

BATAN-TIR-OT- 01 04-2013-520403b

**PENGARUH RADIOPASTEURISASI PADA KHASIAT
SEBAGAI ANTIKANKER, KOMPONEN MINYAK ATSIRI
DAN TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL TERHADAP
MENCIT DARI RIMPANG TEMU MANGGA (*Curcuma
mangga* Valetton &van Zijp)**

Ermin Katrin, Hendig Winarno, dan Susanto



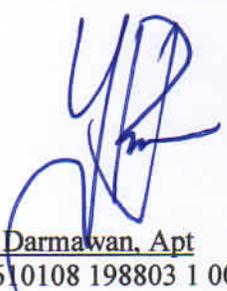
**PUSAT APLIKASI ISOTOP DAN RADIASI
BADAN TENAGA NUKLIR NASIONAL
2014**

LAPORAN TEKNIS 2013

BATAN-TIR-OT- 01 04-2013-520403b

PENGARUH RADIOPASTEURISASI PADA KHASIAT
SEBAGAI ANTIKANKER, KOMPONEN MINYAK ATSIRI
DAN TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL TERHADAP
MENCIT DARI RIMPANG TEMU MANGGA (*Curcuma
mangga* Valeton &van Zijp)

Ermin Katrin, Hendig Winarno, dan Susanto

Mengetahui/Menyetujui	
Kepala Bidang Proses Radiasi	Kepala PAIR
 <u>Dr. Darmawan, Apt</u> NIP. 19610108 198803 1 002	 <u>Dr. Hendig Winarno, M.Sc</u> NIP. 19600524 198801 1 001

ABSTRAK

PENGARUH RADIOPASTEURISASI PADA KHASIAT SEBAGAI ANTIKANKER, KOMPONEN MINYAK ATSIRI DAN TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL TERHADAP MENCIT DARI RIMPANG TEMU MANGGA (*Curcuma mangga* Valeton & van Zijp). Temu mangga (*Curcuma mangga* Valeton & van Zijp.) merupakan salah satu tanaman yang termasuk suku Zingiberaceae. Rimpang tanaman ini bermanfaat untuk mengobati beberapa penyakit, salah satunya penyakit kanker (kanker darah, kanker hati, kanker payudara, kanker paru-paru dan kanker prostat). Simplisia temu-temuan sangat rentan terhadap kontaminasi mikroba. Teknik iradiasi gamma telah dimanfaatkan oleh beberapa perusahaan obat herbal untuk pengawetan simplisia maupun produk obat herbal. Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh iradiasi gamma terhadap aktivitas antiproliferasi ekstrak etanol temu mangga, profil GCMS simplisia temu mangga tanpa dan yang iradiasi 7,5 kGy. Profil kromatogram GC-MS (minyak atsiri) dari rimpang temu mangga yang diiradiasi sampai dosis 7,5 kGy menunjukkan bahwa tidak ada perubahan profil kromatogram dan luas area puncak komponennya dibandingkan dengan kontrol. Demikian pula khasiatnya, rimpang yang diiradiasi 7,5 kGy masih dalam kategori aktif berpotensi sebagai antikanker HUT-78 dan K-562 (nilai $IC_{50} < 20 \mu\text{g/ml}$). Pemberian sediaan uji ekstrak etanol rimpang temu mangga yang tidak dan yang diiradiasi 7,5 kGy pada *limit test* dosis 2000 mg/kg berat badan juga tidak menunjukkan perubahan mikroskopis dilihat dari gambaran histopatologis. Ekstrak etanol temu mangga yang tidak dan yang diiradiasi 7,5 kGy tidak menunjukkan adanya efek toksik terhadap hewan coba, sehingga aman untuk dikonsumsi.

Kata kunci : radiopasteurisasi, temu mangga, minyak atsiri, toksisitas akut

PENDAHULUAN

Zingiberaceae selain sebagai bahan baku jamu telah menjadi komoditas ekspor untuk menambah devisa negara. Berbagai informasi menunjukkan, bahwa negara-negara maju seperti Amerika Serikat, Jerman, Jepang, Inggris dan Belanda semakin banyak mengimpor obat-obat tradisional, angkanya selalu naik tiap tahunnya (1). Secara tradisional temu mangga dimanfaatkan sebagai obat sakit lambung, pembengkakan dirahim, obat diare, obat jerawat, obat bisul dan penambah nafsu makan (2,3,4). Penelitian tentang temu mangga semakin berkembang bahkan diketahui dapat berkhasiat sebagai anti kanker. Dalam rimpang temu mangga terdapat senyawa zerumin B, kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin yang menunjukkan aktivitas sitotoksik yang kuat dan selektif terhadap lima jenis sel kanker, yaitu HL-60 (sel kanker leukemia manusia), HepG2 (sel kanker hati), MCF-7 (sel kanker payudara), NCIH-460 (sel kanker paru-paru) dan DU-145 (sel kanker prostat). Zerumin B merupakan senyawa yang menunjukkan aktivitas sitotoksik paling tinggi dibandingkan kurkumin, demetoksikurkumin dan bisdemetoksikurkumin dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory concentration fifty*) terhadap kelima jenis sel kanker tersebut seperti disajikan pada Tabel 1.

Temu mangga dipilih sebagai alternatif pengobatan bagi penderita kanker darah, kanker hati, kanker payudara, kanker paru-paru dan kanker prostat (5). Hasil

Tabel 1. Nilai IC_{50} senyawa aktif antikanker terhadap 5 jenis sel kanker

Komponen	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) terhadap sel kanker				
	HL-60	HepG2	MCF-7	DU-145	NCIH-460
Kurkumin	12,61	13,10	3,85	7,59	10,17
Demetoksikurkumin	8,19	>16,92	6,26	7,34	8,70
Bisdemetoksikurkumin	7,75	>15,42	10,42	9,28	27,16
Zerumin B	2,41	8,47	0,20	3,75	<4

penelitian secara ilmiah yang menyebabkan kebutuhan akan rimpang temu mangga menjadi meningkat, sehingga dibutuhkan pula teknik penanganan pasca panen yang baik. Iklim tropis dengan suhu hangat dan kelembaban tinggi merupakan kondisi yang mendukung pertumbuhan mikroba, termasuk yang patogen pada rimpang *Zingiberaceae*. Kerusakan tersebut menyebabkan mutu suatu obat tradisional dan tanaman obat menjadi buruk. Buruknya mutu suatu obat tradisional dan tanaman obat sebagai bahan baku dari obat tradisional merupakan penyebab utama ditolak negara pengimpor (1,6). Untuk mencegah kerusakan obat tradisional, simplisia tanaman obat termasuk rimpang temu mangga kering dan rempah yang disebabkan kontaminasi bakteri, serangga dan kapang/khamir, diperlukan upaya yang dapat menurunkan kontaminasi tersebut sehingga dapat meningkatkan masa simpan obat tradisional, simplisia tanaman obat dan rempah (1). Salah satu teknik pengawetan simplisia yaitu dengan iradiasi gamma dapat meningkatkan mutu dan higiene simplisia dan produk jamu. Pada umumnya telah banyak dilakukan dengan fumigasi dengan gas etilen oksida, pemanasan pada suhu tertentu, iradiasi sinar ultraviolet dan infra merah, tetapi hasilnya kurang memuaskan dibanding dengan iradiasi gamma (1). Iradiasi gamma sampai dosis 10 kGy aman, tidak meninggalkan residu kimia dan telah diteliti bahwa iradiasi pada tingkat 2,5-10 kGy sesuai rekomendasi Chosdu 1997 (7,8). Sehingga teknik iradiasi dapat menjadi alternatif pada dukungan menyediakan bahan baku industri obat bahan alam (1).

Hasil penelitian terdahulu terhadap temu mangga dilaporkan bahwa dosis 7,5 kGy merupakan dosis iradiasi maksimum untuk mengawetkan rimpang temu mangga dengan sumber Cobalt-60 (5). Pada rimpang temu mangga yang diiradiasi 7,5 kGy

bioaktivitasnya terhadap sel leukemia L1210 tikus tetap dipertahankan sesuai pada kontrol. Pada penelitian ini dilakukan analisis kualitatif minyak atsiri dan uji antiproliferasi terhadap sel kanker HUT-78 dan K-562 dari ekstrak dan fraksi aktif (fraksi 3) dari rimpang temu mangga yang telah diiradiasi pada dosis 7,5 kGy. Keamanan temu mangga yang diiradiasi 7,5 kGy diuji toksisitas akutnya terhadap mencit.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan. Rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Valetton & van Zijp.) yang diperoleh dari BALLITRO Bogor, hewan uji mencit galur DDY jantan dan betina (umur 3 bulan), minyak jagung, pakan berupa pellet, natrium sulfat anhidrat, etanol, dan akuabides,

Alat. Iradiator Gamma PATIR-BATAN, GC-MS Shimadzu, penguap putar vakum/*rotavapor* (Buchi), timbangan hewan coba, sonde, mikroskop, timbangan analitik, dan alat-alat gelas.

Metode

Persiapan Bahan untuk Diiradiasi. Rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Valetton & van Zijp.) dicuci bersih, dipotong tipis-tipis, dikeringkan sampai kadar airnya kurang dari 10% lalu digiling kasar dan ditimbang. Sebanyak 14 buah kantong plastik polietilen masing-masing berisi rimpang temu mangga seberat 100 gram ditutup rapat dengan *sealer matic*. Sepuluh bungkus temu putih untuk analisis minyak atsiri dan 4 bungkus untuk uji antiproliferasi. Pada pengujian toksisitas akut disiapkan 2 bungkus rimpang temu mangga masing-masing beratnya 1 kg.

Iradiasi

Sampel diiradiasi dengan sumber gamma ^{60}Co pada dosis 5; 7,5; 10; 15 kGy, masing masing beratnya 100 g, setiap dosis dilakukan percobaan 2 kali ulangan. Sampel untuk pengujian antiproliferasi disiapkan 2 bungkus sebagai kontrol dan 2 bungkus (masing-masing seberat 50 g) diiradiasi dosis 7,5 kGy. Sebungkus rimpang temu mangga seberat 1 kg diiradiasi 7,5 kGy untuk uji toksisitas akut.

Isolasi minyak atsiri

Sebanyak 100 g sampel kering temu mangga, dimasukkan ke dalam labu bulat destilasi lalu ditambahkan 2 L air suling. Labu diletakkan pada mantel pemanas dan dihubungkan dengan kondensor. Dididihkan selama kurang lebih 5 jam. Air destilat dan ekstrak minyak atsiri ditampung dalam wadah terpisah. Minyak atsiri yang diperoleh kemudian dianalisis dengan GC-MS.

Analisis komponen minyak atsiri dengan GC-MS

Penentuan komponen minyak atsiri yang diperoleh dari simplisia temu putih dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta dengan menggunakan seperangkat alat Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS) model GCMS-QP2010S SHIMADZU. Kondisi analisis adalah jenis kolom kapiler Rastek stabilwakR-DA, panjang kolom 30 meter, diameter kolom 0,25 mm, suhu injektor 215°C, gas pembawa helium dengan laju alir 0,3 ml/menit. Suhu kolom terprogram dengan suhu awal 60°C dinaikkan perlahan-lahan sampai mencapai suhu akhir 290°C. Cara identifikasi komponen minyak atsiri adalah dengan membandingkan spektrum masa dan komponen minyak atsiri yang diperoleh

(*unknown*) dengan data library yang memiliki tingkat kemiripan (*similarity index*) tertinggi.

Pembuatan ekstrak

Serbuk kering rimpang temu mangga kontrol dan yang diiradiasi kemudian diekstraksi secara maserasi dengan etanol untuk uji toksisitas akut. Pembuatan ekstrak pada pengujian antiproliferasi, maserasi dilakukan secara bertahap dengan *n*-heksan kemudian etil asetat. Filtrat etil asetat dipekatkan dengan menggunakan *rotavapor* pada suhu lebih kurang 40 °C hingga diperoleh ekstrak yang kental. Ekstrak-ekstrak kental dari sampel kontrol dan yang diiradiasi kemudian divakum hingga diperoleh bobot konstan.

Uji antiproliferasi ekstrak dan fraksi aktif rimpang temu mangga terhadap sel kanker HUT-78 dan K-562 (9). Aktivitas antiproliferasi pada sel kanker ditentukan terhadap sampel uji (ekstrak etil asetat dan fraksi aktif) dari rimpang temu mangga yang dilarutkan dalam DMSO. Ekstrak etil asetat dibuat dengan enam macam variasi konsentrasi. Masing-masing dilakukan ulangan tiga kali. Doksorubisin digunakan sebagai kontrol positif dengan konsentrasi 6 µg/ml. Media yang mengandung sel kanker 2×10^5 sel/ml dan bahan uji ditempatkan dalam *multiwell plate tissue's culture*, lalu diinkubasi selama 72 jam dalam inkubator CO₂ 5% pada suhu 37°C. Perhitungan jumlah sel yang hidup dan yang mati dilakukan di bawah mikroskop dengan memberikan pewarna biru tripan dalam suspensi sel.

Pengujian Toksisitas Akut Subyek Uji. Hewan uji diperoleh dari Unit Layanan Penelitian Pra-klinik Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT)-UGM, Yogyakarta. Hewan uji dikarantina dan diaklimatisasikan selama satu minggu menggunakan kandang fasilitas kandang Unit Penelitian Pra-Klinik LPPT-

UGM, Yogyakarta. Suhu ruangan kandang hewan dipertahankan pada suhu pada $25 \pm 2^\circ\text{C}$, humiditas relatif $65 \pm 10\%$, dan berventilasi udara. Hewan uji diberi pakan dan air minum secukupnya dalam botol minuman. Semua protokol penelitian yang digunakan akan dimintakan persetujuan dari Komisi Etik untuk Penelitian Pratiklinik LPPT, UGM, Yogyakarta.

Pengelompokan hewan uji dilakukan secara acak satu hari sebelum perlakuan dimulai. Masing-masing diberi kode nomor uji dengan tinta berbasis minyak, dan masing-masing sangkar ditempel etiket yang menunjukkan nomor kelompok, jalur pemberian, peringkat dosis, jenis kelamin, dan nomor hewan.

Bahan Uji. Ada 2 sampel bahan uji toksisitas akut oral. Bahan uji adalah ekstrak etanol rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valetton & van Zijp) berbentuk ekstrak kental yang tidak diiradiasi (A) dan yang diiradiasi 7,5 kGy (B).

Uji Toksisitas Akut. Sediaan uji adalah ekstrak etanol dari temu mangga yang tidak diiradiasi dan yang diiradiasi 7,5 kGy. Sediaan disuspensikan dalam minyak jagung dan dibuat dosis uji 2000 mg/kg bb, sedangkan kontrol normal hanya diberi larutan minyak jagung. Sediaan uji diberikan secara oral. Hewan coba dikelompokkan ke dalam 2 kelompok. Setiap kelompok terdiri dari 6 ekor jantan dan 6 ekor betina. Kelompok kontrol (K) hanya diberi larutan pembawa yaitu minyak jagung. Pengamatan terhadap efek-efek yang muncul dilakukan pada mencit jantan dan betina dilakukan sampai hari ke-14 terhadap sistem susunan saraf pusat dan somatomotor, saraf otonom, pernafasan, kardiovaskular, saluran cerna, genitourinari, membran mukosa dan mata.

Perubahan bobot badan dan kematian mencit dipantau terus setiap hari sampai 14 hari setelah pemberian sediaan uji. Apabila ada mencit yang mati selama

pengamatan, segera dibedah untuk menentukan sebab kematian. Pada hari ke 14, semua mencit dibunuh, kemudian organ-dalam mencit ditimbang dan dihitung indeksnya terhadap bobot badan mencit. Organ dalam yang diamati pada mencit jantan adalah hati, limpa, paru-paru, ginjal, jantung, kelenjar adrenal, vesika seminalis dan testis; sedangkan pada mencit betina organ-dalam yang diamati meliputi hati, jantung, paru-paru, limpa, ginjal, dan lambung. *Kebermaknaan data yang diperoleh diolah secara statistik menggunakan software SPSS 17, uji student-t dan anova.*

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi. Ekstrak etil asetat hasil maserasi 1 kg rimpang temu mangga kontrol dan yang diiradiasi 7,5 kGy masing-masing 113 dan 109,5 g.

Isolasi minyak atsiri. Hasil isolasi minyak atsiri dengan metode destilasi air diperoleh minyak atsiri dari temu mangga kontrol dan yang diiradiasi tertera pada Tabel 2.

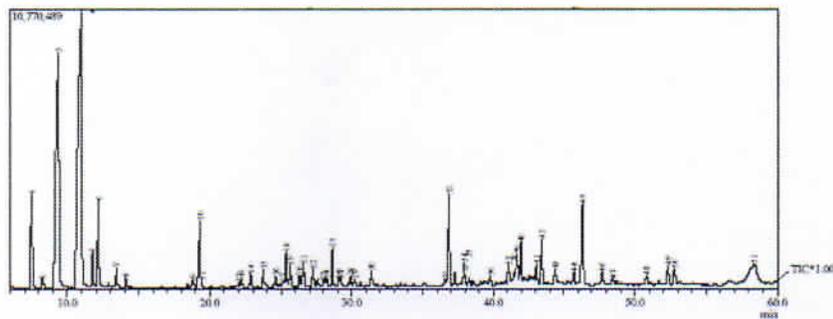
Tabel 2. Minyak atsiri hasil isolasi dari rimpang temu mangga

Dosis (kGy)	Kadar minyak atsiri rata-rata (%)
0	0,73
5	0,73
7,5	0,74
10	0,73
15	0,73

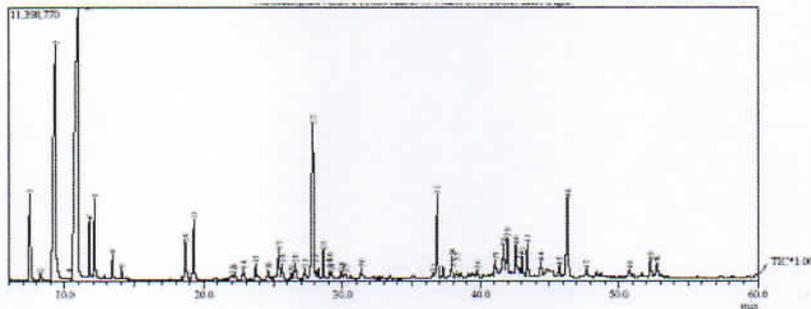
Kadar minyak atsiri dari temu mangga kontrol 0,73%, dan yang telah diiradiasi berkisar antara 0,73 sd 0,74%.

Analisis komponen minyak atsiri dengan GC-MS. Profil kromatogram minyak atsiri temu mangga kontrol ditunjukkan pada Gambar 1. Setelah temu mangga diiradiasi gamma, profil kromatogram dan kandungan komponennya hanya sedikit

mengalami perubahan. Pada Gambar 2 ditampilkan profil kromatogram GC minyak atsiri temu mangga yang diiradiasi 7,5 kGy.



Gambar 1. Kromatogram komponen minyak atsiri rimpang temu mangga (kontrol/ 0 kGy)



Gambar 2. Kromatogram komponen minyak atsiri rimpang temu mangga yang diiradiasi 7,5 kGy

Aktivitas Antiproliferasi Temu Mangga terhadap Sel Kanker HUT-78 dan K-562. Aktivitas antiproliferasi ekstrak etanol, ekstrak etil asetat dan fraksi 3 dari temu mangga yang tidak dan yang diiradiasi terhadap sel kanker HUT-78 ditunjukkan sebagai nilai IC_{50} berturut-turut 19,99 ; 19,40 dan 3,89 $\mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} dari temu mangga yang diiradiasi 7,5 kGy berturut-turut yaitu 19,93 ; 19,81 dan 4,51 $\mu\text{g/ml}$. Hasil uji sampel kontrol terhadap sel kanker K-562 nilai IC_{50} nya berturut-turut 9,32; 9,36 ; dan 1,46 $\mu\text{g/ml}$, setelah diiradiasi 7,5 kGy nilai IC_{50} nya yaitu 15,01; 17,41; dan 1,56 $\mu\text{g/ml}$. Secara umum nilai IC_{50} terhadap HUT-78 dan K-

562 dari temu mangga yang diiradiasi pada dosis 7,5 kGy mengalami peningkatan dibandingkan dengan temu yang tidak diiradiasi, namun aktivitas antiproliferasinya masih dalam batas aktif yaitu $< 20 \mu\text{g/ml}$ (10).

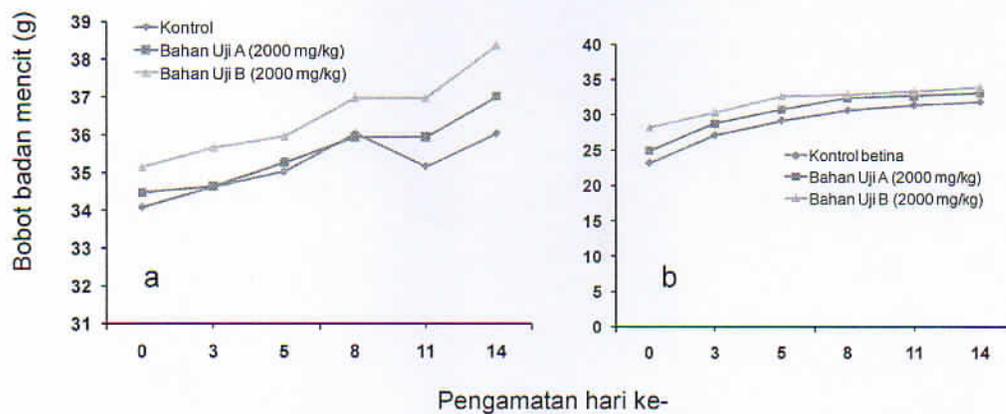
Hasil Uji Toksisitas Akut

Pengamatan Fisik Gejala-Gejala Toksik

Dalam lingkup pengamatan ini, data yang dikumpulkan berupa perubahan berat badan (dinyatakan sebagai purata kenaikan berat badan perhari = *Average Daily Gain*, ADG) serta gejala-gejala toksik yang muncul pada mencit jantan dan betina selama 14 hari setelah pemberian sediaan uji.

Perubahan Berat Badan

Perubahan berat badan selama 14 hari dan purata kenaikan berat badan perhari (ADG) mencit akibat pemberian sediaan uji ekstrak etanol rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valetton & van Zijp) yang tidak diradiasi (A) dosis tunggal per oral dengan *limit test* dosis 2000 mg/kg bb secara statistik tidak mempengaruhi perkembangan berat badan mencit jantan maupun betina.



Gambar 3. Kurva perubahan berat badan selama 14 hari mencit jantan (a) dan betina (b) akibat pemberian sediaan uji ekstrak etanol rimpang Temu Mangga

(*Curcuma mangga* Valetton & van Zijp) yang tidak diradiasi (A) dosis tunggal per oral

Gejala-Gejala Toksik (Klinik)

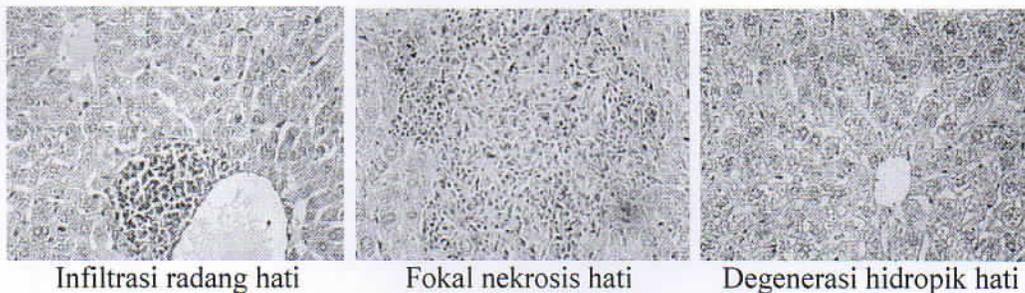
Pengamatan gejala-gejala toksik akibat pemberian sediaan uji ekstrak etanol rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Valetton & van Zijp) yang tidak diradiasi (A) dan yang diradiasi (B) pada mencit jantan dan betina dilakukan sampai hari ke-14. Sampai dengan hari ke-14 setelah pemberian sediaan uji ekstrak etanol rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valetton & van Zijp) yang tidak diradiasi (A) dan yang diradiasi (B) *limit test* dosis 2000 mg/kg BB pada mencit jantan dan betina, tidak ditemukan adanya gejala-gejala toksik yang berarti. Dengan kata lain, pemberian sediaan ekstrak etanol rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Valetton & van Zijp) yang tidak diradiasi (A) dan yang diradiasi (B) pada *limit test* dosis 2000 mg/kg bb, tidak mempengaruhi sistem susunan saraf pusat dan somatomotor, saraf otonom, pernafasan, kardiovaskular, saluran cerna, genitourinari, membran mukosa dan mata.

Patologi Organ (Spektrum Efek toksik)

Hasil pemeriksaan gros patologi terhadap organ-organ penting mencit jantan maupun betina (paru, jantung, hati, limpa, ginjal, lambung, usus) setelah pemberian sediaan uji ekstrak etanol rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Valetton & van Zijp) yang tidak diradiasi (A) dan yang diradiasi (B) pada *limit test* dosis 2000 mg/kg bb, tidak ditemukan adanya perubahan yang berarti. Hal ini berarti bahwa sampai *limit test* dosis 2000 mg/kg bb tidak menunjukkan spektrum efek toksik khas yang berarti pada organ-organ di atas pada mencit jantan dan betina. Dosis sampai *limit test* 2000 mg/kg BB ini diperkirakan setara dengan dosis 15.516 mg (~15,5 g) pada manusia (70 kg).

Histopatologi Organ

Hasil pemeriksaan histopatologi terhadap organ–organ hati, ginjal, dan limpa mencit jantan maupun betina menunjukkan bahwa organ hati ada sebagian yang mengalami hepatitis. Perubahan tersebut terjadi pada kelompok kontrol maupun perlakuan. Pada organ ginjal hampir semua organ tidak ada perubahan patologi spesifik, hanya ada satu ekor yang mengalami nefritis interstitialis. Untuk organ lien semua organ tidak mengalami perubahan patologi yang spesifik. Jadi perubahan yang terjadi pada organ hati dan ginjal pada mencit betina bukan disebabkan oleh sediaan uji ekstrak etanol rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Valetton & van Zijp) yang tidak diradiasi (A) dan yang diradiasi (B).



Gambar 4. Perubahan pada organ hati bukan disebabkan oleh sediaan uji ekstrak etanol rimpang temu mangga

KESIMPULAN

Hasil analisis GC-MS (minyak atsiri) dari rimpang temu mangga yang diiradiasi sampai dosis 7,5 kGy menunjukkan bahwa tidak ada perubahan profil kromatogram dan luas area puncak komponennya dibandingkan dengan kontrol. Demikian pula khasiatnya, rimpang yang diiradiasi 7,5 kGy masih dalam kategori aktif berpotensi sebagai antikanker HUT-78 dan K-562 (nilai $IC_{50} < 20 \mu\text{g/ml}$). Pemberian sediaan uji ekstrak etanol rimpang temu mangga yang tidak dan yang diiradiasi 7,5 kGy pada

juga tidak menunjukkan perubahan mikroskopis dilihat dari gambaran histopatologis dan tidak menunjukkan adanya efek toksik terhadap hewan coba pada *limit test* dosis 2000 mg/kg berat badan, sehingga aman untuk dikonsumsi.

DAFTAR PUSTAKA

1. JANUWATI, M., Peran teknik nuklir dalam agroindustri tanaman obat. Dalam : Risalah Seminar Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. 2006. h.27-9.
2. ABAS, F., LAJIS, N.H., SHAARI, K., *et al.* A labdane diterpene glucoside from the rhizomes of *Curcuma mangga*. ACS Publications J.Nat.Prod. 2005 January; 68(7), 1090 – 3.
3. TEDJO, A., SAJUTHI, D., DARUSMAN, L.K.. Aktivitas kemoprevensi ekstrak temu mangga. Makara, Kesehatan Desember 2005; 9(2). h. 57 – 62.
4. MAE, S., MUBARIKA, S., BOLHUIS, R.L.H., NOOTER, K., WAHYUONO, S., OOSTRUM, R.G., Sitotoksitas rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* Val.& V. Zijp.) dan kunir putih (*Curcuma zedoaria* L.) terhadap beberapa sel kanker manusia (in vitro) dengan metode SRB. Berkala Ilmu Kedokteran. 2003: 35(4), 197-201.
5. WINARNO, E.K., JAYANTI, J., WINARNO, H., dan SUSANTO, Pengaruh iradiasi gamma pada aktivitas sitotoksik rimpang temu mangga (*Curcuma mangga* val.&V.Zijp.) fraksi ekstrak etil asetat terhadap sel leukemia L1210 (*sedang dalam proses publikasi*).
6. FERDIAZ, D., Teknologi iradiasi untuk meningkatkan keamanan pangan. Dalam : Risalah Seminar Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi. Jakarta : Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi BATAN. 2006, 1-15.
7. Chosdu R. Radiopasteurisasi kosmetika tradisional. Makalah Temu Ilmiah Kosmetika dari Bahan Alam. Yogyakarta, 5 April 1997, 5.
8. The Organization of Economic Co-operation and Development (OECD). 2001. *The OECD guideline for testing of chemical: 423 Acute Oral Toxicity*. France.
9. Katrin, E. dan Winarno, H., Aktivitas sitotoksik fraksi-fraksi ekstrak etil asetat kulit batang mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl0 terhadap sel kanker manusia, Majalah *Tanaman Obat Tradisional* 13 (45), 2008, 120-127.
10. THOMPSON, E.B., Drug Bioscreening Fundamentals of Drug Evaluation Techniques in Pharmacology, Graceway Publ. Co Inc., New York, 87-112, (1985).