

ANALISIS SIDIK JARI, KAPASITAS TOTAL ANTIOKSIDAN SERTA UJI FITOKIMIA PADA EKSTRAK METANOL DAUN SIRIH (*PIPER BETLE L.*)

Darlene Zaneta¹, Frans Ferdinal²

Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara Jakarta¹

Bagian Biokimia dan Biomolekuler, Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara Jakarta²

*Corresponding Author : darlene.405190232@stu.untar.ac.id

ABSTRAK

Ketidakeimbangan antara produksi dan akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) dalam sel dan jaringan dapat memicu stres oksidatif. Kerusakan akibat stres oksidatif dapat dicegah dengan antioksidan yang memiliki peran untuk menetralkan radikal bebas sekaligus melindungi sel-sel yang normal. *Piper betel L.* atau yang dikenal dengan tanaman sirih merupakan salah satu tanaman yang memproduksi antioksidan. *Piper betel L.* seringkali dimanfaatkan sebagai obat herbal tradisional. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan menemukan kandungan fitokimia, kadar antioksidan, serta kadar senyawa terpenoid pada ekstrak daun sirih. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan teknik *in vitro* dan *bioassay*. Uji *in vitro* meliputi uji fitokimia yang melibatkan 12 senyawa metabolik sekunder yang terdiri dari alkaloid, antosianin dan betasianin, kardioglikosida, kumarin, flavonoid, glikosida, fenol, kuinon dan fenolik. Kemudian, uji kapasitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH. Selain itu, profil *High Performance Thin Layer Chromatography* (HPTLC) juga dilakukan dalam penelitian ini untuk melihat apakah terdapat terpenoid dalam ekstrak *Piper betel L.* Hasil penelitian menunjukkan skrining fitokimia ekstrak *Piper betel L.* mengandung kumarin, flavonoid, steroid, alkaloid, antosianin, glikosida, kardioglikosida, kuinon, terpenoid, tanin dan fenolik; aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 44,929 $\mu\text{g/mL}$ yang mengindikasikan antioksidan yang sangat kuat; serta Profile HPTLC dengan nilai R_f 0,39 dan 0,77 yang mengindikasikan adanya terpenoid.

Kata kunci : *Piper betel L.*, antioksidan, fitokimia, DPPH, BSLT dan profil HPTLC

ABSTRACT

The imbalance between the production and accumulation of reactive oxygen species (ROS) in cells and tissues can trigger oxidative stress. Damage caused by oxidative stress can be prevented with antioxidants which have a role to neutralize free radicals while protecting normal cells. *Piper betel L.* or known as the betel plant is one of the plants that produce antioxidants. *Piper betel L.* is often used as a traditional herbal medicine. This study aims to determine and find the phytochemical content, antioxidant levels, and levels of terpenoid compounds in betel leaf extract. This research is an experimental study with *in vitro* and *bioassay* techniques. *In vitro* tests include phytochemical tests involving 12 secondary metabolic compounds consisting of alkaloids, anthocyanins and betacyanins, cardioglycosides, coumarins, flavonoids, glycosides, phenols, quinones and phenolics. Then, the antioxidant capacity test was carried out using the DPPH method. In addition, a High-Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) profile was also carried out in this study to see if there were terpenoids in the *Piper betel L.* extract. The results showed that the phytochemical screening of *Piper betel L.* extract contained coumarins, flavonoids, steroids, alkaloids, anthocyanins, glycosides, cardioglycosides, quinones, terpenoids, tannins and phenolics; antioxidant activity with an IC_{50} value of 44.929 $\mu\text{g/mL}$ which indicates a very strong antioxidant; and HPTLC Profile with R_f values of 0.39 and 0.77 which indicated the presence of terpenoids.

Keywords : *Piper betel L.*, antioxidant, phytochemical, DPPH, BSLT, and HPTLC profile

PENDAHULUAN

Oksigen merupakan gas yang tidak berwarna, tidak berbau, dan tidak berasa (Zhu et al., 2016). Oksigen memiliki nomor atom 8 atau dengan kata lain oksigen merupakan unsur non

logam yang sangat reaktif dan dapat membentuk senyawa dengan unsur kimia lainnya. Molekul oksigen bersifat *biradical* karena terdapat dua elektron yang tidak berpasangan. Tubuh makhluk hidup, terutama manusia sangat memerlukan oksigen untuk menghasilkan ATP (energi) melalui serangkaian reaksi respirasi seluler (Lieberman, Michael, Peet, 2017; Schmidt-Rohr, 2020).

Reactive Oxygen Species (ROS) merupakan molekul yang tidak stabil dan memiliki gugus fungsional oksigen (Sanders & Greenamyren, 2013). ROS dihasilkan sebagai *byproduct* dari metabolisme oksigen dan berperan secara fisiologis, seperti memberikan sinyal pada sel (Pizzino et al., 2017). ROS terdiri dari radikal bebas yang meliputi superoksida ($O_2^{\bullet-}$) dan radikal hidroksil (OH^{\bullet}). Hidrogen peroksida (H_2O_2) merupakan salah satu spesies non radikal yang terdapat dalam ROS, dimana hidrogen peroksida terbentuk karena adanya reduksi parsial oksigen (Zhang et al., 2016). Produksi ROS dapat dipengaruhi oleh faktor eksternal (dapat ditemukan pada asap tembakau dan radiasi pengion) dan faktor intraseluler (dapat ditemukan di semua tempat sel, terutama pada mitokondria) (NavaneethaKrishnan et al., 2019).

Ketika produksi ROS meningkat, beberapa sel dan jaringan dapat mengalami kerusakan serta menimbulkan kondisi ketidakseimbangan yang dikenal dengan stres oksidatif (Pizzino et al., 2017). Stres oksidatif merupakan suatu kondisi dimana kadar ROS dan antioksidan tidak berimbang sehingga dapat menjadi mekanisme fundamental yang mendasari penyakit degeneratif, seperti diabetes, kanker, inflamasi, *aging* dan penyakit kardiovaskular (Pizzino et al., 2017) (Gholamian-Dehkordi et al., 2017; Luqman et al., 2009).

Antioksidan berperan untuk menetralisasi dan mencegah kerusakan sel yang diakibatkan oleh ROS. Antioksidan sendiri dapat dibagi menjadi antioksidan endogen dan antioksidan eksogen, dimana antioksidan eksogen berasal dari tanaman obat seperti buah-buahan, sayur-sayuran, jamu tradisional dan lain-lain (Raza et al., 2013; Xu et al., 2017). Salah satu tanaman yang mengandung antioksidan adalah daun sirih (*Piper betle* L.).

Daun sirih (*Piper betle* L.) yang sering disebut sebagai *the Golden Heart of Nature*, merupakan salah satu tanaman herbal yang banyak digunakan di wilayah Asia, dimana tanaman ini sering dijadikan obat herbal tradisional, seperti obat cacing, anti jerawat, menyembuhkan nyeri dan bengkak, dan mengurangi iritasi pada mata serta kebersihan mulut (Andrianto et al., 2020; Durani et al., 2017;). Pada umumnya, daun sirih berwarna hijau keabu-abuan dan tumbuh secara merambat, serta memiliki rasa yang bervariasi dari manis hingga pedas jika dikonsumsi (Kelompok Masyarakat Desa Sirnasari, 2008; Peter KV, 2001). Penelitian mengenai daun sirih sangat penting dan dapat diperlukan dalam bidang medis. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan menemukan kandungan fitokimia, kadar antioksidan, serta kadar senyawa terpenoid pada ekstrak daun sirih.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eskperimental dengan teknik *in vitro* dan *bioassay*. Penelitian dilakukan di laboratorium Biokimia dan Biologi Molekuler Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara. Penelitian ini dimulai pada November 2021 hingga Juni 2022. Uji *in vitro* meliputi uji fitokimia yang melibatkan 12 senyawa metabolik sekunder yang terdiri dari alkaloid, antosianin dan betasianin, kardioglikosida, kumarin, flavonoid, glikosida, fenol, kuinon dan fenolik. Kemudian, uji kapasitas antioksidan dilakukan menggunakan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Selain itu, untuk melihat senyawa terpenoid dalam ekstrak daun sirih, peneliti melakukan uji HPTLC (*High Performance Thin Layer Chromatography*).

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih (*Piper betle* L.) yang diperoleh di Gandasoli, Subang dan telah diidentifikasi oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Penelitian ini diawali dengan mengeringkan daun sirih pada suhu ruang. Setelah dikeringkan, sampel dilumatkan hingga menjadi bubuk atau simplisia menggunakan blender. Kemudian, sampel akan diekstraksi melalui metode maserasi menggunakan metanol. Selanjutnya, dilakukan evaporasi menggunakan *rotatory evaporator* dan didapatkan bentuk berupa pasta. Data yang diperoleh dari hasil uji fitokimia, uji kapasitas total antioksidan dan HPTLC diolah menggunakan aplikasi *Graph Pad*.

HASIL

Kandungan Fitokimia Pada Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.)

Tabel 1 menunjukkan hasil uji kualitatif fitokimia yang dilakukan pada ekstrak daun sirih menggunakan metode Harborne.

Tabel 1. Hasil uji analisis kualitatif fitokimia ekstrak daun sirih

Senyawa Fitokimia	Hasil	Nama Metode
Alkaloid	+	Mayer/Wagner
<i>Anthocyanin</i>	+	NaOH
<i>Betacyanin</i>	-	NaOH
Kardio Glikosida	+	Keller Kiliani
<i>Coumarins</i>	+	NaOH & Kloroform
Flavonoid	+	NaOH
Glikosida	+	<i>Modified Borntrager</i>
Fenol	+	<i>Folin Ciocalteau</i>
Kuinon	+	H ₂ SO ₄
Saponin	-	Foam
Steroid	+	Liebermann Burchard
Terpenoid	+	Liebermann Burchard
Tanin	+	<i>Ferric Chloride</i>

Hasil uji fitokimia pada ekstrak daun sirih menunjukkan bahwa terdapat senyawa fitokimia seperti alkaloid, *anthocyanin*, kardio glikosida, *coumarins*, flavonoid, glikosida, *phenolics*, kuinon, steroid, terpenoid, dan tanin. Namun, terdapat hasil negatif pada senyawa saponin dan *betacyanin*. Temuan ini sejalan dengan penelitian Jayalakshmi dkk. yang menunjukkan hasil positif pada senyawa fenol, tanin, glikosida dan steroid pada ekstrak daun sirih (Jayalakshmi et al., 2015). Rukmini dkk. juga menemukan hasil positif pada senyawa alkaloid dan flavonoid sedangkan hasil negatif pada senyawa saponin (Rukmini, 2020). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Burt dan Witkowska dkk. menyatakan bahwa senyawa fenolik merupakan metabolik sekunder yang paling banyak dan terlibat dalam penghambatan pertumbuhan mikroba pada herbal.¹⁸ Studi yang dilakukan oleh Cetin-Karaca turut membuktikan efektivitas dari aktivitas antibakteri senyawa fenolik seperti, gram-positif dan gram-negatif (*Bacillus* sp., *Listeria monocytogenes*, *Clostridium* sp., *E. coli* dan *Salmonella* sp.). Penelitian yang dilakukan oleh Akiyama dkk.; Funatogawa dkk.; Bansa; dan Adeyemo mengungkap bahwa tanin memiliki sifat antibakteri *in vitro* (Syahidah et al., 2017).

Uji Kapasitas Antoksidan Metode DPPH Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.)

Uji kapasitas antioksidan pada ekstrak daun sirih dilakukan menggunakan metode DPPH dengan vitamin C (IC₅₀ 5,41 µg/mL) sebagai standar pembanding. Tabel 2 menunjukkan hasil uji kapasitas antioksidan pada ekstrak daun sirih.

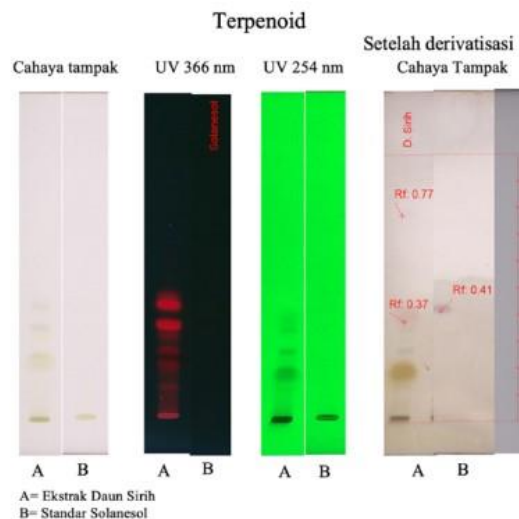
Tabel 2. Hasil persentase inhibisi uji kapasitas antioksidan ekstrak daun sirih

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata Absorban	%Inhibisi ($\mu\text{g/mL}$)
25	0,384	29,670
50	0,217	60,256
75	0,138	74,725
100	0,044	91,941
Absorbansi Control		0,546
IC₅₀		44,92

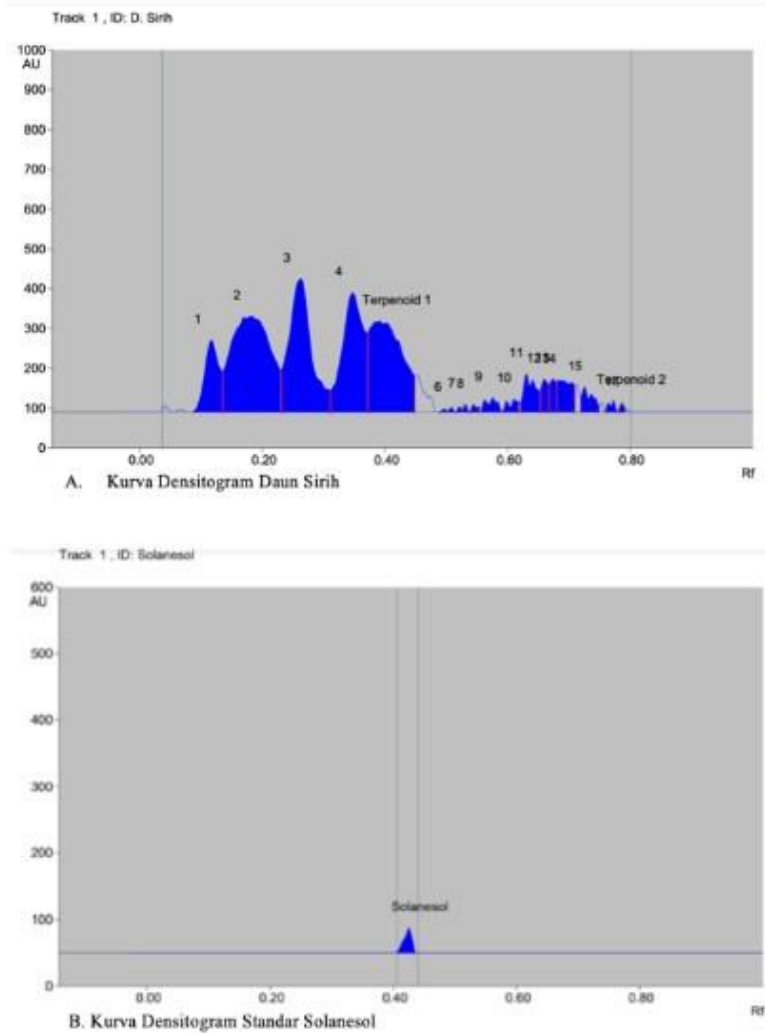
Dalam penelitian ini, didapatkan IC₅₀ sebesar 44,92 $\mu\text{g/mL}$. Menurut Blois, jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, maka dapat dikatakan bahwa kadar antioksidan pada sampel sangat kuat (Qonitah F, 2018). Dengan demikian, dapat dikatakan bahwa hasil uji kapasitas antioksidan pada ekstrak daun sirih menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih memiliki antioksidan yang sangat kuat. Hasil serupa juga ditemukan dalam penelitian yang dilakukan oleh Serlahwaty dkk., dimana didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 10.59 $\mu\text{g/mL}$ pada ekstrak daun sirih yang dapat dikategorikan sebagai antioksidan yang sangat kuat.²⁰ Dengan demikian, daun sirih memiliki banyak keuntungan dalam pengobatan secara empiris seperti antimikroba, antiseptik, antidiabetes dan dapat mengatasi hidung yang berdarah (Diana Serlahwaty et al., 2011).

Uji Kadar Senyawa Terpenoid Metode HPTLC Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle L.*)

Uji kadar senyawa terpenoid pada ekstrak daun sirih dilakukan dengan metode *High Performance Thin Layer Chromatography* (HPTLC) dengan solanesol sebagai standar pembanding. Berikut adalah hasil uji kadar senyawa terpenoid pada ekstrak daun sirih (Gambar 1, Gambar 2, Tabel 3, dan Tabel 4).



Gambar 1. Profil HPTLC



Gambar 2. Densitogram daun sirih dan standar solanesol

Tabel 3. Densitogram daun sirih

A. Densitogram Daun Sirih

Peak	Start Position	Start Height (AU)	Max Position	Max Height (AU)	Max %	End Position	End Height (AU)	Area (AU)	Area %	Assigned Substance
1	0,09 Rf	0,5	0,12 Rf	179,7	9,69	0,13 Rf	93,2	3358,3	6,57	unknown
2	0,14 Rf	103,9	0,18 Rf	240,1	12,95	0,23 Rf	95,9	12622,7	24,70	unknown
3	0,23 Rf	107,6	0,26 Rf	333,7	18,00	0,31 Rf	54,3	9882,7	19,34	unknown
4	0,31 Rf	55,4	0,35 Rf	299,8	16,17	0,37 Rf	99,4	8413,6	16,46	unknown
5	0,37 Rf	201,3	0,39 Rf	228,6	12,33	0,45 Rf	90,3	9846,8	19,27	Terpenoid 1
6	0,49 Rf	0,6	0,51 Rf	10,7	0,57	0,52 Rf	0,0	97,4	0,19	unknown
7	0,52 Rf	1,9	0,53 Rf	19,3	1,04	0,54 Rf	0,8	138,9	0,27	unknown
8	0,54 Rf	0,0	0,55 Rf	18,3	0,99	0,55 Rf	13,5	137,2	0,27	unknown
9	0,56 Rf	6,7	0,58 Rf	35,2	1,90	0,59 Rf	2,0	527,7	1,03	unknown
10	0,59 Rf	0,4	0,61 Rf	32,9	1,77	0,62 Rf	25,9	393,6	0,77	unknown
11	0,62 Rf	21,5	0,63 Rf	95,7	5,16	0,65 Rf	52,4	1484,7	2,91	unknown
12	0,65 Rf	55,7	0,66 Rf	82,4	4,44	0,67 Rf	69,5	727,7	1,42	unknown
13	0,67 Rf	70,7	0,67 Rf	82,6	4,46	0,68 Rf	72,2	692,8	1,36	unknown
14	0,68 Rf	74,1	0,68 Rf	80,3	4,33	0,71 Rf	67,7	1569,0	3,07	unknown
15	0,72 Rf	38,3	0,73 Rf	62,7	3,38	0,75 Rf	13,9	866,6	1,70	unknown
16	0,76 Rf	0,0	0,77 Rf	28,5	1,54	0,78 Rf	0,9	231,4	0,45	Terpenoid 2
17	0,78 Rf	5,3	0,79 Rf	23,8	1,28	0,79 Rf	7,7	114,3	0,22	unknown

Tabel 4. Densitogram standar solanesol

B. Densitogram Standar Solanesol

Peak	Start Position	Start Height (AU)	Max Position	Max Height (AU)	Max %	End Position	End Height (AU)	Area (AU)	Area %	Assigned Substance
1	0,41 Rf	1,0	0,43 Rf	36,9	100	0,44 Rf	1,9	382,8	100	solanisol

Dalam penelitian ini, didapatkan Rf (*Retardation factor*) sebesar 0,43 pada *max position*. Pada penelitian analisis sidik jari dengan metode HPTLC dapat diperoleh Rf (*Retardation factor*) sebesar 0,39 pada terpenoid 1 dan 0,77 pada terpenoid 2. Hasil HPTLC ekstrak daun sirih pada terpenoid 1 didapatkan senyawa golongan terpen yaitu solanesol. Hal ini dikarenakan nilai Rf tidak berbeda jauh dari standar solanesol. Pada terpenoid 2 juga ditemukan senyawa golongan terpen tetapi tidak diketahui secara pasti. Uji kadar senyawa terpenoid pada ekstrak daun sirih menunjukkan adanya warna biru dan violet kebiruan yang mengindikasikan daun sirih memiliki kandungan senyawa terpenoid. Penelitian yang dilakukan oleh Latip dkk., menggunakan *essential oil* sebagai sampel dari *Piper betle* L. dan uji kadar senyawa terpenoid dilakukan menggunakan *linalool* sebagai standar pembandingan (Latip et al., 2020). Hasil penelitian Latip dkk., menunjukkan Rf (*Retardation factor*) pada *essential oil Piper betle* L sebesar 0,39. Hasil senyawa terpenoid yang positif ditandai dengan terdapatnya warna biru muda, biru tua dan ungu pada pelat TLC yang telah disemprotkan pereaksi vanillin dan dipanaskan dengan suhu 110°C.²¹ Dalam beberapa tahun terakhir, semakin banyak penelitian mengenai terpenoid pada tanaman obat. Beberapa penelitian menemukan bahwa terpenoid berperan dalam kesehatan dan memiliki berbagai aktivitas biologis, yaitu antitumor, *anti-inflammatory*, antibakteri, antiviral dan antimalaria. Kandungan terpenoid dalam daun sirih dapat berfungsi sebagai analgesik, *anti-inflammatory*, antimikrobal dan antibakterial (Sakinah et al., 2020; Yang et al., 2020).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan kandungan fitokimia pada ekstrak daun sirih berupa, *alkaloids*, *cardio glycosides*, *flavonoids*, *glycosides*, *phenolics*, *quinones*, *steroids*, *terpenoids*, *tannins*, *coumarins* dan *anthocyanin*. Hasil uji kapasitas antioksidan ekstrak daun sirih didapatkan sebesar 44,92 µg/mL, dimana hal ini menunjukkan bahwa daun sirih memiliki kapasitas antioksidan yang sangat kuat. Hasil uji kadar senyawa terpenoid pada ekstrak daun sirih didapatkan Rf (*Retardation actor*) pada terpenoid 1 sebesar 0,39 dan terpenoid 2 sebesar 0,77. Peneliti juga menyarankan untuk perlu dilakukannya penelitian uji fitokimia, toksisitas dan kapasitas total antioksidan pada akar, batang dan bagian lain dari daun sirih serta perlunya penelitian lebih lanjut secara *in vivo*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti berterima kasih banyak kepada berbagai pihak atas dukungan dalam penyusunan penelitian ini dari awal hingga akhir. Terima kasih kepada Dr. dr. Noer Saellan Tadjudin, Sp.KJ selaku Dekan Fakultas Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, dr. Wiyarni Pambudi, Sp.A, IBCLC selaku Ketua Unit Penelitian dan Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Tarumanagara, Prof. Dr. dr. Frans Ferdinal, MS selaku Dosen Pembimbing dan Ketua Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Universitas Tarumanagara, dr. David Limanan, M.Biomed selaku Penasehat Akademik dan Staf Bagian Biokimia dan Biologi Molekuler Universitas Tarumanagara, Ibu Eny Yulianti, S.E selaku Staf Bagian

Biokimia dan Biologi Molekuler Universitas Tarumanagara, pihak keluarga dan sahabat yang senantiasa menyemangati serta memberi dukungan material dan moral.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrianto, D., Husnawati, Hermita, S., & Haryanti, S. (2020). Classification of betel leaves (Piper betle) from 15 ethnics in Eastern Indonesia based on phytochemicals fingerprint analysis. *Biodiversitas*, 21(1), 252–257. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210133>
- Diana Serlahwaty, Setyorini Sugiastuti, & Rizka Chandra Ningrum. (2011). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Etanol 70% Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) dan Sirih Merah (Piper cf. fragile Benth.) dengan Metode Peredaman Radikal Bebas DPPH. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 9(2), 2.
- Durani, L. W., Khor, S. C., Tan, J. K., Chua, K. H., Mohd Yusof, Y. A., & Makpol, S. (2017). Piper betle L. Modulates Senescence-Associated Genes Expression in Replicative Senescent Human Diploid Fibroblasts. *BioMed Research International*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/6894026>
- Gholamian-Dehkordi, N., Luther, T., Asadi-Samani, M., & Mahmoudian-Sani, M. R. (2017). An overview on natural antioxidants for oxidative stress reduction in cancers; a systematic review. *Immunopathologia Persa*, 3(2), e12. <https://doi.org/10.15171/ipp.2017.04>
- Jayalakshmi, B., Raveesha, K. A., Murali, M., & Amruthesh, K. N. (2015). Phytochemical, antibacterial and antioxidant studies on leaf extracts of Piper Betle L. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(10), 23–29.
- Kelompok Masyarakat Desa Sirnasari. (2008). *Tumbuhan Obat Halimun Melestarika kekayaan sumberdaya alam dan kearifan lokal*. 4.
- Latip, S. N. H. M., Ibrahim, R., Ramli, N. K. C. M., & Clement, M. U. (2020). Molluscicidal activity of fresh leaves from Curcuma longa and piper betle essential oil against Pomacea canaliculata. *ASM Science Journal*, 13(Specialissue6), 82–89.
- Lieberman, Michael, Peet, A. (2017). Marks' basic medical biochemistry: a clinical approach. *Basic Medical Biochemistry*, 4th, 222–269.
- Luqman, S., Kaushik, S., Srivastava, S., Kumar, R., Bawankule, D. U., Pal, A., Darokar, M. P., & Khanuja, S. P. S. (2009). Protective effect of medicinal plant extracts on biomarkers of oxidative stress in erythrocytes. *Pharmaceutical Biology*, 47(6), 483–490. <https://doi.org/10.1080/13880200902832900>
- NavaneethaKrishnan, S., Rosales, J. L., & Lee, K. Y. (2019). ROS-mediated cancer cell killing through dietary phytochemicals. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/9051542>
- Peter KV. (2001). Handbook of Herbs and Spices. *Handbook of Herbs and Spices*. <https://doi.org/10.1201/9781439823002>
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. (2017). Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- Qonitah F, A. (2018). Aktivitas Antioksidan Dan Kandungan Fenolik Total Dari Isolat Polar Fraksi Heksana Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piper Betle L.). *Jurnal Farmasetis*, 7(2). <https://doi.org/10.32583/farmasetis.v7i2.382>
- Raza, M. A., Kausar, R., Rana, F. A., Danish, M., Shahwar, D., & Anwar, F. (2013). Loranthus pulverulentus: A potent source of natural antioxidants and alternative medicine. *Journal of Chemistry*. <https://doi.org/10.1155/2013/250739>
- Rukmini, A. (2020). Skrining Fitokimia Familia Piperaceae. *Jurnal Biologi Dan*

- Pembelajarannya (JB&P)*, 7(1), 28–32.
- Sakinah, D., Rusdi, & Misfadhila, S. (2020). Review of traditional use, phytochemical and pharmacological activity of Piper betle L. *Galore International Journal of Health Sciences and Research*, 5(3), 59–66. website: www.gijhsr.com
- Sanders, L. H., & Greenamyren, J. T. (2013). Oxidative damage to macromolecules in human Parkinson disease and the rotenone model. *Free Radical Biology and Medicine*, 62, 111–120. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.01.003>
- Schmidt-Rohr, K. (2020). Oxygen Is the High-Energy Molecule Powering Complex Multicellular Life: Fundamental Corrections to Traditional Bioenergetics. *ACS Omega*, 5(5), 2221–2233. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03352>
- Syahidah, A., Saad, C. R., Hassan, M. D., Rukayadi, Y., Norazian, M. H., & Kamarudin, M. S. (2017). Phytochemical analysis, identification and quantification of antibacterial active compounds in betel leaves, piper betle methanolic extract. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 20(2), 70–81. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2017.70.81>
- Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J. J., & Li, H. Bin. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1). <https://doi.org/10.3390/ijms18010096>
- Yang, W., Chen, X., Li, Y., Guo, S., Wang, Z., & Yu, X. (2020). Advances in Pharmacological Activities of Terpenoids. *Natural Product Communications*, 15(3). <https://doi.org/10.1177/1934578X20903555>
- Zhang, J., Wang, X., Vikash, V., Ye, Q., Wu, D., Liu, Y., & Dong, W. (2016). ROS and ROS-Mediated Cellular Signaling. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/4350965>
- Zhu, H., Santo, A., Trush, M., & Li, Y. R. (2016). Oxygen and Oxygen Toxicity: The Birth of Concepts. *Reactive Oxygen Species*, 1(1). <https://doi.org/10.20455/ros.2016.801>