

Isolasi dan Uji Antibakteri Minyak Daun Sirih Hijau dan Merah terhadap *Streptococcus mutans*

Aden Dhana Rizkita ✉, Edy Cahyono, dan Sri Mursiti

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang
Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Diterima September 2017

Disetujui Oktober 2017

Dipublikasikan November 2017

Keywords:

antibacterial
Piper betle lin
Piper crocatum Ruz.

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah mengidentifikasi kandungan dan membandingkan efek antibakteri antara minyak sirih merah (*Piper crocatum* R.) dan minyak sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap *Streptococcus mutans*. Kedua minyak sirih dibuat variasi konsentrasi yaitu 100, 75, 50, 25%, amoksisilin 0,2 % sebagai kontrol positif, dan propilen glikol 100% sebagai kontrol negatif. Metode penelitian yang dilakukan dimulai dengan isolasi minyak menggunakan penyulingan distilasi uap dan air kemudian dilakukan identifikasi kandungan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS), selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dengan metode difusi cakram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak sirih merah dan hijau mengandung senyawa golongan terpenoid. Karakterisasi menggunakan GC-MS didapatkan 5 senyawa aktif utama yang memiliki aktivitas antibakteri yakni Sabinen, Mirsen, Kamfen, Germakron dan β - kariofilen. Minyak sirih hijau memiliki daya antibakteri lebih baik dibanding minyak sirih merah dengan zona bening mencapai 10,5 mm sedangkan minyak sirih merah sebesar 7,1 mm.

Abstract

The purpose of this research is to identify the chemical content and compare the antibacterial effect of *Piper betle* L and *Piper crocatum* R oil against *Streptococcus mutan*. Betel oil is made at 100, 75, 50, 25% concentration and amoxicillin 0.2% as positive control and propylene glycol as negative control. The research method started with oil isolation using distillation of steam and water then identified the content using GC-MS. Antibacterial activity was tested against *Streptococcus mutans* by disc diffusion method. The results of this research indicate that *Piper betle* L and *Piper crocatum* R oil contains terpenoid group compounds. After being characterized using GC-MS, betel oil contains 5 major active compounds that have antibacterial activity that is Sabinene, Myrsene, Camphene, Germacrene and β -Chariophillene. *Piper betle* oil has better antibacterial properties than *Piper crocatum* oil with clear zone reaches 10.5 mm while *Piper crocatum* oil is 7.1 mm.

© 2017 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:
Gedung D6 Lantai 2 Kampus Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229
E-mail: aisyahkhoirotnh@gmail.com

Pendahuluan

Karies gigi adalah kerusakan lokal gigi karena fermentasi bakteri karbohidrat dari makanan pada rongga mulut. Karies gigi merupakan masalah utama bagi kesehatan gigi di Indonesia dan pengobatannya membutuhkan biaya yang mahal. Bakteri yang memicu terjadinya karies gigi adalah *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri utama yang terlibat dalam proses karies gigi terutama pada saat awal terjadinya karies karena kemampuannya yang cepat dalam memfermentasi karbohidrat dan umumnya ditemukan dalam plak gigi (Rima *et al.*, 2011).

Penentuan obat yang terus menerus yang tidak sesuai dengan ketentuan dapat menyebabkan sifat resisten terhadap bakteri pathogen salah satu bakteri yang meningkat kekebalannya adalah *Streptococcus mutans* (Aditya, 2017). Salah satu tanaman yang potensial untuk dikembangkan sebagai bahan pencegahan karies gigi adalah sirih. Daun sirih diketahui memiliki efek antibakteri terhadap beberapa jenis bakteri dan salah satunya adalah *Streptococcus mutans*. Daun sirih mengandung minyak atsiri dimana komponen utama minyak atsiri tersebut adalah fenol dan senyawa turunannya (Nalina dan Rahim, 2007). Karena banyak manfaat, sirih ditanam untuk daunnya. Kondisi terbaik untuk budidaya sirih komersial adalah dari hutan hujan tropis, yang teduh, memiliki kelembaban yang cukup seperti Indonesia, Malaysia, Filipina, Thailand, Kamboja, Vietnam, dan India (Sripradha, 2014). Sirih di Indonesia ada beberapa jenis, yang dibedakan berdasarkan bentuk daun, rasa dan aromanya, yaitu sirih hijau, sirih banda, sirih cengkik, sirih hitam, dan sirih merah (Moeljanto dan Mulyono, 2003; Sudewo, 2005).

Daun sirih biasanya memiliki kandungan terpena dan fenol. Pada penelitian Kushagra (2011) kandungan daun sirih merah mengandung protein 3,1%, karbohidrat 6,9%, mineral 2,3%, Tanin 2%, Terpenoid (1,8-sineol, kadinen, kamfen, kariofilen, Limonen, pinen), Fenol (kavikol, alil pirostatikol, karvakrol, safrol, eugenol, dan kavibetol). ada asetat juga sering ditemukan. Setiap daun sirih hijau (*Piper betle L.*) memiliki kandungan 1- τ -Murolen, Terpinen, Eudesma, 11-diena, β -Elemene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)-benzene, β -Palendrena, α -kariofilen, Germakron, dan Sabinene (Sugumaran *et al.*, 2013).

Berdasarkan pernyataan di atas, daun sirih merah dan daun sirih hijau digunakan sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan uji aktivitas daya hambat *Streptococcus mutans* dan mengidentifikasi komponen masing-masing sirih.

Metode

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat penyuling minyak distilasi uap dan air, autoclaf, *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS)-QP2010S Shimadzu, inkubator fortek, dan sentrifuge, Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sirih merah dari Ambarawa dan sekitarnya, daun sirih hijau dari Boyolali, natrium sulfat anhidrat, aquades, *Brain Hinton Infusion Broth* (BHI), *Mueler Hinton Agar* (MHA), Natrium Fisiologis, standar 0,5 *Mc farland*, darah domba segar, larutan *Tween* 80, pelarut propilen glikol, bakteri *Streptococcus mutans*, dan Amoksisilin 0,2%.

Prosedur penelitian meliputi 4 tahapan yaitu determinasi tanaman, penyulingan minyak daun sirih, identifikasi komponen minyak sirih, dan uji aktifitas minyak sirih, lalu membandingkan antara kedua minyak tersebut (Dewa *et al.*, 2016). Determinasi dilakukan dengan mencocokkan bagian-bagian tanaman sirih sesuai dengan ciri-ciri morfologinya untuk menetapkan kebenaran yang berkaitan dengan ciri-ciri morfolog tanaman menggunakan buku acuan *Flora of java*. Penyulingan minyak daun sirih menggunakan metode distilasi uap dan air selama 5 jam. Hasil minyak dan air di pisah menggunakan corong pisah yang terdapat pada rangkaian alat distilasi uap dan air. Destilat ditambah natrium anhidrat agar minyak yang teremulsi terpisah. Kemudian minyak diidentifikasi komponen penyusunnya menggunakan GC-MS (Guenther, 1990).

Penentuan senyawa yang terkandung didalam minyak sirih hijau dan merah adalah dengan menginjeksikan sampel ke dalam GC-MS. Spektrum yang diperoleh memberikan informasi kelimpahan, waktu retensi, kemudian dibandingkan dengan data *Library Wiley* yang sudah tersedia pada alat (Hartono *et al.*, 2011). Uji antibakteri dilakukan untuk membuktikan apakah minyak sirih mampu menghambat bakteri *Streptococcus mutans* serta membandingkan antara kedua jenis sampel. Pengujian dilakukan dengan penanaman bakteri *Streptococcus mutans* ke media *Brain Hinton Infusion Broth* (BHI) selama 24 jam. Bakteri kemudian dipindah ke media padat *Mueller Hinton Agar* (MHA). *Paper disk* direndam kedalam masing-masing sampel lalu ditempelkan dipermukaan media MHA, di inkubasi selama 24 jam. Setelah itu di amati zona beningnya. (Dinesh *et al.*, 2016).

Hasil dan Pembahasan

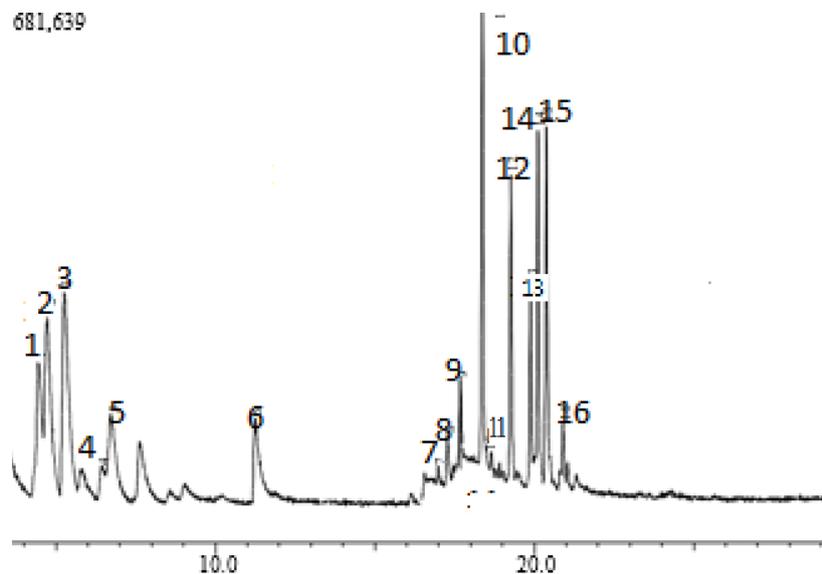
Daun sirih yang digunakan dalam penelitian yaitu daun sirih hijau dari Boyolali dan daun sirih merah dari gabungan daerah Ambarawa dan sekitarnya. Metode distilasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode distilasi uap dan air. Daun sirih yang telah dirajang diletakkan merata diatas saringan

berlubang dalam ketel suling. Perjangan daun bertujuan untuk membuka kelenjar minyak sebanyak mungkin, sehingga memudahkan penguapan minyak atsiri saat distilasi berlangsung, karena minyak atsiri dikelilingi oleh kelenjar minyak, pembuluh-pembuluh dan kantung minyak. Ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air tidak berada jauh dibawah saringan. Penyulingan cara ini menghasilkan uap dalam keadaan jenuh dan basah, daun sirih yang disuling hanya berhubungan dengan uap, tidak dengan air panas secara langsung.

Kelenjar yang terpecah dengan uap air menyebabkan minyak atsiri lepas dan terbawa bersama-sama uap air. Uap air yang membawa minyak atsiri tersebut kemudian didinginkan dalam kondensor. Hasil pendinginan diperoleh lapisan minyak atsiri yang terpisah oleh air. Minyak atsiri yang masih bercampur dengan sedikit air ditambah dengan *natrium sulfat anhidrat* untuk mengikat sisa-sisa air sehingga diperoleh minyak atsiri. Minyak atsiri daun sirih hijau yang diperoleh dari penelitian ini berupa cairan berwarna kuning jernih sedangkan minyak atsiri daun sirih merah pada penelitian ini berupa cairan putih kental dan berbau khas. Sebanyak 16 kg daun sirih hijau yang di suling menggunakan distilasi uap dan air menghasilkan 20 ml minyak atsiri dengan rendemen sebesar 0,8%. Sedangkan 3 kg daun sirih merah pada penelitian ini menghasilkan minyak atsiri sebanyak 9 ml dengan kadar rendemen dengan kadar 0,3%.

GC-MS adalah salah satu teknik terbaik untuk mengidentifikasi suatu bahan yang bersifat volatil, rantai panjang atau rantai bercabang hidrokarbon, Alkohol, asam dan ester. Untuk informasi yang akurat dapat diperoleh dengan kromatografi gas ditambah dengan massa Spektroskopi (Deshpande, 2013). Hasil analisis dengan GC-MS diperoleh dua data yaitu kromatogram yang berasal dari hasil analisis kromatografi gas (GC) dan spektra massa dari hasil analisis spektrometri massa (MS). Minyak atsiri yang diperoleh secara penyulingan destilasi uap dan air, dianalisa dengan Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS). Kromatogram GC dari minyak atsiri daun sirih hijau (*Piper betle Lin.*) menunjukkan 16 spektrum dengan waktu retensi (RT) yang berbeda-beda. Sedangkan kromatogram GC dari minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum Ruz.*) menunjukkan 35 spektrum dengan waktu retensi yang berbeda-beda.

Identifikasi komponen lebih lanjut dilakukan dengan spektrometri massa. Hasil spektrometri massa akan diperoleh spektra massa dari masing-masing puncak yang terdeteksi pada kromatogram GC. Analisa spektra massa didasarkan pada nilai *Similarity Indeks* (SI), *Base Peak* (puncak dasar), trend pecahan spektra massa yang dibandingkan dengan spektra massa *library* yaitu WILEY229.LIB. Kromatogram minyak sirih hijau dari analisis dengan kromatografi gas menunjukkan 16 puncak senyawa dengan lima puncak utama yang teridentifikasi bila disesuaikan dengan data library WILEY229.LIB, masuk dalam golongan terpenoid yaitu Kamfena, Sabinena, Beta kariofilen, Alpa humulena, dan Germakron. Kromatogram dan dugaan senyawa atsiri minyak daun sirih hijau ditunjukkan pada Gambar 1 dan Tabel 1.



Gambar 1. Kromatogram minyak atsiri daun sirih hijau

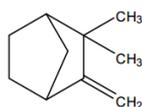
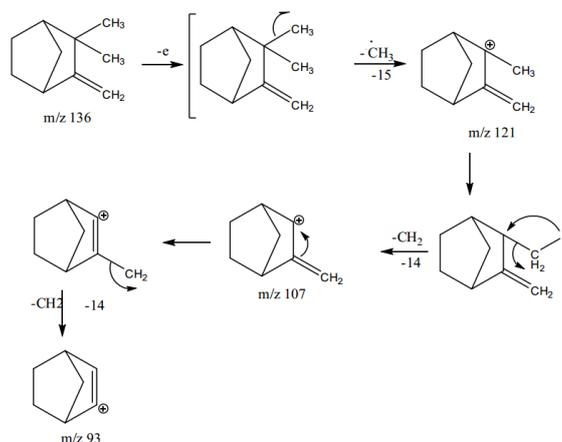
Tabel 1. Dugaan senyawa pada kromatogram minyak daun sirih hijau berdasarkan Willey229.LIB.

Puncak	Waktu Retensi	% Area	Pola Fragmentasi		Perkiraan senyawa	Rumus molekul
			Sampel	Willey library		
2	4,726	12,82	136, 121, 107, 93* , 79, 67, 53, 41, 29	136, 121, 107, 93* , 79, 67, 53, 41, 29	Kamfen SI=96	C ₁₀ H ₁₆
3	5252	17,23	136, 121, 105, 93* , 77, 69, 43, 41, 27	136, 121, 105, 93* , 77, 69, 53, 41, 29	Sabinena SI=96	C ₁₀ H ₁₆
10	18,368	12,70	204, 189, 175, 161, 147, 133, 120, 105, 93, 79, 69, 53, 41* , 27	204, 189, 175, 161, 147, 133, 120, 105, 93, 79, 69, 53, 41* , 29	β - Kariofilen SI=96	C ₁₅ H ₂₄
12	19,260	7,82	204, 161, 147, 136, 121, 107, 93* , 80, 67, 53, 41, 29	204, 189, 161, 147, 136, 121, 107, 93* , 80, 67, 53, 41, 29	α - Humulen SI=94	C ₁₅ H ₂₄
14	20,114	10,91	204, 189, 175, 161, 147, 133, 119, 107, 93, 81, 68, 53, 41* , 27	204, 189, 175, 161, 147, 133, 121, 105, 93, 79, 67, 55, 41* , 29	Germakron SI=91	C ₁₅ H ₂₄
15	20,898	10,08	204, 189, 175, 161, 147, 133, 119, 107, 93, 81, 67, 55, 41* , 27	204, 189, 175, 161, 147, 133, 121, 107, 93, 81, 67, 55, 41* , 29	α - Salinena SI=91	C ₁₅ H ₂₄

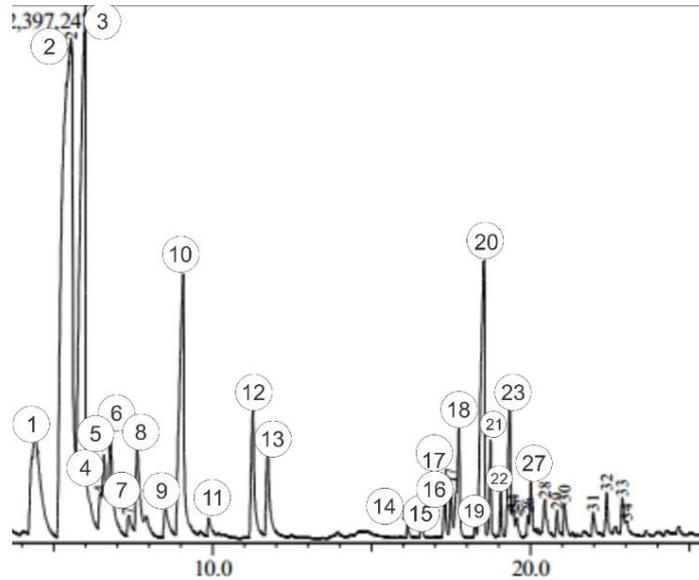
Berdasarkan data library WILEY229.LIB kamfena mempunyai rumus molekul C₁₀H₁₆ dan berat molekul sebesar 136. Oleh karena itu ion molekul (M⁺) senyawa pada puncak 2 adalah m/z 136 dengan puncak dasar pada m/z 93. Berdasarkan berat molekul dan pola fragmentasi dari pendekatan WILEY, maka diduga senyawa puncak 2 identik dengan senyawa kamfen yang strukturnya terlihat seperti Gambar 3 Pola pemenggalan spektrum massa senyawa puncak 2 seperti terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kemungkinan fragmen yang hilang dari senyawa kamfen

No	m/z	Kemungkinan fragmen yang hilang	Penggalan
1	136	M ⁺	C ₁₀ H ₁₆
2	121	M ⁺ - 15	-CH ₃ C ₉ H ₁₃ ⁺
3	107	M ⁺ - 15 - 14	-CH ₂ C ₈ H ₁₁ ⁺
4	93	M ⁺ - 15 - 14 - 14	-CH ₂ C ₇ H ₉ ⁺

**Gambar 3.** Struktur senyawa kamfena**Gambar 4.** Pola fragmentasi senyawa kamfen

Kromatogram minyak sirih merah dari analisis dengan kromatografi gas menunjukkan 35 puncak senyawa dengan dua puncak utama yang teridentifikasi masuk dalam golongan terpenoid yaitu Sabinen dan Mirsen. Kromatogram dan dugaan senyawa atsiri minyak daun sirih hijau ditunjukkan pada Gambar 5 dan Tabel 3.



Gambar 5. Kromatogram minyak atsiri daun sirih merah

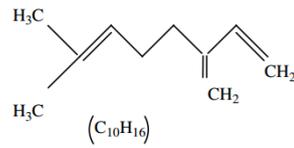
Tabel 3. Dugaan senyawa atsiri pada kromatogram minyak daun sirih hijau berdasarkan WILEY229.LIB

Puncak	Waktu Retensi	% Area	Pola Fragmentasi		Perkiraan senyawa	Rumus molekul
			Sampel	Wiley library		
1	4,383	5,95	136, 121, 105, 93*, 77, 65, 53, 39, 29	136, 121, 105, 93*, 77, 67, 53, 39, 27	α - Pinena SI=95	$C_{10}H_{16}$
2	5,517	33,75	136, 121, 105, 93*, 77, 69, 53, 39, 29	136, 121, 105, 93*, 77, 65, 43, 39, 27	Sabinena SI=93	$C_{10}H_{16}$
3	5,983	6,367	136, 121, 107, 93, 79, 69, 53, 41*, 29	136, 121, 107, 93, 79, 69, 53, 41*, 27	Mirsen SI=93	$C_{10}H_{16}$
6	6,783	2,88	136, 121, 107, 93*, 79, 68, 53, 39, 29	136, 121, 107, 93*, 79, 68, 53, 39, 38	Limonen SI=92	$C_{10}H_{16}$
10	9,067	7,64	136, 121, 107, 93, 71*, 69, 43, 41, 29	136, 121, 107, 93, 71*, 69, 43, 41, 27	Linalol SI=94	$C_{10}H_{18}O$

Berdasarkan data library WILEY229.LIB Mirsen mempunyai rumus molekul $C_{10}H_{16}$ dan berat molekul sebesar 136. Oleh karena itu ion molekul (M^+) senyawa pada puncak 3 adalah m/z 136 dengan puncak dasar pada m/z 41. Berdasarkan berat molekul dan pola fragmentasi dari pendekatan WILEY, maka diduga senyawa puncak 3 identik dengan senyawa Mirsen yang strukturnya terlihat seperti Gambar 7. Pola pemenggalan spektrum massa senyawa puncak 3 seperti terlihat pada Tabel 4.

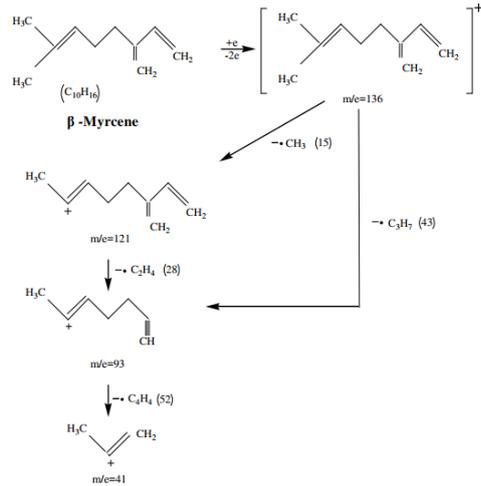
Tabel 4. Kemungkinan fragmen yang hilang dari senyawa Mirsen

No	m/z	Kemungkinan fragmen yang hilang	Penggalan
1	136	M^+	$C_{10}H_{16}$
2	121	$M^+ - 15$	CH_3 $C_9H_{13}^+$
3	93	$M^+ - 15 - 28$	C_2H_4 $C_7H_9^+$
4	41	$M^+ - 15 - 28 - 52$	C_4H_4 $C_3H_5^+$



Gambar 7. Struktur Senyawa Mirsen

Bila di sesuaikan dengan dengan data library WILEY229.LIB, maka kemungkinan fragmentasinya seperti Gambar 8. :



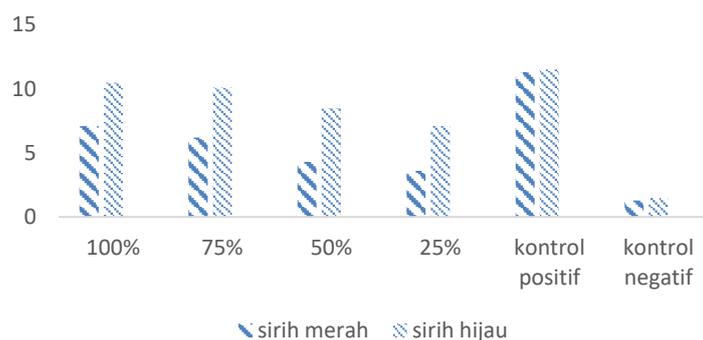
Gambar 8. Pola fragmentasi senyawa Mirsen (Valentine, 2014)

Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif *Streptococcus mutans*. Uji dilakukan dengan mengaplikasikan metode cakram. Media yang digunakan adalah media *Mueller Hinton Agar* karena pada media ini bakteri *Streptococcus mutan* hidup optimal. Media agar yang telah ditanami bakteri uji diisi dengan sampel minyak sirih hijau dan minyak sirih merah masing-masing 100%, 75%, 50%, 25%, pelarut propilen glikol sebagai kontrol negatif, dan amoksisilin sebagai kontrol positif. Hasil uji dan perbandingan aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 5 dan Gambar 9.

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Minyak Sirih Merah dan Hijau Terhadap *Streptococcus muttan* Secara duplo

Sampel	Pengulangan	Pengukuran Zona Bening						Bakteri
		100%	75%	50%	25%	kontrol +	kontrol -	
Sirih merah	1	7,0	6,4	4,3	3,9	11,5	1,2	<i>S. mutan</i>
	2	7,1	6,0	4,2	3,2	11,0	1,4	
	Rata rata	7,1	6,2	4,3	3,6	11,3	1,3	
Sirih hijau	1	10,9	9,8	8,6	7,3	11,3	1,4	<i>S. mutan</i>
	2	10,1	10,3	8,3	6,9	11,6	1,5	
	Rata rata	10,5	10,1	8,5	7,1	11,5	1,5	

Aktivitas antibakteri yang dapat dilihat dari terbentuknya zona bening akibat adanya senyawa metabolit sekunder dan senyawa aktif minyak atsiri yang terkandung dalam minyak sirih merah dan minyak sirih hijau. Senyawa antibakteri diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dengan menembus dinding sel, dinding sel bakteri Gram positif memiliki susunan sederhana terdiri dari 60-100% peptidoglikan, yang terbuat dari N-asetil glukosamin dan N-asetil muramat. Penyusunan dinding sel yang sederhana dan tidak adanya selaput luar menyebabkan senyawa antibakteri dapat menembus dinding sel dan mengganggu proses biosintesis dinding sel (Deasywaty, 2011).



Gambar 9. Perbandingan aktivitas antibakteri minyak sirih merah dan minyak sirih hijau

Senyawa-senyawa yang teridentifikasi pada analisis GC-MS, yakni Sabinena, Kamfen, β – Kariofilen, β – Salinen, α – Salinen dan Mirsen merupakan senyawa golongan monoterpen dan seskuiterpen yang memiliki daya antimikroba. Hal ini terjadi karena senyawa seskuiterpen memiliki sifat yang hidrofob sehingga menyebabkan gangguan integritas sel bakteri dengan cara menurunkan cadangan ATP intrasel, menurunkan pH sel, terabsorpsi dan terpenetrasi kedalam sel bakteri, kemudian bakteri akan mengalami presipitasi dan denaturasi protein, dan akan melisis membran sel bakteri (Alexander, 2015).

Hasil diatas menunjukkan bahwa minyak atsiri *Piper betle* dan *Piper crocatum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutan* pada konsentrasi sebesar 25%, 50%, 75%, dan 100%. Hal ini dibuat untuk memperlihatkan bahwa semakin besar konsentrasi minyak atsiri maka semakin besar pula konsentrasi zat aktif yang terkandung didalamnya sehingga mengakibatkan semakin besar kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Perbedaan besar zona hambat yang dihasilkan pada masing masing konsentrasi minyak daun sirih kemungkinan disebabkan oleh perbedaan konsentrasi kandungan yang terdapat dalam daun sirih hijau dan daun sirih merah. *Piper betle* mengandung 1-4,2% (b/v) rendemen minyak atsiri, Kavikol 7,2-16,7%, Kavibetol 2,7-6,7% dan Eugenol 26,8-42,5%. Sedangkan rendemen *Piper crocatum* sebesar 0,727 (b/v), Kavikol 5,1-8,2% dan Eugenol 26,1-42,5% (Hafida, 2014).

Berdasarkan penjelasan diatas terdapat kesamaan kandungan pada *Piper betle* dan *Piper crocatum*, perbedaannya yaitu rendemen yang terkandung dalam minyak sirih hijau (*Piper betle* L.) dan minyak sirih merah (*Piper crocatum* R.). Kandungan rendemen *Piper betle* hasil destilasi penelitian ini sebesar 0,8 %, sedangkan kandungan rendemen minyak atsiri *Piper crocatum* sebesar 0,3 %. Dengan demikian menunjukkan bahwa zat aktif yang terkandung pada *Piper betle* lebih tinggi dibanding pada *Piper crocatum* sehingga kemungkinan perbedaan tersebut menyebabkan *Piper betle* mempunyai efektifitas lebih baik dari pada *Piper crocatum* terhadap *Streptococcus mutan*.

Simpulan

Minyak daun sirih hijau lebih efektif menghambat bakteri *Streptococcus mutan* karena selain memiliki senyawa fenol lebih banyak dari minyak sirih merah, hasil rendemen juga mempengaruhi efektifitas antibakterinya. Hasil GC-MS minyak daun sirih merah dan hijau hasil suling destilasi uap dan air masing-masing menunjukkan 35 dan 16 puncak senyawa dimana kandungan utama kedua minyak tersebut adalah golongan terpenoid. Hal ini dikarenakan waktu yang ditempuh dalam proses destilasi kurang lama sehingga senyawa fenol tidak keluar

Daftar Pustaka

- Aditya, C.N., A.T. Prasetya, & S. Mursiti. 2017. Isolasi, Identifikasi, Uji aktivitas Senyawa Flavonod sebagai Antibakteri dari Daun Mangga. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(2): 91-96
- Alexander, D.K.N. 2015. Efek Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) terhadap Resistensi *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Majority*, 4(8): 177-184
- Deasywaty. 2011. Aktivitas Antimikroba Rimpang Temulawak. *Tesis*. Depok: FMIPA Universitas Indonesia
- Desphande, S.N. & D.G. Kadam. 2013. GCMS Analysis and Antibacterial of *Piper betle* L Leaves Against *Streptococcus mutan*. *Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(5): 99-101

- Dewa, G.A., A.G. Gusti, & G.G. Wayan. 2016. Isolasi dan Identifikasi Minyak Atsiri dari Tumbuhan Sembukan (*Paederia foetida L.*) dengan Metode GC-MS. *Karya Tulis Akhir*. Jimbaran: FMIPA. Universitas Udayana
- Dinesh, M.D., J.C. Anjana, G. Neethu, J. Nithya, M. Sharannya, & S. Meenatchisundaram. 2016. Anti-Cariogenic Activity of Piper Betel Leaf Extracts Oral by In Vitro. *Journal of Medical and Dental Science Research*, 3(10): 50-54
- Guenter, E. 1972. *Minyak Atsiri*. Jilid IV A, a.b. Ketaren S. Jakarta: FMIPA. Universitas Indonesia Press
- Kushagra, N., K.S. Mukesh, A. Amit, K. Tukeshwar, D. Dhansay, B. Hemant, & D.K. Tripathi. 2011. *Piper betle L.*: A Review on Its Ethnobotany, Phytochemistry, Pharmacological Profile and Profiling by New Hyphenated Technique DART-MS (Direct Analysis in Real Time Mass Spectrometry). *Journal of Pharmacy Research*, 4(9): 2991-2997
- Moeljanto, R.D. & Mulyono. 2003. *Khasiat & Manfaat Daun Sirih (Obat Mujarab dari Masa ke Masa)*. Jakarta: Agromedia Pustaka
- Najla, L. 2014. Analisis Senyawa Kimia Minyak Atsiri Daun Kari (*Murraya koenigii L.*) dengan GC-MS dan Uji Aktivitas Antibakteri. *Tesis*. Medan: FMIPA. Universitas Sumatera Utara
- Nalina, T. & Z.H.A. Rahim. 2007. The Crude Aqueous Extract of *Piper betle L.* and Its Antibacterial Effect Towards *Streptococcus mutans*. *Jurnal of Biochem & Biotech*, 3(1): 5-10
- Rhima, A.P., V.M. Erlita, & W.N. Arsa. 2011. *Uji Aktivitas Antibakteri Derivat Minyak Atsiri Daun Sirih (Piper betle L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus ATCC 25923*. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Semarang
- Sugumaran, M., G.M. Suresh, K. Sankarnarayanan, M. Yokesh, M. Poornima, & R.J. Sree. 20011. Chememical Compotition and Antimicrobial Activity of Vellaikodi Variety of *Piper betle Lin* Leaf Oil Againt Dental Pathogens. *Journal of PharmTech Research*, 3(4): 2135-2139
- Valentine, F.S. 2014. Analisa Komponen Kimia Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Cakar Harimau (*Citrus medica L. var. sarcodactylus*) dengan GC-MS dan Uji Antioksidan menggunakan Metode DPPH. *Karya Tulis Akhir*. Medan: FMIPA. Universitas Sumatera Utara