya inhibisi terhadap aktivitas tirosin kinase.

#### 2.5. Uji Fitokimia (Metode Harborne 1996).

Uji fitokimia yang akan dilakukan meliputi uji flavonoid, uji alkaloid, uji terpenoid dan steroid, uji saponin, uji kuinon serta uji tanin.

**Uji Alkaloid.** Sebanyak 1 gram ekstrak dilarutkan dengan kloroform dan beberapa tetes NH<sub>4</sub>OH kemudian disaring dalam tabung reaksi tertutup. Ekstrak kloroform dalam tabung reaksi dikocok dengan 10 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 M lalu lapisan asamnya dipisahkan dalam tabung reaksi yang lain. Lapisan asam ini diteteskan pada lempeng tetes dan ditambahkan pereaksi Dragendorf, Mayer dan Wagner yang akan menimbulkan endapan dengan warna berturut-turut merah jingga, putih, dan cokelat.

**Uji Flavonoid.** Sebanyak 5 mL filtrat ditambahkan serbuk magnesium (0,5 gram), 1 mL alkohol klorhidrat (campuran HCl 37% dan etanol 95% dengan volume sama), dan amil alkohol, kemudian dikocok kuat-kuat. Terbentuknya warna merah, kuning, dan jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya golongan flavonoid. Sebanyak 1 mL ekstrak ditambah dengan 1 mL metanol 95%, 0,5 g Zn, dan 2 tetes HCl 2N, didiamkan selama 2 menit lalu ditambah 1 mL HCl pekat. Uji akan positif untuk glikosida flavonoid bila dalam 2-5 menit terbentuk warna merah intensif.

**Uji Terpenoid dan Steroid.** Sebanyak 2 gram ekstrak tanaman dilarutkan dengan 25 mL etanol panas (50 °C) kemudian disaring kedalam pinggan porselin dan diuapkan sampai kering. Residu ditambahkan eter dan ekstrak eter dipindahkan ke dalam lempeng tetes lalu ditambahkan 3 tetes anhidrida asetat dan 1 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat (Uji Lieberman-Buchard). Warna merah atau ungu menunjukkan kandungan terpenoid sedangkan warna hijau atau biru menunjukkan kandungan steroid.

**Uji Saponin.** Sebanyak 1 gram ekstrak tanaman dimasukkan ke dalam gelas piala dan ditambahkan 100 mL air panas dan dididihkan selama 5 menit kemudian disaring dan filtrat digunakan untuk pengujian. Uji saponin dilakukan dengan pengocokan 10 mL filtrat ke dalam tabung tertutup selama 10 menit. Timbulnya busa hingga selang waktu 10 menit (busa stabil) menunjukkan adanya saponin.

**Uji Kuinon.** Sebanyak 1 gram ekstrak tanaman ditambah 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring. Ke dalam 10 mL filtrat ditambahkan beberapa tetes NH<sub>4</sub>OH 1N. Warna merah yang terbentuk menunjukkan adanya kuinon.

**Uji Tanin.** Sebanyak 1 gram ekstrak tanaman ditambahkan 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring. Sebagian filtrat ditambahkan FeCl<sub>3</sub>. Terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan terdapatnya tanin.

## 2.6. Uji Toksisitas Larva Udang (LC<sub>50</sub>)

Telur udang ditetaskan dalam gelas piala berisi 200 mL air laut dan dilengkapi dengan aerator. Setelah dua hari, telur udang akan menetas menjadi *naupili* atau larva udang. Ekstrak kasar ditimbang dan dilarutkan dalam air laut sehingga didapatkan konsentrasi 10, 100, 500, dan 1000 ppm (Meyer *et al.* 1982). Sebanyak 10 ekor larva udang ditempatkan pada masing-masing sumur yang telah diberi ekstrak. Jumlah larva udang yang mati dihitung setelah 24 jam. Data yang didapat dianalisis menggunakan program 'Analisis Probit' dengan derajat kepercayaan 95 % untuk mendapatkan nilai LC<sub>50</sub>. Sebagai kontrol digunakan air laut tanpa penambahan ekstrak (Meyer *et al.* 1982).

## 2.7. Pelapisan pada Lempeng Mikro

Pelapisan dilakukan dengan cara berikut. Plastik penutup dilepaskan dari tempatnya, kemudian jumlah sumur yang diperlukan ditempatkan dalam lempeng penyanga. Sampel larutan stok substrat PTK (PGT, Polimer sintetik acak poli-Glu-Tyr) dicairkan, dan sebanyak 125 µL substrat tersebut ditambahkan ke dalam masing-masing sumur, lalu lempeng mikro ditutup. Kemudian lempeng diinkubasi sepanjang malam pada suhu 37 °C. Setelah itu, larutan PTK substrat yang tidak terlapis dibuang dan masing-masing sumur dicuci dengan 200 µL buffer pencuci (PBS-Tween 20), kemudian buffer pencuci dibuang dan sumur dikeringkan selama 2 jam dengan suhu 37 °C.

## 2.8. Pengujian Protein Tirosin Kinase

Pelarut buffer tirosin kinase (BTK) dengan konsentrasi 1x dibuat dengan cara, sebanyak 1 mL BTK konsentrasi 10x dilarutkan dengan 9 mL air deionisasi. Sebanyak 32,5  $\mu\text{L}$  *epidermal growth factor receptor* (EGFR) (130 U) dicairkan, kemudian ditambah 292,5  $\mu\text{L}$  BTK (1x) (setiap 10  $\mu\text{L}$  mengandung 4 U), campuran diaduk dan disimpan dalam es. Larutan stok ATP sebanyak 128  $\mu\text{L}$  dilarutkan dengan 3,2 mL BTK (1x), dicampurkan dan disimpan dalam es. Vial 600  $\mu\text{L}$  disiapkan sebanyak 3 vial untuk masing-masing ekstrak, 1 vial untuk kontrol EGFR dan 1 vial untuk genistein. Sebanyak 20  $\mu\text{L}$  EGFR dimasukkan ke dalam tiap vial, kemudian ditambahkan 20  $\mu\text{L}$  ekstrak 300 ppm untuk vial khusus sampel, 20  $\mu\text{L}$  genistein 300 ppm untuk vial kontrol positif dan 20  $\mu\text{L}$  air bebas ion sebagai kontrol EGFR (kontrol negatif), masing-masing vial diinkubasi di dalam es selama 10 menit. Sebanyak 90  $\mu\text{L}$  BTK (1x) yang mengandung ATP dimasukkan ke dalam masing-masing sumur. Ke dalam tiap sumur ditambahkan masing-masing 20  $\mu\text{L}$  larutan sampel yang berisi EGFR, dilakukan duplo. Tiap sumur sampel berisi 10  $\mu\text{L}$  sampel 300 ppm dan 10  $\mu\text{L}$  EGFR 4 U dengan konsentrasi ATP 0,3 mM. Kemudian sumur-sumur ditutup dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Campuran dikeluarkan dari masing-masing sumur, dan sumur dicuci dengan 200  $\mu\text{L}$  buffer pencuci dengan lima kali pengulangan. Setelah itu, sebanyak 100  $\mu\text{L}$  larutan antibodi konjugat *horseradish peroxidase* (HRP), dengan pelarutan yang tepat dimasukkan ke dalam sumur. Sumur ditutup dan diinkubasi selama 30 menit pada temperatur ruangan. Sisa larutan konjugat dari tiap sumur dibuang dan sumur dicuci dengan 200  $\mu\text{L}$  buffer pencuci, pencucian dilakukan lima kali. Larutan substrat peroksidase segar dibuat dengan cara pelarutan satu tablet *0-Phenylenediamine* (OPD) dan satu tablet urea hidrogen peroksid dalam 20 mL air deionisasi, dicampurkan sampai larut dan dihindarkan dari cahaya sampai digunakan, larutan ini tidak untuk disimpan. Kemudian, sebanyak 100  $\mu\text{L}$  larutan substrat OPD segar ditambahkan pada masing-masing sumur dan diinkubasi selama tujuh menit dalam keadaan gelap dan suhu ruangan. Warna orange-kuning akan muncul dalam sumur yang positif (Lampiran 4). Reaksi dihentikan dengan penambahan 100  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{SO}_4$  2,5 N pada masing-masing sumur. Sumur diukur serapannya pada 490 nm. Pengukuran harus dalam waktu 30 menit dalam mikropelat ELISA yang ditetapkan pada hari penambahan larutan penghenti. Persentasi daya inhibisi ekstrak terhadap tirosin kinase diperoleh dengan

$$\text{perhitungan: } \left[ 1 - \frac{\text{Absorbans ekstrak}}{\text{Absorbans EGFR}} \right] \times 100\%$$

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1. Kadar Air

Penentuan kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan air yang terdapat dalam sampel tanaman (Lampiran 5). Dengan mengetahui kadar air suatu sampel, dapat juga diperkirakan cara penanganan terbaik bagi sampel untuk menghindari pengaruh aktivitas mikrob. Kadar air rimpang temu putih segar diperoleh sebesar 82,81% (Tabel 1). Hal ini berarti air yang terkandung dalam rimpang temu putih segar masih sangat besar. Sementara itu, kadar air rimpang temu putih hasil pengeringan dengan oven bersuhu 40 °C selama 4 hari diperoleh sebesar 10,42% (Tabel 1). Proses pengeringan menyebabkan kandungan air pada sampel berkurang cukup besar. Hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya perubahan kimia yang tidak diinginkan pada sampel.

**Tabel 1. Data kadar air rimpang temu putih**

Rimpang Temu putih	Kadar air (%)
Sampel segar	82,81
Sampel kering	10,42

Kandungan air dalam suatu bahan mempengaruhi daya tahan bahan terhadap serangan mikrob. Semakin besar kandungan air dalam suatu bahan, maka semakin rendah daya tahananya terhadap serangan mikrob. Bagian tanaman yang sudah benar-benar kering masih dapat dianalisis walaupun telah disimpan dalam jangka waktu lama.

#### 3.2. Ekstraksi

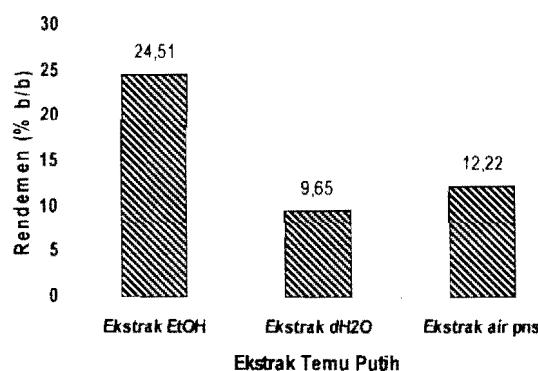
Pada awal proses maserasi, seluruh serbuk rimpang temu putih yang akan digunakan, diekstraksi terlebih dahulu menggunakan *n*-heksana. Hal ini dilakukan untuk menghilangkan komponen lemak yang mungkin akan mengganggu proses penanganan ekstrak selanjutnya. Ampas yang tersisa lalu diekstraksi masing-masing menggunakan pelarut etanol 70% dan akuadem. Ekstrak etanol 70% dipekatkan menggunakan labu penguap putar pada suhu 40 °C untuk mencegah kemungkinan terjadinya kerusakan komponen yang terkandung dalam ekstrak.

Penggunaan beberapa pelarut yang berbeda dimaksudkan untuk melihat pengaruh perbedaan kepolaran pelarut terhadap kandungan senyawa kimia dalam ekstrak. Etanol memiliki gugus hidroksil yang bersifat polar dan rantai alkil yang bersifat nonpolar. Adanya kedua gugus tersebut menyebabkan senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran berbeda diharapkan terekstrak ke dalam etanol. Sementara itu, penggunaan pelarut akuadem, selain

karena air lebih bersifat polar dibandingkan dengan etanol sehingga dapat menarik senyawa yang memiliki tingkat kepolaran lebih tinggi, penggunaan pelarut akuadem juga dimaksudkan untuk melihat pengaruh keberadaan mineral dalam air.

Penyeduhan serbuk rimpang temu putih kering dengan air mendidih didasari oleh pemakaian tradisional rimpang sebagai obat, yaitu dengan cara diseduh. Ekstrak yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan pengering beku untuk menghindari kerusakan komponen dalam ekstrak. Pada proses *freeze drying*, bahan dibekukan terlebih dahulu dan es yang terjebak di dalamnya dibuang dengan pompa vakum (es menyublim). Dengan demikian air dapat disingkirkan tanpa merusak bahan yang dikeringkan (Daintith 1990) dan dapat mencegah kemungkinan hilangnya senyawa tertentu yang tidak tahan terhadap kalor, sebab pada cara ini tidak ada penggunaan kalor dalam proses pengeringannya.

Ekstrak etanol 70% (EtOH) yang dihasilkan berbentuk oily berwarna cokelat dengan rendemen sebesar 24,51%. Rendemen dari ekstrak akuadem ( $dH_2O$ ) diperoleh sebesar 9,65% dan rendemen ekstrak air panas sebesar 12,22% (Gambar 1).



Gambar 1. Nilai rendemen (%) tiap ekstrak temu putih

### 3.3. Kandungan Fitokimia

Semua ekstrak yang diperoleh termasuk pula rimpang segar dan kering temu putih selanjutnya diuji fitokimia. Hal ini dimaksudkan untuk mengetahui perbedaan kandungan senyawa dalam masing-masing ekstrak akibat adanya pengaruh perbedaan pelarut dan suhu pada pengeringan sampel. Senyawa metabolit sekunder yang diperiksa adalah alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid, saponin, tanin, serta kuinon. Hasil penapisan fitokimia terhadap masing-masing rimpang dan ekstrak temu putih ditampilkan pada Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil penapisan fitokimia**

Golongan Senyawa	Sampel				
	SS	SK	EE	EAdm	EAp
Alkaloid	+++	+++	+++	+++	+++
Flavonoid aglikon	+++	+++	+++	+++	+++
Flavonoid glikosida	-	-	-	-	-
Terpenoid	+++	+++	+	-	-
Steroid	-	-	-	-	-
Saponin	++	++	-	-	-
Tanin	-	-	-	-	-
Kuinon	-	-	-	-	-

Keterangan:

SS : Sampel segar      (+) : Hasil uji positif  
 SK : Sampel kering      (-) : Hasil uji negatif  
 EE : Ekstrak etanol 70%  
 EAdm: Ekstrak akuadem  
 Eap : Ekstrak air panas

Tabel 2 menunjukkan bahwa rimpang temu putih segar dan kering mengandung senyawa metabolit sekunder, antara lain alkaloid, flavonoid dalam bentuk aglikon, terpenoid, dan saponin. Proses pengeringan rimpang pada suhu 40°C tampaknya tidak merusak kandungan senyawa metabolit sekundernya. Akan tetapi, ekstraksi dengan *n*-heksana dapat menghilangkan sebagian besar kandungan terpenoid dalam ampas sehingga uji terpenoid negatif pada ekstrak akuadem dan ekstrak air panas, dan pada ekstrak etanol 70% kandungannya berkurang.

Sebaliknya dalam Tabel 2 diperlihatkan bahwa flavonoid dan alkaloid praktis terekstrak seluruhnya dalam ketiga pelarut yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa flavonoid dan alkaloid yang terdapat dalam rimpang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda, sehingga dapat terekstrak dalam masing-masing pelarut yang digunakan. Flavonoid yang terkandung dalam rimpang temu putih segar, rimpang kering, dan semua ekstrak adalah jenis flavonoid aglikon, yaitu flavonoid bebas yang tidak berikatan dengan glikosida. Adanya kandungan alkaloid ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna merah jingga dengan pereaksi Dragendorf, warna cokelat dengan pereaksi Wagner dan endapan putih dengan pereaksi Mayer. Adanya kandungan flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning jingga pada lapisan amil alkohol pada ekstrak.

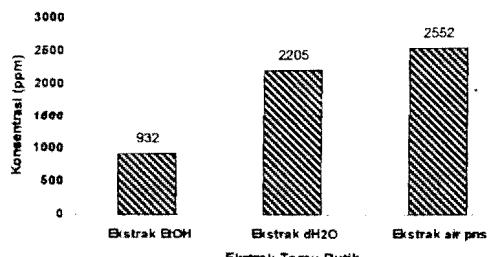
Berdasarkan hasil penapisan fitokimia pada Tabel 2 menunjukkan bahwa uji saponin terhadap ketiga ekstrak negatif. Hal ini menunjukkan bahwa saponin yang terdapat dalam

rimpong temu putih cenderung bersifat non polar, sehingga tidak dapat terekstrak oleh beberapa pelarut yang bersifat semi polar dan polar yang telah digunakan.

### 3.4. Uji Toksisitas Larva Udang

Larva udang yang digunakan berumur 48 jam. Pada kondisi ini larva udang berada pada kondisi yang paling peka terhadap kondisi lingkungan. Hal ini disebabkan dinding sel larva masih lunak, sehingga senyawa asing dalam air laut yang diserap melalui dinding selnya akan segera mempengaruhi hidup larva tersebut. Senyawa asing yang bersifat toksik itu akan mengakibatkan kematian pada larva udang tersebut.

Jumlah larva udang yang mati akibat penambahan ekstrak kasar kemudian dianalisis dengan menggunakan analisis Probit. Berdasarkan hasil pengujian, diduga bahwa ekstrak etanol 70% mengandung senyawa bioaktif yang bersifat toksik karena nilai  $LC_{50}$ -nya kurang dari 1000 ppm yaitu sebesar 932 ppm. Dugaan tersebut didasarkan pada pernyataan Meyer *et al.* 1982, yang menyatakan bahwa senyawa yang mempunyai nilai  $LC_{50}$  lebih kecil dari 1000 ppm dikatakan memiliki potensi bioaktivitas. Senyawa bioaktif adalah senyawa kimia yang dapat memberikan efek atas jaringan biologi, yang selanjutnya diharapkan dapat bermanfaat sebagai obat yang mampu menghambat perkembangan mikroorganisme penyebab penyakit bahkan mampu membunuh mikroorganisme tersebut. Hal ini dapat berarti bahwa ekstrak etanol 70% memiliki aktivitas yang dapat mempengaruhi fungsi fisiologis dari organ, jaringan, atau sel jika digunakan serta sangat berpotensi sebagai obat. Sementara itu, ekstrak akuadem menghasilkan nilai toksisitas  $LC_{50}$  sebesar 2,205 ppm dan ekstrak air panas sebesar 2,552 ppm (Gambar 2). Nilai  $LC_{50}$  untuk ekstrak akuadem dan ekstrak air panas lebih dari 1000 ppm menunjukkan bahwa kedua ekstrak tersebut kurang bersifat toksik atau baru bersifat toksik pada konsentrasi tinggi, sehingga dapat digunakan sebagai indikasi keamanan untuk dikonsumsi oleh tubuh kita. Berdasarkan hal tersebut, diharapkan bahwa konsumsi kedua ekstrak temu putih ini secara kontinyu tidak akan memberi efek toksik terhadap tubuh.



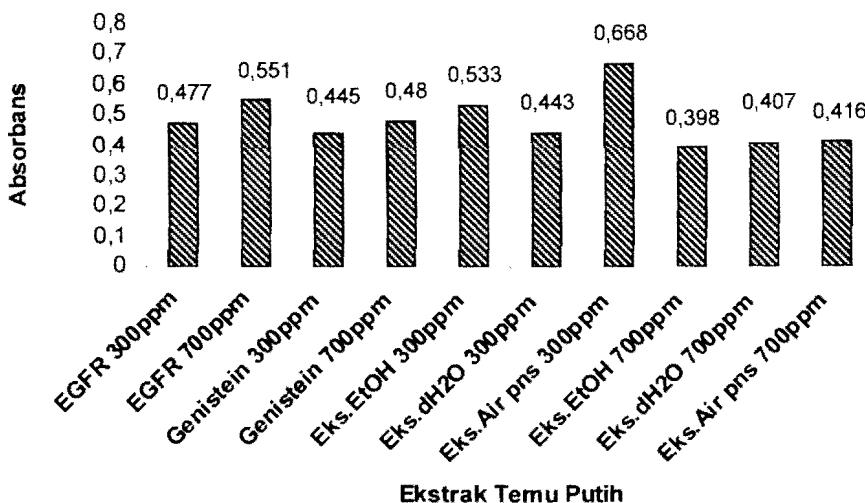
Gambar 2. Nilai  $LC_{50}$  tiap ekstrak temu putih terhadap larva *A. Salina*

Berdasarkan sejumlah pengalaman eksperimental, terbukti bahwa sebagian besar tanaman yang memiliki nilai toksisitas yang tinggi memiliki potensi sebagai antikanker, karena toksisitas yang dimilikinya tersebut dapat pula bekerja pada fase tertentu dari siklus sel tumor. Alam (2002) menyebutkan bahwa beberapa senyawa bioaktif yang telah berhasil diisolasi dan dimonitor aktivitasnya dengan uji toksisitas larva udang BSLT (*brine shrimp lethality test*) menunjukkan adanya korelasi terhadap suatu uji spesifik antikanker. Pengujian tingkat toksisitas dari ekstrak yang diperoleh dilakukan untuk menentukan konsentrasi yang akan digunakan pada uji enzimatis terhadap aktivitas tirosin kinase.

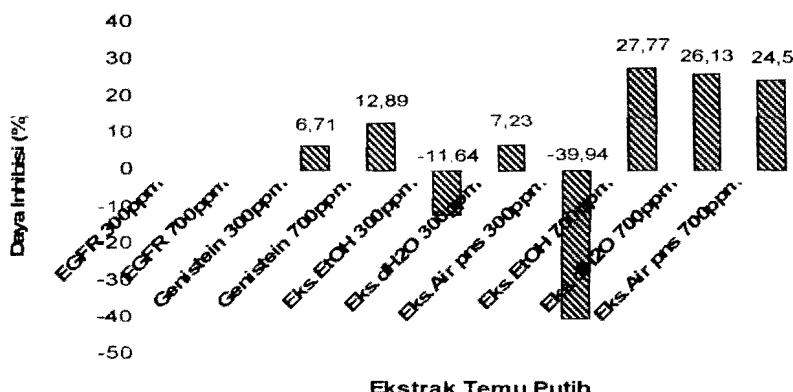
Menurut Meyer *et al.* (1982), suatu ekstrak atau fraksi dari suatu tanaman dianggap memiliki efek positif terhadap uji kematian larva udang jika LC<sub>50</sub>-nya kurang dari 1000 ppm, hanya spektrum keaktifannya masih sangat luas. Uji toksisitas larva udang tidak spesifik untuk antitumor, tetapi kemampuannya untuk mendeteksi 14 dari 24 ekstrak *Euphorbiaceae* yang aktif terhadap uji 9PS dan mendeteksi 2 dari 6 spesies yang aktif terhadap uji 9KB memungkinkan uji toksisitas larva udang dapat digunakan sebagai uji praskrining senyawa bioaktif.

### 3.5. Uji Inhibisi terhadap Aktivitas Tirosin Kinase

Uji daya inhibisi secara *in vitro* dari ekstrak kasar tanaman yang diperoleh dilakukan dengan menggunakan uji ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*). Konsentrasi yang digunakan pada pengujian terhadap aktivitas tirosin kinase secara *in vitro* ini adalah konsentrasi yang berada di bawah nilai LC<sub>50</sub> dari tiap ekstrak. Hal ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat aktivitas enzim pada keadaan yang praktis tidak toksik, sehingga dapat diketahui tingkat kekuatan dari ekstrak yang digunakan pada kondisi yang paling aman bagi tubuh. Konsentrasi yang digunakan dalam pengujian sebesar 300 ppm dan 700 ppm untuk masing-masing ekstrak. Pengujian dilakukan dengan kontrol negatif (tanpa penambahan ekstrak) dan kontrol positif (mengandung genistein pada konsentrasi 300 ppm dan 700 ppm). Hasil yang diperoleh berupa nilai absorbans dari aktivitas enzim tirosin kinase (Gambar 3). Nilai absorbans yang dihasilkan berbanding terbalik dengan daya inhibisinya. Semakin kecil nilai absorbans yang dihasilkan menunjukkan daya inhibisi yang semakin besar terhadap aktivitas tirosin kinase karena produk yang dihasilkan oleh enzim tersebut semakin sedikit akibat aktivitasnya yang terhambat. Hal ini dilihat dari intensitas warna produk yang semakin pudar.

**Gambar 3.** Nilai absorbans tiap ekstrak temu putih pada uji terhadap enzim PTK

Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak kasar etanol 70% dan air panas temu putih pada konsentrasi 300 ppm tidak memiliki daya hambat terhadap aktivitas enzim tirosin kinase, dilihat dari daya inhibisi yang bernilai negatif atau di bawah kontrol negatif (EGFR). Hal ini mungkin terjadi karena senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak yang diduga sebagai inhibitor, ternyata dengan konsentrasi 300 ppm tidak dapat berkompetisi dengan substrat seperti pada genistein (inhibitor kompetitif) sehingga tidak dapat menginhibisi aktivitas tirosin kinase, bahkan malah bersifat sebagai aktivator. Sedangkan pada konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 700 ppm, semua ekstrak menunjukkan sifat inhibitor terhadap aktivitas tirosin kinase. Hal ini berarti bahwa aktivitas enzim tirosin kinase sangat dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak. Sementara itu, ekstrak kasar akuadem pada konsentrasi 300 ppm memiliki daya inhibisi sebesar 7,23%. Nilai tersebut lebih besar daripada nilai daya inhibisi kontrol positif genistein pada konsentrasi 300 ppm yaitu sebesar 6,71% (Gambar 4).

**Gambar 4.** Persen daya inhibisi tiap ekstrak temu putih terhadap aktivitas tirosin kinase

Nilai daya inhibisi untuk ekstrak kasar temu putih etanol 70%, akuadem, dan air panas pada konsentrasi 700 ppm berturut-turut adalah sebesar 27,77%, 26,13%, dan 24,50% (Gambar 4). Daya inhibisi terhadap aktivitas tirosin kinase untuk ketiga ekstrak tersebut, melebihi nilai daya inhibisi pada kontrol positif genistein konsentrasi 700 ppm yaitu sebesar 12,89% dan daya inhibisi ketiga ekstrak pada konsentrasi 300 ppm. Berdasarkan nilai-nilai diatas, maka dapat dinyatakan bahwa ekstrak kasar temu putih etanol 70% pada konsentrasi 700 ppm dan ekstrak kasar temu putih akuadem memiliki daya hambat yang baik terhadap aktivitas tirosin kinase. Pernyataan tersebut sesuai dengan nilai toksisitas ekstrak kasar etanol 70% terhadap larva udang yang lebih besar dibandingkan dengan nilai toksisitas kedua ekstrak lainnya ( $LC_{50}$  ekstrak etanol 70% kurang dari 1000 ppm). Hal tersebut juga sesuai dengan indikasi awal bahwa ekstrak kasar temu putih etanol 70% lebih berpotensi sebagai obat. Berdasarkan nilai daya inhibisi ketiga ekstrak yang tidak berbeda jauh, dapat dinyatakan bahwa ekstrak kasar temu putih akuadem dan air panas juga berpotensi sebagai antikanker.

Keberadaan dari beberapa senyawa metabolit sekunder pada ekstrak kasar yang diujikan, diduga memiliki peran tersendiri dalam menginhibisi aktivitas tirosin kinase. Alkaloid yang berasal dari tanaman obat diketahui memiliki efek toksisitas terhadap sel kanker (Alexandrova *et al.* 2000), dapat menginduksi apoptosis pada sel kanker manusia serta terbukti efektif dan ampuh dalam mengobati pasien kanker payudara metastatik. Flavonoid sendiri memiliki kemampuan dalam menghambat aktivitas tirosin kinase sebesar 93,34% untuk fraksi teraktif dari ekstrak kasar flavonoid (Setiawan 2004). Pada penghambatan kanker yang disebabkan benzo(a)pirena, diduga golongan flavonoid berperan dalam menghalangi terjadinya ikatan antara benzo(a)pirena dengan DNA (Le Bon dalam Esvandiani 2002). Oleh karena itu, alkaloid dan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kasar tanaman diduga memiliki peran tertentu dalam menghambat aktivitas tirosin kinase.

Keberadaan senyawa terpenoid dalam ekstrak kasar etanol 70% diduga memberi peran dalam mempertinggi daya inhibisi ekstrak tersebut terhadap aktivitas enzim tirosin kinase. Senyawa metabolit sekunder terpenoid dalam ekstrak etanol telah dibuktikan dapat menghambat pertumbuhan sel-sel OVCAR-3 (sel line kanker ovarium manusia) (Syu *et al.* 1998). Semua ekstrak yang diujikan menunjukkan sifat inhibitor yang cukup baik terhadap aktivitas tirosin kinase pada konsentrasi 700 ppm. Bahkan memiliki daya hambat yang lebih besar daripada kontrol positif genistein. Hal ini sangat berguna sebagai bukti ilmiah pada kajian potensi dari beberapa tanaman yang berpotensi sebagai antikanker.

#### 4. SIMPULAN

Rendemen yang diperoleh dari hasil ekstraksi dengan pelarut etanol 70%, akadem, dan air seduhan serbuk rimpang temu putih masing-masing sebesar 24,51%, 9,65%, dan 12,22%. Nilai LC<sub>50</sub> ketiga ekstrak tersebut masing-masing sebesar 932 ppm, 2.205 ppm, dan 2.552 ppm.

Rimpang temu putih berpotensi menghambat aktivitas tirosin kinase pada konsentrasi tertentu. Ekstrak kasar temu putih etanol 70% dan air panas pada konsentrasi 300 ppm tidak mempunyai daya hambat terhadap aktivitas tirosin kinase, bahkan menjadi aktivator aktivitas enzim, sedangkan ekstrak kasar akadem 300 ppm mempunyai daya inhibisi sebesar 7,23%. Pada konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi yaitu 700 ppm, ekstrak etanol 70% mempunyai daya hambat tertinggi yaitu sebesar 27,77%. Daya inhibisi ekstrak akadem 700 ppm sebesar 26,13% dan ekstrak air panas 700 ppm sebesar 24,50%. Genistein sebagai kontrol positif memiliki daya hambat terhadap aktivitas enzim tirosin kinase sebesar 6,71% pada konsentrasi 300 ppm dan 12,89% pada konsentrasi 700 ppm. Penghambatan aktivitas tirosin kinase sangat dipengaruhi oleh konsentrasi.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Alam G. 2002. Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) sebagai Bioassay dalam Isolasi Senyawa Bioaktif dari Bahan Alam. *Majalah Farmasi Farmakologi* 6: 432-435.
- Alexandrova R, Varadinova T, Velcheva M, Genova P. 2000. Cytotoxic effect of Isoquinoline Alkaloid on Tumor Cell Lines. *Experimental Pathology Parasitology* 4: 8-14.
- Challem J, Toews VD, Knittel L. 2002. *The Soy Sensation*. New York: McGraw Hill.
- Chyau CC, Mau JL, Chen CC, Chang CH. 2002. Composition and antioxidant activity of the essential oil from Curcuma zedoaria. [http://ift.Confex.com/ift/2002/techprogram/paper\\_10795.htm](http://ift.Confex.com/ift/2002/techprogram/paper_10795.htm) [26 Juni 2005].
- Daintith J. 1990. Kamus Lengkap Kimia. Achmadi SS, penerjemah; Marias, Sitohang DP, editor. Jakarta: Erlangga. Terjemahan dari: Concise Science Dictionary.
- Dixon RA, Ferreira D. 2002. Molecules of Interest Genistein. *Phytochemistry* 60: 205-211.
- Esvandiani. 2002. Pengaruh Ekstrak Temu Putih (*Curcuma zedoaria*) dan Kunir Putih (*Curcuma mangga*) pada Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Iswantini D, Purwantiningsih, Saprudin D. 2003. Kajian potensi senyawa flavonoid dari temu putih sebagai antikanker secara enzimatis. [laporan penelitian]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

- Flack M, Rumawas F. 1996. Plant Resources of South East Asia: Plants Yielding Non-seed Carbohydrates. Volume ke-9. Bogor: Prosea.
- Hamburger M, Hostettmann K. 1991. Bioactivity in Plant: The Link between Phytochemistry and Medicine. *Phytochemistry* 12: 3864-3847.
- Harborne JB. 1996. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan Padmawinata K. Soediro I ~~penerjemah Bandung~~ Terjemahan dan ~~Phytochem~~
- Hariani R. 2004. Nutrisi pada penderita kanker.  
<http://www.dharmais.co.id/new/content.php?page=article&lang=id&id=4> [1 April 2005].
- Herba. 2003. Panduan Pengembangan Tanaman Obat ~~Tanaman Obat~~ ~~dan Pengembangan Kehutanan~~ [26 Juni 2005].
- Heyne K. 1987. Tanaman Berguna ~~Indonesia~~ ~~Sachet~~ penerjemah. Jilid I. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan.
- Hukom RA. 2004. Transfusi komponen darah pada penderita kanker.  
<http://www.dharmais.co.id./new/content.php?page=article&lang=id&id=8> [1 April 2005].
- Hunter T. 1995. Protein kinases and phosphatases: the yin and yang of protein phosphorylation and signaling. *Cell* 80: 225-236.
- Iswari D. 1998. Seri Pengalaman Obat tradisional. Jakarta: PT Niaga Swadaya.
- Jang MK, Sohn DH, Ryu JH. 2001. A curcuminoid and sesquiterpenes as inhibitors of macrophage TNF salpha release from Curcuma zeodaria. *Planta Med* 67: 550-552 [26 Juni 2005].
- Liu, Chi J, Chan P, Hsu FL, Chen YJ, Hsieh MH, Lo MY, Lin JY. 2003. The in vitro inhibitory effects of crude extracts of traditional chinese herbs on 3- hydroxy- 3- methylglutaryl coenzyme a reductase on vero cells. *Journal Natural Product* 158: 89-93
- Malhmann S. 2000. Signalling by Tyrosin Kinase on Regular and Disrupted Hemetopiesis. Swiss: Brussel Institute for Immunology.
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica* 45: 31-34.
- Minyi C. 2001. Anticancer Medical Herbs. New York: American Institut Cancer Report.
- Novalina SP. 2003 Penggunaan Tanaman Obat Sebagai Upaya Alternatif dalam Terapi Kanker. [http://rudyct.topcities.com/pps702\\_1034/novalina.htm](http://rudyct.topcities.com/pps702_1034/novalina.htm) [1 Mei 2005].
- O'Dwyer ME, Druker BJ. 2000. The role of tyrosine kinase inhibitor ST1571 in the treatment of cancer. Portland Leukimia Program, Oregon Health Sciences University.
- Schunak W, Mayer K, Haake M. 1990. Senyawa Obat. Ed ke-2. Wattinema J, Soebito S, penerjemah Yogyakarta Gajah Mada University Press.