

Artikel Penelitian

Efektivitas Salep Ekstrak Etanol 70% Daun Sirih terhadap Epitelisasi Luka Tikus Putih

Musfiroh,^{1*} Muhammad I. Ilmiawan,² Mardhia³

¹Program Studi Kedokteran, FK Universitas Tanjungpura, Pontianak

²Departemen Biologi dan Patobiologi, FK Universitas Tanjungpura, Pontianak

³Departemen Mikrobiologi, FK Universitas Tanjungpura, Pontianak

Penulis korespondensi: musfiroo.firoo@gmail.com

Diterima 4 Desember 2019; Disetujui 2 November 2021

DOI: 10.23886/ejki.8.11439.

Abstrak

Daun sirih (*Piper betle* Linn.) dapat berfungsi sebagai antiseptik, antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, dan astringen sehingga berpotensi mempercepat proses penyembuhan luka. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek salep ekstrak etanol 70% daun sirih terhadap fase epitelisasi tikus putih jantan galur wistar yang mengalami luka di area punggung. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Klinis Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura pada bulan November 2018 - Januari 2019 menggunakan desain post test only controlled group design. Penelitian menggunakan 30 tikus yang dibagi 2 kelompok terdiri atas pengamatan hari ke-7 dan hari ke-14. Setiap kelompok pengamatan terdiri atas 5 kelompok, kelompok kontrol negatif (K-), kelompok kontrol positif (K+), kelompok sirih 7,5% (PI), kelompok sirih 15% (PII), dan kelompok sirih 30% (PIII). Setelah perlakuan, semua kelompok perlakuan dioleskan salep ekstrak etanol 70% daun sirih 2 kali sehari, pagi dan sore. Penilaian epitel menggunakan preparat histopatologi dengan pewarnaan hematoxylin-eosin. Analisis data menggunakan program ImageJ dan IBM SPSS v.24. Luka kelompok salep PII hari ke-7 mengalami epitelisasi luka paling baik dibandingkan kelompok lainnya. Pengukuran jarak antara folikel rambut pertama di tepi luka dan jarak antara dua tepi epitel luka pada hari ke-7 maupun hari ke-14 tidak berbeda signifikan pada semua kelompok. Disimpulkan salep ekstrak etanol 70% daun sirih 15% mempunyai daya penyembuhan luka yang baik pada fase epitelisasi hari ke-7.

Kata kunci: penyembuhan luka, epitelisasi, daun sirih (*Piper betle* Linn).

Effectiveness of Ointment 70% Ethanol Extract Betel Leaves against Wound Epithelialization on Rats

Abstract

Betel leaf (*Piper betle* Linn.) can function as an antiseptic, antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory, and astringent so that it has the potential to accelerate the wound healing process. The purpose of this study was to determine the effect of 70% betel leaf ethanol extract ointment on the epithelialization phase of Wistar male white rats with wounds in the back area. The research was conducted at the Laboratory of Pharmacology and Clinical Pharmacy, Faculty of Medicine, Tanjungpura University in November 2018 - January 2019 using a post-test only controlled group design. The study used 30 rats divided into 2 groups consisting of observations on the 7th-day group and the 14th-day group. Each observation group consisted of 5 groups, a negative control group (K-), a positive control group (K+), a 7.5% betel group (PI), a 15% betel group (PII), and a 30% betel group (PIII). After wounding, all treatment groups were applied with 70% ethanol extract ointment of betel leaf 2 times a day, morning and evening. The epithelial assessment was using histopathological preparations with hematoxylin-eosin staining. Data analysis using ImageJ and IBM SPSS v.24 programs. Wounds of the PII ointment group on day 7 experienced the best wound epithelialization compared to other groups. Measurement of the distance between the first hair follicles at the wound edge and the distance between the two wound epithelial edges on day 7 and day 14 did not differ significantly in all groups. It was concluded that the 70% ethanol extract ointment of 15% betel leaf had a better wound healing process on the 7th day of the epithelialization phase.

Keywords: wound healing, epithelialization, betel leaf (*Piper betle* Linn).

Pendahuluan

Luka adalah kerusakan bagian tubuh yaitu di kulit berupa jaringan yang terputus, robek, atau rusak karena suatu sebab.¹ Segala aktivitas dalam kehidupan sehari-hari dapat menimbulkan luka yang jika tidak diobati berisiko mengalami infeksi bakteri atau jamur. Kerusakan kulit dan jaringan mengakibatkan kuman masuk membentuk koloni.²

Tubuh manusia mempunyai berbagai cara untuk melakukan pertahanan. Pertama adalah lapisan mekanik seperti kulit yang menutupi permukaan tubuh. Kulit termasuk lapisan epidermis, korneum, keratinosit dan lapisan basal merupakan lapisan penting untuk mencegah mikroorganisme dan agen perusak lain masuk ke jaringan yang lebih dalam.³

Secara umum, luka sembuh melalui proses kompleks dan dinamis yang dibagi tiga tahap, yaitu fase inflamasi, fase proliferasi atau epitelisasi, dan fase maturasi atau *remodeling*. Fase inflamasi dimulai segera setelah terjadi kerusakan jaringan dan fase awal hemostasis, dilanjutkan dengan fase proliferasi pada hari ke-4 sampai ke-21 setelah terjadi kerusakan jaringan/luka. Pada fase tersebut, jaringan granulasi menutup permukaan luka dan keratosit bermigrasi untuk membantu penutupan luka dengan jaringan epitel baru. Fase *remodeling* terjadi pada hari ke-21 sampai 1 tahun setelah kerusakan jaringan.⁴

Banyak tanaman tradisional di Indonesia yang dapat membantu penutupan luka, salah satunya daun sirih (*Piper betle* Linn.). Daun sirih telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional karena bersifat antiseptik dan dapat menyembuhkan luka.⁵ Kandungan kimia tanaman sirih adalah saponin, flavonoid, tanin, dan minyak atsiri. Saponin dan tanin bersifat antioksidan dan antimikroba yang mempercepat penyembuhan luka dan epitelisasi.⁶ Flavonoid berupa pigmen yang tersebar luas dalam bentuk senyawa glikon dan aglikon serta menghambat perdarahan dengan mekanisme vasokonstriksi.⁷ Minyak atsiri memiliki daya membunuh bakteri, antioksidan dan antijamur.⁵ Manfaat daun sirih dalam penyembuhan luka menjadi alasan penting dilakukannya penelitian ini sehingga dapat membuktikan pengaruh sediaan salep ekstrak etanol 70% daun sirih terhadap fase epitelisasi.

Metode

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Klinis (proses ekstraksi dan formulasi salep), Laboratorium Non-Mikroskopik (perlakuan terhadap tikus) dan

Laboratorium Mikroskopik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura (pembacaan preparat histopatologi) pada bulan November 2018 - Januari 2019. Desain penelitian adalah eksperimental post test *only controlled group design* dan telah disetujui oleh Divisi Kaji Etik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Nomor 6527/UN22.9/DL/2018. Hewan coba yang digunakan adalah tikus (*Rattus novergicus*) jantan galur wistar sebanyak 30 ekor dibagi 10 kelompok. Kelompok kontrol negatif diberikan basis salep 7 hari (K-7), kontrol positif 7 hari salep *povidone iodine* (K+7), kelompok sirih 7,5% 7 hari (PI7), sirih 15% 7 hari (PII7), sirih 30% 7 hari (PIII7), kontrol negatif basis salep 14 hari (KN14), kontrol positif salep *povidone iodine* 14 hari (K+14), sirih 7,5% 14 hari (PI14), sirih 15% 14 hari (PII14) dan kelompok sirih 30% 14 hari (PIII14).

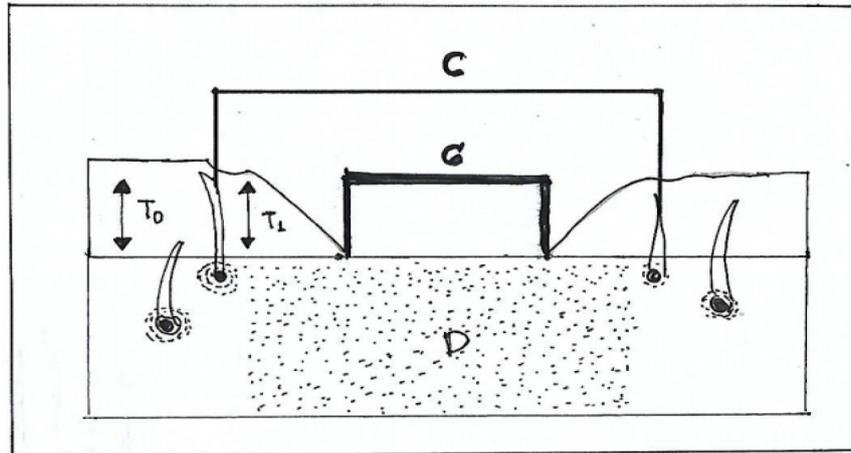
Sebelum perlakuan tikus dianestesi dengan inhalasi kloroform karena kloroform paling cepat menimbulkan reaksi eksitasi dan kematian. Perlakuan dilakukan di daerah punggung sejajar tulang vertebra menggunakan pencetak dengan diameter 2 cm dan kedalaman 0,25 cm, kemudian kulit diangkat dengan pinset dan digunting. Daun sirih diekstrak dengan etanol 70% menggunakan metode maserasi. Ekstrak daun sirih dibuat sediaan salep dengan menambahkan vaselin dan sera alba. Salep merupakan sediaan semisolid berbahan dasar lemak ditujukan untuk kulit dan mukosa. Sediaan salep digunakan karena mudah diserap kulit dan dicuci dengan air. Sediaan salep ekstrak daun sirih 70% dibagi dalam 3 formula dengan kandungan ekstrak daun sirih konsentrasi 7,5%, 15% dan 30%. Setelah perlakuan, semua kelompok perlakuan dioleskan salep ekstrak etanol 70% daun sirih 2 kali sehari, pagi dan sore.

Setelah pembuatan luka dan perlakuan hari ke-7 dan ke-14 dilakukan euthanasia dengan inhalasi kloroform sebagai berikut, kapas dibasahi kloroform dan diletakkan dalam satu wadah sesuai dengan besar tikus. Kemudian kulit luka dipotong, dimasukkan dalam larutan formalin dan dibuat sediaan histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr. Soedarso Pontianak dengan pewarnaan hematoxylin-eosin. Sediaan histopatologi diamati dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x dan mikroskop stereo pembesaran 15x. Pengamatan dilengkapi dengan kamera digital.

Luka diukur pada hari ke-7 dan ke-14 dengan menilai tinggi epitelisasi luka (T) sebagai berikut: menghitung selisih tinggi epitel epidermal (T0) dan

epitel luka (T_1), menilai jarak folikel rambut pertama ditepi luka (C) dengan mengukur dari folikel rambut pertama di tepi luka sampai bertemu folikel rambut

di tepi luka berikutnya, dan menilai jarak dua tepi epitel luka (G) dengan mengukur dari tepi luka sampai bertemu tepi luka berikutnya (Gambar 1)



Gambar 1. Skema Pengukuran Luka

Keterangan

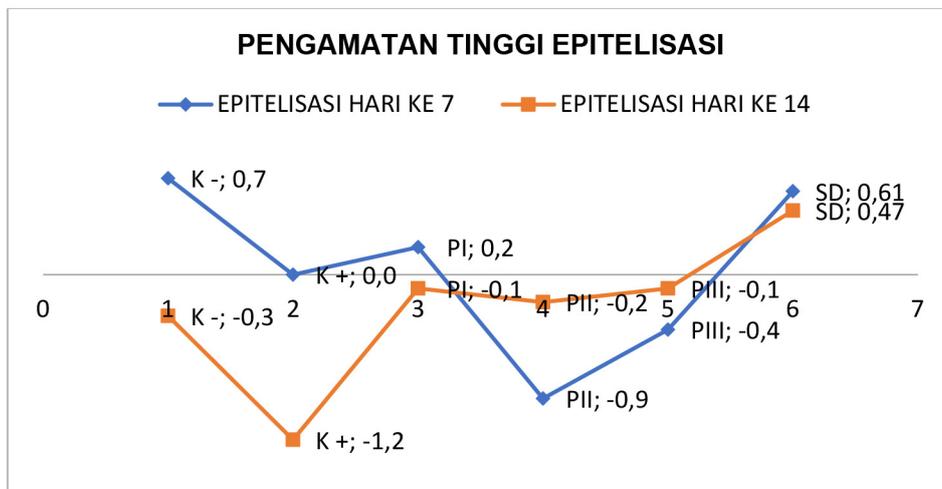
- T_0 = tinggi epitel kulit normal
- T_1 = tinggi epitel luka paling besar
- $T (T_0 - T_1)$ = tinggi epitelisasi luka
- C = jarak folikel rambut pertama di tepi luka
- G = jarak dua tepi epitel luka
- D = wound bed (dasar luka)

Hasil

Pengamatan Tinggi Epitelisasi

Pengukuran tinggi epitelisasi bertujuan untuk mengetahui karakteristik penyembuhan luka yang menandakan percepatan proliferasi epitel. Pada

hari ke-7 ekstrak etanol 70% daun sirih konsentrasi 15% (PII) menunjukkan epitelisasi luka paling tinggi sedangkan pada hari ke-14 kelompok kontrol positif (K+) memiliki epitelisasi luka paling baik (Gambar 2).

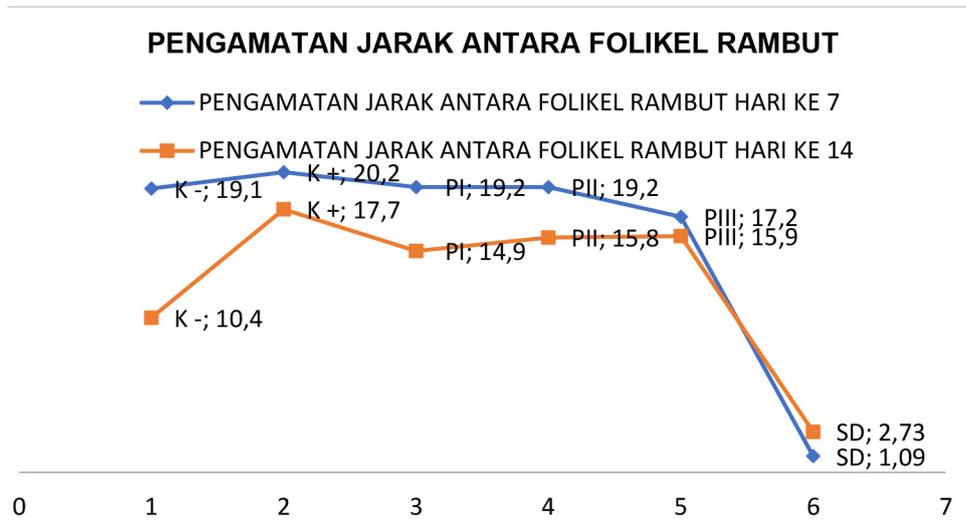


Gambar 2. Tinggi Epitelisasi pada Hari ke-7 dan ke-14

Pengamatan Jarak antara Folikel Rambut Pertama di Tepi Luka

Pengukuran jarak antara folikel rambut pertama pada tepi luka bertujuan untuk menilai kontraksi luka. Apabila kontraksi luka semakin kuat maka akan terjadi penurunan nilai. Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa pada pengamatan hari ke-7 kelompok Sirih 30%

(PIII) memiliki nilai terendah dari masing-masing kelompok sedangkan hari ke-14 kelompok kontrol negatif (K-) yang mengalami penurunan nilai (Gambar 3). Semua kelompok tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada proses epitelisasi dalam jarak antara dua tepi epitel luka pada hari ke-7 maupun hari ke-14.

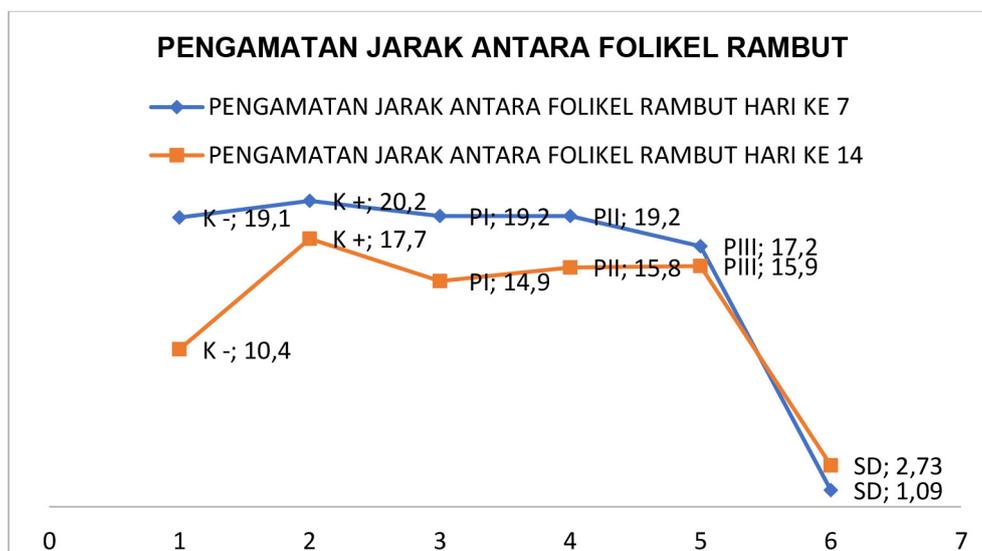


Gambar 3. Jarak Folikel Rambut Pertama di Tepi Luka pada Hari ke-14.

Pengamatan Jarak antara Dua Epitel Luka

Pengamatan jarak antara dua tepi epitel luka bertujuan untuk mengetahui kecepatan penutupan

luka. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa semua kelompok tidak berbeda signifikan pada proses epitelisasi pada jarak antara dua tepi epitel luka hari ke-7 dan ke-14 (Gambar 4).



Gambar 4. Jarak Dua Tepi Epitel Luka Hari ke-7 dan Hari ke-14.

Diskusi

Pengukuran tinggi epitelisasi bertujuan untuk mengetahui karakteristik penyembuhan luka yang mencakup percepatan proliferasi epitel dan dapat menunjukkan adanya gangguan migrasi sel epitel.⁸ Migrasi sel epitel akan berhenti jika sel epitel tersebut sudah berkontak dengan sel epitel lainnya dalam segala arah (*contact inhibition*). Sel epitel tersebut akan segera berproliferasi dan berdiferensiasi membentuk jaringan epitel berlapis.⁹ Tinggi epitelisasi pada hari ke-7 penelitian ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan salep ekstrak daun sirih 15% adalah yang paling optimal dibandingkan kelompok lainnya. Pada hasil uji post hoc test Mann-Whitney, antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif didapatkan perbedaan yang signifikan, demikian juga kelompok PI dengan K-, kelompok PII dengan semua kelompok dan kelompok PIII dengan K+. Hasil analisis data tersebut didukung oleh data pada beberapa literatur, Kusumawardhani et al¹⁰, menyimpulkan bahwa sediaan salep ekstrak daun sirih berpengaruh terhadap peningkatan jumlah fibroblas terbanyak adalah ekstrak daun sirih konsentrasi 15%. Oleh karena itu dipilih tiga konsentrasi ekstrak daun sirih yaitu 7,5%, 15%, dan 30% untuk penelitian ini.

Tinggi epitelisasi pada hari ke-14 yang paling optimal adalah kelompok kontrol positif dibandingkan kelompok lainnya. Antara kelompok perlakuan didapatkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok K+ dengan K-, kelompok PI dengan K-, kelompok PII dengan kelompok K- dan kelompok PIII dengan K-. Hal ini serupa dengan penelitian yang dilakukan Lekram¹¹ bahwa pemberian salep ekstrak daun sirih 20% pada luka terbuka memberikan efek daya penyembuhan yang baik.

Pengukuran jarak antara folikel rambut pertama pada tepi luka bertujuan untuk menilai kontraksi luka. Jarak antara folikel rambut pertama ditepi luka pada hari ke-7 maupun hari ke-14 semua kelompok menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Penelitian Sutopo et al⁷, pemberian ekstrak etanol 70% daun sirih konsentrasi 20% dan 40% dapat memberikan efek yang maksimal dalam penghentian perdarahan (*bleeding time*) pada mencit jantan galur Swiss Webster.

Kelompok K+ dengan pemberian salep *povidone iodine* pada hari ke-7 dan hari ke-14 memiliki hasil tertinggi jarak antara folikel rambut pertama ditepi luka yang berarti bahwa kontraksi luka lemah dibandingkan dengan kelompok

pemberian salep ekstrak daun sirih. Secara umum, *povidone iodine* mempunyai sifat antiseptik (membunuh kuman) baik bakteri gram positif maupun gram negatif. Akan tetapi *povidone iodine* juga bersifat iritatif dan lebih toksik bila masuk ke pembuluh darah. Selain itu penggunaan *povidone iodine* yang berlebihan dapat menghambat granulasi luka.¹² Penelitian Rahmawati¹³, perawatan luka bersih dengan menggunakan daun sirih lebih efektif dalam mempercepat penyembuhan luka bersih, dan tidak menyebabkan kering pada kulit disekitar luka dibandingkan dengan perawatan luka yang diberikan normal saline dan *povidone iodine*.

Kelompok K- dengan pemberian basis salep pada hari ke-7 memiliki hasil yang lebih baik dibandingkan dengan kelompok K+. Basis salep terdiri dari campuran *vaseline* dan *cera alba*. Salep hidrokarbon memiliki konsistensi yang tidak terlalu kental karena menggunakan basis berlemak yaitu *vaselin album* dan *cera alba* yang dapat menurunkan viskositas sehingga konsistensinya lebih lembek.¹⁴ Lemak juga dapat menyintesis sel-sel baru, sebagai antiinflamasi dalam membantu penyembuhan luka, dan memiliki peran dalam struktur dan fungsi sel.¹¹ Penelitian Wahyuni¹⁵, membuktikan bahwa basis salep memiliki pengaruh terhadap penyembuhan luka dibandingkan dengan mencit yang sembuh secara normal (alami).

Re-epitelisasi pada tahap ini difasilitasi oleh kontraksi luka akibat aktivitas miofibroblas sebagai sel yang bertanggung jawab pada kontraksi luka. Miofibroblas merupakan sel mesenkim dengan fungsi dan karakteristik struktur seperti fibroblas dan sel otot polos. Sel tersebut merupakan komponen seluler jaringan granulasi atau jaringan parut yang membangkitkan tenaga kontraktile. Miofibroblas juga memiliki tambahan fungsi unik yang menghubungkan sitoskeleton ke matriks ekstraseluler yang disebut fibronexsus. Fibronexsus dibutuhkan untuk koneksi yang menjembatani membran sel antara mikrofilamen interseluler dan fibronektin ekstraseluler. Jadi, kekuatan kontraksi luka mungkin disebabkan oleh kumparan aktin dalam miofibroblas, dan hal tersebut diteruskan ke tepi luka oleh ikatan sel-sel dan sel matriks.¹⁶

Pengukuran jarak antara dua tepi epitel luka bertujuan untuk mengetahui kecepatan penutupan luka.⁹ Proliferasi dan migrasi fibroblas memegang peranan penting dalam pembentukan jaringan granulasi dan penutupan luka.¹⁶ Kandungan tanin mempercepat penyembuhan luka dengan beberapa mekanisme seluler yaitu membersihkan radikal bebas dan oksigen reaktif, meningkatkan

penutupan luka serta meningkatkan pembentukan pembuluh darah kapiler juga fibroblas.¹⁷ Jarak antara dua tepi epitel luka penelitian ini menunjukkan bahwa antara semua kelompok tidak didapatkan perbedaan yang signifikan.

Daun sirih memiliki manfaat sebagai antiinflamasi, astrigent, antiseptik, dan antibakteri. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak daun sirih memiliki manfaat sebagai antibakteri karena didalamnya terdapat kandungan fenol dan turunannya, terutama tanin, flavonoid, dan saponin yang diketahui sebagai antibakteri.¹⁸ Saponin berpotensi membantu menyembuhkan luka dengan membentuk kolagen pertama yang mempunyai peran dalam proses penyembuhan luka.⁸

Tanin mempercepat penyembuhan luka dengan berbagai mekanisme seluler yaitu membersihkan radikal bebas dan oksigen reaktif, meningkatkan penyambungan luka serta pembentukan pembuluh darah kapiler serta fibroblas.¹⁶ Tanin merupakan senyawa fenolik larut air yang berperan sebagai antoksidan yang melindungi sel dari kerusakan oksidatif seperti kanker, artritis dan penuaan. Tanin juga bermanfaat sebagai astringen, menghentikan perdarahan, mempercepat penyembuhan luka dan inflamasi membran mukosa, serta regenerasi jaringan baru.¹⁶

Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba dan antiinflamasi serta mengurangi onset nekrosis sel dengan menurunkan peroksidasi lipid.¹⁹ Penghambatan peroksidasi lipid dapat meningkatkan viabilitas serat kolagen, sirkulasi darah, sintesis DNA, dan mencegah kerusakan sel.²⁰ Sutopo et al⁷ melaporkan bahwa flavonoid dan tanin dalam daun sirih berperan dalam menghambat sintesis lokal dan produksi prostaglandin I₂ vasodilatasi (prostasiklin) sehingga menyebabkan proses kontraksi luka (vasokonstriksi) menjadi lebih cepat.⁷ Komponen utama minyak atsiri adalah senyawa fenol yaitu betlefenol dan kavikol; zat tersebut bersifat antimikroba dan antijamur yang kuat dan efektif menghambat pertumbuhan bakteri.²¹ Daya antibakteri minyak atsiri daun sirih disebabkan oleh senyawa fenol dan turunannya yang dapat mendenaturasi protein sel bakteri.¹³

Kesimpulan

Pemberian salep ekstrak etanol 70% daun sirih konsentrasi 15% pada hari ke-7 menimbulkan epitelisasi luka paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya. Tidak terdapat perbedaan bermakna pada jarak folikel rambut pertama di tepi luka dan pada jarak antara dua tepi epitel luka pada hari ke-7 dan ke -14.

Daftar Pustaka

1. Librianty N. Panduan mandiri melacak penyakit. Jakarta: Lintas Kata; 2015.
2. Eriadi A, Arifin H, Rizal Z, Barmitoni. Pengaruh ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* terhadap penyembuhan luka sayat pada tikus putih jantan. *Jurnal Farmasi*. 2015;7:163.
3. Garna H. Patofisiologi infeksi bakteri pada kulit. 2016;2:205 – 9.
4. Kartika RW. Teknik perawatan luka kronik dengan modern dressing. Jakarta: RS Gading Pluit; 2015.
5. Maelisa C. Aktivitas larutan (*Piper aduncum* L) terhadap pertumbuhan candidiasis genitalis. *Biolearning Journal*. 2017;9
6. Palumpun E, Wiraguna A, Pangkahila W. Pemberian ekstrak daun sirih (*Piper betle*) secara topikal meningkatkan ketebalan epidermis, jumlah fibroblas, dan jumlah kolagen dalam proses penyembuhan luka pada tikus jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*). *Jurnal e-Biomedik (eBm)*. 2017;5:(1).
7. Sutopo T, Bestari RS, Sintowati R. Uji ekstrak etanol 70% daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap bleeding time pada mencit jantan galur swiss webster. *Biomedika*. 2017;8(2).
8. Tan NS, Wahli W. Studying wound repair in the mouse. *Curr Protoc Mouse Biol*. 2013;3:171–85.
9. Ningsih JR, Haniastuti T, Handajani J. Re-epiteisasi luka soket pasca pencabutan gigi setelah pemberian gel getah pisang raja (*Musa sapientum* L) kajian histologis pada marmut (*Cavia cobaya*). *JIKG*. 2019;2:(1)
10. Kusumawardhani AD, Kalsum U, Rini IS. Effect of betle leaves extract ointment (*Piper betle* Linn.) on the number of fibroblast in IIA degree burn wound on rat (*Rattus norvegicus*) wistar strain. *Maj Kesehatan FKUB*. 2015;2:16–28.
11. Lekram AM, Jamaluddin AW. Efek salep ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap penyembuhan luka sayat pada ayam petelur (*Gallus leghorn*) [skripsi]. Makassar: Universitas Hasanuddin; 2015.
12. Nurdiantini I, Prastiwi S, Nurmaningsari T. Perbedaan efek penggunaan povidone iodine 10% dengan minyak zaitun terhadap penyembuhan luka robek (lacerated wound). *Nurs News (Meriden)*. 2017;2:11–23.
13. Rahmawati R, Rosyadi H. The effectiveness of povidone iodine 10% (betadine) and piper betle L in quickening clean wound's healing process. *Journals Ners Community*. 2013;4:52–6.
14. Lestari, Ayu D. Pengaruh penggunaan basis hidrokarbon, serap dan kombinasi terhadap kualitas fisik salep ekstrak maserasi daun ciplukan. *Jurnal Pengembangan IT*. 2019
15. Wahyuni S. Pengaruh pemberian salep fitoplankton *chlorella vulgaris* terhadap penyembuhan luka sayat (insisi) pada mencit [skripsi]. Makassar: Universitas Hasanuddin; 2016.
16. Sumbayak E. Fibroblas: struktur dan peranannya dalam penyembuhan luka. *Jurnal Kedokteran Meditek*. 2016;21(57).

17. Kurnianto S, Kusnanto, Padoli. Penyembuhan luka bakar pada tikus putih menggunakan ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) 25% dan ekstrak daun petai cina (*Leucaena leucocephala*) 30%. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 2017;10:250-5.
18. Carolia N, Noventi W. Potensi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai alternatif terapi acne vulgaris. *Majority*. 2016;5:(1)
19. Fadlilah M. Benefit of red betle (*Piper crocatum*) as antibiotics. *Majority*. 2015;4:(3).
20. Nurhidayah R, Anwar R, Mayasari LO. Efektivitas ekstrak cabe jawa (*Piper retrofractum* Vahl.) terhadap penurunan leukosit tikus wistar yang mengalami ulkus traumatikus. *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*. 2019;13:(2).
21. Almasyhuri, Sundari D. Uji aktivitas antiseptik ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* linn.) dalam obat kumur terhadap *S. aureus* secara in vitro. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2019;9:10-8.