

AKTIVITAS ANTIJAMUR KRIM EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH (*Piper betle* L. var *Rubrum*) PADA KELINCI BETINA YANG DIINFEKSI *Candida albicans* ATCC® 10231

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF *Piper betle* L. var *Rubrum* LEAVES ETHANOL EXTRACT CREAM ON FEMALE RABBIT INFECTED *Candida albicans* ATCC® 10231

Dwi Ningsih¹, Aneng Ardiya Sukmawanti¹, Gunawan Pamudji Widodo¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi

ABSTRAK

Tanaman sirih merah (*Piper betle* L. var *Rubrum*) merupakan salah satu tanaman yang secara turun temurun digunakan sebagai antijamur. Flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan minyak atsiri yang terkandung di dalamnya diduga mempunyai aktivitas antijamur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antijamur krim ekstrak etanol 96% daun sirih merah terhadap *Candida albicans* ATCC® 10231 pada kelinci betina.

Uji efek antijamur *Candida albicans* ATCC® 10231 dilakukan dengan menginfeksi vagina kelinci *New Zealand White* dengan jamur *Candida albicans* ATCC® 10231. Empat puluh delapan jam setelah infeksi, vagina diolesi krim ekstrak etanol 96% daun sirih merah konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, dan ketokonazol 2% sebagai kontrol positif. Gejala klinis yang timbul pada vagina kelinci selama penyembuhan diamati dan jumlah koloni jamur dari vagina kelinci dihitung. Data yang diperoleh dianalisa dengan metode analisis varian satu jalan dengan taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji SNK.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa krim ekstrak etanol 96% daun sirih merah | 2,5%, 5%, dan 10% mempunyai efek antijamur. Krim dengan konsentrasi 10% pa sebagai antijamur.

Kata kunci : antijamur, *Piper betle* L. var *Rubrum*, *Candida albicans*, ekstrak etanol 96%

ABSTRACT

Piper betle L. var *Rubrum* be one of herbal that have historically been used as an antifungal. Flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, and essential oils that consisting in it was expected have antifungal activity. The study aim to determine the antifungal activity of *Piper betle* L. var *Rubrum* leaves ethanol extract cream on female rabbit infected *Candida albicans* ATCC® 10231.

The antifungal experiment of *Piper betle* L. var *Rubrum* done by infecting vagina *New Zealand White* rabbits with *Candida albicans* ATCC® 10231. Forty-eight hours after infection, vaginal smeared with 96% ethanol extract of *Piper betel* leaf concentration of 2.5%, 5%, 10%, and ketoconazole 2% as a positive control. Clinical symptoms that arise in the rabbit vagina during healing were observed and the number of fungal colonies of rabbit vagina calculated. The data obtained were analyzed with Anova methods with significant level of 95%, followed by SNK test.

The results showed that 96% ethanol extract cream *Piper betel* leaf concentration of 2.5%, 5%, and 10% have antifungal effect. Cream with a 10% concentration was the most effective as an antifungal.

Keyword : antifungal, *Piper betle* L. var *Rubrum*, *Candida albicans*, ethanol extract

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi jamur kulit cukup banyak ditemukan di Indonesia yang merupakan negara beriklim tropis. Salah satu penyebab infeksi jamur adalah *Candida sp.*, disebut kandidiasis, dapat bersifat akut maupun subakut. Penyakit kandidiasis banyak dihubungkan dengan aneka faktor, seperti keadaan kulit yang lembab, pemakaian obat-obat antibiotika, steroid dan sitostatika, perubahan fisiologis tubuh pada kehamilan, penyakit-penyakit menahun dan kelemahan umum, gangguan endokrin, dan obesitas serta keadaan malnutrisi (Harahap, 2000).

Penyebab terbanyak kandidiasis adalah spesies *Candida albicans* yang dapat diisolasi dari kulit, mulut, mukosa, vagina atau feses orang normal. *Candida albicans* dapat menginfeksi kulit, kuku, vagina, paru-paru, dan rongga mulut. Penyakit ini dapat ditemukan di seluruh dunia dan dapat menyerang semua umur, baik laki-laki maupun perempuan (Kuswidji, 1983). Kandidiasis vagina atau vaginitis oleh *Candida* merupakan kelainan pada vulva dengan gambaran klinis antara lain adanya hiperemi pada introitus vagina dan dinding vagina, pada stadium lanjut labia minora membengkak, adanya sekret vagina encer dan menjadi kental, sekret vaginaberwarna kuning hingga hijau, keluhan utama rasa gatal pada malam hari (Soeprihatin, 1982).

Sirih merah merupakan salah satu jenis tanaman yang secara empiris berkhasiat mengurangi sekresi

pada liang vagina atau keputihan akut. Kandungan kimia daun sirih merah adalah flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan minyak atsiri (Sudewo, 2005).

Sediaan topikal merupakan sediaan yang sering digunakan untuk pengobatan kandidiasis. Bentuk sediaan krim lebih disukai karena lebih mudah menyebar rata pada kulit dan lebih mudah dibersihkan dengan air.

Pada penelitian ini akan dikaji tentang efek antijamur sediaan krim ekstrak daun sirih merah terhadap *Candida albicans*. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan data ilmiah tentang antijamur sediaan krim daun sirih merah terutama untuk infeksi *Candida albicans*, sebagai pendekatan terhadap pemakaian obat tradisional agar dapat dikembangkan menjadi fitofarmaka.

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

Daun sirih merah diambil dari daerah Kampung Baru, Surakarta, Jawa Tengah, penyari etanol 96%, bahan basis krim yang terdiri dari asam stearat, cera alba, vaselin album, TEA, propilenglikol diperoleh dari Brataco, Surakarta, jamur uji *Candida albicans* dan medium SGA (*Sabaroud Glukose Agar*) diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Hewan uji kelinci betina putih (New Zealand White) berumur ± 4

bulan, bobot badan 1,5-2,0 kg diambil dari UPT kelinci Balai Kambang, Surakarta, Dinas Peternakan Propinsi Jawa Tengah.

2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah *Coloni Counter*, cawan petri, jarum Ose, kapas lidi steril, tabung, pinset, lampu spiritus dan rak tabung, beaker glass, kasa steril, mortir, stamper, pot dan oven.

B. Jalannya Penelitian

Pembuatan ekstrak maserasi serbuk daun sirih merah

Serbuk daun sirih merah ditimbang sebanyak 200 gram, dimasukan ke dalam botol coklat, kemudian ditambahkan pelarut etanol 96 % sampai semua serbuk terendam. Selama 5 hari botol dikocok sebanyak 3 kali sehari dengan lama pengocokan 30 menit (Anief 1987).

Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun sirih merah

Identifikasi kandungan kimia dalam ekstrak dilakukan terhadap golongan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan minyak atsiri menggunakan pereaksi warna.

Pembuatan krim

Ekstrak etanol 96% daun sirih merah diformulasi dalam sediaan krim menggunakan basis vanishing krim dengan 3 variasi konsentrasi sebesar 2,5%, 5%, dan 10%.

Pengujian Mutu Fisik krim

Uji stabilitas krim.

Sediaan krim ekstrak etanol 96% daun sirih merah diuji stabilitasnya dengan memperhatikan warna, bau

dan konsistensi selama 4 minggu penyimpanan.

Uji homogenitas krim.

Sediaan krim ekstrak etanol 96% daun sirih merah diuji homogenitasnya dengan mengoleskan krim pada kaca obyektif, diamati secara mikroskopis perubahan ukuran diameter globul minyak.

Uji tipe krim.

Penentuan jenis krim dengan beberapa uji yaitu metode warna, metode pengenceran, percobaan pencucian, percobaan cincin.

Metode warna.

Diambil beberapa tetes larutan bahan pewarna dalam air (metilen biru) dicampurkan ke dalam sampel, jika seluruh krim berwarna seragam, maka terdapat suatu krim dari jenis M/A. Uji tipe A/M dengan bahan pewarna larut lipid yaitu dengan larutan Sudan III dalam minyak.

Metode pengenceran.

Sedikit air diberikan ke dalam sebuah botol krim dan setelah pengocokan atau pengadukan diperoleh kembali suatu krim homogen, maka terdapat jenis M/A.

Percobaan pencucian.

Hanya krim M/A dapat dengan mudah dicuci air dari tangan atau barang. Penghilangan suatu krim A/M dengan air sulit dilakukan.

Percobaan cincin.

Satu tetes krim yang diuji diberikan pada kertas saring, maka krim M/A setelah waktu singkat menunjukkan sebuah cincin air disekeliling tetesan.

Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231

Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 dari biakan murni ditanam pada media SGA yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam akan terbentuk koloni lunak berwarna krem, yang mempunyai bau seperti ragi. Biakan muda membentuk tabung bening bila diinokulasikan dalam serum selama 3 jam pada 37°C (Jawetz *at al.*, 2007).

Uji efek antikandidiasis

Suspensi *Candida albicans* diinfeksi dengan cara dioleskan pada vagina kelinci. Pengamatan munculnya infeksi pada vagina dilakukan setelah 24 jam dengan mengamati munculnya gejala-gejala klinis hiperemi seperti vagina memerah, membengkak, keluarnya sekret dari vagina serta dipertegas dengan menggoreskan sekret dari vagina kelinci pada media SGA lalu diinkubasi kemudian diamati koloni jamur yang tumbuh.

Pemberian perlakuan dilakukan setelah 48 jam dengan cara dioleskan 2 kali sehari pada vagina kelinci yang telah terinfeksi terbagi dalam 5 kelompok yaitu :Kelompok I-III krim ekstrak etanol96% daun sirih merah (konsentrasi 2,5 %, 5 %, 10 %), Kelompok IV (kontrol pembanding Ketokonazol 2 %),Kelompok V (kontrol negatif).

Pengamatan hasil uji efek antikandidiasis

Pengamatan makroskopis

Pengamatan makroskopis dilakukan dengan cara mengamati

gejala-gejala klinis yang muncul pada vagina kelinci yang terinfeksi jamur *Candida albicans* seperti adanya vagina memerah, bengkak, luka-luka kecil dan cairan atau sekret kental pada vagina kelinci selama pemberian pengobatan dengan krim ekstrak etanol96% daun sirih merah.

Pengamatan secara mikroskopis.

Perhitungan jumlah koloni.

Pengamatan secara mikroskopis dilakukan dengan cara menghitung jumlah pertumbuhan jamur menggunakan *Coloni Counter* agar mengetahui jumlah koloni jamur pada vagina kelinci setelah pengobatan dengan pemberian krim ekstrak etanol96% daun sirih merah, dengan krim Ketokonazol 2 % dan tanpa perlakuan.

Cara kerja untuk menghitung angka koloni jamur *Candida albicans* adalah menyiapkan 4 buah tabung yang telah diisi dengan 9 ml NaCl fisiologis, untuk membuat pengenceran sampel dari 10^{-1} - 10^{-4} , pada tabung yang pertama ditambahkan sampel jamur *Candida albicans* yang diambil dari vagina kelinci menggunakan kapas lidi steril yang akan diperiksa sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} , dari tabung yang pertama diambil 1 ml dimasukkan pada tabung yang kedua sampai mendapatkan pengenceran 10^{-2} , demikian seterusnya sampai mendapatkan pengenceran 10^{-4} , dari masing-masing tabung pengenceran diambil 1 ml dan dimasukkan pada tiap- tiap cawan petri steril secara aseptis. Kemudian pada tiap-tiap cawan petri ditambah media SGA

yang sudah dicairkan (suhu 45–50°C), digoyang-goyang agar suspensi tersebar merata, lalu dibiarkan memadat. Setelah memadat masing-masing cawan petri diinkubasi secara terbalik pada suhu kamar selama 24 jam, kemudian menghitung jumlah koloni menggunakan alat *Coloni Counter*.

Sterilitas larutan pengencer dan media diketahui dengan melakukan uji blanko, yaitu ke dalam petri dituangkan 1 ml larutan pengencer ditambahkan media SGA ± 20 ml, dibiarkan memadat kemudian diinkubasi selama 24 jam lalu diamati (Fardiaz, 1989).

Pengamatan kesembuhan

Pengamatan kesembuhan infeksi jamur *Candida albicans* dilakukan dengan menentukan lama waktu penyembuhan kandidiasis pada vagina kelinci menggunakan krim ekstrak etanol 96% daun sirih merah dan menghitung jumlah penurunan jamur *Candida albicans* setelah pemberian krim ekstrak etanol 96% daun sirih merah.

Pengamatan pertumbuhan jamur pada kelinci yang telah sembuh

Pengamatan mikroskopis ini dilakukan untuk menyatakan bahwa kelinci benar-benar telah sembuh dari kandidiasis. Pengamatan dilakukan dengan cara sekret vagina kelinci yang telah sembuh diambil dengan

lidi kapas steril kemudian digoreskan pada medium SGA lalu diinkubasi selama 24 jam, apabila setelah diinkubasi pada medium SGA tidak ditumbuhi jamur, berarti krim ekstrak etanoldaun sirih merah efektif.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil pembuatan ekstrak daun sirih merah

Hasil prosentase bobot kering terhadap bobot basah daun sirih merah dari bobot basah sebanyak 1000 gram didapatkan bobot kering 131,202 dengan rendemen sebesar 13,12%, dengan rata-rata kadar air serbuk sebesar 8,90%.

Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol 96%

Berdasarkan hasil identifikasi kimia, terbukti bahwa ekstrak etanol 96% daun sirih merah mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan minyak atsiri.

Hasil pengujian krim ekstrak etanol daun sirih merah

Hasil uji stabilitas krim ekstrak etanol daun sirih merah.

Tabel 5 menunjukkan bahwa krim ekstrak etanol 96% daun sirih merah dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 10% setelah penyimpanan selama 4 minggu dan dilakukan pengamatan setiap minggu tidak terjadi perubahan warna dan bau, yang berarti tidak ada perubahan fisik selama penyimpanan.

Tabel 2. Hasil pembuatan ekstrak etanol 96% daun sirih merah

No.	Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (% b/b)
1.	50,00	6,096	12,192
2.	50,00	6,080	12,160
		Rata-rata	12, 171

Tabel 5. Hasil uji stabilitas krim ekstrak etanol daun sirih merah

Konsentrasi		Pengamatan krim (minggu)				
		0	1	2	3	4
2,5%	Bau	K	K	K	K	K
	Warna	HM	HM	HM	HM	HM
	Konsistensi	T	T	T	T	T
5%	Bau	K	K	K	K	K
	Warna	H	H	H	H	H
	Konsistensi	T	T	T	T	T
10%	Bau	K	K	K	K	K
	Warna	HT	HT	HT	HT	HT
	Konsistensi	T	T	T	T	T

Keterangan :

K : Khas

H : Hijau

HM : Hijau Muda

HT : Hijau Tua

T : Tetap

Hasil uji homogenitas krim

Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa krim ekstrak etanol 96% daun sirih merah menunjukkan ukuran globul minyak yang stabil.

Hasil uji tipe krim

Tabel 7 menunjukkan bahwa krim ekstrak etanol daun sirih merah mempunyai tipe M/A.

Tabel 7. Hasil uji tipe krim ekstrak etanol daun sirih merah

Metode	Test	Hasil Uji	
		Krim ekstrak etanol daun sirih merah dengan basis M/A	Pustaka (Voigt, 1994)
1. Warna	+ metilen biru	Berwarna biru homogen	Berwarna biru homogen
	+ larutan sudan III	Berwarna merah tidak homogen	Berwarna merah tidak homogen
2. Pengenceran	+ sedikit air (aduk)	Diperoleh krim yang homogen	Diperoleh krim yang homogen
3. Pencucian	Krim dioleskan ditangan lalu dicuci dengan air	Mudah dicuci dengan air	Mudah dicuci dengan air
4. Percobaan cincin	Satu tetes krim ditempatkan pada kertas saring	terbentuk cincin air disekeliling tetesan	terbentuk cincin air disekeliling tetesan

Hasil identifikasi *Candida albicans*

Candida albicans dari biakan murni ditanam pada medium sabouraud diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam, terbentuk koloni-koloni lunak berwarna krem yang mempunyai bau seperti ragi. Koloni diletakkan dalam serum selama 3 jam pada suhu 37°C, biakan membentuk tabung-tabung benih (*Germ Tube*).

Hasil pengamatan gejala klinis yang muncul pada vagina kelinci selama penyembuhan dapat dilihat pada tabel 8.

Efek penyembuhan dapat dilihat dari cepat sembuhnya infeksi karena jamur *Candida albicans* yang dapat diamati dengan berkurangnya gejala klinis hiperemi seperti vagina memerah, vagina membengkak, nanah atau sekret pada vagina, dan kesembuhan total dari kandidiasis vaginal pada kelinci betina dalam ukuran hari dan perhitungan jumlah koloni jamur dengan dibandingkan pada kontrol positif dan kontrol negatif.

Tabel 8. Hasil pengamatan gejala klinis dan perkembangan infeksi *Candida albicans* pada vagina kelinci

Sampel	Replikasi	Pengamatan gejala klinis infeksi <i>Candida albicans</i> setelah pengobatan pada hari ke :										
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Konsentrasi 2,5%	1	a	abc	abc	abc	d	de	def	def	def	s	s
	2	a	abc	abc	abc	d	de	de	def	def	s	s
	3	a	abc	abc	d	de	de	def	def	def	s	s
Konsentrasi 5%	1	a	abc	abc	de	def	def	def	s	s	s	s
	2	a	abc	abc	de	def	def	def	s	s	s	s
	3	a	abc	abc	de	def	def	s	s	s	s	s
Konsentrasi 10%	1	a	abc	d	de	def	s	s	s	s	s	s
	2	a	abc	d	de	def	def	s	s	s	s	s
	3	a	abc	d	def	def	s	s	s	s	s	s
Kontrol Positif	1	a	abc	d	de	def	def	s	s	s	s	s
	2	a	abc	d	def	def	s	s	s	s	s	s
	3	a	abc	d	de	def	s	s	s	s	s	s
Kontrol Negatif	1	a	abc	abc	abc	d	d	de	de	def	def	def
	2	a	abc	abc	abc	d	d	de	de	def	def	s
	3	a	abc	abc	abc	d	d	de	de	def	def	s

Keterangan

a : Vagina merah dan membengkak
 b : Bercak-bercak putih pada vagina
 c : Sekret vagina encer sampai kental
 s : Sembuh

d : Berkurangnya hiperemi
 e : Luka pada vagina mengering
 f : Berkurangnya sekret pada vagina

Pengujian antikandidiasis krim ekstrak etanol 96% daun sirih merah Hasil pengamatan secara makroskopis



Gambar.3 . a. Luka dan adanya nanah pada vagina kelinci setelah infeksi, b. Sekret kental dan berwarna kuning pada vagina kelinci, c dan d. Vagina kelinci setelah diberikan perlakuan

Hasil pengamatan secara mikroskopis Hasil pengamatan perhitungan jumlah koloni jamur *Candida albicans*

Hasil analisa statistik terhadap data koloni pada perlakuan hari ke-4 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dengan kontrol negatif, hal ini membuktikan bahwa krim ekstrak etanol daun sirih merah mempunyai daya sembuh terhadap kandidiasis. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah koloni candida sp antara ketokonazol 2% dengan krim ekstrak etanol 96% daun sirih merah dengan konsentrasi 10% pada perlakuan hari ke 4, 6 dan 8. Hari ke-10 perlakuan menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah koloni antara ketokonazol 2% dengan krim ekstrak

etanol 96% daun sirih merah dengan konsentrasi 2.5%, 5%, dan 10% .

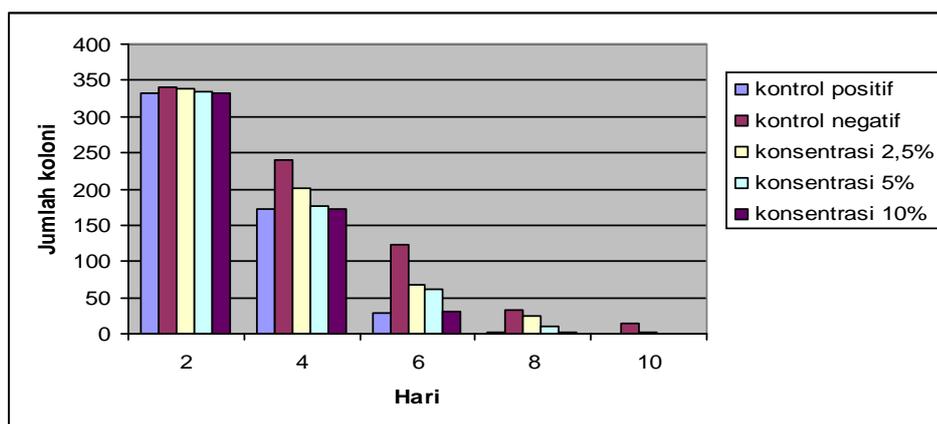
Hasil pengamatan goresan dari vagina kelinci yang telah sembuh

Pengamatan secara mikroskopi dilakukan lagi pada vagina kelinci yang sudah sembuh. Sekret dari vagina kelinci yang telah dinyatakan sembuh atau tidak menunjukkan lagi gejala-gejala klinis pada vagina kelinci diambil menggunakan kapas lidi steril lalu digoreskan pada medium SGA kemudian diinkubasi selama 24 jam. Hasil inokulasi dari vagina kelinci yang sudah sembuh pada medium SGA memberikan hasil tidak adanya jamur *Candida albicans* yang tumbuh pada medium SGA.

Gambar 15 berikut menunjukkan perbedaan pengamatan hasil inokulasi goresan dari sekret

Tabel 9.Data pengamatan perhitungan jumlah koloni *Candida albicans*

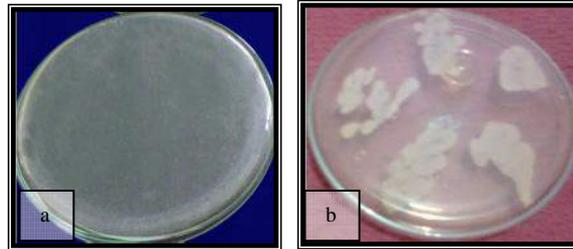
Sampel	Jumlah rata-rata koloni <i>Candida albicans</i> (10 ⁴ koloni/ml) setelah perlakuan pada hari ke-				
	2	4	6	8	10
Krim Ketokonazol 2%	333	173	29	3	0
Kontrol (-)	340	240	124	32	15
Krim Ekst. Etanol sirih merah Konsentrasi 2,5%	339	201	68	25	2
Krim Ekst. Etanol sirih merah Konsentrasi 5%	334	177	61	11	0
Krim Ekst. Etanol sirih merah Konsentrasi 10%	332	173	30	3	0

**Gambar 1.** Grafik jumlah koloni *C. albican*

vagina kelinci. Gambar B menunjukkan adanya pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada medium SGA yang merupakan hasil inokulasi dari sekret vagina kelinci yang masih terinfeksi oleh jamur *Candida albicans*, sedangkan pada gambar A pada medium menunjukkan tidak ada lagi koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh hasil ini menunjukkan bahwa vagina kelinci telah sembuh dari infeksi.

Analisis Waktu Sembuh.

Pengamatan yang telah dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis didapatkan bahwa lama pengobatan dengan krim ekstrak etanol 96% daun sirih merah konsentrasi 10% menyembuhkan kandidiasis dalam 7 hari, konsentrasi 5% menyembuhkan dalam 9 hari, konsentrasi 2,5% menyembuhkan dalam 11hari, kontrol positif negatif sembuh dalam 12 hari, ketokonazol 2% dalam 7 hari, sama dengan waktu pengobatan menggunakan konsentrasi 10%.



Gambar 2. Hasil inokulasi goresan dari sekret vagina

Keterangan a : Hasil inokulasi goresan dari sekret vagina yang telah sembuh.
b: Hasil inokulasi goresan dari sekret yang terinfeksi oleh *Candida albicans*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan:

Pertama, krim ekstrak etanol 96% daun sirih merah memiliki aktivitas antijamur pada vagina kelinci betina yang diinfeksi *Candida albicans*.

Kedua, krim ekstrak etanol 96% daun sirih merah dengan konsentrasi 10% efektif menyembuhkan punggung kelinci yang diinfeksi *Candida albicans*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ansel. H.C.. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Diterjemahkan oleh Ibrahim. F.. Edisi IV. UI Press. Jakarta. hal 605. 607 - 608.
- [Departemen Kesehatan]. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- [Departemen Kesehatan]. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- [Departemen Kesehatan]. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. hal 6.
- Budimulya. U.. Sunoto dan Tjokronegoro. A.. 1983. *Penyakit Jamur Klinis, Epidemiologi. Diagnosis dan Terapi*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. hal 9-12. 41. 42.
- Fardiaz. S.. 1992. *Mikrobiologi Pangan* .,Jakarta.PT. Gramedia Pustaka Utama. hal 150-158.
- Jawetz. E.. Melnick. J.L.. and Adelberg. E.A.. 2007. *Medical Microbiology*. 23 th Ed. diterjemahkan oleh Retna Neary Elferia. Jakarta. hal 635 – 658, 665 – 667.
- Arsh. R. W.. 1997. *Systemic Fungisides*. Second Edition. Longman. London. hal 131-133.
- Pradhan D, Suri KA, Pradhan DK, Biswasroy P., 2013, Golden Heart of the Nature: *Piper betle* L., *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(6).
- Puspitasari, D., Apriasari, M.L., 2012, Antifungal test of Piper betle linn leaf 35% on *Candida*

- albican*, *Jurnal PDGI* 61 (2) Hal. 53-56
- Sirait. M.. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. ITB Press. Bandung. hal 56 – 65, 72.
- Siregar.. 1995. *Penyakit Jamur Kulit*. FK UNSRI. EGC. Jakarta. hal 28-29.
- Sudarmadji. S.. Haryono. B.. Suhardi.. 1997. *Bahan Makanan dan Pertanian*. Edisi IV. Liberty. Yogyakarta. hal 99.
- Sudewo. B.. 2005. *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*. Argo Media Pustaka. Jakarta. hal 35, 40 – 45, 94.
- Trakranrungsiea N,
Chatchawanchonteerab A,
Khunkittic W., 2008,
Ethnoveterinary study for
antidermatophytic activity of
Piper betle, *Alpinia galanga* and
Allium ascalonicum extracts *in vitro*. *Research in Veterinary Science*; 84(1):80-84.
- Tripathi S, Verma NK, Singh DP, Chaudhary SK., 2011, *Piper betle*: Phytochemistry Traditional Use & Pharmacological Activity – A Review. *IJPRD*; 4(4):216-223.
- Voigt. R.. 1994. *Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soendarim Noerono. Edisi V. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. hal 561 – 563, 565 – 566.