

**POTENSI ANTIJAMUR KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH
MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) DAN KELOPAK BUNGA
ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) TERHADAP *Candida albicans***

Laydiana Effendy

Farmasi

frezzlayz_1812@yahoo.com

Abstrak - Daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) dan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) telah diteliti dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Penelitian dilakukan untuk mengetahui potensi kombinasi ekstrak daun *Piper crocatum* Ruiz & Pav. dan kelopak bunga *Hibiscus sabdariffa* Linn. dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Kedua tanaman tersebut diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 80%. Uji daya hambat dilakukan dengan menggunakan metode difusi menggunakan *cylinder cup*. Untuk dapat melarutkan kedua ekstrak maka dicari pelarut yang dapat melarutkan kedua ekstrak. Oleh karena itu kedua ekstrak dilarutkan dalam DMSO (dimethyl sulfoxide) sehingga diperoleh konsentrasi 80.000 bpj, 160.000 bpj, 240.000 bpj, 320.000 bpj, 400.000 bpj. Dari penelitian ini, diketahui bahwa ekstrak kelopak bunga *H.sabdariffa* Linn. dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, sedangkan ekstrak daun *P.crocatum* Ruiz & Pav. yang dilarutkan dalam DMSO tidak dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Kesimpulan dari penelitian ini ekstrak daun *P.crocatum* Ruiz & Pav. dan kelopak bunga *H.sabdariffa* Linn. tidak dapat dikombinasi.

Kata Kunci : *Piper crocatum* Ruiz & Pav., *Hibiscus sabdariffa* Linn., *Candida albicans*, *antijamur*.

Abstract - Red betel leaf (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) and flower petals Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) has been observed to inhibit the growth of *Candida albicans*. The study was conducted to determine the potential of the combination of extracts of leaves of *Piper crocatum* Ruiz & Pav. and petals *Hibiscus sabdariffa* Linn. in inhibiting the growth of *Candida albicans*. Both plants were extracted by maceration method using 80% ethanol. The inhibition assay performed using the diffusion method using cylinder cup. To be able to extract the second dissolving solvent that can dissolve sought both extracts. Therefore both the extract was dissolved in DMSO (dimethyl sulfoxide) to obtain the concentration of 80,000 ppm, 160,000 ppm, 240,000 ppm, 320,000 ppm, 400,000 ppm. From this research, it is known that extracts of petals *H.sabdariffa* Linn. can inhibit the growth of *Candida albicans*, whereas leaf extract *P.crocatum* Ruiz & Pav. dissolved in DMSO did not inhibit the growth of *Candida albicans*. The conclusion of this study leaf extract *P.crocatum* Ruiz & Pav. and petals *H.sabdariffa* Linn. can't be combined.

Keywords : *Piper crocatum* Ruiz & Pav., *Hibiscus sabdariffa* Linn., *Candida albicans*, *antijamur*.

PENDAHULUAN

Daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) mengandung senyawa-senyawa yang memiliki efek antibakteri yaitu flavonoid, senyawa polifenolat, tanin dan minyak atsiri (Sudewo, 2007). Penelitian yang telah dilakukan Juliantina dkk pada tahun 2009 membuktikan bahwa ekstrak etanol *P.crocatum* Ruiz & Pav. pada konsentrasi 25% mampu menghambat pertumbuhan dan membunuh *Staphylococcus aureus* (gram positif), sedangkan pada konsentrasi 6,25% mampu menghambat pertumbuhan dan membunuh *Escherichia coli* (gram negatif). Pemanfaatan daun *P. crocatum* Ruiz & Pav. telah dikembangkan dalam bentuk sediaan sabun yang diperuntukkan bagi daerah kewanitaan yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans* sebagai penyebab keputihan.

Tanaman lain yang memiliki efek antibakteri yaitu kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) yang terbukti efektif menghambat pertumbuhan *Candida albicans* pada konsentrasi 30% pada penelitian yang dilakukan Asviana Tanjung pada tahun 2011. Efek antifungi ini juga disebabkan kandungan flavonoid yang terdapat pada kelopak bunga *H.sabdariffa* Linn.

Karena efek antijamur yang dimiliki oleh kedua tanaman ini, maka dilakukan penelitian untuk melihat potensi kombinasi tanaman *H.sabdariffa* Linn. dan *P. crocatum* Ruiz & Pav. dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dan diharapkan kombinasi kedua ekstrak tanaman ini dapat meningkatkan efek antijamur.

Rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu:

1. Berapakah konsentrasi ekstrak etanol *H.sabdariffa* Linn. yang dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*?
2. Berapakah konsentrasi ekstrak etanol *P.crocatum* Ruiz & Pav. yang dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*?
3. Bagaimana potensi kombinasi ekstrak etanol *H.sabdariffa* Linn. dan *P. crocatum* Ruiz & Pav. dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*?

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak etanol *H.sabdariffa* Linn. yang dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak etanol *P.crocatum* Ruiz & Pav. yang dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.
3. Untuk mengetahui potensi kombinasi ekstrak etanol *H.sabdariffa* Linn. dan *P.crocatum* Ruiz & Pav. dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

METODE PENELITIAN

a.Sampel Penelitian

Sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *Piper crocatum* Ruiz & Pav. dan kelopak bunga *Hibiscus sabdariffa* Linn. yang diambil dari desa Pontang, Kecamatan Ambulu, Kabupaten Jember, Jawa Timur pada bulan Juli 2012. Daun *P. crocatum* Ruiz & Pav. dan kelopak bunga *H. sabdariffa* Linn. dikeringkan kemudian diserbuk.

b. Variabel Penelitian

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi larutan ekstrak *P.crocatum* Ruiz & Pav. dan *H.sabdariffa* Linn., sedangkan variabel tergantung adalah besarnya diameter hambatan pada cawan petri.

c. Tahap Pembuatan Ekstrak

Proses pembuatan ekstrak etanol Daun *P.crocatum* Ruiz & Pav. dan *H.sabdariffa* Linn. masing-masing dilakukan secara bertahap. Simplisia yang telah dikeringkan dan diserbuk, ditambah dengan etanol 80% 1500 ml kemudian diaduk dengan menggunakan pengaduk elektrik selama ± 1 jam kemudian didiamkan selama 24 jam, disaring dan diperoleh filtrat. Ampasnya ditambah dengan etanol 80% sebanyak 900 ml, dilakukan ekstraksi dengan cara sama dan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Ampas terakhir dibuang dan semua filtrat dicampur homogen. Ekstrak hasil maserasi kinetik dihilangkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* ($\pm 70^{\circ}\text{C}$) dan dilanjutkan di *waterbath* ($\pm 60^{\circ}\text{C}$) sampai didapatkan ekstrak kental. Hasil ekstrak etanol yang didapat disimpan dalam eksikator.

d. Tahap pembuatan Larutan Uji

Ekstrak Daun *P.crocatuim* Ruiz & Pav. dan kelopak bunga *H.sabdariffa* Linn. dilarutkan dalam DMSO, pelarut yang dapat melarutkan kedua ekstrak dan masing-masing dibuat konsentrasi:

400.000 bpj, 320.000 bpj, 240.000 bpj, 160.000 bpj, dan 80.000 bpj.

Larutan kombinasi *H. sabdariffa* Linn. dan *P.crocatum* Ruiz & Pav.

Larutan kombinasi I = larutan *H. sabdariffa* Linn. 320.000 bpj 0,5 ml + larutan *P.crocatum* Ruiz & Pav. 80.000 bpj 0,5 ml

Larutan kombinasi II = larutan *H. sabdariffa* Linn. 240.000 bpj 0,5 ml + larutan *P.crocatum* Ruiz & Pav. 160.000 bpj 0,5 ml

Larutan kombinasi III = larutan *H. sabdariffa* Linn. 160.000 bpj 0,5 ml + larutan *P.crocatum* Ruiz & Pav. 240.000 bpj 0,5 ml

Larutan kombinasi IV = larutan *H. sabdariffa* Linn. 80.000 bpj 0,5 ml + larutan *P.crocatum* Ruiz & Pav. 320.000 bpj 0,5 ml

e. Tahap Pengujian Daya Hambat terhadap *Candida albicans*

Metode pengujian daya hambat terhadap *Candida albicans* dengan menggunakan Media *Saboraud Dextrose Agar* 4%. Medium steril *Saboraud Dextrose Agar* 4% dalam Erlenmeyer dicairkan di atas penangas air sampai mencair kemudian dibiarkan mendingin hingga suhu sekitar 40°C – 45°C. Suspensi jamur dengan *optical density* 0,6 (pada panjang gelombang 580 nm) dipipet sebanyak 0,1 ml dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 40 ml media. *Saboraud Dextrose Agar* 4% steril, dikocok hingga homogen dan segera dituang ke dalam cawan petri steril secara merata. Didiamkan pada suhu kamar hingga memadat selama kurang lebih 15 menit. Setelah memadat diletakkan *cylinder cup* steril di atas permukaan media yang telah ditanami jamur uji. Kontrol larutan uji yaitu DMSO, larutan uji dengan berbagai konsentrasi dan kontrol positif yaitu ketoconazole dimasukkan ke dalam *cylinder cup*. Cawan petri tersebut dibiarkan selama 30 menit untuk memberi kesempatan larutan uji berdifusi ke dalam media agar. Selanjutnya cawan tersebut diinkubasi pada suhu 25°C selama 48 jam. Setelah itu pada cawan petri diamati daerah hambatan pertumbuhan jamur yang terjadi dan dilakukan pengukuran dengan menggunakan jangka sorong. Tiap

daerah hambatan dilakukan 3 kali pengukuran untuk akurasi data (Tortora, 2010). Langkah-langkah tersebut dilakukan pada kedua sampel penelitian. Hasil yang didapat dilakukan analisis statistik dengan cara korelasi dan regresi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 Hasil Pengukuran Diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan *Candida albicans* dengan Pemberian Ekstrak Etanol Kelopak Bunga *Hibiscus sabdariffa* Linn.

Replikasi	Diameter daerah hambatan (cm)					
	Ekstrak Uji berbagai konsentrasi (bpj)					Kontrol Positif (ketoconazole)
	80.000	160.000	240.000	320.000	400.000	400 bpj
1	0,96	1,045	1,120	1,208	1,393	2,655
2	1,140	1,185	1,223	1,260	1,412	2,645
3	1,032	1,190	1,235	1,342	1,452	2,715
4	1,025	1,045	1,126	1,126	1,387	2,675
5	0,971	1,110	1,182	1,250	1,410	2,675
Rata-rata	1,026	1,115	1,177	1,237	1,411	2,673
SD	0,071	0,071	0,053	0,079	0,025	0,027
KV (%)	6,920	6,368	4,503	$6,386 \times 10^{-4}$	1,772	1,010

Keterangan:

SD = Standar deviasi

KV = Koefisien Variasi

Kontrol larutan uji: larutan DMSO tidak memberikan daerah hambatan

Tabel 2 Hasil Pengukuran Diameter Daerah Hambatan Pertumbuhan *Candida albicans* dengan Pemberian Ekstrak Etanol Daun *Piper crocatum* Ruiz & Pav.

Replikasi	Diameter daerah hambatan (cm)					
	Ekstrak Uji berbagai konsentrasi (bpj)					Kontrol Positif (ketoconazole)
	80.000	160.000	240.000	320.000	400.000	400 bpj
1	0	0	0	0	0	2,695
2	0	0	0	0	0	2,630
3	0	0	0	0	0	2,635
4	0	0	0	0	0	2,620
5	0	0	0	0	0	2,635
Rata-rata	0	0	0	0	0	2,643
SD	0	0	0	0	0	0,0297
KV (%)	0	0	0	0	0	1,124

Keterangan:

SD = Standar deviasi

KV = Koefisien Variasi

Kontrol larutan uji: larutan DMSO tidak memberikan daerah hambatan

Daun *P. crocatum* Ruiz & Pav dan kelopak bunga *H. sabdariffa* Linn. diperoleh dari desa Pontang, Jawa Timur dan kemudian dideterminasi oleh Pusat Informasi dan Pengembangan Obat Tradisional (PIPOT) Fakultas Farmasi Universitas Surabaya.

Ekstraksi kedua tanaman dilakukan dengan menggunakan metode maserasi (pengadukan 1 jam, pendiaman 24 jam) yang merupakan proses ekstraksi cara dingin dengan menggunakan pelarut etanol 80%. Metode ini dilakukan dengan merendam serbuk dengan etanol 80% kemudian dilakukan pengadukan secara konstan selama 60 menit. Pengadukan dilakukan untuk meratakan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisisa. Dengan adanya pengadukan ini, cairan penyari menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dan di luar sel, maka larutan pekat akan didesak keluar **(Depkes RI, 1986)**.

Setelah maserasi, dilakukan perendaman selama 24 jam. Kemudian rendaman disaring dengan kertas saring sehingga didapatkan filtrat dan ampas. Ampas dimaserasi lagi dengan pelarut etanol 80% sedangkan filtrat dihilangkan pelarutnya dengan menggunakan *Rotary evaporator* dengan tekanan di bawah atmosfer 76 mmHg, kemudian sisanya di *waterbath* pada suhu 60°C.

Metode uji daya antijamur yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi agar dengan menggunakan *cylinder cup*, dimana daya antimikroba diukur berdasarkan diameter daerah bening dari hambatan pertumbuhan mikroba. Metode penyebaran atau metode difusi agar ini praktis, ekonomis, mudah dalam segi pelaksanaan, cukup teliti dan keterulangan yang cukup tinggi untuk teknik in vitro **(Tortora et al, 2001)**.

Jamur uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Candida albicans* yang seringkali menjadi masalah bagi sebagian wanita karena menjadi penyebab terjadinya keputihan pada daerah kewanitaan dan berdasarkan penelitian-

penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, kedua tanaman tersebut efektif menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

Konsentrasi ekstrak *P.crocatum* Ruiz & Pav. dan kelopak bunga *H.sabdariffa* Linn. adalah 80.000 bpj, 160.000 bpj, 240.000 bpj, 320.000 bpj, dan 400.000 bpj. Konsentrasi ketoconazole yang digunakan adalah 40.000 bpj

Pelarut ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah DMSO (Dimetil Sulfoksid). Pemilihan pelarut ini dikarenakan ekstrak kelopak bunga *H.sabdariffa* Linn. tidak dapat larut sempurna dalam etanol sedangkan ekstrak daun *Piper crocatum* dapat larut dalam etanol. Pada penelitian ini diberi perlakuan yang sama untuk kedua ekstrak tanaman maka dicari pelarut yang dapat melarutkan kedua ekstrak sehingga digunakan pelarut DMSO.

Hasil penelitian yang didapat dalam penelitian terhadap ekstrak kelopak bunga *H.sabdariffa* Linn. dengan konsentrasi 80.000 bpj, 160.000 bpj, 240.000 bpj, 320.000 bpj, dan 400.000 bpj didapat daya hambat rata-rata sebesar 1,026 cm, 1,115 cm, 1,177 cm, 1,237 cm, dan 1,411 cm.

Hasil penelitian yang dilakukan pada daun *P.crocatum* Ruiz & Pav. dengan konsentrasi yang sama dengan ekstrak kelopak bunga *H.sabdariffa* Linn. memberikan hasil yang negatif dimana tidak ada daya hambat yang muncul pada media agar. Hal ini diduga karena senyawa yang terdapat pada ekstrak daun *P. crocatum* Ruiz & Pav. tidak dapat berdifusi dengan sempurna pada media agar. Hal ini diduga karena pelarut DMSO hanya membantu melarutkan senyawa-senyawa yang sukar larut tetapi tidak bisa membantu ekstrak untuk berdifusi. Dugaan lain, campuran DMSO dan ekstrak daun *P. crocatum* Ruiz & Pav. membentuk suspensi sehingga jika dibiarkan dalam waktu yang lama akan terbentuk endapan. DMSO berdifusi terlebih dulu ke dalam agar. Ekstrak daun *P. crocatum* Ruiz & Pav. kemungkinan bisa berdifusi tapi membutuhkan waktu yang lebih lama daripada waktu inkubasi *Candida albicans*. Orientasi yang dilakukan dengan konsentrasi yang lebih rendah 10.000 bpj, 25.000 bpj, 40.000 bpj, 60.000 bpj, dan 75.000 bpj juga mengalami kendala yang sama.

Karena ekstrak daun *P. crocatum* Ruiz & Pav. tidak memberikan hasil yang positif maka pada penelitian didapatkan bahwa ekstrak *P. crocatum* Ruiz & Pav. dan *H.sabdariffa* Linn. tidak dapat dikombinasi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan hal-hal sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol kelopak bunga *Hibiscus sabdariffa* Linn. dengan konsentrasi 80.000 bpj, 160.000 bpj, 240.000 bpj, 320.000 bpj dan 400.000 bpj dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.
2. Ekstrak etanol daun *Piper crocatum* Ruiz & Pav. tidak memberikan efek antijamur.
3. Ekstrak etanol kelopak bunga *H.sabdariffa* Linn. dan daun *P. crocatum* Ruiz & Pav. dapat dikombinasi dengan pelarut DMSO.

Saran yang dapat penulis berikan adalah:

1. Dilakukan skrining kandungan kimia dan isolasi senyawa dari ekstrak kelopak bunga *H.sabdariffa* Linn. yang bermanfaat sebagai antijamur.
2. Dilakukan penelitian dengan ekstrak daun *P. crocatum* Ruiz & Pav. menggunakan pelarut lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah A, 2004, *Sensivitas Salmonella Typhimurium Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L.*, Bioscientiae, Vol. 1, No. 1 : 31-38.
- Akiyama dkk, 2001, *Antibacterial Action of Several Tannins Against Staphylococcus aureus*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Vol. 48 : 487-491.
- Backer CA, Den Brink van BJR, 1963, *Flora of Java*, Published under The auspices of the rijksherbarium, Leyden, 167.
- Blenkinsopp A., Paxton P., Blenkinsopp J., 2009, *Symptoms in the Pharmacy: A Guide to the Management of Common Illness, 6th Edition*, Blackwell Publishing Ltd., 242-250.
- Calderone Richard A., 2002, *Candida and Candidiasis*, Departement of Microbiology and Immunology, George Town University School of Medicine, Washington DC.
- Cihlar Ronald I., 2009, *Candida albicans: Methods and protocols*, Humana Press.
- Cowan MM, 1999, *Plant Products as Antimicrobial Agents*, *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 12, No. 4 : 564-582.
- Dajan A, 1985, *Pengantar Metode Statistik*, Jilid 1, Cetakan ke-9, Lembaga penelitian Pendidikan dan Penerangan Ekonomi dan Sosial, Jakarta, 366-378.

- Departemen Kesehatan RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan-Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta, 1-31.
- Departemen Kesehatan RI, 1986, *Sediaan Galenik*, Jakarta, 1-31.
- Djiwoseputro D, 2003, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, cetakan ke-14, Djambatan, Jakarta, 22,60-61,90-96,118,187-188.
- Gandahusada S, pribadi W., Ilahude HD, 2000, *Parasitologi Kedokteran*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 125-155.
- Irianto Koes, 2003, *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme Jilid 1*, C.V Yrama Widya, Bandung, 91-94, 100-103.
- Jawetz E, Melenick JL, Adelberg EA, 2001, *Mikrobiologi Kedokteran*, edisi I, Salemba Medika, Jakarta, 317-325.
- Juliantina F dkk, 2009, *Manfaat Sirih Merah (Piper crocatum) Sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif*, Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia, Vol 1, No. 1.
- Kygan Kevin, 2010. *Candida albicans*, VDM Verlag.
- Manoi F, 2007, Sirih Merah Sebagai Tanaman Multi Fungsi, *Warta Puslitbangbun*, Vol. 13 No. 2, (online), (<http://balittro.litbang.deptan.go.id> diakses 29-05-2011)
- Maryani H, Kristiana I., 2005, *Khasiat & Manfaat Rosela*, Agromedia Pustaka, Jakarta, 3-37.
- Merck, 2005, *Handbook of Culture Media*, Frank Furter strabe 250 D-61001, darmstand, 42,47,103,104,122, 151, 152, 154, 155.
- Nirwani B, Farida JR, dkk, 2009, *Manfaat Sirih Merah (Piper crocatum) sebagai Agen Anti bacterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif*, Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia, Vol. 1 No. 1, (<http://journal.uui.ac.id> diakses 13 Maret 2012).
- Parwata IMO, Dewi PFS, 2008, *Isolasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Dari Rimpang Lengkuas (Alpinia Galanga L.)*, Jurnal Kimia 2 (2) : 100-104.
- Pelczar M, 2005, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, UI press, Jakarta, 82-84.
- Siswandono, Soekardjo Bambang, 2000, *Kimia Medisinal 2*, Airlangga University Press, Surabaya, 70.
- Sudewo B, 2007, *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*, PT Agromedia Pustaka, Jakarta, 28, 35-36, 45, 68-69.
- Sweetman, 2009, *Martindale The Complete Drug Reference 36th ed.*, Pharmaceutical Press, UK, 539.
- Tanjong A., 2011, *Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L) Terhadap Koloni Candida albicans Yang Terdapat pada Plat Gigitiruan*, Skripsi dipublikasikan, Makassar, Fakultas Kedokteran Gigi universitas Hasanuddin.
- Tortora G.J., Funke B.R. and Case C.L., 2001, *Microbiology an Introduction 7th ed.*, Addison Wesley Longman, Inc.USA 551-555.
- Tortora G.J., Funke B.R. and Case C.L., 2010, *Microbiology an Introduction 10th ed.*, Pearson Education, Inc.USA 553-567, 578.
- USP Convention, 2005, *XXVIII: The United States of Pharmacopeia*, Twinbrook, Packway, Rockville.

- Volk W.A, Wheeler M.F, 1990, *Mikrobiologi Dasar Edisi V*, Erlangga, Jakarta, 31-33, 265,266.
- Voigt R, 1994, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Terjemahan : Kosasih P dan Iwang S, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Zubier F dkk., 2010, *Efikasi Sabun Ekstrak Sirih Merah dalam Mengurangi Gejala Keputihan Fisiologis*, majalah Kedokteran Indonesia Volume 60, 9-34.