

Aktivitas antibakteri salep ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle*L.) Terhadap infeksi bakteri *Staphylococcus aureus*

Rissa Laila Vifta, Muhammad Andri Wansyah P., Anita Kumala Hati

Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo, Semarang
Corresponding author email : rissa_laila@yahoo.co.id

Abstrak

Sirih hijau (*Piper betle* L.) adalah tanaman yang mudah dijumpai di Indonesia. Secara empiris, sirih hijau digunakan sebagai antibakteri pada luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas salep ekstrak etanol daun sirih hijau sebagai antibakteri. Pengujian efek antibakteri dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*. Ekstrak etanol daun sirih hijau dibuat dengan cara maserasi. Pengujian secara *in vitro* dilakukan menggunakan metode mikrodilusi terhadap *Staphylococcus aureus* untuk mengetahui nilai konsentrasi hambat minimum ekstrak daun sirih hijau pada konsentrasi 3, 4, dan 5%. Kemudian ekstrak dibuat salep dan diuji secara *in vivo* menggunakan hewan uji tikus yang terdiri dari kelompok kontrol negatif, kelompok ekstrak (konsentrasi 3,4, dan 5%), serata pembanding kontrol positif gentamisin 0,1%. Hasil uji dianalisis menggunakan *Sapiro-Wilk* dan dilanjutkan dengan uji ANAVA serta uji LSD untuk mengetahui perbandingan hasil kelima kelompok perlakuan. Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa konsentrasi hambat minimum ekstrak daun sirih yang optimal adalah 5%. Hasil uji *in vivo* menunjukkan lama kesembuhan luka meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak daun sirih hijau. Hasil uji normalitas, Anava, dan uji LSD pada uji *in vivo* memberikan hasil yang sejalan. Konsentrasi 4 dan 5% merupakan konsentrasi efektif dengan aktivitas waktu kesembuhan luka tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif (gentamisin 0,1%) dengan rerata waktu berturut-turut $6,20 \pm 0,80$ dan $6,00 \pm 0,71$ hari. Dapat disimpulkan bahwa hasil uji antibakteri pada salep sejalan dengan uji secara *in-vitro* ekstrak daun Sirih Hijau yang memiliki potensi sebagai antibakteri.

Kata kunci: Daun sirih hijau, Antibakteri, Salep, Luka

Antibacterial activity from ointment contains extract of green betle leaves (*Piper betle* L.) to *Staphylococcus aureus* bacterial infection

Abstract

Green betel (Piper betle L.) is a plant that is easy to find in Indonesia. Empirically, green betel is used as an antibacterial to the wound. This study aims to determine the activity of ointment of ethanol extract of green betel leaves as antibacterial. Tests of antibacterial effects were performed in vitro and in vivo. Ethanol extract of green betel leaf is made by maceration. In vitro testing was done using micro dilution method to Staphylococcus aureus to determine the minimum inhibitory concentration of green leaf extract at concentrations of 3, 4, and 5%. Then the extract was made ointment and tested in vivo using rat consisting of the negative control group, the extract group (concentrations 3,4, and 5%), the positive control of gentamicin 0.1%. The test results were analyzed using Sapiro-Wilk and continued with ANAVA test and LSD test to find out the comparison of the results of the five treatment groups. The results of in vitro test showed that the minimum inhibit concentration of green betel leaf extract was 5%. The results of in vivo test showed the duration of wound healing increased with increasing concentration of green betel leaf extract. The result of normality test, Anava, and LSD test on in vivo test give the same result. Concentrations of 4 and 5% were effective concentrations with wound healing time activity were not significantly different with positive control (gentamicin 0.1%) with mean time of 6.20 ± 0.80 and 6.00 ± 0.71 days respectively. It can be concluded that the antibacterial test results in ointment are in line with in vitro test of leaf green betel extract which has potential as antibacterial.

Key words: Green betel, Antibacterial, Ointment, Wound

Pendahuluan

Pengobatan penyakit melalui penggunaan tanaman herbal memegang peranan yang penting pada sistem pencegahan dan pengobatan penyakit infeksi pada masa sekarang ini. Pada beberapa negara berkembang seperti Indonesia, pengobatan tradisional menjadi salah satu sistem pengobatan primer (Bhalodia dan Shukla, 2011). Pengobatan tradisional banyak dikembangkan dengan pertimbangan faktor ekonomis karena harganya yang murah dan mudah didapat serta faktor keamanan yang dilihat dari kecilnya efek samping obat tradisional (Sartinah, 2011; Hariana, 2007). Beberapa tanaman obat telah dikaji aktifitas antibakterinya, salah satunya adalah tanaman sirih hijau (*Piper betle L.*).

Kajian mengenai tanaman sirih hijau sebagai antibakteri telah dibahas oleh beberapa peneliti. Shetty dan Vijayalaxmi, 2012 menyebutkan bahwa daun sirih hijau memiliki kandungan tanin, saponin, dan flavonoid yang berfungsi sebagai antimikroba serta mempunyai daya antiseptik seperti halnya dengan antibiotika. Peningkatan efektivitas daun sirih hijau sebagai antibakteri juga telah dilakukan, salah satunya dengan optimasi pemilihan metode ekstraksi serta formulasi daun sirih hijau dalam bentuk sediaan fitofarmaka (Wyatt dkk., 2001).

Peningkatan efektivitas daun sirih hijau dalam formulasi sediaan dapat dilakukan dalam bentuk salep. Beberapa tanaman lain teruji efektif sebagai antibakteri dalam bentuk formulasi salep. Hasmila dkk., 2015 melakukan uji antibakteri pada salep ekstrak daun sirih pada bakteri *Staphylococcus aureus*, sedangkan Paju dkk., 2013 melakukan uji yang sama pada ekstrak daun binahong dengan hasil menunjukkan bahwa keduanya memberikan efek antibakteri pada rentang konsentrasi 10-40%.

Berdasarkan uraian tersebut, akan melakukan kajian lebih lanjut mengenai pengujian aktivitas antibakteri pada ekstrak daun sirih hijau dalam bentuk sediaan salep terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengujian dilakukan menggunakan variasi konsentrasi, agar diketahui konsentrasi optimal ekstrak daun sirih hijau sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas salep ekstrak etanol daun sirih hijau sebagai antibakteri.

Metode Penelitian

Alat. Alat ekstraksi, Eppendorf 200 μ L, neraca analitik (And GR-300), *rotary evaporator* (Ryela N-1000), *ultrasonic cleaner* (WT-600-

40), penangas air (Eyela SB-1000), dan alat gelas yang umum digunakan di laboratorium.

Bahan. Bahan uji yang digunakan adalah daun sirih hijau (*Piper betle L.*) dengan spesifikasi warna hijau dari Desa Sumurrejo Kecamatan Gunungpati Kota Semarang Jawa Tengah yang sebelumnya telah dideterminasi di Laboratorium Biologi-MIPA Universitas Diponegoro.

Bahan kimia yang digunakan antara lain $AlCl_3$, NaOH 0,5 N, $FeCl_3$ 1%, HCl p.a, HCl 2 N, H_2SO_4 p.a, H_2SO_4 1 M, NaCl 10%, $FeCl_3$ 1%, amoniak 25%, n-heksan, etil asetat, etanol 96%, CMC Na 0.3% dari Merck, Aquades dari CV. Bratachem.

Hewan percobaan. Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus jantan galur Wistar berumur 2-3 bulan dengan berat badan 180-200 gram, sehat, tidak cacat. Hewan uji diperoleh dari Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang.

Jenis dan Rancangan Penelitian. Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Penelitian menggunakan tikus putih galur wistar dengan menghitung lama kesembuhan luka yang menjadi indikator efek antibakteri ekstrak daun sirih hijau.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau. Ekstraksi dengan metode maserasi diawali dengan sortasi bahan dengan tujuan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing sehingga dapat mengurangi jumlah pengotor yang ikut terbawa dalam bahan uji, selanjutnya dibuat simplisia. Simplisia daun sirih hijau (*Piper betle L.*) sebanyak 500 gram dimaserasi selama 5 hari dalam ruangan yang terlindung cahaya matahari dan dilakukan pengadukan 1x24 jam. Maserat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 45°C.

Penapisan Fitokimia. Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin yang terkandung dalam daun sirih hijau.

1) Identifikasi Flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan penambahan H_2SO_4 pada sampel dan dilakukan pengamatan sampai ada perubahan warna dari kuning menjadi merah.

2) Identifikasi Saponin

Identifikasi saponin dilakukan dengan uji Forth, yaitu dengan diamati pembentukan buih. Ekstrak ditambah air panas sebanyak 10 ml. Selanjutnya dikocok kuat selama 10 detik, akan terbentuk buih yang mantap setinggi 1-10 cm selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 1 tetes HCl pekat dan diamati perubahannya.

3) Identifikasi Tanin

Identifikasi tanin dilakukan dengan metode Ferri Klorida yaitu dengan meneteskan larutan besi (III) klorida 1% ke dalam larutan cuplikan yang menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam yang kuat.

Pengujian *In Vitro* Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Hijau. Uji *in vitro* aktivitas antibakteri dengan metode cara mikrodilusi dilakukan untuk mengetahui % MIC (Minimum Inhibitor Concentration) atau Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun sirih hijau terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengujian dilakukan secara kualitatif menggunakan *mikroplate* dengan pengamatan kekeruhan. Konsentrasi ekstrak dibuat ke dalam tiga konsentrasi yang berbeda, yakni 3, 4, dan 5%. Indikator %MIC ditentukan berdasarkan timbulnya warna jernih pada *mikroplate* yang sudah diisi dengan ekstrak daun sirih hijau pada berbagai konsentrasi. Pengujian mikrodilusi mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Juwitaningsing dkk. (2014).

Pembuatan Salep Ekstrak Daun Sirih Hijau. Pembuatan salep dilakukan dengan membuat leburan PEG 400 78%, PEG 6000 22% dan propylenglikol dilebur diatas waterbath. Ekstrak Daun Sirih hijau dimasukkan dalam mortir hangat, kemudian ditetesi spiritus fortior dan diaduk hingga menguap. Kemudian ditambahkan campuran PEG 400 78%, PEG 6000 22%, dan propylenglikol yang telah dilebur, kemudian diaduk hingga dingin. Salep yang telah dihasilkan, diletakkan dalam wadah pot salep kering bebas kontaminan.

Pembuatan Suspensi dan Identifikasi Bakteri *Staphylococcus Aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* sebelumnya dibiakkan pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA) dan dilakukan peremajaan dalam media *Blood Agar* (BA), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan mengambil beberapa koloni

Staphylococcus aureus kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 10 ml NaCl 0,9%. Penentuan dosis *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan membandingkan dengan kekeruhan larutan standar Mc Farland. Pembuatan larutan Standar Mac Farland mengacu pada penelitian Hasmila dkk. (2015).

Pengujian Salep terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. Pengujian dilakukan terhadap Tikus sebanyak 25 ekor diacak dalam lima perlakuan dengan masing-masing perlakuan terdiri dai 5 replikasi. Pengujian diawali dengan pemberian luka infeksi bakteri pada masing-masing tikus dan selanjutnya dilakukan uji sesuai kelompok perlakuan. Kelompok I merupakan kontrol positif, Kelompok II kontrol negatif, Kelompok III konsentrasi 3%, Kelompok IV konsentrasi 4%, dan Kelompok V konsentrasi 5%.

Analisis Statistik. Analisis data penelitian secara statistik dengan menggunakan SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*) versi 16 didahului dengan uji normalitas menggunakan rumus dari *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan rumus dari *Lavene Test*. Kemudian, data dianalisis dengan statistik parametik ANAVA satu jalan dan dilanjutkan dengan uji LSD.

Hasil dan pembahasan

Penapisan Fitokimia. Penapisan fitokimia dilakukan dengan tujuan mengidentifikasi adanya senyawa aktif yang berpotensi sebagai antibakteri pada ekstrak etanol daun sirih hijau. Hasil penapisan fitokimia pada Tabel 1. menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan tanin.

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau

Zat aktif	Hasil uji	Hasil
Bebas etanol 70%	Tidak tercium bau ester yang khas Terbentuk warna hitam pekat	+
Flavonoid	Merah	+
Saponin	Berbuih	+
Tanin	Hitam kuat	+

Keterangan :

+ = mengandung senyawa yang diuji

- = tidak mengandung senyawa yang diuji

Senyawa flavonoid merupakan senyawa fenol yang terdapat pada hampir semua tanaman (Evans, 2009). Hasil uji positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah dari senyawa kalkon yang terurai melalui uji wilstater sianidin. Sedangkan hasil uji positif saponin ditunjukkan dengan munculnya buih sebagai karakter khas saponin (Pelegri dkk., 2008). Senyawa tanin teridentifikasi melalui rekasi hidrolisis dengan FeCl_3 yang membentuk tanin terhidrolisis dengan adanya perubahan warna menjadi hitam (Shah dan Seth, 2010).

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun sirih hijau memiliki kemampuan sebagai antimikroba (Paju dkk., 2013). Aktivitas antimikroba dapat diketahui berdasarkan kemampuan penghambatan terhadap bakteri dan khamir. Penghambatan mikroba terjadi karena adanya penghambatan dinding sel, perubahan permeabilitas membran sel, penghambatan sintesis protein dan asam nukleat (Wibowo dkk., 2009).

Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dalam dua tahap, yakni kualitatif secara *in vitro* dan dilanjutkan dengan pengujian antibakteri pada salep. Berdasarkan hasil uji pada Tabel 2 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 5% ekstrak daun Sirih Hijau dapat menghambat pertumbuhan bakteri secara optimum, dengan asumsi %MIC (*Minimum Inhibition Concentration*) terlihat pada konsentrasi 5%.

Kemampuan antibakteri pada daun sirih hijau dipengaruhi oleh kandungan senyawa metabolit sekunder flavonoid, saponin, dan tannin. Flavonoid dapat berperan sebagai antibakteri melalui mekanisme perusakan membran sel (Bhalodia dan Shukla, 2011). Mekanisme antibakteri pada flavonoid mempengaruhi proses enzimatis bakteri dengan cara menginaktifkan enzim pada sel mikroba (Darmawi dkk., 2013). Proses lain yang tidak kalah penting dalam proses antibakteri adalah kinerja tannin dengan merusak dinding sel karena sifatnya yang lipofilik (Sudira dkk., 2011). Mekanisme antibakteri dari ekstrak daun sirih hijau juga ditunjukkan oleh senyawa metabolit sekunder saponin yang memiliki sifat bakterisida, mengganggu kestabilan sitoplasma sel sehingga dapat menyebabkan kematian pada bakteri (Cavalieri dkk., 2005).

Tabel 2. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau Secara *In Vitro*

Konsentrasi (%)	<i>Staphylococcus aureus</i>		
	Rep 1	Rep 2	Rep 3
Kontrol Media	+	+	+
Kontrol Negatif	+	+	+
Kontrol Positif	-	-	-
SEDSH 1%	+	+	+
SEDSH 3%	+	+	+
SEDSH 5%	+	-	-

Keterangan :

Kontrol negatif: (basis salep)

Kontrol positif : Gentamicin 0,1%

SEDSH 3%: Salep Ekstrak Daun Sirih Hijau 3%^{b/b}

SEDSH 4%: Salep Ekstrak Daun Sirih Hijau 4%^{b/b}

SEDSH 5%: Salep Ekstrak Daun Sirih Hijau 5%^{b/b}

+ = bakteri dapat tumbuh pada media kultur

- = bakteri tidak dapat tumbuh pada media kultur

Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Salep Ekstrak Daun Sirih Hijau. Hasil uji lama kesembuhan luka setelah pemberian salep dengan konsentrasi 3, 4, dan 5% terhadap *Staphylococcus aureus* dengan lima kali perulangan disajikan pada Tabel 3. Data menunjukkan bahwa terjadi perbedaan waktu sembuh pada ketiga konsentrasi tersebut. Hasil perhitungan rerata waktu sembuh menunjukkan bahwa konsentrasi 3% dapat menyembuhkan rata-rata 7 hari, konsentrasi 4% rata-rata 6 hari, dan konsentrasi 5% rata-rata 6 hari. Konsentrasi 4% memiliki waktu sembuh dengan rerata yang tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 5%.

Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa salep ekstrak daun Sirih Hijau berpotensi menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Perbandingan hasil uji antibakteri pada ketiga konsentrasi memberikan hasil pada konsentrasi 4% dan 5% memiliki daya antibakteri lebih efektif dengan memberikan waktu kesembuhan luka lebih cepat dibandingkan konsentrasi 3%. Konsentrasi 3% kurang efektif memberikan kesembuhan luka karena senyawa aktif yang diberikan terlalu, sehingga pelepasan zat aktif pada basis salep sedikit (Halima, dkk., 2015). Senyawa aktif yang diduga memberikan efek antibakteri adalah flavonoid dan tannin dengan mekanisme yang berbeda. Senyawa lainnya adalah saponin yang dapat memacu pembentukan kolagen, yakni protein struktur yang berperan dalam proses kesembuhan luka (Wibawati, 2012).

Tabel 3. Uji Antibakteri Terhadap Salep Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau

Kelompok Perlakuan	Waktu Sembuh (Hari)
Kontrol Negatif	9,00±0,71
Kontrol Positif	5,80±0,84
SEDSH 3% ^{b/b}	7,00±0,71
SEDSH 4% ^{b/b}	6,20±0,84
SEDSH 5% ^{b/b}	6,00±0,71

Keterangan :

n=5

Kontrol negatif: (basis salep)

Kontrol positif : Gentamicin 0,1%

SEDSH 3%: Salep Ekstrak Daun Sirih Hijau 3%^{b/b}

SEDSH 4%: Salep Ekstrak Daun Sirih Hijau 4%^{b/b}

SEDSH 5%: Salep Ekstrak Daun Sirih Hijau 5%^{b/b}

Analisis Statistik. Data uji waktu kesembuhan luka dianalisis normalitas menggunakan Shapiro-Wilk yang menunjukkan nilai p-value lebih dari 0,05 yang berarti data terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan uji Anava yang hasilnya disajikan pada Tabel 4. Hasil uji Anava menunjukkan nilai p-value kurang dari 0,05, dengan F-hitung lebih besar daripada F-tabel, sehingga data dapat diterima. Oleh karena itu, hasil uji dilanjutkan menggunakan uji LSD dengan tujuan menentukan perbandingan efektifitas kelima kelompok perlakuan.

Tabel 4. Hasil Uji ANAVA Lama Kesembuhan Luka Salep Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau

Variabel dependen	F hitung	F tabel	P
Lama Kesembuhan Luka	14,828	2,87	0,000 (Berbeda signifikan)

Hasil uji LSD menunjukkan perbedaan pada masing-masing konsentrasi terhadap kontrol positif dan kontrol negatif. Konsentrasi 3% memberikan hasil yang tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif, sedangkan konsentrasi 5% memberikan hasil tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif. Hasil lain terlihat bahwa antara konsentrasi 4 dan 5% memiliki perbedaan tidak signifikan. Hasil tersebut sejalan dengan hasil rerata waktu kesembuhan luka pada salep ekstrak daun sirih hijau. Aktivitas antibakteri yang efektif terlihat pada konsentrasi 4 dan 5%. Semakin besar konsentrasi yang diberikan, efek waktu kesembuhan luka yang diberikan semakin baik karena semakin banyak senyawa aktif yang terkandung didalamnya. Flavonoid dan tannin pada ekstrak daun sirih hijau yang bersifat

lipofilik dapat merusak membran sel bakteri, sehingga mengakibatkan kematian bakteri (Sudira dkk., 2011; Darmawi dkk.. 2013).

Kesimpulan

Hasil pengujian aktivitas antibakteri terhadap salep ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) menunjukkan konsentrasi sebanding dengan kontrol positif (gentamicin), dengan indikasi lama kesembuhan luka tidak berbeda signifikan, ditunjukkan oleh konsentrasi 4 dan 5% dengan rata-rata lama kesembuhan luka berturut-turut 6,20±0,80 dan 6,00±0,71 hari.. Hasil tersebut sejalan dengan hasil uji LSD dan uji antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Ngudi Waluyo yang telah memberikan fasilitas pendanaan Internal demi tercapainya penelitian ini.

Daftar pustaka

- Bhalodia, N.R., Shukla, V.J., 2011. Antibacterial and Antifungal Activities From Leaf Extracts of *Casia fistula* L. : An ethnomedical Plant, *J. Adv. Pharm Technol Res.* Vol :2(2), page 104-109.
- Cavalieri, S.J. 2005 I.D. Rankin., R.J. Harbeck., R.S. Sautter., Y.S. McCarter., S.E. Sharp., J.H. Ortez., dan C.A. Spiegel, *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing.* American Society for Microbiology, USA.
- Darmawi, Zakiyah H.M., Fahri P.,. 2013. Daya Hambat Getah Jarak Cina (*Jatropha multifida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* Secara *In Vitro.* *Jurnal Medika Veterinaria.* Banda Aceh : Universitas Syiah Kuala.
- Evan, W.C., 2009. Trease and Evans pharmacognosy. 16th ed, W.B. Saunders.
- Hasmila, I. Amaliah. M. Danial. 2015. Efektivitas Salep Ekstrak Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Pada Mencit yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus.* *Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan dan Lingkungan,* Makassar, 54-62.
- Hariana, A.H. 2007. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya.* Penebar Swadaya. Jakarta
- Juwitaningsih, T. Y. M. Syah, L. D. Juliawaty. 2014. Aktifitas Antibakteri Dari Ekstrak *Alphina malaccensis* (Burm.f) Roxb.

- Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI*, Surakarta, 495-500.
- Pelegriani, E. Carucci, M. G., Campanella, A., Lorenzini, G., Nali, C. 2011. Ozone Stress In *Melissa officinalis* Plants Assessed by Photosynthetic Function. *Environ. Exp.Bot.* 73, 94-101.
- Paju, N., Yamlean, P.V.Y., Kojong, Novel., 2013. Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal. FMIPA UNSRAT*. Manado.
- Sartinah, A. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antibakteri Dari Daun Petai Cina," *Tesis*. Fakultas Farmasi Sains dan Teknologi UGM, Yogyakarta.
- Shah B, Seth, A.K. 2010. Textbook of Pharmacognosy and Phytochemistry. India : Elsvie
- Shetty, S. & Vijayalaxmi, KK. 2012. Phytochemical Investigation of Extract/Solvent Fractions of *Piper nigrum* Linn. Seeds and *Piper betle* Linn. Leaves. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 3(2): 344-349.
- Sudira, I. W., Merdana, I., Wibawa, I. 2011. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Kedondong (*Lannea Grandis Engl*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Erwinia carotovora*. *Buletin Veteriner Udayana*, 3(1), 45-50.
- Wibawati, P.A. 2012. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Merah Terhadap Waktu Kesembuhan Luka Insisi yang Diinfeksi Pada Tikus Putih. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Wibowo, M., Eni C., dan Tepy U. 2009. *Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba Herba Meniran (Phyllanthus niruri L.)*. Depok: Departemen Biologi, Fakultas MIPA Universitas Indonesia
- Wyatt, E., Sutter, S. H., Drake, L. A., 2001, *Dermatology Pharmacology, in Goodman and Gilman's The Pharmacological basic Of Therapeutics*, Hardman, J. G., limbird, L. E., Gilman, A. G., (editor), 10 th, 1801-1803, McGraw-hill, New York.