

Pengaruh konsentrasi etanol terhadap aktivitas antibakteri ekstrak sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*

The effect of ethanol concentration on antibacterial activity of red betel (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) extract on the growth of *Staphylococcus epidermidis* bacteria

Rizky Dila Khairunnisa,¹ Nurul Marfu'ah,¹ Kurniawan,¹ Solikah Ana Estikomah¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Darussalam Gontor
Jl. Raya Solo-Surabaya, Sambirejo, Mantingan, Ngawi, 63257 Indonesia

Article Info:

Received: 2023-01-18

Revised: 2023-02-01

Accepted: 2023-02-15

✉ E-mail Author: dillakhairunnisa01@gmail.com

ABSTRACT

One of the causes of infectious diseases is the bacterium *Staphylococcus epidermidis*. Bacterial infections can generally be treated using antibiotics, but they can cause side effects such as resistance. One of the alternative natural ingredients that can be used as an antibacterial is red betel because it contains flavonoids, alkaloids, steroids, tannins and essential oils. The purpose of this study was to determine the effect of ethanol concentration on the antibacterial activity of red betel extract on the growth of *Staphylococcus epidermidis* bacteria. This study was an experimental study with a completely randomized design (CRD) consisting of 6 treatments and 4 repetitions. Extraction was carried out using the maceration method with 60%, 70%, 80% and 90% ethanol solvent. The in-vitro test was carried out using the disc diffusion method. The resulting inhibition zone was then analyzed with SPSS 20.0 using One Way ANOVA at a significance level of 95%. The results showed that the ethanol extract of red betel leaves had antibacterial ability against *Staphylococcus epidermidis* ($p < 0.05$). The highest antibacterial activity was found in 60% ethanol extract with an average inhibition of 5.90 mm.

Keyword: antibacterial, extract, ethanol concentration, red betel, *Staphylococcus epidermidis*

ABSTRAK

Salah satunya penyebab penyakit infeksi adalah bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Infeksi bakteri pada umumnya dapat diobati dengan menggunakan antibiotik, namun menimbulkan efek samping misalnya resistensi. Salah satu bahan alam alternatif yang dapat digunakan sebagai antibakteri adalah sirih merah karena memiliki senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, tannin dan minyak atsiri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya pengaruh konsentrasi etanol terhadap aktivitas antibakteri ekstrak sirih merah terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 6 kali perlakuan dan 4 kali pengulangan. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 60%, 70%, 80%, dan 90%. Uji in-vitro dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Zona hambat yang dihasilkan kemudian dianalisis dengan SPSS 20.0 menggunakan *One Way ANOVA* taraf signifikansi 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah memiliki kemampuan antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* ($p < 0,05$). Aktivitas antibakteri tertinggi terdapat pada ekstrak etanol 60% dengan rata-rata daya hambat sebesar 5.90 mm.

Kata Kunci: antibakteri, ekstrak, konsentrasi etanol, sirih merah, *Staphylococcus epidermidis*

1. PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang masih banyak dijumpai. Infeksi merupakan penyakit yang menyebabkan terjadinya peningkatan angka morbiditas dan mortalitas di negara berkembang, seperti Indonesia. Penyakit infeksi yang saat ini sering terjadi yaitu penyakit infeksi pada kulit. Salah satunya penyebab terjadinya penyakit infeksi tersebut adalah bakteri.¹ *Staphylococcus epidermidis* merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi pada kulit yang ditandai dengan pembentukan abses.² Bakteri ini secara alami hidup pada kulit dan membran mukosa manusia. Bakteri *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri gram positif yang bersifat non patogen dan dapat hidup sebagai flora normal tubuh, seperti hidung, tenggorokan, rambut dan kulit orang sehat.³ Selain menimbulkan infeksi pada kulit, bakteri ini juga dapat menimbulkan bau yang tak sedap pada bagian tubuh tertentu seperti ketiak dan kaki. Bau yang muncul akibat penguapan keringat dengan frekuensi yang lebih sering ini, akan bercampur dengan bakteri *Staphylococcus epidermidis* sehingga menimbulkan bau yang tak sedap.⁴ Dengan demikian bakteri tersebut dapat leluasa melakukan aktivitasnya di kulit.⁵

Infeksi bakteri pada umumnya dapat diobati dengan menggunakan antibiotik, akan tetapi seiring berjalannya waktu antibiotik dapat menyebabkan resistensi dan efek samping dalam tubuh. Sebagai alternatif, yang dapat digunakan untuk pengganti antibiotik yaitu dengan menggunakan obat antibakteri yang berasal dari bahan alam.⁶ Penggunaan bahan-bahan alam yang berasal dari tanaman untuk mengobati berbagai penyakit umumnya bukan merupakan hal baru bagi masyarakat Indonesia. Hal ini disebabkan oleh berbagai alasan seperti, obat-obatan herbal lebih murah, lebih aman karena tidak memberikan efek samping bagi tubuh dan adanya pengalaman dari generasi sebelumnya yang menjadi sebuah referensi yang cukup dipercaya.⁷ Kemenkes menyatakan bahwa upaya kesehatan dengan obat tradisional merupakan bentuk dari partisipasi dalam mendukung peningkatan kesehatan bagi masyarakat.⁸ Keanekaragaman tanaman yang dimanfaatkan untuk kesehatan ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam Surah Thaahaa (20) ayat 53 yang berbunyi: "*Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu dibumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu jenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam*"

Sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) merupakan salah satu tanaman yang tumbuh di daerah tropis, khususnya Indonesia. Tanaman ini biasanya digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat tradisional meskipun dapat juga digunakan sebagai tanaman hias. Kandungan senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, polifenol, tanin dan minyak atsiri pada sirih merah memiliki aktivitas antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai obat antibakteri.⁹ Ekstrak daun sirih merah memiliki efektivitas yang lebih baik terhadap pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan ekstrak daun sirih hijau.¹⁰

Selain itu pada penelitian sebelumnya, telah dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah dengan menggunakan 3 penyari, yaitu etanol, etil asetat, dan n-heksan. Dari hasil penelitian tersebut zona hambat yang besar didapatkan

pada penyari etanol yang memiliki aktivitas paling baik. Sehingga pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz&Pav) dengan konsentrasi etanol 60%,70%, 80%, dan 90% untuk membandingkan konsentrasi pelarut etanol ekstrak daun sirih merah yang memiliki aktivitas antibakteri paling baik terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

2. METODOLOGI

Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium untuk membuktikan adanya aktivitas antibakteri ekstrak sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus epidermidis*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan jumlah ulangan yang digunakan sebanyak 4 kali.

Bahan yang digunakan pada uji ini adalah ekstrak sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dengan konsentrasi pelarut etanol yang berbeda yaitu 60%,70%, 80%, dan 90%. Bahan didapatkan dari UPT Materia Medika Batu, Malang yang telah dideterminasi. Bahan diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan variasi konsentrasi pelarut etanol. Ekstraksi ini dilakukan di laboratorium Fitokimia Farmasi, Universitas Darussalam Gontor.

Uji Antibakteri

Larutan uji dibuat dengan melarutkan ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) dengan variasi konsentrasi dalam Dimethyl Sulfoxide (DMSO) 5%. Pelarut ini merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa bersifat polar dan nonpolar. Bakteri disiapkan dengan membuat suspensi menggunakan NaCl 0,9%. Uji aktivitas dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram kertas. Cawan petri yang telah berisi media *Mueller Hiton Agar*, kemudian diberi 0,1 ml suspensi bakteri dan diratakan menggunakan triangle. Selanjutnya media diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam agar bakteri tumbuh. Kemudian perlakuan konsentrasi daun sirih merah ditetaskan dengan menggunakan mikro pipet pada paper disk. Lalu paper disk yang telah diberi ekstrak, diletakan pada permukaan media *Mueller Hinton Agar*, setelah itu media tersebut diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 5%, sedangkan kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol. Pengamatan dilakukan dengan melihat zona hambat atau zona bening disekeliling paper disk kemudian diukur dengan menggunakan jangka sorong untuk menentukan aktivitas bakteri.

Analisis Data

Data hasil pengukuran diameter zona hambat kemudian diuji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui bahwa data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak. Dikarenakan data terdistribusi normal ($P>0,05$), maka analisis dilanjutkan menggunakan metode uji *one way* ANOVA dan dilanjutkan dengan

uji Pos hoc metode Tukey. Data dianalisis menggunakan program SPSS 20.0 dengan taraf signifikansi 95%.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav*) Terhadap Aktivitas Antibakteri Pada Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Dalam penelitian ini daun sirih merah diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 60%, 70%, 80% dan 90%. Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih merah terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* ditentukan dengan mengukur luas zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong. Dari hasil uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi cakram, rata-rata zona hambat yang didapatkan berbeda-beda. Berikut ini rata-rata zona hambat dari setiap perlakuan:

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Zona Hambat Ekstrak Etanol Sirih Merah

Perlakuan	Ulangan				Rata-Rata (mm) ± SD
	1	2	3	4	
Etanol 60%	5.26	7.46	4.65	6.23	5.90 ± 1.22
Etanol 70%	5.60	6.19	4.94	5.15	5.47 ± 0.55
Etanol 80%	4.63	5.75	3.59	3.93	4.47 ± 0.95
Etanol 90%	3.42	4.23	3.39	3.06	3.52 ± 0.49
Kloramfenikol	26.31	27.20	27.45	27.63	27.14 ± 0.58
DMSO 5%	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Penelitian ini menggunakan kontrol positif berupa antibiotik kloramfenikol. Berdasarkan tabel 1 dapat dilihat bahwa kontrol positif kloramfenikol memiliki zona hambat yang paling besar. Hal ini menunjukkan bahwa, kloramfenikol memiliki aktivitas antibakteri lebih besar dibandingkan dengan larutan sampel yang diujikan. Selain itu kloramfenikol merupakan antibiotik yang telah umum digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Menurut Katzung, kloramfenikol bekerja menghambat sintesis protein pada sel bakteri. Kloramfenikol akan berikatan secara reversible dengan unit ribosom 50 S, sehingga mencegah ikatan antara asam amino dengan ribosom.¹¹ Pemilihan kontrol positif kloramfenikol pada penelitian ini dikarenakan menurut Pratiwi, et al., antibiotik ini berspektum luas sehingga dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif, salah satunya adalah bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Bakteri ini merupakan bakteri gram positif yang berbentuk bola atau kokus berkelompok tida beraturan. Selain itu bakteri ini merupakan bakteri flora normal pada kulit manusia dan pada umumnya tidak menjadi masalah bagi orang normal yang sehat.¹²

Kontrol negatif pada penelitian ini menggunakan *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) 5% yang menunjukkan hasil dengan tidak adanya diameter zona hambat. Hal ini dikarenakan DMSO < 10% tidak memiliki aktivitas antibakteri sehingga tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Septiani, menyatakan bahwa DMSO dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi diatas 10%.¹³

Pada tabel 1 juga dapat dilihat bahwa hasil uji daya hambat bakteri *Staphylococcus epidermidis* menggunakan metode difusi cakram menunjukkan, rata-rata zona hambat ekstrak etanol 60% sebesar 5,90 mm, ekstrak etanol 70% sebesar 5,47 mm, ekstrak etanol 80% sebesar 4,47 mm, ekstrak etanol 90% sebesar 3,52 mm dan kontrol positif sebesar 27,14 mm sedangkan kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat. Dari hasil rata-rata zona hambat yang didapatkan, kemudian diuji normalitasnya menggunakan metode *Shapiro-Wilk*. Hasil uji normalitas menunjukkan, ekstrak etanol sirih merah memiliki nilai signifikan yang berbeda-beda yaitu, etanol 60% sebesar 0,841, ekstrak etanol 70% sebesar 0,713, ekstrak etanol 80% sebesar 0,647 dan ekstrak etanol 90% sebesar 0,346, dengan demikian nilai tersebut dapat dikatakan terdistribusi normal karena memiliki nilai signifikansi $p > 0,05$.

Setelah data yang didapatkan diketahui terdistribusi normal, maka data kemudian dianalisis dengan uji *One Way ANOVA* menggunakan program SPSS 20.0 dengan tujuan untuk membandingkan setiap perlakuan pada setiap konsentrasi pelarut. Berdasarkan hasil uji *One Way ANOVA* kelompok perlakuan ekstrak sirih merah dengan variasi konsentrasi etanol diketahui nilai signifikan sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang artinya bahwa nilai rata-rata dari setiap kelompok perlakuan memiliki perbedaan bermakna. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav) berpengaruh terhadap aktivitas antibakteri pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan nilai rata-rata yang berbeda. Hal ini dikarenakan ekstrak etanol sirih merah memiliki senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Selain itu perbedaan konsentrasi pelarut dapat mempengaruhi senyawa yang tersari oleh masing-masing konsentrasi pelarut.

Penghambatan terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* oleh ekstrak sirih merah dengan variasi konsentrasi pelarut etanol disebabkan oleh adanya pengaruh senyawa bioaktif dan metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman tersebut. Menurut Reveny, senyawa-senyawa metabolit aktif dari ekstrak etanol daun sirih merah yang berfungsi sebagai antibakteri adalah polifenolat, tannin, flavonoid, dan terpenoid.¹⁴ Flavonoid merupakan senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri. Selain itu alkaloid bekerja dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada sel. Tannin merupakan senyawa yang memiliki mekanisme kerja dengan merusak membran sel bakteri sedangkan saponin berkontribusi sebagai antibakteri dengan cara mengganggu stabilitas membran sel dan senyawa terpenoid yang merupakan senyawa bioaktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, baik melalui membran sitoplasma maupun mengganggu pertumbuhan dan perkembangan bakteri.¹⁵

Selain itu, sirih merah juga mengandung minyak atsiri yang didalamnya terdapat senyawa kavikol yang berfungsi sebagai antibakteri.¹⁶ Kavikol merupakan salah satu dari turunan senyawa fenol yang terdapat dalam sirih merah. Daya antibakteri minyak atsiri disebabkan oleh adanya senyawa fenol dan turunannya yang dapat merusak

dinding sel bakteri, mendenaturasi protein dan pada konsentrasi tinggi dapat merusak membrane sitoplasma bakteri secara total.¹⁷ Menurut Ditjen POM tahun 1980, senyawa kavikol yang terdapat pada daun sirih memiliki daya bunuh lima kali lebih kuat dari fenol. Dengan demikian dapat diketahui bahwa daun sirih merah memiliki senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai antibakteri, sehingga adanya zona hambat berasal dari kandungan senyawa yang terdapat pada tanaman tersebut.¹⁸ Selain itu dari hasil penelitian Anugrah, ekstrak sirih merah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli* dan *Candida albicans*.¹⁹ Menurut Reveny, pada penelitiannya menyatakan, ekstrak etanol sirih merah 80% mempunyai aktivitas antimikroba lebih kuat daripada fraksi etanol, fraksi etil asetat, fraksi air dan n-heksan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli* dan *Candida albicans*.¹⁴

Konsentrasi pelarut etanol ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) yang paling berpengaruh terhadap *Staphylococcus epidermidis*

Konsentrasi pelarut etanol ekstrak daun sirih merah yang paling berpengaruh terhadap *Staphylococcus epidermidis* dapat dilihat dari hasil uji lanjut atau uji *Pos hoc* Pengujian *Post Hoc* dilakukan dengan menggunakan uji *Tukey* yang merupakan pengujian perbandingan jamak untuk menentukan apakah rata-rata masing-masing perlakuan signifikan dalam jumlah analisis varian. Jika data yang dihasilkan memiliki nilai $p < 0,05$ maka data tersebut signifikan atau berbeda bermakna dan jika data yang dihasilkan menunjukkan nilai $p > 0,05$ maka data tersebut tidak signifikan atau tidak berbeda bermakna. Berikut ini hasil uji analisis *Post Hoc* yang didapatkan:

Tabel 1. Hasil Uji Post Hoc Tukey Pada Setiap Perlakuan

Perlakuan	Rata-rata Diameter Zona Hambat
Etanol 90%	3.525 ^a
Etanol 80%	4.475 ^{a,b}
Etanol 70%	5.470 ^b
Etanol 60%	5.900 ^b

Keterangan: a = subset 1
b = subset 2

Dari hasil uji *Post Hoc* dapat dilihat bahwa ekstrak etanol 80% dan 90% terdapat dalam subset yang sama dengan kata lain memiliki perbedaan yang berbeda nyata. Sedangkan pada data perlakuan ekstrak etanol 80%, 70% dan 60% juga terdapat pada satu subset yang sama sehingga tidak memiliki perbedaan yang berbeda nyata. Akan tetapi dari ke-4 konsentrasi pelarut terdapat perbedaan nyata antara etanol 90% dengan etanol 80%, 70% dan 60%, hal ini dikarenakan adanya perbedaan rata-rata diameter zona hambat yang didapatkan. Pada uji ini didapatkan hasil rata-rata etanol 60% memiliki rata-rata daya hambat yang tertinggi. Sehingga menunjukkan bahwa masing-masing konsentrasi pelarut memiliki pengaruh terhadap senyawa yang terkandung didalam sirih merah. Dengan demikian dapat dilihat bahwa semakin tinggi

konsentrasi pelarut etanol yang digunakan, maka dapat dilihat bahwa daya hambat yang dihasilkan semakin rendah.

Pada pengujian antibakteri ekstrak sirih merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan variasi konsentrasi pelarut etanol menunjukkan hasil bahwa ekstrak etanol 60% memiliki aktivitas zona hambat paling tinggi dibandingkan ekstrak etanol 70%, 80% dan 90%. Konsentrasi pelarut etanol yang berbeda memungkinkan akan adanya perbedaan sedikit pada tingkat kepolarannya, seperti etanol 90% lebih polar daripada etanol 60%, 70%, dan 80%. Hal ini dapat dikatakan etanol 60% memiliki sifat semi polar dari ketiga etanol tersebut sehingga memungkinkan senyawa yang larut dalam etanol 60% merupakan senyawa yang bersifat semi polar seperti flavonoid, saponin, alkaloid dan polifenol.²⁰ Dari hasil penelitian Septiani, mengenai total flavonoid daun sirih merah fraksi etil asetat yang bersifat semi polar memiliki nilai tertinggi dari pada fraksi n-heksan dan etanol.¹³ Menurut Reveny, fraksi etil asetat daun sirih merah dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Selain itu daya hambat yang dihasilkan juga dapat disebabkan oleh adanya gabungan beberapa golongan senyawa yang saling memperkuat dan mempunyai aktivitas antibakteri.¹⁴

4. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

- a. Ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus epidermidis*.
- b. Konsentrasi etanol 60% untuk ekstraksi daun sirih merah memberikan pengaruh paling baik sebagai antibakteri *Staphylococcus epidermidis*.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹ Laras. A. 2013. *Aktifitas Antibakteri Fraksi Polar Ekstrak Etanol Daging Buah Sirsak Annona Muricata L.) Terhadap Psudomonas Aeruginosa, Shigella Sonnei, Dan Staphylococcus Aureus, Beserta Bioautografinya*. Surakarta : Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- ² Bramantio, Richard Guntur. 2018. *Uji Efektivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (Piper Crocatum Ruiz & Pav.) Terhadap Staphylococcus Epidermidis Secara In Vitro*. Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- ³ Radji, Maksum. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi Dan Kedokteran*. Jakarta : EGC, 2010. p. 180.
- ⁴ Tiran, Fitri Apriliyani and Nastiti, Christofori M.R.R. 2014. *Aktivitas Antibakteri Lotion Minyak Kayu Manis Terhadap Staphylococcus Epidermidis Penyebab Bau Kaki*. Universitas Sanata Dharma: Surakarta, Vol. 11 No. 2.
- ⁵ Khasanah, Retno Atun, Budiyanto, Eko dan Widiani, Nenny. 2010. *Pemanfaatan Ekstrak Sereh (Chymbopogon Nardus L.) Sebagai Alternatif Anti Bakteri Staphylococcus Epidermidis Pada Deodoran Parfume Spray*. Universitas Negeri Yogyakarta.

- ⁶ Kusuma, Nursalinda. 2018. *Uji Efektifitas Air Perasan Jeruk Nipis Citrus Aurantifolia Swingle) Dan Madu Randu Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Propionibacterium Acnes*. Universitas Darusslam Gontor: Ngawi.
- ⁷ Marlina, Lina. 2013. *Daun Ajaib Tumpas Penyakit*. Jakarta : Penebar Swadaya, 2013.
- ⁸ KEMENKES. 2010. *Guide line for the Use of Herbal Medicine in Family Health Care*. 2010. Sixth ed.
- ⁹ Silawati dan Okky, Serinda. 2018. *Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (Piper Crocatum Ruiz & Pav) Terhadap Staphylococcus Aureus Dan Escherichia Coli Secara In Vitro*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- ¹⁰ Syahrinastiti, Tristika Aulia, Djamal, Aziz dan Irawati, Lili. 2015. *Perbedaan Daya Hambat Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) dan Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav) terhadap Pertumbuhan Escherichia coli*. Universitas Andalas, Padang.
- ¹¹ Katzung, BG. 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta : Salemba Medika, 2004.
- ¹² Pratiwi and Silvy. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Erlangga, 2008.
- ¹³ Septiani, Hanifati Eka. 2017. *Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksana, Etil Asetat Dan Air Dari Ekstrak Etanol Daun Kenikir*. Surakarta : Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- ¹⁴ Reveny, Julia. 2011. Daya Antimikroba Ekstrak dan Fraksi Daun Sirih Merah (Piper betle Linn.). Universitas Sumatera Utara, Vol. 12 No. 1.
- ¹⁵ Aniszewski T. 2007. *Alkaloids*. s.l. : Secret of Life Finland: Elsevier, 2007.
- ¹⁶ Siswandono and Soekardjo, B. 2000. *Kimia Medicinal*. Surabaya : UNAIR Press, 2000. 115-142.
- ¹⁷ Harapini, M, Agusta, A and Rahayu, R. D. 1996. *Analisis Komponen Kimia Minyak Atsiri dari Dua Macam Sirih (Daun Sirih Kuning dan Hijau)*. s.l. : Posiding Simposium Nasional I Tumbuhan Obat dan Tanaman, 1996. 58-64.
- ¹⁸ Ditjen POM. 1980. *Materia Medika Indonesia*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI, 1980.
- ¹⁹ Anugrah, Gita Tri. 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (Piper Crocatum Ruiz & Pav.) Terhadap Staphylococcus Epidermidis*. Politeknik Kesehatan Bandung.
- ²⁰ Harboune J. B. 2006. *Metode Fitokimia Penuntunan dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. [book auth.] Padmawinata K. *Metode Fitokimia Penuntunan dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Bandung : ITB.