

PENGARUH EKSTRAK JAMU TERHADAP AKTIVITAS SEL NATURAL KILLER DALAM MELISIS ALUR SEL LEUKIMIA (K-562) SECARA *IN VITRO*

[The Effects of Commercial "Jamu" Extracts on Natural Killer Cell Activity in Lysing Leukemic Cell Line (K-562) *in vitro*]

Fransiska R. Zakaria ¹⁾, dan Elisa Veronica D.C. ²⁾

¹⁾ Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta-IPB

²⁾ Alumni Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta-IPB

ABSTRACT

Natural killer (NK) cell constitutes white blood cells which specifically functions in lysing tumor and virus infected cells. In this research, a commercial "Jamu" was tested to observe its effect on NK cells activity against leukemic cell lines (K562) *in vitro*. Jamu was extracted with hot water, diluted and added into cell cultures consisted of a mixture of human peripheral lymphocyte cells, as the source of the effector NK cells, and K562 cell line i.e., the target cells which were cell line derived from human leukemia and had been labelled with H3-thymidine. The mixture of the cells were made by culturing the two cells at the ratio of 50:1 and 100 : 1, respectively. The results showed that lysing activity of NK cells in the presence of "Jamu" water extract measured as lysing percentage and lysing index increased only slightly, which were not statistically significant. It should be considered that the test used in this research represents only a part of the lysing mechanism by NK cells against the target cells. An *in vivo* test for a period of time will be necessary to elucidate further this NK cell activity.

Key words : "Natural Killer" Cell, Leucemic, Cell Line, and "Jamu" extracts

PENDAHULUAN

Jamu adalah obat tradisional yang terdiri dari campuran tanaman obat yang diracik dengan komposisi tertentu. Penggunaan jamu dikalangan masyarakat sampai saat ini masih dipercaya sebagai obat yang mampu mengatasi gangguan-gangguan kesehatan yang dialami. Khasiat jamu atau aktivitas fungsionalnya disebabkan oleh adanya berbagai senyawa bioaktif yang terkandung dalam bahan yang digunakan, seperti jahe, kencur, lempuyang dan bidara laut. Jahe telah dilaporkan mempunyai aktivitas antioxidan yang tinggi (Tejasari dan Zakaria, 2000) dan dapat menaikkan aktifitas NK secara *in vitro* dan *in vivo* (Zakaria et al., 1999; Prangdimurti et al., 1999).

Penyebab penyakit kanker diketahui sangat kompleks dan 85 persen berasal dari faktor eksternal, seperti zat-zat kimia karsinogen, virus, radiasi dan ketidakseimbangan gizi (WCRC & ACRI, 1997). Karsinogen atau kokarsinogen penyebab kanker dapat juga berasal dari pencemar kimia pada makanan (Zakaria et al., 1996). Upaya untuk mengurangi resiko dengan cara mencari bahan-bahan yang bersifat sebagai pencegah kanker yang ramah efek samping merupakan kebutuhan yang mendesak. Alternatif bahan antikanker yaitu dari berbagai jenis rempah-rempah yang banyak terdapat di Asia Tenggara dan juga berfungsi sebagai tanaman obat yang banyak digunakan secara tradisional (Murakami, 1999).

Sel Natural Killer (NK) merupakan bagian dari sel darah putih yang berfungsi membunuh sel tumor dan sel yang terinfeksi virus secara spesifik atau non spesifik. Salah satu mekanisme pembunuhan sel target oleh NK adalah melalui pengenalan molekul glikoprotein yang terekspresi pada permukaan sel tumor atau sel yang terinfeksi virus. Glikoprotein tersebut bertindak sebagai lektin yang dapat mengikat sel NK melalui reseptor yang terdapat pada permukaan sel NK sehingga sel target dapat dilisis (Roitt, 1991).

Kemampuan sel NK dalam melisis sel kanker atau sel yang terinfeksi virus dapat diukur secara *in vitro*. Sel NK akan mengenali sel kanker yang dikultur bersama-sama dan kemudian melisis sel kanker tersebut. Aktifitas sel NK didefinisikan sebagai persentase kemampuan sel NK dalam melisis sel target (Dean et al., 1989).

Dari penelitian ini diharapkan ekstrak jamu yang banyak mengandung rempah-rempah akan berpengaruh terhadap aktifitas sel NK dalam melisis alur sel leukimia (K-562), yaitu sel target yang spesifik bagi sel NK manusia.

METODOLOGI

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain jamu komersial (KBTL, Sido Muncul), RPMI 1640 (Sigma, USA), NaHCO₃, Fetal Calf serum (Sigma, USA),

^3H -Thimidin, L-glutamin, gentamicin, Ficol Hypaque (Sigma, USA), Sel target K-562 (alir sel yang berasal dari efusi pleural wanita berusia 53 tahun yang mengidap leukimia myelogenous kronik di terminal blast crises-American Type Culture Collection, Rockville, MD), cairan sintilasi (Sigma), biru tripan, akuades steril. Sedangkan alat yang digunakan adalah pipet steril, lempeng 96 sumur, lempeng 24 sumur, tabung sentrifus dan sentrifus, pemanen sel (Cambridge technol, 200A), hemasitometer, syringe, mikropipet, inkubator dengan 5% CO_2 pada 37°C (VWR scientific), alat penghitung sinar β (Beckman)

Metode Penelitian

Analisa Kimia

Analisa kimia meliputi analisa proksimat terhadap bubuk jamu yang terdiri dari kadar abu, kadar air (metode dilasi azeotropik) dan kadar protein (metode Bradford). Selain itu dilakukan analisa total fenol, oleoresin dan minyak atsiri dengan cara dilasi air (AOAC, 1984).

Ekstrak Jamu

Pembuatan ekstrak jamu dilakukan dengan cara menyeduh jamu sebanyak 7 gram dengan 100 ml akuades mendidih dan diaduk selama 30 menit untuk memaksimalkan ekstraksi komponen-komponen yang terdapat dalam jamu. Jamu kemudian disentrifus, diambil supernatannya dan disaring dengan kertas whatman no. 42. Ekstrak jamu yang sudah disaring kemudian disterilkan dengan cara melewatkannya pada membran 0,2 mikron. Ekstrak yang diperoleh kemudian diencerkan 20, 40, 60 dan 80 kali dengan larutan RPMI-1640.

Isolasi Limfosit (Zakaria et al., 2000)

Darah dari seorang responden mahasiswa sehat diambil secara steril dan ditambah dengan antikoagulan lalu disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 20 menit. Lapisan *buffy coat* yang mengandung sel darah putih dan terletak diantara kedua lapisan diambil kemudian dilewatkan perlahan dalam tabung sentrifus yang mengandung ficol (1 : 1). Tabung disentrifus 2500 rpm selama 30 menit. Bagian atas yang mengandung limfosit diambil dan ditambah dengan 10 ml media RPMI kemudian disentrifus 1000 rpm selama 10 menit. Supernatant dibuang, kemudian ditambah 10 ml media RPMI dan dilanjutkan dengan penghitungan sel dengan biru tripan menggunakan hemasitometer. Limfosit yang diperoleh didekatkan sampai berjumlah 2×10^6 sel/ml.

Pelabelan Sel K562

Sel kanker K-562 dipelihara dalam tabung dan diinkubasi dalam inkubator CO_2 5% dan suhu 37°C sampai

sel berada pada fase logaritmik. Sebanyak 1×10^4 sel/ml ditambah dengan ^3H -Thimidin ($2 \mu\text{Ci/ml}$) kemudian diinkubasi selama semalam pada inkubator CO_2 . Setelah waktu inkubasi berakhir, sel dicuci 2 x dengan cara disentrifus 1000 rpm selama 10 menit, untuk membuang kelebihan ^3H -Thimidin.

Pengujian Aktifitas NK (Zakaria et al., 1999)

Untuk kultur dengan perbandingan sel limosit (SL) dan K-562 sebesar 100:1, sebanyak $50 \mu\text{l}$ suspensi K-562 berlabel dimasukkan kedalam lempeng mikrokultur 96 sumur lalu ditambah $50 \mu\text{l}$ sel limfosit (SL) dan $80 \mu\text{l}$ media (kontrol); atau $80 \mu\text{l}$ ekstrak air jamu dari berbagai pengenceran. Semua kultur ditambah dengan $20 \mu\text{l}$ FCS lalu diinkubasi selama 4 jam dalam inkubator CO_2 5% dan suhu 37°C . Untuk perbandingan sel limfosit (SL) : K562 = 50:1, digunakan hanya $25 \mu\text{l}$ suspensi SL dengan tambahan $25 \mu\text{l}$ media. Semua kultur dilakukan dengan tiga ulangan.

Setelah inkubasi selesai waktu kultur sel dipanen dengan alat pemanen sel dan dibilas sebanyak sepuluh kali. Sel yang tidak lisis akan tertampung pada filter. Radioaktivitas sel pada filter dibaca dengan alat penghitung sinar β . Dengan bantuan larutan sintilasi. Hasil penghitungan dari alat penghitung sinar β dalam bentuk cpm (count per minute). Hasil pengujian aktifitas sel NK dinyatakan dalam persen lisis, dengan rumus :

$$\% \text{ lisis} = \frac{A-B}{A} \times 100 \%$$

Dimana: A = cpm sel K-562 yang dikultur pada medium pertumbuhan tanpa sel efektor (kontrol lisis spontan)

B = cpm sel yang dikultur dengan sel efektor pada medium yang ditambahkan ekstrak jamu

Sedangkan indeks lisis dihitung menurut rumus :

$$\text{Indeks lisis} = \frac{C}{D}$$

dimana : C = persen lisis sel K-562 oleh sel NK pada medium yang ditambahkan ekstrak jamu

D = persen lisis sel K-562 oleh sel NK pada medium standar tanpa ekstrak jamu

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Kimia

Analisa kimia yang dilakukan terhadap ekstrak jamu meliputi kadar air, kadar abu, total fenol, kadar protein, oleoresin dan minyak atsiri. Komponen-komponen ini diamati untuk melihat pengaruhnya terhadap aktivitas Sel NK. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisa kimia ekstrak jamu

Analisa	Kandungan
Kadar Air	5.30%
Kadar Abu	8.99%
Protein	1.08 mg/ml ekstrak
Total Fenol	0.61 mg/ml ekstrak
Oleoresin	13.99%
Minyak Atsiri	0.95%

Kadar abu yang diperoleh merupakan akumulasi dari kandungan mineral, yang mungkin berasal dari kandungan mineral bahan baku dan kontaminasi dengan kotoran, seperti tanah dan pasir. Kandungan senyawa fenol dalam jamu berasal dari senyawa fenol dari bahan bakunya yaitu antara lain jahe, lempuyang, kencur dan bidara laut. Berbagai hasil penelitian telah melaporkan bahwa bahan-bahan ini mengandung senyawa fenol yang tinggi. Senyawa fenol diketahui bersifat sebagai antioksidan dan fungsional dalam berbagai reaksi biologis, antara lain sebagai anti kanker (Starvic dan Matula, 1992). Ekstrak oleoresin merupakan ekstrak yang dilakukan dengan etanol sehingga sebagian besar senyawa fenolik ikut terekstraksi. Oleoresin merupakan komponen rempah-rempah yang diperdagangkan secara komersial. Minyak atsiri merupakan hasil ekstraksi komponen yang menguap dan berperan sebagai pemberi aroma dan juga mempunyai peranan fungsional dalam berbagai reaksi biologis. Adanya kandungan senyawa fenol dan oleoresin yang tinggi dalam ekstrak jamu yang diteliti menunjukkan potensi adanya aktivitas antikanker. Senyawa-senyawa ini dapat berperan sebagai komponen antikanker antara lain karena sifat antioksidannya yang tinggi dan aktivitas sitotoksiknya (Nurahman et al., 1999). Aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat bersifat antikanker karena kemampuannya dalam meredam sifat radikal yang dihasilkan oleh senyawa karsinogenik, yaitu senyawa kimia yang menjadi karsinogen karena proses metabolisme detoksifikasi yang terjadi dalam tubuh (Starvic dan Matula, 1992; WCRF dan AICR, 1997; Zakaria, 1996).

Pengaruh Ekstrak Jamu Terhadap Aktivitas NK

Hasil pengujian dari dua perbandingan sel K-562 dan limfosit (SL) sebesar 1 : 50 dan 1 : 100 yang dihitung

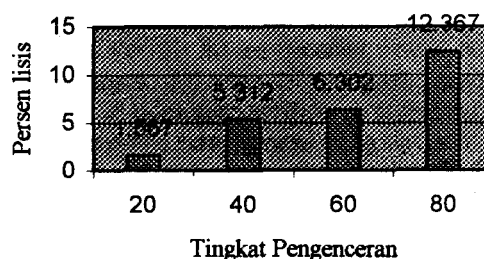
berdasarkan persen lisis dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil perhitungan persen lisis antara kontrol dan berbagai tingkat pengenceran ekstrak jamu, menunjukkan nilai rata-rata untuk perbandingan K-562 : SL = 1 : 50 sebesar 45.8% sedangkan untuk perbandingan K-562 : SL = 1 : 100 sebesar 36.1%. Nilai 45.8% pada perbandingan K-562 : SL = 1 : 50 berada diatas kontrol perlakuan, yaitu 39.4% sedangkan rata-rata persen lisis pada perbandingan K-562 : SL = 1 : 100 sebesar 36.2% berada dibawah kontrol perlakuan, yaitu 41,0%. Kedua nilai ini secara statistik tidak berbeda nyata.

Tabel 2. Nilai persen lisis sel K-562 oleh sel NK pada kultur yang diberi tambahan ekstrak jamu dengan beberapa tingkat pengenceran dan perbandingan K-562 : SL = 1: 50 dan 1: 100

Pengenceran	% lisis	
	K-562 : SL = 1: 50	K-562 : SL = 1: 100
Kontrol	39.430	41.000
Tanpa	-	42.366
20	40.997	21.654
40	44.742	35.084
60	45.732	37.202
80	51.797	44.333
Rata-rata	45.814	36.129

Keterangan : K-562 = Sel target (alur sel leukemia)
SL = Sel limfosit (sel efektor)

Perbandingan antara nilai persen lisis tiap pengenceran dan kontrol perlakuan untuk perbandingan SE: K-562 = 1: 50 dapat lihat pada Gambar 1. Hasil yang diperoleh menunjukkan semua nilai persen lisis pada pengenceran sampai 80 kali berada diatas nilai persen lisis kontrol perlakuan. Semakin tinggi tingkat pengenceran, nilai persen lisis semakin tinggi.



Gambar 1. Persen lisis sel K-562 oleh NK pada kultur yang diberi tambahan ekstrak jamu dengan beberapa pengenceran pada perbandingan SE : K-562 = 1: 50 Nilai persen lisis dibandingkan dengan nilai kontrol perlakuan tanpa penambahan ekstrak

Nilai persen lisis pada perbandingan K-562 : SL = 1: 50 ternyata lebih tinggi dibandingkan pada perbandingan 1: 100. Hal ini kemungkinan disebabkan karena komponen bioaktif yang terdapat dalam jamu sangat kuat terhadap sel limfosit, sehingga menyebabkan lisis pada sel kanker dan pada sel limfosit.

Ekstraksi yang dilakukan dalam penelitian ini setara dengan jumlah air panas untuk penyeduhan jamu dalam praktek sehari-hari. Ketika jamu diminum, akan terjadi proses penyerapan komponen bioaktif ekstrak jamu melalui sel mukosa usus halus yang akan diangkut dalam sistem plasma darah. Pada saat komponen memasuki plasma darah, komponen akan terencerkan dengan plasma manusia yang berjumlah kurang lebih 6 liter. Pengenceran dalam penelitian ini dilakukan untuk mensimulasi proses pengenceran yang terjadi secara *in vivo* dalam plasma, oleh karena itu dilakukan pengenceran sampai 80 kali. Namun demikian kemungkinan kandungan komponen bioaktif dalam kultur terlalu tinggi sehingga bersifat toksik baik pada sel kanker maupun pada sel limfosit yang ada dalam kultur. Tejasari dan Zakaria (2000) dan Prangdimurti et al., (1999) melaporkan bahwa konsentrasi oleoresin dan komponen bioaktif jahe pada konsentrasi tinggi dapat menghambat pertumbuhan sel limfosit manusia dan mencit secara *in vitro*. Karena sel kanker sudah mengalami perubahan secara genetik, lebih dapat bertahan hidup pada kondisi *in vitro* dibandingkan dengan sel normal. Pada perbandingan 1: 100, jumlah sel limfosit lebih banyak dibandingkan perbandingan 1: 50, sehingga lisis sel limfosit mungkin lebih banyak terjadi pada perbandingan 1:100. Aktivitas prooksidan dari berbagai senyawa fenolik pada konsentrasi tinggi telah dilaporkan juga oleh Murakami et al., (1999) dan Starvic dan Matula, (2002).

Nilai indeks lisis dari tiap pengenceran, diperoleh dengan cara menghitung persen lisis sel K-562 yang dikultur bersama dengan sel limfosit dan ekstrak, dibanding dengan persen lisis sel target yang dikultur bersama tanpa ekstrak. Perhitungan ini dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh ekstrak terhadap sel NK dan sel limfosit. Hasil perhitungan nilai indeks lisis untuk tiap pengenceran pada dua perbandingan dapat dilihat pada Tabel 3.

Nilai indeks lisis tertinggi untuk perbandingan K-562 : SL = 1: 50 terdapat pada pengenceran 80 kali, sedangkan nilai indeks lisis terkecil pada pengenceran 20 kali. Mulai pengenceran 20 sampai 80 kali terlihat nilai indeks lisis diatas satu. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak ternyata berpengaruh sedikit dalam lisis sel K-562 mulai pada pengenceran 20 dan seterusnya.

Untuk perbandingan K-562 : SE = 1: 100, nilai indeks lisis tertinggi terdapat pada pengenceran 80 kali dan tanpa pengenceran. Sedangkan untuk pengenceran yang lain nilai indeks lisis berada dibawah satu, yang

menunjukkan tidak adanya pengaruh ekstrak jamu terhadap aktifitas sel NK pada pengenceran tersebut.

Tabel 3. Nilai indeks lisis sel K-562 oleh sel NK pada kultur yang diberi tambahan ekstrak jamu dengan beberapa tingkat pengenceran dan perbandingan K-562 : SL = 1: 50 dan 1: 100

Pengenceran	Indeks Lisis	
	1 : 50	1 : 100
0	-	1.033
20	1.040	0.529
40	1.135	0.558
60	1.160	0.908
80	1.314	1.081

Komponen bioaktif yang terdapat dalam jamu, antara lain adalah flavonoid fenol. Flavonoid yang bersifat antitumor telah diperlihatkan menaikkan aktivitas sel secara sinergik dengan interleukin-2 (Starvic dan Matula, 1992). Quasinoid merupakan senyawa yang termasuk golongan triterpen yang banyak terdapat pada tanaman *Simaraoubaeae*. Jamu yang diteliti juga mengandung quasinoid yang berasal dari bidara laut. Quasinoid telah diteliti bersifat antitumor karena dapat menghambat aktivasi awal antigen virus Epstein Barr (EBV-EA) (Rahman et al., 1997).

Dalam keadaan normal, baik persen lisis K-562 maupun indeks lisis pada kultur dengan perbandingan SL dan K-562 = 100:1 seharusnya lebih besar daripada kultur 50:1. Hasil yang cenderung sebaliknya mungkin menunjukkan bahwa pada perbandingan 100:1, sel limfosit normal juga ikut mengalami kematian sehingga tidak dapat melisis sel targetnya. Kematian sel normal karena senyawa kimia antikanker merupakan hal yang umum karena sifat sitotoksik senyawa antikanker tidak bersifat spesifik, baik senyawa alami maupun sintetik (Murakami et al., 1999). Yang perlu diperhatikan juga dalam penelitian senyawa anti kanker adalah sifat spesifik, yaitu mematikan sel kanker tetapi tidak sel normal. Sifat ini akan sangat membantu dalam proses kemoterapi, yaitu pengobatan penyakit kanker dengan senyawa kimia.

Walaupun hasil penelitian ini tidak menunjukkan kenaikan aktivitas lisis NK yang nyata oleh ekstrak jamu, belum dapat disimpulkan bahwa jamu tidak mempunyai potensi sebagai bahan antikanker. Pada sistem *in vitro*, sel NK hanya dapat melisis sel targetnya melalui proses pengikatan sel yang disusul dengan pelepasan porfirin yang dapat melisis membran sel kanker (Roitt, 1991, Lillehoj dan Yong, 1998).

Metode *in vitro* tidak memperlihatkan kemampuan ekstrak jamu dalam meningkatkan aktivitas sel NK mensintesis perforin, demikian juga dengan faktor-faktor

endogenous lain yang berperan dalam proses pelisisan sel tumor secara *in vivo*, seperti adanya peningkatan sintesis interferon, yang dapat menaikkan aktivitas sel NK dalam melisis sel targetnya, aktivitas kemotaktik, aktivitas sitotoksik sel *cytotoxic*, ataupun menaikkan sistem imun secara keseluruhan (Roitt. 1991, Lillehoj dan Yong. 1998).

Ekstrak jamu dalam penelitian ini meskipun tidak berpengaruh nyata terhadap aktivitas sel NK, akan tetapi pada penelitian yang dilakukan oleh Yuana (1998), ternyata dapat melisis secara langsung alur sel Leukimia (K-562), myeloma dan melanoma. Pengaruh ekstrak jamu terhadap sel kanker dapat terjadi melalui aktivitas sel Natural Killer dan bisa melalui mekanisme lisis sel kanker secara langsung.

KESIMPULAN

Hasil analisa kimia menunjukkan kadar air jamu yang diteliti sebesar 5.30%, kadar abu 8.99%, oleoresin 13.99%, minyak atsiri 0.948%, kadar protein 1.08 mg/ml ekstrak dan total fenol sebesar 0.61 mg/ml ekstrak. Kandungan fenol dan oleoresin yang tinggi memberikan peluang bagi adanya aktivitas antikanker pada jamu ini.

Nilai persen lisis yang diperoleh tidak berbeda nyata untuk semua perlakuan pengenceran. Kemungkinan konsentrasi ekstrak masih terlalu tinggi sehingga bersifat toksik pada kedua jenis sel yang digunakan. Disamping itu, komponen sitotoksik pada sel kanker K-562 mungkin bersifat sitotoksik juga pada sel limfosit normal. Hal ini mungkin menunjukkan adanya sifat sitotoksik yang tidak spesifik.

Pengaruh ekstrak jamu terhadap sel kanker dapat terjadi melalui aktifitas sel NK dan bisa melalui mekanisme lisis sel kanker secara langsung. Walaupun hasil penelitian ini tidak menunjukkan adanya aktivitas lisis NK yang nyata oleh ekstrak jamu, belum dapat disimpulkan bahwa jamu tidak mempunyai potensi sebagai bahan antikanker, karena mekanisme antikanker lainnya masih banyak dan belum diteliti.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1984. Official Methods of analysis. AOAC Inc. Arlington, Virginia
- Dean J.H., Cornacoff J.B., Rosenthal G.J. dan Luster M.I. 1989. Immune system: Evaluation of injury. In: Hayes A.W. (Ed), Principle and Methods of Toxicology. Raven Press, NY.
- Lillehoj, H.S. and Yong YC. 1998 Comparative natural killer activities of thymic, bursal splenic and intestinal intraepithelial lymphocytes of chicken. Dev. Comparative Immunol. 12 (3) : 629 – 643.
- Murakami A, Ohigashi H, Koshimizu K. 1999 Chemoprevention : Insight into biological mechanisms and promising food factors. Food Rev. Int. 15 (3) : 335-395.
- Nurahman, Zakaria FR, Sanjaya dan Sayuthi D. 1999. Pengaruh konsumsi jahe terhadap perlindungan sel limfosit dari stress oksidatif pada mahasiswa di Pondok Pesantren Ulil Albab, Kedung Badak, Bogor. Prosid Seminar Nasional Teknologi Pangan, PATPI& MENPANGHOR
- Prangdimurti E, FR Zakaria, S. Fardiaz dan D. Sayuthi. 1999 Efek perlindungan ekstrak jahe terhadap respon imun mencit yang diberi perlakuan stres oksidatif oleh pestisida paraquat. Pros.Sem. Makanan Tradisional UGM, Yogyakarta.
- Rahman, S., Fukamiya, N., Ohno, N., Tokuda, M., Nishino, H., Tagahara, K., Lee, H.K, dan Okano, M. 1997. Inhibitory Effects of Quassinoid Derivatives on-Epstein-Barr Virus Early Antigen Activation. Chem pharm Bull, 45:675-677
- Roitt IM. 1991. Essential Immunology. Blackwell Sci Publ. London
- Starvic, B. dan Matula, T.I. 1992. Flavonoids in Foods: Their Significance for Nutrition and Health. Di dalam Lipid Soluble Antioksidan: Biochemistry and Clinical Applications. A.S. H. Ong and L. Packer (eds). Birhauser Verlag, Basel/Switzerland.
- Tejasari dan Zakaria FR. 2000 Sifat fungsional jahe: fraksi 1 dan 2 senyawa bioaktif oleoresin rimpang jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) menurunkan produk peroksidasi lipid membran sel limfosit secara *in vitro*. Prosid Seminar Nasional Industri Pangan, Vol II. PATPI, Bogor
- Yuana. 1998. Pengaruh Ekstrak Jamu terhadap Proliferasi Limfosit dan Beberapa Alur Sel Kanker Secara *in vitro*. Skripsi. FATETA, IPB. Bogor
- WCRF dan AICR. 1997. Food, Nutrition and the Prevention of Cancer. A Global Perspective. WCRF dan AICR, USA, London.
- Zakaria FR, Wiguna Y dan Hartoyo A.1999. Konsumsi sari jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) meningkatkan aktifitas sel Natural Killer pada mahasiswa pesantren Ulil Albab di Bogor. Bul Tek & Industri Pangan, Vol IX (3):

Zakaria FR, Irawan B, Pramudya MS, Sanjaya, 2000.
Intervensi Sayur buah pembawa vitamin C dan Vitamin E untuk meningkatkan system imun populasi buruh pabrik di Bogor. *Bul Teknol Industri Pangan*, XI, no. 2, 21-27.

Zakaria F. 1996. Sintesis Senyawa radikal dan elektrofil dalam dan oleh komponen pangan, Pros. Sem. Senyawa Radikal dan Sistem Pangan. Reaksi Molekuler dan Penangkalannya. Zakaria FR, Dewanti R, Yasni S (eds). CFNS dan Kedutaan Perancis, Bogor.