

Test of Activity of Antagonism of Ethyl *p*-methoxy cinnamate (*Kaempferia galanga* Linn.) on H₁ Histamin Receptors : *In Silico* and *In Vitro* Studies on Isolated *Guinea Pig* Trachea Smooth Muscle

Solikhatiningsih¹, Puguh Novi Arsito²

**1) Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan,
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta**

**2) Dosen Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu
Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta**

Abstract

The main compound found in galangal rhizome (*Kaempferia galanga* Linn.) Is Ethyl *p*-methoxy cinnamon (EPMS). EPMS can inhibit histamine release from mast cells by blocking IgE mediated signaling pathways. EPMS is thought to have antagonistic action against histamine receptors. The purpose of this study was to determine the effect on H1 receptors.

Galangal rizome was extracted by maceration method using 96% ethanol solvent. The EPMS crystal which was identified using TLC, and GC-MS. In vitro tests were carried out on bath organs using isolated guinea pigs. EPMS is administered at levels of 100 µM and 200 µM. Known types of antagonisms of EPMS and EPMS levels can be given. In silico test of EPMS compounds against H1 receptors using AutoDock software.

The results showed that the galangal rhizome contained EPMS based on TLC and GC-MS test results. Then EPMS was able to inhibit the tracheal contraction of guinea pigs induced by histamine agonists. The pD₂ value at the H1 receptor has a significant difference at a dose of 200 µM (p <0.05) with the type of non-competitive antagonist seen from the shape of the contraction response curve that does not reach 100% E_{max}. The dose that can be given to inhibit tracheal smooth muscle contraction is 100 µM. The in silico test showed that the EPMS was able to bind to the H1 receptor (docking score: -3.90). EPMS binds to the amino acid Valine 187, which is an amino acid that binds with diphenhydramin. The conclusion of this study is the galangal rhizome contains EPMS and has activity as a non-competitive antagonist against H1 receptors.

Keywords : Ethyl *p*-methoxy cinnamate, isolated trachea's marmot, in vitro in silico, H1 receptor, *Kaempferia galanga* Linn.

**UJI AKTIVITAS ANTAGONISME ISOLAT ETIL *P*-METOKSI SINAMAT
KENCUR (*Kaempferia galanga* Linn.) TERHADAP RESEPTOR H₁ PADA
OTOT POLOS ORGAN TRAKEA *Cavia porcellus* TERISOLASI SECARA
IN-VITRO DAN *IN-SILICO***

Intisari

Senyawa utama yang terdapat dalam kencur (*Kaempferia galanga* Linn.) adalah Etil *p*-metoksi sinamat (EPMS). EPMS dapat menghambat pelepasan histamin dari sel mast dengan cara menghambat jalur signal yang diperantarai oleh IgE. EPMS diduga memiliki aksi antagonisme terhadap reseptor histamin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh antagonisme EPMS terhadap reseptor H₁.

Simplisia rimpang kencur diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Kristal EPMS yang dilakukan identifikasi menggunakan KLT, dan GC-MS. Uji *in vitro* dilakukan pada organ bath dengan menggunakan marmut terisolasi. EPMS diberikan dengan kadar 100 µM dan 200 µM. Diketahui tipe antagonisme dari EPMS dan kadar EPMS yang dapat diberikan. Uji *in silico* senyawa EPMS terhadap reseptor H₁ menggunakan perangkat lunak *AutoDock*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rimpang kencur mengandung EPMS berdasarkan pada hasil uji KLT dan GC-MS. Kemudian EPMS mampu menghambat kontraksi trakea marmut yang diinduksi agonis histamin. Nilai pD₂ pada reseptor H₁ memiliki perbedaan secara signifikan pada dosis 200 µM ($p < 0,05$) dengan tipe antagonis non-kompetitif dilihat dari bentuk kurva respon kontraksi yang tidak mencapai Emaks 100%. Dosis yang dapat diberikan untuk menghambat kontraksi otot polos trakea adalah sebesar 100 µM. Pada uji *in silico* menunjukkan bahwa EPMS mampu berikatan dengan reseptor H₁ (skor docking : -3,90). EPMS berikatan pada asam amino *Valine* 187 yang merupakan salah satu asam amino yang berikatan juga dengan difenhidramin. Kesimpulan dari penelitian ini adalah rimpang kencur mengandung EPMS dan memiliki aktivitas sebagai antagonis non-kompetitif terhadap reseptor H₁.

Kata kunci : Etil *p*-metoksi sinamat, trakea marmut terisolasi, *in vitro in silico*, reseptor H₁, *Kaempferia galanga* Linn.

1. Pendahuluan

Tanaman herbal yang memiliki khasiat obat yang hidup didaerah tropis dan subtropis salah satunya adalah kencur. Pemanfaatan kencur baik pada kalangan industri maupun rumah tangga bukan hanya digunakan sebagai obat namun juga bisa sebagai makanan dan minuman yang kaya akan khasiat bagi kesehatan. Pada negara berkembang seperti Indonesia penggunaan bahan baku herbal kini lebih sering digunakan karena memiliki harga yang lebih murah serta banyak tumbuh didaerah tropis sediaan herbal juga pada dasarnya dianggap lebih aman, lebih efektif, dan memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan dengan bahan kimia pada sediaan obat (Soleh, 2019).

Kencur (*Kaempferia galanga* Linn.) secara turun temurun digunakan sebagai penambah nafsu makan, obat disentri, obat batuk, gatal-gatal pada tenggorokan, pegal-pegal, masuk angin, sakit perut dan pengompres radang (Miranti, 2009). Menurut Sulaiman (2008) EPMS dimanfaatkan dalam bidang farmasi sebagai obat anti asma. Asma terjadi karena penyempitan saluran nafas dikarenakan terjadinya inflamasi pada dinding bronkus yang diperantarai oleh sel *mast* (Sakinah, 2014). Sel *mast* memiliki peran dalam reaksi alergi dengan mengeluarkan mediator histamin (Merijanti, 1999). Penelitian sebelumnya terkait isolat etil *p*-metoksi sinamat dari kencur yaitu diteliti sebagai obat penenang (sedatif hipnotik) (Nurmeilis, 2016). Aktivitas antibakteri dari isolat kencur juga pernah diteliti (Fareza, *et al.*, 2017). Ekstrak rimpang kencur juga diteliti sebagai penghambat pertumbuhan *Candida albicans* (Rahmi *et al.*, 2016).

Bahan aktif dari kencur antara lain mengandung pati (4,14%), mineral (13,73%), minyak atsiri (0,02%) berupa sineol, dan penta dekaan, etil ester, asam sinamik, borneol, kamfer, alkaloid, dan gom. Isolat dari rimpang kencur yaitu etil *p*-metoksi sinamat yang merupakan golongan fenol diketahui digunakan sebagai antijamur, minyak atsiri yang terkandung dalam kencur mampu menghambat pertumbuhan *Tricophyton rubrum* dengan menggunakan metode difusi agar (Lely, 2017). Dalam suatu penelitian EPMS juga disebutkan aktifitasnya sebagai antibakteri (Fareza, *et al.*, 2017). Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Hasanah (2011) menyatakan bahwa ekstrak kencur yang diberikan pada hewan uji dengan metode radang akut yang diinduksi dengan karagenan memiliki aktivitas sebagai anti inflamasi.

Gejala alergi dapat disebabkan karena kontraksi otot polos trakea yang mengakibatkan penyempitan saluran pernafasan. Histamin sangat berperan dalam kontraksi otot polos saluran pernafasan. Aktivasi reseptor histamin H1 oleh histamin dapat menginduksi penyumbatan saluran pernafasan (Taylor-Clark, *et al.* 2005). Percobaan pada hewan merupakan uji praklinik yang hingga saat ini merupakan persyaratan sebelum obat di uji klinik pada manusia (Sukandar, 2014).

2. Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan kelompok uji dibagi menjadi 3 yaitu, kelompok uji agonis, uji antagonisme histamin menggunakan EPMS dan uji pembanding dengan difenhidramin. Subjek penelitian menggunakan 7 ekor marmut jantan dengan berat 400-500 gram. Dengan variabel bebas konsentrasi dari agonis histamin, konsentrasi EPMS, dan konsentrasi difenhidramin. Kontraksi otot polos trakea marmot sebagai variabel tergantung

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini set *organ bath*, *rotary evaporator*, plat KLT silica gel 60 GF₂₅₄, mikropipet, labu takar, cawan porselen, satu set alat preparasi organ, komputer yang terinstal *software AutoDock Vina* dan *LabScribe2*.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia kencur, etanol 96%, n-heksan, aquades, etil asetat, dan toluene, standard EPMS, difenhidramin, agonis histamin.

Isolasi etil p-metoksi sinamat dari kencur

Serbuk rimpang kencur sebanyak 400 g di maserasi menggunakan pelarut etanol 96% yang telah dimaserasi dengan waktu perendaman 6 hari sambil sesekali dilakukan pengadukan setiap harinya. Seluruh filtrat hasil maserasi dipekatkan dengan *vacum evaporator*. Kemudian filtrat pekat diendapkan pada suhu kamar sampai terbentuk kristal. Kristal yang terbentuk pada filtrat disaring kemudian dimurnikan dengan pencucian menggunakan n-heksan dan dilakukan rekristalisasi dengan cara melarutkan kristal dalam n-heksan kemudian dibiarkan pada suhu kamar sehingga terbentuk kristal kembali.

Tingkat kemurnian dari kristal EPMS diuji dengan kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam plat silica gel 60 GF₂₅₄ dengan fase gerak toluene:etil asetat (19:1). Spot kromatogram diamati dibawah sinar UV 254 nm kemudian spot kromatogram dibandingkan dengan standar EPMS. GC-MS juga dilakukan untuk

melihat kemurnian EPMS, dengan pelarut metanol dan diamati peak GC dan fragmentasi pada MS

Uji In Vitro

Aktivitas EPMS sebagai antagonisme reseptor histamin H₁ dianalisis dengan cara mengobservasi perubahan dan pergantian pada kurva kontraksi otot polos trakea. Kontraksi otot polos trakea diinduksi dengan konsentrasi kumulatif dari agonis histamin dengan seri konsentrasi 2×10^{-8} hingga 2×10^{-2} M. Organ bath diisi dengan larutan *buffer krebs* sebanyak 20 mL kemudian organ trakea ditempatkan dalam *chamber* hingga tercapai kondisi stabil dari organ selama 30 menit dengan cara dilakukan pencucian menggunakan *buffer krebs*. Kemudian, diinduksi agonis histamin konsentrasi 2×10^{-2} M sebanyak 200 μ L sebagai pengenalan terhadap *organ bath* dan respon kontraksi tercatat. Setelah kontraksi mencapai kondisi datar dilakukan pencucian organ menggunakan *buffer krebs* tiap 5 menit selama 30 menit. Setelah itu seri agonis histamin 2×10^{-8} hingga 2×10^{-2} M ditambahkan ke dalam *organ bath* untuk mendapatkan kontraksi maksimal. Dilakukan pencucian kembali dengan *buffer krebs* tiap 5 menit selama 30 menit. Setelah dicuci, diberikan EPMS konsentrasi 2×10^{-2} M sebanyak 100 dan 200 μ L kemudian diinduksikan seri agonis histamin 2×10^{-8} hingga 2×10^{-2} M. Respon kontraksi yang tercatat antara sebelum dan setelah pemberian EPMS akan dibandingkan keduanya.

Analisis data in vitro

Data kontraksi atau relaksasi otot polos trakea pada rekorder merupakan data yang diperoleh dalam penelitian *in vitro*. Data tersebut diubah ke data persentase (%) respon terhadap respon maksimum yang dicapai oleh agonis. Kemudian data % respon dibuat kurva hubungan antara logaritma konsentrasi agonis terhadap % respon. Nilai EC₅₀ (konsentrasi agonis yang dapat menghasilkan respon sebesar 50% dari respon maksimum) agonis reseptor, dengan atau tanpa pengaruh senyawa etil *p*-metoksi sinamat dihitung berdasarkan kurva hubungan konsentrasi terhadap % respon. EC₅₀ dihitung menggunakan (persamaan 1) Nilai EC₅₀ selanjutnya diubah ke dalam bentuk pD₂, di mana pD₂ adalah nilai dari $-\text{Log. EC}_{50}$

(persamaan 2) kemudian data disajikan dalam bentuk tabel kelompok perlakuan agonis (dengan atau tanpa pengaruh senyawa etil *p*-metoksi sinamat) dan nilai rata-rata pD2 agonis \pm *Standard Error* (pD2 \pm SE).

$$\text{Log EC50} = [50 - Y1Y2 - Y1 \times (X2 - X1)] + X1 \dots\dots\dots(1)$$

Pergeseran nilai pD2 dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji t berpasangan.

Keterangan :

X1 : Log. Konsentrasi dengan respon tepat dibawah 50%

X2 : Log. Konsentrasi dengan respon tepat diatas 50%

Y1 : % respon tepat dibawah 50%

Y2 : % respon tepat diatas 50%

$$\text{pD2} = -\text{Log. EC50} \dots\dots\dots(2)$$

Senyawa etil *p*-metoksi sinamat ditetapkan sebagai antagonis reseptor H1 apabila inkubasi otot polos trakea marmut terisolasi dengan senyawa etil *p*-metoksisinamat mengakibatkan penurunan nilai pD2 histamin.

Tipe antagonis ditentukan berdasarkan nilai *slope* yang dihasilkan oleh persamaan Schild-Plot. Jika nilai *slope* mendekati satu, maka tipe antagonis

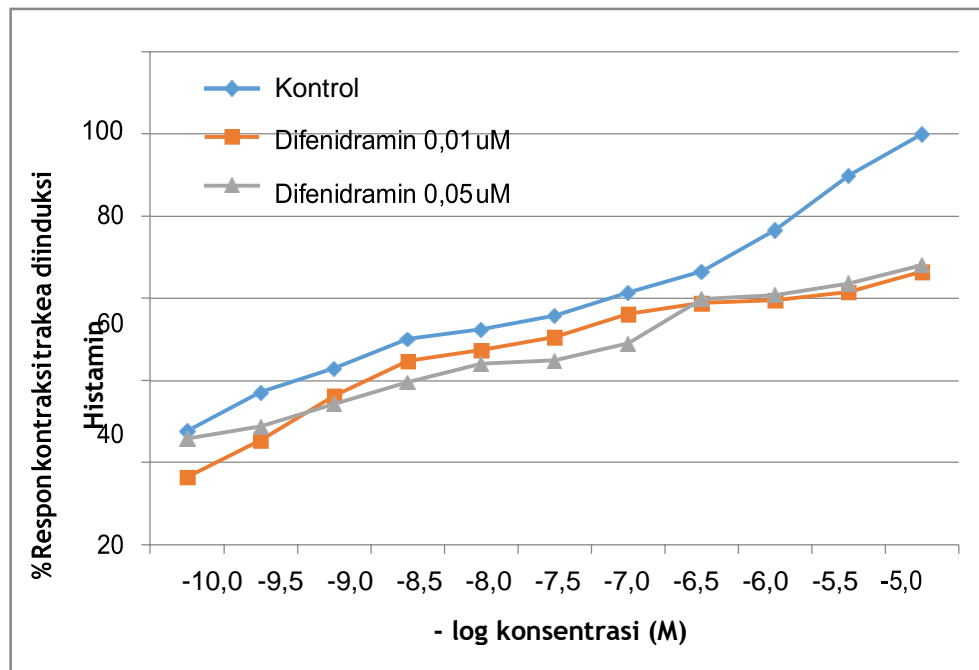
senyawa etil *p*-metoksi sinamat adalah sebagai antagonis non kompetitif. Harga pA2 (afinitas senyawa etil *p*-metoksi sinamat sebagai antagonis reseptor) adalah nilai intersep dari persamaan Schild-Plot yang terbentuk (Jankovic, *et al.*, 1999).

Studi in silico

Penyiapan protein dengan mengunduh berkas protein di www.rcsb.org dengan kode reseptor histamin 3RZE. Preparasi protein menggunakan DS Visualizer untuk mendapatkan ligand.pdb dan reseptor.pdb. Kemudian dilakukan perubahan format dari PDB ke PDBQT untuk memudahkan simulasi docking protein. Simulasi docking menggunakan aplikasi AutoDock Vina, senyawa yang akan di docking dengan protein yaitu EPMS, 5EH (doksepin, sebagai native ligand), dan difenhidramin sebagai pembanding. Setelah proses docking selesai, terdapat 9

konformasi yang berikatan dengan reseptor histamin dengan energi yang berbeda. Sebagai evaluasi dan interpretasi dari docking, konformasi dengan energi terkecil yang terpilih sebagai ikatan yang terjadi antara ligand atau obat dengan reseptor.

3. Hasil dan Pembahasan



Gambar 1. Kurva hubungan logaritma konsentrasi histamin terhadap % respon kontraksi otot polos trakea marmut terisolasi, dengan pra perlakuan difenhidramin 0,01 dan 0,05 μM . Persentase respon kontraksi 100 % diukur berdasarkan kontraksi maksimal yang dicapai oleh seri konsentrasi histamin (kontrol). Persentase respon disajikan dalam bentuk rata-rata \pm SEM ($n = 5 - 10$)

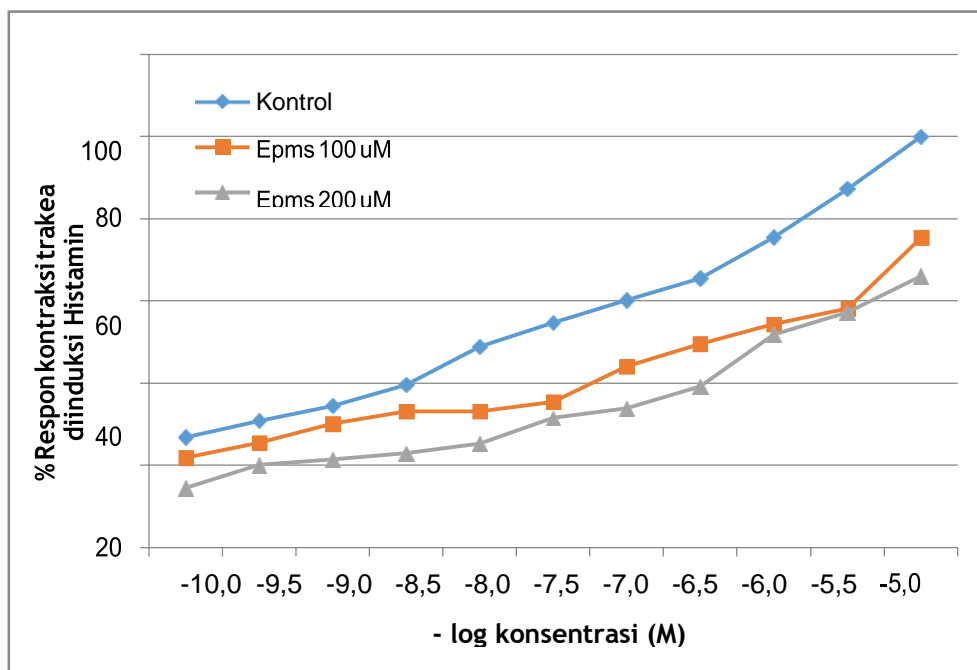
Berdasarkan kurva tersebut dapat dihitung nilai EC50. Nilai EC50 adalah konsentrasi dari agonis yang dapat memberikan respon kontraksi 50%. Nilai EC50 selanjutnya diubah menjadi nilai pD2 yang diperoleh dari $-\text{Log EC50}$

Tabel 1. Pergeseran nilai pD2 karena pengaruh perlakuan difenhidramin 0.01 μM dan 0.05 μM

No.	Kelompok perlakuan	pD2	Emaks (%)
1	Kontrol Histamin	$8,41 \pm 0,37$	$100 \pm 0,00$
2	Difenhidramin 0,01 μM	$6,84 \pm 0,61$	$66,57 \pm 9,32$
3	Difenhidramin 0,05 μM	$6,83 \pm 0,34$	$68,16 \pm 6,08$

Keterangan : Rata-rata \pm SEM ($n = 5 - 10$) menunjukkan nilai pD2. Hasil statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan secara signifikan ($p > 0,05$) terhadap nilai pD2 kontrol histamin setelah di uji dengan Uji One-Way Anova dilanjutkan dengan uji LSD dengan tingkat kepercayaan 95%.

Hasil perlakuan uji difenhidramin dosis 0,1 dan 0,5 μM menunjukkan adanya efek relaksasi terhadap otot polos trakea marmut, ditandai dengan pergeseran kurva pD2 ke bawah. Pergeseran kurva pD2 kebawah menunjukkan adanya penurunan respon kontraksi yang dipicu dengan pemberian difenhidramin dosis 0,01 dan 0,05 μM , hal tersebut ditandai dengan menurunnya nilai pD2. Nilai rata-rata pD2 berturut-turut yang dihasilkan adalah 8,41, 6,84, dan 6,83. Penurunan pD2 difenhidramin tidak bermakna secara statistik dimana $p > 0.05$. Difenhidramin merupakan antagonis non kompetitif berdasarkan nilai slope yang dihasilkan yaitu sebesar 0,0147x. Antagonis non kompetitif ditandai dengan hambatan efek agonis tidak bisa ditangani dengan meningkatkan kadar agonis mengakibatkan efeknya tidak maksimal ditandai dengan nilai EC_{50} tidak kembali 100% (Ikawati, 2012).



Gambar 2. Kurva hubungan logaritma konsentrasi histamin (Molar) terhadap % respon kontraksi otot polos trakea terisolasi, untuk yang dengan pemberian EPMS konsentrasi 100 dan 200 μM ataupun yang tanpa pemberian. Persentase respon kontraksi 100 % diukur berdasarkan kontraksi maksimal yang dicapai oleh seri konsentrasi histamin (kontrol).

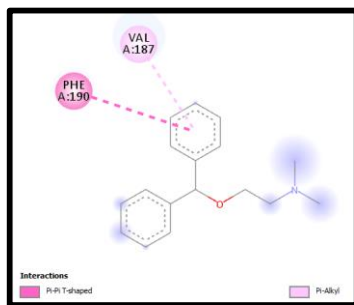
Tabel 2. Nilai pD2 histamin setelah perlakuan EPMS 100 dan 200 μM

No.	Kelompok perlakuan	pD2	Emaks (%)
1	Kontrol Histamin	$7,76 \pm 0,30$	$100 \pm 0,00$
2	EPMS 100 μM	$6,19 \pm 0,28$	$75,44 \pm 7,37$
3	EPMS 200 μM	$5,97 \pm 0,24$	$66,05 \pm 8,75$

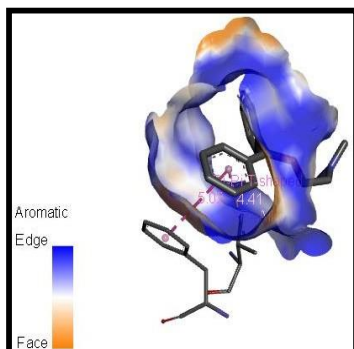
Keterangan : Rata-rata \pm SEM (n = 5 - 10) menunjukkan nilai pD2. Hasil statistik menunjukkan adanya perbedaan secara signifikan ($p < 0,05$) terhadap nilai pD2

kontrol histamin setelah di uji dengan Uji One-Way Anova dilanjutkan dengan uji LSD dengan tingkat kepercayaan 95%.

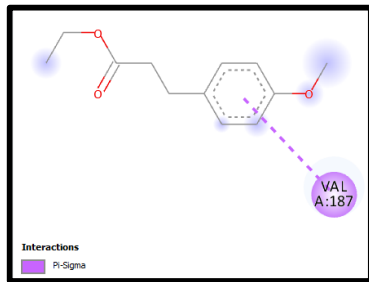
Terjadi efek relaksasi otot polos trakea yang diinduksi oleh seri histamin akibat perlakuan EPMS dosis 100 dan 200 μM . Efek relaksasi ditunjukkan dengan pergeseran kurva grafik bergeser ke bawah dan ditandai dengan menurunnya nilai pD₂. Penurunan kurva mengindikasikan adanya penurunan kemampuan histamin dalam mengkontraksi ileum marmut akibat pemberian EPMS dosis 100 dan 200 μM , hal tersebut ditandai dengan penurunan nilai pD₂. Nilai rata-rata pD₂ secara berturut-turut 7,76, 6,129, dan 5,97. Penurunan pD₂ memiliki perbedaan yang bermakna secara statistik yaitu $p < 0,05$. Pada perlakuan dosis 100 dan 200 μM tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan, sehingga pada penggunaan dosis 100 μM sudah memberikan efek relaksasi pada kontraksi otot polos ileum. EPMS merupakan antagonis kompetitif dimana hal tersebut ditunjukkan dengan nilai slope pada metode Schild-Plot yang mendekati satu yaitu 0,7466x.



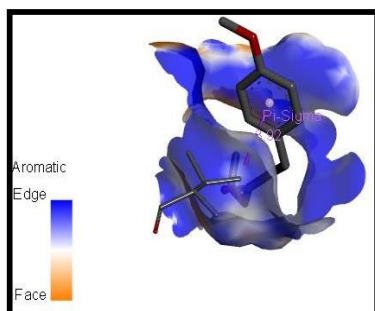
(a) Hasil Visualisasi 2D Difenhidramin terhadap reseptor H1. Menunjukkan asam amino protein berikatan dengan ligand dan jenis ikatan yang terjadi



(b) hasil visualisasi 3D dari difenhidramin



(c) Hasil Visualisasi 2D EPMS terhadap reseptor H1. Menunjukkan asam amino protein berikatan dengan ligand dan jenis ikatan yang terjadi



(d) hasil visualisasi 3D dari EPMS

Molecular docking digunakan untuk mengevaluasi kekuatan ikatan antara EPMS dengan reseptor histamin sebagai antagonis dilakukan dengan menggunakan software AutoDockVina dan DSVisualizer. Berdasarkan langkah validasi, nilai RMSD yang diperoleh 1.852 Å ($< 2,000$ Å) dengan nilai afinitas -3,9 (Tabel 3). Berdasarkan hasil tersebut, protokol docking pada reseptor histamin telah valid dan dapat dilakukan penambahan pada ligan atau molekul lainnya.

Berdasarkan energi ikatan atau afinitas, energi ikatan antara reseptor histamin dengan EPMS memiliki energi ikatan yang lebih lemah dibanding dengan ligan asli maupun dengan difenhidramin sebagai pembandingnya yaitu -4,9.

Tabel 3. Nilai energi ikatan dan interaksi ligan dengan residu protein

Ligand	Energi ikatan (kkl/mol)	Residu protein
Doksepin (5EH) sebagai ligan asli	-4,6	<i>Phenylalanine 432</i> <i>Tryptophan 428</i> <i>Serine 111</i> <i>Tyrosine 108</i> <i>Phenylalanine 435</i> <i>Tyrosine 431</i> <i>Aspartic acid 107</i> <i>Tyrosine 458</i>

Difenhidramin	-4,9	Valine 187 Phenylalanine 190
EPMS	-3,9	Valine 187

Hasil uji in silico tersebut difenhidramin dan EPMS pada uji in vitro sebelumnya terbukti sebagai antagonis non-kompetitif, berikatan pada sisi protein Val 187 dan Phe 190 untuk difenidramin dan Val 187 untuk EPMS yang artinya dari kedua senyawa tersebut asam amino Val 187 yang dimiliki oleh kedua senyawa dapat menghambat reseptor H₁. Maka uji insilico tersebut telah membuktikan bahwa EPMS memiliki sifat antagonis histamin untuk menghambat kontraksi otot polos reseptor H₁. EPMS sebagai antagonis kompetitif reseptor H₁ perlu diteliti lebih lanjut bagaimana mekanismenya dalam mengurangi potensi histamin sehingga menghasilkan respon kontraksi pada otot polos.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa EPMS memiliki aktivitas antagonisme terhadap reseptor histamine H₁. Hasil uji in silico, EPMS berikatan dengan reseptor histamin pada asma amino valine 187 sama seperti aktivitas pada difenidramin, namun ikatan yang terjadi antara EPMS dengan reseptor histamin lebih rendah dibanding native ligand dan difenhidramin dengan reseptor histamin.

Daftar pustaka

- Fareza, M.S., Rehana, R., Nuryanti, N., Mujahidin, D., 2017, Transformasi Etil-*P* Metoksisinamat Menjadi Asam *P*-Metoksisinamat Dari Kencur (*Kaempferia galanga* L.) Beserta Uji Aktivitas Antibakterinya, *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*, 13, 176-187
- Hasanah, A. N., Nazaruddin, F., Febrina, E., & Zuhrotun, A., 2011, Analisis kandungan minyak atsiri dan uji aktivitas antiinflamasi ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.), *Jurnal Matematika & Sains*, 16(3), 147-152
- Ikawati, Z., 2012, *Farmakologi Molekuler*, Gadjah Mada University Press : Yogyakarta
- Jankovic, S.M., Milovanovic, D.R., Jankovic, S.V., 1999, Schild's equation and the Best Estimate of pA₂ Value and Dissociation Constant of an Antagonist, *Croat Med J*, 40, 67-70
- Lely, N., Rahmanisah, D., 2017, Uji Daya Hambat Minyak Atsiri Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L) Terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dan *Trichophyton rubrum*, *Jurnal Penelitian Sains*, 19(2)
- Merijanti, L. T. S., 1999, Peran Sel *Mast* dalam Reaksi Hipersensitivitas Tipe I, *Jurnal Kedokteran Trisakti*, Volume 18 No. 3
- Miranti, L., 2009, Pengaruh Konsentrasi Minyak Atsiri Kencur (*Kaempferia galanga* L.) Dengan Basis Salep Larut Air Terhadap Sifat Fisik Salep Dan Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus Aureus* Secara *In Vitro*, *Skripsi*,

Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

- Nurmeilis., Azrifitria., & Fitriani, N., 2016, Pengujian Senyawa Etil-*p*-Metoksi Sinamat Hasil Isolasi Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L) Dan Derivat Amidasinya Sebagai Obat Penenang (Sedative-Hipnotik), *Laporan Penelitian*, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta
- Rahmi, A., Roebiakto, E., Lutpiatina, L., 2016, Potensi Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia Galanga* L.) Menghambat Pertumbuhan *Candida Albicans*, *Medical Laboratory Technology Journal*, 2, 70-76
- Sakinah., 2014, Farmakoterapi II Asma, *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo Kendari
- Soleh, Megantara, S., 2019, Karakteristik Morfologi Tanaman Kencur (*Kaempferia Galanga* L.) Dan Aktivitas Farmakologi, *Farmaka*, Volume. 17, No. 2
- Sukandar, E.Y., 2014, Tren Dan Paradigma Dunia Farmasi Industri Klinik Teknologi Kesehatan. Artikel. Diakses 26 Mei 2018, dari <http://www.researchgate.net/publication/237663378>
- Sulaiman, M.R., Zakaria, Z.A., Daud, I.A., Ng, F.N., Ng, Y.C., Hidayat, M.T., 2008, Antinociceptive and Anti-inflammatory Activities of The Aqueous Extract of *Kaempferia galanga* Leaves in Animal Models, *J. Nat Med*, 62, 221-227
- Taylor-Clark, T., Sodha, R., Warner, B., Foreman, J., 2005, Histamine Receptors that Influence Blockage of the Normal Human Nasal Airway, *Br. J. Pharmacol*, 144, 867-874