

Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.), Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.), dan Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*

Zuraidah^{1*}, Adi Gunawan¹, Elita Agustina¹

¹Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Tarbiyah, UIN Ar-Raniry Banda Aceh
E-mail: zuraidah.ibrahim@ar-raniry.ac.id

Abstract

Betel leaf (Piperaceae) has antiseptic and anti-fungal properties that have long been recognized by the public. Betel leaf extract has been widely reported as an anti-fungal agent such as the Candida albicans fungus. The fungus Candida albicans is a normal flora of the human body that causes candidiasis. This study used extracts of three types of betel leaf, namely green betel leaf (Piper betle L.), red betel leaf (Piper crocatum Ruiz & Pav), and forest betel leaf (Piper aduncum L.) to inhibit the growth of the Candida albicans. in vitro. The research objective was to determine the effect of giving betel leaf extract on the growth of the Candida albicans. This study used the disc diffusion method and completely randomized design (CRD) with five treatments and four repetitions. Collecting data by measuring the clear zone formed in each treatment. Average measurement results for red betel = 28.7, forest betel = 13.00, red betel = 15.46, K + = 34.92, and K- = 0. The results of the Duncan Distance Difference Test showed that each treatment had a very significant effect in inhibiting the growth of the Candida albicans. Thus it is proven that the betel leaf extract (Piper sp.) Affects the growth of the Candida albicans.

Keywords: betel leaf extract, clear zone, Candida albicans

PENDAHULUAN

Sekitar 300 dari perkiraan 1,5 juta spesies jamur telah dilaporkan virulen terhadap manusia. Jamur patogen ini dapat menyebabkan infeksi invasif (fungaemia, meningitis), kondisi kronis (aspergillosis paru, asma), dan infeksi superfisial berulang (kandidiasis oral dan vagina). Jamur patogen dapat menyerang jutaan orang setiap tahun, dan jumlah keseluruhan kematian diperkirakan sekitar 1,350,000 kematian per tahun. Spesies yang termasuk dalam genera *Candida*, *Aspergillus*, dan *Cryptococcus* adalah penyebab infeksi invasif yang paling umum, dengan *Candida* sebagai penyebab penyakit jamur invasif yang paling umum di negara-negara berkembang, yakni kandidiasis (Brown et al., 2012). *Candida albicans* adalah jamur patogen yang bersifat komensal dalam saluran pencernaan

dan genitourinari dan merupakan mikroflora pada oral dan konjungtiva. *Candida albicans* dapat menyebabkan infeksi ketika sistem kekebalan tubuh terganggu. Infeksi ini dapat bersifat superfisial dan mempengaruhi kulit atau selaput lendir atau dapat menyerang aliran darah dan menyebar ke organ dalam (Spampinato & Leonardi, 2013). Meskipun obat anti jamur yang digunakan dalam perawatan klinis telah beragam dan banyak, namun hanya beberapa kelompok agen anti jamur yang saat ini tersedia untuk mengobati infeksi mukosa atau sistemik yang disebabkan oleh *Candida* spp. (Kathiravan, *et al.*, 2012)

Pemanfaatan bahan alami sebagai zat penghambat merupakan suatu langkah untuk *back to nature*. Bahan alami yang digunakan berupa ekstrak beberapa jenis sirih yaitu ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.), ekstrak sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.), dan ekstrak sirih hutan atau daun seserehan (*Piper aduncum* L.). Secara tradisional, daun sirih sudah diketahui khasiatnya dan digunakan sejak zaman dahulu sebagai tanaman obat dalam kebutuhan sehari-hari. Sirih merupakan tumbuhan herbal yang mudah ditemukan karena mudah dikembangbiakkan. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, daun sirih berfungsi untuk mengobati sariawan dan keputihan, bahkan sering digunakan untuk obat kumur (Rahmah & Rahman, 2010), atau antiseptik sebagai penyembuh luka bakar karena mengandung senyawa saponin (Trisnaningtyas, 2010) dan juga sebagai zat antimikroba atau penghambat pertumbuhan mikroba dan juga digunakan sebagai bahan utama atau bahan pokok dalam pembuatan obat herbal.

Daun sirih mengandung minyak atsiri yang komponen penyusunnya merupakan senyawa fenol yang mampu menjadi senyawa anti bakterisidal, fungisidal, maupun germisidal (Achmad & Suryana, 2009). Minyak atsiri dan ekstrak etanol daun sirih dilaporkan mempunyai aktifitas anti cendawan terhadap *Candida albicans* (Kusumaningtyas, dkk., 2008). Penggunaan ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi 80% dan 100% terbukti sangat mempengaruhi pertumbuhan *Candida albicans* (Rahmah & Rahman, 2010). Selama ini belum ada penelitian tentang penggunaan daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) terhadap isolat *Candida albicans*, tetapi sudah pernah dilakukan terhadap *Trichophyton mentagrophytes*. Djaenudin melaporkan bahwa penggunaan ekstrak etanol daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) dengan konsentrasi 0.8% dan 1% tidak terdapat pertumbuhan koloni jamur *Trichophyton mentagrophytes* (Gholib, 2009).

Pengobatan terhadap kandidiasis bisa dilakukan dengan menggunakan bahan alami seperti menggunakan daun sirih (Piperaceae). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa macam daun sirih untuk menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara in vitro yang nantinya penelitian ini bisa dijadikan informasi terhadap pengembangan pengobatan kandidiasis.

METODE PENELITIAN

Preparasi Isolat *Candida albicans*

Pembuatan stok *Candida albicans* dilakukan dengan menginokulasikan pada media *Sabouraud Dextrosa Agar* (SDA) dalam cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 hari dalam inkubator. Proses peremajaan isolat akan dilakukan dengan menggunakan metode kuadran untuk mendapatkan koloni terpisah, selanjutnya akan dilakukan uji kepastian dengan melakukan pewarnaan terhadap isolat jamur *Candida albicans* tersebut

Pembuatan Ekstrak Daun Sirih

Pembuatan ekstrak bermacam daun sirih dengan konsentrasi 100% dari 100 g daun sirih segar, yang telah dicuci dengan air mengalir dan dipotong-potong, lalu ditambahkan 100 ml akuades serta dihaluskan dengan blender. Ekstrak kasar ini disaring dengan menggunakan dua lapis kain kasa dan saringan. Ekstrak yang sudah di dapat disaring kembali dengan menggunakan kertas saring. Ekstrak

daun sirih 100% kemudian diencerkan menjadi 80% dan disterilkan di autoklave. Kemudian ekstrak daun sirih tersebut masing-masing dilakukan 2x pengenceran dengan memasukkan 1 ml ekstrak daun sirih ke dalam 9 ml akuades steril dalam tabung reaksi, kemudian diambil 1 ml dari pengenceran pertama dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril dalam tabung reaksi untuk pengenceran kedua, hal ini dilakukan pada masing-masing ekstrak daun sirih.

Uji Daya Hambat

Suspensi *Candida albicans* dioleskan secara merata pada permukaan media SDA yang sudah padat sebanyak 50 µl dengan menggunakan batang L steril hingga kering. Kertas cakram direndam pada masing-masing ekstrak sirih. Kertas cakram dibuat dari kertas saring dengan cara mengguntingnya dengan alat pemotong kertas sehingga didapatkan kertas cakram yang bulat. Kemudian kertas cakram ditiriskan sesaat di bagian pinggir cawan petri yang steril lalu di letakkan di bagian tengah media SDA yang sudah berisi isolat *Candida albicans*. Perlakuan tersebut dilakukan pada masing-masing ekstrak daun sirih dengan 4 kali ulangan dan pada masing-masing pengenceran. Kontrol positif menggunakan Ketokonazol 2% pada kertas cakram. Sedangkan kontrol negatif dengan menggunakan akuades steril pada kertas cakram. Setelah itu, diinkubasi selama 3 hari pada suhu 37⁰C, dan diamati pertumbuhannya serta zona bening yang terbentuk. Kemudian dilakukan pengukuran dengan menggunakan penggaris atau jangka sorong.

Analisis Data

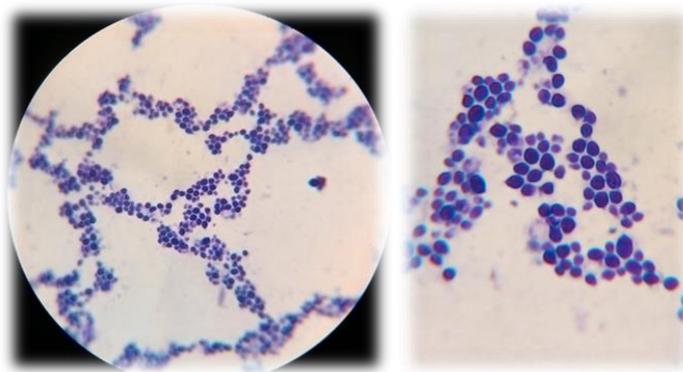
Data hasil pengamatan daya hambat dari berbagai jenis ekstrak daun sirih terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dianalisis dengan Analisis Sidik Ragam (Ansira) pada taraf 5% ($\alpha=0.05\%$) dan akan diuji dengan Uji Beda Jarak Duncan pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat uji *Candida albicans* dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Prodi Pendidikan Biologi FTK UIN Ar-Raniry Banda Aceh. Isolat diremajakan kembali dalam media SDA untuk melihat koloni dari *Candida albicans*.

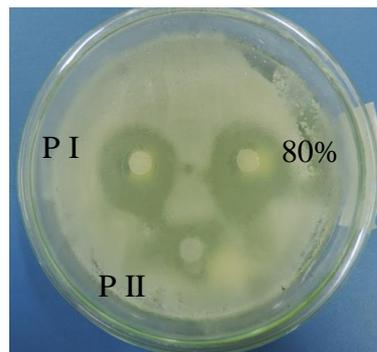


Gambar 1. Penampakan koloni *Candida albicans* pada media SDA.

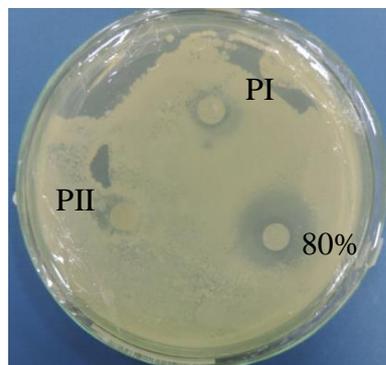


Gambar 2. Penampakan *Candida albicans* pada pewarnaan Gram dengan perbesaran 1000x.

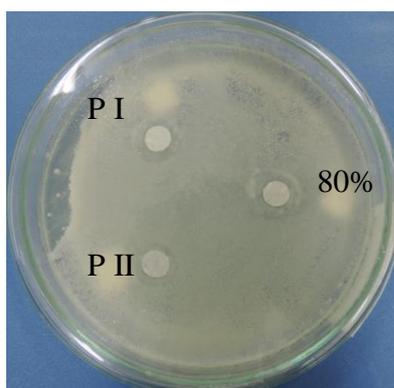
Daya hambat ekstrak daun sirih (*Piper sp.*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* dapat dilihat dari zona bening yang terbentuk. Daya hambat yang dihasilkan tergantung dari ekstrak yang diberikan dan juga konsentrasinya. Dengan melakukan dua kali pengenceran pada ekstrak daun sirih dari 80% terbukti bahwa semakin pekat ekstraknya maka semakin besar pula daya hambat yang dihasilkan, hal ini seperti yang terlihat pada gambar 3,4, dan 5



Gambar 3. Zona hambat yang terbentuk dengan penggunaan ekstrak daun sirih hijau. (PI) pengenceran pertama'; (PII) Pengenceran kedua.



Gambar 4. Zona hambat yang terbentuk dengan penggunaan ekstrak daun sirih merah. (PI) pengenceran pertama; (PII) Pengenceran kedua.



Gambar 5. Zona hambat yang terbentuk dengan penggunaan ekstrak daun sirih hutan. (PI) pengenceran pertama; (PII) Pengenceran kedua.

Tabel 1. Data Hasil Pengukuran Diameter Zona Bening yang Terbentuk dari Setiap Perlakuan

| Perlakuan | Ulangan | | | | Jumlah | Rataan |
|-------------|---------|---------|----------|---------|--------|--------|
| | I (mm) | II (mm) | III (mm) | IV (mm) | | |
| Sirih Hijau | 26.5 | 33.8 | 24.35 | 30.2 | 114.85 | 28.71 |
| Sirih Hutan | 13.9 | 16.95 | 10.05 | 11.125 | 52.03 | 13.00 |
| Sirih Merah | 19.95 | 10.15 | 16.525 | 15.225 | 61.85 | 15.46 |
| K+ | 41.95 | 31.7 | 37.8 | 28.225 | 139.67 | 34.92 |
| K- | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Jumlah | 102.3 | 92.6 | 88.725 | 84.775 | 368.4 | 92.1 |

Dari hasil pengukuran, rataan zona hambat yang paling besar terdapat pada sirih hijau dengan 28.71 mm, kemudian diikuti oleh ekstrak daun sirih merah dengan rataannya 15.46 mm selanjutnya sirih hutan dengan rataannya 13.01 mm seperti yang terlihat pada tabel 1. Namun dengan menggunakan ketokonazol 2% zona bening yang terbentuk lebih besar dengan rataannya 34.92 dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Tabel 2. Data Hasil Analisis Sidik Ragam Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*

| Jenis Sirih | Derajat Bebas | Jumlah Kuadrat | Kuadrat Tengah | F _{hitung} | F _{tabel} 5% | F _{tabel} 1% |
|-------------|---------------|----------------|----------------|---------------------|-----------------------|-----------------------|
| Perlakuan | 4 | 3021.99 | 755.4962 | 49.7232** | 3.01 | 4.77 |
| Galat | 16 | 243.105 | 15.19404 | | | |
| Total | 20 | 3265.09 | | | | |

Keterangan : ** = sangat berbeda nyata

Hasil perhitungan analisis sidik ragam adalah $F_{hitung} = 49.72$ apabila dibandingkan dengan daftar distribusi F. Harga ini adalah lebih besar dibandingkan dengan F_{tabel} dengan taraf signifikan $\alpha = 0.05$ (5%) dengan DK pembilang $V_1 = 4$ dan DK penyebut $V_2 = 16$ atau $F_{tabel} = 0.05 = 3.01$. Dengan demikian terbukti bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh ekstrak daun sirih terhadap daya hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

Tabel 3. Data Hasil Uji Beda Jarak Nyata Duncan

| Perlakuan | $\bar{x} \pm SD$ |
|-------------|---------------------|
| Sirih Hijau | 28,71 c \pm 33,27 |
| Sirih Hutan | 13,00 b \pm 15,19 |
| Sirih Merah | 15,46 b \pm 18,17 |
| K+ | 34,92 d \pm 40,64 |
| K- | 0 a \pm 0 |

Uji Beda Jarak Nyata Duncan menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah dan ekstrak daun sirih hutan tidak berbeda dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Sedangkan ekstrak daun sirih hijau menunjukkan pengaruh yang sangat berbeda sangat nyata antara perlakuan yang lain. Ekstrak daun sirih mempunyai kemampuan yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* tergantung dari jenis sirih, kandungan dari daun sirih dan konsentrasi yang digunakan. Pada penelitian ini menggunakan ekstrak dari tiga jenis daun sirih yaitu sirih hijau (*Piper betle* L.), sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dan sirih hutan (*Piper aduncum* L.). Penggunaan ekstrak sirih yang berbeda jenis maka kemampuan dalam menghambat pertumbuhan jamur akan berbeda pula, disebabkan kandungan dari masing-masing ekstrak daun sirih tersebut berbeda.

Penggunaan ekstrak daun sirih hijau dengan kosentrasi 80% membentuk zona bening yang lebih besar di bandingkan dengan penggunaan ekstrak yang sudah diencerkan yaitu dengan pengenceran pertama (PI) dan pengenceran kedua (PII). Begitu juga dengan penggunaan ekstrak daun sirih merah dan ekstrak sirih hutan pada kosentrasi 80% membentuk zona bening yang lebih besar. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar kosentrasi ekstrak yang digunakan semakin banyak dan beragam pula zat aktif yang terkandung di dalamnya. Sehingga mempengaruhi besarnya zona bening yang terbentuk dari setiap kosentrasi ekstrak. Pembentukan zona bening yang berbeda dari tiap ekstrak daun sirih yang digunakan karena kandungan dari zat antimikroba yang terkandung di dalam masing-masing jenis sirih itu berbeda dari unsurnya dan juga kosentrasi yang ada pada daun sirih tersebut. Zat-zat antimikroba tersebut berupa minyak atsiri, *fenil propane*, *klavikol*, *flavanoid*, tanin dan senyawa terpenoid yaitu monoterpen dan seskuiterpen, zat aktif inilah yang menjadi zat anti fungi yang menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Selain itu dapat juga dipengaruhi oleh daun sirih itu sendiri seperti asal tanaman, letak geografis, umur tanaman dan proses ekstraksi (Kusumaningtyas, dkk., 2008).

Kandungan yang paling berpengaruh sebagai senyawa yang bersifat anti fungi yang terkandung dalam daun sirih segar yaitu fenil propane (senyawa fenolik) (Rahmah & Rahman, 2010). Senyawa tersebut dapat menyebabkan denaturasi protein yaitu kerusakan struktur tersier protein penyusun dinding sel jamur sehingga akan mengakibatkan kelemahan fungsi protein dinding sel. Selain itu senyawa kavikol dan kavibetol yang merupakan turunan dari fenol yang mempunyai daya anti bakteri lima kali lipat dari fenol biasa (Harman, 2013). Hal ini juga seperti yang dilaporkan oleh Achmad bahwa senyawa fenol mampu memutuskan ikatan silang (*cross linkage*) peptidoglikan dalam usahanya menerobos dinding sel jamur (Achmad & Suryana, 2009). Protein merupakan senyawa yang berperan dalam seluruh kegiatan mekanisme fisiologi dari jamur *Candida albicans*. Terdenaturasinya protein dinding sel jamur tersebut akan menyebabkan kerapuhan dari dinding sel, sehingga akan mudah terlewati zat-zat aktif lainnya yang bersifat anti fungi.

Perbedaan kosentrasi dari senyawa fenol yang terkandung di dalam daun sirih juga menjadi faktor besar kecilnya zona bening yang akan dibentuk, seperti yang dilaporkan oleh Achmad (2009)

bahwa semakin banyak fenol maka aktifitas aktioksidan akan semakin meningkat. Dengan demikian maka semakin banyak senyawa fenol yang terkandung di dalam daun sirih maka akan semakin banyak dinding sel yang akan dirusak, sehingga menyebabkan pertumbuhan jamur menjadi lambat dan mati. Sel jamur yang mati akan membentuk zona bening pada media pertumbuhan. Oleh karena itu sirih hijau mengandung lebih banyak senyawa fenol dari ekstrak daun sirih merah dan hutan yang dilihat berdasarkan besarnya zona bening yang terbentuk.

Aktivitas *flavanoid* kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk mengganggu pembentukan pseudohifa selama proses perkembangan, membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut, dan dengan dinding sel sehingga menyebabkan terjadinya denaturasi protein dinding sel yang akhirnya akan menyebabkan kerapuhan dinding sel. *Flavonoid* diketahui telah disintesis oleh tanaman dalam responsnya terhadap infeksi mikroba sehingga tidak mengherankan kalau efektif secara *in vitro* terhadap sejumlah mikroorganisme. Walaupun demikian, belum diketahui senyawa dominan yang berfungsi sebagai anti kapang atau khamir yang terdapat pada daun sirih (Kusumaningtyas, dkk., 2008).

Tanin yang terkandung dalam daun sirih menjadi zat antifungi dengan cara menghambat kerja enzim-enzim termasuk enzim katalase. Dengan terhambatnya kerja enzim maka kegiatan metabolisme dan fisiologi sel akan terganggu sehingga proses reproduksi pun akan terhambat. Apabila yang dihambat yaitu enzim pembentuk ergosterol maka sel fungi tidak dapat mensintesis ergosterol yang mengakibatkan pembentukan membran plasma sel tidak terbentuk dengan sempurna dan fungsinya pun akan terganggu (Rahmah & Rahman, 2010).

Penggunaan ketokonazol 2% bertujuan sebagai pembanding terhadap daya hambat ekstrak daun sirih pada cendawan uji. Walaupun zona hambat yang pada ekstrak daun sirih hijau dengan rata-rata zona hambat 28.71 mm lebih kecil dari ketokonazol 2% dengan rata-rata zona hambat sebesar 34.92 mm, hal ini tidak menutup kemungkinan bahwa penggunaan ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 80% lebih optimal dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* karena ketokonazol 2% merupakan krim yang mengandung bahan aktif yang berfungsi sebagai anti cendawan sebanyak 2%, sedangkan 25% dalam ekstrak daun sirih hijau masih berupa campuran senyawa yang tidak semua berfungsi sebagai anti cendawan. Sehingga dapat dilakukan pengujian lebih lanjut terhadap senyawa aktif murni yang terkandung dalam ekstrak daun sirih hijau yang berfungsi sebagai anti cendawan.

Data hasil zona bening yang terbentuk kemudian dianalisis dengan menggunakan Analisis Sidik Ragam (Ansira), dan kemudian diuji lanjut dengan menggunakan Uji Beda Jarak Nyata Duncan dengan taraf 5%. Data analisis sidik ragam menunjukkan bahwa nilai F_{hitung} sebesar 49.72 dan nilai F_{tabel} pada taraf 5% sebesar 3,01 sehingga nilai F_{hitung} lebih besar daripada nilai F_{tabel} , dan dengan demikian bahwa terdapat pengaruh ekstrak daun sirih terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Hal tersebut menyatakan bahwa ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.), ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dan ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) dapat mempengaruhi pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Selanjutnya hasil analisis Uji Beda Jarak Nyata Duncan dengan taraf 5% menunjukkan bahwa setiap perlakuan menunjukkan perbedaan yang sangat nyata. Tetapi ekstrak daun sirih merah dan ekstrak daun sirih hutan disetiap perlakuan adanya perbedaan yang nyata antara setiap perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa setiap perlakuan memberi pengaruh yang sangat berbeda terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

Hasil penelitian ini memberikan informasi bahwa penggunaan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* yang merupakan agen utama penyebab keputihan (kandidiasis) sehingga ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) bisa dijadikan pencegahan untuk penyebaran atau infeksi oleh *Candida albicans*.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah bahwa pemberian ekstrak daun sirih (*Piper sp*) mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* pada semua perlakuan (ulangan).

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Suryana, I., 200). *Pengujian Aktivitas Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L.) terhadap Rhizoctonia sp. secara In Vitro*. Jurnal Bul. Littro. 20(1).
- Brown, G. D., Denning, D. W., Gow, N. A. R., Levitz, S. M., Netea, M. G., and White, T. C., 2012. *Hidden Killers: Human Fungal Infections*. Science Translational Medicine. 4(165): 165rv13-165rv13.
- Djuanda, A., Hamzah, M., dan Aisah, S., 200). *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*, Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Gholib, D., 2009. *Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Karuk (Piper sarmentosum Roxb.) dan Daun Seserehan (Piper aduncum L.) terhadap Trichophyton mentagrophyte*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor: Balai Besar Penelitian Veteriner.
- Harman, D. T. A., 2013. *Efektivitas Anti Bakteri Ekstrak Daun Sirih (Piper betle Linn) terhadap Bakteri Enterococcus faecalis (Penelitian In Vitro)*. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Kathiravan, et al., 2012. *The Biology and Chemistry of Antifungal Agents: A Review*. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 20(19): 5678– 5698.
- Kusumaningtyas, E., Widiati, R. R., dan Gholib, D., 2008. *Uji Daya Hambat Ekstrak dan Krim Ekstrak Daun Sirih (Piper betle) terhadap Candida albicans dan Trichophyton mentagrophytes*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor: Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Rahmah, N., Rahman, K. N., dan Aditya., 2010. *Uji Fungistatik Ekstrak Daun Sirih (Piper betle L.) terhadap Candida albicans*. Jurnal Bioscientae. 7(2).
- Spampinato, C., and Leonardi, D., 2013. *Candida Infections, Causes, Targets, and Resistance Mechanisms: Traditional and Alternative Antifungal Agents*. BioMed Research International. 1–13.
- Sutanto, I., Ismid, I. S., Sjarifuddin, K. P., dan Sungkar, S., 2008. *Buku Ajar Parasitologi Kedokteran Edisi keempat*, Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Trisnaningtyas, M. N., 2010. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) Topikal terhadap Peningkatan Ketebalan Epitel Luka Bakar Derajat II A pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Strain Wistar*. Jurnal Kesehatan. 23.