

## Aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Rosanita Firdausi Oktaviani<sup>1</sup>, Pudji Astuti<sup>2</sup>, Melok Aris Wahyukundari<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember, Indonesia

\*Korespondensi: [rosanitafirda250@gmail.com](mailto:rosanitafirda250@gmail.com)

Submisi: 27 Juli 2021; Penerimaan: 28 April 2022; Publikasi online: 28 April 2022

DOI: [10.24198/jkg.v34i1.34833](https://doi.org/10.24198/jkg.v34i1.34833)

### ABSTRAK

**Pendahuluan:** Penyakit periodontal merupakan salah satu penyakit inflamasi kronis yang menyerang periodonsium yang disebabkan oleh salah satu mikroorganisme yaitu *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Perawatan penyakit periodontal dapat dilakukan dengan bahan alam salah satunya daun sirih merah (*Piper crocatum*). Daun sirih merah memiliki aktivitas senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans*. **Metode:** Penelitian dilakukan dengan metode difusi cakram pada media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dengan mengukur zona bening yang terbentuk menggunakan jangka sorong. Jenis penelitian yang digunakan eksperimental laboratoris dengan sampel sebanyak 30 sampel. **Hasil:** Daya hambat ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap *A. actinomycetemcomitans* terdapat pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 100%. Aktivitas antibakteri konsentrasi 25% dikategorikan sedang, konsentrasi 50% dan 100% dikategorikan kuat. Kelompok kontrol positif terdapat aktivitas daya hambat bakteri dengan nilai rerata diameter 23,42 mm, sedangkan kelompok kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan bahwa signifikansi (0,00) dengan  $p < 0,05$  dilanjutkan dengan uji Mann Whitney menunjukkan nilai signifikansi lebih kecil dari 0,05 ( $p < 0,05$ ) pada semua kelompok konsentrasi. **Simpulan:** Ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terdapat aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans* dengan daya hambat yang terkecil pada konsentrasi 25% dan daya hambat ekstrak daun sirih merah yang terbesar pada konsentrasi 100%.

**Kata kunci:** penyakit periodontal; daun sirih merah; *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

### ***Antibacterial activity of red betel (*Piper crocatum*) leaf extract on the growth of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans****

### ABSTRACT

**Introduction:** Periodontal disease is a chronic inflammatory disease of the periodontium caused by microorganisms such as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Periodontal disease treatment can be carried out with natural ingredients such as red betel (*Piper crocatum*) leaf. Red betel leaf has an antibacterial activity which can inhibit the growth of *A. actinomycetemcomitans*. This study aimed to determine the antibacterial activity of red betel (*Piper crocatum*) leaf extract on the growth of *A. actinomycetemcomitans*. **Methods:** The study used the disc diffusion method on MHA (*Mueller Hinton Agar*) media by measuring the clear zone formed using a calliper. The type of study was an experimental laboratory conducted on 30 samples. **Results:** The inhibitory activity of red betel (*Piper crocatum*) leaf extract against *A. actinomycetemcomitans* was found in the treatment group of 25%, 50%, and 100%. The antibacterial activity in the concentration of 25% was categorised as moderate, while categorised as strong in the concentrations of 50% and 100%. The positive control group had a bacterial inhibitory activity with a mean diameter of 23.42 mm, while the negative control group showed no inhibition zone. The results of the Kruskal-Wallis test showed significant results (0.00;  $p < 0.05$ ), followed by the Mann-Whitney test, which also showed a significant value of less than 0.05 ( $p < 0.05$ ) in all concentration groups. **Conclusion:** Red betel leaf (*Piper crocatum*) extract has antibacterial activity against the growth of *A. actinomycetemcomitans* with the lowest inhibition at a concentration of 25% and the highest inhibitory activity at a concentration of 100%.

**Keywords:** periodontal disease; red betel leaf; *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

## PENDAHULUAN

Pemeliharaan kesehatan gigi dan mulut yang baik akan sangat berperan dalam menentukan derajat kesehatan dari masing-masing individu.<sup>1</sup> Kesehatan gigi dan mulut merupakan suatu hal yang sangat penting karena dapat memengaruhi kualitas hidup, seperti fungsi bicara, mengunyah, dan estetik. Gigi dan mulut merupakan gerbang masuk dari bakteri yang dapat mengganggu organ tubuh lainnya. Jaringan periodontal yang sehat akan dipertahankan oleh *host* yang seimbang. Namun, jika terjadi gangguan pada endokrin, gangguan sistemik, gangguan metabolisme, penyakit darah dan lain-lain akan mengubah respon *host* terhadap invasi bakteri sehingga menimbulkan penyakit periodontal.<sup>2</sup>

Penyakit periodontal merupakan salah satu penyakit inflamasi kronis yang menyerang periodonsium yang ditandai dengan adanya inflamasi gingiva, poket periodontal, dan/atau resesi gingiva. Jaringan periodontal merupakan sistem fungsional yang mengelilingi gigi dan melekat pada tulang rahang sehingga dapat mendukung gigi agar tidak terlepas dari soketnya.<sup>3</sup> Peningkatan penyakit periodontal dapat disebabkan oleh adanya dampak dari beberapa faktor, seperti faktor lokal, sistemik, atau lingkungan yang dapat mempengaruhi adanya interaksi dari inang dan bakteri.<sup>4</sup> Infeksi periodontal dimulai dari invasi oral *pathogen* spesifik yang berkolonisasi pada biofilm plak gigi dan permukaan akar gigi.<sup>5</sup> Mikroorganisme periopatojen yang menyebabkan penyakit periodontal adalah *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang merupakan bakteri anaerob Gram negatif bersifat fakultatif yang berkolonisasi dalam jaringan rongga mulut terutama pada plak subgingiva.<sup>6</sup> Bakteri ini menjadi penyebab terjadinya periodontitis agresif yaitu sebesar 90%.<sup>7</sup>

Terapi periodontal berguna untuk mencapai keseimbangan *host* dengan bakteri plak. Tindakan yang dapat dilakukan untuk menurunkan akumulasi plak yaitu dengan cara kontrol plak dan berkumur dengan obat kumur.<sup>8</sup> Kontrol plak dilakukan untuk menghambat terkumpulnya mikroorganisme pada permukaan gigi dan gingiva. Terdapat beberapa cara kontrol plak yang dapat dilakukan, baik secara mekanis maupun kimiawi. Secara mekanis dapat dilakukan seperti menggosok gigi dengan sikat gigi baik manual maupun elektrik, *dental floss*, dan sikat

gigi interdental, sedangkan kontrol plak secara kimiawi yaitu dengan menggunakan obat kumur.<sup>9</sup>

Salah satu obat kumur yang sering digunakan adalah *chlorhexidine*. *Chlorhexidine* merupakan agen antibakteri yang sudah lama digunakan sebagai desinfektan topikal dan agen antimikroba dalam bidang kedokteran gigi. Keefektifannya dalam mengurangi bakteri membuat *chlorhexidine* menjadi agen antimikroba yang luar biasa. Aplikasi *chlorhexidine* mempunyai substantif yang luas mulai dari menjaga *oral hygiene*, pengobatan periodontitis, sebelum operasi sampai setelah operasi.<sup>10</sup> Namun, *chlorhexidine* apabila digunakan dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan efek samping seperti perubahan rasa, perubahan warna gigi, dan perubahan warna mukosa.<sup>11</sup> Reaksi hipersensitivitas yang dapat terjadi diantaranya dermatitis, pruritus, pembentukan vesikel, urtikaria, dispnea, serta *anaphylactic shock*. Reaksi alergi yang disebabkan *chlorhexidine* ini dimediasi oleh IgE dan adanya pelepasan dari histamin, untuk itu perlu dikembangkan obat-obatan terbaru sebagai pilihan pengobatan yang aman.<sup>12</sup>

Bahan alam yang dapat digunakan sebagai obat herbal salah satunya adalah daun sirih merah (*Piper crocatum*). Daun sirih merah (*Piper crocatum*) telah banyak menghasilkan berbagai macam obat tradisional dan dapat digunakan untuk mengobati diabetes mellitus, hepatitis, dan hipertensi. Daun sirih merah (*Piper crocatum*) mulai digunakan oleh masyarakat sebagai pengobatan penyakit periodontal karena memiliki kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, minyak atsiri, alkaloid, dan tanin yang berperan sebagai antibakteri, serta memiliki keuntungan karena senyawa tersebut lebih aman digunakan dibandingkan dengan bahan sintetik. Penggunaan bahan sintetik memiliki kekhawatiran terhadap efek samping yang dapat merugikan kesehatan periodontal.<sup>13</sup> Studi mengenai ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) sudah dilakukan, ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terbukti dapat menghambat bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada konsentrasi 25, 50, dan 100%,<sup>2</sup> tetapi studi mengenai antibakteri ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap *A. actinomycetemcomitans* belum pernah dilakukan. Tujuan penelitian menganalisis aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap daya hambat *A. actinomycetemcomitans*.

## METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris menggunakan *post test only control group design* dengan 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing 6 sampel pada tiap kelompok, sehingga pada penelitian ini terdapat 30 sampel. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi dan Laboratorium *Research Center* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

Pembuatan ekstrak daun sirih merah dibutuhkan sebanyak 1 kg daun sirih merah yang didapat dari kebun warga di Desa Sadar Tengah, Mojoanyar, Mojokerto. Daun sirih merah yang digunakan dipilih yang masih segar kemudian dicuci terlebih dahulu untuk menghilangkan pengotor yang masih menempel pada daun, lalu ditiriskan. Daun dipotong kecil-kecil untuk mempermudah proses pengeringan dan penggilingan. Potongan daun sirih merah (*Piper crocatum*) diletakkan di atas wadah terbuka dan diangin-anginkan (tidak terkena sinar matahari secara langsung) ditempat yang kering dan tidak lembab sampai mengering.<sup>14</sup> Setelah itu, simplisia daun sirih merah (*Piper crocatum*) dihaluskan dengan blender sampai membentuk serbuk. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Serbuk daun sirih merah (*Piper crocatum*) dimasukkan dalam maserator lalu dan dilarutkan dengan menggunakan etanol 96%, sebanyak 1500 ml dan dilakukan selama 72 jam.<sup>15</sup> Selanjutnya, dilakukan proses penguapan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40°C selama 3 jam pada ekstrak tersebut agar terbebas dari pelarut etanol.

Prosedur selanjutnya yaitu pembuatan suspensi *A. actinomycetemcomitans*. Cara membuat suspensi *A. actinomycetemcomitans* yaitu dengan menambahkan satu ose *A. actinomycetemcomitans* ke dalam tabung reaksi yang berisi BHI-B sebanyak 2 ml kemudian dihomogenkan dengan centrifuge. Selanjutnya diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, suspensi *A. actinomycetemcomitans* divibrasi dengan *thermolyne* dan diukur absorbansinya sesuai dengan standar Mc.Farland 0,5 dengan absorbansi 0,05 menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 560 nm.<sup>15</sup> Prosedur uji daya hambat *A. actinomycetemcomitans* dilakukan

dengan metode difusi cakram. Media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dibuat dengan sebanyak 38 gram MHA dilarutkan dalam 1 liter aquades. Media disterilkan dengan menggunakan *autoclave* bersuhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu media MHA dituang pada cawan petri sebanyak 15 ml dan didiamkan hingga memadat.<sup>16</sup> Inokulasi bakteri dilakukan dengan metode *streak*. Suspensi *A. actinomycetemcomitans* diinokulasikan pada media MHA dengan menggores secara zigzag menggunakan *cotton swab* pada media MHA dan digores sebanyak 3 kali pengulangan dengan putaran 60° hingga inokulum terdistribusi secara merata. Selanjutnya, kertas cakram steril ditetesi larutan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) konsentrasi 25, 50, dan 100% sebanyak 20 µl serta ditetesi *chlorhexidine* 0,2% sebagai kontrol positif dan aquades steril sebagai kontrol negatif. Kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam.<sup>17</sup>

Selanjutnya dilakukan pengukuran zona hambat dengan jangka sorong. Zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram berwarna bening. Pengukuran dilakukan dengan mengukur zona terluar dari kertas cakram sampai batas terluar dari zona hambat. Jika zona hambat berbentuk lingkaran maka dapat dilakukan pengukuran diameter zona hambat dari tepi ke tepi yang berseberangan dan melewati pusat cakram.<sup>18</sup> Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan surat kelayakan etik No.00646/KKEP/FGK-UGM/EC/2021.

## HASIL

Hasil penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap *A. actinomycetemcomitans* didapatkan zona hambat berupa zona bening di sekeliling kertas cakram yang telah diberi perlakuan sesuai dengan kelompok penelitian yang dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 2. Zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram. (Sumber: dokumentasi pribadi)

Pengukuran dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong (Tabel 1).

**Tabel 1. Nilai rerata zona hambat (mm) ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap *A. actinomycetemcomitans***

Kelompok penelitian	n	Zona hambat (mm) ± SD
K+	6	23,42 ± 0,26
K-	6	0
25%	6	9,39 ± 0,22
50%	6	13,55 ± 0,20
100%	6	17,68 ± 0,21

Keterangan: n: Jumlah sampel; SD: Standar Deviasi; K+: Kelompok kontrol positif; K-: Kelompok kontrol negatif

Kelompok konsentrasi 25% memiliki nilai rerata diameter 9,39 mm. Konsentrasi 50% memiliki nilai rerata diameter 13,55 mm dan konsentrasi 100% memiliki nilai rerata diameter 17,68 mm. Pada kelompok kontrol positif juga terdapat aktivitas daya hambat bakteri dengan nilai rerata diameter 23,42 mm, sedangkan kelompok kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat.

Data yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Hasil uji normalitas diperoleh bahwa data berdistribusi normal, sedangkan hasil uji homogenitas didapatkan nilai  $p=0,02$  yang berarti data tersebut tidak homogen. Berdasarkan hasil uji tersebut maka analisis data dilanjutkan dengan menggunakan uji statistik non parametrik menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney*. Hasil Uji *Kruskal Wallis* diperoleh nilai  $p=0,00$  yang menunjukkan bahwa data tersebut memiliki perbedaan diameter zona hambat yang signifikan ( $p<0,05$ ) yang dapat dilihat pada Tabel 2, selanjutnya hasil uji *Mann Whitney* diperoleh antar

**Tabel 2. Hasil uji Kruskal Wallis**

<i>Kruskal-Wallis</i>	df	p
28,102	4	0,00

**Tabel 3. Hasil uji Mann Whitney**

Kelompok	K+	K-	25	50	100
K+	-	0,02*	0,04*	0,04*	0,04*
K-	-	-	0,02*	0,02*	0,02*
25	-	-	-	0,04*	0,04*
50	-	-	-	-	0,04*
100	-	-	-	-	-

Keterangan: K+: Kelompok kontrol positif; K-: Kelompok kontrol negatif; 25: Ekstrak daun sirih merah konsentrasi 25%; 50: Ekstrak daun sirih merah konsentrasi 50%; 100: Ekstrak daun sirih merah konsentrasi 100%; \*: Terdapat perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ )

kelompok menunjukkan bahwa nilai signifikansi lebih kecil dari 0,05 ( $p < 0,05$ ) yang berarti terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan dalam menghambat *A. Actinomycetemcomitans* (Tabel 3).

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan terdapat perbedaan diameter zona hambat pada masing-masing kelompok perlakuan. Zona hambat terbentuk pada konsentrasi 25, 50, dan 100%, serta terlihat pada kelompok kontrol positif. Kelompok kontrol positif yaitu *chlorhexidine* 0,2% diameter zona hambat yang terbentuk lebih besar dari kelompok ekstrak daun sirih merah konsentrasi 100% (Tabel 3). Hal ini diperkirakan karena *chlorhexidine* 0,2% merupakan salah satu pilihan obat antiseptik yang berspektrum luas yang tergolong dalam struktur kimia biguanid dan bersifat bakterisid terhadap bakteri dan menjadi *gold standard* dalam pengobatan penyakit periodontal. *Chlorhexidine* memiliki molekul positif (kation) yang mampu memberikan perlekatan kuat pada membran sel bakteri. Hal ini menyebabkan perubahan pada permeabilitas membran sel bakteri yang mengakibatkan keluarnya sitoplasma sel sehingga dapat menembus membran sel dan menyebabkan kematian bakteri.<sup>19</sup> Selain itu nilai MIC dari *chlorhexidine* juga telah diketahui terhadap bakteri yang dihambatnya.<sup>13</sup>

Kelompok ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terbentuk zona hambat bakteri di sekitar kertas cakram karena daun sirih merah (*Piper crocatum*) mengandung beberapa senyawa kimia yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri seperti flavonoid, alkaloid, minyak atsiri, dan tanin. Penelitian lain membuktikan dengan uji fitokimia bahwa ekstrak daun sirih merah mengandung flavonoid, alkaloid, dan tanin sebagai senyawa antibakteri.<sup>13</sup> Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang berasal dari polifenol yang memiliki efek bioaktif, antiinflamasi, dan antioksidan. Flavonoid berperan sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks pada protein ekstraseluler yang memiliki integritas dalam membran sel bakteri.<sup>21</sup> Flavonoid berfungsi sebagai bakteriostatik yang bekerja dengan merusak membran sel bakteri karena sifatnya yang lipofilik.<sup>22</sup>

Alkaloid merupakan senyawa kimia biologis yang aktif berbentuk heterosiklik. Kemampuan mekanismenya dengan cara menghambat komponen penyusun peptidoglikan terhadap sel bakteri yang mengakibatkan lapisan dinding sel tidak dapat terbentuk secara utuh sehingga sel tersebut akan mati.<sup>23</sup> Selain itu, alkaloid dapat berikatan dengan DNA. Zat yang berada diantara DNA menyebabkan terhambatnya replikasi sehingga mampu mengakibatkan kematian sel.<sup>22</sup> Tanin memiliki toksisitas yang dapat merusak membran sel bakteri. Daya antibakteri tanin terbentuk dengan cara proses pengendapan protein karena memiliki efek yang sama dengan fenolik. Tanin merupakan senyawa polifenol yang larut dalam air, gliserol, dan metanol. Mekanisme penghambatan tanin yaitu dengan bereaksi melalui membran sel serta inaktivasi enzim-enzim esensial.<sup>13</sup> Kandungan minyak atsiri pada daun sirih merah mengandung kavikol, fenol dan eugenol. Minyak atsiri bekerja dengan cara mengganggu proses pembentukan membran sel atau dinding sel agar terbentuk secara tidak sempurna. Secara umum minyak atsiri mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH) dan fenol. Adanya senyawa fenol jika berinteraksi dengan dinding sel mikroorganisme maka akan mendenaturasi protein dan terjadi permeabilitas mikroorganisme.<sup>15</sup>

Kelompok kontrol negatif aquadest steril tidak terdapat zona hambat (Tabel 1) dikarenakan aquades merupakan senyawa yang netral sehingga tidak mempunyai efek terhadap pertumbuhan bakteri.<sup>24</sup> Ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terbukti menghambat pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans* karena adanya senyawa antibakteri yang terkandung di dalamnya. Hal tersebut dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat. Kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri memiliki perbedaan pada tiap konsentrasinya. Pada kelompok konsentrasi 25% terbentuk zona hambat rerata 9,39 mm, konsentrasi 50% terbentuk zona hambat sebesar 13,55 mm dan konsentrasi 100% terbentuk zona hambat sebesar 17,68 mm (Tabel 1).

Penelitian yang dilakukan oleh Sendy<sup>2</sup> menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah dengan konsentrasi 25, 50, dan 100% dapat menghambat *P. gingivalis*. Zona hambat terbesar yang terbentuk yaitu pada konsentrasi 100%. Hal ini sejalan dengan penelitian yang telah

dilakukan, bahwa ekstrak daun sirih merah konsentrasi 100% menghasilkan zona hambat yang terbesar dan pada konsentrasi 25% memiliki daya hambat yang terkecil. Zona hambat yang terbentuk pada *A. actinomycetemcomitans* dikarenakan adanya faktor virulensi seperti adhesi, endotoksin dan eksotoksin.<sup>25</sup> Kemampuan daya hambat pertumbuhan bakteri terbagi dalam beberapa kelompok. Diameter zona hambat <5 mm dikategorikan lemah, diameter 5-10 mm kategori sedang, diameter 10-20 mm kategori kuat, dan diameter >20 mm kategori sangat kuat.<sup>24</sup> Berdasarkan data penelitian, ekstrak daun sirih merah dalam menghambat pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans* konsentrasi 25% (9,39 mm) termasuk kategori sedang, konsentrasi 50% (13,55 mm) dan konsentrasi 100% (17,68 mm) termasuk kategori kuat.

## SIMPULAN

Simpulan pada penelitian ini adalah Ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terdapat aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *A. actinomycetemcomitans* pada konsentrasi 25, 50, dan 100% serta daya hambat ekstrak daun sirih merah yang terkecil pada konsentrasi 25% dan daya hambat ekstrak daun sirih merah yang terbesar pada konsentrasi 100%.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Saptiwi B, Hanafi M, Purwitasari D. Perilaku pemeliharaan kesehatan gigi dan mulut terhadap status kebersihan gigi dan mulut (ohi-s) warga samin surosentiko Kabupaten Blora. *J Kesehat Gigi*. 2019;6(1):68.
2. Sendy V, Pujiastuti P, Ermawati T. Daya antibakteri ekstrak daun sirih merah (*piper crocatum*) terhadap *porphyromonas gingivalis*. *Artikel Ilmiah*. 2014;hal.1-37.
3. Harapan IK, Ali A, Fione VR. Gambaran penyakit periodontal berdasarkan umur dan jenis kelamin pada pengunjung poliklinik gigi puskesmas tikala baru Kota Manado tahun 2017. *Jigim (J Ilm Gigi Mulut)*. 2020;3(1):20–6.
4. Sidiqa An, Herryawan H. Efektifitas gel daun sirih merah (*piper crocatum*) pada perawatan periodontitis kronis. *Kartika J Ilm Farm*. 2017;5(1):1–6.

5. Wijaya H, Novitasari, Jubaidah S. Perbandingan metode ekstraksi terhadap rendemen ekstrak daun rambui laut (*Sonneratia Caseolaris* L. Engl). *J Ilm Manuntung*. 2018;4(1):79–83.
6. Alibasyah ZM, Ningsih DS, Sinda MP. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun biduri (*calotropis gigantea*) terhadap *aggregatibacter actinomycetemcomitans* atcc 29523. *Cakradonya Dent J*. 2020;12(1):56-63. DOI: [10.24815/cdj.v12i1.17076](https://doi.org/10.24815/cdj.v12i1.17076)
7. Clarissa C, Amir M, Asfirizal V. Uji antibakteri ekstrak etanol daun tahongai (*kleinhovia hospita* linn) terhadap pertumbuhan bakteri *actinobacillus actinomycetemcomitans* in-vitro. *J Ked Mulawarman*, 2020;7(3), 14. DOI: [10.30872/j.ked.mulawarman.v7i3.5020](https://doi.org/10.30872/j.ked.mulawarman.v7i3.5020)
8. Prahasanti C. Efektivitas Obat kumur chlorhexidine, essential oil, triclosan-sodium fluoride dalam pencegahan pembentukan bakteri plak. *Dentofasial*. 2014;13(1):55–8.
9. Saputri D, Novita CF, Zakky M. Perbandingan tindakan menjaga kebersihan rongga mulut dan status oral hygiene pada anak usia sekolah dasar di daerah perkotaan dan pedesaan. *J Syiah Kuala Dent Society*. 2017;2(2):90–96.
10. Putranto RA. Peran irigasi klorheksidin pada perawatan penyakit periodontal. *J Ked Gigi Terpadu*. 2019;1(1):35–9.
11. Banerjee S, Ngairangbam S, Devi TP, Nandini DB, Mukherjee S, Dutta S. Cytotoxic effect of chlorhexidine gluconate mouthwash—a micronuclei-assay. *Int J Applied Dent Sciences Ijads*. 2017;3(33):82-85.
12. Abdallah C. Perioperative chlorhexidine allergy: is it serious? *J Anaesthesiology Clinical Pharmacology*. 2015;31(2):152–154. DOI: [10.4103/0970-9185.155140](https://doi.org/10.4103/0970-9185.155140)
13. Puspita PJ, Safithri M, Sugiharti NP. Antibacterial activities of sirih merah (*piper crocatum*) leaf extracts. *Current Biochemistry*. 2018;5(3):1–10. DOI: [10.29244/cb.5.3.1-10](https://doi.org/10.29244/cb.5.3.1-10)
14. Rivai H, Heriadi A, Fadhilah, H. Pembuatan dan karakterisasi ekstrak kering daun salam. *J Farmasi Higea*. 2013;5(1):133–144. DOI: [10.52689/higea.v7i1.116](https://doi.org/10.52689/higea.v7i1.116)
15. Pujiastuti P, Lestari S. Perbedaan efektivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah (*piper crocatum*) pada *porphyromonas gingivalis* dan *streptococcus viridans*. *Jkg Unej*. 2015;12(1):1–4.
16. Hudaya A, Radiastuti N, Sukandar D, djajanegara i. Uji aktivitas antibakteri ekstrak air bunga kecombrang. *Al-kauniyah. J Biologi*. 2014;7(1):9-14. DOI: [10.15408/kauniyah.v7i1.2707](https://doi.org/10.15408/kauniyah.v7i1.2707)
17. Octaviani M, Fadhli H, Yuneistya E. Antimicrobial activity of ethanol extract of shallot (*allium cepa* L.) Peels using the disc diffusion method. *Pharmaceutical Sciences And Research*. 2019;6(1):62–68. DOI: [10.7454/psr.v6i1.4333](https://doi.org/10.7454/psr.v6i1.4333)
18. Majidah D, Fatmawati DWA, Gunadi A. Daya antibakteri ekstrak daun seledri (*apium graveolens* l) terhadap pertumbuhan *streptococcus mutans* sebagai alternatif obat kumur. *Universitas Jember*. 2014;hal.1-5.
19. Sinaredi BR, Pradopo S, Wibowo TB. Daya antibakteri obat kumur chlorhexidine, povidone iodine, fluoride suplementasi zinc terhadap *streptococcus mutans* dan *porphyromonas gingivalis* (antibacterial effect of mouth washes containing chlorhexidine, povidone iodine, fluoride plus zinc on strep. *Dent J (Majalah Kedokteran Gigi)*. 2014;47(4):211-214. DOI: [10.20473/j.djmkq.v47.i4.p211-214](https://doi.org/10.20473/j.djmkq.v47.i4.p211-214)
20. 18. Horner C, Damien M, Mark W. Reduced susceptibility to chlorhexidine in staphylococci: is it increasing and does it matter? *J Antimicrobial Chemotherapy*. 2012;67(11): 2547–2559. DOI: [10.1093/jac/dks284](https://doi.org/10.1093/jac/dks284)
21. Parfati N, Windono T. Sirih merah (*piper crocatum* ruiz & pav) kajian pustaka. *Media Pharmaceutica Indonesiana*. 2016;1(2):106–115. DOI: [10.24123/mpi.v1i2.193](https://doi.org/10.24123/mpi.v1i2.193)
22. Pasril Y, Aditya Y. Daya antibakteri ekstrak daun sirih merah (*piper crocatum*) terhadap bakteri *enterococcus faecalis* sebagai bahan medikamen saluran akar dengan metode dilusi anti-bacterial power of red betel leaves (*piper crocatum*) to *enterococcus faecalis* bacteria *AS Medi. Insisiva Dent J*. 2014;3(1), 88–95. DOI: [10.18196/di.v3i1.1733](https://doi.org/10.18196/di.v3i1.1733)
23. Fadlillah M. Benefit of red betel (*piper crocatum* ruiz & pav) as antibiotics. *J Majority*. 2015;4(3):71-75.
24. Henaulu AH, Kaihena M. Potensi antibakteri ekstrak etanol daun kecipir (*psophocarpus tetragonolobus* (l.) Terhadap pertumbuhan *escherichia coli* dan *staphylococcus aureus* in vitro. *Biofaal J*. 2020;1(1): 44–54. DOI: [10.30598/biofaal.v1i1pp44-54](https://doi.org/10.30598/biofaal.v1i1pp44-54)

25. Wulandari I, Emriadi E, Supriyanto K. Perbedaan daya hambat madn konsentrasi 100% terhadap pertumbuhan bakteri porphyromonas gingivalis dan aggregatibacter actinomycetemcomitans. Andalas D J. 2018;6(1):1-10. DOI: [10.25077/andalas%20dent.%20j..v6i1.85](https://doi.org/10.25077/andalas%20dent.%20j..v6i1.85)