

Potensi Ekstrak n-Heksana dan Ekstrak Etanol dari Daun Sirih (*Piper betle* Linn) Sebagai Penghilang Bau Mulut yang Disebabkan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Potential of n-Hexane and Ethanol Extract from Betel Leaves (*Piper betle* Linn) as a Mouth Remover Caused by Bacteria *Staphylococcus aureus*

Nunung Kurniasih^{1,*}, Assyifa Junitasari¹, Lilis Nurjanah¹, Anggita Rahmi Hafsari²

¹ Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati,
Jl AH Nasution No 105 Cibiru Bandung

²Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati,
Jl AH Nasution No 105 Cibiru Bandung

*Email: nunungkurniasih@uinsgd.ac.id

Abstract

The mouth is an ideal place for the growth and development of microorganisms because the mouth has moisture and a regular intake of food. Microbes found in the mouth, namely *Staphylococcus aureus* which can cause bad breath, one type of plant that is used as a bad breath remover is betel leaf. Betel leaf (*Piper betle* Linn) contains chavicol and betlephenol which can inhibit bacterial growth. This study aims to identify the class of compounds in betel leaf that have potential as antibacterial properties against *S. aureus* bacteria. The betel leaf was dried, then crushed to expand the surface of the sample (simplicia). Simplicia as much as 300 grams of macerated stratified with n-hexane, ethyl acetate and ethanol. The result was evaporated and the weight of each extract was 6.4371 g (n-hexane), 8.8007 g (etylacetate) and 9.2173 g (ethanol). Phytochemical tests and thin layer chromatography (TLC) using eluent n-hexane and ethyl acetate (8: 2) showed that n-hexane extract was thought to contain flavonoids, ethyl acetate extract containing saponins and ethanol extract containing polyphenols. Antibacterial activity test was carried out by using the paper disc diffusion method. Both the n-hexane extract and the ethanol extract of betel leaf showed very strong antibacterial activity, characterized by a diameter of inhibition above 20 mm.

Keywords: Betel leaf, *Piper betle* Linn, *Staphylococcus aureus*, inhibition

Abstrak

Mulut merupakan tempat yang ideal untuk tumbuh dan berkembangnya mikroorganisme karena mulut memiliki kelembaban dan asupan makanan yang teratur. Mikroba yang terdapat di dalam

mulut yaitu *Staphylococcus aureus* yang dapat menyebabkan bau mulut, salah satu jenis tanaman yang digunakan sebagai penghilang bau mulut adalah daun sirih. Daun sirih (*Piper betle* Linn) memiliki kandungan *chavicol* dan *betlephenol* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi golongan senyawa pada daun sirih yang memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S.aureus*. Daun sirih dikeringkan, kemudian dihaluskan untuk memperluas permukaan sampel (simplisia). Simplisia sebanyak 300 gram dimaserasi bertingkat dengan n-heksana, etilasetat dan etanol. Hasilnya dievaporasi dan diperoleh berat masing-masing ekstrak sebesar 6,4371 g (n-heksana), 8,8007 g (etilasetat) dan 9,2173 g (etanol). Uji fitokimia dan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan eluen n-heksana dan etil asetat (8:2) menunjukkan ekstrak n-heksana diduga mengandung flavonoid, ekstrak etil asetat mengandung saponin dan ekstrak etanol mengandung polifenol. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram kertas. Baik ekstrak n-heksana maupun ekstrak etanol daun sirih menunjukkan aktivitas antibakteri yang sangat kuat ditandai dengan diameter daya hambat diatas 20 mm.

Kata Kunci: Daun sirih, *Piper betle* Linn, *Staphylococcus aureus*, daya hambat

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v13i1.475>

1. Pendahuluan

Mulut merupakan tempat yang ideal untuk tumbuh dan berkembangnya mikroorganisme karena mulut memiliki kelembaban dan asupan makanan yang teratur. Mikroba yang terdapat di dalam mulut salah satunya ialah *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang menyebabkan bau mulut [1]. Penyebab bau mulut tersebut dapat dihilangkan dengan tanaman daun sirih.

Daun sirih (*Piper betle* L.) merupakan salah satu jenis tumbuhan memanjat suku *piperaciae*. Daun sirih dapat digunakan sebagai pengobatan berbagai penyakit diantaranya obat sakit gigi dan mulut, sariawan, abses rongga mulut, penghilang bau mulut dan batuk [2]. Umumnya daun sirih memiliki khasiat sebagai antibakteri dan antiseptik.

Penggunaan antiseptik dalam berbagai sediaan daun sirih yang telah digunakan di kalangan masyarakat terutama sebagai obat kumur karena mempunyai efek antibakteri terhadap bakteri pada mulut yaitu *Streptococcus mutans* penyebab karies (gigi berlubang), yang diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu alternatif pengobatan gigi berlubang dan mempunyai efek antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, hal ini

dikarenakan adanya kandungan *chavicol* dan *betlephenol* pada daun sirih yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Selain itu menurut penelitian sebelumnya bahwa pada daun sirih terdapat pula kandungan flavonoid, polifenol dan tanin yang bersifat sebagai antibakteri [3].

Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* [4], akan tetapi dalam penelitian tersebut belum sampai pada tahap fraksinasi. Oleh karena itu, penelitian ini dilanjutkan sampai tahap fraksinasi sehingga akan diketahui fraksi yang memiliki sifat antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan uraian diatas dan dari beberapa literatur mengenai tanaman daun sirih sebagai obat tradisional dalam mengatasi permasalahan bau mulut maka penulis merasa tertarik untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada daun sirih (*Piper betle* L.) yang memiliki potensi sebagai antibakteri serta mengetahui aktivitas daya hambat dari fraksi nheksana, etil asetat dan etanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi yang berbeda.

2. Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih yang diambil dari Ujung Berung Bandung dan didetermasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran, pelarut etanol, etil asetat, n-heksana, FeCl₃, serbuk Mg, gelatin 1%, HCl pekat, HCl 2 N, aquades, bakteri *Staphylococcus aureus* milik Laboratorium Mikrobiologi Departemen Kimia FMIPA Universitas Padjadjaran, Media Mueller Hinton (MH), dan bacto agar. Alat-alat yang akan digunakan meliputi blender, timbangan analitik, peralatan gelas kimia, batang pengaduk, rotary vacuum evaporator R-215 Buchi dengan pompa vakum Vac V-850 Buchi dan penangas air B-491 Buchi, spektrofotometer UV-Vis, plat KLT GF 254, cawan petri, dan inkubator.

2.2 Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Daun sirih dicuci bersih, dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan pada suhu kamar dengan diangin-anginkan. Daun sirih yang telah kering dihaluskan dengan cara memblendernya. Simplisia yang telah halus kemudian dimaserasi bertingkat dalam bejana maserasi selama 5x24 jam dengan menggunakan 3 pelarut berbeda kepolaran yaitu n-heksana, etilasetat dan etanol secara berurutan hingga masing-masing filtrat menjadi bening [5]. Filtrat dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga didapatkan ekstrak pekat yang dapat ditimbang dan diketahui bobotnya [6].

2.3 Uji Penapisan Fitokimia

2.3.1 Uji Flavonoid

Ekstrak sampel sebanyak 1-2 mL dicampur dengan 5 ml etanol, dikocok, dipanaskan, dan dikocok lagi kemudian disaring. Kemudian ditambahkan serbuk Mg 0,2 g dan 3 tetes HCl pada masing-masing filtrat. Terbentuknya warna merah pada lapisan etanol menunjukkan adanya flavonoid [7].

2.3.2 Uji Polifenol

Ekstrak sampel sebanyak 1-2 mL dipanaskan pada penangas air kemudian disaring. Filtrat ditambahkan larutan FeCl₃. Perubahan warna hijau, biru kehijauan atau biru kehitaman, atau adanya endapan menunjukkan positif polifenol [7].

2.3.3 Uji Tanin

Ekstrak sampel sebanyak 1-2 mL dipanaskan pada penangas air kemudian disaring. Filtrat ditambahkan gelatin 1%. Perubahan warna putih menunjukkan positif tannin [7].

2.3.4 Uji Saponin

Plat KLT yang mengandung silika Gel GF254 dengan ukuran 1 X 5 cm disiapkan, kemudian ekstrak ditotolkan 0,5 cm dari ujung plat dengan menggunakan pipa kapiler. Plat KLT dibiarkan sesaat, kemudian dimasukkan kedalam bejana KLT yang sudah jenuh dengan uap pelarut. Eluen yang digunakan yaitu n-heksana:etil asetat (8:2). Plat KLT selanjutnya diamati noda-noda yang timbul [8]. Harga R_f yang telah dihitung dan warna noda dibandingkan dengan data sekunder dari literatur.

2.4 Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak n-heksana ditimbang 0,2 g dilarutkan dengan pelarut n-heksana hingga 1 mL maka konsentrasi fraksi adalah 20% b/v kemudian dibuat pengenceran selanjutnya sampai diperoleh fraksi dengan konsentrasi 15%, 10%, dan 5%. Dilakukan prosedur yang sama terhadap ekstrak etil asetat dan etanol dengan masing-masing pelarut yaitu etil asetat dan etanol [9].

2.5 Uji Antibakteri Metode Difusi Cakram Kertas

2.5.1 Pembuatan Media Mueller Hinton (MH)

Sebanyak 2,1 gram *Mueller Hinton* ditambahkan bacto agar 2% dari volume akhir (untuk media agar) kemudian ditambahkan aquades hingga volumenya 100 mL dan diautoklaf selama ±2 jam [10].

2.5.2 Penentuan Optical Density (OD)

Media cair sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam kuvet sebagai blanko lalu ditambahkan 1 mL bakteri hasil kultur ke dalam kuvet, kemudian dilakukan kalibrasi alat menggunakan blanko, setelah itu ditentukan OD pada panjang gelombang 600 nm lalu ukur absorbansinya [10].

2.5.3 Uji Antibakteri

Kultur cair yang telah dibuat diukur OD nya, kemudian dibuat pengenceran 0,5 McFarland. Kultur cair diambil dengan menggunakan kapas lidi lalu dioleskan pada lapisan agar secara merata dan dibiarkan beberapa saat agar bakteri berada pada lempeng agar. Dipipet 50 µL sampel dan biarkan meresap pada cakram kertas, kemudian disimpan pada lapisan atas agar yang telah diolesi bakteri. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam secara aerob kemudian dilakukan pengamatan dan diukur zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong [10].

3. Hasil dan Pembahasan

Simplisia sebanyak 300 gram direndam dengan pelarut n-heksana, kemudian dilanjutkan dengan etil asetat dan terakhir dimaserasi dengan etanol. Ketiga hasil maserasi diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dan masing-masing menghasilkan sebanyak 6,4371 g (n-heksana), 8,8007 g (etilasetat) dan 9,2173 g (etanol).

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui komponen kimia yang terdapat dalam ekstrak daun sirih. Uji fitokimia dilakukan terhadap ketiga ekstrak dan terdiri dari uji flavonoid, polifenol, tanin dan saponin. Hasil uji fitokimia pada daun sirih dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil uji fitokimia yang terdapat dalam tabel dapat diketahui bahwa pada ekstrak n-heksana terdapat senyawa flavonoid. Hal ini dikarenakan flavonoid memiliki sifat yang beragam, terdapat dalam bentuk bebas (aglikon) maupun terikat sebagai glikosida. Namun terdapat pula aglikon polimetil atau polimetoksi yang larut dalam pelarut nonpolar seperti nheksana. Penambahan HCl bertujuan untuk

menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya. Pada ekstrak etil asetat terdapat senyawa saponin yang ditandai adanya busa stabil. Saponin merupakan senyawa yang mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofob. Pada saat dikocok gugus hidrofil akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofob akan berikatan dengan udara sehingga akan membentuk buih. Penambahan HCl 2 N bertujuan untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofil akan berikatan lebih stabil dan buih yang terbentuk menjadi stabil. Sedangkan pada ekstrak etanol terdapat senyawa polifenol dan saponin. Adanya senyawa polifenol ditandai dengan adanya perubahan warna hijau kehitaman setelah penambahan FeCl₃.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Daun Sirih pada Berbagai Fraksi

No	Golongan Senyawa	Fraksi		
		n-Heksana	Etil asetat	Etanol
1	Flavonoid	+	-	-
2	Polifenol	+	-	+
3	Tanin	-	-	-
4	Saponin	-	+	+

3.1 Uji Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis dilakukan terhadap ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol dari daun sirih. Dalam penelitian ini fasa diam yang digunakan adalah silika Gel GF254 sedangkan fasa gerak atau eluen yang digunakan adalah n-heksana dan etil asetat (8:2) v/v. n-heksana merupakan pelarut nonpolar dan etil asetat merupakan pelarut semipolar, sehingga dengan memakai campuran eluen tersebut mampu menarik senyawa-senyawa pada daun sirih yang bersifat polar. Bercak pada plat KLT diamati dibawah sinar UV 366 nm. Berdasarkan hasil uji kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada ekstrak n-heksana diduga mengandung senyawa flavonoid dengan Rf 0,775 ditandai dengan warna noda merah muda setelah dilihat dibawah sinar UV 366 nm. Hal ini diperkuat dengan hasil uji fitokimia yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada fraksi n-heksana. Pada ekstrak etil asetat

diduga terdapat senyawa saponin dengan Rf 0,5 ditandai dengan warna noda merah muda setelah dilihat dibawah sinar UV 366 nm. Hal ini diperkuat dengan hasil uji fitokimia yang menunjukkan adanya senyawa saponin pada fraksi etil asetat. Sedangkan pada ekstrak etanol diduga mengandung senyawa polifenol dengan nilai Rf 0,15 ditandai dengan warna noda hitam setelah dilihat dibawah sinar UV 366 nm. Hal ini diperkuat dengan hasil uji fitokimia yang menunjukkan adanya senyawa polifenol pada ekstrak etanol. Hasil uji kromatografi lapis tipis ekstrak n-heksana, etil asetat dan fraksi etanol dari daun sirih dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Kromatografi Lapis Tipis

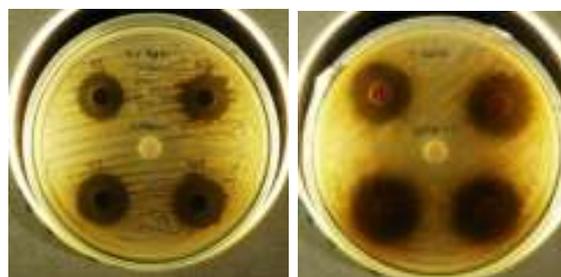
No	Zat Uji	Nilai Rf	Warna Hasil KLT		Dugaan senyawa
			Sebelum UV	Setelah UV	
1	n-Heksana	0,775	Tidak berwarna	Merah Muda	Flavonoid
2	Etil Asetat	0,5	Tidak berwarna	Merah Muda	Saponin
3	Etanol	0,15	Coklat muda	Hitam	Polifenol

3.2 Uji Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan berbagai tingkat konsentrasi yang bertujuan untuk mengetahui adanya peningkatan aktivitas bakteri dengan kenaikan konsentrasi. Uji antibakteri dilakukan terhadap ekstrak n-heksana, etil asetat dan etanol daun sirih dengan konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20%. Zat antibakteri adalah senyawa alami yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Pada penelitian ini zat yang digunakan ialah senyawa alami yang didapat dari hasil maserasi daun sirih.

Pada uji antibakteri ini digunakan kontrol negatif dan kontrol positif. Dimana kontrol negatifnya adalah pelarut dari masing-masing ekstraksi sedangkan kontrol positifnya yaitu povidon iodine 10%. Digunakan povidon iodine karena merupakan obat kumur yang memiliki efek bakterisidal yang dapat menurunkan mikroorganisme hidup pada saliva. Diameter daya hambat yang dihasilkan dari kontrol positif yaitu 32 mm.

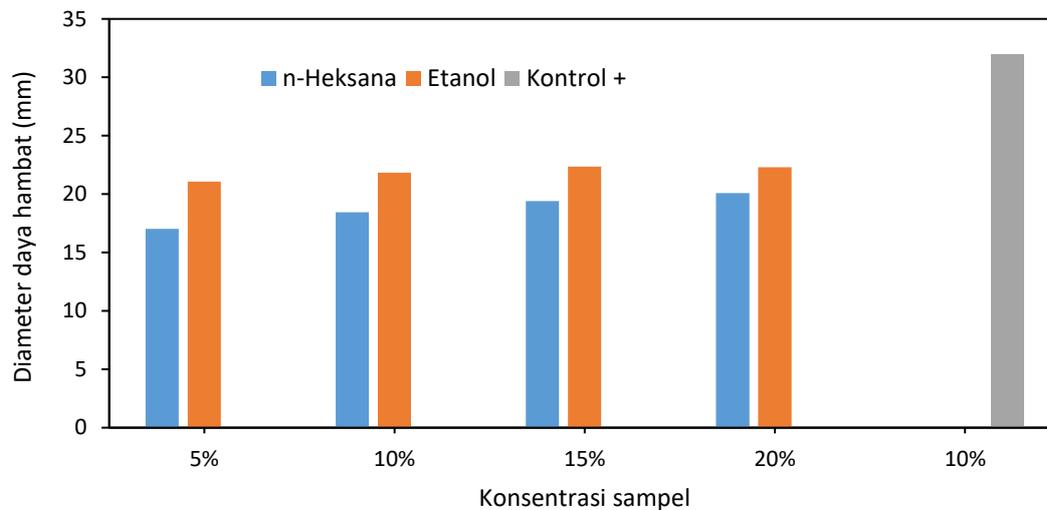
Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana dari daun sirih memberikan daya hambat pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dimana pada konsentrasi 20% menghasilkan diameter daya hambat rata-rata sebesar 20,10 mm. Hal ini menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar aktivitas antibakterinya. Zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 1 dan pengaruh variasi konsentrasi sampel terhadap diameter daya hambat bakteri ditunjukkan pada Gambar 2.



(a)
(b)

Gambar 2. Hasil Uji Antibakteri ekstrak n-heksana (a) dan ekstrak etanol (b) dari Daun Sirih Terhadap Bakteri *S.aureus* dengan Konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20%.

Adanya kandungan senyawa flavonoid pada ekstrak n-heksana menunjukkan bahwa fraksi n-heksana dari daun sirih memiliki aktivitas antibakteri dimana senyawa flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Golongan fenol memiliki sifat bakterisida namun tidak memiliki sifat fungisida. Senyawa fenol bekerja dengan cara inaktivasi protein pada membran sel sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu, yang akan berakibat pada hilangnya makromolekul dan ion dari sel, sehingga sel bakteri menjadi kehilangan bentuk dan terjadi lisis [13].



Gambar 2. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak n-Heksana dan Etanol Daun Sirih Terhadap Diameter Daya Hambat Bakteri *S.aureus* dengan kontrol positif Povidon iodine 10%

Ekstrak etanol pada konsentrasi 15 % memberikan diameter daya hambat paling besar (20,35 mm) pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini diduga karena keberadaan polifenol (katekin). Kemampuan bakterisidal dari katekin yaitu dengan cara mendenaturasi protein dari bakteri. Protein yang mengalami denaturasi akan kehilangan aktivitas fisiologis sehingga tidak dapat berfungsi dengan baik. Perubahan struktur protein pada dinding sel bakteri akan meningkatkan permeabilitas sel sehingga pertumbuhan sel akan terhambat dan kemudian sel menjadi rusak [15].

Daya hambat antibakteri dikatakan sangat kuat bila menghasilkan diameter lebih dari 20 mm, kuat bila menghasilkan diameter 11-20 mm, sedang bila menghasilkan diameter 6-10 mm dan dikatakan lemah bila menghasilkan diameter kurang dari 5 mm [16]. Hasil daya hambat yang dihasilkan daun sirih pada penelitian ini menunjukkan aktivitas antibakteri yang sangat kuat.

4. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa senyawa antibakteri yang terkandung pada ekstrak n-heksana adalah flavonoid sedangkan pada ekstrak etanol adalah golongan polifenol. Kedua ekstrak ini memiliki daya hambat sangat kuat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

5. Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Joko Kusmoro identifikator tanaman dari Herbarium Jatinangor, Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi serta Susiati dari Laboratorium Mikrobiologi Departemen Kimia FMIPA Universitas Padjadjaran.

6. Kontribusi Penulis

Nunung Kurniasih: inisiatif, pengerjaan manuskrip, penanggung jawab konten
Assyifa Junitasari: revisi manuskrip, pengolah data antibakteri
Lilis Nurjanah: eksperimen laboratorium dan pengolah data uji fitokimia
Anggita Rahmi Hapsari: identifikasi tanaman, pemilihan dan identifikasi bakteri uji, pemilihan metode uji mikrobiologi

7. Daftar Pustaka

- [1] Jawetz. 1982. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan. keempat belas ed. Jakarta: Buku Kedokteran.
- [2] Syukur C, 1999. Hernani. Budidaya Tanaman Obat Tradisional. Jakarta: PT. Penebar Swadaya.
- [3] Agustin DW. 2005. Perbedaan Khasiat Antibakteri Bahan Irigasi Antara Hidrogen Peroksida 3% dan infusum Daun Sirih 20% Terhadap Bakteri Mix, *Maj. Kedokteran Gigi*. ISSN 2442-9740.

- [4] Hermawan A. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper Betle* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Difusi Disk. Skripsi Thesis Universitas Airlangga, Surabaya.
- [5] POM D. 1979. Farmakope Indonesia. 3rd ed. Jakarta.
- [6] Febriani NW. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Fraksi -Fraksi dari Daun Kelapa Sawit Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. Surakarta: UMS.
- [7] Indrayani L, Soetjipto H, Sihasale L. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pacut Kuda (*Stachytapheta jamaicensis* L. Vahl) Terhadap Larva Udang *Artamia Salina* Leach. *Berk. Panel. Hayati* : 12 (57- 61).
- [8] Septiana L. 2012. Aktivitas Sitotoksik Fraksi Semi Polar Ekstrak Etanol Kulit Batang Sirsak (*Annona muricata* Linn.) Terhadap Sel T47D. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- [9] Utami NP., 2013. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Metanol dan Fraksi Kloroform Daun Sirsak. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- [10] Stephen J., 2005, Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. America: America Society for Microbiology.
- [11] Harborne JB., 1987, Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan, Penerjemah; K.Padmawinata. 2nd ed. Bandung: ITB.
- [12] Muhlisah F., 2005, Tanaman Obat Keluarga. Jakarta: Penebar Swadaya.
- [13] Pelczar MJ, Chan ECS, Crieg NR., 1986, Dasar-Dasar Mikrobiologi. Penerjemah: Hadieoetomo, R.S. Imas, T., Tjitrosomoso, S., dan Lestari, S. Cetakan pertama. Jilid Satu. Jakarta: UI Press.
- [14] Robinson T., 1995, Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Edisi ke-4 Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung : ITB Press.
- [15] Moeljanto D., 2003, Khasiat dan Manfaat Daun Sirih Obat Mujarab dari Masa ke Masa. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- [16] Morales G, Sierra P, Mancilla, Parades A, Loyola LA, Gallardo O, Borquez J. 2003. Secondary Metabolites from Four Medicinal Plants from Northern Chile, Antimicrobial Activity, and Biototoxicity against *Artemia salina*. *Journal Chile Chem.* 48 (2).