

ISBN: 978-623-90592-0-0



FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS ISLAM MADURA

SEMINAR
NASIONAL
2018

PROSIDING

SUMBER DAYA LOKAL 1

**PELUANG DAN
TANTANGAN SUMBER DAYA
LOKAL DALAM MENGHADAPI
REVOLUSI INDUSTRI 4.0**

SEMNASDAL



FAKULTAS PERTANIAN & CALL FOR PAPERS 2018

**PAMEKASAN
25 OKTOBER 2018**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ISLAM MADURA**

SUPPORTED BY



JURNAL
AGROSAINS
WALAH BUKAN HANYA SUDAH

uim
Press

PROSIDING

PROSIDING SEMINAR NASIONAL SUMBERDAYA LOKAL (SEMNASDAL)

**“Peluang dan Tantangan Sumber Daya Lokal Dalam Menghadapi
Revolusi Industri 4.0”**

PAMEKASAN, 25 OKTOBER 2018

Editor:

Lia Kristiana, MP
Mohammad Shoimus Sholeh, MP
Mohammad Taufiq Hidayat, SP., MM
Sustiyana, MP

Diterbitkan Oleh:

**UIM PRESS
UNIVERSITAS ISLAM MADURA**

SUSUNAN DEWAN REDAKSI

Peluang dan Tantangan Sumber Daya Lokal dalam Menghadapi Revolusi 4.0

Penasehat

Ahmad, S.Ag., M.Pd
(Rektor Universitas Islam Madura)

Penanggung Jawab

Kustiawati Ningsih, MP
(Dekan Fakultas Pertanian)

Ketua Dewan Redaksi

Kelik Perdana Windra Sukma, M.Sc

Bendahara:

Endang Tri Wahyurini, S.Pi., M.Agr

Sekretaris

Yanti Nurmalasari, M.Agr
Rahmawati Ardila, M.Pd
Rikza A. A. Cahyati, MP

Reviewer

Prof. Dr. Hermanto Siregar
Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr. Sc
Dr. Rini Dwiastuti. M.S
Dr. Supandi, M.Pdi

Editor:

Lia Kristiana, MP
Mohammad Shoimus Sholeh, MP
Mohammad Taufiq Hidayat, SP., MM
Sustiyana, MP

Alamat Redaksi : Fakultas Pertanian Universitas Islam Madura
Jl.PP.Miftahul Ulum Bettet Pamekasan
Tlp.(0324)321783, fax(0324)321783

Wahyunia, Edy Susanto, Husen, Dwi Kartikasari

EFEKTIVITAS PENGGUNAAN PESTISIDA NABATI BUAH MIMBA (*Azadirachta indica* A. Juss) DAN UMBI GADUNG (*Dioscorea hispida* Dennst) TERHADAP PENGENDALIAN HAMA ULAT BUNGA (*Nacolea octasema* Meyr.) DAN PRODUKSI BUAH PISANG KEPOK (*Musa paradisiaca formatypica*)..... 77-85
Wahyudi, Kelik Perdana WS, Iswahyudi

ANALISIS EFISIENSI USAHATANI SISTEM KEMITRAAN PRODUKSI BENIH PARE (*Momordica charantia* L) STUDY KASUS DI DUSUN MADE DESA BOTOPUTIH KECAMATAN TIKUNG KABUPATEN LAMONGAN..... 86-98
Emmy Hamidah, Endang Tri Wahyurini, Hasan Zunaidi

MENGUNGKAP MULTITARGETING DAN AKTIVITAS AKSI SELULER SENYAWA AKTIF DARI EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) DALAM MENGATASI MASTITIS SECARA *IN SILICO*..... 99-105
Agus Muji Santoso, Sulistiono, Poppy Rahmatika Primandiri, Viol Dhea Kharisma, Mohamad Amin, Betty Lukiaty, Yuliana Puspitasari, Sutiman Bambang Sumitro

GEJOLAK SANTRI TERHADAP PUTUSAN VONIS 2 TAHUN PENJARA KASUS PENISTAAN AGAMA OLEH BASUKI TJAHAJA PURNAMA (AHOK) STUDI KASUS PONDOK PESANTREN BETET PAMEKASAN... 106-110
Dewi Pusparini, Mohammad Soheh

STRUKTUR USAHA SAPI PERAH DI KOPERASI KARYA AMANAH KABUPATEN PASURUAN..... 111-118
Andrie Kisroh Sunyigono

PERSEPSI REMAJA TERHADAP KEBERADAAN JAMU MADURA..... 119-122
Isdiana Suprapti, Teti Sugiarti

PEMBUATAN NUGGET IKAN SEBAGAI SALAH SATU USAHA DIFERENSIASI PENGOLAHAN IKAN DI KABUPATEN PAMEKASAN.... 123-126
Yanti Nurmalasari

ANALISIS FAKTOR YANG MEMPENGARUHI KEBERHASILAN PROGRAM KAMPUNG KB DI KABUPATEN JOMBANG..... 127-136
Agus Raikhani, Linda ratna Sari, Novy Setya Yunas, Iswari Hariastuti

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN NUGGET DANGKE DENGAN PENAMBAHAN BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.)..... 137-141
Endah Murpiningrum, Wahniyathi Hatta, Nur Aryati

PENERAPAN TEKNOLOGI FERMENTASI PARSIAL PADA SILASE LIMBAH PERTANIAN DI KELOMPOK TERNAK DESA TLOGOAGUNG KEMBANGBAHU LAMONGAN..... 142-150
Arif Arya Hertanto, Edy Susanto, Dyanovita Alkurnia

MENGUNGKAP MULTITARGETING DAN AKTIVITAS AKSI SELULER SENYAWA AKTIF DARI EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle*L.) DALAM MENGATASI MASTITIS SECARA *IN SILICO*

Agus Muji Santoso^{1*}, Sulistiono¹, Poppy Rahmatika Primandiri¹, Viol Dhea Kharisma¹, Mohamad Amin², Betty Lukiaty², Yuliana Puspitasari³, dan Sutiman Bambang Sumitro⁴

1. Universitas Nusantara PGRI Kediri

2. Universitas Negeri Malang

3. Universitas Airlangga Surabaya

4. Universitas Brawijaya

*Penulis korespondensi, email: agusmujisantoso@gmail.com/agusmujisantoso@unpkediri.ac.id

ABSTRAK

Ekstrak sirih diketahui mampu menurunkan pertumbuhan sejumlah bakteri penyebab mastitis. Namun, informasi tentang protein target dan aktivitas seluler senyawa aktif daun sirih dalam menekan bakteri patogen belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap molekul protein target dari senyawa aktif ekstrak sirih dan potensi aktivitasnya aksi secara seluler. Penelitian ini dilakukan secara *in silico* dan data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Jenis senyawa aktif yang terdapat diekstrak daun sirih dihimpun dari telusur pustaka. Aktivitas dan protein target senyawa aktif dianalisis secara *in silico* dengan menggunakan web server (SwissTarget dan Passonline). Interaksi antar molekul dilakukan dengan perangkat Pyrx. Perangkat Pymol dan LigPlus untuk visualisasi interaksi molekul. Penelitian ini mengungkap bahwa ada dua senyawa utama dalam ekstrak daun sirih yaitu hydroxychavicol dan eugenol. Hydroxychavicol memiliki aktivitas dalam membrane integrity agonist (0,897), G-protein-coupled receptor kinase inhibitor (0,875), fatty-acyl-CoA synthase inhibitor (0,857), membrane permeability inhibitor (0,777), dan sugar-phosphatase inhibitor (0,742). Adapun eugenol memiliki aktivitas sebagai membrane integrity agonist (0,866), membrane integrity agonist (0,781), fatty-acyl-CoA synthase inhibitor (0,724). Hydroxychavicol dan eugenol memiliki kesamaan aksi seluler dalam menekan pertumbuhan mikroba patogen penyebab mastitis melalui mekanisme pengambatan aktivitas enzim fatty-acyl-CoA synthase bakteri (dengan binding affinity secara berurutan sejumlah -6,3 dan -5,4 kcal mol⁻¹).

Kata kunci: *in silico*, mastitis, fatty-acyl-CoA synthase, ekstrak sirih

PENDAHULUAN

Mastitis dilaporkan mampu mempengaruhi produksi susu sapi (Kusumanti dan Widiyanto, 2013; Surjowardojo *et al.*, 2008). Sejumlah bakteri mampu menjadi penyebab mastitis antara lain *Streptococcus agalactiae*, *S. galactiae*, *S. uberis*, *S. zooepidermicus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* (Kusumanti dan Widiyanto, 2013). Umumnya, secara klinis bakteri tersebut mampu menginfeksi jaringan alveoli ambing ternak dan jaringan sekitarnya. Akibatnya, ambing mengalami bengkak, pengerasan, kemudian diikuti penurunan fungsi ambing. Selain mampu menurunkan kuantitas produksi susu, bakteri-bakteri tersebut juga mampu merusak kualitas susu yang dihasilkan. Oleh karena itu, telah banyak dilakukan upaya untuk menekan pertumbuhan bakteri penyebab mastitis dengan menggunakan sejumlah antibiotik (Riyanto *et al.*, 2016; Nurhayati IS & Martindah, 2015; Supar, 1997). Penggunaan antibiotik sintetik maupun dari herbal memiliki keunggulan dan kelemahan. Namun, penggunaan

herbal dalam mengatasi mastitis lebih prospektif dan aman dalam jangka waktu panjang. Contohnya penggunaan sirih.

Sirih (*Piper betle* Linn) merupakan tanaman obat kelompok *Piperaceae* yang telah dikenal luas oleh masyarakat sebagai bahan baku obat herbal (Syahidah *et al.*, 2017; Zahira dan Thamilmami, 2016). Tanaman ini mudah dibudidayakan hampir di seluruh wilayah tropis, termasuk Indonesia. Bagian sirih yang lazim digunakan adalah daun. Potensi tersebut disebabkan beragamnya senyawa aktif yang terdapat di daun sirih. Ekstrak daun sirih mengandung kelompok senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, fitosterol, dan terpenoid (Zahira & Thamilmami, 2016; Purnama, 2017; Syahidah *et al.*, 2017).

Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa ekstrak daun sirih mampu mengatasi penyakit mastitis yang sering kali menyerang hewan ternak. Ekstrak rebusan daun sirih memiliki aktivitas yang sama dengan antibiotik penisilin dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab mastitis (Lutviandhitarani *et al.*, 2015). Penelitian serupa juga dilaporkan oleh Putra *et al.* (2017) bahwa pemberian rebusan daun sirih mampu menekan frekuensi kejadian mastitis sampai 30%. Fitriana (2018) juga menyampaikan bahwa ekstrak daun sirih mampu menghambat pertumbuhan salah satu bakteri penyebab mastitis yaitu *S. aureus*. Namun, mekanisme aktivitas kerja aksi secara seluler senyawa aktif ekstrak daun sirih dalam menekan pertumbuhan bakteri penyebab mastitis belum terungkap. Informasi ilmiah dari hasil penelitian ini diharapkan mampu menambah wawasan dan dasar penelitian berikutnya tentang pengembangan potensi tanaman lokal dalam pengobatan penyakit mastitis.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini termasuk penelitian deskriptif eksploratif yang bertujuan untuk mengungkap multitargeting senyawa aktif ekstrak daun sirih serta pola aktivitas aksi seluler senyawa aktif tersebut di dalam sel sehingga mampu menekan penyakit mastitis. Penelitian ini dilakukan secara *in silico*. Data tentang jenis-jenis senyawa aktif ekstrak daun sirih dikoleksi dengan telusur pustaka dari penelitian sebelumnya. Kemudian identitas struktur dan protein target senyawa aktif tersebut dieksplorasi dari *data base* yaitu *Pubchem* dan *PassOnline*. Kemudian, dipilih protein target senyawa aktif ekstrak daun sirih dengan nilai *probability activity (pa)* > 0,7. Selanjutnya, dilakukan analisis penambatan molekuler (*molecular docking*) antara struktur senyawa aktif daun sirih dengan protein target (file dalam bentuk *.sdf*) menggunakan program *PyRx*. Visualisasi hasil *molecular docking* dilakukan dengan program *LigPlus*⁺ untuk mengetahui asam amino dan jenis ikatan kimia yang terbentuk antara senyawa aktif dengan protein target. Data tentang jenis-jenis senyawa aktif ekstrak daun sirih, ragam protein target senyawa aktif, skor potensi aktivitas, energi pengikatan antara senyawa aktif dengan protein target, serta jenis asam amino yang berinteraksi dengan molekul protein target dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil telusur pustaka, ada dua senyawa aktif utama yang terdapat di dalam ekstrak daun sirih yaitu hydroxychavicol dan eugenol. Ekstrak daun sirih mengandung hydroxychavicol dan eugenol secara berurutan mencapai $\pm 374,7 \text{ mg g}^{-1}$ dan $49,7 \text{ mg g}^{-1}$. Pada 50 g sampel kering, terdapat 1,9 g hydroxychavicol dan eugenol mencapai 0,26 g. Berdasarkan eksplorasi struktur database *PubChem*, struktur senyawa hydroxychavicol yang

digunakan memiliki nomor identitas 70775 dan eugenol bernomor 3314. Sedangkan struktur protein *fatty-acyl-CoA synthase* yang diunduh dari laman *PDB* bernomor ID 4IR7.

Analisis potensi senyawa aktif secara *in silico*, hydroxychavicol dan eugenol memiliki spektrum aksi di dalam sel yang cukup beragam (Gambar 1). Hal tersebut menunjukkan bahwa hydroxychavicol dan eugenol memiliki target lebih dari satu molekul protein target ketika kedua senyawa tersebut masuk ke dalam sel. Pada skor $pa > 7$, diperoleh sejumlah potensi kedua senyawa aktif tersebut sebagaimana yang tersaji pada Gambar 1. Hydroxychavicol memiliki potensi sebagai senyawa aktif yang dapat menurunkan integritas membran sel (*membrane integrity agonist*) dengan skor pa sejumlah 0,89. Selain itu, hydroxychavicol juga memiliki potensi dalam menghambat aktivitas transduksi seluler melalui molekul *G-protein-coupled receptor kinase* (0,87).

Senyawa aktif hydroxychavicol juga dapat berpotensi sebagai molekul penghambat permeabilitas membran sel (0,777) maupun sebagai molekul inhibitor aktivitas enzim *sugar-phosphatase* (0,74). Eugenol diketahui memiliki potensi sebagai molekul yang kerjanya berkaitan dengan membran sel. Eugenol dapat menjadi molekul yang dapat menurunkan integritas *membrane* dengan skor aktivitas sejumlah 0,86. Selain itu, eugenol juga dapat menurunkan permeabilitas membran sel dengan aktivitas sebesar 0,78. Rekapitulasi energi pengikatan (*binding energy*) antara ligan (hydroxychavicol dan eugenol) dengan protein (*fatty-acyl-CoA synthase*) tersaji pada Tabel 1.

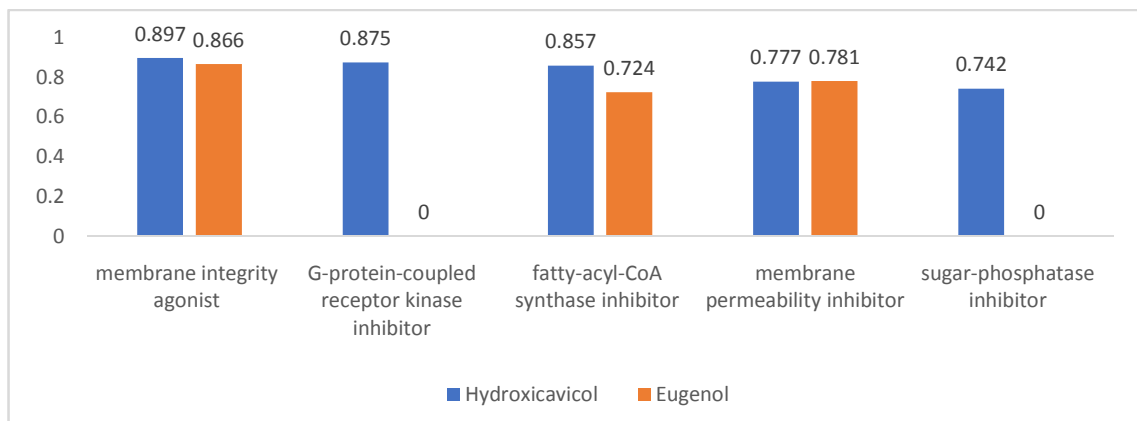
Kedua senyawa aktif tersebut memiliki aktivitas aksi seluler yang sama yaitu mampu bertindak sebagai inhibitor bagi enzim *fatty-acyl-CoA synthase* bakteri. Skor aktivitas penghambatan senyawa hydroxychavicol dan eugenol terhadap enzim tersebut secara berurutan mencapai 0,77 dan 0,78 ($pa > 0,7$). Berdasarkan Gambar 3, *fatty-acyl-CoA synthase* dapat berinteraksi hydroxychavicol maupun dengan eugenol dengan membentuk ikatan hidrogen. Hydroxychavicol membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino Leusin (pada sekuens ke 266) pada *fatty-acyl-CoA synthase* (Gambar 3A). Interaksi tiga dimensi antara kedua molekul tersebut tersaji pada Gambar 2. Pola interaksi tersebut juga terjadi pada senyawa aktif eugenol dengan asam amino Serin (pada sekuens ke 276) *fatty-acyl-CoA synthase* (Gambar 3B).

Skor RMSD interaksi penambatan molekuler antara hydroxychavicol maupun eugenol terhadap *fatty-acyl-CoA synthase* sejumlah 0,00 dan 0,00 atau kurang dari 2Å (Tabel 2). Hal tersebut menunjukkan bahwa mekanisme penambatan molekuler senyawa aktif hydroxychavicol dan eugenol dengan *fatty-acyl-CoA synthase* terjadi secara tepat dengan mempertimbangan struktur konformasi senyawa aktif dengan protein target. Skor RMSD pada Tabel 2 menunjukkan bahwa posisi penambatan molekuler senyawa hydroxychavicol maupun eugenol (secara tiga dimensi) terhadap permukaan enzim *fatty-acyl-CoA synthase* hampir sama dengan posisi penambatan molekuler ligan hasil kristalografi (hydroxychavicol maupun eugenol). Oleh karena itu, hasil penambatan molekuler (*molecular docking*) antara hydroxychavicol dan eugenol dengan *fatty-acyl-CoA synthase* termasuk valid sehingga dapat digunakan lebih lanjut dalam penelitian ini.

Hasil *molecular docking* mengungkapkan bahwa senyawa hydroxychavicol maupun eugenol dapat menekan pertemuan bakteri penyebab mastitis melalui penghambatan aktivitas enzim *fatty-acyl-CoA synthase*. *Fatty-acyl-CoA synthase* merupakan enzim yang terlibat dalam biosintesis asam lemak. Termasuk pada kelompok bakteri (Ying-Jie & Rock, 2006). Asam lemak itu sendiri sangat diperlukan dalam proses metabolisme yang berkaitan

dengan pembentukan membran sel, transpor molekul, dan regulasi transkripsi pada semua jenis sel. Termasuk sel mikroba (bakteri) penyebab mastitis.

Fatty-acyl-CoA synthase sebagai biokatalisator pembentukan *fatty-acyl-CoA* (Edward *et al.* 1965) dengan dua tahap utama hingga sampai terbentuk asam lemak (Ying-Jie & Rock, 2006). *Fatty-acyl-CoA* merupakan molekul penting yang terlibat dalam sejumlah mekanisme seluler (Lennen dan Pflieger, 2012). Contohnya transpor protein, aktivasi enzim, asilasi protein, penghantaran sinyal, dan terlibat dalam pengontrolan faktor transkripsi pada bakteri *E.coli* (Lennen dan Pflieger, 2012; Fujita *et al.*, 2007) serta terlibat dalam biosintesis fosfolipid. Selain itu, enzim *fatty-acyl-CoA synthase* juga terlibat dalam pergerakan molekul transmembran dan pengaktifan asam lemak rantai panjang (Wiemar *et al.*, 2002).



Gambar 1. Profil Multitargeting Hydroxicavicol dan Eugenol dari Ekstrak Daun Sirih

Tabel 1. Rekapitulasi Energi Pengikatan Hasil *Molecular Docking* antara *Fatty-Acyl-CoA Synthase* dengan Eugenol dan Hydroxicavicol

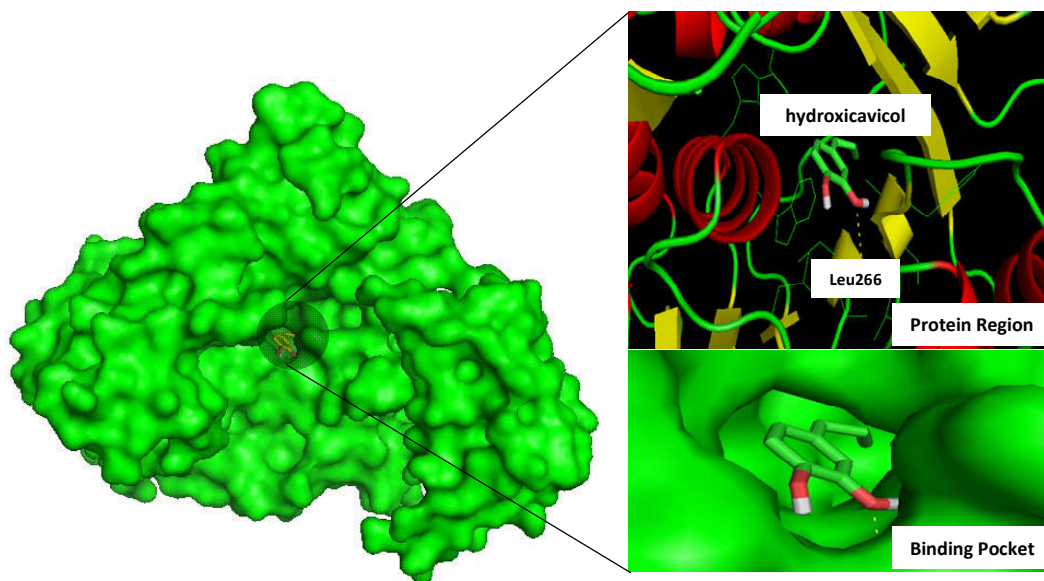
Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	-5.4	0
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	-5.3	1
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	-5.0	2
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	-5.0	3
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	-5.0	4
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	-4.9	5
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	-4.9	6
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	-4.7	7
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	-4.7	8
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	-6.3	0
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	-6.1	1
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	-5.3	2
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	-5.3	3
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	-5.2	4
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	-5.2	5
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	-5.2	6
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	-5.1	7
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	-5.1	8

Hasil penelitian ini menegaskan bahwa ekstrak daun sirih mampu menekan pertumbuhan bakteri penyebab mastitis seperti yang dilaporkan oleh Putra *et al.* (2017). Penelitian ini juga melaporkan bahwa kemampuan ekstrak daun sirih dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab mastitis melalui mekanisme penghambatan aktivitas enzim *fatty-acyl-CoA synthase*. Akibatnya bakteri penyebab mastitis tidak mampu berkembangbiak

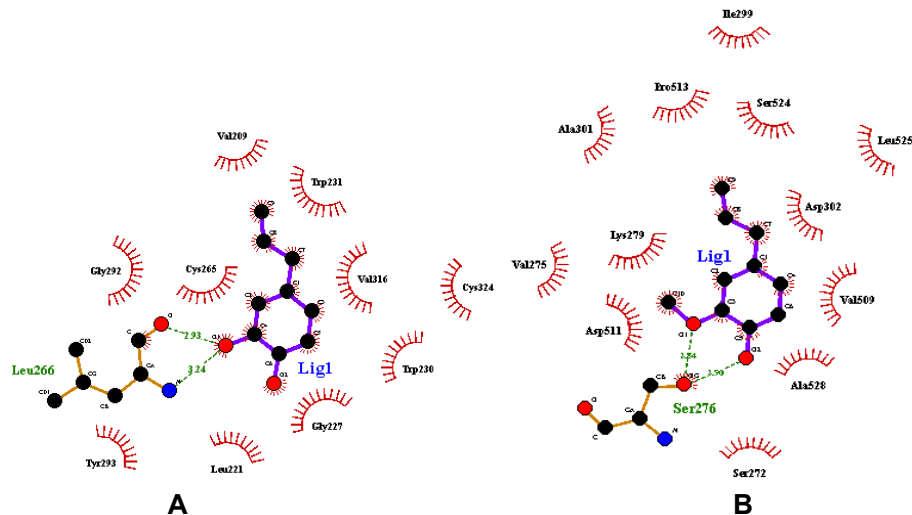
karena gagal membentuk membran sel, mengalami kekacauan pada tranport molekul dan regulasi transkripsi.

Tabel 2. Rekapitulasi Nilai RMSD dalam *Molecular Docking* antara *Fatty-Acyl-CoA Synthase* dengan Eugenol dan Hydroxicavicol

Ligand	RMSD lower bound	RMSD upper bound
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	0.0	0.0
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	2.164	3.06
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	2.705	3.898
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	3.903	5.356
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	1.176	2.612
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	14.69	16.066
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	15.262	17.011
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	34.68	37.075
Fatty-acyl-CoA_steril_Eugenol_min	3.468	4.92
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	0.0	0.0
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	1.456	2.468
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	1.814	2.633
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	4.62	6.066
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	10.572	12.141
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	20.089	21.808
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	19.948	20.834
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	2.653	5.165
Fatty-acyl-CoA_steril_Hydroxicavicol_min	20.333	21.809



Gambar 2. Visualisasi *Molecular Docking* antara *Fatty-Acyl-CoA Synthase* dengan Hydroxicavicol



Gambar 3. Visualisasi Interaksi Hydroxycavicol (A) dan Eugenol dengan *Fatty-acyl-CoA synthase* (B)

PENUTUP

Ekstrak daun sirih memiliki potensi dalam pengobatan mastitis karena di dalam ekstrak terdapat senyawa aktif hydroxycavicol dan eugenol. Kedua senyawa aktif tersebut memiliki target yang beragam ketika berada di dalam sel. Secara *in silico*, hydroxycavicol maupun eugenol mampu menghambat pertumbuhan mikroba penyebab penyakit mastitis melalui mekanisme pengambatan aktivitas enzim *fatty-acyl-CoA synthase* bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Edward J. Massarot and William J. Lennarz. 1965. The Partial Purification and Characterization of a Bacterial Fatty Acyl Coenzyme A Synthetase. *Biochemistry*. 4 (1): 85-90.
- Fujita Y, Matsuoka H, & Hirooka K. 2007. Regulation of Fatty Acid Metabolism in Bacteria. *Molecular Microbiology*, 66(4), 829–839. DOI:10.1111/j.1365-2958.2007.05947.x.
- Kusumanti NE & Widiyanto. 2013. Pengaruh Penambahan Suplemen Temulawak dan zn-Proteinat terhadap Kadar Hemoglobin, Hematokrit dan Aktivitas Enzim Fosfatase Alkalis pada Sapi Perah Penderita Mastitis Subklinis. *Animal Agriculture Journal*. 2(1): 410 – 417.
- Lennen RM& Pflieger BF. 2012. Engineering Escherichia coli to synthesize free fatty acids. *Trends Biotechnol*. 30 (12): DOI:10.1016/j.tibtech.2012.09.006.
- Lutviandhitarani G, Harjanti DW, & Wahyono F. 2015. Green Antibiotic Daun Sirih (Piper betle L.) Sebagai Pengganti Antibiotik Komersial untuk Penanganan Mastitis. *Agripet*. 15(1):28-32.

- Nurhayati IS& Martindah E. 2015. Pengendalian Mastitis Subklinis melalui Pemberian Antibiotik Saat Periode Kering pada Sapi Perah. WARTAZOA. 25 (2):065-074 DOI.org/10.14334/wartazoa.v25i2.1143.
- RiyantoJ, SunartoBS, Hertanto, Cahyadi M, Hidayah R,& Sejati W. 2016. Produksi dan Kualitas Susu Sapi Perah Penderita Mastitis yang Mendapat Pengobatan Antibiotik. *Sains Peternakan*. 14 (2): 30-41.
- Supar.1997. Mastitis Subklinis Pada Sapi Perah di Indonesia: Masalah dan Pendekatannya. WARTAZOA. 6 (2): 48-52.
- Surjowardojo P, Suyadi, Hakim L,& Aulani'am. 2008. Ekspresi Produksi Susu pada Sapi Perah Mastitis. *J. Ternak Tropika*. 9(2): 1-11.
- Syahidah A, Saad CR, Hassan MD, Rukayadi Y, Norazian MH, & Kamarudin MS. 2017. Phytochemical Analysis, Identification and Quantification of Antibacterial Active Compounds in Betel Leaves, Piper betle Methanolic Extract. *Pak. J. Biol. Sci.* 20 (2): 70-81. DOI: 10.3923/pjbs.2017.70.81.
- Purnama N. 2017. Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Tumbuhan Daun Sirih (Piper batle L.). *Prosiding Seminar Nasional MIPA III* . 437-441. (diakses pada www.conference.unsyiah.ac.id/SN-MIPA).
- Putra RHS, Surjowardojo P, & Setyowati E. 2017. Pemanfaatan Rebusan Daun Sirih Merah (Piper crocatum) dalam Menurunkan Tingkat Kejadian Mastitis Berdasarkan Uji CMT dan SCCJ. *Ternak Tropika*. 18 (2): 17-23. DOI: 10.21776/ub.jtapro.2017.018.02.4.
- Ying-Jie Lu & Rock CO. 2006. Transcriptional regulation of fatty acid biosynthesis in *Streptococcus pneumoniae*. *Molecular Microbiology*. 59 (2): 551–566. DOI:10.1111/j.1365-2958.2005.04951.x.
- Weimar JD, DiRusso CC, Delio R, & Black PN. 2002. Functional Role of Fatty Acyl-Coenzyme A Synthetase in the Transmembrane Movement and Activation of Exogenous Long-chain Fatty Acids. *J. Biol. Chem.* 277:29369-29376. DOI 10.1074/jbc.M107022200.
- Zahira A & Thamilmanni K. 2016. Evaluation of Bioactive Compounds Present in *Piper betle* linn. by Elution Chromatography Coupling Technique. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5 (5): 1405-1413. DOI: 10.20959/wjpps20165-6786.