EFEK ANTIJAMUR MINYAK ATSIRI JAHE MERAH (*ZINGIBER OFFICINALE* VAR. RUBRUM) TERHADAP *CANDIDA ALBICANS*

Hermiina Karuna Atmaja*, Antonia Tanzil**, Lakshmi A Leepel**

* Mahasiswa angkatan tahun 2004 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia

** Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia

Abstract

The prevalence of *Candida albicans* infections is increasing in the society. Therefore, an effective and affordable antifungal drug with minimal side effect is needed. Ginger (*Zingiber officinale*) is a traditional herb which has an antifungal effect in its volatile oil. Objective: to investigate antifungal effect of volatile oil from *Zingiber officinale* var. rubrum against *C. albicans* *in vitro*, to determine the optimum concentration, and finally to determine the correlation between the various concentrations of the oil and the inhibition zone. Material and method: Strain *C. albicans* tested was obtained from the Department of Parasitology, Medical Faculty, University of Indonesia. Volatile oil of *Zingiber officinale* var. rubrum was produced from water and steam distillation of fresh ginger in BALLITRO, Bogor. Concentrations of the volatile oil used were 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1.56% and 0.78%. Methods used were colony counting and disk diffusion method (by using 6 mm blank disk). The specimens were divided into two groups, treatment group (*C. albicans* with application of volatile oil) and control group (*C. albicans* without application of volatile oil). Result: There was a significant decrease in the amount of *C. albicans* colonies from 3.125% to 6.25% of concentration. The amount of *C. albicans* colonies at concentration 6.25 % was also significantly lower than in the control group. Moreover, there was strong and positive correlation between the concentration of the volatile oil and the inhibition zone. Conclusion: Volatile oil from *Zingiber officinale* var. rubrum has an antifungal effect against *C. albicans* *in vitro* with optimum concentration at 6.25%. Increasing concentrations of the oil correlates with increasing inhibition zone.

Keywords: volatile oil, *Zingiber officinale* var. rubrum, *Candida albicans*, antifungal

Pendahuluan

Candida albicans merupakan jamur oportunistik yang banyak menyebabkan mikosis sistemik, baik pada rongga mulut, saluran pencernaan, maupun pada organ genital, yang dikenal dengan nama kandidiasis.¹ Sampai saat ini, prevalensi kandidiasis dalam rongga mulut makin meningkat di kalangan masyarakat. Meningkatnya

prevalensi kandidiasis dapat disebabkan oleh berbagai faktor predisposisi, di antaranya adalah rendahnya daya tahan tubuh hospes; pasien dengan terapi antibiotik spektrum luas dalam jangka panjang; iritasi kronik akibat pemakaian proteza yang tidak adekuat; pola makan yang tinggi gula.²

Melihat prevalensi kandidiasis yang makin meningkat, kebutuhan terhadap obat-obatan antijamur pun akan makin meningkat.³ Tetapi,

banyak kendala yang dihadapi dalam terapi dengan obat antijamur yang sudah beredar sekarang ini, di antaranya adalah daya beli masyarakat dan adanya efek samping obat-obatan antijamur yang umum dipakai. Masalah lainnya yaitu timbulnya resistensi jamur terhadap beberapa obat antijamur yang sudah banyak beredar, contohnya adalah terjadinya resistensi terhadap amfoterisin B.^{3,4,5}

Berdasarkan kendala-kendala tersebut, saat ini sedang marak dilakukan pencarian bahan-bahan alami sebagai obat tradisional untuk antijamur yang dikenal masyarakat luas dengan harga terjangkau dan efek samping yang rendah. Yang banyak diteliti adalah tanaman herbal. Pemakaian tanaman herbal sebagai obat tradisional sudah dikenal masyarakat luas sejak dulu, terbukti efektif secara klinis, dan dianggap lebih aman untuk dikonsumsi dibandingkan dengan obat konvensional.⁶

Menurut *World Health Organization* (WHO), jahe menduduki urutan tertinggi sebagai obat tradisional yang paling banyak dipakai di dunia.⁷ Rimpang jahe mengandung dua kandungan utama, yaitu minyak atsiri sebesar 1–3 % dan oleoresin.^{7,8,9} Minyak atsiri jahe terdiri dari senyawa-senyawa monoterpen (β -felandren, (+)-kamfen, limonen, sineol, linalool, sitral, dan borneol); seskuiterpen hidrokarbon (zingiberen, β -bis-abolen, (E,E)- α -farnesen, β -seskuifelandren, *sesquithujane*, *sesquisabinene*, dan ar-kurkumen); seskuiterpen alkohol zingiberol, zingiberenol.^{7,8,10} Telah diteliti bahwa minyak atsiri jahe memiliki efek antijamur.^{6,10,11} Minyak atsiri jahe dapat diperoleh dengan teknik destilasi.⁷

Dikenal tiga jenis jahe, yaitu jahe merah, jahe putih besar, dan jahe putih kecil.^{7,12,13} Sebagai bahan obat dan jamu tradisional, jahe merah banyak dipilih karena memberikan rasa pahit dan pedas lebih tinggi dibanding jenis jahe lain. Selain ukurannya lebih kecil dibanding dua jenis jahe lain, warna kulit jahe merah juga berbeda. Kulitnya berwarna merah muda dan dagingnya sedikit cokelat.¹⁴

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan adanya efek antijamur minyak atsiri jahe merah terhadap *C. albicans* secara *in vitro*; mengetahui konsentrasi optimalnya; mengetahui hubungan antara berbagai konsentrasi minyak atsiri jahe merah dan ukuran zona hambat yang terbentuk terhadap *C. albicans*. Pada penelitian ini dipilih jahe merah karena belum didapatkan data penelitian secara spesifik mengenai efek antijamur jenis jahe ini terhadap *C. albicans*, apalagi jahe merah memiliki kandungan minyak atsiri yang paling tinggi dan sering digunakan sebagai obat tradisional.^{7,12}

Bahan dan Cara Kerja

Alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah otoklaf, inkubator, mesin sentrifugasi, *vortex mixer*, *colony counter*, timbangan, tabung reaksi, tabung Eppendorf, labu Erlenmeyer, pipet dan tip Eppendorf, sengkeli, *blank disk* (6 mm), pinset, cawan Petri, spuit 20 ml, *filter unit*, lampu Bunsen, kapas, sarung tangan, masker, dan penggaris. Bahan yang digunakan adalah minyak atsiri jahe merah hasil destilasi kukus jahe merah segar umur 9 bulan dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITRO) sebanyak 15 ml, *C. albicans* dari Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam agar miring, *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) sebagai media tumbuh padat jamur uji, *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB) sebagai media tumbuh cair jamur uji, *Phosphat Buffer Saline* (PBS) sebagai larutan isotonis yang digunakan dalam pembuatan suspensi *C. albicans*, emulsifier sebagai bahan yang digunakan untuk menyatukan minyak atsiri jahe merah dan SDB dalam pembuatan berbagai konsentrasi minyak atsiri jahe merah, dan akuades steril.

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan surat lolos etik nomor 23/EtichalClearance/II/FGUI/2007 yang dikeluarkan oleh Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. Semua prosedur dalam penelitian ini dilakukan secara aseptik. Awalnya disiapkan media perbenihan yang akan digunakan, yaitu SDA dan SDB siap pakai. Setelah itu, dibuat larutan induk *C. albicans* yang berisi PBS dan *C. albicans* yang sudah dibiakkan selama 72 jam di SDB pada suhu 37° C. Kemudian, dibuat suspensi *C. albicans* hingga pengenceran 10¹⁰ kali agar dapat dipilih suspensi *C. albicans* dengan pengenceran yang jumlah koloni *C. albicans*-nya dapat dihitung, dengan kriteria tidak terlalu padat dan tidak terlalu sedikit, untuk digunakan sebagai dasar pada pengujian spesimen. Pengenceran suspensi *C. albicans* dibuat dengan cara mengambil 100 μ l larutan induk *C. albicans* dan dimasukkan ke tabung reaksi yang berisi 900 μ l PBS sehingga diperoleh pengenceran 10 kali. Kemudian, diambil 100 μ l larutan dari pengenceran 10 kali dan dimasukkan ke tabung reaksi yang berisi 900 μ l PBS sehingga diperoleh pengenceran 10² kali. Demikian seterusnya sehingga diperoleh pengenceran hingga 10¹⁰ kali. Suspensi *C. albicans* yang digunakan sebagai dasar pengujian spesimen pada penelitian ini adalah suspensi dengan pengenceran 10⁴ kali.

Pada penelitian ini akan digunakan dua metode, yaitu metode penghitungan koloni dan metode difusi cakram. Konsentrasi minyak atsiri jahe merah yang diuji adalah 100 %, 50 %, 25 %, 12,5 %, 6,25 %, 3,125 %, 1,56 %, dan 0,78 %. Pada metode penghitungan koloni, awalnya disiapkan suspensi *C. albicans* dengan pengenceran 10^3 kali. Digunakan pengenceran 10^3 kali karena 100 μ l suspensi *C. albicans* ini akan dilarutkan bersama 900 μ l minyak atsiri jahe merah dan SDB sehingga suspensi *C. albicans* dengan pengenceran 10^3 kali akan diencerkan sekali lagi dan menghasilkan suspensi *C. albicans* dengan pengenceran 10^4 kali.

Kemudian, disiapkan minyak atsiri jahe merah dalam berbagai konsentrasi, masing-masing sebanyak 900 μ l. Minyak atsiri jahe merah dalam berbagai konsentrasi didapatkan dengan melarutkan minyak atsiri jahe merah dan SDB. Diambil 900 μ l minyak atsiri jahe merah 100 % dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 900 μ l SDB sehingga diperoleh minyak atsiri jahe merah dengan konsentrasi 50 %. Kemudian, diambil 900 μ l minyak atsiri jahe merah 50 % dan dimasukkan ke tabung reaksi berisi 900 μ l SDB sehingga diperoleh minyak atsiri jahe merah dengan konsentrasi 25 %. Demikian seterusnya sehingga diperoleh minyak atsiri jahe merah dengan konsentrasi 12,5 % hingga 0,78 %. Setelah itu, ditambahkan 1,8 μ l emulsifier ke dalam tabung reaksi berisi minyak atsiri jahe merah dengan konsentrasi 50 % hingga 0,78 %. Lalu dihomogenisasi menggunakan *vortex mixer* dan kemudian disaring dengan menggunakan spuit 20 ml dan *filter unit*.

Pada metode penghitungan koloni digunakan tiga kontrol, yaitu kontrol negatif berupa 900 μ l SDB dan 100 μ l suspensi *C. albicans* dengan pengenceran 10^3 kali sebagai pembanding untuk melihat pertumbuhan *C. albicans*, kontrol SDB untuk melihat ada tidaknya kontaminasi pada SDB yang digunakan, dan kontrol minyak atsiri jahe merah untuk melihat ada tidaknya kontaminasi pada larutan uji minyak atsiri jahe merah.

Gambar 1. Metode difusi cakram

Pada delapan tabung reaksi yang berisi berbagai konsentrasi minyak atsiri jahe merah yang masing-masing sebanyak 900 μ l, ditambahkan 100 μ l suspensi *C. albicans* dengan pengenceran 10^3 kali. Setelah itu dihomogenisasi dengan menggunakan *vortex mixer* selama 20 detik. Dari setiap konsentrasi minyak atsiri jahe merah dan kontrol diambil 10 μ l larutan, dimasukkan ke dalam dua cawan petri berisi 20 ml SDA (penghitungan dilakukan secara duplo dan diambil rata-ratanya) dan diratakan dengan sengkeli. Seluruh cawan petri di atas diinkubasi pada suhu 37° C dan diamati selama 72 jam. Kemudian, dilakukan penghitungan terhadap koloni *C. albicans* yang tumbuh dengan menggunakan *colony counter*.

Pada metode yang kedua, yaitu metode difusi cakram, awalnya disiapkan suspensi *C. albicans* dengan pengenceran 10^4 kali. Setelah itu, disiapkan minyak atsiri jahe merah dalam berbagai konsentrasi masing-masing sebanyak 100 μ l. Selanjutnya, disiapkan tiga cawan petri yang berisi 20 ml SDA (penghitungan dilakukan secara triplo dan diambil rata-ratanya). Diambil 1 ml suspensi *C. albicans* dan dimasukkan ke dalam cawan petri berisi SDA.

Setelah suspensi *C. albicans* terserap dalam SDA, dimasukkan satu *blank disk* ke dalam cawan menggunakan pinset steril. Minyak atsiri jahe merah dengan konsentrasi 100 % sebanyak 5 μ l ditetaskan ke *blank disk* dalam cawan petri. Dimasukkan kembali satu *blank disk* dalam cawan dan ditetaskan dengan minyak atsiri jahe merah konsentrasi 50 %. Demikian seterusnya dilakukan hal yang sama untuk konsentrasi 25 % hingga 0,78 %. *Blank disk* terakhir yang dimasukkan diletakkan di tengah cawan untuk kontrol berupa SDB sebanyak 5 μ l. Semua cawan petri diinkubasi pada suhu 37° C dan diamati selama 72 jam. Zona hambat yang terbentuk dari setiap konsentrasi minyak atsiri jahe merah pada setiap cawan petri diukur menggunakan penggaris dan dicatat.

Hasil Penelitian

Pengenceran yang dipilih untuk menjadi dasar dalam pengujian spesimen dalam penelitian ini adalah pengenceran 10^4 kali karena pada pengenceran tersebut jumlah koloni *C. albicans* memenuhi kriteria, tidak terlalu padat dan tidak terlalu sedikit, yaitu 176 koloni dalam 10 μ l (17600 CFU/ml).

Tabel 1. Hasil penghitungan jumlah koloni *C. albicans* setelah pemberian minyak atsiri jahe merah

Konsentrasi minyak atsiri jahe merah	Jumlah koloni jamur (CFU/ml)
100 %	0
50 %	0
25 %	0
12,5 %	50
6,25 %	1450
3,125 %	17775
1,56 %	17900
0,78 %	18250
0 % (kontrol negatif)	16800

CFU = Colony Forming Unit

Hasil penelitian dengan menggunakan metode penghitungan koloni pada tabel 1 menunjukkan bahwa tidak terlihat adanya pertumbuhan *C. albicans* pada konsentrasi minyak atsiri jahe merah 25 %, 50 %, dan 100 %.

Terjadi penurunan tajam jumlah koloni *C. albicans* dari konsentrasi minyak atsiri jahe merah 3,125 % ke konsentrasi 6,25 % (Tabel 1). Jumlah koloni *C. albicans* pada konsentrasi 6,25 % lebih rendah dibandingkan dengan kontrol (Tabel 1). Analisis data menggunakan uji Mann Whitney ($\alpha < 0,05$) menunjukkan perbedaan bermakna antara jumlah koloni *C. albicans* pada konsentrasi 3,125 % dan 6,25 %; antara jumlah koloni *C. albicans* pada konsentrasi 6,25 % dan kontrol.

Tabel 2. Zona hambat yang terbentuk dari minyak atsiri jahe merah dalam berbagai konsentrasi terhadap *C. albicans*

Konsentrasi minyak atsiri jahe merah	Zona hambat (mm)
100 %	5,96
50 %	3,975
25 %	2,4375
12,5 %	0,33
6,25 %	0,1875
3,125 %	0,04
1,56 %	0
0,78 %	0
0 % (kontrol negatif)	0

Zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi minyak atsiri jahe merah 3,125 %. Zona hambat

terbesar terbentuk pada konsentrasi 100 %, sebesar 5,96 mm (Tabel 2).

Hasil penelitian menggunakan metode difusi cakram menunjukkan bahwa makin besar konsentrasi minyak atsiri jahe merah, makin besar zona hambat yang terbentuk terhadap *C. albicans* (Tabel 2). Analisis data menggunakan uji Spearman menunjukkan korelasi yang bermakna ($\alpha < 0,05$) antara konsentrasi minyak atsiri jahe merah dan zona hambat yang terbentuk. Uji Spearman memberikan hasil korelasi yang kuat dan positif dengan koefisien korelasi (r) sebesar 0,879.

Pembahasan

Hasil penelitian dengan menggunakan metode penghitungan koloni menunjukkan bahwa konsentrasi minyak atsiri jahe merah 25 % sudah bersifat fungisid, karena pada konsentrasi ini tidak terlihat adanya pertumbuhan *C. albicans* pada SDA. Konsentrasi optimal minyak atsiri jahe merah yang memiliki efek antijamur terhadap *C. albicans* secara *in vitro* terletak pada konsentrasi 6,25 %. Hal ini ditunjukkan dengan adanya penurunan tajam jumlah koloni *C. albicans* dari konsentrasi minyak

atsiri jahe merah 3,125 % ke konsentrasi 6,25 %. Selain itu, jumlah koloni *C. albicans* pada konsentrasi minyak atsiri jahe merah 6,25 % lebih rendah dibandingkan dengan jumlah koloni pada kontrol. Analisis data dengan uji Mann Whitney ($\alpha < 0,05$) menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara jumlah koloni *C. albicans* pada kisaran konsentrasi 3,125–6,25 %; antara jumlah koloni *C. albicans* pada konsentrasi 6,25 % dan kontrol.

Metode difusi cakram digunakan untuk mengukur kemampuan minyak atsiri jahe merah dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Zona hambat yang terbentuk ditandai dengan adanya daerah jernih di sekeliling kertas cakram.¹⁵ Dari metode difusi cakram dapat diketahui bahwa makin besar konsentrasi minyak atsiri jahe merah, makin besar zona hambat yang terbentuk terhadap *C. albicans*. Analisis data menggunakan uji Spearman menunjukkan korelasi yang bermakna ($\alpha < 0,05$); korelasi yang kuat dan berbanding lurus ($r = 0,879$) antara konsentrasi minyak atsiri jahe merah dan zona hambat yang terbentuk terhadap *C. albicans*.

Penelitian yang dilakukan di FMIPA, ITB menunjukkan bahwa pada konsentrasi minyak atsiri jahe 100 % terbentuk zona hambat sebesar 9,5 mm terhadap *C. albicans*.¹⁶ Sedangkan, pada penelitian ini zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi

minyak atsiri jahe merah 100 % adalah sebesar 5,96 mm. Perbedaan besarnya zona hambat yang terbentuk terhadap *C. albicans* ini diasumsikan karena perbedaan jenis jahe yang digunakan, perbedaan volume minyak atsiri jahe yang ditetaskan ke kertas cakram, dan perbedaan jumlah *C. albicans* yang ditanam ke media tumbuh padat.

Dari hasil penelitian ini, diperkirakan minyak atsiri jahe yang mengandung seskuiterpen dan monoterpen memiliki senyawa fenol dan alkohol bersifat antijamur terhadap *C. albicans*.^{17,18,19} Komponen minyak atsiri jahe yang terdiri dari monoterpen dan seskuiterpen dengan kandungan senyawa fenol dan alkohol (Gambar 2, Gambar 3) tersebut mempunyai gugus -OH yang sama seperti nistatin (Gambar 4) sehingga diduga cara kerjanya sebagai antijamur sama seperti nistatin. Mekanismenya adalah dengan mengikat sterol, khususnya ergosterol pada membran sel jamur.^{4,5,20} Pengikatan ini mengubah permeabilitas sel sehingga terjadi kebocoran membran sel. Kebocoran ini menyebabkan kerusakan permanen pada sel yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel.^{4,5}

Gambar 2. Gugus kimia zingiberenol²¹
(Sumber: <http://www.ntfkii.uni-lj.si/etolja/zingiberenol.htm>)

Gambar 3. Gugus kimia linalool²²
(Sumber: <http://www.friedli.com/research/MSc/literatur.html> linalool)

Gambar 4. Gugus kimia nistatin²³
(Sumber: http://www.seq.es/seq/html/revista_seq/0498/rev1.html)

Kesimpulan dan Saran

Dari penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri jahe merah memiliki efek antijamur terhadap *C. albicans* secara *in vitro* dengan konsentrasi optimal yang terletak pada konsentrasi 6,25 %. Selain itu, terdapat hubungan antara peningkatan konsentrasi minyak atsiri jahe merah dan peningkatan ukuran zona hambat yang terbentuk terhadap *C. albicans*.

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disarankan untuk dilakukan penelitian efek antijamur minyak atsiri jahe merah terhadap *C. albicans* dengan pembanding obat antijamur yang lazim digunakan seperti nistatin atau amfoterisin B untuk melihat perbedaan keefektifannya. Selain itu dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan *C. albicans* oral berbagai strain secara *in vivo*. Untuk mengetahui spektrum kerja aktivitas antijamur minyak atsiri jahe merah, dapat dilakukan penelitian efek antijamur minyak atsiri jahe merah terhadap jenis jamur patogen lainnya.

Daftar Acuan

1. Johnson AG, Ziegler R, Fitzgerald TJ, et al. *Mikrobiologi dan Imunologi*. Ed.I Terj. Yulius E S. Jakarta: Binarupa Aksara, 1994:172, 183, 189-191.
2. Lynch MA, Brightman VJ, and Greenberg MS. *Burket's Oral Medicine, Diagnosis and Treatment*. 8th ed. Philadelphia: JB Lippincott Company, 1984: 221-224.
3. Soeratri W, dkk. *Aktivitas Antifungi Krim Minyak Atsiri Lengkuas (Alpinia galangal (L.) Swartz) Terhadap Candida albicans*. <http://journal.unair.ac.id/login/jurnal/filer/MFA-5-1-03.pdf> 26/06/2007.
4. Clark AM and Walker LA. *Biologically Active Natural Products: Pharmaceuticals*; Cutler SJ, Cutler HG (ed). London: CRC Press. 2000: 97-98.
5. Katzung BG. *Basic and Clinical Pharmacology*. 7th ed. London: Prentice Hall International, 1998: 780-781, 786.
6. Polasa K dan Nirmala K. *Ginger: Its Role in Xenobiotic Metabolism*. <http://icmr.nic.in/BUJUNE03new.pdf>. 2003. 18/07/2007.

7. Redaksi AgroMedia. *Petunjuk Praktis Bertanam Jahe*: Lukito AM (ed). Jakarta: AgroMedia Pustaka. 2007: 1, 9-11, 47-48, 50.
8. Soesilo S dan Akerele O. *Standard of ASEAN Herbal Medicine* vol.1. Jakarta, Indonesia: ASEAN Countries, 1993: 449-450.
9. Minyak Atsiri Jahe. http://warintek.ristek.go.id/pangan/tanaman%20penghasil%20minyak%20atsiri%20dan%20senyawa%20ekstraktif/minyak_atsiri_jahe.pdf 27/06/2007.
10. Evans WC. *Pharmacognosy*. 15th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2002: 278, 280.
11. Research: FLICKER and colleagues. <http://www.positivehealth.com/research-view.php?researchid=2962> 18/07/2007.
12. Rostriana, Bermawie N, dan Rahardjo M. *Budidaya Tanaman Jahe*. <http://www.balittro.go.id/includes/Jahe.pdf>. 2005. 11/07/2007.
13. Jahe (*Zingiber officinale* Rosc). <http://warintek.ristek.go.id/pertanian/jahe.pdf> 14/07/2007.
14. Jahe Merah: Supaya Bugar dan Gairah Makantar-kantar. <http://kompas.com/kesehatan/news/0407/25/135104.htm> 10/08/2007.
15. Jawetz L, Mehick B, Adelberg S. *Medical Microbiology*. 19th ed. California: Appleton and Lange, 1991: 310-597.
16. Sukandar EY, Suganda AG, dan Afrida. Penapisan aktivitas minyak atsiri dari *Zingiber officinale* terhadap bakteri dan jamur. *Simposium Penelitian Bahan Obat Alami VIII*. 1996: 420-423.
17. *Comparative Evaluation of 11 Essential Oils of Different Origin as Functional Antioxidants, Antiradicals and Antimicrobials in Foods*. <http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/paper/food%20no1.pdf> 19/07/2007.
18. Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, and Williamson EM. *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*. London: Churcill Livingstone, 2004: 78-82.
19. *Tumbuhan Obat sebagai Antijamur*. <http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/11InformasiTumbuhanObatsebagaiAntijamur130.pdf> 11/07/2007.
20. Lewis RE. *Antifungal Pharmacology*. http://www.doctorfungus.org/thedrugs/antif_pharm.htm. 20/07/2007.
21. *Zingiberenol*. <http://www.ntfkii.uni-lj.si/etolja/zingiberenol.htm> 30/11/2007.
22. *Literature survey*. <http://www.friedli.com/research/MSc/literature.html> 30/11/2007.
23. Alvares ME, Sousa AS, and Baquero F. *A Reevaluation of Nystatin in Prophylaxis and Treatment of Oropharyngeal Candidiasis*. http://www.seq.es/seq/html/revista_seq/0498/rev1.html 09/07/2007.