

Effects of Red Betel Extract (*Piper crocatum*) on Repeated Use Efek Ekstrak Sirih Merah (*Piper crocatum*) pada Penggunaan Berulang

Dewi L. I. Nasution,¹ Herryawan,¹ Afifah B. Sutjiatmo,² Suci N. Vikasari,² Nanda T. Warizky¹

¹Bagian Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia

²Fakultas Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia
Email: dewi.ichwana@lecture.unjani.ac.id

Received: February 19, 2022; Accepted: April 6, 2022; Published on line: April 10, 2022

Abstract: Red betel leaf (*Piper crocatum*) is often used as an alternative herbal medicine, however, it has to be tested to determine the safety and effectiveness. This study aimed to evaluate the effects of red betel leaf extract on repeated use viewed from death, body weight change, and relative organ index in Wistar rats. This was an in vivo experimental study using pre test-post test control design. Samples were 40 Wistar rats divided into four groups; each group consisted of five male rats and five female rats. The control group was given carboxymethylcellulose natrium (CMC-Na) 0.5%, meanwhile the test group was given red betel leaf extract with doses of 100, 400, and 1000 mg/kg BW by using an oral probe for 14 days. All samples were observed for death, body weight change, and relative organ index. The results showed that all doses of red betel leaf extract did not cause any death in 40 samples; did not cause significant change in body weight in male rats but resulted in significant body weight changes in female rats; did not cause any significant difference in the relative organ index in male and female rats. In conclusion, red betel leaf extract (*Piper crocatum*) is safe as an herbal adjunctive therapy for periodontal pocket.

Keywords: red betel leaf; periodontal pocket; multiple repeated doses

Abstrak: Daun sirih merah (*Piper crocatum*) sering dijadikan sebagai alternatif obat herbal. Penggunaannya harus diuji terlebih dahulu untuk mengetahui keamanan dan efektivitasnya. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek ekstrak sirih merah (*Piper crocatum*) pada penggunaan berulang ditinjau dari kematian, perubahan berat badan, dan indeks organ relatif pada tikus galur Wistar. Jenis penelitian ialah eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *pre test-post test control* secara *in vivo*. Pengujian ekstrak daun sirih merah dilakukan terhadap 40 ekor hewan uji tikus galur Wistar yang dikelompokkan menjadi delapan kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus jantan dan lima ekor tikus betina. Kelompok kontrol diberikan *carboxymethylcellulose natrium* (CMC-Na) 0,5%. Kelompok uji diberikan sediaan uji ekstrak daun sirih merah secara berulang dengan dosis 100, 400, dan 1000 mg/kg BB menggunakan sonde oral selama 14 hari. Pada hewan uji yang diamati ialah kematian, perubahan berat badan, dan indeks organ relatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah dengan dosis 100, 400, 1000 mg/kg BB pada 40 ekor tikus tidak menimbulkan kematian; tidak menimbulkan perubahan berat badan yang bermakna pada tikus jantan namun menimbulkan perubahan berat badan yang bermakna pada tikus betina; dan tidak menimbulkan perbedaan bermakna pada indeks organ relatif tikus jantan dan betina. Simpulan penelitian ini ialah pemberian ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) aman sebagai terapi tambahan herbal untuk poket periodontal.

Kata kunci: daun sirih merah; dosis berulang

PENDAHULUAN

Daun sirih (*Piper sp*) merupakan salah satu tanaman tradisional yang dapat dijadikan bahan baku obat-obatan herbal.^{1,2} Keragaman daun sirih dapat diklasifikasikan dalam warna daun yaitu sirih merah, sirih hijau, sirih hitam, sirih kuning, bahkan ada yang berwarna perak. Sirih merah (*Piper crocatum*) merupakan tanaman asli Peru dan menyebar ke beberapa wilayah di dunia, termasuk di Indonesia, serta telah dikenal sebagai tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat karena terbukti secara empiris memiliki khasiat untuk mengobati berbagai macam penyakit.¹⁻⁴ Ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) mempunyai khasiat untuk menyembuhkan berbagai macam infeksi pada rongga mulut, salah satunya penyakit periodontal.^{5,6}

Riskesdas 2018 menyatakan bahwa prevalensi periodontitis di Indonesia sebesar 74,1%.⁷ Periodontitis ialah suatu penyakit mulut yang menyebabkan inflamasi destruktif pada jaringan penyangga gigi yang disebabkan oleh suatu mikroorganisme, ditandai dengan adanya tanda klinis yaitu poket periodontal.^{8,9} Beberapa peneliti menyatakan bahwa penggunaan daun sirih merah dapat berpotensi sebagai pengobatan herbal yang memiliki banyak khasiat namun belum sepenuhnya aman; oleh karena itu perlu diuji tingkat keamanan dan toksisitasnya. Sebelumnya telah dilakukan penelitian uji toksisitas akut ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap hewan uji mencit galur *Swiss webster* dengan pemberian dosis 5.000, 2.500, 1.250, 625 dan 10.000 mg/kg BB, yang mendapatkan bahwa ekstrak tersebut tidak menimbulkan efek toksik.¹⁰

Berdasarkan paparan dalam latar belakang maka penulis melanjutkan penelitian mengenai keamanan dan efek toksik dari pemberian berulang ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap hewan uji tikus galur Wistar dengan dosis 100, 400, dan 1000 mg/kg BB secara berulang. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan informasi mengenai kematian hewan uji, adanya pengaruh terhadap berat badan, serta indeks organ relatif setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang secara oral.¹¹

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan ialah eksperimental laboratorik dengan *pre test-post test control design* secara *in vivo*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi. Hewan uji ialah tikus galur *Swiss Webster* dengan kriteria sehat dan memiliki aktivitas normal, yang didapatkan dari Institut Teknologi Bandung (ITB). Daun sirih merah diambil dari perkebunan Manoko Lembang Jawa Barat, kemudian dilakukan determinasi tanaman di SITH Institut Teknologi Bandung.

Prosedur pembuatan ekstrak ialah daun sirih merah ditimbang terlebih dahulu sebanyak 2 kg dan dicuci dengan air mengalir sampai bersih, kemudian dikeringkan dalam *oven blower* dengan suhu 50°C selama 24 jam. Setelah kering, simplisia digiling sampai menjadi bentuk serbuk, kemudian diayak dengan kertas saring dan disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat.¹² Pembuatan ekstrak daun sirih merah dilakukan menggunakan metode *soxhletasi* dengan pelarut etanol.^{13,14}

Sebanyak 400 gram serbuk daun sirih merah dimasukkan kedalam *thimble* (penutup kertas saring), kemudian dimasukkan ke dalam *soxhlet* untuk dilakukan *soxhletasi*. Selanjutnya dimasukkan etanol 50% sebanyak 4 liter ke dalam labu alas bulat, lalu diekstraksi hingga cairan yang menetes terlihat jernih kemudian dilakukan pengeringan (*freeze dry*) hingga membentuk ekstrak bubuk sebanyak 40 gram.¹⁵ Dosis yang diberikan pada hewan uji yaitu 100, 400, dan 1000 mg/kg BB. Untuk setiap kenaikan dosis tersebut masing-masing dilarutkan dengan ekstrak etanol, dan kelompok kontrol menggunakan *carboxymethyl-cellulose natrium* (CMC-Na) 0,5%. Setelah dilakukan perhitungan dosis, didapatkan volume suspensi yang akan diberikan kepada hewan uji sesuai dengan berat badan.

Pengujian dilakukan pada hewan tikus galur *Wistar*. Hewan diaklimatisasi di ruang percobaan selama paling sedikit 5 hari. Hewan dikelompokkan secara acak sehingga penyebaran berat badan merata untuk

semua kelompok. Masa aklimatisasi bertujuan agar hewan uji dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan.¹⁶

Hewan uji diberikan dosis setiap hari dalam 14 hari. Sebanyak 40 ekor tikus dengan pembagian 20 ekor jantan dan 20 ekor betina dikelompokkan menjadi 8 kelompok, terdiri dari 5 ekor tikus jantan dalam 1 kelompok dan 5 ekor tikus betina dalam 1 kelompok. Pada kelompok kontrol 5 tikus jantan dan 5 tikus betina hanya diberikan makan, minum, dan *carboxymethylcellulose natrium* (CMC-Na) 0,5%. Pada kelompok uji diberikan sediaan uji ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan dosis 100, 400, dan 1000 mg/kg BB peroral menggunakan sonde oral secara berulang.

Observasi hewan uji dilakukan secara individual pada setiap kelompok perlakuan selama 14 hari. Untuk perlakuan berat badan masing-masing hewan dimonitor pada saat sebelum diberikan sediaan uji dan dilakukan penimbangan. Hewan yang mati selama periode pemberian uji segera dilakukan nekropsi organ dan diamati secara makropatologi. Pada akhir periode pemberian sediaan uji, semua hewan uji yang masih hidup dilakukan pembedahan, kemudian dilakukan penimbangan berat organ meliputi organ jantung, paru-paru, hati, ginjal, adrenal, limpa, testis (jantan), vesika seminalis (jantan), ovarium (betina), dan tubafalopi (betina). Penimbangan tersebut dilakukan untuk perhitungan indeks organ relatif.¹⁷

Analisis data hasil pengujian dilakukan dengan uji statistik menggunakan *software* SPSS dan analisis uji varian (*mean*, *median*, dan standar deviasi). Uji normalitas Saphiro-Wilk dilakukan untuk mengetahui apakah data penelitian yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak. Data berat badan tikus dan indeks organ relatif dianalisis dengan menggunakan uji *One Way Anova*. Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* atau uji *T-Independent*.

Penelitian ini dilakukan setelah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Prakinik Fakultas Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani dengan nomor surat perse-

tujuan etik No. 7015/KEP-UNJANI/X/2020.

HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini dilakukan pengujian efek penggunaan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan pemberian berulang sebagai bahan terapi poket periodontal ditinjau dari kematian, perubahan berat badan, dan indeks organ relatif tikus galur *Wistar*. Terdapat 8 kelompok hewan uji, yaitu kelompok kontrol yang diberi CMC-Na 0,5% terdiri dari 5 ekor tikus jantan dalam 1 kelompok dan 5 ekor tikus betina dalam 1 kelompok. Kelompok uji diberikan dosis ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) 100, 400, dan 1000 mg/kg BB per oral pada setiap tikus sesuai dengan dosis dan volume pemberian normal yaitu 2 ml dengan menggunakan sonde oral setiap hari selama 14 hari.

Tabel 1 memperlihatkan bahwa kematian tikus betina dan jantan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan sediaan uji ekstrak daun sirih merah 100, 400, dan 1000 mg/kg BB setiap hari selama 14 hari ialah sebesar 0%.

Tabel 2 memperlihatkan hasil uji *One Way Anova* terhadap keempat kelompok yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan berat badan secara bermakna pada tikus jantan sehingga untuk membandingkan antar kelompok tidak dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Turkey*. Hasil pengujian ini juga menunjukkan bahwa setelah pemberian ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan dosis 100, 400, dan 1000 mg/kg BB terdapat kenaikan berat badan pada tikus jantan namun secara statistik tidak bermakna ($p=0,549$).

Hasil uji *One Way Anova* terhadap berat badan tikus betina kelompok kontrol, 100, 400, dan 1000 mg/kg BB menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p=0,000<0,05$). Untuk perbandingan antar kelompok dapat dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey*. Tabel 3 memperlihatkan hasil uji *Post Hoc Tukey* terhadap berat badan tikus betina antar kelompok yang mendapatkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dengan kelompok 100 mg/kg BB serta kelompok 400 mg/kg BB dengan kelompok 1000 mg/kg BB. Juga terdapat perbedaan

bermakna antara kelompok 100 mg/kg BB dengan kelompok 1000 mg/kg BB, sedangkan dengan kelompok 400 mg/kg BB tidak terdapat perbedaan bermakna. Selain itu terdapat perbedaan bermakna antara kelompok 400 mg/kg BB dengan kelompok 1000 mg/kg BB.

Hasil uji *One Way Anova* terhadap indeks organ relatif tikus jantan tidak mendapatkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan ($p > 0,05$). Pada indeks organ paru-paru dan adrenal tikus jantan terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$) sehingga perlu dilanjutkan dengan uji *T-Independent* untuk melihat apakah terdapat perbedaan bermakna antar kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Tabel 4 memperlihatkan hasil uji *T-Independent* terhadap perbandingan indeks organ jantan kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol. Pada organ jantung, paru, hati, ginjal, limpa, adrenal, testis, dan vesika seminalis kelompok 100, 400, dan 1000 tidak terdapat perbedaan bermakna. Hasil analisis statistik uji *One Way Anova* mendapatkan adanya perbedaan antar kelompok pada organ paru-paru dan adrenal. Oleh karena itu perlu dilakukan monitoring efek ekstrak daun sirih merah terhadap paru-paru dan adrenal jika digunakan. Hasil analisis statistik uji *T-Independent* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

Tabel 1. Kematian hewan uji

Kelompok	Jenis kelamin hewan uji	Jumlah hewan	Jumlah hewan mati	Persentase kematian
Kontrol	Jantan	5	0	0%
	Betina	5	0	
100 mg/kg BB	Jantan	5	0	0%
	Betina	5	0	
400 mg/kg BB	Jantan	5	0	0%
	Betina	5	0	
1000 mg/kg BB	Jantan	5	0	0%
	Betina	5	0	

Tabel 2. Uji *One Way Anova* terhadap berat badan tikus jantan

Kelompok Perlakuan	SD	Mean	Nilai p
Kontrol	16,77	237,71	0,549
100 mg/kg BB	16,95	228,74	
400 mg/kg BB	17,36	234,36	
1000 mg/kg BB	17,10	233,74	

**One Way Anova*, $p \leq 0,05$ (Terdapat perbedaan yang bermakna)

Tabel 3. Uji *post hoc Tukey* terhadap berat badan tikus betina

Kelompok	Kontrol	100 mg/kg BB	400 mg/kg BB	1000 mg/kg BB
Kontrol				
100 mg/kg BB	0,000			
400 mg/kg BB	0,000	0,647		
1000 mg/kg BB	0,000	0,000	0,000	

* $p < 0,05$ (terdapat perbedaan bermakna)

Tabel 4. Uji *T-Independent* indeks organ relatif jantan terhadap kontrol

Kelompok	Nilai sig.							
	Jantung	Paru-paru	Hati	Ginjal	Limpa	Adrenal	Testis	Vesika Seminalis
100	0,830	0,507	0,050	0,294	0,279	0,836	0,672	0,093
400	0,065	0,324	0,038	0,179	0,451	0,079	0,083	0,096
1000	0,819	0,419	0,596	0,114	0,084	0,168	0,276	0,786

* $p \leq 0,05$ (Terdapat perbedaan yang bermakna)

Tabel 5. Uji *T-Independent* indeks organ relatif betina terhadap kontrol

Kelompok	Nilai sig.							
	Jantung	Paru	Hati	Ginjal	Limpa	Adrenal	Ovarium	Tuba Falopi
100	0,774	0,286	0,024	0,294	0,084	0,119	0,092	0,006
400	0,200	0,526	0,014	0,222	0,859	0,018	0,460	0,029
1000	0,115	0,774	0,245	0,761	0,279	0,193	0,640	0,154

* $p \leq 0,05$ (Terdapat perbedaan yang bermakna)

Hasil pengujian *One Way Anova* mendapatkan bahwa pada indeks organ tikus betina tidak terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan ($p > 0,05$). Pada indeks organ jantung tikus betina terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Oleh karena itu perlu dilanjutkan dengan uji *T-Independent* untuk melihat apakah terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Tabel 5 memperlihatkan hasil uji *T-Independent* terhadap perbandingan indeks organ relatif betina pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada seluruh organ kelompok 100, 400, dan 1000 tidak terdapat perbedaan bermakna. Hasil uji *One Way Anova* mendapatkan perbedaan antar kelompok pada organ jantung. Oleh karena itu efek terhadap jantung perlu dimonitor jika digunakan. Hasil analisis statistik uji *T-Independent* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

BAHASAN

Terjadinya penurunan berat badan hari ke-1 pada kelompok kontrol negatif, 100, 400, dan 1000mg/kg BB jantan dikarenakan tikus mengalami stres akibat beradaptasi

ketika pemberian sediaan yang diberikan menggunakan sonde.¹⁹

Tabel 1 memperlihatkan bahwa kematian tikus betina dan jantan pada kelompok kontrol, 100, 400, dan 1000 mg/kg BB ialah sebesar 0% setelah diberikan sediaan uji ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) setiap hari selama 14 hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) sampai dosis 1000 mg/kg BB tidak menimbulkan kematian pada tikus. Hasil pengujian ini sesuai dengan penelitian oleh Safithri et al²⁰ mengenai uji toksisitas akut ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan pemberian dosis 0, 5, 10 dan 20 g/kg BB tidak terdapat kematian pada semua tikus.

Hasil penelitian ini mendapatkan bahwa setelah pemberian ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan dosis 100, 400, dan 1000 mg/kg BB tidak terdapat perbedaan berat badan yang bermakna pada kelompok tikus jantan namun terdapat kenaikan berat badan pada tikus jantan yang dapat disebabkan oleh adanya proses pertumbuhan serta asupan pakan pada tikus tersebut.²¹ Hal ini sejalan dengan penelitian Nasution et al⁰ yaitu pemberian ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan dosis 2% (50 mg/kg BB) dan (100 mg/kg BB) dapat

menyebabkan kenaikan berat badan pada tikus jantan dikarenakan glukosida yang terkandung dalam sirih merah dapat menghasilkan insulin pada tikus jantan.

Pada kelompok 1000 mg/kg BB terjadi penurunan berat badan sebanyak 5%. Penurunan berat badan pada tikus dapat disebabkan karena tikus mengalami stress. Kemungkinan stres dapat terjadi karena proses pemberian sediaan menggunakan sonde dalam jangka waktu panjang, juga dapat disebabkan karena asupan pakan pada tikus dan sistem perkandangan tikus tersebut.^{19,22} Selain itu, senyawa kimia minyak atsiri yang terkandung didalam daun sirih merah juga dapat berpengaruh terhadap penurunan berat badan.²¹ Minyak atsiri mengandung senyawa golongan monoterpena, monoterpena alkohol dan seskuiterpena yang diduga dapat berpengaruh terhadap penurunan berat badan dengan cara menekan nafsu makan pada tikus.^{23,24}

Mengenai indeks organ relatif, hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok pada organ jantung, sehingga diperlukan monitoring efek terhadap jantung dalam pemanfaatannya. Hasil analisis uji *T-Independent* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini selaras dengan penelitian Nasution et al¹⁰ terhadap uji toksisitas akut ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan pemberian dosis 10000, 5000, 2500, 1250, dan 625 mg/kg BB yang melaporkan tidak terdapat perbedaan indeks organ relatif pada tikus betina. Dari seluruh pengujian yang telah dilakukan, hasil uji menunjukkan bahwa pengujian efek penggunaan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) pada pemberian berulang dengan dosis 100, 400 dan 1000 mg/kg BB tidak menimbulkan kematian selama 14 hari perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan dosis 100, 400, dan 1000 mg/kg BB aman digunakan sebagai terapi tambahan herbal untuk poket periodontal. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Sidiqa dan Herryawan²⁵ yang melaporkan bahwa penggunaan gel daun

sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai bahan terapi tambahan setelah skeling dan penghalusan akar dapat mengurangi kedalaman poket, perdarahan gingiva dan gejala klinis inflamasi.

SIMPULAN

Pemberian berulang ekstrak daun sirih merah (*Piper Crocatum*) sebagai bahan terapi poket periodontal pada tikus galur *Wistar* menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan dosis 100, 400 dan 1000 mg/kg BB yang diberikan setiap hari dalam 14 hari tidak menimbulkan kematian pada tikus jantan dan betina, tidak terdapat perubahan berat badan yang bermakna terhadap tikus jantan, dan tidak menimbulkan perubahan indeks organ relatif antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan tikus jantan dan betina, namun terdapat perubahan berat badan yang bermakna pada tikus betina,

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam studi ini.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada LPPM UNJANI dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi UNJANI yang telah mendukung penuh penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rakhmawati NA, Kurniawati A. Pertumbuhan beberapa jenis sirih (*piper spp.*) pada berbagai intensitas naungan. *Buletin Agrohorti*. 2016;4(3):288-97.
2. Puspita PJ, Safithri M, Sugiharti NP. Antibacterial activities of sirih merah (*piper crocatum*) leaf extracts. *Current Biochemistry*. 2018;5(3):1-10.
3. Rachmawaty FJ, Citra DA, Sirwani B, Surmasitoh T, Bowo ET. Manfaat sirih merah (*piper crocatum*) sebagai agen anti bakterial terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia (JKKI)*. 2009;1(1):1-10.
4. Parfati N, Windono T. Sirih merah (*piper crocatum* ruiz & pav.) kajian pustaka aspek botani, kandungan kimia,

- dan aktivitas farmakologi. *Media Pharmaceutica Indonesiana*. 2017;1(2): 106-15.
5. Januarti IB, Wijayanti R, Wahyuningsih S, Nisa Z. Potensi ekstrak terpurifikasi daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) sebagai antioksidan dan anti-bakteri. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research (JPSCR)*. 2019;4(2): 60-8.
 6. Tandelilin RTC, Sandy IPA, Hondro MJ. Derajat keasaman (pH) saliva meningkat setelah berkumur rebusan daun sirih merah (*Piper crocatum*) konsentrasi 10% pada lansia penderita diabetes melitus tipe 2. *Jurnal Teknosains*. 2020; 9(2):139.
 7. Wijaksana IKE. Periodontal chart dan periodontal risk assesment sebagai bahan evaluasi dan edukasi pasien dengan penyakit periodontal. *Jurnal Kesehatan Gigi*. 2019;6(1):19-25.
 8. Pudentiana Rr RE, Fadjeri I, Priharti D, Mariyati. Indeks dmf-t dan periodontitis pada pasien di Klinik Pertamedika Yos Sudarso Jakarta Utara. *Journal of Dental Hygiene and Therapy (JDHT)*. 2021;2(1):6-11.
 9. Hardhani PR, Lastianny SP, Herawati D. Pengaruh penambahan platelet-rich plasma pada cangkok tulang terhadap kadar osteocalcin cairan sulkus gingiva pada terapi poket infraboni. *Jurnal PDGI*. 2013;62(3):75-82.
 10. Nasution DLI, Supriatna A, Sutjiatmo AB, Vikasari NS, Khalifa KR. Uji toksisitas akut ekstrak daun sirih merah (*piper crocatum*) sebagai bahan terapi poket periodontal. *Jurnal Ilmiah dan Teknologi Kedokteran Gigi*. 2021;17(1):1-8.
 11. BPOM. Peraturan badan pengawas obat dan makanan tentang pedoman uji toksisitas praklinik secara in vivo. Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan; 2020.
 12. Fadlilah M. Benefit of red betel (*piper cocatum* Ruiz & Pav.) as antibiotics. *J Majority*. 2015;4(3):71-5.
 13. Cahyaningrum D, Agustini TW, Romadhon. Pengaruh frekuensi pencucian yang berbeda terhadap kualitas bakso ikan gabus (*ophiocephalus striatus*). *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 2015;4(2):33-9.
 14. Pratiwi L, Rachman MS, Hidayati N. Ekstraksi minyak atsiri dari bunga cengkeh dengan pelarut etanol dan n-heksana. *The 3rd University Research Coloquium (ISSN 2407-9189)*; 2016. p. 655-60.
 15. Darnengsih, Mustafiah, Sabara Z, Munira, Rezki D, Zulhulaifa NU. Pembuatan ekstrak daun mangga dengan cara ekstraksi soxhlet sebagai penghambat pertumbuhan bakteri patogen khususnya *Escherichia coli*. *Journal of Chemical Process Engineering*. 2018; 3(1):1-5.
 16. Kartika AA, Siregar HCH, Fuah AM. Strategi pengembangan usaha tikus (*Rattus norvegicus*) dan mencit (*Mus musculus*) di Fakultas Peternakan IPB. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. 2013;1(3):147-54.
 17. Fithria RF, Wulandari RL, Hidayati DN, Rejeki L. Toksisitas akut infusa kulit ari kacang tanah (*Arachis hypogea* L.) pada mencit balb/c. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik (JIFFK)*. 2018;15(2):62-70.
 18. Sugiarti T, Santik YSP. Kejadian periodontitis di Kabupaten Magelang. *Higeia*. 2017;1(4):97-108.
 19. Octavia FZ, Widyastuti N. Pengaruh pemberian jus daun ubi jalar (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) terhadap kadar trigliserida tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) yang diberi pakan tinggi lemak. *Journal of Nutrition College*. 2014;3(4):838-47.
 20. Safithri M, Fahma F, Marlina WN. Analisis proksimat dan toksisitas akut ekstrak daun sirih merah yang berpotensi sebagai antidiabetes. *Jurnal Gizi dan Pangan (JGP)*. 2012;7(1):43-8.
 21. Kuncarli I, Djunarko I. Uji toksisitas subkronis infusa daun sirih merah (*piper crocatum* ruiz & pav) pada tikus: studi terhadap gambaran mikroskopis jantung dan kadar SGOT darah. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*. 2014; 11(2):86-95.
 22. Dewi YF, Anthara MS, Dharmayudha AAGO. Efektifitas ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang di induksi aloksan. *Buletin Veteriner Udayana*. 2014;6(1):73-9.
 23. Sigit M, Yunani R, Lestari F, Apritya D. Pemanfaatan infusa daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai anti-obesitas

- pada mencit (*Mus musculus*). *Vitek*. 2020;10:50-6.
24. Utami RM, Batubara I, Darusman LK. Isolasi minyak atsiri daun sirih merah (*piper cf. fragile. benth*) p. 39-43. [cited Jan 13, 2022]. Available from: [https://](https://journal.unsika.ac.id/index.php/agrotek/article/view/719/627)
25. Sidiqa AN, Herryawan H. Efektifitas gel daun sirih merah (*piper crocatum*) pada perawatan periodontitis kronis. *Kartika*. 2017;5(1):1-6.