

UJI TOKSISITAS EKSTRAK LEMPUYANG GAJAH (*Zingiber zerumbet*) TERHADAP LARVA UDANG (*Artemia salina* Leach.)

Sintha Suhirman*, Hernani ** dan Cheppy Syukur*

* Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik

** Balai Besar Penelitian Pasca Panen Pertanian

ABSTRAK

Lempuyang gajah merupakan tanaman obat yang banyak dimanfaatkan dalam industri obat tradisional atau jamu dan mempunyai khasiat sebagai obat disentri, sakit perut, muncet dan bersifat karminatif. Tujuan dari penelitian untuk mengetahui daya toksisitas ekstrak dari lempuyang gajah menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) melalui uji bio-indikator terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach.). Bahan baku yang digunakan di ambil dari empat lokasi, yaitu Bogor, Subang, Sumedang dan Garut. Metode penentuan kualitas bahan baku disesuaikan dengan acuan *Materia Medika Indonesia*, seperti penentuan kadar abu, kadar abu tak larut asam, kadar sari yang larut dalam air dan alkohol serta penentuan kadar serat, pati dan kurkumin. Untuk pembuatan ekstrak secara maserasi dikombinasi dengan pengadukan, menggunakan 3 jenis pelarut dengan polaritas yang berbeda, yaitu polar (metanol), semi polar (etil asetat) dan non polar (heksan). Analisis komponen kimia menggunakan KLT (kromatografi lapis tipis) dengan eluen toluen : etil asetat : asam asetat = 8 : 2 : 2 tetes dan larutan penampak asam sulfat 50% dan Gas Chromatography Mass Spectra (GCMS). Dari kualitas bahan baku menunjukkan bahwa ada variasi nilai antar daerah terhadap kadar abu, kadar abu tak larut asam, kadar sari yang larut dalam alkohol dan air. Demikian pula dalam hal kadar serat, kadar pati dan kadar kurkumin. Kadar sari yang larut dalam air dan alkohol tertinggi dari daerah Garut, diikuti oleh Sumedang. Untuk kadar serat, pati dan kurkumin mulai mutu tertinggi, ke rendah masing-masing dari daerah Sumedang, Bogor dan Subang. Rendemen ekstrak tertinggi dan terendah masing-masing dari ekstrak etil asetat, Bogor (8,30%) dan ekstrak heksan, Garut (1,49%). Untuk nilai LD₅₀ yang tertinggi adalah dari ekstrak etil asetat Garut (1,85 ppm) dan terendah dari ekstrak etil asetat

Subang (108,05 ppm). Hasil analisis secara KLT menunjukkan bahwa terjadi perbedaan dalam pemisahan komponen kimia antar daerah dari masing-masing ekstrak. Hasil identifikasi komponen kimia secara kualitatif dari ekstrak yang mempunyai nilai LD₅₀ tertinggi adalah campuran senyawa-senyawa organik, dan yang mempunyai limpahan tertinggi antara lain butil heksadekanoat, diikuti asam oktadekanoat, heksakosan dan senyawa-senyawa yang terdapat dalam famili zingiberaceae seperti 3hidroksi-11-hiperoksi bisabolan-1,9-dien, 2', 4', 5' trimetoksifenil butadien, 7-(4'Hidroksi3'metoksifenil)-1 hept-4-en-3-on dan 1,7 difenil-3,5 -heptan dion.

Kata kunci : Toksisitas, ekstrak, *Zingiber zerumbet*, *Artemia salina*

ABSTRACT

Zingiber zerumbet has been used for long time as a traditional medicine to cure dysentri, stoma-chache, and also as carminative. The present work was to study the toxicity of extract of *Z. zerumbet* used *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) method and *A. salina* as bio indicator. The raw material came from Bogor, Subang, Sumedang and Garut. The method of quality was used *Materia Medika Indonesia* (MMI) such ash content, ash insoluble in acid, water and alcohol soluble extractives and also fiber, starch and curcumin contents. Extracts were made by maceration combination with stirring and 3 types of solvents, such as polar (methanol), semi polar (ethyl acetate) and non polar (hexane). The chemical compounds were analyses by thin layer chromatography (TLC) with toluene : ethyl acetate : acetic acid = 8 : 2 : 2 drops as a eluen and 50% sulphuric acid as spray and GCMS. The result showed that there was variation between areas for ash, ash insoluble in acid, water and alcohol soluble extractives. And also in the fiber, starch and curcumin contents were different. The highest of water and, alcohol soluble extractives

were from Garut followed by Sumedang. For fiber, starch and curcumin contents were from Sumedang, Bogor and Subang, respectively. The highest and the lowest yield of extract were from ethyl acetate, Bogor (8.30%) and hexane, Garut (1.49%). The highest and the lowest LD50 of extracts were from ethyl acetate, it was 1.85 ppm and 108.05 ppm, respectively. The result of TLC showed that there were differences in chemical compound separations from extracts between areas, respectively. The identification of chemical compound was showed that the chemical component of extract which was showed the highest LD50 has the mixture of organic compound such as buthyl hexadecanoat, followed by octadecanoate acid, hexacosan; and also the component which found in zingiberaceae family such as 3-hydroxy-11-hydroperoxy bisabolane-1,9-dien; 2', 4', 5'-trimethoxyphenyl butadien, 7-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-1 hept-4-en-3-on and 1,7 diphenyl-3,5 -heptan dion.

Key words : Toxicity, extract, *Zingiber zerumbet*, *Artemia salina*

PENDAHULUAN

Lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet*) merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan dalam campuran obat tradisional atau jamu. Rimpangnya mempunyai rasa yang cukup pahit dan mempunyai bau yang spesipik. Secara tradisional, lempuyang gajah dimanfaatkan sebagai obat sakit perut, asma, disentri, obat cacing, obat mencret, dan bersifat karmenatif (Depkes, 1989; Hanapi *et al.*, 2001). Hasil penelitian Suganda dan Ozaki (1995), tanaman ini juga berpotensi sebagai analgesik. Hasil pemberian ekstrak etanol pada dosis 3 g/kg bobot menunjukkan kemampuan mengurangi jumlah respon sakit pada mencit yang diinduksi sakit dengan asam asetat.

Sebagian besar famili Zingiberaceae mengandung senyawa kurkuminoid yang mempunyai banyak manfaat seperti anti kanker. Kurkumin sebagai salah satu senyawa pendukung kurkuminoid telah

banyak dimanfaatkan, antara lain sebagai anti inflamasi dan anti tumor (Masuda and Jitoe, 1994). Kandungan minyak atsirinya sekitar 0,82% dengan komponen pendukung antara lain zerumbon, α -pinen, α -kariofilen, kamfer, sineol 1.8, α humulen, kariofilen oksida, humulen epoksida dan sinamaldehyd (Hanafi *et al.*, 2001; Tewtakui *et al.*, 1997). Senyawa-senyawa lain yang pernah diisolasi dari lempuyang gajah selain zerumbon adalah 4"-O-asetilafzelin, germakron-4-5-epoksida dan zerumbeton. Selain itu, senyawa zerumbon dan 3", 4", O-diasetil afzenil diisolasi dari *aromaticum* atau lempuyang wangi (Dai *et al.*, 1997).

BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) merupakan salah satu metode skrining bahan yang berpotensi sebagai tanaman berkhasiat. Metode penelitian ini menggunakan larva udang (*Artemia salina* Leach.) sebagai bioindikator. Larva udang ini merupakan organisme sederhana dari biota laut yang sangat kecil dan mempunyai kepekaan yang cukup tinggi terhadap toksik (Parwati dan Simanjuntak, 1998). Telurnya memiliki daya tahan hidup selama beberapa tahun dalam keadaan kering. Telur udang dalam air laut akan menetas menjadi larva (nauplii) dalam waktu 24 - 28 jam (Pujiati *et al.*, 2002). Bila bahan yang diuji memberikan efek toksik terhadap larva udang, maka hal ini merupakan indikasi awal dari efek farmakologi yang terkandung dalam bahan tersebut. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *A. salina* memiliki korelasi positif terhadap ekstrak yang bersifat bioaktif. Metoda ini juga banyak digunakan dalam berbagai analisis biosistem seperti analisis terhadap residu pestisida, miko-

toksin, polusi, senyawa turunan morfin, dan karsinogenik dari phorbol ester (Meyer *et al.*, 1982).

Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui daya toksisitas ekstrak lempuyang gajah dari berbagai daerah dengan 3 jenis pelarut yang berbeda dengan menggunakan bioindikator larva udang.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hasil Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat dari bulan Juli sampai November 2002. Untuk GCMS dilakukan di Laboratorium Doping, Dinas Kesehatan DKI-Jakarta.

Bahan baku yang digunakan adalah lempuyang gajah dari 4 lokasi, yaitu Bogor, Subang (mewakili dataran rendah pada ketinggian antara 200 - 400 m dpl.), Sumedang dan Garut (mewakili dataran menengah pada ketinggian antara 400 - 600 m dpl.). Analisis terhadap kualitas bahan baku sesuai acuan Materia Medika Indonesia (Depkes, 1989), yaitu penentuan kadar abu, kadar abu tak larut asam, kadar sari yang larut dalam air dan kadar sari yang larut dalam alkohol. Selain itu, ditentukan juga kadar serat, kadar pati, kadar minyak atsiri dan kadar kurkumin dengan menggunakan metode standar. Data yang diperoleh menggunakan analisis mutu data deskriptif yaitu analisis diulang dua kali dengan contoh bahan yang sama.

Proses pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan 3 jenis pelarut, yaitu heksan (non polar), etil asetat (semi polar) dan metanol (polar). Sebelum proses pembuatan ekstrak, terlebih dahulu bahan dicuci dan dipotong dengan ketebalan 5 - 7 mm, kemudian dikeringkan. Bahan yang telah kering lalu digiling dengan ukuran 50 mesh, lalu dimaserasi

dengan pelarut. Maserasi dikombinasikan dengan pengadukan selama 2 jam, kemudian didiamkan selama 1 malam. Filtrat hasil penyaringan diuapkan dengan pengurangan tekanan sampai dihasilkan ekstrak kental. Ekstrak kental digunakan sebagai bahan bioassay terhadap larva udang. Bagan alir cara pembuatan ekstrak lempuyang dapat dilihat pada Gambar 1.

Pada uji toksisitas menggunakan bioindikator larva udang (*A. salina*) melalui tahapan penetasan telur cara bioassay.

a. Penetasan telur

Dilakukan dengan cara ditaburkan pada larutan garam 2,00% yang telah dialiri udara dengan menggunakan aerator. Setelah didiamkan selama 24 - 36 jam di bawah lampu, telur akan menetas menjadi larva. Larva kemudian dipindahkan ke dalam larutan uji dari berbagai konsentrasi.

b. Biossay

Dalam bioassay digunakan variasi konsentrasi 0,1; 1; 10; 100 dan 1 000 ppm. Larva yang digunakan untuk masing-masing konsentrasi berjumlah 25 - 30 ekor. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan menghitung persentase kematian.

c. Perhitungan LD₅₀

Pengamatan dilakukan setelah 24 jam terhadap persentase kematian. Perhitungan LD₅₀ menggunakan analisis probit. Persentase kematian dihitung sebagai berikut :

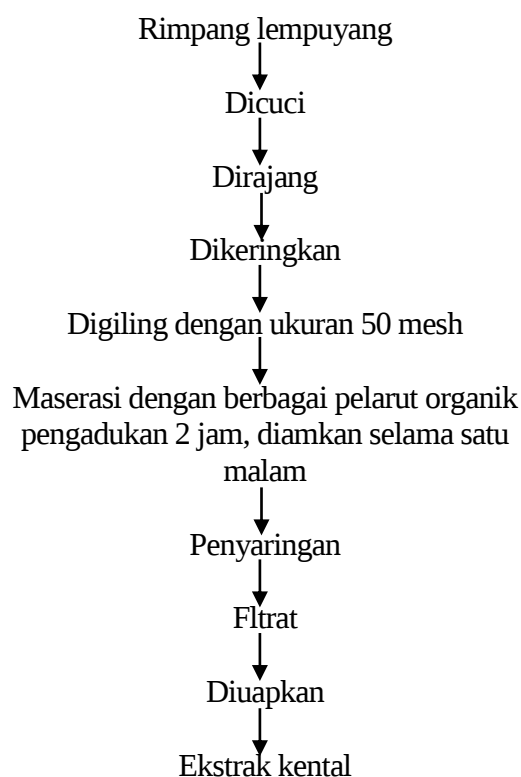
$$\text{Persentase kematian} = \frac{\text{tes-blanko}}{\text{blanko}} \times 100\%$$

Analisis komponen kimia secara KLT (kromatografi lapis tipis) dan GCMS dilakukan untuk mengetahui

komponen kimia dari ekstrak tanaman. Padatan pendukung yang digunakan pada KLT adalah silica gel 60G, eluen campuran toluene : etil asetat : asam asetat = 8 : 2 : 2 tetes dan larutan penampak asam sulfat 50%.

Spesifikasi alat GCMS yang digunakan :

Tipe alat : Hewlet Packard 6890
Gas : Helium; Kecepatan alir :
pendukung 0,6 ml/menit
Kolom : Ultra 2 (50 % PH Me
siloksan), panjang : 17 m
Suhu : terprogram : 50°C-
kolom 300°C/ 10°C/menit
Suhu : 250°C; Detektor : MSD
injektor



Gambar 1. Bagan alir cara pembuatan ekstrak lempuyang

Figure 1. Flow chart of *Zingiber zerumbet* extract processing

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis terhadap bahan baku menunjukkan bahwa terjadi variasi nilai dari masing-masing daerah terutama untuk kandungan zat yaitu kadar sari yang larut dalam air dan alkohol. Hasil terbaik berasal dari daerah Garut (Tabel 1). Hasil terendah untuk kadar sari yang larut dalam air dari Bogor dan kadar sari yang larut dalam alkohol dari Subang. Menurut Kaufman *et al.* (1999), lingkungan merupakan faktor yang sangat berperan dalam biosintesa metabolit pada tanaman. Tanaman dapat mengatur produksi metabolitnya sesuai dengan faktor-faktor perubahan yang ada dilingkungannya, terutama cahaya sangat berperan dalam biosintesa dari senyawa-senyawanya.

Kadar serat, pati dan kurkumin juga sangat bervariasi antar daerah. Hal ini menunjukkan bahwa ada pengaruh lingkungan tumbuh terhadap kandungan kimia tanaman. Menurut Gupta (1994), tanaman obat yang tumbuh pada tanah dan musim yang berbeda akan menghasilkan senyawa kimia dan efek terapeutik yang berbeda pula. Untuk rendemen ekstrak yang dihasilkan antar pelarut menunjukkan perbedaan antar daerah asal (Tabel 2). Rendemen tertinggi dari ekstrak etil asetat Bogor, dan terendah adalah ekstrak heksan Garut. Ekstrak merupakan bahan yang mengandung campuran komponen kimia dari suatu tanaman yang terlarut dalam pelarut yang digunakan, biasanya ekstrak mengandung senyawa bioaktif lebih tinggi dibandingkan bahan asalnya (Sidik dan Mudahar, 2000). Jenis ekstrak menunjukkan banyaknya jenis senyawa kimia yang terlarut di dalamnya dan hal ini sangat erat kaitannya dengan bahan aktif

biologik yang terlarut. Bahan aktif biologik adalah bahan yang sangat berperan dalam aktifitas farmakologi dari fitomedisin atau bahkan merupakan senyawa identitas yang sangat karakteristik dari suatu tanaman (Woerdenbag, 2002). Tabel 2 menunjukkan bahwa senyawa semi polar lebih banyak yang terlarut dibandingkan senyawa polar dan non polarnya. Hasil uji toksisitas dari masing-masing ekstrak menunjukkan nilai LD₅₀ jenis ekstrak dan daerah ternyata berbeda dengan hasil tertinggi dari ekstrak etil asetat Garut (Tabel 3). Semakin kecil nilai LD₅₀ berarti semakin tinggi daya toksisitasnya. Semua ekstrak menunjukkan indikasi toksik karena nilainya di bawah 500 ppm.

Secara keseluruhan semua ekstrak mempunyai aktivitas biologik yang cukup tinggi, karena bila nilai LD₅₀ lebih kecil dari 1 000 ppm dapat dikatakan bahwa ekstrak tersebut bersifat toksik bioaktif (Chozin *et al.*, 1996). Untuk mengetahui senyawa kimia yang lebih aktif bisa dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan mengisolasi ekstrak tersebut.

Hasil analisis secara KLT menunjukkan bahwa terjadi variasi pemisahan komponen kimia dari masing-masing ekstrak untuk setiap daerah pengambilan (Tabel 4). Pemisahan komponen terbanyak berasal dari daerah Subang dengan warna yang paling dominan coklat dan ungu.

Tabel 1. Kualitas bahan baku lempuyang gajah dari berbagai daerah

Table 1. The quality of *Zingiber zerumbet* raw material from different areas

Asal bahan/ Source	Kadar abu (%) Ash conten (%)	Kadar abu tak larut asam (%) Ash insolubl in acid (%)	Kadar sari yang larut dalam air (%) Soluble water extract (%)	Kadar sari yang larut dalam alkohol (%) Soluble ethanol extract (%)	Kadar serat (%) Fibre content (%)	Kadar pati (%) Amylum content (%)	Kadar Kur- kumin (%) Curcu mine content (%)
Bogor	5,69	1,34	8,90	11,53	8,60	50,19	0,07
Subang	4,21	3,66	12,35	10,63	12,89	37,00	0,14
Sumedang	4,99	0,59	14,02	12,59	13,39	40,71	0,07
Garot	4,82	0,08	14,93	15,65	12,29	35,00	0,06
Standar*	Maks.. 4,90	Maks.. 3,80	Min. 11,50	Min. 3,50			

*Depkes (1979). Perhitungan berdasarkan berat kering/Calculating based on dry heavy

Tabel 2. Rendemen ekstrak dari lempuyang gajah dari 3 jenis pelarut

Table 2. The yield of *Zingiber zerumbet* extract from 3 types of solvent

Asal tanaman/ Plant origin	Rendemen (%) / Yield (%)		
	Metanol/Methanol	Etil asetat/Ethyl acetate	Heksan/Hexane
Bogor	3,86	8,30	7,35
Subang	7,43	5,44	2,76
Sumedang	4,98	3,89	2,59
Garut	5,94	2,56	1,49

Tabel 3. Nilai LD₅₀ dari berbagai jenis ekstrak lempuyang gajah dari berbagai daerah
Table 3. LD 50 values of various extract of lempuyang gajah from different areas

Asal tanaman/ From	LD ₅₀ (ppm)		
	Metanol	Etil asetat	Heksan
Bogor	12,04	15,78	74,32
Subang	68,76	108,05	6,48
Sumedang	95,44	7,28	47,63
Garut	15,08	1,85	3,09

Tabel 4. Analisis KLT ekstrak etil asetat dari masing-masing daerah.
Table 4. TLC analyses of ethyl acetate extracts from different areas

Jenis ekstrak	Warna	Rf	Jenis ekstrak	Warn a	Rf
Garut	Coklat ungu	0,18	Sumedang	Lemah	0,20
	Kuning	0,27		Merah	0,27
	Ungu	0,50		Hijau	0,30
	Ungu	0,53		Biru kehijauan	0,47
	Coklat	1,00		Ungu	0,57
				Kuning	0,60
Subang				Coklat	0,77
				Coklat	1,00
	Coklat hitam	0,17	Bogor	Kuning hijau	0,25
	Hitam	0,23		Ungu	0,30
	Merah	0,25		Ungu lemah	0,57
	Merah Ungu	0,30		Coklat	0,63
	Coklat	0,33		Coklat	0,77
	Ungu	0,53			
	Ungu lemah	0,60			
	Lemah	0,77			
	Coklat lemah	0,80			

Warna coklat menunjukkan turunan senyawa zerumbon, sedangkan warna ungu merupakan warna spesifik untuk gugus fenolik. Hasil analisis secara GCMS dari ekstrak yang mempunyai nilai LD₅₀ paling tinggi, yaitu ekstrak etil asetat Garut menunjukkan komponen kimia penyusun yang mempunyai konsentrasi terbesar yaitu senyawa-senyawa butil heksadekanoat diikuti oleh asam heksade-

kanoat dan terakosan. Untuk senyawa lainnya merupakan senyawa yang biasanya terdapat dalam famili zingiberaceae. Sebagai contoh senyawa 3-Hidroksi-11-hidro-peroksi bisabolan-1,9-dien telah diisolasi dari *Alpinia densibrata* (Laingking and Brown, 1997); sedangkan 2',4', 5'-trimetoksifenil butadien, 7-(4'Hidroksi-3'metoksifenil)-1 hept-4en-3-on dan 1,7 dife-

Tabel 5. Identifikasi kemungkinan senyawa kimia dari ekstrak etil asetat

Table 5. The probably chemical compound in ethyl acetate extract

No	Waktu retensi (menit)/Retention time (minute)	Persentase/ Abundance	Kemungkinan senyawa/The probably compound
1	6,70	2,39	Tetradekan
2	6,80	2,26	Trans-kariofilen
3	8,06	4,04	2',4',5' Trimetoksifenil butadien
4	9,08	1,91	Heksadekan
5	11,24	1,31	Oktadekan
6	12,84	1,03	Di-n-butylftalat
7	13,21	1,07	Eikosan
8	14,14	1,23	Heneikosan
9	15,08	16,37	Butil heksadekanoat
10	15,21	3,73	7-(4 'Hidroksi-3 'metoksifenil)-1 hept-4-en-3-on
11	15,33	2,57	Zedeorendiol
12	16,29	4,18	N-Eikosan
13	16,96	2,05	3-Hidroksi-11-hidroperoks bisabolan-1,9-dien
14	17,17	12,96	Asam oktadekanoat, butil ester
15	17,28	5,89	Terakosan
16	17,38	1,24	5-Eikosan
17	18,18	4,40	1,7 Difenil-3,5 -heptan dion
18	18,56	1,28	Bis-2 etilheksil ftalat
19	19,02	4,94	Heksakosan
20	19,93	3,74	Heptakosan
21	20,36	1,43	5-Hidroksi 7-(4-hidroksifenil)-1-fenil (IE) hepten-1
22	21,05	3,60	Oktakosan
23	22,48	2,16	Nonakosan

nil-3,5-heptan dion telah diidentifikasi dari *A. conchigera* (Athmamaprasangsa *et al.*, 1994).

Zedeorendiol diisolasi dari *Curcuma aeruginosa* (Takano *et al.*, 1995) dan 5-hidroksi 7-(4-hidroksifenil)-1-fenil (IE) hepten-1 ditemukan pada *C. comosa* (Suksamran *et al.*, 1997). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa dalam lempuyang gajah terdapat senyawa jenis kaempferol glikosida, antara lain kaempferol 3-0-(2-0 asetil- α -L-rhamnopyranosi-

da), kaempferol 3-0-(3-0-asetil- α -L-rhamnopyranosida) dan kaempferol 3-0 (4-0-asetil- α - L-rhamnopyranosida) (Tabel 5) (Masuda *et al.*, 1991).

KESIMPULAN

Rendemen ekstrak tertinggi diperoleh pada pelarut etil asetat, Bogor (8,30%) dan terendah dari ekstrak heksan Garut (1,49%). Secara keseluruhan semua ekstrak mempunyai aktivitas

biologik yang cukup tinggi dan bersifat toksik bioaktif.

Nilai LD₅₀ tertinggi dari ekstrak etil asetat Garut (1,85 ppm) dan terendah dari ekstrak etil asetat Subang (108,05 ppm). Analisis komponen kimia dari KLT menunjukkan pemisahan komponen yang berbeda dari ekstrak pada setiap daerah, sedangkan analisis secara GCMS ternyata senyawa yang mempunyai limpahan tertinggi adalah butil heksadekanoat diikuti oleh asam oktadekanoat. Untuk senyawa lainnya yang ditemukan adalah 3-hidroksi-11-hidroperoksi bisabolan-1,9-dien, 2', 4', 5' trimetoksifenil butadien, zedeorendiol, 5-hidroksi 7-(4-hidroksifenil)-1-fenil (IE) hepten-1, 1,7 difenil-3,5 – heptan dion.

DAFTAR PUSTAKA

- Athamaprasangsa, S., U. Buntratongroj, P. Danpawan, N. Ongkavoranan, V. Rukachaisirihul, S. Sethijinda, M. Sornanarinta, P. Sriwub and W. C. Taylor, 1994. A 1,7-diarylheptanoid from *Alpinia conchigera*. *Phytochemistry*. 37 (3) : 871-873.
- Chozin, A., S. Sutarno dan K. Ruslan, 1996. Uji Brine Shrimp dan analisis kandungan kimia fraksi ekstrak etanol 95% dan suren *Toona sureni* (BL) Merr. Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami VIII, Perhipba-Balittro, Bogor : 537-577.
- Dai, J.R, J.H.II. Cardellina, J.B. Mc Mahon, M.R. Boyd, 1997. Zerumbone, an HIV inhibitory and cytotoxic sesquiterpen of *Zingiber aromaticum* and *Z. zerumbet*. *Nat.Prod.Lett.* 10 : 115-118.
- Depkes., 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Departemen Kesehatan, Jakarta. 635 hal.
- Depkes., 1979. *Materia Medika Indonesia*. Jilid II. Departemen Kesehatan, Jakarta. 194 hal.
- Gupta, S., 1994. Prospect and perspectives of natural plants products in medicine. *Indian Journal Pharmacology*. 26 : 1-12.
- Hanafi, M., L. Sutedja, R. Mulder and C. Braybook, 2001. Isolation and identification of chemical constituents from the rhizome of *Zingiber zerumbet*. *Proceeding International Seminar on Natural Products Chemistry and Utilization of Natural Resources*. VI-Depok: 173-177.
- Kaufman, P.B., L.J. Cseke, S. Warber, J.A. Duke and H.L. Briemann, 1999. *Natural Product From Plants*. CRC Press LLC, New York. 343 p.
- Laingking, S.Y. and G.D. Brown, 1997. Oxygenated bisabolanes from *Alpinia densibrata*. *Phytochemistry*. 45 (3) : 537-544.
- Masuda, T. and A. Jitoe, 1994. Antioxidative and anti-inflammatory compounds-from tropical gingers: isolation, structure determination, and activities of cassumunins A, B and C, new complex curcuminoids from *Zingiber cassumunar*. *J. Agric. Food Chern.* 42 : 1850-1856.
- Masuda, T., A. Jitoe, S. Kato and N. Nakatani, 1991. Acetylated flavonol glycosides from *Zingiber zerumbet*. *Phytochemistry*. 30 (7) : 2391-2392.

- Meyer, B.N., N.R. Ferrighni, J.E. Putnam, L.B. Jacobson, D.E. Nichols and J.L. McLaughlin, 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. *Planta Medica*. 45 : 31-34.
- Parwati, T. dan P. Simanjuntak, 1998. Daya toksik beberapa tumbuhan obat tradisional Indonesia asal Nusa Tenggara Barat. *Journal Biologi Indonesia*. 11(3) : 118-125.
- Pujiati, I., S. Ningsih, S. Palupi dan Tri Windono, 2002. Uji toksisitas terhadap larva *Artemia salina* Leach. Dari fraksi n-heksan, khloroform, etil asetat dan air ekstrak etanol rimpang temumangga (*Curcuma mangga* VaL). Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXI. Universitas Surabaya, Surabaya : 109-115.
- Sidik dan H. Mudahar, 2000. Ekstraksi tumbuhan obat, metode dan faktor-faktor yang mempengaruhi mutunya. Makalah pada Seminar Sehari Perhipba Komasariat Jakarta : Pemanfaatan Bahan obat Alami III. Universitas 17 Agustus 1945, Jakarta. 8 hal.
- Suganda, AG. dan Y. Ozaki, 1996. Efek analgesic ekstrak rimpang empat jenis tanaman suku Zingiberaceae. Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami VIII. Perhipba-Balittro, Bogor : 330-331.
- Suksamran, A., S. Elamong, P. Piyachaturawat and L.T. Byrne, 1997. A Phloracetophenone glucoside with choleretic activity from *Curcuma comosa*. *Phytochemistry*. 48 (1) : 103-105.
- Takano, I., I. Yasuda, K. Takeya and H. Itokawa, 1995. Guaiane sesquiterpene lactones from *Curcuma aeruginosa*. *Phytochemistry*. 40 (4) : 1197-1200.
- Tewtakui, S., C. Sardsangjun, J. Itchya-pruk and P. Chaitongruk, 1997. Studies on volatile oil components in *Zingiber zerumbet* Smits rhizomes by Gas Chromatography. *Songklanakarin J. Sci Technol* 19 (2) : 197-202.
- Woerdenbag, H. I., 2002. Phytomedicines from plant to patient. Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXI. F. Farmasi Universitas Surabaya, Surabaya : 2837 hal.