

Aktivitas Antiproliferasi Ekstrak Etanol Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) pada Sel Lestari Tumor MCA-B1 dan MCM-B2 secara *In Vitro*

Antiproliferation activity of of temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) ethanol extract on MCA-B1 and MCM-B2 cell lines in vitro

B. P. Priosoeryanto^{1,3,*}, R. Sari¹, R. Tiuria^{2,3}, L. K. Darusman³,
E. D. Purwakusumah³ dan W. Nurcholis³

Bagian Patologi, Departemen Klinik Reproduksi & Patologi¹, Bagian Parasitologi,
Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner²,
Fakultas Kedokteran Hewan; Pusat Studi Biofarmaka³, Institut Pertanian Bogor.

Abstract

The aim of this research is to observe the antiproliferation activity of temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) ethanol (70%) extract on MCA-B1 and MCM-B2 cell lines in vitro. Cells were cultivated in tissue culture plate 24 wells with vinblastin (positive control) and 5 dose level extracts in 5 replicates. The concentrations of extract were 0 ppm (negative control), 15 ppm (P₁), 30 ppm (P₂), 45 ppm (P₃), 60 ppm (P₄), and 75 ppm (P₅). After 3 days incubated at 37°C, cells were harvested and total cells were counted using a haemocytometer Neubauer. The results showed that 70% temulawak extract had antiproliferation activity to MCA-B1 and MCM-B2 cell lines. The best result was occurred on the 75 ppm doses, with the ant-proliferation activity reached for 70.0% in MCA-B1 cell line and 75.4% in MCM-B2 cell line. Overall, the results indicated that temulawak may have a possible therapeutic potential againts cancer.

Keywords : tumor, temulawak, antiproliferation, MCA-B1, MCM-B2, in vitro

Pendahuluan

Tumor ganas atau kanker merupakan penyebab utama kematian pada urutan ke dua setelah penyakit jantung di Amerika Serikat (Warshawsky dan Landolph 2006). Menurut WHO (1997), jumlah penderita kanker di dunia semakin meningkat. Dari kasus kanker baru yang jumlahnya diperkirakan 9 juta setiap tahun, lebih dari setengahnya terdapat di negara berkembang. Di kebanyakan daerah di dunia, angka kematian penderita kanker diperkirakan terus meningkat.

Berbagai cara pengobatan antitumor yang sejauh ini digunakan yaitu dengan tindakan pembedahan, radioterapi, kemoterapi, imunoterapi, terapi hormonal, dan lain-lain. Saat ini, kemoterapi merupakan pendekatan terapi yang paling efektif karena bersifat sistemik, namun obat-obatan yang digunakan biasanya memiliki indeks terapi yang sempit dan dapat menimbulkan immunosupresi (Ganiswarna 1995). Hal inilah yang mendasari upaya manusia menemukan pengobatan alternatif

yang efektif namun aman bagi tubuh. Penemuan produk alam dalam farmasetik modern menjadi elemen yang krusial (Cragg *et al.* 2005), contohnya produk alam yang berasal dari tumbuhan.

Saat ini Indonesia merupakan salah satu negara penghasil tanaman obat yang potensial dengan keanekaragaman hayati yang dimilikinya. Di hutan tropika Indonesia tumbuh sekitar 30.000 spesies tumbuhan berbunga dan diperkirakan sekitar 3.689 spesies diantaranya merupakan tumbuhan obat. Dari sejumlah tanaman tersebut menurut Ditjen POM, baru sebanyak 283 spesies tumbuhan obat yang sudah digunakan dalam industri obat tradisional (Djauhariya dan Hernani 2004). Salah satunya adalah temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Tanaman ini banyak ditanam secara komersial karena permintaan cukup tinggi (Duryatmo 2003). Selama ini temulawak diketahui berkhasiat sebagai antiinflamasi, antibakteri, antihiperlipidemik, hepatoprotektor, kholagogum, dan lain-lain. Menurut Wijayakusuma (2005a), genus *Curcuma* selain temulawak, yaitu kunyit

*) Korespondensi : Bambang Pontjo Priosoeryanto, Telepon dan Faksimili : 0251-8421807;
E-mail : bmbpontjo@yahoo.co.id

(*Curcuma longa* L.), temu mangga (*Curcuma mangga* Val.), dan temu putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Rosc.) telah diketahui dapat digunakan untuk pengobatan kanker secara tradisional. Hal tersebut mendasari penggalan yang lebih dalam lagi mengenai adanya khasiat yang lain dari temulawak, yaitu kemungkinan adanya aktivitas antitumor.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji adanya aktivitas antiproliferasi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) 70% terhadap pertumbuhan sel lestari tumor MCA-B1 (Priosoeryanto *et al.*, 1995a) dan MCM-B2 (Priosoeryanto *et al.*, 1995b) secara *in vitro*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang salah satu khasiat temulawak sebagai tanaman obat, yaitu adanya potensi aktivitas penghambatan sel tumor sehingga dapat bermanfaat bagi penemuan obat antitumor yang aman dan efektif.

Bahan Dan Metode

Persiapan Media dan Ekstrak

Media yang digunakan adalah DMEM/F-12 yang ditambahkan antibiotik (penisilin 100 IU/ml dan streptomisin 100 µg/ml) dan FBS 10%. Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak temulawak 70% yang berupa cairan kental. Ekstrak ini diambil sebanyak 0,5 mg dan dilarutkan dengan DMSO sebanyak 20 µl. Setelah itu, campuran tersebut ditambah dengan DMEM/F-12 sebanyak 980 µl sehingga stok ekstrak yang diperoleh sebesar 500 ppm.

Penanaman Sel

Suspensi sel lestari tumor MCA-B1 dan MCM-B2 dicairkan terlebih dahulu (*thawing*) dengan didiamkan pada suhu kamar. Setelah cair, suspensi

sel tersebut dihomogenkan dengan *vortex*. Penanaman tiap sel dilakukan dalam dua buah *tissue culture plate 24 well* yang berisi medium penumbuh dengan 5 konsentrasi ekstrak (15 ppm, 30 ppm, 45 ppm, 60 ppm, dan 75 ppm), tidak ditambahkan ekstrak (kontrol negatif), dan vinblastin (kontrol positif). Suspensi sel diberikan dalam jumlah yang sama dalam setiap lubang yaitu sebanyak 100 µl dengan kepadatan 10⁶ sel. Pengulangan dilakukan sebanyak lima kali. Volume total cairan dalam satu lubang adalah 1 ml, sehingga volume media yang ditambahkan harus disesuaikan dengan volume ekstrak dan suspensi sel lestari tumor dalam lubang. Suspensi sel lestari tumor ditumbuhkan dengan menginkubasikannya dalam inkubator 37°C, 5% CO₂.

Pemanenan dan Penghitungan Sel

Pemanenan dan penghitungan sel dilakukan menurut cara Priosoeryanto *et al.*, (1995c). Pemanenan sel lestari tumor dilakukan apabila sel pada lubang kontrol sudah tumbuh optimal menutupi sekitar 70% permukaan lubang (*confluence*) kira-kira setelah 3-4 hari. Medium pada seluruh lubang dihisap dan dibuang, kemudian dilakukan tripsinisasi dan dibilas dengan EDTA-PBS sambil dikocok merata untuk membantu melepaskan semua sel yang menempel pada dinding *plate*. Setelah tersuspensi, dari setiap lubang diambil 100 µl suspensi sel tumor yang dimasukkan ke dalam *tissue culture plate 96 well*, kemudian diberi perwarna *Trypan Blue* sebanyak 10 µl. Setelah homogen, suspensi diteteskan pada hemositometer Neubauer dan dilakukan penghitungan jumlah sel di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 10x. Sel yang dihitung adalah sel yang berada pada tengah kotak pada kamar hitung. Hasil penghitungan dikonversikan ke dalam jumlah sel per ml suspensi dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Aktivitas penghambatan} = 100\% - (\% \text{ aktivitas pertumbuhan})$$

Jumlah sel/ml = Jumlah sel yang dihitung x faktor volume x faktor pengenceran

Jumlah sel/ml = Jumlah sel yang dihitung x 10⁴ x 10

Rumus yang digunakan dalam penghitungan % aktivitas pertumbuhan dan penghambatan sel tumor adalah sebagai berikut :

$$\% \text{ Aktivitas pertumbuhan} = \frac{\text{Jumlah rata-rata sel perlakuan}}{\text{Jumlah rata-rata sel kontrol negatif}} \times 100\%$$

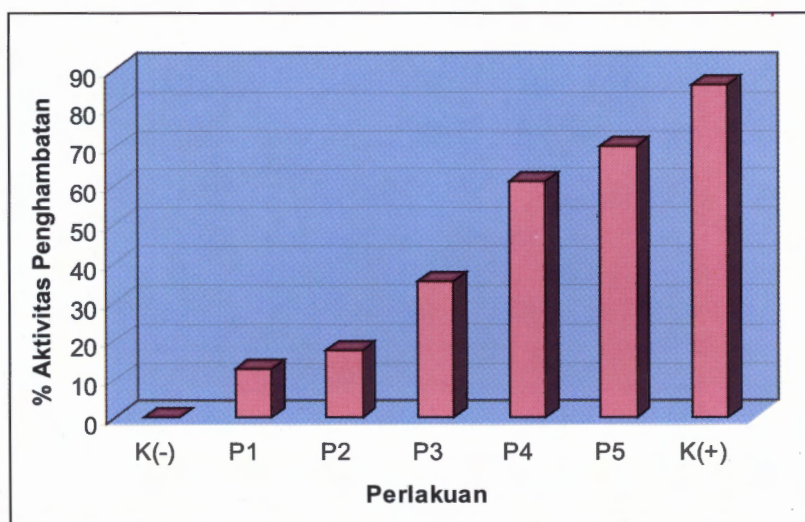
Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji statistik analisis sidik ragam ANOVA dan dilanjutkan dengan uji wilayah berganda Duncan untuk melihat ada tidaknya perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

Hasil Dan Pembahasan

Aktivitas Antiproliferasi terhadap Sel Lestari Tumor MCA-B1

Pemberian ekstrak temulawak 70% dengan dosis bertingkat memberikan efek berupa penurunan jumlah sel tumor yang menandakan adanya aktivitas antiproliferasi ekstrak temulawak 70% terhadap sel tumor MCA-B1. Aktivitas penghambatan pertumbuhan sel tumor MCA-B1 dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Aktivitas penghambatan pertumbuhan sel tumor MCA-B1 pada setiap perlakuan. K(-) : Kontrol negatif; P₁ : sel yang diberi ekstrak 15 ppm; P₂ : sel yang diberi ekstrak 30 ppm; P₃ : sel yang diberi ekstrak 45 ppm; P₄ : sel yang diberi ekstrak 60 ppm; P₅ : sel yang diberi ekstrak 75 ppm; K(+) : Kontrol positif yang diberi vinblastin

Gambar 1 di atas memperlihatkan bahwa kenaikan aktivitas antiproliferasi ekstrak temulawak 70% pada sel lestari MCA-B1 terjadi seiring dengan peningkatan dosis. Aktivitas antiproliferasi tertinggi terdapat pada kontrol positif, yaitu vinblastin. Sedangkan dosis ekstrak temulawak 70% yang memberikan hasil terbaik adalah 75 ppm. Pada dosis yang lebih tinggi tidak tertutup kemungkinan bahwa aktivitas antiproliferasi ekstrak temulawak 70% akan semakin meningkat atau malah menurun. Analisis statistik menggunakan analisis sidik ragam terhadap setiap perlakuan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) antara kelompok-kelompok perlakuan yang dibandingkan. Analisis lanjutan menggunakan uji Duncan untuk melihat kelompok-kelompok yang berbeda secara nyata menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) antara kontrol negatif, perlakuan 1-2, perlakuan 3, perlakuan 4-5, dan kontrol positif. Dosis terendah dari ekstrak temulawak 70%, yaitu sebesar 15 ppm sudah menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok

kontrol negatif yang tidak ditambahkan ekstrak. Dosis ekstrak temulawak 70% yang mempunyai aktivitas antiproliferasi paling baik adalah 60 dan 75 ppm, yaitu sebesar 61,2% dan 70,0%. Tetapi keduanya masih menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol positif, yaitu vinblastin. Vinblastin memiliki aktivitas antiproliferasi tertinggi, yaitu sebesar 86,2%

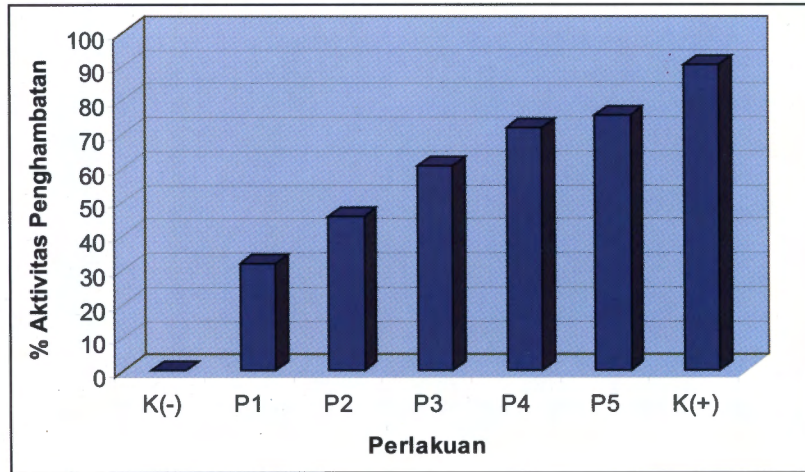
Aktivitas Antiproliferasi terhadap Sel Lestari Tumor MCM-B2

Pemberian ekstrak temulawak 70% dengan dosis bertingkat memberikan efek berupa penurunan jumlah sel tumor yang menandakan adanya aktivitas antiproliferasi ekstrak temulawak 70% terhadap sel tumor MCM-B2.

Kemampuan ekstrak temulawak 70% dalam menghambat pertumbuhan sel lestari MCM-B2 meningkat seiring dengan peningkatan dosis. Aktivitas antiproliferasi tertinggi terdapat pada kontrol positif, yaitu vinblastin. Sedangkan dosis ekstrak temulawak 70% yang memberikan hasil terbaik adalah 75 ppm (Gambar 2). Pada dosis

yang lebih tinggi tidak tertutup kemungkinan bahwa aktivitas antiproliferasi ekstrak temulawak 70% akan semakin meningkat atau malah menurun. Analisis statistik menggunakan ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ($p < 0.05$) antara kelompok-kelompok perlakuan yang dibandingkan. Analisis lanjutan dengan menggunakan uji wilayah berganda Duncan untuk melihat kelompok-kelompok yang berbeda secara nyata menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata ($p < 0.05$) antara kontrol negatif, perlakuan 1-2, perlakuan 3, perlakuan 4, perlakuan

5, dan kontrol positif. Dosis terendah dari ekstrak temulawak 70%, yaitu sebesar 15 ppm sudah menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0.05$) dengan kelompok kontrol negatif yang tidak ditambahkan ekstrak. Dosis ekstrak temulawak 70% yang mempunyai aktivitas antiproliferasi paling baik adalah 75 ppm, yaitu sebesar 75,4%. Tetapi kelompok dosis tersebut masih menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0.05$) dengan kelompok kontrol positif (vinblastin). Vinblastin memiliki aktivitas antiproliferasi tertinggi, yaitu sebesar 90,3%.

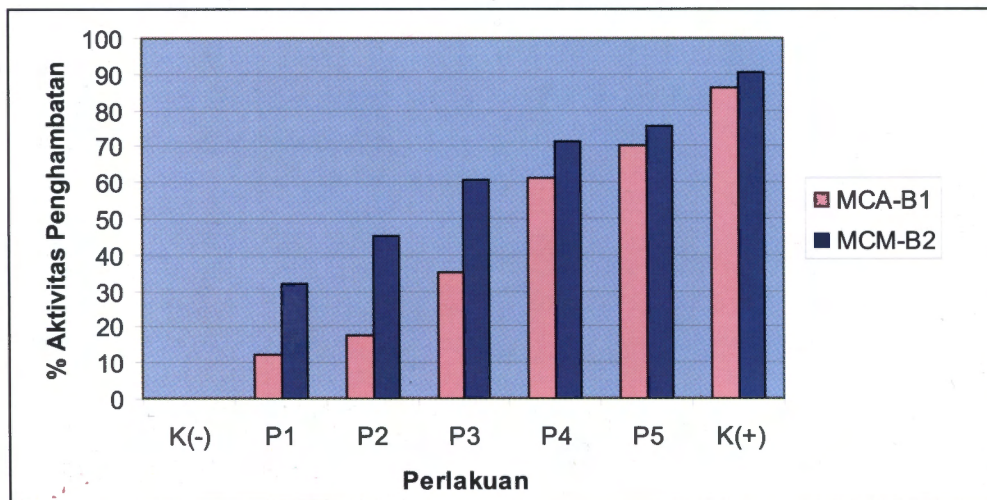


Gambar 2. Aktivitas penghambatan pertumbuhan sel tumor MCM-B2 pada setiap perlakuan. K(-) : Kontrol negatif; P₁ : sel yang diberi ekstrak 15 ppm; P₂ : sel yang diberi ekstrak 30 ppm; P₃ : sel yang diberi ekstrak 45 ppm; P₄ : sel yang diberi ekstrak 60 ppm; P₅ : sel yang diberi ekstrak 75 ppm; K(+): Kontrol positif yang diberi vinblastin

Perbandingan Aktivitas Antiproliferasi terhadap Sel Lestari Tumor MCA-B1 dan MCM-B2

Ekstrak temulawak 70% memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan sel lestari tumor, baik sel lestari MCA-B1 maupun MCM-

B2. Kedua sel lestari tumor tersebut memiliki kepekaan yang berbeda terhadap pemberian ekstrak temulawak 70%. Perbandingan aktivitas penghambatan pertumbuhan sel lestari tumor MCA-B1 dan MCM-B2 dapat dilihat pada Gambar 3



Gambar 3. Perbandingan aktivitas penghambatan pertumbuhan sel tumor MCA-B1 dan MCM-B2 pada setiap perlakuan. K(-) : Kontrol negatif; P₁ : sel yang diberi ekstrak 15 ppm; P₂ : sel yang diberi ekstrak 30 ppm; P₃ : sel yang diberi ekstrak 45 ppm; P₄ : sel yang diberi ekstrak 60 ppm; P₅ : sel yang diberi ekstrak 75 ppm; K(+): Kontrol positif yang diberi vinblastin.

Gambar 3 menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak berbanding lurus dengan aktivitas antiproliferasi sel tumor. Pada dosis bertingkat, terlihat bahwa ekstrak temulawak 70% memiliki aktivitas yang lebih baik terhadap sel lestari tumor MCM-B2 dibandingkan sel lestari tumor MCA-B1. Hal ini ditandai dengan penurunan jumlah sel tumor yang lebih besar. Perbedaan tersebut disebabkan adanya perbedaan reaksi sel tumor terhadap aktivitas antiproliferasi yang dimiliki ekstrak. Perbedaan reaksi antara kedua kelompok sel lestari tumor menunjukkan adanya kepekaan sel tumor yang berbeda pula terhadap ekstrak yang diberikan. Dengan kata lain, sel lestari tumor MCM-B2 memiliki kepekaan yang lebih tinggi terhadap ekstrak temulawak 70% bila dibandingkan dengan sel lestari tumor MCA-B1.

Mekanisme Penghambatan Sel Tumor oleh Ekstrak Temulawak 70%

Komponen utama yang berkhasiat dalam rimpang temulawak adalah zat warna kuning kurkuminoid dan minyak atsiri (Ketaren 1988). Penelitian yang dilakukan terhadap kurkumin menunjukkan adanya aktivitas antitumor, yaitu dengan cara menginduksi apoptosis sel tumor, yaitu dengan diperantarai oleh aktivasi *caspase-3*. Aktivasi ini disebabkan kurkumin memacu pelepasan *cytochrom c* melalui pembentukan intermediat oksigen reaktif dan hilangnya potensial membran pada mitokondria (Khar *et al.* 2003).

Chouduri *et al.* (2002) mengemukakan bahwa apoptosis pada sel lestari tumor kelenjar mamaria diinduksi oleh kurkumin melalui induksi p53-Bax. Menurut Meiyanto (1999), protein p53 merupakan protein supresor tumor yang dapat memacu proses apoptosis melalui peningkatan ekspresi Bax. Bax bersama-sama dengan protein lainnya akan mengaktifkan *cytochrom c* yang dilepas dari mitokondria dan selanjutnya akan terjadi aktivasi berantai terhadap *caspase-9* dan *caspase-3* hingga proses apoptosis terjadi. Selain itu, hasil penelitian yang dilakukan oleh Chouduri *et al.* (2005) menjelaskan bahwa kurkumin menginduksi apoptosis pada daur sel fase G₂ menuju fase S dengan cara menurunkan ekspresi *cyclin-D1* pada sel karsinoma epitelial kelenjar mamaria. Mekanisme yang terjadi adalah adanya peningkatan ekspresi p53 secara selektif pada fase G₂ sel karsinoma dan terjadi pelepasan *cytochrom c* dari mitokondria, yang pada akhirnya menyebabkan apoptosis.

Aggarwal *et al.* (2003) menyebutkan bahwa kurkumin dapat menghambat *lipooxygenase* (LOX), *cyclooxygenase* (COX)-1 dan COX-2, serta lipopoli-sakarida yang menginduksi ekspresi COX-2. COX merupakan enzim yang mengkatalisis sintesis prostanoid dari asam arakidonat. Lebih lanjut menurut Meiyanto (1999), pada sel-sel tumor, ekspresi berlebihan COX-2 yang berakibat pada berlebuhnya produksi prostanoid akan menyebabkan peningkatan proliferasi dan pencegahan apoptosis. Peningkatan proliferasi sel terjadi karena adanya aktivasi beberapa onkogen yang terlibat dalam signal mitogenik seperti onkogen Ras. Sedangkan inhibisi terhadap proses apoptosis merupakan akibat dari adanya ekspresi berlebihan onkogen Bcl-2. Dengan menghambat COX, kurkumin mencegah produksi prostanoid yang berlebih sehingga mengurangi efek inflamasi, mencegah proliferasi sel tumor, dan memacu apoptosis. Pada jalur ini proses apoptosis dipacu karena adanya akumulasi asam arakidonat. Akumulasi asam arakidonat akan mengaktifkan enzim *sphingomyelinase* yang mengkatalisis pembentukan seramid dari *sphingomyelin*, dan pada akhirnya seramid akan memacu proses apoptosis.

Kurkumin juga mampu menghambat aktivitas tirosinkinase dari protein p185^{neu}, yaitu protein yang dihasilkan oleh onkogen erb B-2/*neu*. Onkogen ini diketahui diekspresikan secara berlebihan pada sekitar 30% kasus tumor kelenjar mamaria. Mekanisme penghambatan terjadi melalui dua cara, yaitu dengan menghambat aktivitas enzimatik dari protein tersebut dan menurunkan kadarnya. Aktivitas ganda yang ditunjukkan oleh kurkumin tersebut terbukti sangat efektif untuk mencegah proliferasi sel-sel tumor dan sekaligus mencegah penyebarannya (Hong *et al.* 1999). Kurkumin juga dapat menghambat perkembangan tumor kelenjar mamaria dengan cara lain, yaitu dengan menghambat aktivasi *estrogen receptor* (ER) oleh estrogen. Aktivasi reseptor estrogen ini menyebabkan aktivasi faktor transkripsi untuk memacu pertumbuhan sel melalui induksi RNA polimerase (Verma *et al.* 1997).

Menurut Aggarwal (2005), kurkumin dapat menekan transformasi seluler, proliferasi, invasi, angiogenesis, dan metastasis melalui suatu mekanisme yang belum dimengerti secara penuh. Kurkumin diketahui dapat menekan *tumor necrosis factor* (TNF) yang menginduksi *nuclear factor-κB* (NF-κB). NF-κB mengatur beberapa gen yang berperan dalam proliferasi sel (COX-2, *cyclin-*

D1), antiapoptosis, dan metastasis. Dengan adanya penghambatan terhadap aktivasi NF- κ B, maka ekspresi gen yang diatur oleh NF- κ B tersebut juga terhambat.

Minyak atsiri rimpang temulawak antara lain mengandung senyawa kamfer, mirsen, xanthorizol, xineol, β -kurkumin, arkurkurmin, isofuranogermesen, dan p-toluil metil karbinol (Purseglove *et al.* 1981). Minyak atsiri temu putih (*Curcuma zedoaria* [Berg.] Rosc.) diketahui mempunyai efek antitumor pada sarkoma, karsinoma serviks, *Ehrlich ascitis carcinoma*, dan leukemia (Wijayakusuma 2005). Minyak atsiri kunyit putih (*Kaempferia rofunda*) yang mengandung kamfer, xineol, metil kafikol, saponin, polifenol, dan flavonoid diketahui dapat meningkatkan limfosit, meningkatkan antibodi spesifik, dan mengendalikan pertumbuhan sel tumor (Mardiana 2007).

Komposisi minyak atsiri temulawak merupakan golongan terpenoid yang terdiri dari unit dasar isopren (Ketaren 1988). Menurut Laidlaw dan Swendseid (1991), terpenoid merupakan salah satu komponen kemopreventif tumor yang dapat menghambat inisiasi dan perkembangan tumor, menghambat aktivasi karsinogen kimia, menginaktivasi pengaktifan genotoksik spesies, serta menghambat jalur transduksi yang penting untuk perkembangan tumor.

Kadar minyak atsiri temulawak paling tinggi diantara semua jenis kurkuma, yaitu bervariasi antara 7,3-29,5% dihitung berdasarkan bobot kering rimpang. Adanya senyawa xanthorizol menjadi ciri khas yang membedakan temulawak dengan kurkuma lainnya. Dalam rimpang temulawak, xanthorizol biasanya bergabung dengan kurkumin yang merupakan penyebab khasiat temulawak (Ketaren 1988). Komponen polisakarida temu putih yang juga dimiliki temulawak diketahui dapat meningkatkan fagositosis makrofag dan imunitas humoral (Wijayakusuma 1995).

Berdasarkan hasil semua diatas kami menyimpulkan bahwa ekstrak temulawak 70% yang diujikan memiliki aktivitas antiproliferasi terhadap pertumbuhan sel lestari tumor MCA-B1 dan MCM-B2 dan aktivitas tersebut berkorelasi dengan tingkat dosis (*dose response relationship*) dan temulawak memiliki potensi untuk menjadi salah satu alternatif pengobatan tumor.

Daftar Pustaka

- Aggarwal B.B., Kumar A., Bharti A.C. 2003. Anticancer Potential of Curcumin: Preclinical and Clinical Studies. *Anticancer Res* 23: 363-398.
- Aggarwal, S. *et al.* 2005. Curcumin (Diferuloylmethane) Down-Regulates Expression of Cell Proliferation and Antiapoptotic and Metastatic Gene Products through Suppression of IKK α Kinase and Akt Activation. *Mol Pharmacol* 69:195-206.
- Chouduri, T., Pal, S., Agwarwal, M.L., Das, T., Sa, G. 2002. Curcumin Induces Apoptosis in Human Breast Cancer Cells through p53-dependent Bax Induction. *FEBS Lett.* 512(113): 334-340.
- Chouduri, T., Pal, S., Das, T., Sa, G. 2005. Curcumin Selectively Induces Apoptosis in Deregulated Cyclin D1-expressed Cells at G₂ Phase of Cell Cycle in a p53-dependent Manner. *J. Biol. Chem.* Vol. 280 (20): 20059-20068.
- Cragg, G.M., Kingstone, D.G.I., Newmann, D.J. 2005. *Anticancer Agents from Natural Products*. New York: Taylor & Francis Group.
- Ganiswarna, S.G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Ed-4. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UI.
- Hong, R., Spohn, W.H., Hung, M. 1999. Curcumin Inhibits Tyrosine Kinase Activity of p185^{neu} and Also Depletes p185^{neu}. *Clinical Cancer Research* Vol. 5: 1884-1891
- Ketaren, S. 1988. *Penentuan Komponen Utama Minyak Atsiri Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxburg)*. [Tesis]. Bandung: ITB.
- Khar, A., Ali, A.M., Pardhasaradhi, B.V.V., Begum, Z., Anjum, R. 2003. Antitumor Activity of Curcumin is Mediated through the Induction of Apoptosis in AK-5 Tumor Cells. *J. Assoc. Physicians India* 57: 1055-1060.
- Laidlaw, S.A., Swenseid, M.E. 1991. *Vitamins and Cancer Prevention*. USA: Willey-Liss Inc.

- Mardiana, L. 2007. *Kanker pada Wanita : Pencegahan dan Pengobatan dengan Tanaman Obat*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Meiyanto, E. 1999. *Kurkumin sebagai Obat Kanker: Menelusuri Mekanisme Aksinya*. <http://groups.yahoo.com/group/FarmasiNet/messages/278?xm=1&m=e&1=1> [20 Juli 2008]
- Priosoeryanto BP, Tateyama S, Yamaguchi R, Uchida K. 1995a. A Cell Line (MCA-B1) derived from A Canine Oral Acanthomatous Epulis. *Research in Veterinary Science* 58:101-102.
- Priosoeryanto BP, Tateyama S, Yamaguchi R, Uchida K. 1995b. Establishment of A Cell Line (MCM-B2) from A Benign Mixed Tumour of Canine Mammary Gland. *Research in Veterinary Science* 58:272-276.
- Priosoeryanto BP, Tateyama S, Yamaguchi R, Uchida K. 1995c. Antiproliferation and Colony-forming Inhibitory Activities of Recombinant Feline Interferon (rFeIFN) on Various Cells *in vitro*. *Canadian J. Vet. Res.* 59:67-69
- Purseglove, J.W., Brown, E.G., Green, C.L., Robins, S.R.J. 1981. *Spices*. Vol 2. London: Longman.
- Verma, S.P. *et al.* 1997. Curcumin and Genistein, Plant Natural Products, Show Synergistic Inhibitory Effects on the Growth of Human Breast Cancer MCF-7 Cells Induced by Estrogenic Pesticides. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 233: 692-696
- Warshawsky, D., Landolph J.R. 2006. *Molecular Carcinogenesis and the Molecular Biology of Human Cancer*. New York: Taylor & Francis Group.
- Wijayakusuma, H. 2005. *Atasi Kanker dengan Tanaman Obat*. Jakarta: Puspa Swara.
- WHO. 1997. *Pereda Nyeri Kanker*. Ed ke-2. Amir Musadad, penerjemah. Bandung: Penerbit ITB.