



Improvement of Bioactivity with Nanoparticle Fabrication: Cytotoxic Test of Ethanol, N-Hexane and Ethyl Acetate Extract from Red Galangal Rhizome (*Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum) in Bulk and Nanoparticle size using BSLT Method

Enny Fachriyah^{a*}, Dewi Kusriani^a, Pratama Jujur Wibawa^a

^a Organic Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

* Corresponding author: enny.fachriyah@live.undip.ac.id

Article Info

Keywords:

Red galangal, nanoparticles, maceration, ethanol, n-hexane, ethyl acetate, cytotoxic activity, BSLT, LC₅₀

Kata Kunci:

Laos merah, nanopartikel, maserasi, etanol, n-heksana, etil asetat, aktivitas sitotoksik, BSLT, LC₅₀

Abstract

Some of the secondary metabolites present in red algae are terpenoids, quinones, flavonoids, alkaloids, essential oils, diarylheptanoids, steroids, cardioglycosides, oils and fats, tannins, carbohydrates. Activity of rhizomes, leaves and flowers red leaf is as antimicrobial, anti-fungal, anti-oxidants, anti-tumor, anti-cancer and vasodilator. One way to improve the physical, chemical and bioactivity properties of natural compounds was to make them into nanoparticles. In this study, the isolation of bioactive compounds contained in red laos rhizome by maceration method using ethanol solvent was done, then partitioned with n-hexane and ethyl acetate. The extracts thus obtained are fabricated into nanoparticles. Extracts in bulk and nanoparticles were then tested for cytotoxic activity using BSLT method. Results of analysis with PSA showed that ethanol extract had size 410,8 nm, n-hexane extract 220,7 nm and ethyl acetate extract 208,3 nm. The results of cytotoxic tests showed that nanoparticle size increased cytotoxic activity. Ethyl acetate extract was most active compared to ethanol and n-hexane extracts with LC₅₀ values of 17,919; 84,956; 166,526 ppm. Whereas the nanoparticle size was respectively 10,491; 74,072 and 84,197 ppm. Cytotoxic activity increases with nanoparticle fabrication.

Abstrak

Beberapa metabolit sekunder yang terdapat dalam laos merah adalah terpenoid, kuinon, flavonoid, alkaloid, minyak atsiri, diarilheptanoid, steroid, kardioglikosida, minyak dan lemak, tanin, karbohidrat. Aktivitas dari rimpang, daun dan bunga laos merah adalah sebagai antimikroba, anti jamur, anti oksidan, anti tumor, anti kanker dan vasodilator. Salah satu cara untuk meningkatkan sifat fisik, kimia dan bioaktivitas senyawa bahan alam adalah membuatnya menjadi nanopartikel. Pada penelitian ini, isolasi senyawa bioaktif yang terkandung dalam rimpang laos merah dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol dilakukan, selanjutnya dipartisi dengan n-heksana dan etil asetat. Ekstrak yang diperoleh kemudian difabrikasi menjadi nanopartikel. Ekstrak dalam bulk dan nanopartikel kemudian diuji aktivitas sitotoksik menggunakan metode BSLT. Hasil analisis dengan PSA menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki ukuran 410,8 nm, ekstrak n-heksana 220,7 nm dan ekstrak etil asetat 208,3 nm. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ukuran nanopartikel meningkatkan aktivitas sitotoksik. Ekstrak etil asetat adalah paling aktif dibandingkan ekstrak etanol dan n-heksana dengan nilai LC₅₀ masing-masing 17,919; 84,956; 166,526 ppm. Sedangkan yang ukuran nanopartikel berturut-turut masing-masing sebesar 10,491; 74,072 dan 84,197 ppm. Aktivitas Sitotoksik meningkat dengan fabrikasi nanopartikel.

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara kepulauan yang memiliki jenis tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional, yang khasiatnya telah dibuktikan oleh masyarakat luas. Pemanfaatan zat-zat kimia yang terkandung di dalam tumbuhan sangat penting, karena senyawa bahan alam yang aktif farmakologik yang digunakan sebagai obat umumnya efek sampingnya tidak ada atau ringan dibandingkan dengan obat dari senyawa sintetik. Selain itu sumber daya alam sebagai bahan awal mudah diperoleh dan diperbaharui [1, 2].

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai obat adalah lengkuas merah (*Zingiber officinale*), termasuk suku *Zingiberaceae*. Rimpang lengkuas merah selama ini telah dimanfaatkan untuk obat reumatik, penambah nafsu makan, panu, kadas, kurap, perut tidak enak, gangguan pernapasan pada anak dan stimulasi aromaticum [3].

Penelitian tentang lengkuas merah sudah banyak dilakukan [4]. Beberapa metabolit sekunder yang terdapat di dalam tanaman lengkuas adalah terpenoid [5], kuinon [6], flavonoid [7], alkaloid [8], diarilheptanoid, steroids, kardioglikosida, minyak dan lemak, tannin, karbohidrat [9].

Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan aktivitas rimpang, daun dan bunga lengkuas merah, diantaranya antimikroba [10, 11], anti jamur, antioksidan [12], antitumor dan antikanker [13], vasodilator, anti TBC [14].

Penggalan senyawa-senyawa bahan alam dalam suatu tumbuhan umumnya berdasarkan pada pendekatan kemotaksonomi dengan hipotesis bahwa tumbuhan dengan jenis atau marga yang sama akan memiliki kandungan kimia sejenis atau bahkan sama. Dalam bidang medis, bahan alam memiliki kandungan senyawa-senyawa bioaktif yang digunakan secara luas untuk pengobatan, sehingga perlu peningkatan bioaktivitasnya untuk kegunaan yang lebih efektif dan efisien. Salah satu cara untuk meningkatkan sifat fisik, kimia dan bioaktivitas senyawa bahan alam adalah membuat nanopartikel. Nanopartikel memiliki sifat lebih ringan, lebih kuat dan memiliki luas permukaan yang lebih besar sehingga meningkatkan bioaktivitas senyawa dibandingkan bentuk bulk-nya [15]. Nanopartikel memiliki sifat-sifat yang unik, yaitu peningkatan adhesi ke dalam membran sel, peningkatan kecepatan pelarutan [16] dan Quantum dot effect [17]. Penelitian oleh [18] nanopartikel katekin memiliki aktivitas anti bakteri yang lebih tinggi daripada katekin bulk-nya terhadap *E coli* dan *S aureus*.

Basniwal dkk. [19] telah mempelajari bioaktivitas kurkumin terhadap *B subtilis* mengalami peningkatan setelah kurkumin berukuran nano dengan zona bening dari 15 mm menjadi 20 mm. Dengan demikian, aplikasi teknologi nano partikel dengan bioaktivitas suatu senyawa bahan alam memungkinkan dapat meningkatkan sifat bioaktivitasnya menjadi lebih baik daripada bentuk bulk-nya.

Berdasarkan keterangan di atas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap rimpang lengkuas merah, membandingkan bioaktivitas ekstraknya dalam bentuk *bulk* dan nano partikel.

Hasil Penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi masyarakat pengguna obat tradisional, sehingga melengkapi pengetahuan khususnya rimpang lengkuas merah.

Penelitian yang akan dilakukan ini sesuai dengan road map penelitian di laboratorium kimia organik, dimana laboratorium kimia organik sedang mengembangkan mengenai eksplorasi senyawa alam terkait bidang kesehatan dan makanan.

2. Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alat gelas standar penelitian, lampu UV 254 nm dan 365 nm, satu set alat maserator, plat tetes, Bunsen, rotary evaporator Buchii, akuarium, mikro pipet, pipet tetes, pipa kapiler, prosesor ultrasonik dan PSA (*Particle Size Analyzer*) Horiba SZ-100. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk rimpang laos merah, pelarut berderajat teknis: etanol, n-heksana, etil asetat, kloroform, bahan berderajat pa (E.Merck): Amonia, asam klorida, amil alkohol, feri klorida, asam sulfat pekat, anhidrida asetat, pereaksi Steasny, pereaksi Meyer, pereaksi Dragendorf dan telur *Artemia salina*, garam krosok, tween 20, aquabides dan *virgin coconut oil* (VCO).

Persiapan Bahan

Sampel penelitian ini adalah rimpang lengkuas merah yang diperoleh dari daerah Jepara. Sebanyak 20 kg rimpang lengkuas merah dibersihkan dengan air untuk menghilangkan pengotor-pengotor kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, dan dihaluskan hingga menjadi serbuk.

Skrining Fitokimia

Serbuk rimpang lengkuas merah dilakukan skrining fitokimia yaitu uji steroid/triterpenoid, flavonoid, saponin, alkaloid, dan tannin.

Uji Alkaloid

Serbuk rimpang lengkuas merah sebanyak 5 gram dilembamkan dengan 5 mL ammonia 25%, lalu digerus dalam kurs porselin. Setelah itu, 20 mL kloroform dituang ke dalam hasil gerusan, digerus kuat-kuat dan disaring. Untuk pemeriksaan alkaloid, 10 mL larutan organik diekstraksi 2 kali dengan larutan asam klorida (1:10). Sebanyak 5 mL larutan ini masing-masing dituang ke dalam 2 tabung reaksi. Keberadaan alkaloid diuji dengan pereaksi Dragendroff maupun Meyer. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih dengan pereaksi Meyer dan endapan merah bata dengan pereaksi Dragendroff.

Uji Saponin

Serbuk rimpang lengkuas merah dididihkan dalam 100 mL air selama 5 menit, kemudian disaring dalam

keadaan panas (Larutan A). Selanjutnya 10 mL larutan tersebut dikocok kuat-kuat secara vertikal selama 10 detik. Setelah kurang lebih 10 menit, ditetesi dengan asam klorida 2 N. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang pada penambahan satu tetes asam klorida 2 N menunjukkan positif adanya saponin.

Uji Flavonoid

Sebanyak 5 mL dari larutan A ditambahkan serbuk magnesium, 1 mL asam klorida pekat dan 2 mL amil alkohol, dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Jika timbul warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol, berarti positif adanya flavonoid.

Uji Tanin

Serbuk rimpang lengkuas merah sebanyak 10 gram dididihkan dalam 10 mL air selama 5 menit kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan larutan besi (III) Klorida 1 %. Adanya tanin ditunjukkan dengan timbulnya warna biru kehitaman.

Uji Triterpenoid dan Steroid

Serbuk rimpang lengkuas merah sebanyak 5 gram dimaserasi dengan 20 mL eter selama 2 jam, kemudian disaring. Selanjutnya 5 mL filtrat diuapkan dalam cawan penguap sampai kering. Kemudian diberi 2 tetes anhidrida asam asetat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna biru/hijau menunjukkan adanya steroid sedangkan terbentuknya warna merah/ungu menunjukkan adanya triterpenoid.

Pembuatan Ekstrak Lengkuas merah

Serbuk Lengkuas merah seberat 1 Kg dimaserasi dengan etanol, setiap 24 jam pelarut diganti baru hingga pelarut jernih. Maserat yang diperoleh diuapkan pelarutnya dengan menggunakan Evaporator Buchii. Ekstrak etanol kemudian dipartisi dengan pelarut n-heksana, sehingga diperoleh fraksi n-heksana. Ekstrak etanol selanjutnya dipartisi dengan pelarut etil asetat sehingga diperoleh fraksi etilasetat.

Fabrikasi nanopartikel

Sebanyak 10 mg ekstrak etanol, ditambah 6 mL akuabides dan 1 tetes VCO dilakukan ultrasonikasi menggunakan prosesor ultrasonik dengan tegangan 220 volt dan daya 50 watt dan frekuensi 40 KHz selama 30 menit. Analisis nanopartikel dilakukan menggunakan instrumen PSA (*Partical Size Analyzer*). Pekerjaan yang sama dilakukan pada ekstrak n-heksana dan etil asetat.

Uji Sitotoksitas

Untuk mengetahui sitotoksitas ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat, baik dalam bentuk *bulk* maupun *nano* digunakan metode BSLT [20]. Sebanyak 38 gram garam krosok ditambahkan 1L aquades, kemudian disaring dan ditempatkan dalam aquarium yang terbagi menjadi 2 bagian (gelap dan terang). Pada bagian gelap aquarium ditambahkan telur *Artemia salina*. Larva *Artemia salina* siap digunakan setelah umur 2 hari. Larutan ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat dalam bentuk *bulk* dan *nano* masing-masing dibuat dengan

konsentrasi 1000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm dimasukkan ke dalam botol vial. Ke dalam masing-masing botol vial ditambahkan 10 ekor larva *Artemia salina* dan diletakkan di bawah penerangan lampu selama 24 jam kemudian diamati kematian larva *Artemia salina*. Data yang diperoleh kemudian diproses dengan program komputer *probit analysis* untuk menentukan harga LC₅₀ nya.

3. Hasil Dan Pembahasan

Pembuatan Ekstrak Etanol, n-heksana dan Etil asetat

Serbuk rimpang lengkuas merah sebanyak 400 gram dimaserasi menggunakan etanol beberapa kali pengulangan, maserat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Dari ekstrak etanol dipartisi menggunakan n-heksana dan dilanjutkan etil asetat. Hasil ekstrak etanol, n-heksana, dan etil asetat dapat ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1: Hasil ekstraksi rimpang lengkuas merah dengan pelarut etanol, n-heksana dan etilasetat

Ekstrak	Berat ekstrak	Rendemen
Etanol	1,02 gram	0,255 %
n-heksana	0,41 gram	0,1025 %
Etil asetat	0,99 gram	0,25 %

Dari ke tiga ekstrak masing-masing difabrikasi menjadi nanopartikelnya, selanjutnya diuji aktivitas sitotoksik menggunakan metode BSLT.

Fabrikasi Nanopartikel Ekstrak Etanol, n-heksana dan Etil asetat

Pembuatan nanopartikel ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat menggunakan metode sonikasi bertujuan untuk mengetahui ukuran ekstrak yang telah berukuran nano menggunakan alat PSA, serta membandingkan kemampuan bioaktivitasnya sebelum dan setelah berukuran nano. Metode sonikasi menggunakan aquabides pada proses pemancaran ultrasonik akan mengalami sonolisis. Molekul H₂O terjadi kavitasasi yang akan mengalami proses pembentukan, pertumbuhan, dan pemecahan gelembung dalam sistem koloid. Pembentukan gelembung terjadi karena adanya pemutusan ikatan antara atom H dan OH pada molekul aquabides, sedangkan pertumbuhan gelembung terjadi karena uap-uap yang dihasilkan zat terlarut ekstrak dan H₂O berdifusi di dalam gelembung. Selanjutnya partikel-partikel tersebut akan mengelilingi permukaan gelembung, pada keadaan maksimum gelembung akan pecah dan membentuk partikel - partikel yang berukuran kecil (nano) [21]. Nanopartikel ekstrak n-heksana yang dihasilkan dari fabrikasi dapat ditentukan ukurannya. Hasil pengukuran menggunakan PSA ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat diajikan pada tabel 2.

Tabel 2: Pengukuran hasil fabrikasi nanopartikel ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat dengan PSA

Ekstrak	Ukuran (nm)
Etanol	410,8
n-heksana	220,7
Etil asetat	208,3

Hasil yang diperoleh dari fabrikasi nanopartikel masih kurang baik karena ukuran yang dihasilkan sekitar 200 – 400 nm. Hal ini kemungkinan kurangnya waktu yang digunakan untuk ultrasonikasi.

Uji Aktivitas Sitotoksik

Hasil yang diperoleh dari pengujian aktivitas sitotoksik ekstrak etanol, n-heksana, dan etil asetat dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3: Hasil uji sitotoksitas ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat rimpang lengkuas merah

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Nauphilus uji	1		2		3	
			mati	hidup	mati	hidup	mati	Hidup
Kontrol	0	30	0	10	0	10	0	10
Ekstrak Etanol	10	30	2	8	3	7	1	9
	100	30	8	2	5	5	7	3
	1000	30	10	0	10	0	10	0
Ekstrak n-heksana	10	30	2	8	3	7	1	9
	100	30	4	6	3	7	4	6
	1000	30	10	0	10	0	10	0
Ekstrak Etil Asetat	10	30	3	7	2	8	2	8
	100	30	10	0	10	0	10	0
	1000	30	10	0	10	0	10	0

Berdasarkan data yang diperoleh, hasil analisis probit menggunakan program SPSS, aktivitas sitotoksik ekstrak etanol, n-heksana, dan etil asetat menunjukkan nilai LC₅₀ berturut-turut sebesar 84,956 ppm, 166,526 ppm dan 17,919 ppm. Dari data ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat yang paling aktif, disusul etanol, kemudian ekstrak n-heksana. Adapun hasil uji sitotoksik terhadap nanopartikel ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4: Hasil uji sitotoksitas nanopartikel ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat lengkuas merah

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Nauphilus uji	1		2		3	
			Mati	Hidup	Mati	Hidup	mati	Hidup
Kontrol	0	30	0	10	0	10	0	10
Nanopartikel Ekstrak Etanol	10	30	3	7	3	7	4	6
	100	30	7	3	8	2	8	2
	1000	30	10	0	10	0	10	0
Nanopartikel Ekstrak n-heksana	10	30	0	10	0	10	2	8
	100	30	8	2	6	4	5	5
	1000	30	10	0	10	0	10	0
Nanopartikel Ekstrak Etil Asetat	10	30	4	6	3	7	7	3
	100	30	10	0	10	0	10	0
	1000	30	10	0	10	0	10	0

Berdasarkan data yang diperoleh, hasil analisis probit aktivitas menggunakan program SPSS, aktivitas sitotoksik ekstrak nanopartikel etanol, n-heksana, dan etil asetat menunjukkan nilai LC₅₀ berturut-turut sebesar 74,072 ppm, 84,197 ppm dan 10,491 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak teraktif adalah nanopartikel ekstrak etil asetat, kemudian etanol dan kemudian nanopartikel n-heksana, urutan aktivitas sitotoksiknya sama seperti pada tabel 3.

Perbandingan harga LC₅₀ pada ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat dalam ukuran *bulk* dan ukuran *nano* disajikan pada tabel 5 berikut.

Tabel 5: Perbandingan harga LC₅₀ ekstrak etanol, n-heksana dan etil asetat dalam ukuran *bulk* dan ukuran *nano*

Ekstrak	Harga LC ₅₀	Ekstrak nano	Harga LC ₅₀
etanol	84,956	etanol	74,072
n-heksana	166,526	n-heksana	84,197
Etil asetat	17,919	Etil asetat	10,491

Hasil yang diperoleh pada nanopartikel ekstrak n-heksana memiliki nilai LC₅₀ yang lebih kecil dibandingkan ekstrak n-heksana yang berukuran *bulk*. Hal ini disebabkan senyawa yang berukuran *nano* memiliki luas permukaan yang kecil sehingga akan mengalami peningkatan kemampuan bioaktivitas karena adanya suatu pengaruh dimana atom akan naik ke permukaan ketika materi berukuran 1-100 nm, sehingga larutan akan dipengaruhi oleh sifat-sifat permukaannya yaitu ukuran dan bentuk bukan komposisi larutannya [22].

4. Kesimpulan

Hasil pengukuran PSA diperoleh pada ekstrak etanol sebesar 410,8; n-heksana sebesar 220,7 dan etil asetat sebesar 208,3nm. Pada uji sitotoksik dengan metode BSLT ukuran *nano* meningkatkan aktivitas sitotoksiknya baik pada ekstrak etanol, n-heksana maupun etil asetat. Ekstrak etil asetat paling aktif dibandingkan ekstrak etanol dan n-heksana dengan harga LC₅₀ masing-masing sebesar 17,919; 84,956; 166,526 ppm sedangkan yang ukuran *nano* masing-masing sebesar 10,491; 74,072 dan 84,197 ppm.

5. Daftar Pustaka

- [1] Ayu Ni'mah Azifa, Dewi Kusriani, Enny Fachriyah, Identifikasi Senyawa Sitotoksik dalam Ekstrak Kloroform Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) Menggunakan GC-MS, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17, 1, (2014) 23-26
- [2] Ika Pratiwi Khosimah Adinata, Khairul Anam, Dewi Kusriani, Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi Aktif Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dan Uji Aktivitas Larvasida terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*, *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 16, 2, (2013) 42-45
- [3] PN Ravindran, I Balachandran, Under utilized medicinal spices, *Spice India*, 17, 12, (2004) 2-14
- [4] Fajar Budi Laksono, Enny Fachriyah, Dewi Kusriani, Isolasi dan Uji Antibakteri Senyawa Terpenoid Ekstrak N-Heksana Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*), *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 17, 2, (2014) 37-42
- [5] Yuharmen, Yum Eryanti, Nurbalatif, Uji Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri dan Ekstrak Metanol Lengkuas (*Alpinia galanga*), FMIPA, Universitas Riau, Riau
- [6] Chinthamony Arul Raj, Paramasivam Ragavendran, Dominic Sophia, Muthaiyan Ahalliya Rathi, Velliur Kanniappan Gopalakrishnan, Evaluation of in vitro antioxidant and anticancer activity of *Alpinia purpurata*, *Chinese Journal of Natural Medicines*, 10, 4, (2012) 263-268 [http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364\(12\)60053-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1875-5364(12)60053-3)
- [7] CP Victório, RM Kuster, CLS Lage, Detection of flavonoids in *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum. leaves using high-performance liquid chromatography, *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*, 11, 2, (2009) 147-153
- [8] Ratna Susilaningih, Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Alkaloid Fraksi Etil Asetat

- Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia galanga*), Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang
- [9] Enoch Kiage Oirere, Palanirajan Anusooriya, Chinthamony Arul Raj, Velliyur Kanniappan Gopalakrishnan, Phytochemical Analysis of N-Hexane Leaf Extract of *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum Using Uv-Vis, FTIR and GC-MS, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 7, 8, (2015) 387-389
- [10] Yuharmen, Yum Eryanti, Nurbalatif, Uji Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri dan Ekstrak Metanol Lengkuas (*Alpinia galanga*), in, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Riau, 2002.
- [11] KP Kochuthressia, S John Britto, MO Jaseentha, L Joelri Michael Raj, SR Senthilkumar, Antimicrobial efficacy of extracts from *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Schum. against human pathogenic bacteria and fungi, *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1, 6, (2010) 1249-1252 <http://dx.doi.org/10.5251/abjna.2010.1.6.1249.1252>
- [12] T. Juntachote, E. Berghofer, Antioxidative properties and stability of ethanolic extracts of Holy basil and Galangal, *Food Chemistry*, 92, 2, (2005) 193-202 <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.04.044>
- [13] Hideji Itokawa, Koichi Takeya, Antitumor substances from higher plants, *ChemInform*, 24, 52, (1993)
- [14] Cristiane Pimentel Victório, Ricardo Machado Kuster, Roberto Soares de Moura, Celso Luiz Salgueiro Lage, Vasodilator activity of extracts of field *Alpinia purpurata* (Vieill.) K: Schum and *A. zerumbet* (Pers.) Burt et Smith cultured in vitro, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45, 3, (2009) 507-514
- [15] R. Kelmani Chandrakanth, C. Ashajyothi, A. K. Oli, C. Prabhurajeshwar, Potential Bactericidal Effect of Silver Nanoparticles Synthesised from *Enterococcus* Species, *Oriental Journal of Chemistry*, 30, 3, (2014) 1253-1262 <http://dx.doi.org/10.13005/ojc/300341>
- [16] Rainer H. Müller, Sven Gohla, Cornelia M. Keck, State of the art of nanocrystals – Special features, production, nanotoxicology aspects and intracellular delivery, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 78, 1, (2011) 1-9 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2011.01.007>
- [17] Matthew N. Rhyner, Andrew M. Smith, Xiaohu Gao, Hui Mao, Lily Yang, Shuming Nie, Quantum dots and multifunctional nanoparticles: new contrast agents for tumor imaging, *Nanomedicine*, 1, 2, (2006) 209-217 <http://dx.doi.org/10.2217/17435889.1.2.209>
- [18] Huanhuan Li, Quansheng Chen, Jiewen Zhao, Khulal Urmila, Enhancing the antimicrobial activity of natural extraction using the synthetic ultrasmall metal nanoparticles, *Scientific reports*, 5, (2015) 11033 <http://dx.doi.org/10.1038/srep11033>
- [19] Rupesh Kumar Basniwal, Harpreet Singh Buttar, V. K. Jain, Nidhi Jain, Curcumin Nanoparticles: Preparation, Characterization, and Antimicrobial Study, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 5, (2011) 2056-2061 <http://dx.doi.org/10.1021/jf104402t>
- [20] B. N. Meyer, N. R. Ferrigni, J. E. Putnam, L. B. Jacobsen, D. E. Nichols, J. L. McLaughlin, Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents, *Planta Med*, 45, 05, (1982) 31-34 <http://dx.doi.org/10.1055/s-2007-971236>
- [21] Inbar Yariv, Anat Lipovsky, Aharon Gedanken, Rachel Lubart, Dror Fixler, Enhanced pharmacological activity of vitamin B12 and penicillin as nanoparticles, *International journal of nanomedicine*, 10, (2015) 3593
- [22] Stephanie M Reimann, Matti Manninen, Electronic structure of quantum dots, *Reviews of Modern Physics*, 74, 4, (2002) 1283