

Analisis Zerumbone dalam *Zingiber zerumbet* dan Aktivitas Penghambatannya terhadap Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*

(*Analysis of zerumbone in Zingiber zerumbet and inhibitory activity against Mycobacterium tuberculosis*)

Subehan Lallo, Syaharuddin Kasim, Rosany Tayeb, Asril Damiyanto Hasan, Hartina Sere, Ismail, Tamsil Arifin

Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia, 90245

Article Info:

Received: 12 September 2018
in revised form: 23 September 2018
Accepted: 01 October 2018
Available Online: 01 October 2018

Keywords:

Zerumbone
Zingiber zerumbet
Mycobacterium tuberculosis
Rhizome
Extraction yield

Corresponding Author:

Subehan Lallo
Faculty of Pharmacy,
Hasanuddin University
Makassar, 940245,
South Sulawesi,
Indonesia
Tel.: +62-411-588556
Email: subehan@unhas.ac.id

ABSTRACT

Zerumbone has been reported to possess several biological activities. In our interest to this compound, we have identified and analyzed its content in *Zingiber zerumbet*, a medicinal plant from Indonesian traditional medicine and investigated for its inhibitory activity against *Mycobacterium tuberculosis*, a known infection bacteria of tuberculosis. Analysis of zerumbone was performed with TLC-densitometry on leave, rhizome, flower, and stem of *Z. zerumbet* which was extracted by various solvent system and extraction methods to determine the best method for isolation of zerumbone from *Z. zerumbet*. Result showed that the highest zerumbone concentration was in the rhizome while it was not observed in other parts. Analysis with various solvent and extraction methods showed the highest yield of zerumbone can be extracted by n-hexane (maceration) and reflux extraction method (methanol). Furthermore, inhibitory activity of zerumbone against *M. tuberculosis* was tested using Lowenstein Jensen medium by counting the number of *M. tuberculosis* colony growth in medium. Inhibitory activity of zerumbone at all concentrations (0.5, 0.1, 0.05, 0.01, and 0.005%) was observed with the growth of 10, 12, 14, 15, and 50 colonies of *M. tuberculosis*, respectively. This indicated that zerumbone can be used as an alternative choice for treatment of tuberculosis in the future.

Copyright © 2017 JFG-UNTAD

This open access article is distributed under a Creative Commons Attribution (CC-BY-NC-SA) 4.0 International license.

How to cite (APA 6th Style):

Lallo S., et al. (2018). Analisis Zerumbone dalam *Zingiber zerumbet* dan Aktivitas Penghambatannya terhadap Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. *Jurnal Farmasi Galenika: Galenika Journal of Pharmacy*, 4(2), 126-132. doi:10.22487/j24428744.2018.v4.i2.11138

ABSTRAK

Zerumbone merupakan senyawa bahan alam yang telah dilaporkan dengan berbagai aktivitas biologi. Senyawa ini juga telah dilaporkan dalam tumbuhan *Zingiber zerumbet* yang umum digunakan sebagai tanaman obat Indonesia. Penelitian telah dilakukan untuk menganalisis kandungan zerumbone pada tanaman ini dan kemampuannya dalam menghambat aktivitas dari bakteri penyebab TBC, *Mycobacterium tuberculosis*. Analisis zerumbone dilakukan dengan metode KLT-Densitometri terhadap daun, rhizoma, bunga dan batang dari *Z. zerumbet* yang diekstraksi dari berbagai jenis cairan penyari dan berbagai metode ekstraksi untuk menentukan metode yang terbaik yang dapat dilakukan untuk mengisolasi zerumbone dari *Z. zerumbet*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan terbesar zerumbone terdapat pada bagian rimpang dengan cairan penyari yang paling banyak menyari adalah n-hexane (maserasi) serta metode ekstraksi secara refluks dengan penyari metanol. Aktivitas penghambatan terhadap *M. tuberculosis* diuji dengan menggunakan medium Lowenstein Jensen (LJ) pada agar miring dan dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada medium. Berdasarkan uji tersebut diperoleh jumlah koloni bakteri berturut-turut sebanyak 10, 12, 14, 15 dan 50 pada konsentrasi zerumbone sebesar 0,5, 0,1, 0,05, 0,01, dan 0,005%. Hal ini menunjukkan bahwa zerumbone dapat digunakan sebagai salah satu alternatif yang dapat dikembangkan untuk pengobatan tuberculosis.

Kata Kunci : Zerumbone; *Zingiber zerumbet*; *Mycobacterium tuberculosis*; Rimpang; Ekstraksi.

PENDAHULUAN

Pemanfaatan bahan dari alam menjadi obat telah dilakukan oleh masyarakat untuk menanggulangi masalah kesehatan yang mereka hadapi. Hingga saat ini pun penggunaannya masih sangat banyak untuk menanggulangi berbagai jenis penyakit tropis yang menyerangnya. Pencarian obat baru yang bersumber dari tumbuh-tumbuhan tetap menjadi salah satu pilihan untuk menanggulangi penyakit-penyakit terutama yang belum ditemukan obatnya ataupun terhadap bakteri yang telah resisten terhadap obat-obatan tertentu.

Salah satu penyakit yang masih menjadi masalah yang serius bagi negara berkembang adalah penyakit tuberculosis (TB). Indonesia merupakan salah satu negara dengan peringkat ke-3 setelah India dan China yang menjadi pembunuh nomor satu diantara penyakit menular serta menjadi penyebab kematian nomor 3 setelah penyakit jantung pada seluruh kalangan usia. Menurut WHO, jumlah terbesar kasus TB terjadi di Asia Tenggara yaitu 33% dari seluruh kasus TB di dunia, namun berdasarkan jumlah kasus setiap sejumlah penduduk, Afrika hampir dua kali lebih besar dibandingkan dengan Asia Tenggara. Tingginya kasus disertai dengan mulainya resisten bakteri tersebut terhadap obat-obatan yang digunakan

selama ini menjadikan program pencarian obat baru menjadi sangat penting (Adithama dan Lutni, 2002). Berbagai senyawa yang berasal dari tanaman obat telah digunakan sebagai obat dalam pengobatan berbagai penyakit seperti artemisinin yang berasal dari tanaman obat *Artemisia annua*, alkaloid vinca seperti vibrastine dan vincristine dari tanaman *Catharantus roseus* dan berbagai jenis senyawa lain dari bahan obat alam. Awal penemuannya pun dimulai dari penggalian obat tradisional yang digunakan oleh masyarakat. Pencarian bahan obat ini masih sangat populer hingga saat ini. Salah satu senyawa dihasilkan dari tanaman dan memiliki banyak aktifitas biologi adalah zerumbone (Ma, et al. 2018; Qu, et al. 2018).

Zerumbone yang merupakan senyawa sesquiterpenoid monosiklik yang memiliki aktivitas antikanker yang menjanjikan. Senyawa ini dapat ditemukan banyak pada rimpang terutama dari tanaman lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* L.) dan lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa sesquiterpenoid zerumbone mempunyai aktivitas antiinflamasi, analgetik, antitumor, pengobatan luka memar dari pukulan, sebagai ramuan untuk sakit perut, sebagai obat bius sakit gigi, untuk panu dan

kurap, isi cairan bening dari bunga digunakan sebagai bahan dasar sampo, untuk menambah nafsu makan, menyembuhkan penyakit kuning dan empedu (Hariana, 2012; Murakami *et al.*, 2002; Keong *et al.*, 2010, Kim *et al.* 2009).

Pada penelitian awal ditemukan bahwa ekstrak dari tanaman lempuyang gajah memiliki aktifitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab penyakit TB yaitu *M. tuberculosis*. Sebagai tindak lanjut atas ketertarikan akan khasiat dan kandungan tanaman ini, telah dilakukan analisis kandungan kimia zerumbone pada berbagai bagian tanaman *Z. zerumbet* dan uji aktivitas penghambatannya terhadap bakteri *M. tuberculosis*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah TCL Scanner (Camag), cawan porselin, inkubator, cleanbench, timbangan digital, bejana maserasi, chamber (Camag) corong pisah, Erlenmeyer (pyrex), gelas ukur, labu alas bulat, labu ukur (pyrex), lampu UV 254nm dan 366nm, mikropipet (Memmert), neraca analitik (Sartorius), seperangkat alat refluks, seperangkat alat sokhlet, seperangkat alat destilasi air. Bahan yang digunakan aqua pro ineksi, bakteri uji *Mycobacterium tuberculosis*, isolat senyawa aktif Zerumbone, media Lowenstein Jensen (LJ).

Metode

Pengambilan Sampel

Sampel rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) J. E. Smith.), diperoleh dari Dusun Pucak, Desa Puncak, Kecamatan Tompobulu, Kabupaten Maros, Makassar, Sulawesi Selatan.

Pengolahan Sampel

Sampel rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) J. E. Smith.), dicuci dengan air mengalir kemudian di potong kecil-kecil, dikeringkan dengan diangin-anginkan. Sampel rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) J. E. Smith.) terlebih dahulu dibuat serbuk simplisia dengan menggunakan ayakan no 60.

Ekstraksi Sampel Secara Maserasi

Sebanyak 100 gram simplisia dimasukkan ke dalam bejana maserasi, kemudian diekstraksi secara maserasi menggunakan cairan penyari methanol 500 ml. penyarian dilakukan sebanyak 3 kali. Filtrate disaring, dikumpulkan dan diuapkan pada rotavapor hingga diperoleh ekstrak metanol kental.

Ekstraksi Sampel Secara Destilasi

Sebanyak 100 gram simplisia dimasukkan ke dalam labu, dan ditambahkan penyari aquadest sebanyak 500 ml. Alat dipasang dan pemanas dinyalakan diatur suhunya. Tetesan ditampung di dalam corong pisah. Dipisahkan antara minyak dan air kemudian diambil bagian minyak.

Ekstraksi Sampel Secara Sokhlet

Sebanyak 100 gram simplisia dimasukkan dalam klonsong soxhlet yang dilapisi dengan kertas saring sedemikian rupa. Ditambahkan penyari metanol sebanyak 500 ml pada labu alas bulat. Kemudian dinyalakan pemanas, prosesnya dilakukan sebanyak 20 siklus hingga cairan penyari menjadi bening. Ekstrak cair yang diperoleh dikumpulkan dan dipisahkan pada rotavapor.

Ekstraksi Sampel Secara Refluks

Sebanyak 100 gram simplisia dimasukkan ke dalam labu alas bulat kemudian cairan penyari metanol 500 ml labu alas bulat dipasang pada pemanas kemudian pemanas dinyalakan diatur suhunya, ekstraksi dilakukan selama 3-4 jam. Filtrate yang diperoleh kemudian ditampung dan diuapkan pada rotavapor.

Analisis Kualitatif

Analisis kualitatif dilakukan dengan identifikasi komponen kimianya secara kromatografi lapis tipis dengan menggunakan fase gerak campuran n-Heksan Etil asetat (9:1) serta visualisasi dengan sinar UV 254 nm dan 365 nm, dan pereaksi semprot H₂SO₄ 10%, dan diukur nilai R_f.

Analisis Kuantitatif

Pembuatan Larutan Baku Zerumbone

Ditimbang dengan seksama 5 mg zerumbone, dilarutkan dengan metanol dalam labu 10 ml (500 ppm)

Pengukuran Kadar Zerumbone

Dari larutan baku 500 ppm ditotolkan pada lempeng KLT silica gel F₂₅₄ ukuran 20x10 cm dengan volume sebanyak 1; 2; 3; 4; 5 µl sehingga diperoleh konsentrasi masing-masing 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 µg. Selanjutnya ditotolkan sampel yang mengandung zerumbone pada lempeng yang sama dengan volume 4 µl. Noda yang telah terpisah diukur luas area nya pada panjang gelombang 259 nm menggunakan Densitometri (Camag TLC scanner 3).

Analisis Zerumbone Dengan Variasi Cairan Penyari (Ekstraksi Sampel Menggunakan Penyari Heksan, Etanol 70 % dan Air)

Simplisia ditimbang masing-masing sebanyak 20 gram. Kemudian di ekstraksi dengan n-heksan dengan metode maserasi, etanol 70 % dan air metode Reflux masing-masing menggunakan 500 ml. Filtrate disaring kemudian dikumpulkan dan diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Analisis kuantitatif zerumbone dilakukan seperti metode yang dijelaskan diatas.

Persiapan Bakteri Uji

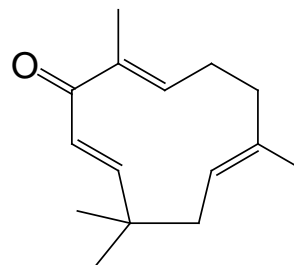
Penelitian ini menggunakan suspensi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dengan menggunakan pembanding Suspensi Standar Mc. Farland. Suspensi Standar Mc. Farland adalah suspensi yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan bakteri sama dengan 10^8 /ml yang digunakan untuk mengontrol pengenceran bakteri uji agar konsentrasi bakteri uji tidak terlalu tinggi dan tidak terlalu rendah yang sesuai dengan standar WHO.

Pengujian Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif Zerumbone

Pengujian aktivitas antibakteri senyawa aktif zerumbone dari tanaman obat tradisional rimpang Lempuyang Wangi terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dilakukan pada agar miring untuk mengurangi kontaminasi mikroorganisme yang lain. Parameter yang diamati adalah ada tidaknya pertumbuhan bakteri uji pada media yang digunakan setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama enam minggu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan menganalisis adanya kandungan Zerumbone pada berbagai bagian tanaman lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet*) dengan menggunakan beberapa metode ekstraksi dan variasi cairan penyari serta menguji aktifitas penghambatan bakteri *M. tuberculosis* dari senyawa zerumbone. Hasil penelitian terhadap beberapa bagian tanaman lempuyang gajah menunjukkan hanya bagian rimpangnya yang memiliki zerumbone sedangkan bagian lainnya tidak terdeteksi dengan metode analisis densitometri yang digunakan.



Gambar 1. Struktur kimia dari zerumbone (Kitayama *et al.* 2003)

Pada tahap awal ekstraksi sampel yang diperoleh diolah sehingga menjadi serbuk simplisia dengan menggunakan ayakan no 60. Yang mana penyerbukan bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel sehingga luas permukaan semakin besar sehingga proses ekstraksi dapat berlangsung dengan sempurna.

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian penentuan metode ekstraksi dengan kadar zerumbone terbesar adalah maserasi, refluks dan soxhlet dengan menggunakan cairan penyari metanol dan destilasi air. Sedangkan untuk menentukan jenis cairan penyari digunakan cairan penyari n-heksan (maserasi), etanol 70% (refluks) dan air (refluks). Pemilihan metode bertujuan untuk membandingkan kemampuan masing-masing metode dan penyari untuk mengekstraksi senyawa aktif zerumbone pada rimpang lempuyang gajah. Analisis secara kualitatif dengan KLT menunjukkan semua metode dapat mengekstraksi zerumbone dari tanaman lempuyang gajah seperti hasil yang digambarkan pada tabel 1. Sedangkan dengan menggunakan metode refluks dengan variasi cairan penyari, zerumbone tidak terdeteksi pada penyari dengan air.

Tabel 1. Analisis kualitatif zerumbone pada berbagai metode ekstraksi dan cairan penyari.

Metode	Pengamatan warna			Nilai Rf	ket
	UV 254	UV 366	H ₂ SO ₄ 10%		
Soxhlet	ungu	-	kuning	0,64	+
Refluks	ungu	-	kuning	0,64	+
Destilasi	ungu	-	kuning	0,63	+
Maserasi	ungu	-	kuning	0,62	+
Penyari					
n-hexan	ungu	-	kuning	0,64	+
EtOH 70%	ungu	-	kuning	0,64	+
Air					-

Penetapan panjang gelombang maksimal dari larutan baku zerumbone ditentukan dengan mengukur pada panjang gelombang 200-800 nm dan diperoleh dalam larutan metanol, zerumbone menunjukkan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 259 nm. Pada metode densitometri ini dilakukan pemisahan senyawa dari ekstrak dengan menggunakan teknik kromatografi yang kemudian senyawa yang terpisah tersebut dideteksi dengan menggunakan KLT scanner. Senyawa zerumbone dibandingkan dengan berbagai konsentrasi diukur absorbansinya pada panjang gelombang yang telah ditetapkan sebelumnya kemudian dihitung AUC (*Area under curve*) yang diperoleh. Absorbansi masing-masing larutan diplotkan terhadap konsentrasi masing-masing maka suatu garis lurus akan teramati sesuai dengan persamaan $A = \epsilon bc$.



Gambar 2. Kromatogram dari Kromatografi lapis tipis dengan eluen n-heksan:etil asetat (9:1) dan penampak noda sinar UV 254. Ket. 1-5 = zerumbone murni, S = sampel soxhlet, R = sampel Reflux, D = sampel Destilasi Air, M = sampel Maserasi.

Analisis kandungan zerumbone pada rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) J.E Smith) dengan berbagai metode ekstraksi dan variasi cairan penyari dilakukan dengan metode analisis kualitatif dengan mengamati warna noda, serta harga Rf dan spektrum pada panjang gelombang 200-400 nm, dan dilanjutkan dengan analisis kuantitatif secara Densitometri. Dari hasil analisis kualitatif terhadap berbagai metode ekstraksi dan variasi cairan penyari menunjukkan panjang gelombang maksimum 259 dengan warna noda ungu harga Rf 0,64 (S,R), 0,63 (D), 0,62 (M), 0,58 (H), 0,59 (E). sehingga disimpulkan bahwa pada metode ekstraksi secara Soxhlet, Reflux, Maserasi dan Destilasi Air serta cairan penyari n-Heksan, dan Etanol 70% diduga mengandung Zerumbone. Hasil uji kualitatif yang positif dilanjutkan dengan uji kuantitatif dengan

mengukur luas area sampel dan kadar zerumbone pada sampel rimpang Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*).

Berdasarkan hasil penelitian tersebut ditemukan bahwa metode yang baik dalam mengekstraksi zerumbone adalah reflux dan pemilihan cairan penyari yang baik adalah n-heksan (table 2).

Tabel 2. Analisis kuantitatif dari zerumbone dengan berbagai metode dan cairan penyari.

Metode	Luas Area	Konsentrasi Zerumbone (μg)
Soxhlet	9482,67	1,874
	9417,17	1,860
	9399,27	1,856
Refluks	9942,57	1,972
	10257,81	2,039
	10103,29	2,006
Destilasi	2026,34	0,286
	2119,11	0,306
	2042,52	0,289
Maserasi	6670,74	1,275
	6045,01	1,142
	6086,87	1,151
Penyari	Luas Area	Konsentrasi Zerumbone (μg)
n-hexan	16195,79	4,255
	15869,59	4,174
	16784,19	4,402
EtOH 70%	6719,64	1,894
	6008,21	1,717
	6497,80	1,839

Uji aktifitas penghambatan oleh senyawa zerumbone terhadap *M. Tuberculosis* telah dilakukan pada berbagai konsentrasi (tabel 3). Dari data tersebut diatas dapat diketahui bahwa Z1 (0,5%), Z2 (0,1%), dan Z3 (0,05%) memiliki daya hambat yang lebih tinggi dibandingkan dengan antibiotik INH (0,002%) dan rifampisin (0,4%) sedangkan Z4 (0,01%) memiliki daya hambat yang sama dengan antibiotik rifampisin (0,4%).

Pertumbuhan koloni (1-5) dikategorikan sensitif, karena bakteri masih bisa terbunuh dengan anti mikobakterial umum dalam masa pengobatan Tb 6 bulan. Kondisi tumbuh di atas 5 koloni dianggap resisten untuk anti mikobakterial Tb umum dan memerlukan anti mikobakterial khusus yang lebih poten (diperlukan test resistensi untuk penentuan obat yang paling sensitif).

Pada penelitian ini konsentrasi 0,5%, 0,1%, 0,05%, dan 0,01% dianggap cukup sensitif untuk pengobatan TB non-MDR karena nilai hambatannya cukup besar yaitu sebesar 90%, 88%, 86%, dan 85%. Terhadap

strain kuman MDR-TB, isolat zerumbone secara kualitatif menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan pada semua konsentrasi dan hambatan pertumbuhan terbesar terdapat pada konsentrasi 0,5% yaitu lebih dari 90%.

Dengan konsentrasi isolat zerumbone yang lebih tinggi, daya hambat pertumbuhan bakteri strain MDR-TB, diharapkan lebih tinggi dan dapat digunakan untuk obat alternatif penderita TB.

Tabel 3. Jumlah koloni yang tumbuh dalam medium LJ dengan penambahan zerumbone berbagai konsentrasi dan antibiotik sebagai positif kontrol

	Jumlah koloni	Tingkatan	Batasan
Kontrol	>100	9	N
Zerumbone			
Z1 (0,5%)	0	6	S
Z2 (0,1%)	12	6	S
Z3 (0,05%)	14	6	S
Z4 (0,01%)	15	6	S
Z5 (0,005%)	50	7	R
Antibiotik			
INH 0,02	20	6	S
RIF (0,4%)	15	6	S
ETH (0,1%)	4	1-5	S
STREP (0,1%)	0	0	N

Keterangan :

Z1 = Zerumbone konsentrasi 0,5%, Z2 = Zerumbone konsentrasi 0,1%, Z3 = Zerumbone konsentrasi 0,05%, Z4 = Zerumbone konsentrasi 0,01%, Z5 = Zerumbone konsentrasi 0,005%, N = Tumbuh normal, S = Sensitif
R = Resisten, Rif = Rifampisin, Eth= Ethambutol, Strep = Streptomisin, **Tingkatan:** 0 koloni = negative, 1 -5 jumlahnya = sensitive, batasan : S, 6 (6 - 24 koloni) = hampir sensitif atau resisten agak rendah, batasan : S, 7 (25 - 99 koloni) = resisten, batasan : R, 8 (100 koloni) = sangat resisten, batasan : R9 (>100)= tumbuh merata/normal, batasan : N

Penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi tertentu isolat zerumbone dapat menghambat pertumbuhan koloni TB, dengan demikian dapat merupakan pengobatan TB alternatif masa depan, hal ini tentu memerlukan penelitian lanjut dengan konsentrasi isolat zerumbone yang lebih tinggi, sampel yang lebih banyak, uji pada hewan coba dan terapan pada manusia.

KESIMPULAN

Analisis kandungan zerumbone pada ekstrak lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet*) menunjukkan jumlah terbesar dapat terekstraksi dengan menggunakan metode ekstraksi refluks dengan penyari yang paling banyak menyari adalah etil

asetat. Zerumbone memiliki kemampuan tertinggi dalam menghambat aktifitas bakteri Mycobacterium tuberculosis pada konsentrasi 0,1%.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditama, TY., Luthni, E. (2002). *Buku Petunjuk Teknik Pemeriksaan Laboratorium Tuberkulosis. Edisi 2*. Jakarta: Laboratoirum Mikrobiologi RS Persahabatan dan WHO Center for Tuberculosis.
- Hariana, A. (2011). *Tumbuhan Obat & Khasiatnya. Seri 2*. Jakarta:Penebar Swadaya.
- Kalantari, K., Moniri, M., Moghaddam, AM., Rahim, RA., Ariff, AB., Izadiyan Z., Mohamad, R., (2017). A Review of the Biomedical Applications of Zerumbone and the Techniques for Its Extraction from Ginger Rhizomes. *Molecules* 22, 1645, 1-24.
- Keong, YS., Alitheen, NB., Mustafa, S., Aziz, AS., Rahman AM., Ali AM. (2010). Immunomodulatory Effect of Zerumbone Isolated From Roots of *Zingiber zerumbet*. *Pak. J. Pharm. Sci.*,23 (1), 75-82.
- Kim, M., Miyamoto, S., Yasui, Y., Oyama, T., Murakami A., Tanaka T. (2009). Zerumbone, a tropical ginger sesquiterpene, inhibits colon and lung carcinogenesis in mice. *Int. J. Cancer*, 124, 264-271.
- Kitayama, T., Yokoi, T., Kawai, Y., Hill, RK., Morita M., Okamoto T., et al. (2003). The chemistry of zerumbone. Part 5: Structural transformation of the dimethylamine derivatives. *Tetrahedron*, 59 (26), 4857-4866.
- Ma, TY., Xiang L., Zhang D., Shi, YH., Ding, DD., Shen, XF., Chen, SL. (2018). Status and research strategy of molecular breeding in artemisia annua. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 43(15), 3041-3050.
- Murakami A., Takahashi D., Kinoshita, T., Koshimizu, K., Kim, HW., Yoshihiro A., et al. (2002). Zerumbone, a Southeast Asian ginger Sesquiterpene, Markedly Suppresses Free Radical Generation, Proinflammatory Protein Production and Cancer Cell Proliferation Accompanied by Apoptosis: the

alpha, beta-unsaturated carbonyl group is a prerequisite. *Carcinogenesis*. 23(5), 795–802.

Qu, Y., Safonova O., Luca VD. (2018). Completion of the canonical pathway for assembly of anticancer drugs vincristine/vinblastine in *Catharanthus roseus*. *The Plant Journal* In press.