

Penentuan Golongan Bercak Senyawa aktif Ekstrak *n*-heksan *Alpinia galanga* terhadap *Candida albicans* dengan Bioautografi dan Kromatografi Lapis Tipis

ENI KUSUMANINGTYAS¹, LUSI SUKMAWATI² dan ESTIE ASTUTI³

¹Balai Besar Penelitian Veteriner, Jl. RE Martadinata 30 Bogor 16114

²Institut Sains dan Teknologi Nasional Jl. Moh. Kahfi II, Jagakarsa, Jakarta 12620

³Universitas Pancasila, Srengseng Sawah Jagakarsa, Jakarta

(Diterima dewan redaksi 23 Agustus 2008)

ABSTRACT

KUSUMANINGTYAS, E., L. SUKMAWATI and E. ASTUTI 2008. Evaluation of group of *Alpinia galanga* *n*-hexane-Extract against *Candida albicans* by bioautography and thin layer chromatography. *JITV* 13(4): 323-328.

Alpinia galanga has been used for centuries as a remedy for human diseases because it contains of therapeutic compounds. The objectives of this study was to define groups of the antifungal compounds of *Alpinia galanga* *n*-hexane-extract. *Alpinia galanga* was extracted by maceration method and the compounds were analyzed by phytochemical analysis. The extract was run on the thin layer chromatography (TLC) plate silica gel GF₂₅₄ with dichloromethane and toluene. Bioautography was conducted to determine antifungal compounds against *Candida albicans*. Active compounds on the previous step were identified by running extract on TLC plate and sprayed with Vanilin sulphuric acid and Liebermann-Burchard I. The results of phytochemical analysis showed that *Alpinia galanga* *n*-hexane-extract contains alkaloids, flavonoids, saponins, triterpenoid, tannins and aromatic oil. Bioautogram revealed that there was one inhibition zone against *Candida albicans*. The active compounds in the inhibition zone were in R_f value 0.75 and 0.89. One out of the two compounds was identified as a compound from terpenoid group.

Key Words: Compound, Extract, *Alpinia galanga*, *Candida albicans*

ABSTRAK

KUSUMANINGTYAS, E., L. SUKMAWATI dan E. ASTUTI. 2008. Penentuan golongan bercak senyawa aktif dari ekstrak *n*-heksan *Alpinia galanga* terhadap *Candida albicans* dengan bioautografi dan kromatografi lapis tipis. *JITV* 13(4): 323-328.

Alpinia galanga telah digunakan sebagai obat untuk penyakit pada manusia selama berabad-abad karena berisi senyawa-senyawa yang bisa digunakan untuk terapi. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan golongan dari senyawa aktif ekstrak *n*-heksan *Alpinia galanga*. Rimpang *Alpinia galanga* diekstrak dengan menggunakan metode maserasi dan senyawa yang ada dianalisis dengan penapisan fitokimia. Ekstrak dielusi pada lempeng kromatografi lapis tipis (TLC) silika gel GF₂₅₄ dengan menggunakan diklorometana dan toluena. Bioautografi dilakukan untuk menentukan senyawa anti khamir terhadap *Candida albicans*. Senyawa aktif pada tahap sebelumnya diidentifikasi dengan mengelusi ekstrak pada lempeng TLC yang disemprot dengan Vanilin asam sulfat dan Liebermann-Burchard I. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksan *Alpinia galanga* mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, tanin dan minyak atsiri. Bioautogram menunjukkan adanya satu zona hambat terhadap *Candida albicans*. Senyawa aktif yang terdapat dalam zona hambat tersebut berada pada nilai R_f 0,75 dan 0,89. Salah satu dari dua senyawa tersebut teridentifikasi sebagai senyawa dari golongan terpenoid.

Kata kunci: Senyawa, Ekstrak, *Alpinia galanga*, *Candida albicans*

PENDAHULUAN

Candida albicans merupakan khamir yang secara normal hidup pada alat pencernaan, mulut, vagina dan kulit. Infeksi terjadi apabila ada pertumbuhan yang berlebih dari khamir tersebut. Infeksi yang paling sering dijumpai adalah non sistemik yang terlihat lesi pada kulit dan menunjukkan peradangan (JAWETZ *et al.*, 1996). Beberapa anti khamir dari golongan azole banyak digunakan untuk menggantikan griseofulvin, tetapi dapat menimbulkan resistensi. Mutasi genetika

pada *Candida albicans* juga dapat menimbulkan resistensi sehingga pencarian senyawa baru sebagai anti khamir masih terus dilakukan (CAMPBELL *et al.*, 2004; MAI *et al.*, 2007).

Salah satu bahan alam yang mempunyai aktivitas anti khamir adalah *Alpinia galanga*. *Alpinia galanga* merupakan salah satu tumbuhan yang telah lama digunakan masyarakat Indonesia sebagai bahan obat-obatan. Rimpang *Alpinia galanga* sering digunakan sebagai obat penyakit perut, kudis, panu dan menghilangkan bau mulut (SOMAATMAJA, 1981). Hasil

penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa *Alpinia galanga* mengandung senyawa dari golongan flavonoid, fenol dan terpenoid (DARWIS dan HASIYAH, 1989). Golongan senyawa ini sering digunakan sebagai bahan dasar obat-obatan modern. Sebagai contoh, senyawa terpenoid asetoksikavikol asetat yang diisolasi dari *Alpinia galanga* digunakan untuk menghambat perkembangan virus HIV tipe I (YE dan LI, 2006). *Alpinia galanga* juga mengandung senyawa-senyawa anti kapang dan khamir (JANSSEN dan SCHEFFER, 1985). Diterpen yang terkandung dalam ekstrak lengkuas bersifat sitotoksik terhadap kapang dan khamir, yaitu galangal A, galangal B, galanolakton, 12-labdiena-15,16-dial, dan 17-epoksilabd-12-ena-15,16-dial (MORITA dan ITOKAWA, 1988). Beberapa senyawa yang terkandung dalam rimpang lengkuas juga dilaporkan dapat berfungsi melisis protoplas sel khamir. Salah satu diantaranya adalah Diterpen I dengan struktur (E)-8 β ,17-epoxylabd-12-ene-15,16-dial. Senyawa Diterpen I bersama-sama dengan quercetin dan chalcone dapat bersifat anti khamir terhadap *Candida albicans*. Senyawa tersebut bekerja dengan mengubah permeabilitas membran melalui perubahan membran lipida (HARAGUCHI *et al.*, 1996). Sebagai anti kapang dan khamir, ekstrak *Alpinia galanga* bahkan dapat berfungsi dengan baik pada kapang dan khamir yang resisten terhadap amphotericin B dan ketokonazol (FICKER *et al.*, 2003).

Pada penelitian ini digunakan ekstrak *n*-heksan rimpang *Alpinia galanga*. Penggunaan ekstrak tersebut didasarkan pada hasil sebelumnya yang menyebutkan bahwa ekstrak *n*-heksan menghasilkan daya hambat yang baik terhadap kapang *Trichophyton mentagrophytes* dan *Microsporum canis* (HERNANI *et al.*, 2007) sehingga akan dicoba kemampuannya terhadap khamir *Candida albicans*. Namun demikian, senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tersebut belum diketahui dengan jelas. Metode bioautografi digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang terkandung pada ekstrak *n*-heksan rimpang *Alpinia galanga* yang selanjutnya diuji untuk mendapatkan senyawa yang aktif terhadap *Candida albicans*. Untuk mengetahui golongan senyawa yang mempunyai aktivitas anti *Candida albicans* dalam ekstrak tersebut, dalam penelitian ini dilakukan uji kromatografi lapis tipis (TLC) yang kemudian disemprot dengan pereaksi warna tertentu yang spesifik untuk mendapatkan hasil pewarnaan yang sesuai untuk golongan senyawa tertentu.

MATERI DAN METODE

Persiapan khamir uji. Khamir *Candida albicans* diperoleh dari BBalivet Culture Collection (BCC) (F0179). *Candida albicans* ditumbuhkan dalam media *Sabouraud dextrose agar* (SDA) dalam tabung. Kultur

dipanen dengan melarutkan sel dalam air suling steril dan dihitung jumlah cfu/ml. SDA yang masih cair ($\pm 50^{\circ}\text{C}$) disiapkan, kemudian suspensi khamir dicampur dalam SDA cair sehingga mencapai konsentrasi akhir 10^6 cfu/ml. Suspensi tersebut selanjutnya digunakan untuk melapisi kromatogram pada uji bioautografi.

Persiapan ekstrak. Simplisia rimpang *Alpinia galanga* diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO) Bogor yang telah dideterminasi di Herbarium Bogoriensis Botani, Puslitbang LIPI Bogor. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara maserasi yaitu dengan cara merendam sebanyak 500 g serbuk kering simplisia dalam 2,5 L cairan penyari non polar *n*-heksan, cairan tersebut dikocok dengan pengocok otomatis selama 2 jam dan dibiarkan selama 24 jam. Perendaman dilakukan beberapa kali sampai diperoleh filtrat yang agak jernih, filtrat yang telah terkumpul kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotavapor sampai diperoleh ekstrak kental.

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap ekstrak *n*-heksan *Alpinia galanga* untuk mengetahui adanya kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, tannin dan minyak atsiri. Penapisan fitokimia tersebut dilakukan menurut metode CIULEI (1984) dengan prinsip kerja titrasi ekstrak dengan larutan atau reagen tertentu.

Bioautografi agar overlay dengan MTT (methyl thiazole tetrazolium): (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)). Larutan ekstrak sebanyak 10 μl dengan konsentrasi 10% ditotolkan dengan pipa kapiler pada lempeng TLC (silica gel GF₂₅₄), lalu dielusi dengan larutan diklorometana dan dilanjutkan dengan toluena sampai mencapai batas rambat lalu dikeluarkan dan dikeringkan. Setelah lempeng TLC yang sudah dielusi (kromatogram) mengering, suspensi *Candida albicans* dalam SDA yang masih cair dituangkan pada kromatogram untuk membentuk lapisan tipis. Setelah agar yang melapisi kromatogram mengeras, kromatogram disimpan dalam cawan petri steril lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-18 jam. Kromatogram disemprot dengan MTT (2,5mg/ml) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 4-6 jam. Pengamatan dilakukan pada zona yang berwarna terang yaitu putih kekuningan (warna MTT) yang menandakan ada aktivitas anti khamir dengan latar belakang warna ungu pada daerah yang ditumbuhi *Candida albicans*. Nilai R_f pada daerah yang menunjukkan zona hambat dicatat.

Identifikasi golongan senyawa. Dua buah kromatogram masing-masing dibuat dengan menotolkan larutan ekstrak dengan konsentrasi 10%

sebanyak 10 µl pada lempeng TLC (silica gel GF₂₅₄). dielusi dengan larutan diklorometana, dilanjutkan dengan toluena sampai mencapai batas rambat, kemudian dikeluarkan dan dikeringkan. Masing-masing kromatogram disemprot dengan pereaksi warna Vanilin-asam sulfat dan Liebermann-Burchard I. Vanilin asam sulfat dan Liebermann-Burchard I merupakan pengembang untuk senyawa terpenoid yang akan menghasilkan warna ungu untuk Vanillin-asam sulfat dan hijau untuk Liebermann-Burchard I. Selanjutnya, kromatogram yang sudah disemprot dipanaskan dalam oven pada suhu 100°C selama lebih kurang 10 menit. Pemanasan diperlukan untuk pembentukan warna yang optimum terutama untuk pereaksi warna yang menggunakan asam (SETIABUDI, 1995). Bercak senyawa yang terbentuk diamati dan dicatat nilai R_f-nya. Identifikasi senyawa aktif dilakukan dengan membandingkan nilai R_f zona hambat pada bioautogram dengan nilai R_f pada kromatogram hasil penyemprotan dengan Vanilin-asam sulfat dan Liebermann-Burchard I.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak rimpang *Alpinia galanga* dibuat dengan cara maserasi dengan pelarut *n*-heksan. Pelarut *n*-heksan dipilih untuk mengekstraksi atau mengisolasi senyawa-senyawa yang larut pada pelarut non polar. Pelarut non polar seperti *n*-heksan dan diklorometana mampu mengisolasi senyawa anti kapang dan anti khamir yang bersifat non polar dalam jumlah lebih banyak dengan aktivitas anti kapang dan khamir yang lebih besar dibandingkan dengan pelarut lain (MASOKO dan ELOFF, 2005).

Selanjutnya, ekstrak yang telah diperoleh diuji dengan penapisan fitokimia. Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam ekstrak *n*-heksan rimpang *Alpinia galanga*. Berdasarkan hasil penapisan fitokimia (Tabel 1) menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam ekstrak *n*-heksan rimpang *Alpinia galanga* adalah alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, tanin dan minyak atsiri. Berdasarkan hasil penapisan fitokimia tersebut menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksan rimpang *Alpinia galanga* mengandung golongan senyawa-senyawa yang bersifat anti kapang dan khamir (CYBULSKA *et al.*, 1986; JACKSON *et al.*, 2002; BANFI *et al.*, 2006), maka diduga ekstrak tersebut dapat berfungsi untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Untuk mengetahui aktivitas anti khamir tersebut dan senyawa yang aktif diantara beberapa senyawa yang tersebut di atas maka digunakan uji bioautografi.

Metode bioautografi yang digunakan adalah bioautografi *agar-overlay* dengan pewarnaan MTT. Seperti terlihat pada Gambar 1, terdapat zona terang diantara warna ungu. Daerah terang merupakan letak

senyawa yang mempunyai aktivitas anti *Candida albicans*. Untuk mengetahui golongan senyawa-senyawa yang terdapat pada daerah zona hambat tersebut dilakukan pemisahan dengan TLC dan dilakukan pewarnaan dengan pereaksi warna Vanilin-asam sulfat dan Liebermann-Burchard I. Kromatogram dapat dilihat pada Gambar 2, sedangkan harga R_f untuk masing-masing bercak senyawa tercantum pada Tabel 2.

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia ekstrak *n*-heksan rimpang *Alpinia galanga*

No	Golongan senyawa	Hasil reaksi
1	Alkaloid	Positif
2	Flavonoid	Positif
3	Saponin	Positif
4	Triterpenoid	Positif
5	Tanin	Positif
6	Minyak atsiri	Positif

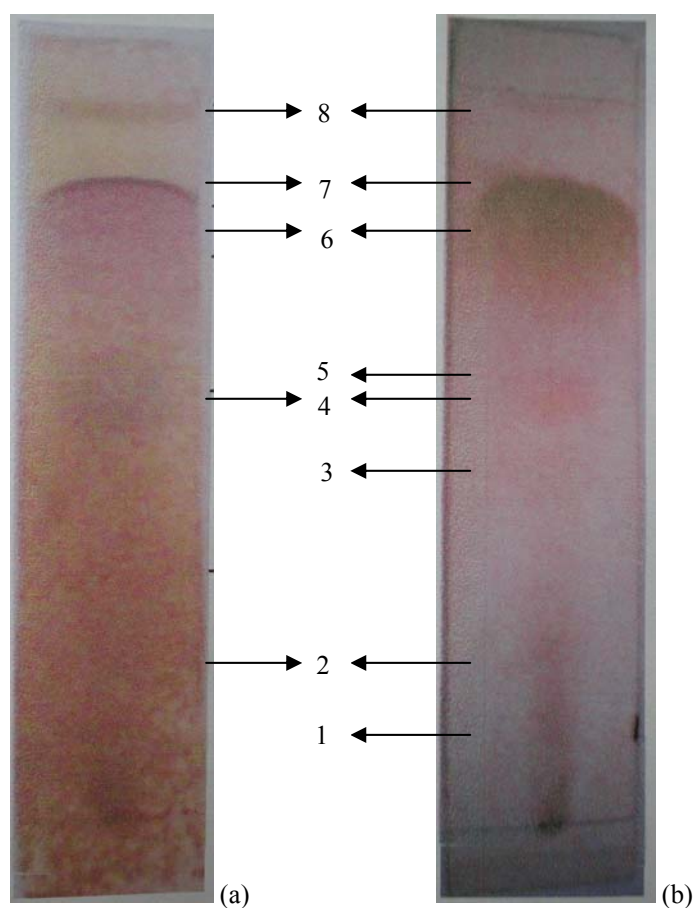
Seperti terlihat pada Gambar 2, kromatogram dengan pereaksi Vanilin-asam sulfat terbentuk lima bercak warna yaitu merah muda, hijau, ungu, hijau kebiruan dan hijau muda. Nilai R_f 0,75 dengan warna ungu (Tabel 2) merupakan warna positif terhadap terpenoid sehingga diduga bercak tersebut senyawa dari golongan terpenoid. Pada kromatogram dengan pereaksi warna Liebermann-Burchard I, terbentuk delapan bercak warna senyawa. Pada nilai R_f 0,75 memberikan warna hijau yang menandakan reaksi positif terhadap



Gambar 1. Hasil bioautografi ekstrak *n*-heksan rimpang *Alpinia galanga* terhadap *Candida albicans*. Daerah terang merupakan letak senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dengan nilai R_f 0,75

Tabel 2. Harga R_f kromatogram ekstrak *n*-heksan rimpang *Alpinia galanga*

Nilai R_f	No. bercak	Pereaksi warna pada KLT	
		Vanilin asam sulfat	Lieberman Burchard I
0,13	1	-	Ungu keabu-abuan
0,26	2	Merah muda	Ungu keabu-abuan
0,48	3	-	Kuning
0,62	4	Hijau	Jingga
0,69	5	-	Ungu
0,75	6	Ungu	Hijau
0,89	7	Hijau kebiruan	Coklat kehijauan
0,97	8	Hijau muda	Coklat

**Gambar 2.** Kromatogram dengan pereaksi (a) Vanilin-asam sulfat (b) Liebermann-Burchard I. Angka menunjukkan senyawa yang terwarnai

terpenoid. Terdapat kesesuaian hasil dari kromatogram dengan pewarnaan Vanilin asam sulfat maupun Liebermann-Burchard I bahwa daerah pada nilai R_f 0,75 diduga merupakan bercak senyawa dari golongan terpenoid. Hasil tersebut juga sesuai dengan hasil pada

bioautogram yang menunjukkan bahwa zonaambat terbentuk pada nilai R_f 0,75 dan 0,89 sehingga senyawa aktif pada nilai R_f 0,75 adalah terpenoid. Selain dua senyawa aktif tersebut, pada penapisan fitokimia ditemukan 6 senyawa dalam ekstrak *n*-heksan rimpang

Alpinia galanga yang diduga berpotensi sebagai anti kapang dan khamir, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, tanin dan minyak atsiri. Alkaloid dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan khamir *Candida albicans* dan *Cryptococcus neoformans* dan kapang dermatofit antara lain *Trichophyton sp* dan *Epidermophyton floccosum* dengan cara menghambat biosintesa asam nukleat (MC CHARTY *et al.*, 1992). Kemampuan anti khamir flavonoid pada *Candida albicans* adalah mengganggu pembentukan pseudohifa selama proses patogenesis (CHUSNIE dan LAMB, 2005). Tanin pada konsentrasi tinggi dapat menghambat pertumbuhan kapang dan khamir dan menghambat kerja enzim polifenol oksidase (NICOLS-ORIAN, 1991), sedangkan saponin dapat membentuk kompleks dengan sterol dan mempengaruhi permeabilitas membran (SIMONS *et al.*, 2006). Walaupun demikian, pada bioautogram dan kromatogram hanya 2 bercak senyawa yang aktif terhadap *Candida albicans*. Ada beberapa kemungkinan yang dapat terjadi dan perlu mendapat perhatian pada penelitian yang akan datang. Konsentrasi senyawa anti khamir yang rendah tidak mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Sebagai contoh, tanin dapat menghambat pertumbuhan kapang dan khamir apabila dalam konsentrasi tinggi. Kemungkinan lain *Candida albicans* yang diuji tahan terhadap senyawa-senyawa tersebut.

Seperti telah disebutkan sebelumnya, daerah senyawa yang mempunyai aktivitas terhadap *Candida albicans* pada bioautogram adalah pada nilai R_f 0,75 dan 0,89 dan daerah yang teridentifikasi sebagai senyawa terpenoid adalah senyawa dengan nilai R_f 0,75. Pada penelitian ini senyawa pada nilai R_f 0,89 tersebut belum diketahui golongannya dan disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasinya dengan menggunakan pereaksi warna lain atau metode yang sesuai. Penelitian juga dapat dilanjutkan untuk senyawa-senyawa lain yang diduga dapat berfungsi sebagai anti khamir tetapi pada penelitian ini tidak menunjukkan adanya aktivitas tersebut. Hasil penelitian ini juga diharapkan dapat memicu penelitian lain yang mengarah pada penemuan bahan obat anti kapang dan khamir yang baru.

KESIMPULAN

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksan rimpang *Alpinia galanga* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, tanin dan minyak atsiri. Bioautogram menampilkan zona hambat yang berisi senyawa anti *Candida albicans*. Pewarnaan dengan kromatogram menunjukkan bahwa pada zona hambat tersebut terdapat 2 golongan senyawa aktif yang salah satunya teridentifikasi sebagai terpenoid. Senyawa yang terdeteksi pada penapisan fitokimia yang tidak menunjukkan zona hambat pada

bioautogram disarankan untuk diteliti lebih lanjut. Penemuan golongan senyawa aktif ini dapat dimanfaatkan sebagai acuan penelitian untuk penemuan bahan obat untuk kapang dan khamir baru terutama untuk *Candida albicans*.

DAFTAR PUSTAKA

- BANFI, E., G. SCIALINO, D. ZAMPIERI, M.G. MAMOLO, L.VIO, M. FERRONE, M. FERMEGLIA, M.S. PANENI and S. PRICL. 2006. Antifungal and antimycobacterial activity of new imidazole and triazole derivatives. A combined experimental and computational approach. *J. Antimicrob. Chemother.* 58:76-84.
- BERRIDGE, M.V. and A.S. TAN. 1993. Characterization of the cellular reduction of 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT): subcellular localization, substrate dependence, and involvement of mitochondrial electron transport in MTT reduction. *Arc Biochem. Biophys.* 303: 474-82.
- CAMPBELL, A.W., E.C. ANYANWU and M. MORAD. 2004. The drug treatment and persistence of onychomycosis. *Scientific World J.* 31: 760-777.
- CIULEI, J. 1984. Methodology for analysis of vegetable drug. Faculty of Pharmacy. Bucharest Romania. Pp: 11-22
- CUSHNIE, T.P. and A.J. LAMB. 2005. Antimicrobial activity of flavonoid. *J. Nat. Prod.* 26: 343-356.
- CYBULSKA, B., M. HERVE, E. BOROWSKI and C.M. GARY-BOBO. 1986. Effect of the polar head structure of polyene macrolide antifungal antibiotics on the mode of permeabilization of ergosterol- and cholesterol-containing lipidic vesicles studied by ^{31}P -NMR. *Mol. Pharmacol.* 29: 293-298.
- DARWIS, S.N. dan S. HASIYAH. 1989. Tumbuhan obat famili Zingiberis. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tumbuhan Industri. hlm. 46-51.
- FICKER, C.E., M.L. SMITH, S. SUSIARTI, D.J. LEAMAN, C. IRAWATI and J.T. ARNASON. 2003. Inhibition of human pathogenic fungi by members of Zingiberaceae used by the Kenyah (Indonesian Borneo). *J. Ethnopharmacol.* 85: 289-93.
- KHATTAK, S., S. REHMAN, H.U. SHAH, W. AHMAD and M. AHMAD. 2005. Biological effects of indigenous medicinal plants *Curcuma longa* and *Alpinia galanga*. *Fitoterapia.* 76: 254-257.
- HARAGUCHI, H., Y. KUWATA, K. INADA, K. SHINGU, K. MIYAHARA, M. NAGAO and A. YAGI 1996. Antifungal activity from *Alpinia galanga* and the competition for incorporation of unsaturated fatty acids in cell growth. *Planta. Med.* 62: 308-313.
- HERNANI, E. KUSUMANINGTYAS dan ABUBAKAR. 2007. Senyawa anti jamur dari *Alpinia galanga*. Pengembangan teknologi tanaman obat dan aromatik. Prosiding seminar nasional dan pameran. Pusat

- Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. Buku 2. hlm: 542-550.
- JACKSON, J.E., M.M. IYVU, C.O. OKUNJI, C. BACCHI, J.D. TALLEY and J.F. AYAFOR. 2002. Antifungal and Antiparasitic Compound. *Patent 6403576*. Korea.
- JANSSEN, A.M. and J.J.C. SCHEFFER. 1985. Acetoxyhydroxychavicol acetate, an antifungal component of *Alpinia galanga*. *Planta. Med.* 6: 507-511.
- MAI, A., D. ROTILI, S. MASSA, G. BROSCHE, G. SIMONETTI, C. PASARIELLO and A.T. PALAMARA. 2007. Discovery of uracil-based histone deacetylase inhibitors able to reduce acquired antifungal resistance and trailing growth in *Candida albicans*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17:1221-1225.
- MASOKO, P. and J.N. ELOFF. 2005. The diversity of antifungal compounds of six South African *Terminalia* species (*Combretaceae*) determined by bioautography. *Afr. J. Biotechnol.* 4: 1425-1431.
- MCCHARTY, P.J., T.P. PITTS, G.P. GUNAWARDANA, M. KELLY-BORQUES and S.A. POMPONI. 1992. Antifungal activity of meridine, a natural product from the marine sponge *Corticium* sp. *J. Nat. Prod.* 55: 1664-1668.
- MORITA, H. and H. ITOKAWA. 1988. Cytotoxic and antifungal diterpenes from the seeds of *Alpinia galanga*. *Planta. Med.* 54: 117-120.
- MOSMANN, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods.* 65: 55-63.
- NICHOLS-ORIAN, C. 1991. Differential effects of condensed and hydrolyzable tannin on polyphenol oxidase activity of attine symbiotic fungus. *J. Chem. Ecol.* 17: 1811-1819.
- ONISHI, J., M. MEINZ, J. THOMPSON, J. CUROTTO, S. DREIKORN, M. ROSENBAACH, C. DOUGLAS, G. ABRUZZO, A. FLATTERY, L. KONG, A. CABELLO, F. VICENTE, F. PELAEZ, M.T. DIEZ, I. MARTIN, G. BILLS, R. GIACOBBE, A. DOMBROWSKI, R. SCHWARTZ, S. MORRIS, G. HARRIS, A. TSIPOURAS, K. WILSON and M.B. KURTZ. 2000. Discovery of novel antifungal (1,3)- β -D-glucan synthase inhibitors. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:368-377.
- SETIABUDI, R. 1995. Pengantar Antimikroba. Penerbit Universitas Indonesia. UI Press. hlm: 571-573.
- SIMONS, V., J.P. MORRISSEY, M. LATIJNHOUWERS, M. CSUKAI, A. CLEAVER, C. YARROW and A. OSBOURN, 2006. Dual effects of plant steroidal alkaloids on *Saccharomyces cerevisiae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50: 2732-2740.
- SOMAATMAJA, D. 1981. Rempah-rempah Indonesia. Komunikasi. No 119. BPIHP. Bogor. hlm. 7-15.
- SUGINDRO. 1995. Isolasi dan studi perbandingan minyak atsiri (*Alpinia galanga* (L) Swartz), *Kaempferia galanga* dan *Zingiber officinale* Rosc. Penelitian tanaman obat di beberapa perguruan tinggi di Indonesia. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Departemen Kesehatan republik Indonesia. Jakarta. hlm. 83-84.
- YE, Y. and B. LI. 2006. 1'S-1'-Acetoxychavicol acetate isolated from *Alpinia galanga* inhibits human immunodeficiency virus type 1 replication by blocking Rev transport. *J. Gen. Virol.* 87: 2047-2053.