

Hubungan Lama Distilasi, Kandungan Senyawa, dan Bioautografi Antioksidan Minyak Atsiri Bangle (*Zingiber purpureum*)

Irmanida Batubara*^{1,2}, Rahadyanoto Trimulia¹, Eti Rohaeti^{1,2}, dan Latifah K Darusman^{1,2}

¹Department Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.

² Tropical Biopharmaca Research Center, Institut Pertanian Bogor

e-mail: *ime@apps.ipb.ac.id

Abstrak

Bangle (*Zingiber purpureum*) merupakan salah satu tanaman obat yang mengandung minyak atsiri. Untuk mengambil minyak atsiri dari rimpang bangle dapat dilakukan distilasi dengan perbedaan lama distilasi. Tujuan penelitian ini adalah menentukan kadar minyak atsiri dari rimpang bangle dan membandingkan kandungan senyawanya berdasarkan waktu distilasi yang berbeda. Minyak atsiri bangle didistilasi dengan perbedaan rentang waktu, yaitu 0-3 jam, 3-6 jam, dan 6-9 jam. Rendemen minyak atsiri yang diperoleh berbeda walaupun selang waktu yang digunakan sama. Kadar senyawa minyak atsiri berbeda bergantung pada lama waktu distilasi. Perbedaan tersebut ditentukan melalui kromatografi gas-spektrometri massa. Kandungan senyawa sabinena optimum pada waktu distilasi 0-3 jam, osimena pada rentang waktu 3-6 jam, dan naftalena pada rentang waktu 6-9 jam. Profil kromatografi lapis tipis dan bioautografi antioksidan terhadap DPPH untuk ketiga minyak juga ditentukan.

Kata kunci— Rimpang, Minyak atsiri, *Zingiber purpureum*, bioautografi, waktu distilasi

Abstract

Relation of distillation duration, compound content, Antioxidant Bio-autography of Bangle Essential Oil (*Zingiber purpureum*). Bangle (*Zingiber purpureum*) is one of the medicinal plants containing essential oils. To extract essential oils from the bangle rhizome, it can be carried out with distillation duration differences. The purpose of this study was to determine the yield of essential oil from the bangle rhizome and to compare the content of the compounds based on the distillation duration. The bangle essential oil is distilled with different durations, that is: 0 – 3 hours, 3 – 6 hours, and 6 – 9 hours. The yield of essential oil obtained is different although the time interval used is the same. The yield of essential oil compounds differ depending on the distillation duration. The difference is determined by gas chromatography - mass spectrometry. The optimum content of sabinene is at 0-3 hours distillation, osimena is in the range of 3-6 hours, and naphthalene is in the span of 6-9 hours. Thin layer chromatography profiles and antioxidant bio-autography of DPPH for all three oils were also determined.

Keywords— Rhizome, Essential oil, *Zingiber purpureum*, bioautography, distillation time

1. PENDAHULUAN (INTRODUCTION)

Bangle (*Zingiber purpureum* atau *Zingiber cassumunnar*) merupakan tanaman yang tumbuh di Asia yang beriklim tropis dari India sampai Indonesia. Menurut Astarina *et al.* (2013) dan Wijayakusuma *et al.* (1997), rimpang bangle berkhasiat sebagai obat demam, perut nyeri,

sembelit, masuk angin, cacingan, dan encok. Rimpang tanaman ini dilaporkan mengandung senyawa golongan flavonoid, kuinon, steroid, dan triterpenoid. Bangle juga memiliki kandungan minyak atsiri (Liang *et al.* 2004). Minyak atsiri merupakan suatu zat yang berasal dari tanaman yang memberikan aroma khas dan memiliki karakteristik tertentu. Saat ini, minyak atsiri banyak digunakan oleh industri flavor yang digunakan untuk menambah aroma dan memberikan efek antioksidan (Kamazeri *et al.* 2012).

Minyak atsiri bangle memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Kamazeri *et al.* 2012). Komponen yang terkandung dalam minyak atsiri bangle terdiri atas Sabinena (48.14%), 4-terpenol (25.13%), g-terpinena (6.74%), α -terpinena (4.31%), α -fellandrena (2.73%), 2-isopropiltoluena (2.05%) dan komponen mikro lainnya (Wang *et al.* 2015). Selain itu, minyak atsiri bangle juga memiliki aktivitas antioksidan (Bua-in dan Paisooksantivatana 2009). Banyaknya komponen dan variasi senyawa kimia dalam suatu tanaman obat merupakan salah satu kendala dalam menjamin keamanan dan pengendalian mutu tanaman obat (Reich dan Schibli 2006). Lama waktu distilasi juga turut berpengaruh dalam menentukan senyawa yang ada dalam minyak atsiri bangle. Semakin lama waktu distilasi, beberapa senyawa muncul dengan tingkat kadar yang lebih tinggi, begitu juga sebaliknya. Kandungan senyawa hasil distilasi berbeda akan menyebabkan aktivitas distilat tersebut berbeda, termasuk aktivitas antioksidannya. Pengecekan perbedaan senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri dapat dilakukan dengan berbagai macam cara seperti menggunakan kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS), analisis sidik jari termasuk menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT), serta pengaruh minyak atsiri pada berbagai aktivitas termasuk KLT bioautografi. Untuk itu, tujuan dari penelitian adalah menentukan kandungan senyawa berdasarkan lama waktu distilasi, mengetahui profil kromatografi lapis tipis (KLT), dan bioautografi antioksidannya.

2. METODE PENELITIAN (MATERIALS AND METHODS)

Penelitian dimulai dengan penentuan kadar air rimpang bangle (AOAC 2006), distilasi rimpang bangle dengan variasi waktu 0-3 jam, 3-6 jam, dan 6-9 jam, dan menentukan kandungan senyawa dengan GC-MS. Setelah itu, profil KLT ditentukan menggunakan eluen terbaik. Aktivitas antioksidan juga ditentukan melalui KLT-bioautografi. Alat yang digunakan KLT aplikator semiotomatis Camag Linomat 5 (CAMAG, Muttenz, Switzerland), perangkat dokumentasi Reprox 3 yang terintegrasi perangkat lunak winCATS (CAMAG, Muttenz, Switzerland), pelat 96 sumur, multi-well plate reader, seperangkat alat distilasi, oven, desikator, neraca analitik, dan perangkat alat gelas lainnya. Bahan yang digunakan meliputi rimpang bangle yang berasal dari Cikabayan Dramaga Kabupaten Bogor Jawa Barat, pelat silika gel F254 20x20 cm, kloroform, etil asetat, diklorometana, asetonitril, aseton, dietil eter, *n*-heksana, anisaldehida, DPPH, standar asam askorbat, inokulan bakteri *Staphylococcus aureus*, dan TSA (Tryptic Soy Agar).

2.1 Isolasi Minyak Atsiri Bangle dengan Distilasi Uap

Sebanyak 3 kg rimpang bangle kering dimasukkan ke dalam distilator stahl. Rimpang bangle tersebut ke dalam labu bulat lalu ditambahkan akuades dengan perbandingan sampel dan akuades adalah 1:2 (b:v). Setelah itu, dilakukan proses distilasi air selama 3 jam, 6 jam, 9 jam dengan suhu berkisar 100-105 °C. Distilat 0-3 jam dikumpulkan lalu distilat 3-6 jam, dan distilat 6-9 jam. Distilat yang diperoleh kemudian didiamkan selama 24 jam dan minyak yang terdapat dalam distilat dipisahkan menggunakan corong pisah. Lapisan minyak dan air terlihat terpisah dengan jelas. Lalu minyak dimasukkan ke dalam botol dan disimpan di dalam kulkas untuk dianalisis pada tahap selanjutnya.

2.2 Penentuan Senyawa pada Distilat Menggunakan GC-MS

Distilat dengan waktu distilasi berbeda dianalisis menggunakan GC-MS. Kondisi GC-MS yang digunakan akan kolom Elite 5MS (30m x 0.25 mm x 0.25 μ m), detektor: MS, fase gerak helium, suhu kolom 60 – 180 °C, suhu injector 300°C, suhu detektor: 320°C, mode injeksi: split, tekanan 10,9 kPa. Spektrum tiap puncak yang muncul dibandingkan dengan spektrum pada data *library*. Persen kemiripan dan waktu retensi puncak yang muncul kemudian dilaporkan.

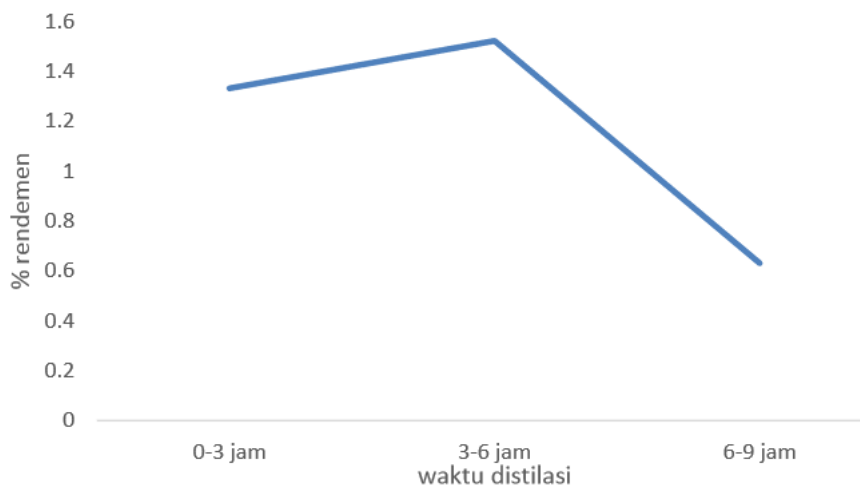
2.3 Profil Kromatografi Lapis Tipis dan Bioautografi antioksidan

Minyak atsiri bangle diaplikasikan sebanyak 10 μ L pada pelat KLT F254 menggunakan CAMAG Linomat 5. Pelat lalu dikeringkan dan dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan selama 30 menit dengan fase gerak aseton-diklorometana-n-heksana (1.5:8:0.5). Pelat KLT diangkat, dikeringkan, dan dideteksi pada panjang gelombang 254 dan 366 nm. Setelah itu, pelat disemprot menggunakan larutan DPPH 5 μ M serta diinkubasi pada suhu 37 °C selama beberapa jam. Pita berwarna kekuningan akan tampak yang menunjukkan bahwa pita tersebut aktif sebagai antioksidan dan latar belakang pelat berwarna ungu. Pita tersebut dibandingkan dengan pita pada kromatogram yang telah dideteksi sebelumnya dengan sinar UV 254 nm, 366 nm, dan anisaldehyda.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN (RESULT)

3.1 Kadar Air dan Rendemen Minyak Atsiri

Analisis kadar air dilakukan pada sampel rimpang bangle yang sudah dikeringudarkan dengan matahari. Kadar air yang dihasilkan sebesar 10.02% (b/b). Analisis kadar air ini dapat dijadikan faktor koreksi dalam perhitungan rendemen minyak atsiri pada bangle.



Gambar 1. Grafik hubungan rendemen minyak atsiri bangle dan waktu distilasi yang berbeda

Berdasarkan isolasi minyak atsiri dengan metode distilasi uap air, rendemen minyak atsiri bangle total selama 9 jam sebesar 3.93% (v/b) untuk rendemen keseluruhan sampel. Rendemen yang dihasilkan ini lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Wulandari (2011) yaitu sebesar 0.38-0.91% (v/b). Rendemen minyak atsiri terbagi berdasarkan lamanya waktu distilasi. Yaitu 0-3 jam, 3-6 jam, dan 6-9 jam. Ketiga sampel minyak atsiri mengalami perbedaan rendemen seperti yang terlampir pada Gambar 1. Minyak atsiri 3-6 jam memiliki rendemen tertinggi dari kedua minyak atsiri lainnya. Pada 6-9 jam perbedaan rendemen nampak terlihat menurun dibandingkan dengan minyak 0-3 jam dan 3-6 jam. Hasil rendemen tersebut bisa diduga bahwa pada rentang waktu 6-9 jam hanya terdapat minyak yang tersisa dari rimpang

bangle segar dan kandungan senyawa pada rentang tersebut jumlah kadarnya sudah berkurang atau tidak optimum. Berdasarkan hasil tersebut, waktu distilat yang paling optimum menunjukkan bahwa pada rentang waktu 3-6 jam.

Pembahasan terhadap hasil penelitian dan pengujian yang diperoleh disajikan dalam bentuk uraian teoritik, baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Hasil percobaan sebaiknya ditampilkan dalam berupa grafik atau pun tabel. Untuk grafik dapat mengikuti format untuk diagram dan gambar.

3.2 Senyawa dalam Minyak Atsiri Bangle

Ketiga minyak atsiri dianalisis menggunakan GC-MS. Berdasarkan hasil analisis GC-MS yang tertera pada Tabel 1. Minyak atsiri bangle mengandung jenis senyawa terpenoid (monoterpena, monoterpena alkohol). Hasil ini sesuai dengan dengan penelitian yang telah dilaporkan sebelumnya oleh Wirasutisna *et al.* (2012) yang menyatakan senyawa yang paling dominan dalam minyak atsiri bangle adalah terpinen-4-ol, sabinena, γ -terpinena dan yang lainnya. Perbedaan waktu distilasi dari ketiga sampel tersebut tidak mengubah jenis senyawa yang terdeteksi oleh GC-MS tapi perbedaan persentasi luas puncak pada kromatogram yang memberikan informasi perbedaan kadar senyawa tersebut dalam masing-masing sampel.

Terdapat suatu kecenderungan hasil waktu retensi pada masing-masing sampel. Hasil waktu retensi tersebut menghasilkan dugaan senyawa. Dari hasil waktu retensi juga bisa dilihat trend yang terjadi pada masing-masing waktu retensi terhadap lama waktu distilasi sampel. Bisa dikelompokkan menjadi 2, yaitu kelompok kadar senyawa yang berkurang dengan lamanya waktu distilasi dan kelompok yang meningkat dengan bertambahnya waktu distilasi.

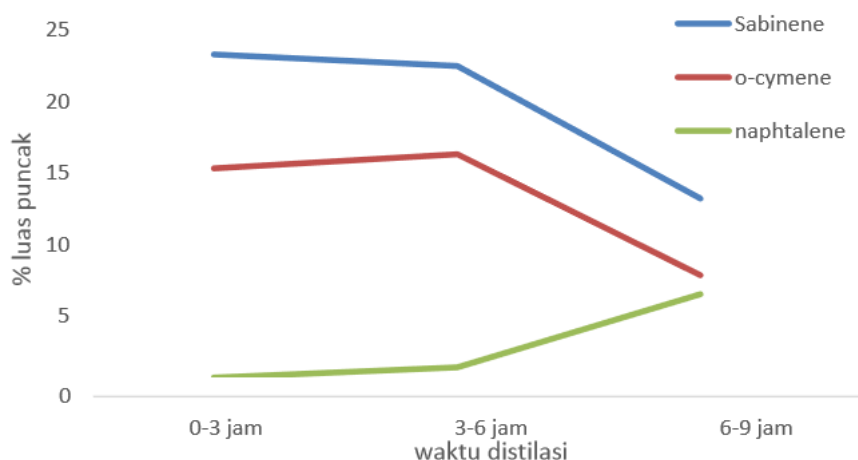
Tabel 1: Kadar senyawa pada minyak atsiri bangle dengan waktu distilasi berbeda.

Waktu retensi (menit)	Dugaan senyawa	Kemiripan (%)	% luas, pada minyak dengan distilasi pada waktu		
			0-3 jam	3-6 jam	6-9 jam
2.33	α -thujena	94	2.39	3.55	3.56
2.40	α -pinena	96	3.28	3.49	2.67
2.66	Sabinena	94	23.30	22.49	13.21
2.70	β -pinena	97	6.31	6.54	5.13
3.05	o-simena	97	15.31	16.31	9.34
3.37	γ -terpinena	95	2.10	5.41	9.34
3.46	cis-sabinena hidrat	95	1.48	1.02	0.53
3.70	sikloheksena	98	0.72	1.58	3.25
4.12	p-ment-2-en-1-ol	96	1.30	1.23	1.27
4.99	Terpinen-4-ol	95	25.84	24.76	23.48
5.11	β -fensil alkohol	91	1.02	1.06	1.24
7.95	2-carena	91	0.44	0.78	0.90
11.68	β -sesquifellandrena	98	0.72	1.92	5.09

Berdasarkan grafik pada Gambar 2, ketiga senyawa menunjukkan jenis kelompok yang berpengaruh terhadap lama waktu distilasi. Pertama, kelompok jenis senyawa yang memiliki kadar terus meningkat dengan lama waktu distilasi. Kedua, kelompok senyawa yang memiliki kadar terus menurun. Ketiga, kelompok senyawa yang mengalami kenaikan kadar namun pada pertengahan waktu mengalami penurunan kadar. Faktor utama bisa terjadinya proses di atas bisa disebabkan faktor waktu optimumnya distilasi memisahkan senyawa. Sabinena terus mengalami penurunan seiring dengan lamanya waktu distilasi. Proses distilasi itu menunjukkan bahwa sabinena memiliki waktu optimum 0-3 jam. Setelah 3 jam, sabinena mengalami penurunan namun tidak tajam. Setelah 6 jam, sabinena mengalami penurunan cukup signifikan. Hal itu bisa diduga bahwa kadar kandungan sabinena sudah tidak sebanyak pada saat waktu distilasi 0-3 jam

dan 0-6 jam. Untuk o-simena, memiliki waktu optimum pada rentang 3-6 jam. Pada saat 6-9 jam, o-simena juga mengalami penurunan yang cukup tajam. Hal yang berbeda ditunjukkan oleh naphthalene. Hal itu juga bisa diduga dari faktor titik didih dan bobot molekul dari masing-masing senyawa.

Dari ketiga kelompok tersebut sabinena, o-simena, dan naftalena mewakili masing-masing kelompok. Terjadinya trend positif dan negatif pada persen luas kromatogram bisa terjadi karena kemungkinan senyawa tersebut memiliki waktu optimum dalam proses distilasi (Tabel 2). Titik didih dan bobot molekul pada senyawa kemungkinan berperan. Senyawa sabinena memiliki titik didih 163 °C, bobot molekul 136,236 g/ mol dan o-simena memiliki titik didih 178 °C, bobot molekul 134,222 g/mol, sedangkan untuk naftalena memiliki titik didih 218 °C dan bobot molekul 128 g/mol. Senyawa yang volatil memiliki waktu retensi yang rendah.



Gambar 2. Perubahan konsentrasi senyawa pada minyak atsiri bangle dengan waktu distilasi yang berbeda

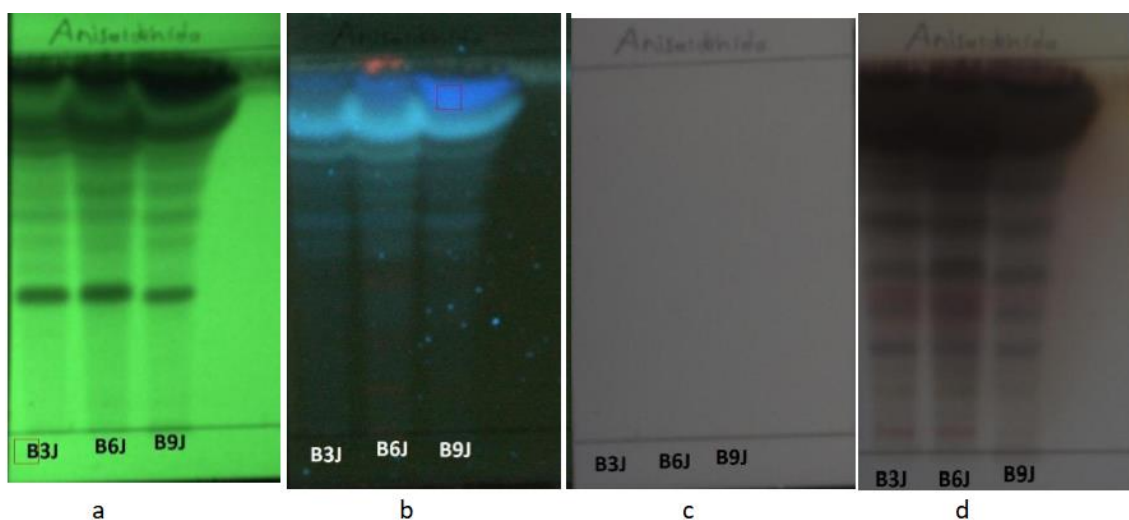
Tabel 2. Jenis kelompok senyawa berdasarkan kadarnya pada minyak atsiri terhadap waktu distilasi

Kecenderungan kadar seiring waktu distilasi	senyawa	Bobot molekul (g/mol)	Titik didih (°C)
Naik	α -thujena	136.238	150
	γ -terpinena	136.238	173.5
	sikloheksena	82.146	86
	β -fensil alkohol	154.253	211
	2-carena	136.238	170
	Sesquifellandrena	204.357	270
Turun	Sabinena	136.236	163
	β -pinena	136.238	166
	cis-sabinena hidrat	154.253	201
	siklofenchena	136.238	145
	terpinen-4-ol	154.253	209
	1,4-dihidroksi-p-ment2-ene	170.25	353
Naik kemudian turun	α -pinena	136.238	160
	o-simena	134.222	178
Turun kemudian naik	p-ment-2-en-1-ol	154.249	213

3.3 Profil Kromatografi Lapis Tipis

Teknik analisis sidik jari dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dipilih karena memberikan pola fraksi-fraksi senyawa yang spesifik pada tanaman dan analisisnya sederhana. Prinsip KLT adalah sampel diaplikasikan pada lempeng KLT yang terlapisi fase diam kemudian dilakukan pengembangan dalam suatu wadah berisi fase gerak berupa eluen sehingga sampel terpisah menjadi komponen-komponennya (Handayani *et al.* 2005). KLT digunakan untuk memisahkan komponen metabolit sekunder seperti polifenol, alkaloid, saponin, flavonoid, flavanon, dan metabolit primer seperti asam amino, amina aromatik, serta berbagai jenis asam, alkohol, glikol, amida, protein, peptida, antibiotik, porfirin, pestisida, dan vitamin (Lade *et al.* 2014). KLT memberikan pola senyawa yang berbeda jika deteksi menggunakan panjang gelombang yang berbeda seperti sinar UV 254 nm, sinar UV 366 nm, sinar tampak. Selain itu, penggunaan reagen pewarna spesifik juga dapat memperjelas pola senyawa pada sampel yang dianalisis. Pada UV 254 nm hanya menunjukkan pita gelap karena silika gel sebagai fase diam mengandung indikator fluoresensi yang dapat menyerap sinar pada panjang gelombang 254 nm sehingga yang berpendar hanya fase diam saja (Ciesla 2012).

Pada penelitian ini diaplikasikan tiga jenis sampel minyak atsiri bangle yang berdasarkan perbedaan waktu distilasi. Kromatogram yang dideteksi pada Panjang gelombang 254, 366, sinar tampak, dan dengan pereaksi anisaldehida dapat dilihat pada Gambar 3. Ketiga sampel tersebut memiliki pola pita senyawa yang sama namun menghasilkan ketebalan yang berbeda. Seperti yang ditunjukkan pada UV 254 nm. Sampel B3J cenderung memiliki pita paling tipis dari kedua sampel lainnya. Selain itu pada UV 366 nm, pita menghasilkan warna yang beragam. Warna pita didominasi oleh warna biru. Perbedaan warna tersebut bisa menunjukkan terdapat senyawa yang berbeda-beda. Warna biru menunjukkan keberadaan senyawa flavon atau flavonol, warna hijau menunjukkan senyawa antosianidin dan warna agak kehijauan menunjukkan senyawa auron dan flavon (Ahmad *et al.* 2015).



Gambar 3. Pola sidik jari kromatogram minyak atsiri bangle dengan waktu distilasi 0-3 jam (B3J), 3-6 jam (B6J), dan 6-9 jam (B9J) dengan fase gerak aseton-diklorometana- n-heksana 1:8:1 (v/v). Dokumentasi: (a) UV 254; (b) UV 366; (c) sinar tampak; (d) anisaldehida sinar tampak

3.4 Bioautografi Antioksidan

Aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan metode KLT-bioautografi. KLT yang sudah dielusi dengan fase gerak kemudian disemprotkan dengan larutan DPPH. Pita berwarna kuning menunjukkan bahwa pita tersebut memiliki aktivitas antioksidan. Pada ketiga sampel, semuanya memiliki pita berwarna kuning. Namun, pada minyak yang didistilasi pada waktu 6-9

jam memiliki jumlah pita berwarna kuning terbanyak dan tebal (Gambar 4). Pita berwarna kuning yang semakin tebal menunjukkan aktivitas antioksidan semakin kuat. Oleh karena itu, dengan semakin lama distilasi berlangsung komponen senyawa antioksidan dari minyak atsiri rimpang bangle semakin banyak. Jenis senyawa yang aktif pada penelitian ini belum dapat ditentukan.



Gambar 4. Bioautogram antioksidan minyak bangle pada waktu distilasi berbeda 0-3 jam (B3J), 3-6 jam (B6J), dan 6-9 jam (B9J)

4. KESIMPULAN (CONCLUSION)

Minyak atsiri bangle memiliki perbedaan kadar senyawa seiring dengan perbedaan lamanya waktu distilasi. Senyawa sabinena optimum pada waktu 0-3 jam, o-simena pada waktu 3-6 jam, dan naftalena pada waktu 6-9 jam. Pada profil KLT, rentang waktu 3-6 jam menunjukkan hasil paling baik daripada rentang 0-3 jam dan rentang 6-9 jam. Pita yang dihasilkan paling jelas diantara keduanya. Pada bioautografi antioksidan terdapat zona kuning pada pita yang menunjukkan bahwa minyak atsiri bangle memiliki aktivitas yang dapat menghambat radikal bebas. Minyak atsiri yang didistilasi pada waktu 6-9 jam menunjukkan spot paling banyak dibanding kedua sampel lainnya. Namun masih perlu dilanjutkan penelitian untuk dapat menentukan kapasitas antioksidan distilat dengan waktu distilasi berbeda dan jenis senyawa yang aktif yang bertanggung jawab sebagai antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA (REFERENCE)

- Ahmad A, Husain A, Mujeeb M, Khan SA, Alhadrami HAA, Bhandari A. 2015. Quantification of total phenol, flavonoid content and pharmacognostical evaluation including HPTLC fingerprinting for the standardization of Piperningrum Linn fruits. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 5(2): 101-107
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemistry. 2006. *Official Methods of Analysis of AOAC International 971*. Meyrland (US): AOAC International.
- Astarina N.W.G., Astuti K, W. Warditiani N.K. 2013. Skrining fitokimia ekstrak methanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum*). *Jurnal Farmasi Udayana*. 1(1): 1-7

- Bua-in S, Paisooksantivatana Y. 2009. Essential oil and antioxidant activity of cassumunar ginger (Zingiberaceae: *Zingiber montanum* (Koenig) Link ex Dietr.). *Kasetart J. Nat Sci.* 43:467-475.
- Ciesla L. 2012. Biological fingerprinting of herbal samples by means of liquid chromatography. *Chromatography Research International*, 2012: 1-9. doi: 10.1155/2012/532418.
- Handayani S, Kristianingrum S. 2005. Kromatografi lapis tipis untuk penentuan kadar hespedirin dalam kulit buah jeruk. *Jurnal Penelitian Saintek*, 10(1): 5368.ISSN:1412-3991.
- Kamazeri TSAT, Samar OA, Taher M, Susanti D, Qarraleh H. 2012. Antimicrobial activity and essentials oil *Curcuma aeruginosa* *Curcuma mangga* and *Zingiber cassumunar* from Malaysia. *Asian Pacific of Tropical Medicine.* 202-209
- Lade BD, Patil AS, Paikrao HM, Kale AS, Hire KK. 2014. A comprehensive working, principles and applications of thin layer chromatography. *Research J of Pharma, Biol and Chem Sci.* 5(4): 486-503. ISSN: 0975-8585.
- Liang YZ, Xie P, Chan K. 2004. Quality control of herbal medicines. *Journal of Chromatography.* 812:53-70.
- Reich E, Shibli A. 2006. *High Performance Thin Layer Chromatography for The Analysis of Medicinal Plants.* New York (US): Thieme Medical Publishers, Inc.
- Wang Y, You CX, Yang K, Wu Y, Chen R, Zhang WJ, Liu ZI, Du SS, Deng ZW, Geng ZF, Han J . 2015. Bioactivity of essential of *Zingiber purpureum* rhizomes and its main compounds against two stored product insect. *Journal of Economic Entomology.* 1-8
- Wijayakusuma HMH, Dalimartha S, Wirian AS. 1997. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia.* Jakarta (ID): Pustaka Kartini.
- Wirasutisna K R, Sukrasno, Nawawi A, Marliani L. 2012. Pengaruh pengolahan bahan terhadap kadar dan komponen minyak atsiri rimpang *Zingiber cassumunar* Roxb. *Acta Pharmaceutica Indonesia.*36(2):64-69
- Wulandari R. 2011. Fraksionasi senyawa aktif minyak atsiri bangle (*Zingiber purpureum*) sebagai pelangsing aromaterapi [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.