

Laporan Penelitian

Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih hitam (DSH) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*: Studi eksperimental

Krisna Wahyu Wicaksono^{1*}
Alhawaris²
Sjarif Ismail³

¹Program Studi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

²Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

³Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Korespondensi contoh:
Nawahyu10@gmail.com

Submisi: 04 Desember 2025

Revisi: 27 Januari 2026

Penerimaan: 27 Februari 2026

Publikasi Online: 28 Februari 2026

DOI: [10.24198/pjdrs.v10i1.69075](https://doi.org/10.24198/pjdrs.v10i1.69075)

ABSTRAK

Pendahuluan: Persentase karies gigi di Indonesia masih tergolong tinggi. Penyebab utamanya berasal dari bakteri *Streptococcus mutans* yang dapat berkembang biak dan berpotensi dalam merusak permukaan gigi. Upaya yang dapat digunakan untuk mencegah hal tersebut, yaitu bahan alam yang berpotensi sebagai antibakteri. Salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai agen antibakteri, yaitu minyak atsiri daun sirih hitam (DSH). Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis aktivitas antibakteri minyak atsiri DSH terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. **Metode:** Jenis metode penelitian kualitatif berupa *true experimental* menggunakan uji mikrodilusi. Terdapat 3 kelompok perlakuan meliputi kelompok uji minyak atsiri DSH dengan 10 konsentrasi, yaitu 4%; 2%; 1%; 0,5%; 0,25%; 0,125%; 0,0625%; 0,03125%; 0,015625%; 0,0078125%; 0,00390625% dan 0,001953125% serta kelompok kontrol positif meliputi eugenol serta kelompok kontrol negatif meliputi DMSO 10%. Analisis data dinilai secara kualitatif dengan mengamati perubahan warna. **Hasil:** Nilai MIC dari minyak atsiri DSH sebesar 0,5%. Nilai MBC dari minyak atsiri DSH sebesar 4%. Kolom 1A, 1B dan 1C menunjukkan tidak ada perubahan warna yang menandakan DSH bersifat antibakteri. **Simpulan:** Minyak atsiri DSH konsentrasi 4% memiliki aktivitas antibakteri terbaik terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

KATA KUNCI: Antibakteri, minyak atsiri, daun sirih hitam, *streptococcus mutans*

Antibacterial activity test of black betel leaf essential oil against the growth of *Streptococcus mutans*: Study experimental

ABSTRACT

Introduction: The prevalence of dental caries in Indonesia remains relatively high. The main cause is *Streptococcus mutans*, which can proliferate and has the potential to demineralize the tooth surface. A preventive approach is the use of natural substances with antibacterial properties. One natural material with potential antibacterial activity is the essential oil of black betel leaf (DSH). This study aimed to analyze the antibacterial activity of black betel leaf essential oil against *Streptococcus mutans*. **Methods:** This study employed a true experimental design using the microdilution method. There were three groups: the test group, consisting of black betel leaf essential oil at concentrations of 4%, 2%, 1%, 0.5%, 0.25%, 0.125%, 0.0625%, 0.03125%, 0.015625%, 0.0078125%, 0.00390625%, and 0.001953125%; and the positive control group consisting of eugenol; and the negative control group consisting of 10% DMSO. Data were analyzed qualitatively by observing color changes. **Results:** The minimum inhibitory concentration (MIC) of black betel leaf essential oil was 0.5%. The minimum bactericidal concentration (MBC) was 4%. Columns 1A, 1B and 1C showed no color change, indicating that DSH exhibits antibacterial activity. **Conclusions:** Black betel leaf essential oil at a concentration of 4% exhibits the best antibacterial activity against *Streptococcus mutans*.

KEYWORDS: antibacterial, essential oil, black betel leaf, *Streptococcus mutans*

PENDAHULUAN

Karies gigi merupakan masalah penyakit gigi dan mulut yang banyak dialami oleh banyak masyarakat dan memerlukan perhatian khusus. Menurut data survei kesehatan Indonesia, rerata proporsi karies gigi di Indonesia mencapai nilai 82,8%.¹ Hal ini menandakan bahwa sekitar 8 dari 10 masyarakat Indonesia memiliki karies. Patogenesis awal mula terbentuknya karies berasal dari 4 faktor, yaitu *host*, *agent*, *environment* dan *time*.^{2,3} *Agent* meliputi bakteri yang berkembang biak dan berpotensi merusak lapisan permukaan gigi.^{4,5} Salah satu bakteri utama penyebab karies gigi adalah *Streptococcus mutans* (*S. mutans*).⁶

Bakteri *S. mutans* memiliki kemampuan dalam berkolonisasi dan membentuk biofilm untuk melekat sehingga berpotensi melarutkan permukaan gigi sehingga perlahan-lahan dapat menjadi karies.⁷ Beberapa produk hasil alam seperti, madu kelulut, jahe, jeruk dan kunyit dapat digunakan sebagai agen terapi yang mampu melemahkan pertumbuhan bakteri *S. mutans*.⁸⁻¹²

Tanaman sirih merupakan hasil alam yang banyak ditemukan di lingkungan sekitar dan dapat dijadikan sebagai tanaman obat.¹³ Salah satu yang memiliki potensi, yaitu daun sirih hitam (DSH). Tanaman ini banyak digunakan oleh masyarakat Kalimantan Timur sebagai obat tradisional. Keunggulan utama dari DSH, yaitu memiliki kandungan minyak atsiri yang dapat berperan sebagai antibakteri yang baik.^{14,15} Hal ini sejalan dengan riset Herdiana *et al.*,¹⁶ kandungan minyak atsiri DSH memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acne*.

Selain itu, didukung juga oleh riset Herryawan *et al.*,¹⁷ Kombinasi antara daun sirih hitam dengan daun sirih merah memberikan efek antibakteri yang sangat kuat terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Hasil uji fitokimia daun sirih hitam menunjukkan adanya kandungan alkaloid, saponin dan flavonoid.¹⁸ Namun, sampai saat belum ada yang melakukan penelitian terkait aktivitas antibakteri minyak atsiri terhadap bakteri *S. mutans*.

Oleh karena itu, guna melakukan pengembangan bahan alami sebagai agen terapi karies perlu dilakukan uji antibakteri dari minyak atsiri DSH terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Penelitian ini menawarkan kebaruan berkaitan dengan nilai MIC dan MBC dari ekstrak minyak DSH terhadap bakteri *S. mutans* yang belum pernah dilakukan sebelumnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri dari DSH terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* berdasarkan nilai MIC dan MBC.

METODE

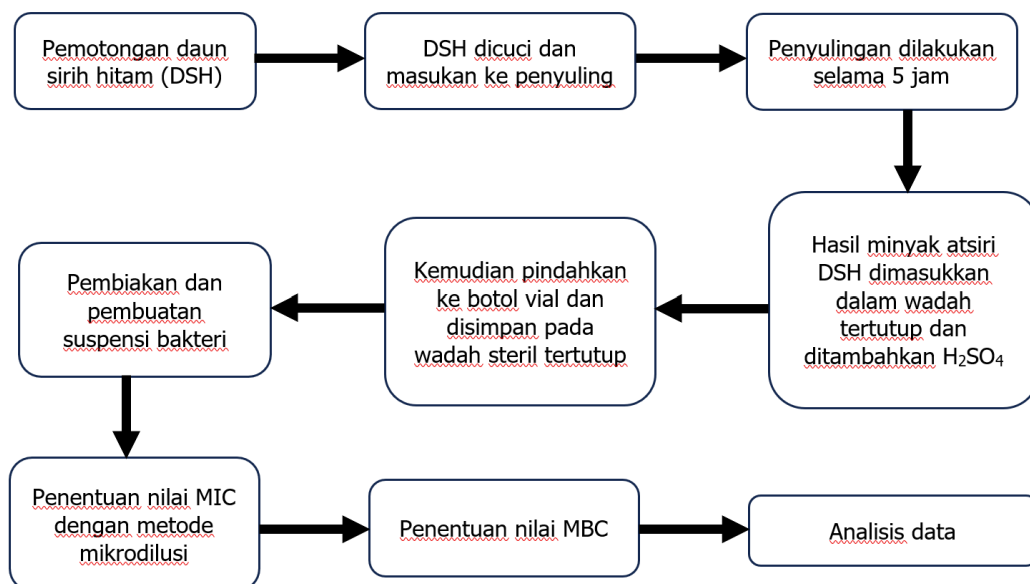
Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental* dengan desain penelitian menggunakan *post test only control group design*. Waktu penelitian dilakukan dari bulan Januari–Februari 2023. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Kimia Hasil Hutan dan Energi Terbarukan Universitas Mulawarman.

Populasi dalam penelitian ini berjumlah 96 sampel dan teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini, yaitu *random sampling*. Terdapat 3 kelompok perlakuan meliputi kelompok uji, kontrol positif dan negatif. Kelompok uji meliputi ekstrak DSH konsentrasi 4%, 2%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625%, 0,03125%, 0,015625% dan 0,0078125%, 0,00390625% dan 0,001953125% (Baris A, B dan C). Kelompok kontrol positif meliputi eugenol (Baris D, E dan F) serta kontrol negatif DMSO 10% (Baris G dan H).

	4%	2%	1%	0,5%	0,25%	0,125%	0,0625%	0,03125%	0,015625%	0,0078125%	0,00390625%	0,001953125%
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Gambar 1. Gambaran desain kelompok uji A-C (warna biru), kelompok kontrol positif D-F (warna merah), kelompok kontrol negatif G-H (warna kuning)

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih hitam (DSH), eugenol, DMSO 10%, bakteri *S. mutans*, aquadest steril, *Mueller Hinton Broth* (MHB), *Nutrient Agar* (NA) dan micro tetrazolium. Alat yang digunakan meliputi timbangan, alat destilasi uap minyak atsiri, botol kaca, lemari penyimpanan, *handscoon*, masker steril, *bio safety cabinet*, saringan littman 0,45 mm, *petridish*, *autoclave*, tabung reaksi, tabung eppendorf, mikropipet, inkubator, cotton swab, timbangan analitik, jarum ose/jarum inokulasi dan *microplate 96-well*.



Gambar 2. Bagan alur prosedur

Langkah awal penelitian ini dimulai dari penyulingan minyak atsiri DSH. Sebanyak 6 kg DSH dikumpulkan dan dibersihkan serta dicacah menjadi potongan kecil. DSH dibersihkan dan dimasukkan ke dalam alat penyuling. Penyulingan dilakukan dengan metode kukus selama 5 jam. Hasil yang diperoleh berupa distilat yang berisi minyak atsiri dan air lalu pisahkan menggunakan separator. Minyak atsiri diambil dan disimpan dalam wadah tertutup serta dimasukkan H_2SO_4 untuk memisahkan air yang berada pada minyak atsiri. Setelah itu pindahkan ke botol vial tertutup dan disimpan dalam wadah steril tertutup yang di-*wrap* menggunakan aluminum foil.

Tahapan berikutnya, yaitu pembuatan suspensi bakteri *S. mutans*. Pembiakan bakteri *S. mutans* dilakukan dengan media BHI-B, suspensi bakteri dibuat dengan cara menyiapkan media MHB kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan bakteri *S. mutans*. Selanjutnya homogenkan dengan menggunakan vortex, dan diukur tingkat kekeruhannya menggunakan spektrofotometer hingga didapatkan 1 – 0,5 McFarland. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *S. mutans* ATCC 25175 yang diperoleh dari PT. Indonesia Paramartha Lab.

Dilakukan penentuan *minimum inhibitory concentration* (MIC) dengan metode mikrodilusi pada *microplate 96-well*. Kultur bakteri disetarakan dengan 1 – 0,5 McFarland. Microplate steril disiapkan dengan 1 McFarland pada sumuran pertama untuk daerah pengujian ekstrak dan kontrol, selanjutnya tambahkan 0,5 McFarland pada sumuran kedua sampai seterusnya daerah pengujian ekstrak, kontrol negatif dan positif. Sumuran untuk perlakuan ditambahkan 100 μ L pada sumuran yang telah ditambahkan ekstrak DSH. Kemudian ditambahkan pada sumuran kedua sampai sumuran terakhir. Pada sumuran terakhir didapatkan total volume akhir 200 μ L.

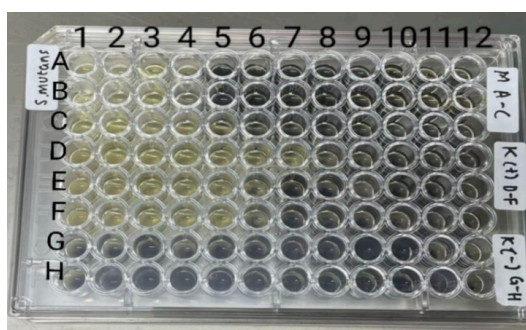
Sumuran untuk kontrol negatif ditambahkan 100 μ L DMSO 10%. Sumuran kontrol positif ditambahkan 100 μ L eugenol. Pengujian ekstrak dilakukan sebanyak 3 kali. Pengamatan dilakukan setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, pengamatan MIC secara visual dilakukan dengan penambahan pewarna microtetrazolium (MTT) ke dalam

setiap sumur sebanyak 20 μ L untuk melihat jika ekstrak menghambat maka larutan yang ada tetap jernih, sedangkan jika larutan ditumbuhi bakteri maka berwarna ungu.

Dilakukan penentuan *minimum bactericidal concentration* (MBC) dengan masing-masing *petri dish* media *Nutrient agar* (NA) diberi tanda menggunakan spidol bertuliskan Sirih hitam untuk ekstrak DSH, eugenol untuk kontrol positif. Pola disesuaikan dengan MIC yang telah diinkubasi selama 24 jam lalu ditempatkan pada permukaan media sesuai dengan posisi yang ditentukan. *Petridish* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian dilakukan pengukuran MBC. Data kualitatif dianalisis secara deskriptif dan diinterpretasikan dari nilai MIC dan MBC pasca aplikasi ekstrak DSH terhadap bakteri *S. mutans*.

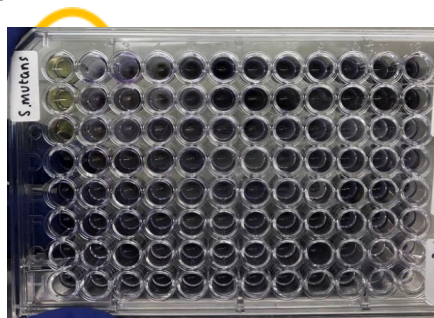
HASIL

Berdasarkan hasil analisis MIC (Gambar 1), hasil pengujian minyak atsiri DSH selama 24 jam pertama menunjukkan aktivitas antibakteri yang dapat menghambat bakteri *S. mutans* pada kelompok uji 1A, 2A, 3A, 1B, 2B, 3B, 1C, 2C, 3C dan 4C dengan konsentrasi 4%, 2%, 1% dan 0,5%. Sedangkan pada kolom 6A, 7A, 8A, 9A, 10A, 11A dan 12A serta pengulangan kedua dan ketiga dengan konsentrasi 0,25%, 0,125%, 0,0625%, 0,0312%, 0,0156%, 0,0078%, 0,0039%, 0,0019% terdapat pertumbuhan bakteri atau tidak adanya daya hambat yang ditandai dengan berubahnya warna larutan menjadi ungu. Pada kelompok kontrol positif eugenol dapat menghambat bakteri sesuai dengan sifatnya pada kolom 1D – 6D, 1E–5E serta 1F–5F yang ditandai tidak adanya perubahan warna sumuran yang diberikan eugenol. Sedangkan kelompok kontrol negatif berupa DMSO 10% tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri dibuktikan dari semua sumuran kontrol negatif pada kolom 1G – 12G dan 1H – 12H berubah warna yang menandakan semua kontrol negatif ditumbuhi bakteri *S. mutans*.



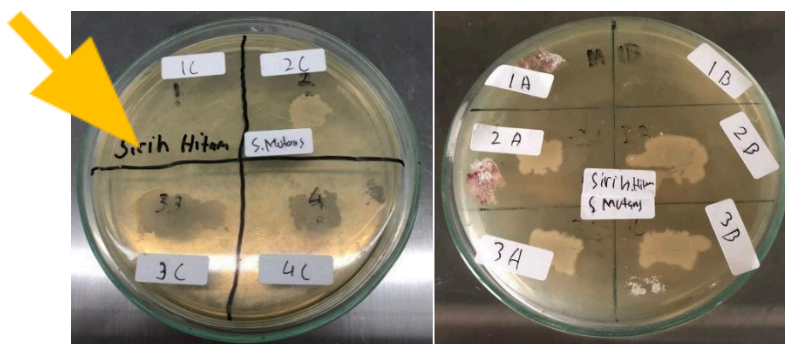
Gambar 3. Gambaran hasil uji MIC DSH terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan metode mikrodilusi setelah inkubasi 24 jam pertama

Berdasarkan hasil analisis MBC (Gambar 2), hasil pengujian minyak atsiri DSH selama 48 jam pertama menunjukkan aktivitas antibakteri dalam menghambat bakteri *S. mutans* pada sumuran 1A, 1B dan 1C dengan konsentrasi 4%. Sedangkan kolom 2A – 12A, 2B – 12B dan 2C – 12C tidak menunjukkan aktivitas antibakteri. Pada kelompok kontrol positif dan negatif juga menandakan terjadinya pertumbuhan bakteri pasca 48 jam dengan adanya perubahan warna.



Gambar 4. Gambaran hasil uji MBC DSH terhadap bakteri *S. mutans* dengan metode mikrodilusi setelah 48 jam (Lingkaran kuning menunjukkan kolom 1A-1C konsentrasi 4%)

Berdasarkan analisis uji MBC (Gambar 3). Dapat diamati bahwa minyak atsiri dari DSH memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* yang diuji dengan metode mikrodilusi agar. Hal ini ditunjukkan dengan terjadinya hambatan pertumbuhan pada kolom 1C, yaitu pada konsentrasi 4%. Nilai MBC minyak atsiri dari DSH terhadap *S. mutans*, yaitu 4%.



Gambar 3. Gambaran hasil uji MBC DSH terhadap bakteri *S. mutans* dengan metode *streak plate* setelah 48 jam (Panah kuning menunjukkan kolom 1C konsentra

Tabel 1. Rasio MBC/MIC dari minyak atsiri DSH terhadap bakteri *S. mutans*

Pengulangan	MIC	MBC	MBC/MIC rasio
1	1%	4%	4
2	1%	4%	4
3	0,5%	4%	8
Rerata			5,6

Berdasarkan hasil perhitungan rasio MBC/MIC dari minyak atsiri DSH terhadap bakteri *S. mutans* didapatkan nilai perbandingan pengulangan pertama sebesar 4, pengulangan kedua sebesar 4 dan pengulangan ketiga sebesar 8. Rerata nilai MBC/MIC dari minyak atsiri DSH sebesar 5,6. Hal ini menunjukkan bahwa minyak atsiri DSH bersifat bakteristatik.

PEMBAHASAN

Daun sirih merupakan salah satu jenis hasil alam yang memiliki kandungan minyak atsiri. Berdasarkan hasil yang ditemukan nilai konsentrasi terbaik dalam menghambat bakteri *S. mutans*, yaitu pada konsentrasi 4%. Hal ini sejalan dengan penelitian Yuan *et al.*,¹⁹ semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri maka, semakin kuat efek penghambatan antibakteri terhadap bakteri *S. mutans*. Hal ini juga didukung oleh riset Atisakul *et al.*,²⁰ kandungan minyak atsiri memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri *S. mutans* dan *Solobacterium moore*.

Tanaman DSH mengandung beberapa metabolit sekunder diantaranya alkaloid, flavonoid, dan saponin.^{21,22} Alkaloid merupakan senyawa heterosiklik yang mengandung nitrogen yang terisolasi pada tanaman. Secara struktur kimia, alkaloid terklasifikasi sebagai *isoquinolines*, *quinolines*, *indoles* dan *piperidine*.²³ Mekanisme penghambatannya dengan mengganggu komponen yang membentuk peptidoglikan dalam sel bakteri dan menghambat sintesis asam nukleat serta protein yang dapat membuat lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel.²⁴

Flavonoid merupakan golongan senyawa fenolik yang paling penting dan ditemukan dalam bentuk *non-glycosylated* atau *glycosidic*.²⁵ Senyawa ini memiliki kemampuan sebagai antibakteri, antiinflamasi dan antioksidan.²⁶ Mekanisme kemampuan antibakteri flavonoid adalah dengan mengganggu bakteri gram-positif yang menyebabkan disfungsi membran sitoplasmanya.²⁷

Saponin adalah zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga menyebabkan hemolisis sel. Mekanisme kerja saponin berawal dari terjadi lisis dinding sel bakteri dan kebocoran alkalin fosfat dengan adanya peningkatan konsentrasi saponin menyebabkan protein larut sehingga senyawa intraseluler berdifusi melalui membran luar yang berakibat sitoplasma mengalami kebocoran dan kematian sel.²⁸

Menurut penelitian Nayaka et al.,¹³ minyak atsiri DSH mengandung eugenol dan kombinasi carvacrol serta chavicol. Dalam sebuah penelitian yang dilakukan oleh Kowalewska et al.,²⁹ Eugenol terbukti memiliki sifat antibakteri dalam menginduksi lisis sel melalui kebocoran protein dan lipid, menyebabkan ekstrusi isi sitoplasma. Carvacrol dan chavicol adalah senyawa yang ditemukan dalam minyak atsiri dan merupakan salah satu senyawa kimia aktif yang terkandung dalam minyak atsiri DSH.³⁰ Carvacrol terbukti memiliki efek bakterisida pada pertumbuhan bakteri gram-positif *Streptococcus pyogenes* dengan menunjukkan kemampuan untuk membunuh bakteri. Perubahan membran yang diinduksi oleh carvacrol menyebabkan kebocoran isi sitoplasma seperti enzim laktat dehidrogenase dan asam nukleat, pecahnya sel, dan kematian sel.³¹

Senyawa aktif kimia yang terkandung dalam minyak atsiri DSH telah diteliti dalam studi sebelumnya, termasuk alilpirokatekol, yang terbukti memiliki sifat antibakteri, dapat menghambat pertumbuhan bakteri tanpa modifikasi genetik, dan menjadi pengobatan yang efektif dan efisien.³² Salah satu pilihannya adalah gangguan dinding sel bakteri dengan menghambat sintesis peptidoglikan. Dengan memblokir aksi enzim MurA, dinding sel bakteri akan terganggu, dan akhirnya bakteri akan mati dengan sendirinya. Hal ini menjadikan enzim MurA sebagai target yang menjanjikan untuk agen antimikroba.

Hidroksikavicol terbukti menghambat bakteri *S. mutans*.³³ Penelitian tersebut menjelaskan bahwa hidroksikavicol mengubah struktur membran sel, sehingga mengganggu penghalang permeabilitas struktur membran mikroba. Hidroksikavicol menunjukkan aktivitas anti-inflamasi yang kuat dengan secara signifikan menghambat ekspresi sitokin proinflamasi TNF- α serta menunjukkan aktivitas antioksidan yang cukup signifikan.³⁴

Adapun keterbatasan dalam penelitian ini, yaitu lebih berfokus pada uji aktivitas antibakteri namun tidak melakukan penelitian lanjutan seperti uji toksisitas untuk mengetahui efek toksik yang ditimbulkan oleh minyak atsiri daun sirih hitam (DSH). Oleh karena itu, peneliti menyarankan untuk dapat dilakukan uji toksisitas dari minyak atsiri DSH konsentrasi 0,5% - 4%.

SIMPULAN

Minyak atsiri daun sirih hitam (DSH) konsentrasi 4% memiliki aktivitas antibakteri terbaik dalam menghambat bakteri *S. mutans*. Implikasi penelitian ini adalah minyak atsiri DSH diharapkan dapat menjadi alternatif terhadap keterbatasan material kimia kedokteran gigi dengan memanfaatkan bahan alam sebagai agen alternatif material dentistry. Secara teoritis, penelitian ini memberikan peran besar dalam mengembangkan kontribusi keilmuan bagi perkembangan ilmu biologi oral, serta dapat menjadi landasan untuk penelitian lanjutan.

Kontribusi Penulis: Kontribusi peneliti "Konseptualisasi, W.W.K. dan A.A.; metodologi, A.A. dan I.S.; perangkat lunak, W.W.K.; validasi, W.W.K, A.A. and I.S.; analisis formal, I.S.; investigasi, A.A.; sumber daya, W.W.K.; kurasi data, W.W.K., A.A. dan I.S.; penulisan—penyusunan draft awal, W.W.K; penulisan-tinjauan dan penyuntingan, W.W.K., A.A. dan I.S.; visualisasi, W.W.K., A.A. dan I.S.; supervisi, A.A.; administrasi proyek, W.W.K.; perolehan pendanaan, W.W.K. Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi naskah yang diterbitkan."

Pendanaan: Penelitian ini tidak menerima dana dari pihak luar

Persetujuan Etik: Penelitian ini dilaksanakan sesuai dengan deklarasi Helsinki, dan telah disetujui oleh atau Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman pada tanggal 20 Februari 2023 dengan nomor surat 37/KEPK-FK/II/2023

Pernyataan Ketersediaan Data: Ketersediaan data dapat diperoleh melalui email korespondensi penulis

Konflik Kepentingan: Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan

DAFTAR PUSTAKA

1. Munira SL, Puspasari D, Trihono, Thaha R, Musadad A, Junadi P, et al. Survei Kesehatan Indonesia (SKI). Kemenkes. 2023. <https://www.badankebijakan.kemkes.go.id/ski-2023-dalam-angka/>
2. Ribeiro AA, Paster BJ. Dental caries and their microbiomes in children : what do we do now? J Oral Microbiol. 2023;15(1). DOI: <https://doi.org/10.1080/20002297.2023.2198433>
3. Qiu W, Zhou Y, Li Z, Huang T, Xiao Y, Cheng L, et al. Application of Antibiotics / Antimicrobial Agents on Dental Caries. Hindawi. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/5658212>
4. Chen X, Daliri EB mwine, Kim N, Kim J rae, Yoo D, Oh D hwan. Microbial Etiology and Prevention of Dental Caries : Exploiting Natural

- Products to Inhibit Cariogenic Biofilms. MDPI. 2020;9(569). DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens9070569>
5. Iacopetta D, Ceramella J, Catalano A, Amato AD, Lauria G, Saturnino C, et al. Diarylureas : New Promising Small Molecules against Streptococcus mutans for the Treatment of Dental Caries. MDPI. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12010112>
6. Javed S, Zakirulla M, Ulla R, Asif SM, Baksh A. Development of artificial neural network model for prediction of post- streptococcus mutans in dental caries. Elsevier. 2020;186:105198. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2019.105198>
7. Amisshah F, Andey T, Ahlschwede KM. Nanotechnology-based therapies for the prevention and treatment of Streptococcus mutans -derived dental caries. J Oral Biosci. 2021;63(4):327–36. Available from: DOI: <https://doi.org/10.1016/j.job.2021.09.002>
8. Alus LN, Anitasari S, Kosala K, Ismail S, Yani S. Perbedaan kecepatan degradasi gel berbasis madu Heterotrigena itama berdasarkan nilai indeks kristalinitas: Studi eksperimental. Padjadjaran J Dent Res Students. 2025;9(2):157–67. DOI: [10.24198/pjdrs.v9i2.63110](https://doi.org/10.24198/pjdrs.v9i2.63110)
9. Yapong B, Jitpukdeebodintra S, Rotpenpian N. Antimicrobial Property of Zingiber officinalis Extract on Streptococcus mutans. J Int Dent Med Res. 2022;15(4):1492–6. DOI: <http://www.jidmr.com>
10. Katuromunda M, Ssekatawa K, Niwagaba S. A Preliminary Evaluation of the Antibacterial Activity of Lemon Fruit Juice, Mondia whitei Ethanolic Extract, and Their Combination Against Streptococcus mutans. Infect Drug Resist. 2024;17:4291–9. DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S474810>
11. Dohude GA, Isnandar I, Siregar IB, Tanzia A. Antimicrobial Assessment of Curcuma longa L Against Streptococcus mutans Growth. J Syiah Kuala Dent Soc. 2023;8(1):37–42. DOI: <https://doi.org/10.24815/jds.v8i1.33031>
12. Ghilan A kareem M, Alharbi NS, Khaled JM, Kadaikunnan S, Alobaidi AS. Virulence factors analysis and determination of the suitable chemical agent to inhibit Streptococcus mutans growth and biofilm formation. J King Saud Univ - Sci. 2023;35(8):102892. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2023.102892>
13. Made N, Mara D, Nayaka W, Malida M, Sasadara V, Sanjaya DA, et al. Piper betle (L): Recent Review of Antibacterial and Antifungal Properties, Safety Profiles, and Commercial Applications. MDPI. 2021;1–21. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26082321>
14. Biswas P, Anand U, Chatterjee S, Nishi S, Mishra T, Masih H, et al. Betelvine (Piper betle L .): A comprehensive insight into its ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacological, biomedical and therapeutic attributes. Wiley. 2022;3083–119. DOI: <https://doi.org/10.1111/jcmm.17323>
15. Maulidya V, Hasanah ANUR, Rijai L, Muchtaridi M. Extraction And Characterization Of Black Betel Leaf (Piper Acre Blume .) Essential Oils From East Kalimantan. Int J Appl Pharm. 2022;14(4):38–44. DOI: <https://doi.org/10.22159/ijap.2022.v14s4.OP02>
16. Herdiana I, Nala A, Muna E, Syahla N, Melawati N, Diniyati SN. Potensi Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau , Sirih Merah Dan Sirih Hitam Terhadap Bakteri Propionibacterium Acne. J Bahana Kesehat Masy. 2023;7(2):52–7. DOI: <https://doi.org/10.35910/jbkm.v7i2.680>
17. Herryawan, Soerachman B, Gustimuda SA. Comparison Of The Antibacterial Effectiveness Of Red Betel Extract With Black Betel Extract On Porphyromonas Gingivalis Bacteria. JHDS. 2023;03(01):53–68. DOI: [10.54052/jhds.v3n1.p53-68](https://doi.org/10.54052/jhds.v3n1.p53-68)
18. Singh T, Singh P, Kumar V, Singh R, Hussain A. A literature review on bioactive properties of betel leaf (Piper betel L .) and its applications in food industry. Food Chem Adv. 2023;3(August):100536. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100536>
19. Yuan Y, Sun J, Song Y, Raka RN, Xiang J, Wu H, et al. Antibacterial activity of oregano essential oils against Streptococcus mutans in vitro and analysis of active components. BMC Complement Med Ther. 2023;4:1–13. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12906-023-03890-4>
20. Atisakul K, Saewan N. The Antibacterial Potential of The Antibacterial Potential of Essential Oils of Oral Care Thai Herbs against Streptococcus mutans and Solobacterium moorei — In Vitro Approach. MDPI. 2023;1–13. DOI: <https://doi.org/10.3390/cosmetics10050125>
21. Prasetya F, Salam S, Rahmadani A, Haikal K, Febrina L, Anshory H, et al. Novel Amides Derivative with Antimicrobial Activity of Piper betle var . nigra Leaves from Indonesia. MDPI. 2021;1–8. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26020335>
22. Prasetya F, Salam S, Rijai HR, Kuncoro H, Rusli R. Pharmacognostic Profile of Simplicia and Ethanolic Leaves Extract from Indonesian Piper betle var . nigra. Pharmacogn J. 2022;14(5):610–8. DOI: [10.5530/pj.2022.14.143](https://doi.org/10.5530/pj.2022.14.143)
23. Yan Y, Li X, Zhang C, Lv L, Gao B, Li M. Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natural Alkaloids : A Review. MDPI. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030318>
24. Liu Z hai, Wang W mei, Zhang Z, Sun L, Wu S cheng. Natural Antibacterial and Antivirulence Alkaloids From Macleaya cordata Against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. Front Pharmacol. 2022;13(March):1–11. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.813172>
25. Shamsudin NF, Ahmed QU, Mahmood S, Adnan S, Shah A, Khatib A, et al. Antibacterial Effects of Flavonoids and Their Structure-Activity Relationship Study : A Comparative Interpretation. MDPI. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27041149>
26. Chagas SS, Behrens MD, Moragas-tellis CJ, Penedo GXM, Silva AR. Review Article Flavonols and Flavones as Potential anti-Inflammatory , Antioxidant , and Antibacterial Compounds. Hindawi. 2022;2022. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/9966750>
27. Azeem M, Hanif M, Mahmood K. An insight into anticancer, antioxidant, antimicrobial, antidiabetic and anti-inflammatory effects of quercetin: a review. Polym Bull. 2023;80(1):241–62. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00289-022-04091-8>
28. Anjelina SH. Antibacterial Activity of Ethanolic Extract of Kitolod (Hippobromalongiflora) Leaf Against Staphylococcus aureus and Salmonella typhi. Asian J Pharm Res Dev. 2020;8(1):52–4. DOI: <https://doi.org/10.22270/ajpr.v8i1.660>
29. Kowalewska A, Majewska-smolarek K. Eugenol-Based Polymeric Materials — Antibacterial Activity and Applications. MDPI. 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12111570>
30. Junairiah, Rahmawati RK, Manuhara YSW, Ni'matuzahroh, Pramudya M, Sulistyorini L. Induction And Identification Of Bioactive Compounds From Callus Extract Of Piper Betle L.Var.Nigra. Malaysian J Anal Sci. 2020;24(6):1024–34. DOI: <https://mjas.analis.com.my/mjas/v24>
31. Wijesundara NM, Lee SF, Cheng Z, Davidson R. Carvacrol exhibits rapid bactericidal activity against Streptococcus pyogenes through cell membrane damage. Sci Rep. 2021;1–14. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79713-0>
32. Castoeri YN, Suryadajaja E, Wahjudi M. Air Daun Sirih (Piper betle L .) Tidak Berpotensi Memicu Resistensi Sel Escherichia coli pada Dosis Pemakaian Secara Traditional. Media Pharm Indones. 2022;4(1). DOI: <https://doi.org/10.24123/mpi.v4i1.4706>
33. Sundaram G, Theagarajan R. Effect of piper extract mouthwash as postprocedural rinse on levels of Porphyromonas gingivalis in periodontitis patients. Wolters Kluwer - Medknow. 2021. DOI: [10.4103/iisp.iisp_509_20](https://doi.org/10.4103/iisp.iisp_509_20)
34. Bhardwaj K, Devi A, Mishra R, Rana S. A Review On Anti-Inflammatory Potential Of Piper Betle. World J Pharm Med Res. 2022;8(2):83–90. DOI: [10.17605/OSF.IO/HZMTPT](https://doi.org/10.17605/OSF.IO/HZMTPT)