



Uji Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) untuk Menghambat Pertumbuhan Jamur *Geotrichum* sp. Penyebab Penyakit Busuk Asam pada Jeruk Lemon

Ratih Pramuditha, Dewa Ngurah Suprapta*, I Made Sudarma

Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Udayana,
Jl. PB. Sudirman, Denpasar Bali 80232, Indonesia

*Corresponding author: ngurahsuprapta@unud.ac.id

ABSTRACT

Effectiveness of Green betel (*Piper betle* L.) Leaf Extract to Inhibit the Growth of the Fungus *Geotrichum* sp., the Cause of Sour Rot Disease in Lemon. Sour rot disease, caused by the fungus *Geotrichum* sp., is an important post-harvest disease of citrus fruits in most parts of Indonesia and the world. Therefore, it is necessary to develop environmentally friendly disease control methods, one of which is by using botanical pesticides. Green betel leaf is one of the plants whose extract is used as a botanical fungicide. This study aims to test the effectiveness of green betel leaf extract against the fungus *Geotrichum* sp., which causes sour rot disease in lemon. The colony test uses eight extract concentrations, namely 0,8%, 0,16%, 0,32%, 0,40%, 0,48%, 0,56%, 0,64%, and control. The *in vivo* test uses five concentrations, namely 0,5%, 0,75%, 1%, 1,25%, 1,5%, and control. The research results showed that the minimum concentration of green betel leaf extract that suppressed the colony growth of the fungus *Geotrichum* sp. is 0.40% which means it is suitable for use as a botanical fungicide. On *in vivo* test, green betel leaf extract inhibits fungal growth and infection and can suppress the growth of *Geotrichum* sp. An extract concentration of 1,5% can suppress the damage of lemons by *Geotrichum* sp., amounting to 47.16%.

Keywords: green betel leaf extract, *Geotrichum* sp., sour rot disease, lemon

PENDAHULUAN

Jeruk lemon (*Citrus limon* L.) adalah jenis jeruk yang berasal dari spesies tanaman jeruk dalam keluarga Rutaceae. Jeruk lemon memiliki kulit yang tebal, berwarna kuning cerah, dan sering memiliki bentuk bulat atau oval. Berdasarkan pengumpulan data SPH tahun 2021 total produksi tahun 2021 adalah sebesar 1.012.046 ton, naik sebesar 4,01% dibandingkan di tahun 2020 dan mengalami penurunan pada tahun 2022 yakni sebesar 54.000 ton.

Salah satu penyakit yang menyerang buah jeruk lemon adalah busuk asam yang disebabkan oleh jamur *Geotrichum* sp. telah dilaporkan sebagai penyakit penting pascapanen buah jeruk dari sebagian besar wilayah Indonesia dan dunia. Faktor penting yang mempengaruhi kerentanan lemon terhadap busuk asam adalah umur fisiologis yang diukur dengan perubahan warna, lama penyimpanan, dan kadar air buah. Lemon kuning lebih rentan terinfeksi oleh *Geotrichum* sp. dari pada lemon hijau.

Sampai saat ini pengendalian penyakit busuk asam dan masih menitik beratkan pada penggunaan pestisida kimia. Dampak negatif yang ditimbulkan oleh pestisida kimia mendorong dibuat kesepakatan internasional untuk menekan penggunaan bahan kimia pada proses produksi pangan. Pestisida nabati memiliki spektrum yang cukup luas, sejumlah tanaman dapat digunakan sebagai pestisida baik secara langsung ataupun dengan proses ekstraksi. Namun pestisida nabati memiliki beberapa kekurangan seperti mudahnya terurai sehingga pestisida nabati tidak tahan untuk di simpan dalam jangka waktu yang lama.

Pestisida nabati mempunyai nilai unggul dibandingkan dengan pestisida sintetik, karena mudah diaplikasikan, bahan mudah ditemukan serta aman terhadap kesehatan manusia dan lingkungan. Pestisida nabati memiliki senyawa kimia yang dapat menghambat pertumbuhan jamur sasaran (Kardinan, 2001; Mujim, 2010).

Daun Sirih mengandung berbagai senyawa kimia aktif yang dipengaruhi oleh area geografis dan lingkungan (Akter *et al.*, 2014). Tanaman yang tumbuh merambat pada batang pohon disekelilingnya ini dapat tumbuh dengan subur di wilayah tropis terutama pada tanah dengan kandungan bahan organik dan air yang banyak. Daun sirih hijau memiliki beberapa kandungan lainnya seperti steroid, tannin, flavonoid, saponin, fenol, alkaloid, coumarin, dan emodins (Patil *et al.*, 2015). Tujuan dari penelitian ini adalah (1) mengetahui efektivitas ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dalam menghambat pertumbuhan jamur *Geotrichum* sp. penyebab penyakit busuk asam jeruk lemon (*Citrus limon*) secara *in vitro*. (2) mengetahui efektivitas ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dalam menghambat penyakit busuk asam pada jeruk lemon (*Citrus limon*) secara *in vivo*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biopestisida Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Waktu perencanaan penelitian dilaksanakan pada bulan September 2023 – Februari 2024. Instrumen yang digunakan pada penelitian ini antara lain cawan Petri, tabung Erlenmeyer, timbangan elektrik, gelas ukur, autoklaf, *Laminar Air Flow*, lampu busen, kompor, mikroskop, mikropipet, kaca preparat, pinset, kertas label, blender, plastik, pisau, gunting, kamera, *hand sprayer*, jarum ose, *cork borer*, tissue steril, kertas saring, *nare plastic* dan *rotary vacuum evaporator*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih hijau (*Piper betle* L.) jamur *Geotrichum candidum*, jeruk lemon (*Citrus limon.*), media *Potato Dextrose Agar* (PDA), metanol, alkohol 70 %, air steril, dan levofloxacin 500.

Isolat Jamur *Geotrichum* sp.

Isolat jamur *Geotrichum* sp. yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari koleksi Laboratorium Biopestisida, Fakultas Pertanian Universitas Udayana yang sudah diidentifikasi secara molekuler berdasarkan analisis gen 18S rRNA. Isolat diremajakan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) pada cawan petri. Miselia jamur pada pinggir koloni (bagian yang paling aktif tumbuh) diambil menggunakan *cork borer*, kemudian di tumbuhkan pada media PDA dan diinkubasi pada suhu ruang. Isolat hasil peremajaan ini sudah siap digunakan untuk pengujian selanjutnya.

Pembuatan Ekstrak Daun Sirih Hijau

Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) di timbang sebanyak 200 gr, lalu dibilas dengan menggunakan air yang mengalir, kemudian ditiriskan dan dikering anginkan selama 7 hari. Daun sirih hijau yang telah kering diblender hingga didapatkan serbuk kasar, kemudian diayak sehingga diperoleh

serbuk halus. Serbuk halus daun sirih direndam dengan metanol dengan perbandingan 1:10 (berat/volume) di dalam tabung Erlenmeyer dan dimaserasi selama 2 x 24 jam. Setelah proses maserasi, ekstrak daun sirih selanjutnya disaring menggunakan kertas saring sehingga didapatkan filtrat cair daun sirih hijau dan ampasnya dibuang. Ekstrak tersebut kemudian dipekatkan agar diperoleh ekstrak murni menggunakan *rotary vacuum evaporator*.

Uji Aktivitas Antijamur dengan Metode Sumur Difusi

Cawan Petri diisi dengan 200 µl spora jamur *Geotrichum* sp. kemudian ditambahkan dengan 10 ml media PDA encer (suhu media sekitar 42- 45°C) digoyangkan secara horizontal agar spora jamur dan media PDA tercampur merata. Setelah media memadat buat sumur difusi menggunakan *cork borer* sebanyak 2 buah pada setiap cawan Petri dan setiap sumur difusi diisi dengan ekstrak daun sirih hijau sebanyak 20 µl. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambatan yang terbentuk di sekitaran sumur difusi (Suriani, 2015).

Uji Persentase Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau terhadap Pertumbuhan Koloni Jamur *Geotrichum* sp.

Pengujian dilakukan dengan melakukan uji antagonis secara *in vitro*. Ekstrak daun sirih hijau dicampurkan dengan media PDA sehingga mencapai konsentrasi 0,08%; 0,16%; 0,24%; 0,32%; 0,40%; 0,48%; 0,56%; 0,64% dan kontrol, lalu digoyangkan horizontal hingga merata. PDA tanpa dicampur ekstrak daun sirih hijau digunakan sebagai kontrol. Setelah media memadat, miselia jamur yang diambil dari koloni jamur biakan murni menggunakan *cork borer* diletakkan pada bagian tengah cawan Petri menggunakan jarum ose. Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan jumlah perlakuan yaitu konsentrasi ekstrak sebanyak 9 perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Biakan ini diinkubasi pada tempat gelap pada suhu ruang selama 7 hari dan dilakukan pengukuran persentase daya hambat dilakukan ketika jamur kontrol telah memenuhi cawan Petri. Daya hambat perlakuan ekstrak dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Suprpta, 2014):

$$I (\%) = \frac{\text{diameter koloni jamur kontrol} - \text{diameter koloni jamur perlakuan}}{\text{diameter koloni jamur kontrol}} \times 100$$

[I = Inhibitory (Daya hambat) dalam persen]

Uji Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Hijau secara *in vivo* pada Jeruk Lemon

Uji efektivitas ekstrak daun sirih hijau secara *in vivo* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan konsentrasi ekstrak 0,5%; 0,75%; 1%; 1,25%; 1,5% dan kontrol. Setiap perlakuan akan di uji coba menggunakan 3 buah jeruk lemon sehat. Jeruk lemon dibersihkan dan disterilkan dengan mencelupkan dalam alkohol 70 % selama satu menit kemudian dibilas air steril sebanyak 3

kali. Jeruk lemon ditaruh pada nampan, ditusuk dengan menggunakan jarum sebanyak 2 tusukan dibagian atas dan bawah jeruk lemon. Kemudian Jeruk lemon diteteskan menggunakan mikropipet dengan masing-masing konsentrasi ekstrak daun sirih hijau, kemudian diinokulasikan jamur *Geotrichum* sp. Nampan kemudian ditutup dengan wrapping plastic sheet. Kemudian dilakukan pengukuran persentase daya hambat setelah

perlakuan kontrol menunjukkan gejala penyakit busuk asam.

Analisis Data

Semua data yang diperoleh dianalisa secara kuantitatif menggunakan analysis of varians (ANOVA) pada taraf 5%. Apabila antara perlakuan yang diujikan terdapat perbedaan pengaruh yang nyata terhadap variabel yang diamati, maka dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat Patogen Penyebab Penyakit Busuk Asam pada Jeruk Lemon

Isolat *Geotrichum* sp. yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari koleksi Laboratorium Biopestisida, Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Jamur yang sudah tumbuh pada media PDA diidentifikasi dengan mencocokkan ciri makroskopis dan mikroskopis. Ciri – ciri *Geotrichum* sp. secara makroskopis mempunyai miselium berwarna krem hingga putih dan penyebaran koloni melingkar konsentris.

Secara mikroskopis, pertumbuhan ditandai dengan tumbuhnya hifa bercabang dikotomis yang menyerupai garpu di sepanjang tepi koloni, dan memiliki konidium tipe artospora, konidia dari hifa yang bersegmentasi dan bening serta berbentuk silinder atau tabung dan terdiri dari satu sel. Konidia tidak berwarna dan memiliki lapisan berlendir, Konidia memiliki ukuran berkisar antara 4,8-12,5 μm x 2,4-2,5 μm . Miselium putih, sepat, konidi arthospora, konidia bening yang berasal dari segmentasi hifa, satu sel dan berbentuk silinder pendek (Dugan; 2006 dan Barnett; 1972).

Aktivitas Antijamur dengan Metode Sumur Difusi

Berdasarkan hasil uji aktivitas antijamur dengan menggunakan metode

sumur difusi, dapat dilihat pada media PDA bahwa ekstrak kasar daun sirih hijau mampu menghambat pertumbuhan jamur *Geotrichum* sp. Ketika jamur *Geotrichum* sp. tanpa ekstrak (kontrol) telah memenuhi petri maka selanjutnya dilakukan pengukuran zona bening pada media dengan perlakuan ekstrak daun sirih hijau, sehingga didapatkan bahwa diameter zona hambat adalah 22,6 mm dan dikategorikan sangat kuat. Penilaian zona hambat dikategorikan menjadi lemah (≤ 5 mm), sedang (6-10 mm), kuat (11-20 mm), dan sangat kuat (≥ 21 mm) menurut Susanto *et.al.*, (2012).

Berdasarkan kriteria penilaian zona hambat menurut Susanto *et.al.*, (2012), maka ekstrak daun sirih hijau memiliki daya hambat yang dinyatakan sangat kuat terhadap jamur *Geotrichum* sp. Hal ini dikarenakan daya hambat yang dihasilkan melalui metode sumur difusi memiliki diameter zona hambat yang terbentuk ≥ 21 mm.

Daya Hambat Ekstrak Terhadap Pertumbuhan Koloni Jamur

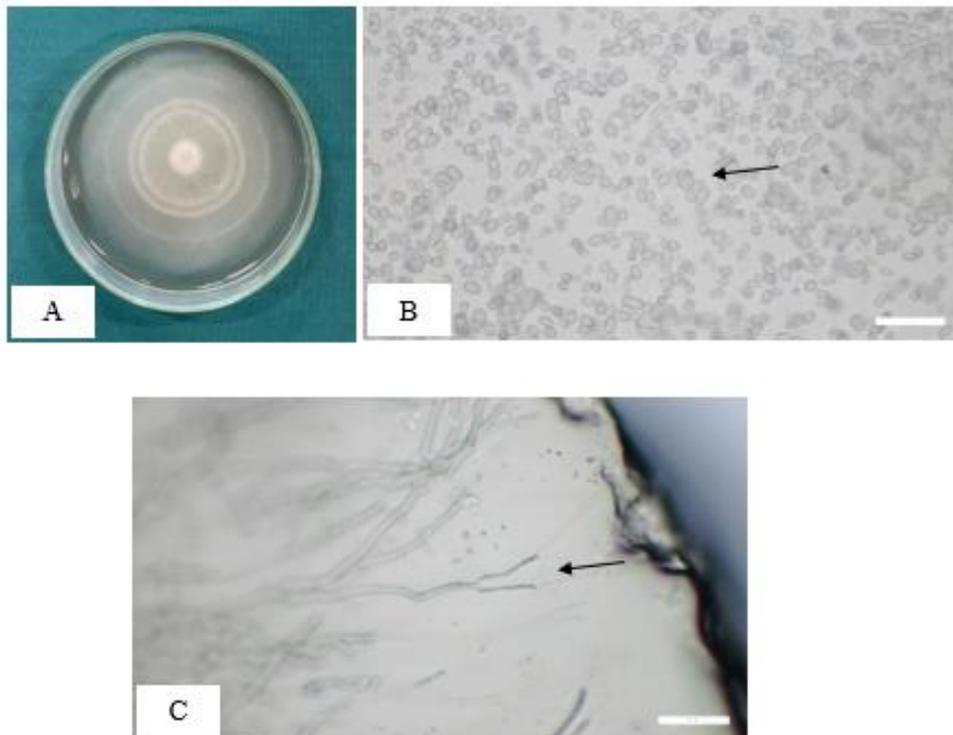
Pengukuran daya hambat melalui persentase pertumbuhan luas koloni yang terhambat dapat dijadikan acuan pada menentukan Tingkat keefektifan dari suatu ekstrak antimikroba Prabowo (2014). Hasil uji daya hambat dengan 8 ekstrak daun sirih hijau terhadap pertumbuhan koloni jamur *Geotrichum* sp. disajikan pada Gambar 3 dan Tabel 1.

Pada masing – masing perlakuan konsentrasi ekstrak daun sirih hijau memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan koloni jamur berupa lebar diameter koloni hari saat hari pertama pengamatan hingga pengamatan 7 hari. Diameter koloni terbesar pada konsentrasi 0,08% yaitu 77,67 mm dan diameter koloni paling terkecil 0,64% yaitu 0 mm. Konsentrasi ekstrak 0,08% memiliki persentase daya hambat terkecil yaitu 3,71% dan persentase daya hambat terbesar yaitu

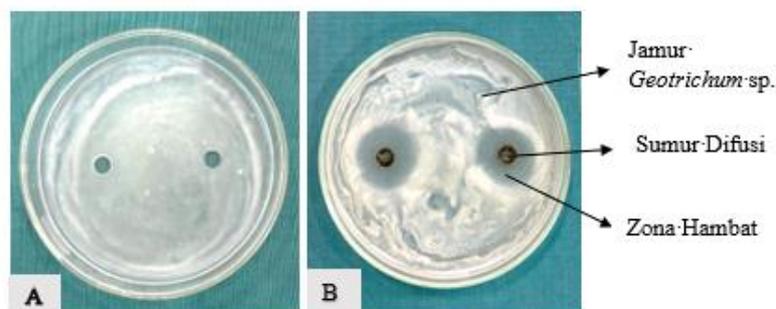
konsentrasi 0,64% dengan daya hambat sebesar 100%.

Semakin kecil diameter yang terdapat pada perlakuan menandakan bahwa adanya penghambatan oleh ekstrak murni daun sirih hijau terhadap pertumbuhan jamur *Geotrichum* sp. Adanya potensi penghambatan ini dapat disebabkan oleh senyawa – senyawa aktif yang terkandung

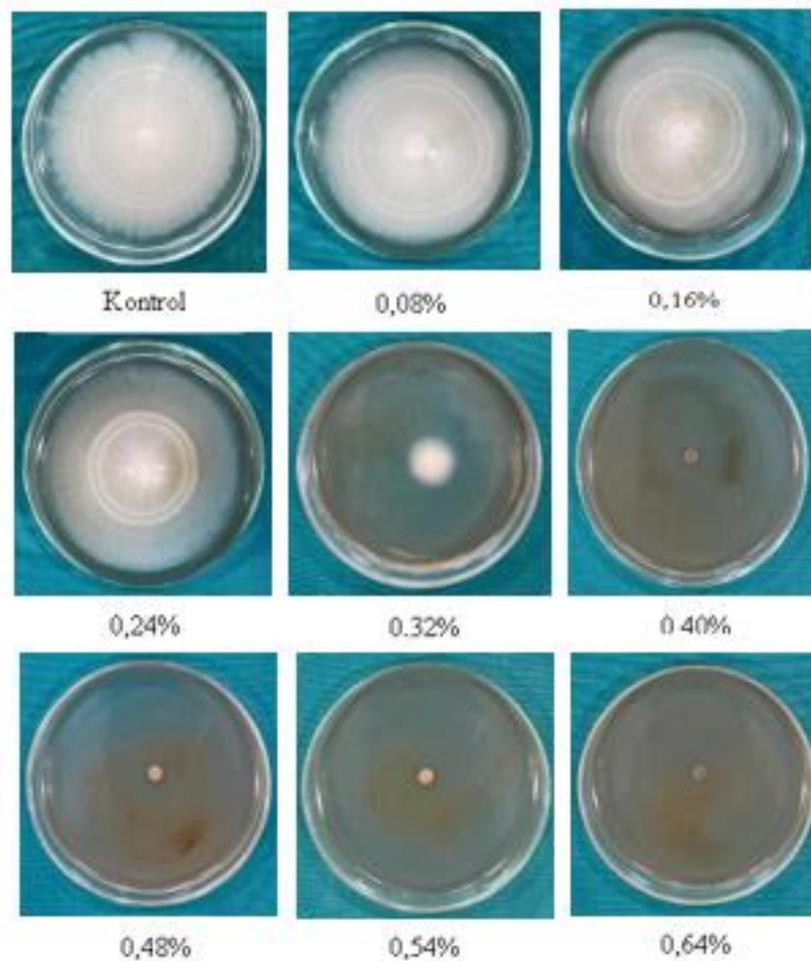
dalam ekstrak daun sirih hijau yang mempunyai sifat antifungi (anti jamur). Menurut Ali *et.al.*, (2008) pada konsentrasi ekstrak daun sirih yang lebih tinggi senyawa aktif yang berfungsi sebagai pengendali jamur akan lebih banyak sehingga dapat mengendalikan senyawa jamur yang bersifat patogen.



Gambar 1. (A) Koloni jamur *Geotrichum* sp. pada media PDA umur 8 hari setelah inkubasi (B) *Arthrospora Geotrichum* sp. yang berbentuk oval atau silinder (tanda panah). Bar 20 μ m, (C) Hifa bercabang dikotomis yang menyerupai garpu (tanda panah). Bar 20 μ m



Gambar 2. Daya hambat ekstrak daun sirih hijau terhadap pertumbuhan jamur *Geotrichum* sp. A. Kontrol, B. Perlakuan ekstrak



Gambar 3. Pertumbuhan Koloni Jamur *Geotrichum* sp. pada berbagai konsentrasi ekstrak daun sirih hijau

Tabel 1. Daya hambat ekstrak daun sirih hijau terhadap pertumbuhan koloni jamur *Geotrichum* sp.

No.	Konsentrasi ekstrak (%)	Diameter koloni (mm)	Daya hambat (%)
1.	Kontrol	80,67 e	0
2.	0,08	77,67 d	3,71
3.	0,16	77 d	6,09
4.	0,24	74,33 c	7,85
5.	0,32	22 b	72,73
6.	0,40	0 a	100
7.	0,48	0 a	100
8.	0,56	0 a	100
9.	0,64	0 a	100

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%.

Menurut Pelzcar dan Chan (1986), suatu antimikroba dapat bersifat fungistatis atau fungistoksis. Fungistatis merupakan keadaan yang menggambarkan kerja suatu bahan (fungisida) yang menghambat pertumbuhan parasites. Kandungan yang paling berpengaruh sebagai senyawa yang bersifat anti fungi yang terkandung dalam daun sirih segar yaitu fenil propane (senyawa fenolik) (Nurul, 2010). Senyawa tersebut dapat menyebabkan denaturasi protein yaitu kerusakan struktur tersier protein penyusun dinding sel jamur sehingga akan mengakibatkan kelemahan fungsi protein dinding sel. Aktivitas flavanoid kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk mengganggu pembentukan pseudohifa selama proses perkembangan (Eni, 2008), 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. Tanin yang terkandung dalam daun sirih menjadi zat antifungi dengan cara menghambat kerja enzim-enzim termasuk enzim katalase (Nurul, 2010). Dengan terhambatnya kerja enzim maka kegiatan metabolisme dan fisiologi sel akan terganggu sehingga proses reproduksi pun akan terhambat.

Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Hijau secara in vivo pada Jeruk Lemon

Hasil uji efektivitas ekstrak daun sirih hijau secara in vivo pada buah lemon menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kerusakan buah lemon. perlakuan konsentrasi ekstrak daun sirih hijau memiliki pengaruh terhadap kerusakan pada buah lemon. Konsentrasi 0,5% memiliki daya hambat terkecil yaitu sebesar 16,45%. Daya hambat tertinggi dihasilkan oleh perlakuan konsentrasi 1,5% yaitu sebesar 47,16%.

Silva *et al.* (2011) mengemukakan bahwa mekanisme senyawa metabolit

sekunder dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu mekanisme yang merusak integritas membran sel dan mengganggu permeabilitasnya sehingga menghancurkan sel jamur, atau mekanisme yang mengganggu sintesis protein atau menginduksi koagulasi protein. Eugenol pada daun sirih hijau memiliki cara kerja yang hampir sama dengan fenol, yaitu melalui perusakan dinding sel akibat terganggunya permeabilitas dinding sel yang kemudian dilanjutkan dengan perusakan membran sitoplasma dan membran protein yang menyebabkan keluarnya sitoplasma dari dinding sel jamur sehingga menyebabkan kematian sel. Saponin berikatan dengan kompleks polisakarida pada dinding sel, sehingga merusak dinding sel. Alkaloid mampu menekan pertumbuhan jamur dan dapat merusak komponen yang ada dalam sel jamur dengan cara mendenaturasi protein sehingga dapat menyebabkan lisis pada membran dan mati. Flavonoid memiliki kemampuan untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan protein terlarut serta membentuk kompleks dengan dinding sel, sedangkan sifat lipofilik dari flavonoid mengganggu membran mikroba, keadaan ini secara perlahan akan menghambat jamur (Rahayu, 2009).

Subhisha dan Subramoniam (2005) menjelaskan bahwa steroid berfungsi sebagai antifungi karena sifat lipofiliknya dapat menghambat perkecambahan spora dan perbanyakan miselium pada jamur. Terpenoid yang terdapat pada daun sirih hijau, meskipun mekanisme penghambatannya masih belum diketahui secara jelas, namun dengan adanya sifat hidrofobik atau lipofilik pada senyawa tersebut dapat menyebabkan kerusakan sitoplasmik membran, koagulasi sel dan terjadinya gangguan proton pada sel jamur. Tanin sebagai antifungi akan bereaksi terhadap dinding sel dan menembus protein, sifat antimikroba tanin dapat berhubungan

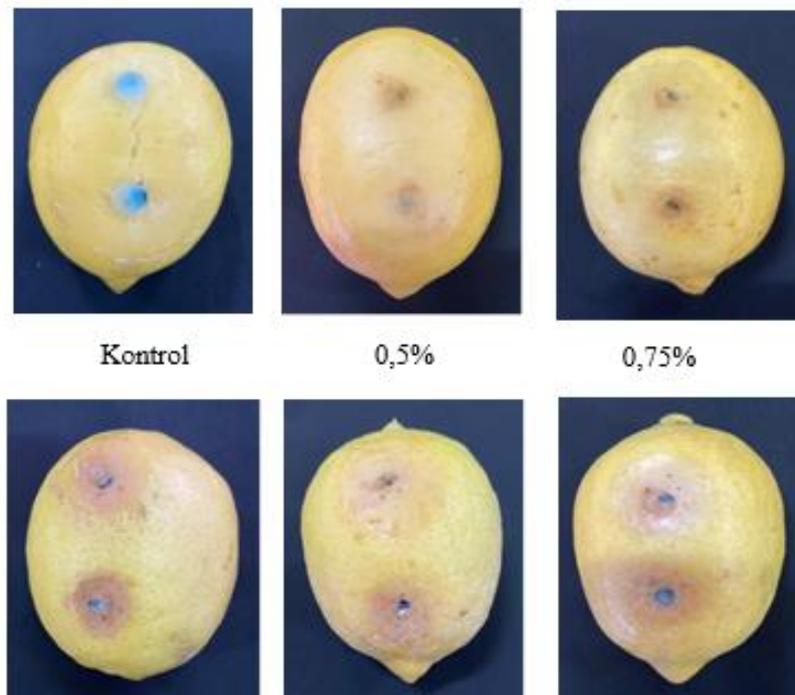
dengan hidrolisis ikatan ester di antara asam galat yang mempengaruhi proses biosintesis terhadap sintesis dinding sel dan membran sel. Tanin menghambat kerja enzim selulosa dan hemiselulosa. Jika dekomposisi selulosa dan hemiselulosa terhambat maka dinding sel tersebut tidak sempurna dan berakibat pertumbuhan mikroorganisme terhambat

(Harbone, 1987). Rini dan Mulyono (2003) menyatakan bahwa daun sirih hijau yang lebih muda mengandung lebih banyak minyak atsiri, diastase, dan gula dibandingkan dengan daun yang lebih tua, sedangkan kandungan tanin pada daun muda dan tua relatif sama.

Tabel 2. Daya hambat ekstrak daun sirih hijau terhadap pertumbuhan jamur *Geotrichum* sp. dan kerusakan pada jeruk lemon

No.	Konsentrasi ekstrak (%)	Diameter kerusakan (mm)	Daya hambat (%)
1.	Kontrol	36,79 d	0
2.	0,5	30,96 c	16,45
3.	0,75	29,88 c	18,72
4.	1	25,13 b	31,55
5.	1,25	24,75 b	32,83
6.	1,5	19,75 a	47,16

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%



Gambar 4. Kerusakan jamur *Geotrichum* sp. pada berbagai konsentrasi ekstrak daun sirih hijau pada jeruk lemon

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan diatas, maka dapat disimpulkan sebagai berikut: Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) efektif menghambat pertumbuhan koloni jamur *Geotrichum* sp. penyebab penyakit busuk asam pada jeruk lemon (*Citrus limon.*) secara *in vitro* pada media PDA. Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) efektif dalam menghambat penyakit busuk asam pada jeruk lemon (*Citrus limon.*) secara *in vivo*. Konsentrasi ekstrak 1,5 % dapat menghambat kerusakan jeruk lemon oleh jamur *Geotrichum* sp. sebesar 47,16 %. Saran yang diberikan yaitu perlu dilakukan uji lanjutan di lapangan pada jeruk lemon di lokasi yang berbeda untuk mengetahui pengaruh lingkungan terhadap keefektifan ekstrak daun sirih hijau dalam menekan penyakit busuk asam di lapangan. Selain itu perlu dikembangkan formulasi ekstrak daun sirih hijau agar efektif dan efisien dalam mengendalikan penyakit busuk asam pada jeruk lemon.

DAFTAR PUSTAKA

- Akter, K. N.,P. Karmakar, A. Das, S.N. Anonna, S.A. Shoma, and M.M. Sattar. 2014. Evaluation of antibacterial and anthelmintic activities with total phenolic contents of *Piper betel* leaves. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 4(5): 320-329.
- Ali, I.F.G, K.A. Suri, B.D. Gupta, N.K. Satti, P. Dutt, F. Afrin, G.N. Qazi, and I.A. Khan. 2008. In Vitro Antifungal Activity of Hydroxychavicol Isolated from *Piper betle* L. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 9(7): 1-9.
- Eni Kusumaningtyas, R.R. Widiati, D. Gholib. 2008. Uji Daya Hambat Ekstrak dan Krim Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) terhadap *Candida albicans* dan *Trichophyton mentagrophytes*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. h. 805-81
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Institut Teknologi Bandung. Bandung. 62 hal.
- Kardinan, A. 2001. Pestisida Nabati, Ramuan dan Aplikasinya. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Patil, R. S., Harale, P. M., Shivangekar, K. V., Kumbhar, P. P., and Desai, R. R. 2015. Phytochemical potential and *in vitro* antimicrobial activity of *Piper betle* Linn. leaf extracts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(5): 1095- 1101.
- Pelczar, M. J., dan Chan, E.C.S. 1986. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jilid 1. Universitas Indonesia. Jakarta
- Prabowo, A. 2014. Uji Efektivitas Antimikroba Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum x africanum* Lour) dan Tembakau (*Nicotiana tabacum* Linn) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus* mutans secara *In Vitro*. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Purwokerto: Jawa Tengah.
- Rahayu, T. 2009. Uji Antijamur Kombucha Coffee terhadap *Candida albicans* dan *Trichophyton mentagrophytes*. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. 10(1): 10- 17.
- Rahmah, N dan A Rahman. 2010. Uji Fungistatik Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Bioscientae*, Vol. 7, No. 2: 17-24.
- Silva, F., S. Feirera, A. Duerte., D.I. Mendonca, and F.C. Domingues. 2011. Antifungal Activity of *Coriandrum sativum* Essential Oil, its Mode of Action Against *Candida* Spesies and Potential Synergism with Amphotericin B. *Phytomedicine*, 19(1): 42-47.
- Subhisha, S. and A. Subramoniam. 2005. Antifungal Activities of a Steroid from *Pallavicinia lyellii*, a Liverwort. *Indian J Pharmacol*. 37(5): 304-308.
- Suprpta, D. N. 2014. Pestisida Nabati: Potensi dan Prospek Pengembangan. Pelawa Sari: Denpasar.