

ARTIKEL PENELITIAN

UJI DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) TERHADAP BAKTERI *Porphyromonas gingivalis* SEBAGAI TERAPI PENUNJANG PERIODONTITIS KRONIS
(ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST THE LEAF OF RED BETEL EXTRACT (*Piper crocatum*) TO *Porphyromonas gingivalis* AS ADJUNCTIVE THERAPY IN CHRONIC PERIODONTITIS)

Frita Ferlita Shafri Djohan¹, Florence Meliawaty²

¹Bagian Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

²Bagian Bedah Mulut dan Maksilofasial, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Jawa Barat, Indonesia

Email Korespondensi: frita.ferlita@lecture.unjani.ac.id

ABSTRAK

Porphyromonas gingivalis merupakan bakteri patogen dalam penyakit periodontitis kronis. Kandungan senyawa organik daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki efek antibakteri. Ekstrak *Piper crocatum* diharapkan dapat digunakan sebagai terapi penunjang penyakit periodontitis kronis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak *Piper crocatum* melalui uji daya hambat terhadap *Porphyromonas gingivalis*. Prosedur kerja dengan membuat sampel ekstrak etanol 80% daun sirih merah dengan konsentrasi 2,5%; 5%; dan 10% dalam 10 mL DMSO 10%. Kultur biakan bakteri *P. gingivalis* ATCC 33277 di media Lempeng Agar Darah (LAD). Uji daya hambat dengan metode Kirby Bower pada konsentrasi ekstrak 2.5%, 5%, 10% pengulangan sebanyak tiga kali pada LAD berisi bakteri. Hasil uji daya hambat yaitu tidak didapat zona bening pada konsentrasi ekstrak 2.5%, 5%, 10%. Kontrol positif tidak ada dan kemungkinan bakteri terkontaminasi dapat menjadi penyebab zona bening tidak terbentuk. Ekstrak *Piper crocatum* pada konsentrasi 2,5%, 5%, dan 10% tidak memiliki efek terhadap bakteri *P. gingivalis*.

Kata kunci: antibakteri, daun sirih merah, *Porphyromonas gingivalis*

ABSTRACT

Porphyromonas gingivalis is a pathogenic bacteria contribute to chronic periodontitis disease. Antibacterial effect found from organic compound of Red betel leaf. The extract of red betel leaf expects as adjunctive therapy to chronic periodontitis. This research purposing to find out antimicrobial effects from the leaf of Red Betel extract to *Porphyromonas gingivalis* through bacterial inhibitory test. Research procedures are preparation of 80% etanol extract of red betel leaf in 10 ml DMSO 10% with consentration 2.5%, 5%, and 10%.

Porphyromonas gingivalis ATCC 33277 cultured on blood agar. Kirby Bower was a methode to bacterial inhibitory test with consentration 2.5%, 5%, and 10% and repetition three times in blood agar consist of bacteria. The result of bacteria inhibitory test was had none clear zone in consentration 2.5%, 5%, and 10%. There wasn't positive control and might be bacteria contamination caused clear zone wasn't formed. Leaf extract of red betel with concentration 2.5%, 5%, and 10% did not have effectiveness to the growth of *P. gingivalis*.

Keywords: antibacterial, piper crocatum, Porphyromonas gingivalis

PENDAHULUAN

Gusi merupakan tempat sistem imun merespons plak yang terbentuk pada permukaan gigi. Penyakit pada gusi dan jaringan pendukung lain yaitu periodontitis yang merupakan keberlanjutan dari gingivitis yang dipengaruhi oleh sistem imun dan respons inflamasi. Periodontitis mengakibatkan kerusakan struktur pendukung gigi termasuk ligamen periodontal, tulang, dan jaringan lunak.^{1,2} Salah satu bakteri patogen yang berkontribusi dalam kerusakan jaringan periodontal adalah *Porphyromonas gingivalis*. Menurut Grossi *et al.* *P. gingivalis* merupakan spesies dengan ciri-ciri *nonmotile*, *asaccharolytic*, anaerob obligat dengan bentuk kokobasilus yang hidup dalam koloni. Spesies ini memproduksi banyak enzim yang hasil metabolismenya secara aktif mampu melawan protein-protein dan memiliki mekanisme untuk bertahan dari sel-sel pertahanan tubuh inang.^{3,4} Terapi *gold standard* periodontitis yaitu dengan skeling dan *rootplaning*.² Selain itu, terapi penunjang juga dapat dilakukan untuk

mengoptimalkan hasil dari perawatan penyakit periodontal. Terapi penunjang dari bahan-bahan herbal ada yang efektivitasnya sudah teruji dan ada juga yang masih perlu diuji secara *in vitro*.

Daun sirih merah atau *Piper crocatum* adalah tanaman merambat yang termasuk dalam daftar tanaman obat tradisional. Sirih merupakan tanaman yang berasal dari Peru, lalu menyebar ke seluruh wilayah termasuk Indonesia. Bentuk daun berwarna hijau gelap dengan bagian tulang daun berwarna perak, dan di sisi sebaliknya berwarna ungu. Daunnya mengkilap dengan meruncing di ujung daun serta tepi daun merata. Panjang daun antara 9-12 cm dan lebarnya 4-5 cm. Batang berbentuk bulat, berwarna hijau keunguan dan berbuku-buku.^{5,6} Dalam dunia kedokteran gigi, *Piper crocatum* secara empiris mampu mengatasi sakit gigi, namun memerlukan penelitian lebih lanjut. Penelitian *in vitro*, berkaitan dengan efek antibakteri, kandungan senyawa-senyawa organik pada *Piper crocatum* yaitu flavonoid dan tanin yang terbukti memiliki aktivasi antibakteri.⁷ Namun, pada *P.*

gingivalis belum diketahui efektivitasnya. Maka dari itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak daun sirih merah terhadap bakteri *P. gingivalis* melalui uji daya hambat bakteri.

BAHAN DAN METODE

Pembuatan Gel Ekstrak *Piper Crocatum*

Daun sirih yang digunakan, terlebih dahulu disortasi berdasarkan warna dan kesegaran daunnya. Daun sirih sortasi, diambil 100 gram dan dikecilkan ukurannya, kemudian direndam dengan pelarut etanol 80% sebanyak 500 ml (perbandingan daun: pelarut = 1:5) untuk mengetahui kandungan fitokimianya.

Selanjutnya senyawa aktif daun sirih diekstraksi dengan cara digesti menggunakan pemanasan gelombang mikro (*microwave*) pada suhu 40°C dengan variasi waktu 1; 1,5; 2; 2,5; 3 menit. Pada tahap ini dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Ekstrak cair selanjutnya disaring dan dipisahkan, dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C selama 60 menit. Pembuatan sampel ekstrak etanol

80% daun sirih merah dengan konsentrasi 2,5%; 5%; dan 10% dalam 10 mL pelarut DMSO 10%. Ekstrak etanol daun sirih merah selanjutnya dikarakterisasi dengan menggunakan metode tabung untuk mengetahui kandungan fitokimia yang terdapat di dalamnya (Tabel 1).⁸

Pembiakan bakteri *P. gingivalis*

Persiapan media pembiakan bakteri dengan pembuatan LAD (Lempeng Agar Darah) 5%. Sebanyak 20 gram *blood base* menggunakan darah domba ditimbang dan dilarutkan dalam akuades sebanyak 500 ml. Media dididihkan sampai larut, selanjutnya dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf 121°C selama 15 menit. Setelah kondisi steril, media didinginkan sampai suhu 40°C. Penambahan darah sebanyak 25 ml (dalam 500 ml) lalu dihomogenkan, selanjutnya dituang ke cawan petri steril dan ditunggu hingga padat. Lalu bakteri *P. gingivalis* ATCC 33277 digoreskan di permukaan LAD dengan metode kultur. Media LAD disimpan pada suhu 2°C – 8°C (Gambar 1).



Gambar 1 Penanaman bakteri *P. Gingivalis* ATCC 33277 pada LAD.

Penanaman Bakteri *P. gingivalis* ATCC 33277 dari *kwick stick* dengan cara kultur pada media LAD sebanyak 5 pelat. Lalu diinkubasi pada suhu 35°C selama 2 x 24 jam. Perlakuan menggunakan *anaerobic jar* dengan anaerogen dan indikator masing-masing dua buah. Selanjutnya dimasukkan ke dalam inkubator anaerob dengan kadar CO₂ 8% (Gambar 2).

Pengecekan gram dilakukan dengan membuat sediaan oles pada gelas objek kemudian dikeringkan dan difiksasi. Sediaan dilakukan pewarnaan gram dan dikeringkan. Pemeriksaan di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x, hasilnya ditemukan bakteri gram negatif batang pendek.



Gambar 2 Kultur Bakteri *P. gingivalis* pada LAD diinkubasi pada *Anaerobic Jar*.

Uji kekeruhan. Kekeruhan 0.5 Mac Farland dibuat dengan mencampurkan BaCl₂ 1% (ml) dan H₂SO₄ 1% (ml). Lalu melarutkan koloni *P. gingivalis* ATCC 33277 yang tumbuh pada media LAD ke dalam NaCl fisiologis 0.9%. Selanjutnya disesuaikan dengan kekeruhan Mac Farland.

Uji Daya Hambat Bakteri

Uji daya hambat dengan metode Kirby bower. Mempersiapkan konsentrasi ekstrak 2.5%, 5%, dan 10%. Cakram kosong dicelupkan pada masing-masing ekstrak. Kultur bakteri *P. gingivalis* pada media LAD 5% dikontakkan pada cakram yang telah berisi konsentrasi ekstrak dan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Kontrol negatif menggunakan akuades. Media uji dimasukkan ke *anaerobic jar*, dengan menambahkan dua katalisator dan dua indikator, segera ditutup agar suasana anaerob tercapai. Inkubasi dalam *anaerobic jar* pada suhu 37°C dengan kadar CO₂ 8% selama 2 x 24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji fitokimia ekstrak *Piper crocatum*

Klasifikasi sirih merah menurut Backer (1963) berasal dari kingdom *Plantae*, divisi *Manoliophyta*, kelas *Magnoliopsida*, Ordo *Piperales*, Familia *Piperaceae*, Genus *Piper*, dan spesies *Piper crocatum* Ruiz & Pav. Tanaman sirih merah tumbuh

subur di tempat yang teduh, berhawa sejuk dengan sinar matahari 60-75% juga dapat tumbuh subur di daerah pegunungan.⁹

Sebagai tanaman obat, sirih merah dapat digunakan dalam bentuk segar, simplisia maupun kapsul. Secara empiris, tanaman ini dapat menyembuhkan bermacam jenis penyakit seperti diabetes melitus, hepatitis, batu ginjal, menurunkan kadar kolesterol, mencegah stroke, asam urat, hipertensi, radang prostat, radang liver, radang mata, keputihan, nyeri sendi, dan memperhalus.¹⁰ Efek farmakologi yang terkandung di dalamnya bermacam-macam, yaitu antiinflamasi, antimikroba dan antifungi, antihiperqlikemik, antiproliferasi, antioksidan, tyrosinase inhibitor, antikanker.^{11,12}

Hasil uji fitokimia ekstrak *Piper crocatum* pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1 yang menunjukkan adanya golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid dan steroid, dan polifenol. Sejalan dengan hasil skrining Reveny (2011) dan Moerfiah (2011) kandungan kimia menunjukkan bahwa daun sirih merah mengandung senyawa kimia golongan flavonoid, alkaloid, tanin-polifenol, steroid-terpenoid, dan saponin.^{11,13,14}

Alkaloid didapat dari ekstrak daun sirih merah dari hasil ekstrak dengan pereaksi Meyer yang menghasilkan warna akhir

kuning. Memiliki sifat basa, membuat alkaloid mudah terpisahkan dari komponen lainnya pada ekstrak.¹⁵ Akimeya *et al* (2001) menjelaskan bahwa alkaloid dapat menjadi agen antibakteri⁹ dengan

membunuh sel-sel bakteri, mengganggu susunan peptidoglikan pada sel bakteri dan mencegah pembentukan dinding sel pada bakteri sehingga bakteri tersebut mati.¹⁶

Tabel 1 Hasil Uji Fitokimia ekstrak daun sirih merah

| No | Golongan Senyawa | Hasil Penapisan Fitokimia | |
|----|--------------------------|---------------------------|---------|
| | | Simplisia | Ekstrak |
| 1 | Alkaloid | (+) | (+) |
| 2 | Flavonoid | (+) | (+) |
| 3 | Saponin | (+) | (+) |
| 4 | Tanin | (+) | (+) |
| 5 | Mono dan Seskuiterpenoid | (-) | (-) |
| 6 | Triterpenoid dan steroid | (+) | (+) |
| 7 | Polifenol | (+) | (+) |
| 8 | Kuinon | (-) | (-) |

Keterangan: (+) = ada senyawa, (-) = tidak ada senyawa.
Dikutip dari : dokumentasi penelitian

Flavonoid adalah hasil ekstrak daun sirih merah yang dicampur dengan amil alkohol, logam Mg yang larut dalam HCl 2N menghasilkan larutan dan endapan berwarna *orange*.¹⁷ Struktur flavon dan flavanon memiliki aktivitas antioksidan yang dibentuk dari kelompok hidroksil.⁹ Flavonoid juga berfungsi sebagai antibakteri dengan terbukti mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dalam konsentrasi 0,1% dalam ekstrak propolis *Trigonas sp*.¹⁸

Senyawa Saponin dari ekstrak daun sirih merah didapat dari pencampuran ekstrak dengan air panas hingga menimbulkan busa yang bertahan hingga 30 detik setelah ditambahkan HCl (dan tidak hilang).¹³ Tanin dan saponin

memiliki fungsi melawan hiperkolesterolemia yang bersifat antibiotik dan anti bakteri.⁹ Senyawa Tanin dari ekstrak daun sirih merah didapat dari uji ekstrak dengan metanol 90% dan larutan agar-agar.¹⁷ Didapat endapan berwarna coklat yang menunjukkan adanya senyawa tanin pada ekstrak tersebut².

Senyawa steroid dan triterpenoid dari ekstrak daun sirih merah didapat dari pencampuran ekstrak dengan reagen eter, Liebermann-Bouchard. Hasil filtrasi yang diupkan menghasilkan warna hijau atau biru yang menandakan adanya steroid. Sedangkan warna merah atau ungu menunjukkan adanya senyawa triterpenoid.¹⁹ Senyawa polifenol dari

ekstrak daun sirih didapat dari pencampuran ekstrak dengan reagen Akuades, FeCl₃. Polifenol yang merupakan susunan antar senyawa fenol memiliki fungsi sebagai antibakteri dengan cara koagulasi protein dan denaturasi (Cowen, 1999).²⁰ Selain itu menurut Rachmawati dan Ciptati, etanol juga memiliki sifat antioksidan dengan harga IC₅₀ sebesar 3,61 ppm.¹⁴

Peremajaan Bakteri Uji

Penanaman Bakteri *P. gingivalis* ATCC 33277 dari *kwick stick* dengan cara kultur



Gambar 3 Hasil kultur LAD hemolisis darah sempurna.

Pengecekan gram dilakukan dengan membuat sediaan oles pada gelas objek kemudian dikeringkan dan difiksasi. Sediaan dilakukan pewarnaan gram dan dikeringkan. Pemeriksaan di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x, hasilnya ditemukan bakteri gram negatif batang pendek. Spesies *P. gingivalis* memiliki bentuk *nonmotile*, *asaccharolytic*, bersifat obligat anaerob, dalam bentuk koloni kokobasilus (Gambar 4). Pada media agar, koloni ini tumbuh

pada media LAD sebanyak 5 pelat. Lalu diinkubasi pada suhu 35°C selama 2 x 24 jam. Perlakuan menggunakan *anaerobic jar* dengan anaerogen dan indikator masing-masing dua buah. Selanjutnya dimasukkan ke dalam inkubator anaerob dengan kadar CO₂ 8%. Pembacaan hasil kultur terdapat pertumbuhan pada media LAD berupa koloni berwarna kecokelatan dengan hemolisis darah sempurna (beta hemolisis) (Gambar 3).

awalnya berwarna putih hingga krem, namun setelah 4-8 hari warnanya berubah menjadi lebih gelap merah hingga kehitaman.^{21,22}

Pada rongga mulut, gram negatif anaerobik *P. gingivalis* ditemui dalam kolonisasi biofilm subgingiva yang berhubungan pada penyakit periodontal, termasuk periodontitis dan peri-implantitis. *P. gingivalis* yang berkoloni di dalam jaringan memiliki sifat patogen yang virulensinya dapat merusak dan

mengganggu sistem pertahanan inang.¹² Faktor virulensi bakteri ini pada *fimbriae*, protein-protein *cysteine*, *hemagglutinin*, lipopolisakarida yang berpotensi patogen saat berinteraksi dengan sel inang.^{22,23}

Kekeruhan Mac Farland terbuat dari campuran BaCl_2 1% (ml) dengan H_2SO_4

1% (ml) dengan cara melarutkan koloni *P. gingivalis* ATCC 33277 yang tumbuh pada media LAD ke dalam NaCl fisiologis 0.9%.



Gambar 4 Bakteri *Porphyromonas Gingivalis* dalam foto mikroskop pembesaran 1000x.



Gambar 5 Uji Kekeruhan. (A) tabung berisi suspensi bakteri yaitu Koloni *P. gingivalis* dan NaCl 0.9%, (B) Tabung Berisi 0.9% NaCl.

Tabung A adalah suspensi bakteri yaitu koloni *P. gingivalis* dan NaCl 0.9%. Kontrol negatif pada tabung B adalah 0.9% NaCl. Tabung A lebih keruh dari pada tabung B, dengan tingkat kekeruhan 0,5 Mac Farland (Gambar 5). Hasil uji kekeruhan bakteri *P. gingivalis* yaitu

terdapat kepadatan bakteri 10^8 bakteri/ml pada tabung A.

Uji Daya Hambat Bakteri

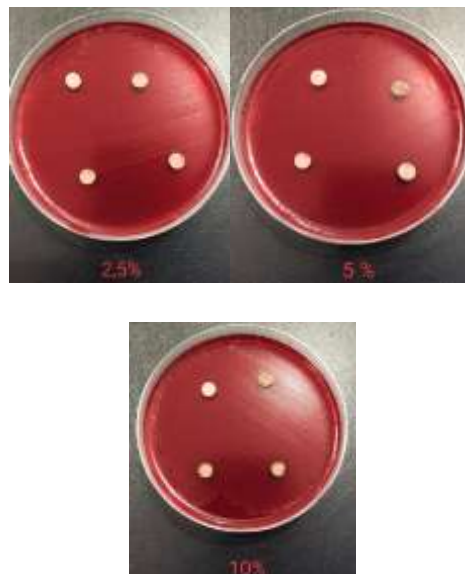
Uji daya hambat dengan metode Kirby Bower. Penggolongan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan melihat zona hambat menurut Davis dan Stout

(1971) dibagi menjadi: (1) tidak ada zona hambat, (2) lemah yaitu zona hambat kurang dari 5 mm, (3) sedang yaitu zona hambat 5-10 mm, (4) kuat yaitu zona hambat 11-20 mm, (5) sangat kuat yaitu zona hambat 21-30 mm. Kadar Hambat Minimal (KHM) didapat dengan mengukur diameter zona hambatnya dengan menggunakan mistar (milimeter).²⁴

Hasil uji daya hambat ekstrak terhadap bakteri *P. gingivalis* dengan memeriksa zona bening pada agar dari ketiga konsentrasi didapat 0 mm. Sehingga disimpulkan bahwa ekstrak daun sirih merah tidak memiliki daya hambat

terhadap *P. gingivalis* pada konsentrasi 2.5%, 5%, dan 10% (Gambar 6).

Penelitian Lestari dan Pujiastuti (2015) menunjukkan zona hambat ekstrak daun sirih merah terhadap *P. gingivalis* memiliki rata-rata diameter 10,34 mm.²⁵ Penelitian Pujiastuti, dkk (2013) menjelaskan jika dibandingkan antara ekstrak daun sirih merah dan ekstrak daun sirih hijau terhadap *P. gingivalis*, zona hambat yang terbesar didapat dari uji ekstrak daun sirih hijau dengan rata-rata diameter zona hambat 22,5613 mm dan standar deviasi 2,80705.



Gambar 6 Uji daya hambat ekstrak sirih merah terhadap *P. gingivalis* 2,5%, 5%, dan 10%.

Pada penelitian ini KHM dari ekstrak *Piper crocatum* terhadap bakteri *P. gingivalis* hasilnya adalah tidak memiliki zona hambat. Kontrol positif antibiotik untuk bakteri spektrum gram negatif tidak

dilakukan, Kontrol positif ini diharapkan dapat membentuk zona bening. Hal tersebut sebagai tolak ukur terhadap kelompok uji. Kontrol positif apabila terdapat zona bening, berfungsi juga untuk

mengklarifikasi mengenai bakteri selama penelitian dalam kondisi laik uji. Berikutnya, alasan tidak terbentuknya zona bening pada kelompok uji, dapat disebabkan karena kualitas bakteri *P. gingivalis* ATCC 33277 yang kurang baik. Peremajaan bakteri pada penelitian telah dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali sesuai dengan prosedur pembiakan bakteri *P. gingivalis* dan hanya satu peremajaan yang berhasil.

Konsentrasi ekstrak 2.5%, 5%, dan 10% pada penelitian juga dapat mempengaruhi efektivitas terhadap bakteri *P. gingivalis*. Konsentrasi ekstrak dengan prosentasi kecil, memiliki kemungkinan tidak memiliki efek antibakteri. Ekstrak daun sirih merah dengan konsentrasi 100% memiliki rata-rata diameter zona hambat 22,5613 mm.²⁵ Pada konsentrasi 10% ekstrak *Piper crocatum* efektif menghambat pertumbuhan bakteri *P. gingivalis*.¹⁶ Keterbatasan peneliti juga dapat menjadi faktor penyebab penelitian uji daya hambat ekstrak *Piper crocatum* terhadap bakteri *P. gingivalis* tidak mencapai terbentuknya zona hambat.

KESIMPULAN

Ekstrak *Piper crocatum* dengan konsentrasi 2.5%, 5%, dan 10% tidak memiliki daya antibakteri terhadap bakteri *P. gingivalis*. Uji KHM tidak terdapat zona

hambat pada kelompok uji dan kelompok kontrol negatif.

KONFLIK KEPENTINGAN

Pernyataan penulis bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam artikel ilmiah yang ditulis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada LPPM selaku pemberi dana dan sponsor, Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Unjani, Laboratorium Farmasi, Fakultas Farmasi Unjani yang telah membantu penelitian dan sarana penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rateitschak K, Wolf H, Hassel T. Periodontitis. In: Color Atlas of Dental Medicine Periodontology. 3rd ed. Stuttgart: Thieme; 2011. p. 95–8.
2. Newman M, Takei H, Klokkevold P, FACD, Carranza F. Newman and Carranza's Clinical Periodontology Thirteenth Edition. J Chem Inf Model. 2017;53(9):1689–99.
3. Fiorillo L, Cervino G, Laino L, D'Amico C, Mauceri R, Tozum TF, et al. Porphyromonas gingivalis, Periodontal and Systemic Implications: A Systematic Review. Dent J [Internet]. 2019 Dec 11;7(4):114. Available from: <https://www.mdpi.com/2304->

- 6767/7/4/114.DOI:
10.3390/dj7040114
4. Craig RG, Kamer AR. A Clinician's Guide to Systemic Effects of Periodontal Diseases [Internet]. Craig RG, Kamer AR, editors. A Clinician's Guide to Systemic Effects of Periodontal Diseases. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2016. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-662-49699-2>. DOI: 10.1007/978-3-662-49699-2
 5. Suri MA, Azizah Z, Asra R. A Review: Traditional Use, Phytochemical and Pharmacological Review of Red Betel Leaves (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav). *Asian J Pharm Res Dev* [Internet]. 2021 Feb 15;9(1):159–63. Available from: <https://ajprd.com/index.php/journal/article/view/926>. DOI: 10.22270/ajprd.v9i1.926
 6. Kanifah U, Lutfi M, Susilo B, Keteknikan J, Fakultas P, Pertanian T, et al. Karakterisasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan metode ekstraksi non-thermal berbantuan ultrasonik (kajian perbandingan jenis pelarut dan lama ekstraksi). Vol. 3, *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. 2015.
 7. Lavu V, Venkatesan V, Rao S. The epigenetic paradigm in periodontitis pathogenesis. *J Indian Soc Periodontol* [Internet]. 2015;19(2):142–9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4439621/>. DOI: 10.4102F0972-124X.145784
 8. Januarti IB, Wijayanti R, Wahyuningsih S, Nisa Z. Potensi Ekstrak Terpurifikasi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Sebagai Antioksidan Dan Antibakteri. *JPSCR J Pharm Sci Clin Res* [Internet]. 2019 Nov 1;4(2):60. Available from: <https://jurnal.uns.ac.id/jpscr/article/view/27206>. DOI: 10.20961/jpscr.v4i2.27206
 9. Wulandari W. Review: Black Pepper (*Piper Nigrum* L.) Botanical Aspects, Chemical Content, Pharmacological Activities. *Int J Pharm Sci Med* [Internet]. 2021 Jan 21;6(1):83–91. Available from: <https://ijpsm.com/Publish/Jan2021/V6I109.pdf>. DOI: 10.47760/ijpsm.2021.v06i01.007
 10. Dewi SR, Nugroho WA, Hendrawan Y, Nisa GK. Karakterisasi ekstrak etanolil daun sirih merah (*piper crocatum*). *J Chem Inf Model*. 2019;53(9):1689–99. ISBN: 9788578110796
 11. Moerfiah, Supomo FDS. Pengaruh ekstrak daun sirih merah (*Piper cf.*

- fragile Benth.) terhadap bakteri penyebab sakit gigi. *Ekologia*. 2011;11(1):30–5.
12. Zuhrotun RKB. Potensi Khasiat Obat Tanaman Marga Piper : Piper nigrumL., Piper retrofractum Vahl., Piper betle Linn., Piper cubeba L., dan Piper crocatum Ruiz & Pav. *J Farmaka*. 2018;16(3):204–9.
 13. Reveny J. Antimicrobial Activity of the Extract and Fraction of Red Betel Leaf (*Piper betle* Linn.). *J ILMU DASAR*. 2011;12(1):6–12.
 14. Parfati N, Windono T. *Media Pharinaceutica Indonesiana*. *Media Pharinaceutica Indonesiana*. 2016;1(2):106–15. ArXiv ID: 2527-9017
 15. Tawakkal, Idrus I, Kurniawan F. Isolasi senyawa alkaloid ekstrak etanol daun sirih popar (*Ficus septica* BURM.F) menggunakan spektrofotometer infra merah. *J Akrab Juara*. 2021;6(1):54–62.
 16. Herryawan H, Sabirin IPR. The effectiveness of red betel leaf (*Piper crocatum*) extract against periodontal pathogens. *Bali Med J* [Internet]. 2018 Oct 3;7(3). Available from: <https://www.balimedicaljournal.org/index.php/bmj/article/view/1173>. DOI: 10.15562/bmj.v7i3.1173
 17. Beon AS, Geovani K, Leki B, Program), Sarjana S, Stikes F, et al. Identifikasi Komponen Fitokimia dalam Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*).
 18. Sabir A. Aktivitas antibakteri flavonoid propolis *Trigona* sp terhadap bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro) (In vitro antibacterial activity of flavonoids *Trigona* sp propolis against *Streptococcus mutans*). *Dent J (Majalah Kedokt Gigi)* [Internet]. 2005 Sep 1;38(3):135. Available from: <http://e-journal.unair.ac.id/index.php/MKG/article/view/1132>. DOI: 10.20473/j.djmk.v38.i3.p135-141
 19. Puspita PJ, Safithri M, Sugiharti NP. Antibacterial Activities of Sirih Merah (*Piper crocatum*) Leaf Extracts. *Curr Biochem*. 2019;5(3):1–10. DOI: 10.29244/cb.5.3.1-10
 20. Afiff F., Amilah S. Efektivitas ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dan daun sirih merah (*Piper crocatum* Riuz & Pav) terhadap zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *STIGMA J Mat dan Ilmu Pengetah Alam Unipa*. 2017;10(01):12–6. DOI: 10.36456/stigma.vol10.no1.a635
 21. Holt SC, Kesavalu L, Walker S, Genco CA. Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000* [Internet]. 1999 Jun;20(1):168–238. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.>

- 1111/j.1600-0757.1999.tb00162.x
22. Enersen M, Nakano K, Amano A. Porphyromonas gingivalis fimbriae. J Oral Microbiol. 2013;5(1). DOI: 10.3402/jom.v5i0.20265
23. Septiwidyati TR, Bachtiar EW. The Role of Porphyromonas gingivalis Virulence Factors in Periodontitis Immunopathogenesis. Dentika Dent J [Internet]. 2020 Jul 7;23(1):6–12. Available from: <https://talenta.usu.ac.id/dentika/article/view/3421>. DOI: 10.32734/dentika.v23i1.3421
24. Alibasyah ZM, Ningsih DS, Ananda SF. Daya Hambat Minuman Probiotik Yoghurt Susu Sapi Terhadap Porphyromonas Gingivalis Secara In Vitro. J Syiah Kuala Dent Soc. 2018;3(2):65–75. ISSN: 2502-0412
25. Dwianggraini R, Pujiastuti W, Ermawati T. Perbedaan Efektifitas Antibakteri Antara Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Porphyromonas gingivalis. STOMATOGNATIC- J Kedokt Gigi [Internet]. 2015;10(1):1–4. Available from: <https://core.ac.uk/download/pdf/297946259.pdf>