



Aktivitas Antibakteri *Loloh* (Obat Tradisional Bali) Air Perasan dan Air Rebusan Daun Sirih terhadap Bakteri *Streptococcus pyogenes* Penyebab Radang Tenggorokan

I Made Sumarya^{a,1}, I Wayan Suarda^{a,2}, Ni Luh Gede Sudaryati^{a,3}

^a Fakultas Teknologi Informasi dan Sains, Universitas Hindu Indonesia Denpasar Bali Indonesia

* Author emails: 1 sumaryaimade@yahoo.com, 2 iwynsuarda@gmail.com, 3 luhgedesudaryati@gmail.com

<https://doi.org/10.14710/jksa.22.5.173-178>

Article Info

Article history:

Received: 29 April 2019
 Revised: 2 August 2019
 Accepted: 9 August 2019
 Online: 30 September 2019

Keywords:

Betel leaf; *Loloh*;
 antibakteri; *Streptococcus pyogenes*

Abstract

Title: Antibacterial Activity of *Loloh* (Traditional Balinese Medicine) Decoction Water and Squeeze Water of betel Leaf against Bacteria *Streptococcus pyogenes* causes of sore throat

Sore throat is a respiratory infection caused by a bacterial infection of *Streptococcus pyogenes*. Betel leaf is used for *loloh* (traditional medicine) which has antimicrobial activity. The purpose of this study was to determine the content of active compounds and the antibacterial activity of the boiled water and juice of betel leaf against *Streptococcus pyogenes*. Explorative research using GC-MS method was used to identify and determine the abundance (content) of active compounds from *loloh* while the experimental research with the Randomized Post Test Only Control Group Design was carried out by treating the samples in four groups those are the negative control group with distilled water, the positive control group with 30 µg vancomycin, the treatment group with boiled water of betel leaf and betel leaf juice water to prove the antibacterial activity of *loloh*. The antibacterial activity data of the study results were analyzed statistically nonparametric through the Kruskal-Wallis test. The results showed that the betel leaf boiled water contained 0.472% hydroxicavicol active compound and had an average antibacterial activity of 6.50±0.224 mm against *Streptococcus pyogenes* bacteria. Whilst the juice of betel leaves did not contain active compounds and had no antibacterial activity.

Abstrak

Kata Kunci:

Daun sirih; *Loloh*;
 antibakteri; *Streptococcus pyogenes*

Radang tenggorokan adalah termasuk penyakit infeksi saluran pernapasan yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Streptococcus pyogenes*. Daun sirih digunakan untuk *loloh* (obat tradisional) yang memiliki aktivitas antimikroba. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kandungan senyawa aktif dan aktivitas antibakteri *loloh* dari air rebusan dan air perasan daun sirih terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*. Penelitian eksploratif dengan metode GC-MS digunakan untuk mengidentifikasi dan menentukan kelimpahan (kandungan) senyawa aktif dari *loloh* sedangkan penelitian eksperimen dengan The Randomised Post Test Only Control Group Design dilakukan dengan memberi perlakuan terhadap sampel dalam empat kelompok yaitu kelompok kontrol negatif dengan aquades, kelompok kontrol positif dengan vancomycin 30 µg, kelompok perlakuan dengan *loloh* air rebusan dan *loloh* air perasan daun sirih untuk membuktikan aktivitas antibakteri dari *loloh*. Data aktifitas antibakteri hasil penelitian

dianalisis secara statistik nonparametrik melalui uji Kruskal-Wallis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *loloh* air rebusan daun sirih mengandung senyawa aktif hidroksikavikol 0,472% dan memiliki aktifitas antibakteri rata-rata $6,50 \pm 0,224$ mm terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*. *Loloh* air perasan dari daun sirih tidak mengandung senyawa aktif dan tidak memiliki aktivitas antibakteri.

1. Pendahuluan

Penyakit infeksi khususnya infeksi saluran pernapasan merupakan penyakit menular paling mematikan ke tiga dari 10 penyebab kematian terbesar di dunia setelah penyakit jantung iskemik dan penyakit paru obstruktif kronik di tahun 2016 [1]. Radang tenggorokan (faringitis) termasuk penyakit infeksi saluran pernapasan yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Streptococcus pyogenes* atau dikenal dengan *Streptococcus group A* [2].

Bakteri *S. pyogenes* merupakan salah satu bakteri patogen yang banyak menginfeksi manusia. Diperkirakan 5-15% individu normal memiliki bakteri ini yang biasanya terdapat pada saluran pernafasan. Bakteri *S. pyogenes* dapat menginfeksi ketika pertahanan tubuh inang menurun atau ketika organisme tersebut mampu berpenetrasi melewati pertahanan inang yang ada. Bila bakteri ini tersebar sampai ke jaringan yang rentan, maka akan menyebabkan infeksi [3].

Sirih hijau (*Piper betle* Linn) merupakan salah satu tanaman obat yang ada di Indonesia, banyak dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari sebagai tanaman obat, khususnya oleh masyarakat Bali, banyak digunakan sebagai bahan obat tradisional *loloh* dalam bentuk ramuan. Seperti disebutkan Dalam lontar Taru Premana bahwa, sirih (*Base/sedah*) kasiatnya panas (*Wasiat titiang panes*), daunnya yang muda digunakan untuk *loloh* diisi telur ayam, madu, lengkuas 5 iris untuk mengobati sakit *limuh/kelepu*.

Loloh adalah minuman herbal yang diproduksi dan dikonsumsi secara tradisional di Bali (Indonesia) untuk mencegah dan mengobati berbagai macam penyakit. 51 spesies tanaman dari 32 famili yang telah didokumentasikan digunakan untuk membuat *loloh* dengan cara direbus (*decoction*) atau digerus (dihaluskan) dari bagian tanaman-tanaman tersebut. Tanaman-tanaman ini sudah diteliti dengan baik dan menunjukkan aktivitas farmakologi (misalnya antimikroba, antikanker, antidiabetes). Salah satu dari tanaman-tanaman tersebut adalah sirih [4].

Pemakaian daun sirih secara tradisional yang menjanjikan, menyebabkan berbagai penelitian kimia dan biologi telah dilakukan pada daun sirih. Hasil-hasil penelitian menunjukkan bahwa daun sirih mengandung senyawa aktif alkaloid, tanin, steroid dan fenolik seperti safrol, kavibetol, eugenol, kavikol, dan hidroksikavikol, memiliki aktivitas biologik antimikroba [5, 6, 7]. Oleh karena itu penelitian ini, ingin membuktikan aktivitas antibakteri dari *loloh* air perasan dan air rebusan daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *S. pyogenes* sebagai penyebab penyakit radang tenggorokan yang banyak diderita oleh masyarakat khususnya anak-anak.

2. Metodologi

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun sirih segar dikumpulkan dari petani dari Desa Senganan Kecamatan Penebel Kabupaten Tabanan. Biakan murni bakteri *Streptococcus pyogenes* dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Udayana. Bahan lain NaCl 0,9%, *Muller Hinton Blood* (MHB)(Hardy Diagnostics a Culture of Service™), Cakram Disk Vancomycin, Cakram Disks blank (Liofilchem Antibiotic Disks According to EUCAST, CLSI, BSAC) dan aquades.

2.2. Metode

Pembuatan *loloh* air rebusan daun sirih yaitu dengan membersihkan daun sirih segar dengan air mengalir kemudian ditimbang 100 g dan dipotong kecil-kecil. Daun Sirih direbus (*decoction*) dengan aquadest 200 mL sampai mendidih selama 15 menit dan disaring dengan kertas saring whatman. Filtratnya ditampung dalam botol.

Pembuatan *loloh* air perasan daun sirih yaitu dengan membersihkan/mencuci daun sirih segar dengan air mengalir, kemudian ditimbang 100 g dan dihaluskan/digerus dengan *mortar* dan *pestle*. Ditambah aquadest 200 mL diaduk kemudian diperas dan disaring dengan kertas saring whatman. Air perasan/filtrate ditampung dalam botol.

Analisis GC-MS. Sebelum dialalisis GC-MS terlebih dahulu *loloh* air rebusan dan air perasan daun sirih diuapkan airnya dalam oven pada 70°C sampai habis sehingga didapatkan ekstrak kental berwarna coklat. Analisis GC-MS ekstrak *loloh* air rebusan dan air perasan daun sirih diseting kondisinya sebagai berikut: GC 6890N dari Hewlett-Packard (Palo Alto, CA, USA) dirangkai dengan detektor massa (MS5973, Hewlett-Packard) digunakan untuk analisis sampel ekstrak *loloh* air rebusan dan air perasan daun sirih. Kondisi analisis adalah sebagai berikut: Kolom HP 5MS (30 m x 0,25 mm dan ketebalan film 0,25 mm) digunakan dan aliran fase bergerak (He) diatur pada 0,7 mL/menit. Di bagian kromatografi gas suhu dijaga pada 50°C selama 1 menit dan kemudian ditingkatkan sampai 150°C dengan kenaikan pemanasan 10°C/menit. Setelah periode ini, suhu dijaga pada 150°C selama 2 menit. Terakhir suhu ditingkatkan sampai 280°C dengan kenaikan pemanasan 20°C/menit dan kemudian dijaga pada 280°C selama 30 menit [8].

Uji aktivitas antibakteri. Cakram disk kosong disiapkan direndam ke dalam *loloh* air rebusan dan *loloh* air perasan daun sirih hingga *loloh* meresap sampai jenuh. Kontrol negatif digunakan cakram disk yang direndam ke dalam aquadest dan kontrol positif digunakan cakram disk antibiotik Vancomycin 30 µg. Suspensi *Streptococcus pyogenes* dengan kepekatan 0,5% Mc Farland digoreskan

pada permukaan media MHB secara merata. Media MHB didiamkan selama 15 menit agar suspensi bakteri meresap ke dalam media. Masing-masing cakram disk yang telah jenuh dengan masing-masing perlakuan (*loloh* daun sirih, kontrol positif dan negatif) kemudian ditempelkan pada permukaan media MHB yang sudah digoreskan suspensi bakteri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik. Setelah selesai diinkubasi diameter zone hambat pertumbuhan bakteri yang berupa daerah bening disekitar cakram disk diukur dengan jangka sorong. Untuk mendapatkan data yang valid, dimana jumlah perlakuannya sebanyak 4 perlakuan yaitu kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan dengan *loloh* air rebusan dan *loloh* air perasan daun sirih maka banyaknya ulangan yang dilakukan sesuai dengan rumus Federer, 1963 untuk uji aktivitas antibakteri adalah sebanyak 6 kali ulangan [9].

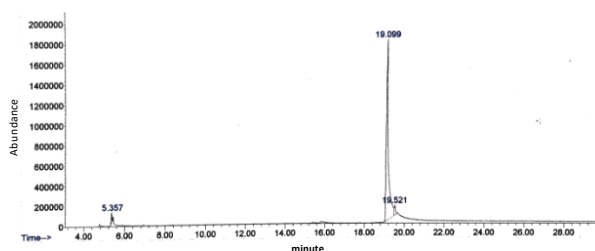
Data aktivitas antibakteri berupa diameter zone hambat pertumbuhan bakteri disajikan dalam rata-rata ± SE dianalisis secara statistik nonparametrik dengan Uji Kruskal-Wallis yang dilanjutkan dengan Uji Mann-Whitney untuk membandingkan nilai rata-rata aktivitas antibakteri antar masing-masing kelompok.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Hasil

Dari analisis GC-MS ekstrak air rebusan dan air perasan daun sirih diperoleh hasil bahwa ekstrak *loloh* air rebusan menunjukkan adanya satu puncak senyawa dengan retention time (t_R), Area puncak (%) seperti disajikan pada Gambar 1 dan secara terperinci ditampilkan pada Tabel 1.

Hasil kromatogram tersebut di atas (Gambar 1. dan Tabel 1.) menunjukkan bahwa hanya ada satu puncak senyawa pada waktu retensi (t_R) 19,101 menit dengan luas area puncak 94,42% yaitu senyawa *Hydroxychavicol* yang merupakan senyawa turunan fenol. Ekstrak *loloh* air perasan daun sirih tidak ditemukan adanya puncak senyawa, seperti disajikan pada Gambar 2.

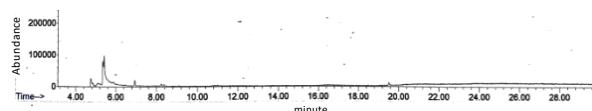


Gambar 1. Kromatogram Ekstrak *Loloh* Air Rebusan Daun Sirih

Tabel 1. Senyawa yang Terdeteksi pada Ekstrak *Loloh* Air Rebusan Daun Sirih

No. Puncak	Waktu Retensi (menit)	Luas Area (%)	Rumus Molekul	Nama Senyawa
1	19,101	94,42	C ₉ H ₁₀ O ₂	<i>Hydroxychavicol</i>

Catatan: Kemungkinan senyawa berdasarkan *Database NISTo2 Library Quality* 90 ke atas



Gambar 2. Kromatogram Ekstrak *Loloh* Air Perasan Daun Sirih

Berdasarkan hasil analisis GC-MS (Tabel 1) ekstrak *loloh* air rebusan daun sirih terdeteksi adanya 1 puncak senyawa pada retention time (t_R) 19,101 menit dengan luas area puncak 94,42% maka disimpulkan bahwa ekstrak *loloh* air rebusan daun sirih mengandung senyawa aktif hidrosikavikol sebanyak 94,42% (b/v). Ekstrak ini berasal dari 200 mL *loloh* air rebusan daun sirih yang diuapkan airnya sampai habis sehingga senyawa aktif hidrosikavikol dalam 200 mL *loloh* air rebusan daun sirih adalah 94,42% (b/v) dibagi 200 mL yaitu sama dengan 0,472% (b/v). Senyawa hidrosikavikol merupakan senyawa turunan fenol.

Loloh air rebusan dan air perasan daun sirih setelah diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *S. pyogenes* dengan metoda difusi cakram disk (CD) sebanak 6 kali ulangan data aktivitas antibakterinya berupa rata-rata zone hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus* seperti disajikan dalam Tabel 2 dan Gambar 3.

Hasil analisis statistik nonparametrik dengan Uji Kruskal-Wallis terhadap data aktivitas antibakteri (Tabel 2) menunjukkan bahwa rata-rata aktivitas antibakteri antara kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan dengan *loloh* air rebusan dan *loloh* air perasan daun sirih dan kelompok kontrol positif berbeda secara sangat signifikan ($p < 0,01$). Selanjutnya hasil analisis Uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa rata-rata aktivitas antibakteri antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dengan *loloh* air rebusan daun sirih dan dengan kelompok kontrol positif, antara kelompok perlakuan dengan *loloh* air rebusan daun sirih dengan kelompok perlakuan dengan *loloh* air perasan daun sirih dan dengan kelompok kontrol positif, antara kelompok perlakuan dengan *loloh* air rebusan daun sirih dengan kelompok kontrol positif berbeda secara signifikan ($p < 0,05$). Sedangkan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dengan *loloh* air perasan daun sirih sama-sama tidak memiliki aktivitas antibakteri yaitu nilai zone hambatnya sama-sama nol mm (Tabel 1.).

Tabel 2. Rata-rata (\pm SE) Zone Hambat Pertumbuhan Bakteri *S. pyogenes*

Kelompok Perlakuan	Rata-Rata Zone Hambat (mm)	Normalitas (Sig)	Kruskal-Wallis (Sig)
K-	0 \pm 0,000 ^a	-	
AR	6,50 \pm 0,224 ^b	0,004	0,000**
AP	0 \pm 0,000 ^a	-	
K+	17,00 \pm 0,316 ^c	0,212	

Keterangan:

1. Nilai rata-rata dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$)
2. Nilai rata-rata dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

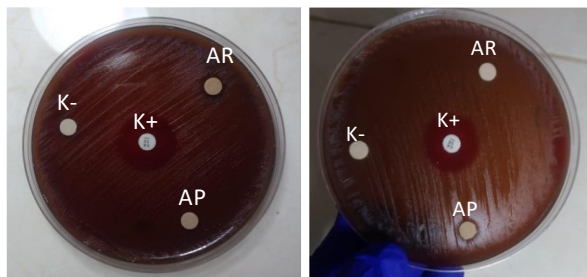
K- = Kontrol Negatif

AR = Air Rebusan Daun Sirih

AP = Air Perasan Daun Sirih

K+ = Kontrol Positif

** Perbedaan yang sangat signifikan



Keterangan:

K- = Kontrol Negatif

AR = Air Rebusan Daun Sirih

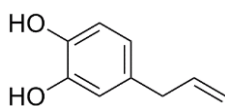
AP = Air Perasan Daun Sirih

K+ = Kontrol Positif

Gambar 3. Zone Hambat Pertumbuhan Bakteri *S. pyogenes*

3.2. Pembahasan

Loloh merupakan minuman herbal yang diproduksi dan dikonsumsi secara eksklusif di Bali (Indonesia) untuk mencegah dan mengobati berbagai macam penyakit [4]. *Loloh* juga dikenal sebagai obat tradisional di Bali yang dibuat dari bagian tanaman obat tertentu seperti kulit batang (*babakan*), daun dan lain-lain dicampur atau tidak dengan bahan-bahan lain (dalam bentuk ramuan) sebagai mana yang tercantum dalam *Lontar Taru Premana* yang merupakan naskah kuno yang berbicara tentang obat-obatan herbal tradisional. *Loloh* daun sirih merupakan obat tradisional Bali yang dibuat dari daun sirih segar dapat digunakan sebagai obat antibakteri karena daun sirih berdasarkan hasil penelitian mengungkapkan bahwa ekstrak daun sirih mengandung senyawa bioaktif antibakteri potensial hidroksikavikol [10, 11]. Hidroksikavikol merupakan senyawa turunan fenol dengan struktur kimia seperti Gambar 4.



Gambar 4. Struktur Kimia Hidroksikavikol

dengan nilai m/z 150, Dapat diperoleh dari daun sirih serta dari tanaman rempah-rempah Indonesia seperti *Eugenia polyantha* [12]. Memiliki sifat antibakteri yaitu dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding sel serta mengendapkan/denaturasi protein sel bakteri. Disamping itu juga dapat menginaktivkan enzim di dalam sel bakteri dan menyebabkan kebocoran sel sehingga mengakibatkan kematian sel bakteri [13]. Hidroksikavikol juga memiliki mode aksi yang lain seperti inhibitor enzim COX-1/COX-2, lipase pancreas [12] antioksidan [14] dan anti fungi [15].

Aktivitas antibakteri yang potensial dari daun sirih juga diungkapkan oleh para peneliti yang lain. Diantaranya adalah oleh Sarma *dkk.* [16] dan Balaji *dkk.* [17]. Efek antibakteri ekstrak air kasar daun sirih terhadap *S. mutans* juga diungkapkan oleh Nalina dan Rahim [6], terhadap *Streptococcus pyogenes* dan *staphilococcus aureus*. oleh Arambewela *dkk.* [5], terhadap bakteri patogen pangan oleh Suliantari [18] dan oleh peneliti-peneliti lain sebelumnya.

Hasil penelitian yang menunjukkan bahwa *loloh* air rebusan daun sirih mengandung senyawa hidroksikavikol sebanyak 0,472% (b/v) dimana hidroksikavikol merupakan senyawa turunan fenol yang bersifat antibakteri, memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. pyogenes* sebesar rata-rata 6,50 \pm 0,224 mm. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian Nalina dan Rahim [6], yaitu ekstrak air kasar daun sirih mengandung senyawa hidroksikavikol sebagai komponen utama dan memiliki aktivitas antibakteri dan penelitian Thamaraiyani dan Kulandhaivel [11], yang mengungkapkan bahwa hidroksikavikol dari ekstrak methanol daun sirih memiliki aktivitas antimikroba yang potensial terhadap *E.coli* and *Salmonella*.

Daya hambat bakteri *loloh* air rebusan daun sirih tergolong kedalam katagori sedang sesuai dengan kategori daya hambat bakteri [19] hal ini disebabkan karena kandungan senyawa hidroksikavikolnya dalam *loloh* air rebusan daun sirih sangat sedikit yaitu 0,472% (b/v) sehingga tidak cukup kuat untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. pyogenes*. Sedikitnya kandungan senyawa hidroksikavikol dalam *loloh* air rebusan daun sirih disebabkan karena kurang lamanya proses perebusan yaitu hanya 15 menit sehingga senyawa-senyawa aktif antibakterinya (hidroksikavikol) belum maksimal terekstraksi. Hal ini didukung oleh penelitian Nalina dan Rahim [6], yang menyebutkan bahwa pembuatan ekstrak air kasar daun sirih yaitu dengan cara merebus (*decoction*) dari konsentrasi 10% (b/v) hingga menjadi 90% (b/v). Dengan dipekatkan hingga 9 kali maka dapat mengekstrak senyawa aktif hidroksikavikol kedalam ekstrak hingga mengandung hidroksi kavikol sebanyak 39,31% (b/v) dan memiliki aktivitas antibakteri sebesar 30 \pm 0,86 mm. Menurut Setyanti [20], menyatakan bahwa cara membuat jamu daun sirih, hanya perlu merebus beberapa lembar daun sirih dalam 4-5 gelas air sampai airnya menyusut (tersisa kira-kira satu gelas). Demikian juga dalam pembuatan *loloh* untuk obat di Bali biasanya perebusan dilakukan hingga airnya menyusut 50%.

Loloh air perasan daun sirih tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. pyogenes* karena berdasarkan hasil analisis GC-MS tidak mengandung senyawa aktif antibakteri. Hal ini kemungkinan disebabkan karena dalam proses pembuatan *loloh* daun sirih dengan cara digerus/dihaluskan kemudian diperas tidak cukup untuk merusak dinding sel daun sirih sehingga senyawa-senyawa aktifnya yang bersifat antibakteri tidak terekstraksi ke dalam air perasan. Dengan demikian proses pembuatan *loloh* dengan cara direbus lebih efektif untuk mengekstrak senyawa-senyawa aktif antibakterinya dibandingkan dengan cara diperas.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa: *loloh* air rebusan daun sirih mengandung senyawa aktif hidroksikavikol 0,472% (b/v) memiliki aktivitas antibakteri rata-rata $6,50 \pm 0,224$ mm terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*. *Loloh* air perasan daun sirih tidak mengandung senyawa aktif dan tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Ucapan Terimakasih

Peneliti mengucapkan banyak terimakasih dan penghargaan yang tinggi kepada Rektor Universitas Hindu Indonesia Denpasar yang telah mendanai penelitian ini melalui Dana Hibah Penelitian Internal Universitas Hindu Indonesia tahun 2018.

Referensi

- [1] World Health Organization. *The top 10 causes of death*. 2018; Available from: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
- [2] Mayo Clinic. *Strep Throat*. 2018; Available from: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/strep-throat/symptoms-causes/syc-20350338>.
- [3] Sri Agung Fitri Kusuma, Bakteri *Streptococcus pyogenes*, in: U. Padjadjaran (Ed.), Bandung, 2010.
- [4] Wawan Sujarwo, Ary Prihardhyanto Keim, Valentina Savo, Paolo Maria Guarrera, Giulia Caneva, Ethnobotanical study of *Loloh*: Traditional herbal drinks from Bali (Indonesia), *Journal of Ethnopharmacology*, 169, (2015) 34-48 <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.03.079>
- [5] L.S.R Arambewela, L.D.A.M Arawwawala, K Kumaratunga, D Dissanayake, W Ratnasooriya, S Kumarasingha, Investigations on *Piper betle* grown in Sri Lanka, *Pharmacognosy Reviews*, 5, 10, (2011) 159-163 <http://doi.org/10.4103/0973-7847.91111>
- [6] T Nalina, ZHA Rahim, The crude aqueous extract of *Piper betle* L. and its antibacterial effect towards *Streptococcus mutans*, *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 3, 1, (2007) 10-15 <http://doi.org/10.3844/ajbbsp.2007.10.15>
- [7] KY Pin, A Luqman Chuah, A Abdull Rashih, MP Mazura, J Fadzureena, S Vimala, MA Rasadah, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Extracts of Betel Leaves (*Piper Betle*) from Solvents with Different Polarities, *Journal of Tropical Forest Science*, 22, 4, (2010) 448-455
- [8] Ataç Uzel, Kadri'ye Sorkun, Özant Önçağ, Dilşah Çoğulu, Ömür Gençay, Bekir Sali'h, Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples, *Microbiological Research*, 160, 2, (2005) 189-195 <https://doi.org/10.1016/j.micres.2005.01.002>
- [9] Kusningrum Rochiman, Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap, Universitas Airlangga, 1989.
- [10] A Syahidah, CR Saad, MD Hassan, Y Rukayadi, MH Norazian, MS Kamarudin, Phytochemical analysis, identification and quantification of antibacterial active compounds in betel leaves, *Piper betle* methanolic extract, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 20, 2, (2017) 70-81 <http://doi.org/10.3923/pjbs.2017.70.81>
- [11] I. Thamaraiyani, M. Kulandhaivel, Purification of Hydroxychavicol from *Piper betle* Linn and Evaluation of Antimicrobial Activity against Some Food Poison Causing Bacteria, *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 11, (2017) 1883-1889 <http://doi.org/10.22207/JPAM.11.4.28>
- [12] Eisuke Kato, Ryo Nakagomi, Maria D. P. T. Gunawan-Puteri, Jun Kawabata, Identification of hydroxychavicol and its dimers, the lipase inhibitors contained in the Indonesian spice, *Eugenia polyantha*, *Food Chemistry*, 136, 3, (2013) 1239-1242 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.013>
- [13] Eric E. Conn, *Outlines of biochemistry*, Wiley, 1987.
- [14] M. C. Chang, B. J. Uang, C. Y. Tsai, H. L. Wu, B. R. Lin, C. S. Lee, Y. J. Chen, C. H. Chang, Y. L. Tsai, C. J. Kao, J. H. Jeng, Hydroxychavicol, a novel betel leaf component, inhibits platelet aggregation by suppression of cyclooxygenase, thromboxane production and calcium mobilization, *British Journal of Pharmacology*, 152, 1, (2007) 73-82 <http://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707367>
- [15] Intzar Ali, Farrah G. Khan, Krishan A. Suri, Bishan D. Gupta, Naresh K. Satti, Prabhu Dutt, Farhat Afrin, Ghulam N. Qazi, Inshad A. Khan, In vitro antifungal activity of hydroxychavicol isolated from *Piper betle* L., *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 9, 1, (2010) 7 <http://doi.org/10.1186/1476-0711-9-7>
- [16] Chayanika Sarma, Prasad Rasane, Sawinder Kaur, Jyoti Singh, Joginder Singh, Yogesh Gat, Umar Garba, Damanpreet Kaur, Kajal Dhawan, Antioxidant and antimicrobial potential of selected varieties of *Piper betle* L. (Betel leaf), *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 90, 4, (2018) 3871-3878 <https://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201820180285>
- [17] Kaveti Balaji, Lisa tan, Sarnia, Sin kuan, Mirza Baig, Antibacterial Activity Of *Piper Betle* Leaves, *International Journal of Pharmacy Teaching & Practices*, 2, 3, (2011) 129-132
- [18] Suliantari, Aktivitas Antibakteri dan Mekanisme Penghambatan Ekstrak Sirih Hijau (*Piper betle* Linn) terhadap Bakteri Patogen Pangan, Program Studi Ilmu Pangan, Institut Pertanian Bogor, Bogor
- [19] Lu'lu A'lana, Rafika Sari, Pratiwi Apridamayanti, Penentuan Nilai FICI Kombinasi Ekstrak Etanol Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe vera* (L) Burm.f) dan Gentamisin Sulfat Terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*, 4, 3, (2018) 132-142 <http://dx.doi.org/10.7454/psr.v4i3.3695>

- [20]Christina Andhika Setyanti. *Resep Jamu Daun Sirih Sederhana ala Mustika Ratu*. 2015; Available from: <https://www.cnnindonesia.com/gaya-hidup/2015042-2201134-262-48580/resep-jamu-daun-sirih-sederhana-ala-mustika-ratu>.