



Bioassay on *n*-Hexane Extract of Leaves *Cassia alata* against *Candida albicans*

Muhammad Bahi^a, Radilla Mutia^a, Mustanir^a, Endang Lukitaningsih^b

^aJurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala, Kampus Darussalam, Banda Aceh, 23111 Indonesia, ^bFakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta, 55281 Indonesia.

muhammad.bahi@fmipa.unsyiah.ac.id

Abstract. The study of biological activity from *n*-hexane extract of leaves' *Cassia alata* had been done against *Candida albicans* as bioindicator. Dried leaves of *C. alata* (850 g) were macerated into *n*-hexane to obtain a dark green crude extract (31.79 g). The *n*-hexane crude extract was then subjected to vacuum liquid chromatography (VLC) and eluted with *n*-hexane and ethyl acetate to give 4 sub-fractions, namely fraction A (7.7251 g), fraction B (1.9419 g), fraction C (1.3565 g) and fraction D (1.4737 g) respectively. Based on phytochemical analysis, both *n*-hexane crude extract and chromatographic sub-fractions contained steroids as their secondary metabolite constituent. The antifungal activity was tested against *C. albicans* using the agar-disc diffusion method with three different concentrations (10, 30 and 50%). Fraction D showed medium antifungal activity at 10.6, 11.3 and 12.6 of diameter-inhibition zones (mm) respectively.

Keywords: *Cassia alata*, *n*-hexane extract, *Candida albicans*, antifungal activity.

Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara yang kaya akan tumbuhan yang berkhasiat obat. Selain melakukan pengobatan secara medis, masyarakat juga masih banyak melakukan pengobatan secara tradisional. Masyarakat pada umumnya menggunakan obat-obatan tradisional disebabkan karena kemudahan dalam hal ekonomis yaitu dari segi harga maupun ketersediannya yaitu dari segi penyediaannya.

Masyarakat pada umumnya menggunakan bagian tumbuhan yang meliputi akar, kulit batang, daun, bunga atau bijinya sebagai ramuan obat-obatan [1]. Salah satu tumbuhan yang digunakan sebagai sumber obat tradisional adalah tumbuhan gelinggang (*Cassia alata*). Selama ini masyarakat memanfaatkan *C. alata* sebagai obat untuk penyakit infeksi kulit yang disebabkan oleh jamur, seperti kurap, panu, kutu air, sariawan dan lain-lain. Secara ilmiah, hal ini disebabkan karena adanya kandungan zat kimia yang terdapat di dalam tumbuhan tersebut yang bersifat antimikrobia [1].

Daun *C. alata* mengandung zat kimia asam krisofanat (dehidroksimetil-antraquinon) dan tannin, fenol, glikosida, alkaloida, saponin, flavonoid dan antraquinon yang diduga bersifat fungistatik [2]. Batang *C. alata* telah dilaporkan mengandung 1,5,7-trihidroksi-3-metil-antraquinon (alatinon) [3] dan juga mengandung aglikon bebas, kaempferol, β -sitosterol dan sennosida [4].

Secara etnobotani, tumbuhan *C. alata* memiliki khasiat obat untuk menyembuhkan penyakit yang disebabkan oleh jamur khususnya *Candida albicans*. Penyakit yang disebabkan oleh *C. albicans* disebut dengan *candidiasis*. *Candidiasis* merupakan penyakit infeksi pada kulit, mulut, kerongkongan, saluran pencernaan, vagina dan sistem pembuluh darah manusia [5]. Salah satu cara menanganinya adalah dengan membunuh atau menghambat pertumbuhan jamur yang menyebabkan penyakit ini.

Makinde *et al.* [6] melaporkan bahwa ekstrak metanol *C. alata* memiliki aktivitas yang sangat kuat terhadap bakteri *D. congolensis* dan *A. bovis* dan jamur *M. canis*, *B. dermatitidis*, *T. mentagrophytes*, *C. albicans* dan *A. flavus* yang

ditunjukkan oleh fraksi yang mengandung alkaloid. Meryend [7] melaporkan bahwa ekstrak daun gelinggang (*C. alata*) dengan konsentrasi 50% sebanding dengan ketokonazol 2% dalam menghambat pertumbuhan jamur *M. furfur* pada penyakit *Pityriasis versicolor* secara *in vitro*. Doughari [8] melaporkan bahwa ekstrak metanol dari daun dan akar *C. alata* memiliki aktivitas yang lebih tinggi sebagai anti jamur dibandingkan dengan ekstrak air. Owoyale *et al.* [9] juga melaporkan bahwa ekstrak metanol daun *C. alata* menunjukkan aktivitas anti jamur lebih tinggi dibandingkan ekstrak etanol dan petroleum eter.

Berdasarkan uraian di atas dan hasil penelitian yang telah dilaporkan bahwa ekstrak metanol *C. alata* mempunyai bioaktivitas terhadap *C. albicans*, namun ekstrak *n*-heksana sejauh ini belum pernah dilaporkan sebelumnya. Oleh karenanya, hal ini menarik untuk dilakukan penelitian uji aktivitas ekstrak *n*-heksana daun *C. alata* yang tumbuh di daerah Aceh terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans*. Selanjutnya, penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi baru mengenai aktivitas daya hambat ekstrak *n*-heksana dari daun *C. alata* yang tumbuh di daerah Aceh terhadap pertumbuhan jamur, khususnya pada jamur *C. albicans*.

Metodologi

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Jurusan Kimia FMIPA dan Laboratorium Mikrobiologi FKH, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh pada bulan Maret 2013 sampai dengan bulan Oktober 2013. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun muda *C. alata* yang diambil di daerah sekitar Aceh Besar pada Maret 2013. Sedangkan, bioindikator yang digunakan dalam penelitian ini adalah *C. albicans* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu *rotary evaporator*, inkubator, pipet mikro, cawan petri, autoklaf, dan beberapa peralatan gelas yang biasa digunakan di laboratorium dan peralatan Kolom Kromatografi Cair Vakum

(KCCV). Bahan yang digunakan adalah pelarut: *n*-heksana, etil asetat, reagen untuk uji fitokimia: HgCl₂, KI, Bi(NO₃)₃, HNO₃, NH₃, CHCl₃, H₂SO₄, CH₃OH, reagen Mayer, reagen Dragendorff, reagen Wagner, peraksi Liebermann-Burchard, HCl pekat, etanol 80%, logam Mg, media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), FeCl₃, *aquadest*, silika gel G₆₀ dan plat kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silika.

Uji Alkaloid

Sebanyak 5 gram sampel kering daun *C. alata* dihancurkan dan dibasahkan dengan amoniak. Selanjutnya ditambahkan 10 mL kloroform, digerus dan disaring. Filtrat yang dihasilkan ditambahkan asam klorida 5% sebanyak 10 mL, dikocok kuat-kuat dan didiamkan sampai asam klorida dan kloroform memisah. Lapisan asam klorida diambil dan dibagi dalam tiga tabung. Masing-masing tabung diuji dengan penambahan pereaksi Mayer, Dragendorff dan Wagner untuk mengetahui keberadaan alkaloid.

Penambahan dengan pereaksi Mayer akan menghasilkan endapan putih, penambahan reagen Dragendorff akan menghasilkan endapan kemerahan, dan dengan penambahan pereaksi Wagner akan menghasilkan adanya endapan coklat positif menunjukkan adanya alkaloid [10].

Uji Flavonoid

Daun *C. alata* sebanyak 5 g diekstraksi dengan metanol dan dipekatkan. Ekstrak metanol pekat diekstraksi lagi dengan *n*-heksana. Residu diekstraksi dengan 10 mL etanol 80% selanjutnya ditambah 0,5 mg logam Mg dan HCl 0,5 M. Warna merah muda atau ungu menunjukkan adanya flavonoid [10].

Uji Steroid, Terpenoid dan Saponin

Sebanyak 5 g daun *Cassia alata* digerus halus, kemudian diekstraksi dengan metanol panas dan disaring. Filtrat yang diperoleh dipekatkan sehingga diperoleh ekstrak metanol. Ekstrak metanol kemudian diekstraksi lagi dengan dietil eter. Fraksi yang tidak larut dalam dietil eter dikocok kuat-kuat. Adanya busa yang stabil selama 30 menit menunjukkan adanya saponin. Ekstrak dietil eter diuji dengan pereaksi

Liebermann-Burchard. Warna biru atau hijau menunjukkan adanya steroid dan warna merah menunjukkan adanya triterpenoid [10].

Ekstraksi dan Isolasi

Sampel daun *Cassia alata* kering (850 g) dimaserasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana selama 1 minggu. Kemudian, ekstrak *n*-heksana disaring dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak *n*-heksana pekat. Ekstrak *n*-heksana ini kemudian dibagi menjadi dua bagian, sebagian diuji aktivitas anti jamur terhadap jamur *C. albicans* dan sebagian lagi dilakukan uji fitokimia.

Selanjutnya, ekstrak *n*-heksana pekat tersebut dipisahkan komponen-komponennya dengan kromatografi kolom cair vakum (KKCV) yang menggunakan fasa diam silika gel G₆₀ dan dielusi dengan sistem eluen (fasa gerak) menggunakan pelarut campuran bertingkat dari *n*-heksana dan etil asetat (*gradient elution*). Fraksi hasil KKCV dikumpulkan setiap 200 mL dan setiap fraksi dimonitor pada plat KLT dengan fase diam silika dan dielusi menggunakan perbandingan sistem eluen *n*-heksana-etil asetat (8,5:1,5). Fraksi yang mempunyai pola noda (*R_f*) yang sama digabung dan dipekatkan sehingga diperoleh sub-fraksi gabungan.

Uji Hayati Anti Jamur

Pembuatan konsentrasi larutan uji

Ekstrak pekat dan fraksi yang diperoleh ditimbang sebanyak 1 g, dilarutkan dengan *n*-heksana sebanyak 2 mL, untuk memperoleh larutan uji 50% (b/v). Selanjutnya, larutan uji 50% tersebut diencerkan lagi untuk memperoleh larutan dengan konsentrasi uji masing-masing 10 dan 30%.

Uji aktivitas anti jamur

Pengujian anti jamur dilakukan dengan menggunakan cakram. Media yang digunakan adalah media SDA (*sabouraud dextrose agar*) dengan komposisinya pepton, dekstrosa dan agar. Media yang digunakan dibuat dalam 2 tahap.

Pembuatan media SDA 1 adalah dengan cara melarutkan 65 g bubuk SDA ke dalam 1L

aquadest, kemudian dipanaskan. Selanjutnya disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan didinginkan sampai 45 °C. Media yang telah disterilkan dituang dalam cawan petri ± 10 mL secara aseptik dan dibiarkan padat (lapisan dasar). Media 2 digunakan untuk inokulasi jamur, dibuat dengan melarutkan SDA sebanyak 65 g dilarutkan dalam 1L *aquadest*, kemudian dipanaskan sampai semua larut. Media dibagi dalam beberapa erlenmeyer 50 mL dengan masing-masing volume 10 mL, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan selanjutnya didinginkan (pada suhu 45°C). Kemudian, pada media tersebut ditambahkan 1 mL suspensi bakteri dan dihomogenkan. Media 2 tersebut dituangkan ke atas media 1 (lapisan dasar), serta digoyangkan hingga merata dan dibiarkan membeku.

Uji anti jamur dilakukan dengan meletakkan cakram yang berisi larutan uji, kontrol positif (nistatin) dan kontrol negatif (*n*-heksana), diletakkan pada area yang berbeda dalam media tumbuh jamur. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan jamur diamati untuk setiap area. Bila zona hambatan belum tampak, dibiarkan 24 jam lagi. Diameter (ϕ) zona hambatnya diukur dengan penggaris dalam satuan milimeter (mm).

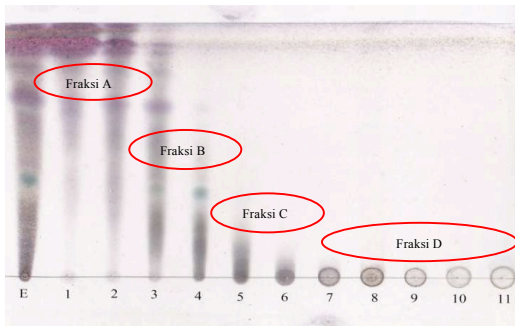
Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi dan Isolasi

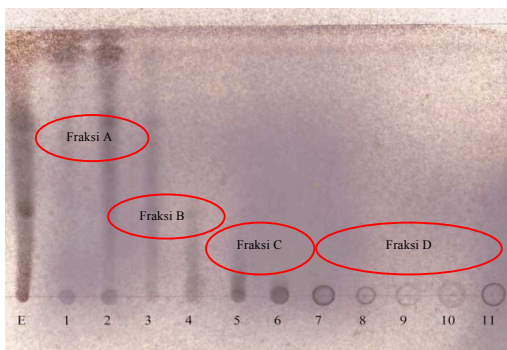
Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dan *n*-heksana digunakan sebagai pelarutnya. Daun *Cassia alata* dikeringanginkan terlebih dahulu, sehingga diperoleh daun kering sebanyak 850 g. Kemudian daun kering digerus dan dimaserasi menggunakan pelarut *n*-heksana selama 1 minggu. Teknik penggerusan dilakukan untuk memperluas permukaan, sehingga dapat mempermudah proses ekstraksi. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh ekstrak pekat berupa gel dan berwarna hijau tua (31,7 g) dengan rendemen 3,73%. Ekstrak *n*-heksana pekat diisolasi komponen-komponennya dengan metode kromatografi kolom cair vakum

(KCCV) menggunakan fasa diam silika gel G₆₀ dan fase geraknya berupa campuran *n*-heksana dengan etilasetat. Ekstrak yang digunakan untuk proses KCCV sebanyak 7 g. Silika gel yang digunakan sebanyak 100 g. Volume eluen yang digunakan adalah 200 mL. Rasio eluen yang digunakan dapat dilihat dilampiran 2. Proses isolasi dilakukan dua kali untuk mendapatkan fraksi yang cukup untuk sampel uji. Pada proses KCCV, elusi dilakukan dengan menggunakan fase gerak yang ditingkatkan polaritasnya (*gradient elution*), yaitu dari pelarut dengan polaritas paling rendah ke sistem pelarut yang paling tinggi polaritasnya.

Pemisahan senyawa pada KCCV didasarkan pada kelarutan senyawa yang dipisahkan dalam eluen yang digunakan. Hasil KCCV diperoleh 11 fraksi berdasarkan sistem pola nodanya yang ditunjukkan pada plat KLT dan dibandingkan dengan ekstrak kasarnya sebagai referensinya. Untuk melihat pola noda digunakan plat KLT yang dielusi dengan eluen *n*-heksana : etilasetat (85:15). Hasil KLT dari KCCV pertama dan kedua ditunjukkan pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Kromatogram ekstrak *n*-heksana dari daun *C. alata* dari hasil KCCV pertama



Gambar 2. Kromatogram ekstrak *n*-heksana dari daun *C. alata* dari hasil KCCV kedua

Fraksi yang mempunyai pola noda yang sama digabungkan sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 1-2 di atas. Berdasarkan Gambar 1 dan Gambar 2, diperoleh beberapa gabungan fraksi untuk KCCV pertama yaitu fraksi A (1-2), fraksi B (3-4), fraksi C (5-6) dan fraksi D (7-11).

Fraksi KCCV kedua adalah fraksi A (1-2), fraksi B (3-4), fraksi C (5-6), fraksi D (7-11). Hasil gabungan fraksi dari KCCV pertama digabungkan kembali dengan hasil gabungan fraksi KCCV kedua. Hasil gabungan fraksi dipekatkan sehingga diperoleh masing-masing rendemennya yaitu dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen fraksi gabungan

No	Jenis fraksi	Jumlah (g)	Yield Rendemen %
1	Fraksi A	6,7251	81,78%
2	Fraksi B	1,9419	27,74%
3	Fraksi C	1,3565	19,38%
4	Fraksi D	1,4737	21,05%

Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dalam tumbuhan. Metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak *n*-heksana daun *C. alata* dianalisis golongan senyawanya dengan uji warna menggunakan beberapa pereaksi untuk golongan senyawa alkaloid, terpenoid, steroid, saponin dan flavonoid. Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak dan daun segar tersebut dapat dilihat pada Tabel 2, sedangkan hasil uji fitokimia terhadap masing-masing subfraksi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak *n*-heksana dan daun *C. alata* segar

Metabolit Sekunder	Ekstrak Kasar	Daun segar	Pengamatan
Alkaloid:			
Wagner	-	+	Endapan coklat Endapan merah Endapan putih
Dragendroff	-	+	
Meyer	-	+	
Terpenoid	-	-	Warna merah
Steroid	+	+	Warna hijau
Saponin	-	-	Busa stabil ± 30 menit
Flavonoid	-	-	Warna Merah muda

Ket : (+) menunjukkan hasil positif adanya metabolit sekunder, dan (-) menunjukkan hasil negatif adanya metabolit sekunder.

Tabel 3. Hasil uji fitokimia terhadap masing-masing subfraksi

Metabolit Sekunder	Fraksi A	Fraksi B	Fraksi C	Fraksi D
Terpenoid	-	-	-	-
Steroid	+	+	+	+
Saponin	-	-	-	-
Flavonoid	-	-	-	-

Ket: (+) menunjukkan hasil positif adanya metabolit sekunder, dan (-) menunjukkan hasil negatif adanya metabolit sekunder.

Berdasarkan hasil uji fitokimia pada Tabel 3, ekstrak kasar dari daun *C. alata* mengandung beberapa metabolit sekunder yaitu golongan alkaloid, flavonoid, saponin dan steroid. Ekstrak *n*-heksana dan fraksinya hanya mengandung senyawa golongan steroid. Hal ini disebabkan karena *n*-heksana merupakan pelarut non polar, jadi senyawa yang tertarik oleh pelarut *n*-heksana adalah senyawa yang non polar yaitu senyawa golongan steroid. Steroid dapat berfungsi sebagai anti jamur karena sifat lipofilik yang dimiliki oleh steroid dapat menghambat perkecambahan spora dan perbanyak miselium pada jamur [11].

Hasil uji aktifitas anti jamur ekstrak *n*-heksana dari daun *Cassia alata* terhadap *Candida albicans*

Uji aktivitas anti jamur ekstrak *n*-heksana kasar dan fraksi-fraksinya dilakukan untuk melihat daya hambat terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans* dengan metode difusi agar. Media yang digunakan untuk menumbuhkan *C. albicans* adalah media *sabouraud dextrose agar* (SDA). Pengujian bioaktivitasnya dari masing-masing ekstrak kasar dan fraksi-fraksi kromatografi kolom dilakukan dengan menggunakan tiga variasi konsentrasi yaitu 10, 30 dan 50% sebanyak tiga kali pengulangan. Hasil uji bioaktivitasnya dapat dilihat pada Tabel 4.

Berdasarkan data hasil uji aktivitas anti-jamur sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 4, fraksi yang memiliki aktivitas anti jamur terhadap pertumbuhan *C. albicans* yaitu fraksi D. Hal ini dibuktikan dengan adanya zona hambat (zona bening) dengan diameter 10,6; 11,3 dan 12,6 mm pada konsentrasi 10, 30 dan 50%. Semakin tinggi konsentrasi larutan uji yang

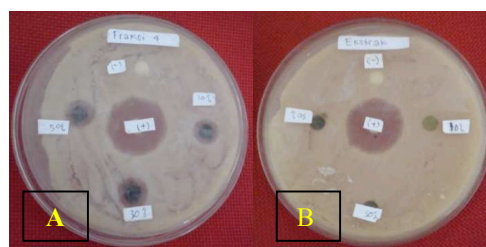
mengandung senyawa bioaktif, maka semakin besar zona hambat yang dihasilkan.

Tabel 4. Hasil uji bioaktivitas anti jamur ekstrak *n*-heksana dari daun *C. alata* terhadap *C. Albicans*

No	Sampel	Zona hambat terhadap <i>C. albicans</i> (mm)				
		10%	30%	50%	P	N
1	Ekstrak kasar <i>n</i> -heksana	-	-	-	-	-
2	Fraksi A	-	-	-	-	-
3	Fraksi B	-	-	-	-	-
4	Fraksi C	-	-	-	-	-
5	Fraksi D	10,6	11,3	12,6	25,6	-

Ket : P = Kontrol positif (nistatin), N : Kontrol negatif (*n*-heksana), Diameter (ϕ) cakram : 6 mm

Ekstrak kasar *n*-heksana daun *C. alata* dan fraksi-fraksi lainnya tidak memiliki aktivitas anti jamur. Aktivitas zona hambat untuk ekstrak kasar *n*-heksana dari daun *C. alata* dan fraksi D ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. [A]. Aktivitas zona hambat dari ekstrak *n*-heksana kasar. [B]. Aktivitas zona hambat dari fraksi D.

Perbedaan daya hambat antar larutan uji terhadap pertumbuhan *C. albicans* dipengaruhi oleh jenis dan kadar senyawa kimia yang terkandung dalam masing-masing ekstrak. Aktivitas antimikroba pada tanaman berhubungan dengan adanya beberapa kelompok senyawa kimia seperti alkaloid, fenol, flavonoid, karbohidrat, saponin, steroid dan tannin [9].

Pada uji bioaktivitas anti jamur, kontrol positif yang digunakan yaitu nistatin dan kontrol negatifnya yaitu *n*-heksana. Penggunaan nistatin bertujuan sebagai pembanding terhadap daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Apabila zona hambat yang dihasilkan ekstrak lebih besar dari zona hambat yang dihasilkan oleh nistatin, maka ekstrak dapat

dikembangkan lebih lanjut sebagai zat anti jamur. Apabila zona hambat yang diperoleh ekstrak lebih kecil dari nistatin, maka perlu ditinjau lebih lanjut tentang penggunaan daun *C. alata*.

Penggunaan kontrol negatif berdasarkan pada pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi. Kontrol negatif berfungsi untuk melihat apakah zona hambat yang dihasilkan ekstrak dipengaruhi oleh n-heksana atau dari senyawa tumbuhan itu sendiri. Pada penelitian ini, aktivitas fraksi yang aktif sebagai anti jamur dipengaruhi oleh kandungan senyawa dalam tumbuhan itu sendiri.

Berdasarkan hasil uji fitokimia, ekstrak kasar n-heksana daun *C. alata* dan fraksi-fraksinya mengandung metabolit sekunder dari golongan steroid. Ekstrak yang memiliki aktivitas anti jamur adalah fraksi D. Diduga bahwa senyawa yang terkandung dalam ekstrak n-heksana daun *C. alata* yang dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* adalah senyawa steroid.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa subfraksi D dari ekstrak n-heksana daun *C. alata* menunjukkan aktivitas anti jamur terhadap *C. albicans* pada konsentrasi 10, 30 dan 50% dengan diameter zona hambatnya yaitu masing-masing 10,6, 11,3 dan 12,6 mm.

Daftar Pustaka

1. A.N.S. Thomas, 1992, *Tanaman Obat Tradisional 2*. Kanisius, Yogyakarta.
2. S. Syamsuhidayat dan J. Ria, 1991, *Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta.
3. Hemlata, and S.B. Kalidhar, 1993, Alatinone, an Anthraquinone from *Cassia alata*. *Phytochemistry*. **32**, 1616–1617.
4. A.A. Elujoba, O. O. Ajulo, and G. O. Iwebo, 1989, Chemical and Biological Analysis of Nigerian Cassia Species for Laxative Activity, *J. Pharmaceuticals and Biomedical Analysis*. **7**, 1453-1457.

5. A.R. Calderone, and A.F. William, 2001, Virulence Factors of *Candida albicans*. *Trends in Microbiology*. **9**, 327–335.
6. A.A. Makinde, J.O. Igoli, L. Ta'ama, S.J. Shaibu, and A. Garba, 2007, Antimicrobial Activity of *Cassia alata*. *African Journal of Biotechnology*. **6**, 1509-1510.
7. P.G. Meryend, 2011, Perbandingan Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*C. alata*) dengan Ketokonazol 2% dalam Menghambat Pertumbuhan *Malassezia furor* pada *Pityriasis versicolor* secara *In vitro*, Artikel Penelitian Karya Tulis Ilmiah, Universitas Diponegoro, Semarang.
8. J.H. Doughari and B. Okafor, 2007, Antimicrobial Activity of *Senna alata* Linn. *East Cent. Afr. J. Pharm. Sci.* **10**: 17-21.
9. J.A. Owoyale, G.A. Olatunji, and S.O. Oguntoye, 2005, Antifungal and Antibacterial Activities of an Alcoholic Extract of *Senna alata* Leaves. *J. Appl. Sci. Environ. Mgt.* **9**, 105-107.
10. J.B. Harborne, 1987, Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Terjemahan dari *Phytochemical Methods*, Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro (ed.), Penerbit ITB, Bandung.
11. S. Subhisha, and A. Subramoniam, 2005, Antifungal Activities of a Steroid from *Pallavicinia lyellii*, a Liverwort. Tropical Botanic Garden and Research Institute, India.