

Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Efektif Menghambat Bakteri *Staphylococcus Aureus*: Uji In Vitro

Dyah Istining Tyas^{1✉}, Indria Nuraini², Annah Hubaedah³



ABSTRACT

Alkaloids, flavonoids, saponins, and tannins are some of the antibacterial components found in the red betel (*Piper crocatum*). The aim of this study was to compare the antibacterial inhibitory power of red betel leaf (*Piper crocatum*) extract with cefadroxil against *staphylococcus aureus* and determine how well the extract inhibits bacterial growth in vitro using the diffusion method. An in vitro laboratory experiment with a true experimental post-test only control group design was the design used for this research. It was found that 30% (16.3mm) and 45% (16.8mm) concentrates had a strong resistance response, while 60% (18.8mm) and 100% (22.1mm) concentrates had the inhibitory response is very strong. In the positive control group, the inhibitory power was found to be 30.6mm, which shows that the inhibition zone formed was larger than in all red betel leaf extract treatments. All treatment group data were normally distributed, according to the results of statistical analysis in homogeneity and normality tests ($p>0.05$). *Staphylococcus aureus* grows more slowly and in fewer numbers when the red betel leaf extract content is greater. To determine the level of safety and toxicity, further studies on the antibacterial properties of red betel leaf extract in vivo are needed.

Keywords: piper crocatum; *staphylococcus aureus*; disc diffusion

ABSTRAK

Alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin adalah beberapa komponen antibakteri yang ditemukan dalam sirih merah (*Piper crocatum*). Tujuan dari penelitian ini adalah membandingkan daya hambat antibakteri ekstrak daun *Piper crocatum* dengan cefadroxil terhadap *staphylococcus aureus* dan menentukan seberapa baik ekstrak menghambat pertumbuhan bakteri *in vitro* menggunakan metode difusi. *Eksperimental laboratory secara in vitro* dengan rancangan *true eksperimental post-test only control group design* merupakan desain yang digunakan dalam penelitian. Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan konsentrat 30% (16,3mm) dan 45% (16,8mm) memiliki respon hambatan kuat, sedangkan pada konsentrat 60% (18,8mm), dan 100% (22,1mm) memiliki respon hambatan sangat kuat. Pada kelompok kontrol positif didapatkan daya hambat sebesar 30,6mm menunjukkan zona hambat terbentuk lebih besar dibandingkan dengan semua perlakuan ekstrak daun sirih merah. Semua data kelompok perlakuan terdistribusi normal, sesuai dengan hasil analisis statistik pada uji homogenitas dan normalitas ($p>0,05$). *Staphylococcus aureus* tumbuh lebih lambat dan lebih sedikit ketika kandungan ekstrak daun sirih merah lebih besar. Untuk menentukan tingkat aman dan toksisitas, studi lebih lanjut tentang sifat antibakteri ekstrak daun sirih merah in vivo diperlukan.

Kata Kunci: piper crocatum, *staphylococcus aureus*; disc diffusion

^{1,2,3}Jurusan Kebidanan,
Universitas PGRI Adi
Buana Surabaya

Submitted: 23 Mei 2024
Accepted: 24 Juni 2024
Published: 30 Juni 2024

✉**Corresponding author:**
Dyah Istining Tyas; Jurusan
Kebidanan, Universitas
PGRI Adi Buana Surabaya
E-mail:
dtyas1006@gmail.com

PENDAHULUAN

Asia Tenggara memiliki berbagai keragaman hayati yang memiliki berbagai macam manfaat. Sebagai negara tropis yang berada di Benua Asia khususnya Asia Tenggara, Indonesia memiliki sumber daya alam hayati yang beragam. Indonesia adalah rumah bagi berbagai macam spesies tanaman. 30.000 dari 40.000 spesies tumbuhan di dunia ditemukan di Indonesia. Mayoritas flora Indonesia, yang tumbuh secara alami di hutan, tidak ditanami; sekitar 26% adalah sirih merah. Dibandingkan dengan obat-obatan farmasi, tanaman obat ini lebih mudah didapat, lebih murah, dan memiliki efek samping yang lebih sedikit.⁽¹⁾ Keinginan orang-orang untuk beralih ke pengobatan non-obat pada saat kejadian penyakit meningkat dan orang ingin hidup lebih lama adalah alasan di balik meningkatnya penggunaan obat herbal.⁽²⁾

Daun sirih hitam, merah, dan hijau adalah tiga varietas daun sirih yang berbeda. Tanaman yang dikenal sebagai sirih ini berasal dari Peru dan menyebar ke banyak negara, termasuk Indonesia.⁽³⁾ Daun sirih merah jarang terkena sinar matahari dan lebih suka tumbuh subur di daerah teduh. Daun sirih merah mengandung bahan aktif seperti *flavonoid*, *alkaloid*, *tanin*, *polifenol*, *saponin*, dan *steroid* yang berkontribusi terhadap sifat antibakterinya. Zat ini memiliki kemampuan untuk melisiskan bakteri dengan mengubah karakteristik protein sel bakteri dan membuat dinding sel bakteri lebih permeabel.⁽⁴⁾

Staphylococcus aureus merupakan salah satu jenis bakteri yang paling banyak ditemukan dan menjadi penyebab infeksi. Pada sistem reproduksi wanita, *staphylococcus aureus* dapat menjadi penyebab *mastitis*, *endometritis*, penyakit radang panggul, dan berbagai penyakit seperti *vaginitis*, *servicitis* dan *sepsis*.⁽⁵⁾ Jenis bakteri ini termasuk dalam kelompok Gram positif, yang lebih rentan daripada bakteri gram negatif karena memiliki konstruksi dinding sel satu lapis.⁽⁶⁾

Proses penghambatan bakteri

staphylococcus aureus memerlukan senyawa antibakteri yang mampu membunuh bakteri penyebab infeksi. Senyawa tersebut harus selektif, artinya bersifat toksik pada bakteri namun relatif tidak toksik pada hospes. *Cefadroxil* merupakan salah satu antibiotik yang dapat digunakan untuk mengobati infeksi. *Cefadroxil* termasuk antibiotik sefalosporin golongan pertama yang memiliki spektrum luas dengan cara aktif membasmi bakteri gram positif dan bakteri gram negatif.⁽⁷⁾

Namun penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan antibiotik tidak bekerja secara maksimal dan memicu terjadinya peningkatan resistensi bakteri terhadap antibiotik.

Daun sirih merah dapat menjadi salah satu metode pengobatan alternatif karena kemampuannya untuk mengobati penyakit dan telah banyak digunakan sebagai obat herbal yang dapat digunakan sepanjang waktu. Daun sirih merah adalah salah satu tanaman yang mungkin memiliki sifat antibakteri karena mengandung zat seperti *flavonoid* yang memiliki sifat antibakteri. *Flavonoid* mencegah bakteri menggunakan oksigen dan dapat mengganggu metabolisme energi, karena itu sirih memiliki kualitas antibakteri. Pada produksi makromolekul, bakteri membutuhkan energi, karena ketidakmampuan bakteri untuk menghasilkan senyawa kompleks disebabkan oleh gangguan metabolisme mereka karena tidak memiliki energi yang cukup.⁽⁸⁾

Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Suryani (2015)⁽⁹⁾ yaitu pelarut metanol pada daun matoa mampu mengekstrak senyawa lebih baik, karena senyawa yang diperoleh didasarkan pada kesamaan sifat kepolaran terhadap pelarut. Senyawa *flavonoid* merupakan senyawa yang bersifat polar karena mempunyai sejumlah gula yang terikat sehingga *flavonoid* cenderung mudah larut pada pelarut polar. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan pelarut metanol mampu mengekstrak senyawa *flavonoid* pada daun sirih merah

dengan baik karena bersifat polar.

Penggunaan metanol sebagai pelarut antibakteri karena bersifat universal dan mampu mengikat semua komponen kimia yang terdapat pada tumbuhan alam, baik yang bersifat non polar, semi polar, dan polar.

Berdasarkan latar belakang diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terkait perbandingan antara efektivitas ekstrak daun sirih merah dengan konsentrasi 15%, 30%, 45%, 60%. 100% dengan pemberian antibiotik *cefadroxil* terhadap bakteri *staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi agar cakram disk.

METODE

Efisiensi ekstrak daun sirih merah dengan pelarut *metanol* 96% dalam mencegah berkembangnya bakteri *staphylococcus aureus* dalam penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium *in vitro* dengan *true eksperimental post-test only control group design*.

Kelompok perlakuan (eksperimental) dan kelompok yang tidak diberi perlakuan (kontrol) merupakan dua kelompok yang dipilih secara acak dalam desain penelitian ini. *Cefadroxil* digunakan oleh kelompok kontrol positif, sedangkan *aquadest* steril digunakan oleh kelompok kontrol negatif. Kelompok kontrol digunakan sebagai pembanding dengan kelompok eksperimen yang mendapat perlakuan untuk jangka waktu tertentu. Jika ada perbedaan di antara kelompok tersebut, maka perlakuan yang diberikan dapat memiliki dampak yang signifikan.⁽¹⁰⁾

Pembuatan ekstrak daun sirih merah dilakukan dengan menggunakan teknik maserasi yaitu daun sirih merah sebanyak 500 gram dihaluskan kemudian serbuk daun sirih merah dimaserasi dengan pelarut metanol 96% menggunakan perbandingan 1:5 dan disimpan pada suhu kamar (28°-32°C) selama 72 jam sambil diaduk tiap 6 jam sekali. Filtrat disaring untuk mendapatkan maserat yang kemudian akan diuapkan dengan *Rotary Evaporator* pada suhu ±44°C untuk mendapat ekstrak kental.⁽¹¹⁾

Proses pengenceran ekstrak daun sirih merah menggunakan *aquadest* steril dengan menimbang masing-masing konsentrasi sebanyak 15%, 30%, 45%, 60%, dan 100% yang dilarutkan dengan *aquadest* sebanyak 10 ml.⁽¹²⁾

Proses awal preparasi sampel yaitu pembuatan media NA yang menimbang sebanyak 7,25 gram NA kemudian dicampur dengan 250 ml *aquabidest* dalam labu Erlenmeyer. *Aquabidest* kemudian dipanaskan di atas hotplate selama kurang lebih sepuluh menit, atau sampai NA larut sepenuhnya. Media yang telah dihomogenkan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu, media dibiarkan dingin hingga suhu antara 40 dan 45°C. Sebanyak 20 mL media NA yang telah didinginkan akan ditambahkan ke dalam cawan petri. Setelah menambahkan media NA ke dalam cawan petri media dibiarkan hingga mengeras.⁽¹³⁾

Pembuatan kultur bakteri dilakukan untuk memperbanyak dan meremajakan bakteri. 1 ose biakan murni bakteri *staphylococcus areus* diinokulasikan pada NA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator.

Pewarnaan pada bakteri dilakukan untuk mengidentifikasi dan memastikan tidak ada kontaminan pada kultur kerja. Alkohol 70% digunakan untuk membersihkan kaca yang akan digunakan. Selanjutnya, lokasi bakteri ditandai di bagian bawah kaca objek dengan menggambar lingkaran menggunakan pensil warna. Setelah meneteskan NaCl 0,9% di atas lingkaran, ambil 1 ose bakteri dan aduk hingga merata. Dengan memegang kaca objek di atas api bunsen hingga terbentuk noda di atasnya. Setelah diwarnai dengan kristal violet selama satu menit, alirkan air di atasnya, preparat ditetesi dengan alkohol 96% selama 30 detik lalu dibilas dengan air mengalir, kemudian diwarnai dengan iodin selama satu menit. Cuci kembali menggunakan air mengalir, kemudian preparat diwarnai dengan safranin selama 1 menit. Bakteri yang tetap berwarna ungu tergolong bakteri gram positif sedangkan bakteri yang berwarna merah tergolong bakteri gram negatif.⁽¹⁴⁾

Setelah menginokulasikan satu koloni bakteri dalam 10 ml *nutrient broth* dan menginkubasinya selama 24 jam pada suhu 37°C, suspensi bakteri diencerkan menjadi suspensi bakteri 10 sel/mL dengan menempatkan satu mililiter suspensi bakteri 10 sel/mL ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL *nutrient broth* lalu *divortex* dan dihasilkan suspensi bakteri dengan kepadatan sel 10 sel/mL, kemudian disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL *NaCl* 0,9% dan dihomogenkan dengan mengaduknya selama 15 detik hingga kekeruhannya sesuai dengan standar kekeruhan larutan Mc. Farland (setara dengan 1,5 x CFU/mL).⁽¹⁵⁾

Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Disc Diffusion* yang dimana prosesnya menggunakan piringan yang berisi antibakteri agar berdifusi kedalam media agar yang kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.⁽¹⁶⁾ media NA sebanyak ± 15-20 mL yang akan digunakan diletakkan dalam cawan petri, dan biarkan hingga mengeras. Setelah media mengeras, ambil satu ose bakteri yang telah diinkubasi selama 24 jam dan masukkan ke dalam *NaCl* steril. Kemudian, ratakan bakteri secara merata pada permukaan media menggunakan kapas steril dengan pola zig-zag. Biarkan suspensi beberapa menit hingga masuk ke media agar. Ambil sebanyak 20 µl dari stok variable ekstrak metanol daun sirih merah dengan konsentrasi 15%, 30%, 45%, 60%, 100%, kontrol positif (+) *cefadroxil* 500 mg digerus hingga halus kemudian diencerkan dengan aquadest sebanyak 50ml. kemudian diambil 30 µg/disk. kontrol negatif (-) menggunakan aquadest 500 ml kemudian teteskan hingga 10 µl pada kertas cakram dan tunggu hingga jenuh, lalu masukkan ke permukaan media, beri jarak cakram 1-2 cm di tepi cawan petri. Kemudian, selama satu periode 24 jam, inkubasi pada suhu 37 ° C dengan 4 kali pengulangan. Selanjutnya, gunakan jangka sorong atau penggaris untuk mengukur diameter zona hambat (*clear zone*) yang telah terbentuk.

Penelitian ini dilakukan di Laboraturium Microbiologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas PGRI Adi Buana Surabaya dengan

kurun waktu 3-4 bulan terhitung dari bulan April – Juni 2023

HASIL

Hasil pengamatan pada tabel 1 dapat dikatakan bahwa pada pemberian kelompok kontrol (-) tidak menunjukkan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri karena tidak terdapat *clear zone* sedangkan pada pemberian kelompok kontrol (+) memiliki rerata diameter zona hambat paling besar yaitu 30,6 mm. Pada kelompok perlakuan yaitu konsentrasi ekstrak daun sirih merah sebanyak 15%, 30%, 45%, 60%, 100% memiliki rerata diameter zona hambat sebesar 0 mm (lemah); 16,3 mm (kuat); 16,8 mm (kuat); 18,6 mm (sangat kuat); dan 22,1 mm (sangat kuat). Zona hambat terkecil pada kelompok perlakuan yaitu pada konsentrasi 30% dan zona hambat terbesar pada konsentrasi 100%.

Tabel 1. Hasil Pengamatan Zona Hambat Ekstrak Daun Sirih Merah Pada *Bakteri Staphylococcus aureus*

Kel.	P1	P2	P3	P4	Mean (mm)	Deviansi (mm)
Kontrol (-)	0	0	0	0	,00000	,0000
Kontrol(+)	32,9	30,7	29,1	29,9	30,6500	1,636505
15%	0	0	0	0	,00000	,0000
30%	16,2	17,1	15,7	16,2	16,3000	0,58310
45%	17,3	16,6	16,0	17,3	16,8000	0,62716
60%	18,5	16,6	16,8	22,5	18,6000	2,73618
100%	19,8	19,8	20,7	25,6	22,1500	2,55930

Sumber: Data Primer

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sirih merah maka semakin tinggi kandungan bahan aktif dan semakin besar zona hambat yang terbentuk. Ekstrak daun sirih merah ternyata mampu menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* dan telah dibuktikan berdasarkan data tabel diatas.

Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Edy Kurniawan (2019)⁽¹⁸⁾ bahwa ekstrak batang bidara laut yang juga mengandung senyawa flavonoid dengan konsentrasi 25, 50, 75, dan 100% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* dengan zona hambat masing-masing 9,83 mm, 10,83 mm, 11,33 mm, dan 11,50 mm.

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas Pada Kelompok Perlakuan Dan Kelompok Kontrol

	Kelompok	Statistic	Df	Sig.
Hasil	Kontrol (-)	.	4	.
	Kontrol (+)	,938	4	,643
	Konsentrasi 15%	.	4	.
	Konsentrasi 30%	,908	4	,470
	Konsentrasi 45%	,864	4	,276
	Konsentrasi 60%	,838	4	,189
	Konsentrasi 100%	,935	4	,622

Sumber: Data Primer

Berdasarkan tabel 2 didapatkan dari uji normalitas Shapiro-Wilk yaitu nilai signifikansi 0 pada kontrol negatif, 0,643 pada kontrol positif, 0 pada konsentrasi 15%, 0,470 pada konsentrasi 30%, 0,276 pada konsentrasi 45%, 0,189 pada konsentrasi 60%, dan 0,622 pada konsentrasi 100%. Maka nilai signifikansi konsentrasi semua kelompok >0,05. Dapat kita simpulkan bahwa data tersebut berdistribusi normal.

Maka nilai signifikansi konsentrasi total pada semua kelompok >0,05 dan data dalam distribusi normal.

Tabel 3. Hasil Uji Homogenitas Pada Pada Kelompok Perlakuan Dan Kelompok Kontrol

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
HASIL	Based on Mean	2,078	4	15	,135

Sumber: Data Primer

Berdasarkan Tabel 3, ditemukan bahwa data terdistribusi homogen, dengan nilai signifikansi 0,135>0,05.

Tabel 4. Hasil Uji One Way Anova

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	559,540	4	139,885	40,089	,000
Within Groups	52,340	15	3,489		
Total	611,880	19			

Sumber: Data Primer

Berdasarkan Tabel 4, ditemukan bahwa data memiliki sebaran normal, yaitu $p < 0,000$. Hasil menunjukkan bahwa jumlah koloni berubah antara empat dosis karena nilai $p > 0,05$.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, ditemukan bahwa kelompok kontrol (-) tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena tidak ada clear zone, sedangkan kelompok kontrol (+) memiliki pengaruh terbesar dengan diameter rata-rata 30,6 mm. Pada kelompok perlakuan didapatkan pada konsentrasi 30% (16,3 mm) dan 45% (16,8 mm) didapatkan respon hambatan kuat, sedangkan pada konsentrasi 60% (18,8 mm), dan 100% (22,1 mm) ada pada respon hambatan sangat kuat. Hal ini diperkuat oleh hasil penelitian dari Nabila⁽¹⁷⁾ yang menyatakan bahwa konsentrasi 60% memiliki zona penghambatan dengan diameter 7,96 mm dapat memperlambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*. adanya bahan aktif yang keluar selama proses ekstraksi yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin yang memberikan aktivitas antibakteri pada ekstrak daun sirih merah. Karena sifat polaritas, bahan aktif ini dapat larut dalam pelarut polar seperti metanol 96% yang digunakan dalam penelitian ini.

Adanya bahan aktif seperti flavonoid, alkaloid, fenol, tanin, saponin, triterpenoid dan minyak esensial yang membuat sirih merah memiliki efek antibakteri.⁽¹⁹⁾ Alkaloid bertindak sebagai antibiotik karena zat tersebut mengganggu komponen peptidoglikan dalam sel bakteri.⁽²⁰⁾ Untuk menghasilkan senyawa kompleks yang dapat merusak membran sel bakteri dan membocorkan senyawa intraseluler, flavonoid dapat memanfaatkan protein litik dan ekstraseluler⁽²¹⁾. Tegangan permukaan dinding sel bakteri dikurangi oleh saponin dan merusak resistensi membran. Tanin dianggap antibiotik dan menghambat enzim transcriptase dan DNA topoisomerase yang dapat mencegah pembentukan sel bakteri.

Berdasarkan hasil uraian pada penelitian ini yaitu adanya perbedaan daya hambat pada masing-masing konsentrasi ekstrak dan antibiotik yang kemungkinan dipengaruhi oleh viskositas ekstrak yang dapat memengaruhi laju difusi senyawa antibakteri dalam media agar. semakin tinggi viskositas,

semakin lambat proses difusi senyawa antibakteri ke dalam media agar.

Dapat disimpulkan bahwa terdapat hasil yang bermakna pada perbandingan kontrol positif dengan menggunakan *cefadroxil* dan ekstrak daun sirih merah dengan konsentrasi 15%, 30%, 45%, 60%, dan 100% dengan nilai $p > 0,05$ yang menunjukkan perbedaan zona hambat yang signifikan secara statistik antara kedua kelompok. Pada konsentrasi 100%, ekstrak daun sirih merah memiliki efek antibakteri tertinggi dalam mencegah pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*.

SIMPULAN

Sifat antibakteri pada daun sirih merah telah menunjukkan bahwa ia dapat digunakan sebagai terapi alternatif. Semakin banyak ekstrak daun sirih merah dalam larutan maka semakin kuat pula hambatannya terhadap pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus*.

PERNYATAAN KONTRIBUSI PENULIS

Dyah Istining Tyas: melakukan penelitian, mengolah data, menganalisis data, menulis artikel; **Indria Nuraini:** membantu penulis pertama, mengoreksi data, menganalisis data; **Annah Hubaedah:** membantu penulis pertama, mengoreksi data, menganalisis data.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih peneliti ucapkan kepada Universitas PGRI Adi Buana Surabaya khususnya tim laboratorium mikrobiologi fakultas sains dan teknologi serta kepada pihak - pihak yang telah memberikan izin pelaksanaan penelitian ini.

SUMBER PENDANAAN

Pendanaan penelitian ini hingga publikasi merupakan dana mandiri peneliti.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rizkita A. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sereh Wangi, Sirih Hijau, Dan Jahe Merah Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus Mutans*. Univ Negeri Semarang. 2017;(November 2017):1-2.
2. Purwanto B. Obat Herbal Andalan Keluarga. FlashBooks. 2016;
3. Lister INE. DAUN SIRIH MERAH Manfaat Untuk Kesehatan. Univ Prima Indones. 2020;
4. Kusuma, S.A.F., Zuhrotun, A., Meidina F. Antibacterial Spectrum of Ethanol Extract of Indonesian Red Piper Betel Leaf (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) Against *Staphylococcus* species. Int J Pharma Sci Res. 2016;
5. Wijayanti TRA, Safitri R. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi Linn*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus* Penyebab Infeksi Nifas. Care J Ilm Ilmu Kesehat. 2018;6(3):277.
6. Bakhtra DDA, Eriadi A, Putri SR. Skrining Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Ekstrak Etil Asetat Jamur Endofit dari Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*). J Farm Higea [Internet]. 2020;12(1):99-108. Available from: <http://jurnalfarmasihigea.org/index.php/higea/article/view/269>
7. Yuliana. Stase Farmakologi Cefadroxil. Samarinda Fak Kedokt Univ Mulawarman Samarinda. 2014;
8. Sapara TU, Waworuntu O. Efektifitas Abtibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina L.*) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. 2016;5(4):10-7.
9. Suryani NC, Permana DGM, Jambe AAGNA. Pagaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Total Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pinnata*). Ilmu dan Teknol Pangan, Fak Teknol Pertan Univ Udayana. 2015;
10. Sugiyono. Metode Penelitian Kombinasi

- (Mixed Methods). In: Alfabeta, Bandung. 2017. p. 114.
11. Khairunnisa. Efek Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Antimikroba Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. Skripsi Univ Brawijaya Malang. 2018;
 12. Setiawan MA, Austin S, Akademi T, Bina F, Kendari H. Uji Hambat Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea robusta*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *War Farm*. 2017;6(2):12–8.
 13. Narulita W. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes* Secara In Vitro. Skripsi Univ Islam Negeri Raden Intan Lampung. 2017;
 14. Niswah L. Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Menggunakan Metode Difusi Cakram. SKRIPSI Jakarta Univ Islam Negeri Syarif Hidayatullah. 2014;(September):1–28.
 15. Umami Z. Formulasi dan Evaluasi Sabun Cair Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Serta Uji Aktivitas Sebagai Antiseptik Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Inst Kesehat Helv Medan*. 2019;
 16. Sari R, Apridamayanti P, Pratiwi L. Efektivitas SNEDDS Kombinasi Fraksi Etil Asetat Daun Cengkodok (*Melasthoma malabathricum*)-Antibiotik terhadap Bakteri Hasil Isolat dari Pasien Ulkus Diabetik. *Pharm J Indones*. 2022;7(2):105–14.
 17. Nabila AA, Aisyah R, Sutrisna EM, Dewi LM. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* Dan *Staphylococcus aureus*. *J Farm*. 2020;344–59.
 18. Edy Kurniawan, Dwi Soelistya Dyah Jekti LZ. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Batang Bidara Laut (*Strychnos ligustrina*) Terhadap Bakteri Patogen. *J Biol Trop*. 2019;1:61–9.
 19. Rinanda, T., Zulfitri, Alga D. Antibacterial Activity of Red Betel (*Piper crocatum*) Leaf Methanolic Extracts Against Methicillin Resistent *Staphylococcus aureus*. *Proc 2nd Annu Int Conf Syiah Kuala Univ 2012 8th IMT-GT Biosci Conf Banda Aceh*. 2012;270–5.
 20. Fadlilah M. Benefit sf Red Betel (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) as Antibiotics. *J Major*. 2015;IV(3):71–5.
 21. Putri AY. Uji Aktivitas dan Efektivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksinasi Herba Sirih Cina (*Peperomia pellucida* L. Kunth) Terhadap *Staphylococcus aureus*. Skripsi Sekol Tinggi Ilmu Kesehat Borneo Cendekia Med Pangkalan Bun. 2021;