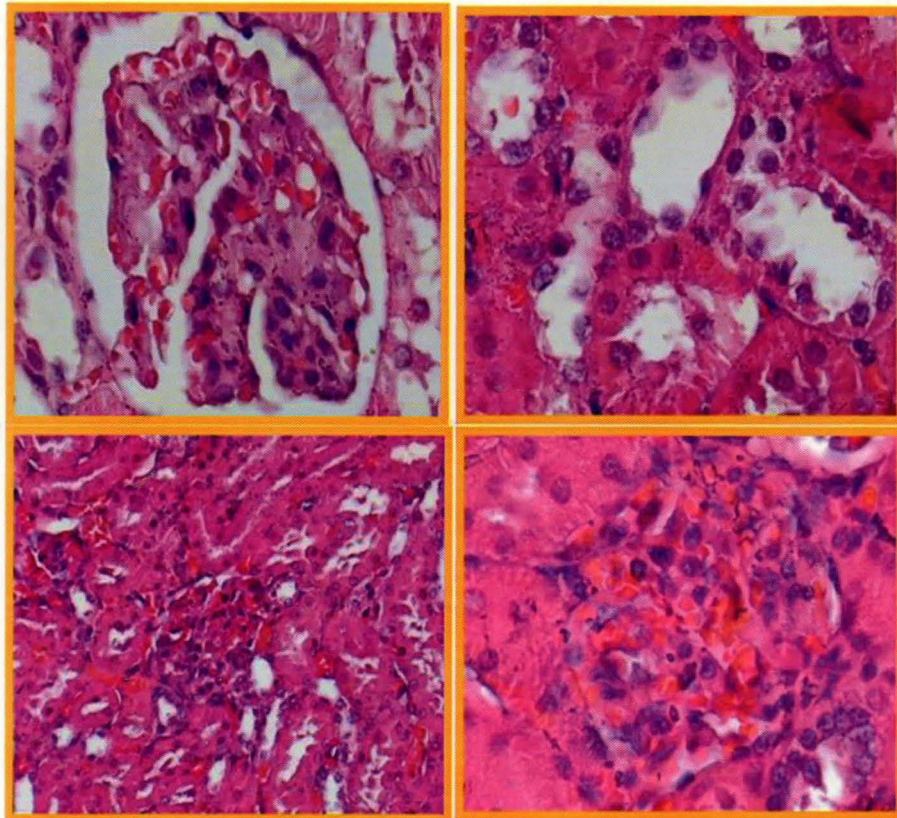


ISSN 2302-6820

# Journal of Basic Medical Veterinary



JBMV.	Vol. 2	No. 2	Hal. 47—89	Surabaya, Des 2013	ISSN 2302-6820
-------	--------	-------	------------	--------------------	----------------

## Journal of Basic Medicine Veterinary

Vol.2, No.2, Desember 2013

Jurnal Kedokteran Dasar Veteriner memuat tulisan ilmiah dalam bidang  
Kedokteran Hewan dan Peternakan

Terbit pertama kali tahun 2012 dengan frekuensi terbit dua kali setahun pada bulan  
Juni dan Desember

### Susunan Dewan Redaksi

- Pelindung** : Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Unair
- Penanggungjawab** : Ketua Departemen Kedokteran Dasar Veteriner
- Ketua Penyunting** : Prof . Sri Agus Sudjarwo, drh., Ph.D
- Sekretaris** : Dr. Rochmah Kurnijasanti, drh. M.Si
- Bendahara** : M. Gandul Atik Yuliani, drh., M.Kes
- Penyunting Pelaksana** : Dr. E. Bimo A.H., drh., M. Kes.  
Dr. Iwan Syahrial Hamid, drh., M.Si  
Dr. Ngakan Made Rai Widjaja, drh., MS  
Dr. Anwar Ma'ruf, drh., M.Kes  
Prof. Dr. Moch. Lazuardi, drh., M.Si  
Prof. Dr. Dewa Ketut Meles, drh., MS  
Dr. Chairul Anwar Nidom, drh., MS  
Retno Bijanti, drh., MS  
Retno Sri Wahyuni, drh., MS  
Setiawati Sigit, drh., M.S  
Setya Budhy, drh., M.Si  
Dr. Kadek Rachmawati, drh., M.Kes  
Rahmi Sugihartuti, drh., M.Kes
- Penyunting Teknis** : Kuncoro Puguh Santoso, drh., M.Kes  
Dr. Tutik Juniastuti, drh., M.Kes  
Dr. Nove Hidajati, drh., M.Kes  
R. Budi Utomo, drh., M.Si  
Moh. Sukmanadi, drh., M.Kes
- Tata Usaha** : Ratna Damayanti, drh. M.Kes  
Dr. Lilik Maslachah, drh., M.Kes
- Alamat** : Sekretariat Journal of Basic Medical Veterinary  
Departemen Kedokteran Dasar Veteriner  
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga  
Kampus C Unair – Mulyorejo, Surabaya  
Email : [jbmvnair@gmail.com](mailto:jbmvnair@gmail.com)

# Journal of Basic Medicine Veterinary

Vol.2, No.2, Desember 2013

## Ketentuan Umum Penulisan Naskah

1. **Ketentuan Umum**
  - a. Jurnal Kedokteran Dasar Veteriner memuat tulisan ilmiah dalam bidang Kedokteran Hewan dan Peternakan terutama tentang Kedokteran Dasar berupa hasil penelitian, artikel ilmiah, ulasan balik (*review*) dan laporan kasus baik dalam bahasa Indonesia maupun bahasa Inggris.
  - b. Naskah harus orisinal, belum pernah diterbitkan, apabila diterima dan diterbitkan oleh Jurnal Kedokteran Dasar Veteriner tidak boleh diterbitkan dalam majalah ataupun media lain.
2. **Standar Penulisan**
  - a. Naskah diketik dengan jarak 2 spasi, kecuali judul, abstrak, judul tabel, judul gambar, daftar pustaka dan lampiran diketik menurut ketentuan tersendiri.
  - b. Alinea baru dimulai 3 (tiga) ketukan ke dalam atau (First line 0.3")
  - c. Huruf standar untuk penulisan adalah Times New Roman 12
  - d. Memakai kertas HVS ukuran A4
  - e. Menggunakan bahasa Indonesia atau bahasa Inggris
  - f. Tabel/Iluatrasi/gambar harus amat jelas dengan menyertakan *file scanning* (foto) terpisah dengan naskah dengan format JPG, keterangan tabel, gambar atau penjelasan lain dalam lampiran diketik 1 (satu) spasi.
3. **Tata cara Penulisan Naskah Ilmiah**
  - a. Tebal seluruh naskah maksimal 14 halaman
  - b. Penulisan topik (Judul, Nama Penulis, Abstrak, Pendahuluan, Metode, dst) tidak menggunakan huruf capital (sentence), tetapi menggunakan *title case* dan diletakkan dipinggir sebelah kiri, kecuali judul abstrak diletakkan ditengah.
  - c. Sistematika penulisan makalah adalah judul, nama penulis dan identitas, abstrak dengan *key word*, pendahuluan, materi dan metode, hasil dan pembahasan, kesimpulan, ucapan terima kasih, daftar pustaka, dan lampiran.
  - d. Judul harus pendek, spesifik, tidak boleh disingkat, dan informatif yang ditulis dalam bahasa Indonesia dan Inggris
  - e. Nama penulis di bawah judul, identitas dan instansi penulis harus jelas tidak boleh disingkat dan ditulis di bawah nama penulis.
  - f. Abstrak maksimal terdiri dari 200 (dua ratus) kata, diketik 1 (satu) spasi dalam bahasa Indonesia dan Inggris.
  - g. Kata kunci (*key word*) maksimum 5 (lima) kata setelah abstrak
  - h. Materi dan metode memuat peralatan/ bahan yang digunakan terutama yang spesifik.
  - i. Daftar Pustaka disusun secara alfabetik tanpa nomor urut. Singkatan majalah/jurnal berdasarkan tatacara yang dipakai oleh masing-masing jurnal. Diketik 1 (satu) spasi dengan paragraph hanging 0.3" dan before 3.6 pt. Proporsi daftar pustaka, jurnal/ majalah Ilmiah (60%) dan *textbook* (40%). Berikut contoh penulisan daftar pustaka berturut-turut untuk *textbook* dan jurnal.
  - j. Tabel, Keterangan Gambar atau penjelasan lain dalam lampiran diketik 1(satu) spasi dengan huruf *times new roman* 12.
4. Pengiriman naskah dapat dilakukan setiap saat dalam bentuk cetakan print out sebanyak 3 (tiga) eksemplar ke alamat redaksi **Departemen Kedokteran Dasar Veteriner FKH Universitas Airlangga Kampus C Mulyorejo Surabaya 60115, telepon 031-5993016, Fax. 031-5993015, e-mail : jbmvnair@gmail.com.**
5. **Ketentuan akhir**

Terhadap naskah yang dikirim redaksi berhak untuk

  - a. Memuat naskah tanpa perubahan.
  - b. Memuat naskah dengan perubahan.
  - c. Menolak naskah.
6. Redaksi tidak bertanggung jawab atas isi naskah.
7. Naskah yang telah dimuat dikenai biaya penerbitan dan biaya pengiriman dengan mengirimkan ke rekening
8. Harga langganan Rp. 150.000,- / tahun
9. Seluruh keputusan redaksi tidak dapat diganggu gugat dan tidak diadakan surat menyurat untuk keperluan itu.

**Journal of Basic Medicine Veterinary****Vol.2, No.2, Desember 2013****Terbit setiap 6 bulan pada bulan Juni dan Desember****DAFTAR ISI**

	<b>Halaman</b>
09 Kadar Kolesterol LDL Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Jantan Sesudah Pemberian Asam Lemak Trans Yang Berasal Dari Margarin dan Mentega Putih (Ajeng Regal Anastasia, Setyawati Sigit, Sri Hidanah) .....	47 - 52
10 The Effect of <i>Cosmos caudatus</i> Leaf Ethanol Extraction In Liver On Paracetamol Induced Elevation SGOT and SGPT In Balb/c Mice (Gretania Residiwati, Hani Plumeriastuti, Sri Agus Sudjarwo) .....	53 - 59
11 Kadar Kolesterol LDL Tikus Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Yang Diberi Asam Lemak Trans Bersumber Dari Margarin, Mentega Putih dan Minyak Jelantah (Chelly Cornelia P., Kusnoto, Setyawati Sigit) .....	60 - 65
12 Pola Waktu Pemberian Ekstrak Rimpang Kunyit Putih ( <i>Curcuma zedoaria</i> ) Terhadap Jumlah Nodul Paru Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) Yang Diinduksi Benzo( $\alpha$ )pyrine (Iwan Sahrial Hamid, Anggraeni Eka Handoko, Setya Budhy, Boedi Setiawan) .....	66 - 69
13 Pengaruh Infusa Meniran ( <i>Phyllanthus niruri</i> Linn) Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Putih ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Yang Dipapar ALKOHOL (Rista Dewiyanti Puspitaningrum, Arimbi, Rahaju Ernawati) .....	70- 76
14 The Effect of Giving Gossypol In ( <i>Gossypium hirsutum</i> ) To Cricket As Natural Insect Killer (Evi Ligaryani, Wining A., Putri Lusiana, Reynata S., Ema Ria, Iwan Syahrial Hamid).....	77 - 81
15 Pontensi Antibakteri Infusum Buah Salak ( <i>Salacca zalacca</i> ) Terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> Secara <i>In Vitro</i> (Leniar Marta Yuana, Suryanie Sarudji, Sri Agus Sudjarwo) .....	82 - 85
16 Efek Sitotoksik <i>In Vitro</i> dari Ekstrak Bunga Rosella ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> ) Terhadap Kultur Sel Kanker Myeloma (Rochmah Kurnijasanti, Isa Mahendra, Nancy Dahnia, Rangga Mung, Margaretha, Arnold Hutapea) .....	86 - 89

**EFEK SITOTOKSIK IN VITRO DARI EKSTRAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa*) TERHADAP KULTUR SEL KANKER MYELOMA  
IN VITRO CYTOTOXIC EFFECTS OF ROSELLA EXTRACT (*Hibiscus sabdariffa*)  
AGAINST MYELOMA CELL CULTURE**

Rochmah Kurnijasanti<sup>1</sup>,, Isa Mahendra<sup>2</sup>,, Nancy Dahnia<sup>2</sup>, Rangga Mung<sup>2</sup>,  
Margaretha<sup>2</sup>, Arnold Hutapea<sup>2</sup>

Departemen Kedokteran Dasar Veteriner<sup>1</sup>,, Mahasiswa<sup>2</sup>,  
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

**ABSTRACT**

This research aims was examined the anticancer activity of rosella extracts (*Hibiscus sabdariffa*) on myeloma cell culture by myeloma cell viability method. Myeloma cancer cells incubated in medium Rosewell Park Memorial Institute (RPMI) containing 10% fetal bovine serum (FBS). Rosella extract concentration consists of 10%, 20%, 30%, 60%, and 100%. Rosella extract was added to the myeloma cell cultures that had been placed in a microwell plate and incubated for 24 h at 37 ° C with carbon dioxide gas (CO<sub>2</sub>) 5%. Anticancer activity seen by the MTT Cell Proliferation assay were read by ELISA reader, with optical desity (OD) of the number of dead cells. Data were analyzed by ANOVA and Duncan's multiple range test showed that the rosella extract has the ability to kill myeloma cells.

**Key word:** *Hibiscus sabdariffa*, Stomatitis.

-----  
**Pendahuluan**

Salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia adalah kanker. Penyakit ini menyebabkan 7,4 juta kematian (sekitar 13% dari semua kematian di seluruh dunia) pada tahun 2004. Lebih dari 70% dari semua kematian akibat kanker terjadi di negara berpenghasilan rendah dan negara berpenghasilan menengah. Kematian akibat kanker di seluruh dunia yang diproyeksikan akan terus meningkat, dengan perkiraan 12 juta kematian di tahun 2030 (WHO,2009).

Pengobatan terhadap kanker dapat dilakukan melalui operasi, radiasi, atau dengan memberikan kemoterapi. Obat kemoterapi atau antikanker sebaiknya memiliki toksisitas yang selektif, namun obat antikanker yang ada saat ini biasanya merusak sel dan menimbulkan toksisitas karena ikut menghambat

pertumbuhan sel normal yang proliferasinya cepat seperti sumsum tulang, epitel germinatitum, mukosa saluran pencernaan dan jaringan limfosit. Obat antikanker tersebut membunuh sel kanker melalui mekanisme nekrosis yang dapat menimbulkan inflamasi dan melibatkan sekelompok sel yang lain. Obat antikanker yang ideal adalah yang mampu membunuh sel kanker tanpa membahayakan sel normal dan hingga saat ini belum ada obat antikanker yang memenuhi persyaratan tersebut (Coundry, 1995).

Bahan-bahan alam mempunyai prospek sebagai penghambat kanker. Pendekatan yang sering dilakukan dalam mencari zat kandungan yang berkhasiat sebagai antikanker dari tanaman. Salah satu alternatif dari obat tradisional yang berfungsi dalam pengobatan kanker adalah bunga rosella. Di antara banyak khasiatnya, Rosella

diunggulkan sebagai herba antikanker dan hipertensi. Ini sesuai dengan uji pra klinis yang dilakukan oleh Chang (2012). Chang menemukan bahwa pigmen alami dari kelopak kering Rosella terbukti efektif dalam menghambat dan sekaligus mematikan sel kanker HL-60 (kanker darah atau leukemia). Pigmen ini juga berperan dalam proses apoptosis (bunuh diri) sel kanker.

Berbagai metode pengujian untuk mengetahui aktivitas biologis suatu senyawa dari bahan alam telah diperkenalkan. Uji sitotoksik merupakan salah satu pengembangan metode untuk memprediksi keberadaan senyawa yang bersifat toksik pada sel yang merupakan syarat mutlak untuk obat-obat antikanker. Penelitian ini dilakukan melalui uji aktivitas antikanker ekstrak bunga rosella pada kultur sel myeloma dengan metode viabilitas sel. Metode viabilitas sel didasarkan pada kemampuan sel untuk bertahan hidup terhadap bahan-bahan yang bersifat toksik (Didah, 2005).

### **Metode Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan memakai rancangan eksperimental *post test only design*.

Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah dosis ekstrak bunga rosella. Variabel tergantung adalah persentase viabilitas sel myeloma.

Bahan Penelitian yang digunakan adalah Ekstrak bunga rosella, Kultur sel myeloma jenis *cell lines NSO/1* (Laboratorium Zoonosis PUSVETMA Surabaya), Fetal Bovine (GIBCOBRL), Media RPMI (GIBCOBRL) yang mengandung antibiotik Kanamisin 0,1 g/L ; Streptomisin 0,15 g/L dan Penisillin 0,1 g/L, Metanol, pewarnaan MTT, DMSO.

Alat Penelitian yang digunakan adalah Bejana maserasi, rotavapour BUCHI R-114, botol kultur sel, *microwell plate disposable* (Nunc Multidisk), tabung sentrifuge, mikropipet, inkubator CO<sub>2</sub>,

hemositometer beserta *cover glass* dan mikroskop.

### **Prosedur Penelitian**

#### **Pembuatan Sediaan Uji**

Ekstrak kental, dilarutkan dengan FBS dalam vial steril kemudian ditambah dengan media dan dihomogenkan. Larutan ekstrak induk yang diperoleh selanjutnya disterilkan dengan filter membran. Sediaan steril ekstrak induk dibuat sediaan uji dengan berbagai konsentrasi dengan cara pengenceran secara serial sehingga diperoleh konsentrasi 10%, 20%, 30%, 60%, 100%.

#### **Pembuatan Suspensi Sel**

##### **Proses Thawing Sel Myeloma**

Sel myeloma disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm selama 30 menit, kemudian supernatan dibuang sedangkan endapan sel dicampur dengan media RPMI dan dipindahkan ke dalam botol kultur sambil ditambah dengan media RPMI yang mengandung fetal Bovine Serum 10 % hingga volume  $\pm$  10 ml. Kultur diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> selama 24 - 48 jam pada suhu 37°C.

##### **Proses Inisiasi Kultur Sel Myeloma**

Sel myeloma hasil thawing disentrifuge dengan kecepatan 1500 rpm suhu 4°C selama 5 menit, kemudian supernatan dibuang dan endapan sel ditambah dengan media RPMI yang mengandung FBS 10 % sampai  $\pm$  50 ml dan dihomogenkan. Jumlah sel dalam campuran tersebut dihitung, bila perlu diencerkan menggunakan media RPMI yang mengandung FBS 10 % hingga diperoleh jumlah sel minimal  $2 \times 10^5$  sel/ml. Kemudian dituang dalam sumur *microwell plate* sebanyak 150ul dan diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> suhu 37°C selama 6 jam.

##### **Uji Aktivitas Sitotoksik (Metode MTT Proliferasi sel assay)**

Sediaan uji dan sediaan kontrol pelarut masing-masing sebanyak 75ul dimasukkan dalam sumur *microwell*

plate yang telah berisi 75ul suspensi sel hasil inisiasi. Replikasi dilakukan sebanyak 5 kali. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator CO<sub>2</sub> suhu 37° C selama 24 jam. Kemudian cairan dibuang dan ditambahkan pewarnaan MTT. Selanjutnya diinkubasi 3-4 jam lalu ditambah DMSO, kocok selama 5 menit. Lalu baca menggunakan ELISA reader.

#### Analisis Data

Data hasil pengamatan viabilitas sel myeloma mencit dianalisis dengan menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan.

#### Hasil dan Pembahasan

Hasil uji sitotoksik ekstrak bunga rosella terhadap sel myeloma dengan menggunakan MTT cell proliferation assay disajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1. Rerata dan Standart Deviasi Hasil Uji Sitotoksik Ekstrak Bunga Rosella Pada Sel Myeloma**

Perlakuan	Rerata ± SD
ER. 10%	0.07250 <sup>a</sup> ± 0.018382
ER. 20%	0.10450 <sup>ab</sup> ± 0.022643
ER. 30%	0.15250 <sup>ab</sup> ± 0.052497
ER. 60%	0.16533 <sup>b</sup> ± 0.050226
ER. 100%	0.40300 <sup>c</sup> ± 0.163221
Kontrol	0.11833 <sup>ab</sup> ± 0.019552

a,b,c : Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata (p<0,05)

Pengukuran viabilitas sel myeloma dengan menggunakan MTT cell proliferation assay bertujuan untuk mengukur tingkat proliferasi sel myeloma dari nilai absorban yang terbaca menggunakan ELISA READER. Nilai absorban yang lebih rendah dibanding kontrol menunjukkan penurunan tingkat proliferasi sel. Sebaliknya tingkat serapan yang lebih tinggi menunjukkan peningkatan proliferasi sel.

Pada penelitian ini pemberian ekstrak rosella 100% menunjukkan hasil

yang berbeda nyata bila dibandingkan dengan kontrol, demikian juga pada pemberian ekstrak 60%. Hasil berbeda ditunjukkan kelompok perlakuan 10%, 20%, dan 30% yang tidak memberikan hasil yang berbeda nyata dengan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi ekstrak bunga rosella berakibat bertambah besar jumlah bahan berkhasiat yang terkandung didalamnya. Terbukti dengan semakin rendahnya viabilitas sel myeloma dengan penambahan konsentrasi ekstrak bunga rosella.

Pemberian ekstrak bunga rosella pada semua konsentrasi sudah dapat menyebabkan kematian sel myeloma. Pada konsentrasi tertinggi yaitu 100% mampu mematikan sel myeloma yang sebanding dengan optical density sebesar 0,400. Perlu dipertimbangkan juga bahwa sampel ini masih berupa ekstrak yang belum murni mengandung bahan aktif, sehingga kemungkinan besar hasil isolasi dari ekstrak ini akan mempunyai kemampuan penghambatan terhadap sel kanker yang lebih besar.

Efek sitotoksik dari ekstrak bunga rosella pada penelitian ini dimungkinkan karena bahan aktif yang terkandung dalam bunga rosella. Zat aktif yang paling berperan dalam kelopak bunga Rosella meliputi gossypetin, antosianin, dan glucoside hibiscin (Fatmawati, 2010). Antosianin merupakan pigmen alami yang memberi warna merah pada seduhan kelopak bunga Rosella, dan bersifat antioksidan. Hal ini sesuai dengan uji pra klinis yang dilakukan oleh Chang (2012) dan Shan (2012). Chang (2012) menemukan bahwa pigmen alami dari kelopak kering Rosella tersebut terbukti efektif dalam menghambat dan mematikan sel kanker HL-60. Pigmen ini juga berperan dalam proses apoptosis (bunuh diri) sel kanker. Antioksidan yang dominan dalam rosella adalah antosianin. Antosianin berperan menjaga kerusakan sel akibat peyerapan sinar ultraviolet berlebih (Essa *et al.*, 2005). Ia melindungi sel-sel

tubuh dari perubahan akibat radikal bebas. Penelitian yang dilakukan oleh Lin (2000) menyebutkan bahwa *delphinidin tiga-sambubioside*, *antosianin rosela* yang ampuh mengatasi *leukemia*.

### Kesimpulan dan Saran

#### Kesimpulan

1. Ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) mempunyai efek sitotoksik secara *in vitro* terhadap kultur sel myeloma.
2. Ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat menurunkan viabilitas sel myeloma menjadi sebanding dengan *optical density* sebesar 0,400 pada konsentrasi 100%.

#### Saran

Perlu penelitian lebih lanjut dari efek sitotoksik ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) terhadap kultur sel myeloma dengan menggunakan metode yang lain dan terhadap kultur sel lain.

#### Daftar Pustaka

- Aggarwal, Bharat B., Ichikawa, Haruyo, and Garodia, Prachi. 2006. *From Traditional Ayurvedic Medicine to Modern Medicine : Identification of Therapeutic Targets of Suppression of Inflammation and Cancer*. Ashley Publication:10:87.
- Chang, Y.C., S.F. Chen., S. Nien., C.H. Wu., C.L. Liu, Y.S.Lin. 2012. Reappraisal of the Anticancer Efficacy of Quercetin in Oral Cancer Cells. *Journal of the Chinese Medical Association* 76 (2013) 146e152
- Coundry, E.V. 1995. *Cancer Cell*. W.B. Sounder Company Philadelphia and London. P.136-144.
- Didah, N. 2005. Pengaruh Pemberian Seduhan Kelopak Rosella Ungu Terhadap Kadar Kolesterol LDL Serum Tikus. Program Studi Ilmu Gizi. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Essa et al. (2005). *Influence Of Hibiscus Sabdariffa (Gongura) On The Levels Of Circulatory Lipid Peroxidation Products And Liver Marker Enzymes In Experimental Hyperammonemia*. Tamil, Nadu India : Journal of Applied Biomedicine.
- Fatmawati. 2010. Manfaat Teh Rosella Bagi Kesehatan. <http://fatmasnow.blogspot.com/2010/01/manfaat-teh-rosella-bagi-kesehatan.html>. diakses pada tanggal 5 Maret 2010. Kedokteran :153.39
- Indrawati, R., Lazuardi, M., and Ratna, S.M. 1999. *Pengkajian Hambat Petumbuhan Sel Kanker Mieloma secara In Vitro antara Maserasi Benalu Duku dan Maserasi Benalu dibandingkan sengan Metotreksat*. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya.
- Lin, J.K., Liang, Y.C., Li, S.S. 2000. Cancer Chemoprevention by Tea Polyphenol Through Mitotic Signal Transduction Blokade. *Biochem Pharmacol*. 58: 911-915
- Qi, Yadong, Chin, Kit L, dan Malekian, Fatemah. (2005). *Biological Characteristics, Nutritional and Medicinal Value of Roselle, Hibiscus Sabdariffa*. Baton Rouge LA USA : Agriculture Research And Extension Center Aouthern University.
- Shan, B.E., Yoshida, Y., Sigiura, T., Yamashita. 1999. Stimulating Activity of Chinese Medicine Herbs on Human Lymphocytes in Vitro. *Int J Immunopharmacol*. 21,3: 149-159.
- Wilson, A.P. 1998. *Cytotoxicity and Viability Assay Animal Cell Culture. A Practical Approach*. Washington. IRL Press.
- World Health Organization. 2009. *Cancer*.