

AKTIVITAS ANTIMIKROBIAL EKSTRAK BUAH PINANG (*Areca catechu*) TERHADAP BAKTERI PEMBENTUK ASAM YANG DIISOLASI DARI RONGGA MULUT

Gede Krisna Udiana (NIM 06 20 025 041), Kadek Yuda Sujana (NIM 07 10 025 052), dan Putu Yohana A.M. (NIM 07 20 025 053)
Jurusan Ilmu Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

ABSTRAK

Kesehatan gigi memiliki peranan penting terkait status kesehatan seseorang. Hingga saat ini kasus karies gigi masih terjadi yang belum diketahui komiditas pencegahannya. Penemuan komiditi pencegahan merupakan hal yang penting mengingat tingginya kasus karies yang terjadi tiap tahunnya dan gangguan terhadap kapasitas kerja yang ditimbulkan dari sakit gigi ini. Disamping itu, perawatan terhadap karies memerlukan biaya yang relatif mahal dan memakan waktu yang cukup lama.

Sementara itu, pengungkapan berbagai aktivitas antiinflamasi, anticacing, dan fungsi lain dari buah pinang (*Areca catechu*) oleh beberapa ahli disertai dengan budaya memakan buah pinang oleh sebagian besar lansia di sejumlah daerah di Bali menjadi landasan berpikir para penulis untuk meneliti aktivitas antimikrobal ekstrak buah pinang terhadap bakteri penyebab asam yang diisolasi dari rongga mulut sebagai indikator dari bakteri penyebab karies gigi, yaitu *streptococcus mutans*.

Pengujian aktivitas dilakukan secara *in vitro* yaitu dengan menggunakan metode penambahan ekstrak buah pinang ke media agar (tempat penumbuhan bakteri isolat rongga mulut) dengan metode *disc diffusion assay* (uji difusi cakram) dan *agar well diffusion assay*. Indikator yang digunakan disini adalah terbentuknya zona bening di sekitar tempat pertumbuhan isolat bakteri yang ditambahkan ekstrak buah pinang.

Hasil penelitian menunjukkan timbulnya daerah zona bening sebesar 10 mm pada satu dari dua isolat bakteri di daerah cakram yang bercampur dengan ekstrak pinang yang diuji dengan metode *disc diffusion assay*. Sementara pengujian dengan metode agar well diffusion assay menghasilkan zona bening pada dua isolat bakteri dari 8 isolat, dengan diameter sebesar 14mm sebanyak dua lubang dan 15mm sebanyak dua lubang.

Kata kunci : Ekstrak Buah Pinang, Bakteri Pembentuk Asam, Zona Bening

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Gigi merupakan salah satu alat pencernaan yang sangat penting dalam memroses makanan yang dimakan manusia. Oleh sebab itu gigi harus mendapat perhatian dan perawatan khusus agar kesehatannya terjaga. Hal ini perlu dilakukan sebab pada era modern ini banyak makanan yang diproduksi dengan bahan-bahan berbahaya, seperti pengawet dan pemanis buatan yang dapat menyebabkan kerusakan pada gigi khususnya pada anak-anak.

Salah satu penyakit yang dapat ditimbulkan akibat kurangnya perhatian pada kebersihan gigi adalah *caries*. *Caries* gigi adalah suatu infeksi dan merupakan suatu proses demineralisasi yang progresif pada jaringan keras permukaan mahkota dan akar gigi yang dapat dicegah (de Soet dan de Graaff J., 1998).

Streptococcus Mutans dapat menular dari seseorang ke orang lain (Alaluusua, 1991). Hal ini didasarkan pada penemuan kesamaan jenis strain *Streptococcus Mutans* pada anak dengan orang di lingkungan terdekatnya khususnya ibu (Chin, 2006). Bakteri ini dapat menular

melalui air liur (saliva). Banyak penelitian melaporkan bahwa ibu adalah sumber utama penularan

Streptococcus Mutans pada anaknya. Hal ini didasarkan pada kesamaan tipe strain *Streptococcus Mutans* antara ibu dan anaknya. Rute transmisi lain yang pernah dilaporkan adalah antara ayah dan anak, antara suami istri, dan transmisi yang berasal dari luar keluarga. Transmisi *Streptococcus Mutans*, terjadi melalui saliva, baik melalui kontak langsung atau pun tidak langsung. Kontak tidak langsung melalui media sendok, sikat gigi, pasta gigi, maupun media lain yang terkontaminasi saliva. Faktor-faktor yang dilaporkan dapat mempengaruhi transmisi *Streptococcus Mutans* adalah serotype bakteri, jumlah *Streptococcus Mutans* yang dimiliki penular, jumlah bakteri yang berpindah setiap kali terjadi kontak dan frekuensi kontak, faktor diet dan status imun dari anak (Chin, 2006).

Sejauh ini jumlah penderita *caries* yang diketahui sekitar 13% per bulan atau sebanyak 2.620.000 penduduk per bulan (PT. Unilever Indonesia Tbk, 2005). Dimana tanpa disadari keluhan dari penderita *caries* berdampak pada produktivitas kerja penderita. Keluhan sakit gigi berakibat seseorang tidak bekerja atau pergi ke

sekolah. Gangguan tersebut rata-rata 3,86 hari dengan kisaran berhenti beraktivitas antara 2,5 hari hingga 5,28 hari. Masyarakat yang menderita sakit gigi 87% diantaranya tidak berobat ke dokter gigi. Sementara 69,3% berupaya mengobati sendiri penyakitnya tersebut (Suara Karya, 2007). Dampak caries gigi yang paling dirasakan adalah makanan menyangkut (66,38%), diet kurang memuaskan (59,16%), nafas bau (29,44%), sulit mengunyah (26,66%), menghindari makanan tertentu (22,22%), rasa gigi ngilu (21,66%), tidak nyaman mengunyah (20,27%), dan rasa sakit gigi (9,72%) (Situmorang, 2006).

Prevalensi atau kasus terjadinya caries gigi di antara bayi dan anak-anak kecil prasekolah yang telah diteliti oleh banyak ahli dan ternyata paling sedikit 25% caries gigi terdapat pada anak-anak berusia dua tahun dan hampir sebanyak duapertiga dari seluruh jumlah anak berusia tiga tahun menderita caries gigi (Koswara, 2006). Demikian juga dengan di Inggris, Jepang, dan Hongaria yang masyarakatnya senang sekali mengkonsumsi gula, sehingga kerusakan gigi lebih banyak ditemui. Konsumsi gula yang tinggi berpengaruh terhadap keutuhan gigi terutama pada anak-anak. Hal ini secara tidak langsung terlihat dari banyaknya kasus caries gigi pada anak-anak sekolah di kota.

Pinang (*Areca catechu*) merupakan satu spesies tumbuhan palma yang tumbuh di kebanyakan kawasan tropis Pasifik, Asia, dan bagian-bagian Afrika. Batangnya berbentuk sederhana dengan ketinggiannya mencapai 20 meter, dengan diameter batangnya setebal 20-30 cm. Daunnya berukuran 1,5-2 cm, serta berujung tajam. (George dan Robert, 2006).

Tanaman Pinang (*Areca catechu*) sendiri telah banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sejak dulu, khususnya buahnya yang digunakan untuk campuran makan sirih. Orang yang makan buah pinang diyakini memiliki gigi yang kuat meski usia telah lanjut. Di Indonesia, pinang memiliki nama yang berbeda di sejumlah daerah. Di Jawa Barat, orang menyebutnya jambé, penang atau wohan. Di Sumatera, dikenal sebagai pinang, pineng, pineung, batang mayang, batang bongkah, batang pining, batang pinang, dan boni, sementara di Bali dinamakan nginang. Di dalam buah pinang terkandung zat antimikrobia merupakan zat yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme (Masduki, 1996).

Melihat khasiat yang terdapat pada buah pinang, maka penulis ingin meneliti mengenai aktivitas antimikrobia ekstrak buah pinang terhadap bakteri pembentuk asam yang diisolasi dari rongga mulut.

Rumusan Masalah

Bagaimana aktivitas antimikrobia ekstrak buah pinang terhadap bakteri pembentuk asam yang diisolasi

dari rongga mulut penderita karies.

Tujuan Program

Mengetahui aktivitas antimikrobia ekstrak buah pinang terhadap bakteri pembentuk asam yang diisolasi dari rongga mulut penderita karies.

Luaran yang Diharapkan

Luaran yang diharapkan adalah informasi ilmiah mengenai aktivitas antimikrobia ekstrak buah pinang terhadap bakteri pembentuk asam yang diisolasi dari rongga mulut penderita karies.

Kegunaan

Kegunaan dari penelitian ini antara lain :

- Mengetahui tatalaksana penyakit rongga mulut melalui pemanfaatan tanaman obat yang tumbuh di Indonesia.
- Mengungkapkan potensi pinang sebagai salah satu tanaman di Indonesia dalam mencegah timbulnya penyakit rongga mulut.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimental di Laboratorium Terpadu Biosains dan Bioteknologi Universitas Udayana, Bukit Jimbaran-Bali. Penelitian ini dilaksanakan dari 19 April sampai 24 Mei 2008.

Instrumen Pelaksanaan

Peralatan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini meliputi : cakram kertas saring (paper disc), rotary vacuum evaporator (Eyela), timbangan analitik (Mettler Toledo), inkubator, laminar flow cabinet, pengering vakum (buatan TSSU Unibraw), cotton bud, gelas beker, tips kuning, tips biru, tabung reaksi, pipet volume, pipetman, blender (National), ayakan tepung (Retsch), magnetic stirrer (Iwaki), pemanas listrik (Eyela), autoclave, erlenmeyer, labu takar, gelas ukur, biuret, pipet, dan cawan petri (Pyrex), lampu bunsen, rak tabung, magnetic stirrer, stirrer bar, vortex, anaerobic pouch.

Bahan yang diteliti dalam penelitian ini adalah buah pinang. Buah pinang yang digunakan merupakan buah yang di beli di Pasar Kumbasari-Denpasar. Bahan kimia yang digunakan sebagai pelarut adalah metanol (99,8%) dan air. Media-media yang digunakan untuk penumbuhan isolasi mikroba adalah MRS (Man Ragosa Sharpe) yang dilapisi dengan penambahan dextrose 5% dan Broth Cresol Purple (BCP) sebagai indikator asam.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola sederhana, Jenis pelarut pengeksrak yang digunakan, yaitu :

A = Metanol (99,8%)

B = Air

Tahapan Pelaksanaan

Adapun cara kerja penelitian ini adalah sebagai berikut:

Penguji ekstrak buah pinang

a. Pembuatan bubuk buah pinang

Buah pinang muda yang diperoleh dikupas kulitnya dan dicuci bersih dengan air. Kemudian dimasukkan ke dalam rumah plastik dan dikeringkan di bawah sinar matahari. Setelah kering diayak dengan blender hingga menghasilkan serbuk. Setelah berbentuk serbuk disimpan dalam plastik dan ditutup rapat.

b. Ekstraksi

Ekstraksi buah pinang dilakukan dengan metode meserasi disertai pengadukan berdasarkan metode yang diberikan oleh Nuraida, dkk (1999), serta Erdem dan Lmez (2004). Sebanyak 20 gram dimasukkan ke dalam 100 ml metanol atau air (sesuai dengan perlakuan), kemudian diekstrak dengan pengadukan menggunakan magnetic stirrer (150 rpm) pada suhu kamar selama 3 jam. Selanjutnya campuran disaring dua kali berturut-turut menggunakan kertas saring Whatman No. 4 kemudian No. 1. Filtrat yang diperoleh dari ekstraksi I dan II dikumpulkan, kemudian pelarutnya (metanol) dilarutkan dengan rotary vacuum evaporator pada suhu 45°C, sampai tidak terjadi lagi pengembunan pelarut pada kondensor (menunjukkan semua pelarut telah teruapkan).

Proses Isolasi Bakteri Rongga Mulut

a. Sterilisasi

Tempatkan cotton bud pada gelas beker, tutup tabung reaksi pada rak tabung, kuning dan tips biru pada raknya dan bungkus cawan petri dengan kertas, kemudian sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Keluarkan dari autoclave dan simpan di tempat yang kering.

b. Pembuatan media perkecambahian bakteri isolat rongga mulut

Timbang media MRS sebanyak 14,3 gram ditambah 5% dextrose dan 60ppm BCP yang berfungsi sebagai indikator asam basa. Kemudian larutkan dengan 1 liter aquades pada erlenmeyer. Sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Keluarkan dan dinginkan sampai suhunya kira-kira 50°C, kemudian tuang dalam cawan petri dan biarkan membeku.

c. Pembuatan pengencer

Timbang 0,85 gram NaCl kemudian masukkan ke dalam erlenmeyer dan larutkan dengan 100 ml aquades. Campur hingga larut dan masukkan 9 ml ke dalam tabung reaksi, kemudian tutup dengan kapas.

Sterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

d. Pengambilan sampel untuk isolat bakteri

Karena tidak tersedia kultur bakteri *streptococcus mutans*, isolat bakteri uji diambil dengan uji swab gigi anak berusia 8 tahun yang menderita karies gigi. Siapkan cotton bud steril, pengencer salin 9 ml dan *anaerobic pouch*. Masukkan cotton bud ke dalam larutan pengencer, tekan cotton bud di dinding tabung reaksi untuk membuang cairannya kemudian angkat dan lakukan uji swab ke mulut anak kemudian hasil swab dimasukkan ke dalam salin disertai pembungkusan dengan *anaerobic pouch* (ditutup rapat).

Kemudian beri label reaksi, meliputi tanggal pengambilan, nomor sampel, nama penderita, dan area pengambilan sampel. Masukkan tabung reaksi ke dalam *anaerobic pouch*, kemudian bawa ke laboratorium untuk dianalisis secara mikrobiologis.

Uji aktivitas antimikrobal ekstrak buah pinang pada bakteri yang diisolasi dari rongga mulut penderita caries gigi

a. Pengenceran sampel

Siapkan larutan pengencer dalam tabung reaksi yang telah ditambah hasil swab, ambil 1 ml pengencer yang telah dicampur dengan hasil swab dan masukkan ke tabung ke dua menggunakan pipetman dengan tips biru, homogenkan cairan sehingga diperoleh pengenceran 10-2. pengenceran dilanjutkan sampai 10-5, sehingga diperoleh seri pengenceran 10-1, 10-2, 10-3, 10-4, 10-5.

b. Penanaman

Pipet 0,1 ml cairan dari seri pengenceran yang sudah dibuat dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media MRS. Gunakan batang gelas bengkok untuk meratakan suspensi di atas permukaan lempeng agar (metode sebar). Balik cawan petri dan inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam dalam inkubator. Setelah 48 jam lakukan pengamatan.

c. Uji antimikrobal

Siapkan media MRS, dextrose, dan BCP dalam cawan petri kemudian inokulasi dengan isolat bakteri. Uji antimikrobal terdiri dari dua cara: Pertama menaruhkan kertas paper disc yang telah bercampur dengan ekstrak buah pinang (pelarut air dan metanol) di atas media MRS yang telah ditanami bakteri pembentuk asam pada rongga mulut. Selanjutnya amati zona penghambat (zona bening) yang terbentuk. Kedua buat lubang di dalam MRS (telah terkandung isolat bakteri), lanjutkan dengan meneteskan ekstrak buah pinang (pelarut air dan pelarut metanol yang telah diuapkan) di atasnya, inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam, setelah itu amati zona penghambatan (zona

bening) yang terbentuk. Sebagai kontrol, agar isolat bakteri yang telah dilubangi diteteskan pula dengan metanol.

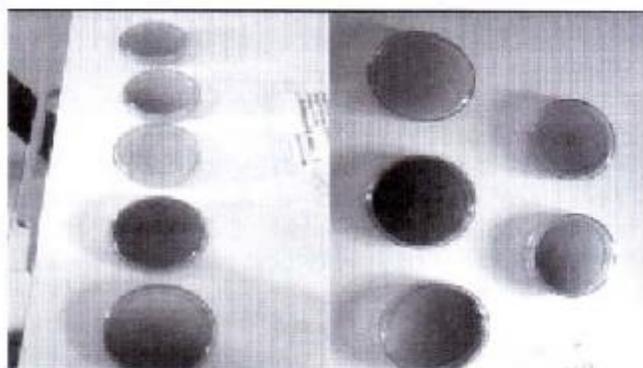
Teknik Pengumpulan Data

Data mengenai produksi zat antimikrobal diperoleh melalui pengamatan terhadap terbentuknya zona bening (zona penghambatan) pada medium agar yang mengandung bakteri uji. Analisis data dalam penelitian ini dilakukan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri Rongga Mulut

Proses isolasi dilakukan untuk mendapatkan isolat bakteri pembentuk asam dari rongga mulut penderita karies yang akan diuji sebagai representasi bakteri penyebab karies. Pengambilan bakteri dilakukan dengan melakukan swab pada bagian gigi penderita karies yang bertubang dan telah didiagnosis oleh dokter gigi sebagai karies gigi. Penderita karies gigi yang dipilih sebagai subjek penelitian adalah Anak Agung Istri Nilam yang berusia 8 tahun. Swab gigi dilakukan di rumah subjek yang beralamat di Jalan Drupadi II no 43 Denpasar, pada hari Senin, 21 April 2008 pukul 20.00. Hasil swab tersebut diencerkan sampai dari seri pengenceran seri 10-1 sampai seri pengenceran 10-5, kemudian ditanam pada media MRS. Setiap koloni yang berbentuk *single strain* dipisahkan dan *distreak* sebagai sampel. Adapun hasil penanaman sampel swab di media BCP berturut-turut dari pengenceran seri 10-1 sampai seri pengenceran 10-5 di tunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Hasil penanaman sampel swab gigi berlubang

Aktivitas Zat Antimikrobal Pada Ekstrak Buah Pinang

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya

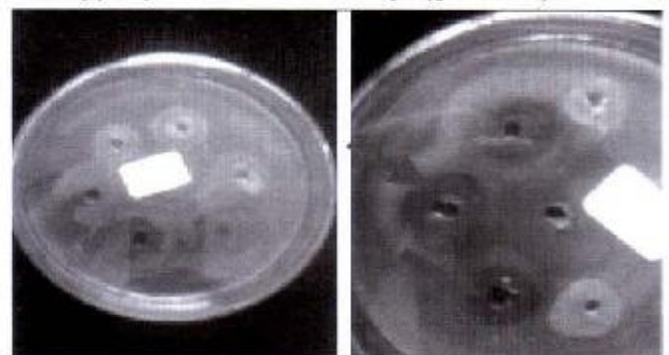
zat antimikrobal yang diproduksi oleh ekstrak buah pinang muda untuk menghambat pertumbuhan bakteri pembentuk asam pada rongga mulut.

Dari kelima cawan hasil penanaman isolat bakteri, dipilih isolat bakteri yang tumbuh di cawan ketiga karena di cawan itulah tumbuh bakteri asam laktat dengan indikator perubahan media tanam BCP yang semula ungu menjadi kuning, yang memiliki *single colony*. Isolat tersebut ditanam ulang ke cawan petri dengan media MRS sebagai media pertumbuhan bakteri asam yang baik, untuk kemudian disiapkan sebagai bakteri yang diuji.

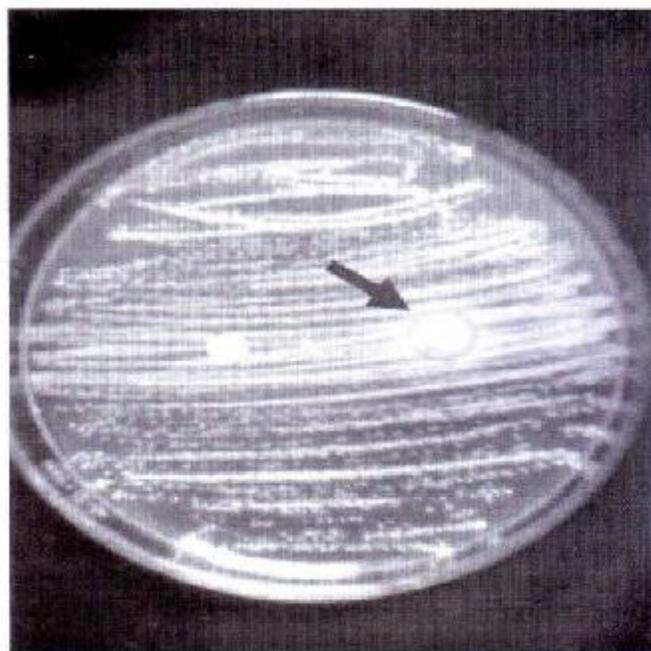
Cowan (1999) menyatakan, pengujian daya antimikrobal ekstrak tumbuhan dapat dilakukan baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Pengujian secara *in vivo* dilakukan menggunakan hewan percobaan, pengujian secara *in vitro* dapat dilakukan baik dengan metode *broth dilution assay*, *disc diffusion assay* (uji difusi cakram) maupun agar *well diffusion assay*.

Uji difusi cakram dilakukan dengan menaruhkan cakram yang telah bercampur dengan ekstrak buah pinang di atas media MRS yang telah ditanami bakteri pembentuk asam pada rongga mulut serta cakram yang bercampur metanol 99,8% sebagai media kontrol. Pengujian dengan metode agar *well diffusion assay* dilakukan dengan membuat lubang pada media MRS (telah ditanami bakteri) lalu didalamnya ditetesi ekstrak buah pinang yang telah dievaporasi. Pelarut yang digunakan untuk mengekstrak komponen antimikroba pada ekstrak buah pinang adalah metanol dan air. Sebagai media kontrol dipakai metanol 99,8 % untuk memastikan aktivitas antimikrobal ekstrak buah pinang tersebut.

Pengujian dengan metode *disc diffusion assay* menghasilkan pembentukan zona bening pada satu dari dua isolat di daerah sekitar cakram yang mengandung ekstrak pinang sebanyak 25 μ l, sementara tidak satupun dari dua cakram yang bercampur metanol memiliki zona bening yang terbentuk di sekitarnya (gambar 2).



Gambar 2. Hasil Pembentukan Zona Bening Pada Isolat I Dengan Metode Agar Well Difussion Assay (ditunjukkan dengan tanda panah)



Gambar 3. Pembentukan Zona Bening Pada Cakram Yang Bercampur Dengan Ekstrak Pinang (ditunjukkan oleh tanda panah)

Senyawa antimikroba pada cakram kertas saring akan berdifusi ke media sekitarnya, sehingga mikroba yang peka terhadap senyawa tersebut tidak dapat tumbuh pada saat inkubasi. Adanya zona bening yang terbentuk di sekitar cakram kertas saring menunjukkan adanya daya antimikroba dari ekstrak pinang yang diuji (Kencana, 2007).

Sementara tidak adanya zona bening yang terbentuk di daerah sekitar cakram yang bercampur dengan metanol, menunjukkan bahwa metanol tidak memiliki daya antimikroba terhadap bakteri pembentuk asam yang diisolasi dari penderita karies gigi.

Pengujian dengan metode agar *well diffusion assay* dilakukan terhadap delapan isolat bakteri yang ditanam dengan media MRS agar. Di setiap media penanaman isolat dibuat 3 lubang yang ditetesi berturut-turut 10 μ l, 20 μ l, dan 30 μ l ekstrak pinang dengan pelarut metanol yang telah dievaporasi, 3 lubang yang ditetesi berturut-turut 10 μ l, 20 μ l, dan 30 μ l ekstrak pinang yang telah dilarutkan dengan air lalu disentrifuse, dan 1 lubang pada bagian tengah yang ditetesi 10 μ l metanol 99,8%

sebagai kontrol.

Dari hasil pengujian (gambar 3) didapatkan sebanyak dua dari delapan isolat bakteri uji terbentuk zona bening, yaitu di daerah sekitar lubang yang ditetesi sebanyak 20 μ l dan 30 μ l ekstrak pinang dengan pelarut metanol yang telah dievaporasi. Diameter zona bening yang terbentuk di sekitar lubang II yang ditetesi sebanyak 20 μ l ekstrak pinang adalah 14 mm. Diameter zona bening yang terbentuk di sekitar lubang III yang ditetesi sebanyak 30 μ l ekstrak pinang adalah 15 mm.

Layaknya metode pengujian sebelumnya, ekstrak pinang yang dimasukkan dalam setiap lubang akan berdifusi dengan lingkungan agar disekitarnya yang telah ditumbuhi bakteri uji. Timbulnya daerah bening disekitar lubang penetesan ekstrak merupakan indikasi daya hambat ekstrak tanaman yang diuji. Dari gambar dapat dilihat pada setiap lubang yang ditetesi ekstrak pinang yang terlarut dengan air ternyata ditumbuhi bakteri. Sementara daerah disekitar lubang tempat penetesan ekstrak agar yang telah dipekatkan dengan metanol dan evaporasi terbentuk zona bening.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian kami, dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah pinang ternyata memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri yang diisolasi dari rongga mulut. Terbukti dengan terbentuknya zona bening pada daerah agar tempat pertumbuhan bakteri uji selebar 1 cm, 1,4cm, dan 1,5 cm.

Saran

Saran yang kami ajukan adalah agar penelitian tentang aktivitas antimikroba ekstrak buah pinang dapat dilanjutkan untuk mengetahui komponen aktif buah pinang yang menghambat pertumbuhan bakteri serta untuk mengetahui dosis penghambatan minimal dari ekstrak buah pinang. Sehingga diharapkan penelitian ini dapat menghasilkan komoditas sebagai pencegah kasus caries gigi pada anak-anak khususnya dan masyarakat ada umumnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anjali, s., & Rao. A.R. 1995. *Modulatory Influence of Areca nut on antioxidant 2(3)-tert-butyl-4-hydroxy anisole-induced hepatic detoxification system and antioxidant defence mechanism in mice*, *Cancer letters*, 91, 107-114.
- Anwar, H. Gilani, M., Ghayur, N. 2004. *presence of cholonomimetic and acetylcholinesterase inhibitory constituents in betel nut*. *Life sciences*, 75, 2377-2389.
- Azeez, Shamina, et. Al. 2002. *Wound Healing Profile Of Areca catechu Extracts on Different Wound Models in Wistass Rats*, *Kuwait Medical Journal*, March 2002.
- Cowan, M. M. 1999. *Plant Product as Antimicrobial Agents*. *Clinical Microbiol. Reviews* 12 (4): 564- 582
- Departemen Kesehatan RI. 1985. *Tanaman Obat Indonesia, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Departemen Kesehatan RI*. Jakarta
- George W. Stapler and Robert G. Bevacava. 2006. *Areca Catechu (betel nut pal)*. www.species Profile for Pasific Island Agroforesty. Traditionaltree. org
- Kloppenbergh J. Versteegh. 1983. *Petunjuk Lengkap Mengenai Tanam-Tanaman Obat di Indonesia dan Kasiatnya sebagai Obat-Obatan Tradisional*. Yayasan Syah Tua, Yogyakarta.
- Koswara S. 2006. *Makanan Bergula dan Kerusakan Gigi*. www.esookpangan.com
- Lee, K. K., and Choi, J. D. 1999. *The effects of areca Catechu L extract on anti-aging*. *International Journal of Cosmetic Sciences*, 21, 285.
- Lee S. E., Hwang, H.J., Ha, J. S., Jeong, H.S., and Kim, J. H. 2003. *Screening of Medical plant extract for antioxidant activity*. *Life Sciences*, 73, 167-179.
- Masduki I, 1996. *Efek Antibakteri Ekastrak Biji Pinang (Areca Catechu) terhadap S. Aureus dan E. Coli*. *Germin Kedokteran* 109;21-24.
- Situmorang Nurmala. 2006. *Dampak karies Gigi dan Penyakit Periodental terhadap Kualitas Hidup*, Jakarta.
- Wet Witayaklung. 2006. *The Study of Antioxidant capacity in various parts of areca catechu L*. *Naresvan Untversity Journal* 2006; 14(1) : 1-14.