

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH TANAH TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *PORPHYROMONAS GINGIVALIS*

Ranya Olivia^{1*}, Cicih Bhakti Purnamasari², Alhawaris³

¹ Program Studi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman

² Laboratorium Prodi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman

³ Laboratorium Prodi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Mulawarman

*Email: ranyaonyaolivia@gmail.com

ABSTRACT

Background: *Porphyromonas gingivalis* plays an important role in biofilm virulence and inflammatory response, and being called the "keystone" of the periodontal pathogen. Sirih tanah leaves (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter) contains phytochemical compounds that have antibacterial effects. **Objective:** To determine antibacterial activity of sirih tanah (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter) leaves extract on the growth of *Porphyromonas gingivalis* bacteria. **Method:** The Kirby Bauer disc diffusion method with a post test only control group research design. Sirih tanah (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter) leaves extract with concentrations of 10%, 20%, 30%, 40%, and 50% was tested against *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 on Blood Agar Plate. Then, repeated the test 5 times. **Result:** The results showed there were no inhibition zone was formed around the disc of sirih tanah leaves ethanol extract (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter) in all concentrations. **Conclusion:** sirih tanah leaves ethanol extract (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter) does not have antibacterial activity on the growth of *Porphyromonas gingivalis*, by the absence of an inhibitory zone around the disc.

Keywords: Antibacterial, *Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter leaves, Disc diffusion Kirby Bauer, *Porphyromonas gingivalis*.

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal terdiri dari gingivitis dan periodontitis, merupakan penyakit yang paling sering dialami oleh manusia (Yan, *et al.*, 2020). Prevalensi penyakit periodontal di seluruh dunia mencapai 50% (Nazir, *et al.*, 2020). Sedangkan penyakit periodontal di Indonesia juga menjadi salah satu masalah kesehatan gigi dan mulut yang patut diperhatikan dikarenakan prevalensi pada semua kelompok umur dapat mencapai angka 96,58% (Rohmawati, *et al.*, 2019). Di Kalimantan Timur penyakit periodontal dengan tanda-tanda inflamasi pada gingiva mencapai 15,3% dan Samarinda menempati urutan tertinggi ketiga dengan persentase 17,12% (Riskesdas, 2018). *The Global Burden of Disease Study 2017* menunjukkan prevalensi periodontitis sebanyak 796 juta orang di seluruh dunia (Bernabe, *et al.*, 2020). Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2018, persentase kasus periodontitis di Indonesia sebesar 74,1%.

Penyakit periodontal disebabkan oleh interaksi yang kompleks antara biofilm dan sistem imun jaringan sebagai respon terhadap adanya bakteri (Carranza, *et al.*, 2015). *Porphyromonas gingivalis* memiliki peranan penting dalam virulensi biofilm dan respon

inflamasi, sehingga *Porphyromonas gingivalis* disebut sebagai “keystone” patogen periodontal (Bao, *et al.*, 2014; Carranza, *et al.*, 2015). *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri gram negatif anaerob penyebab utama terjadinya periodontitis (Carranza, *et al.*, 2015; Alibasyah, *et al.*, 2016; Tamboto *et al.*, 2017). Prevalensi *Porphyromonas gingivalis* pada individu yang sehat hanya sebesar 10.6%. Sedangkan pada pasien periodontitis, prevalensi *Porphyromonas gingivalis* mencapai 59.5%. Hal tersebut menjadikan *Porphyromonas gingivalis* sebagai bakteri yang memiliki perbedaan signifikansi tertinggi di antara bakteri patogen lainnya (Carranza, *et al.*, 2015). Karakteristik tersebut mendukung *Porphyromonas gingivalis* menjadi bakteri utama periodontitis.

Terdapat 80% dari populasi seluruh dunia yang masih menggunakan obat herbal sebagai sumber utama perawatan kesehatan, terutama pada negara berkembang (Msomi, *et al.*, 2018). Sirih tanah (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter) merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai obat. Sirih tanah termasuk famili *Piperaceae* yang tersebar luas dan umum digunakan di daerah tropis dan subtropis seluruh dunia sebagai makanan, dan obat tradisional (Rahman *et al.*, 2016; Rahman *et al.*, 2016; Sanusi *et al.*, 2017). Terdapat berbagai senyawa fitokimia pada daun sirih tanah yaitu saponin, flavonoid, polifenol dan minyak atsiri (Gholib *et al.*, 2015). Menurut Sanusi (2017), daun sirih tanah mengandung Vitamin C, Vitamin E, karoten, xantofil, tanin, dan fenolik. Saad (2014), menyatakan terdapat aktivitas antibakteri sirih tanah terhadap bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian mengenai aktivitas antibakteri daun sirih tanah (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter) terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* belum ditemukan.

METODE PENELITIAN

1. Alat dan Bahan

Alat tulis, timbangan, peniris, lemari pengering, *laboratory bottle*, *rotary vacuum evaporator*, toples kaca, oven, mikropipet, *petridish*, jarum ose, pinset, bunsen, rak, tabung reaksi, spektrofometer, inkubator, *autoclave*, gelas ukur, *desicator*, *cotton bud* steril, *Vortex*, *anaerobic jar*, spidol, alat tulis dan jangka sorong. *Blood Agar Plate* (BAP), kontrol positif menggunakan *clorhexidine gluconate* 0,2%, dan kontrol negatif menggunakan *aquades*, serta etanol 96%, ekstrak daun sirih tanah (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter), bakteri *Porphyromonas gingivalis*, kertas saring Whatman no.42, *NaCl* steril, *disc*, dan alat perlindungan diri (APD).

2. Determinasi Tanaman

Bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman yang akan dilakukan penelitian. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Anatomi dan Sistemika Tumbuhan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mulawarman. Hasil determinasi menunjukkan tanaman yang dilakukan identifikasi benar tanaman dengan *species Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter.

3. Sterilisasi alat

Mencuci alat yang akan digunakan hingga bersih kemudian dilakukan pengeringan dan dibalut menggunakan kertas. Dilakukan sterilisasi pada *autoclave* dengan suhu 121°C dan tekanan 15 Psi selama 15 menit. Alat yang tidak dapat disterilkan dengan *autoclave* disterilkan menggunakan bahan kimia yakni etanol 96%.

4. Pembuatan Ekstrak

Metode yang digunakan dalam mengekstrak daun sirih tanah (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter) adalah metode maserasi. Daun sirih tanah (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter) dicuci lalu ditiriskan dan dikeringkan menggunakan lemari pengering pada suhu 52°C selama 4 hari. Setelah itu daun diremas dan dihaluskan sampai menjadi serbuk. Kemudian dimaserasi dengan pelarut 2 liter etanol 96% dan diaduk selama 5 menit. Setelah 4 hari proses maserasi dihentikan, dan dilanjutkan dengan penyaringan menggunakan kertas saring Whatman no. 42. Penyaringan dilakukan untuk memisahkan antara ampas dan filtrat daun. Hasil saringan kemudian diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*, sehingga didapatkan ekstrak daun sirih tanah yang kental.

5. Pembuatan Media

Pada penelitian ini media yang digunakan adalah media *Blood Agar Plate* (BAP). Sebanyak 40 g *blood agar base* dicampur dengan 950 ml *aquadest*, kemudian diaduk hingga homogen. Selanjutnya disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Tuangkan *blood agar base* dan hangatkan pada suhu ruangan. Tambahkan 5-7% atau 50 ml *sheep blood* dan homogenkan. Selanjutnya dituang ke dalam *petridish* yang telah disterilisasi.

6. Pembuatan Suspensi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

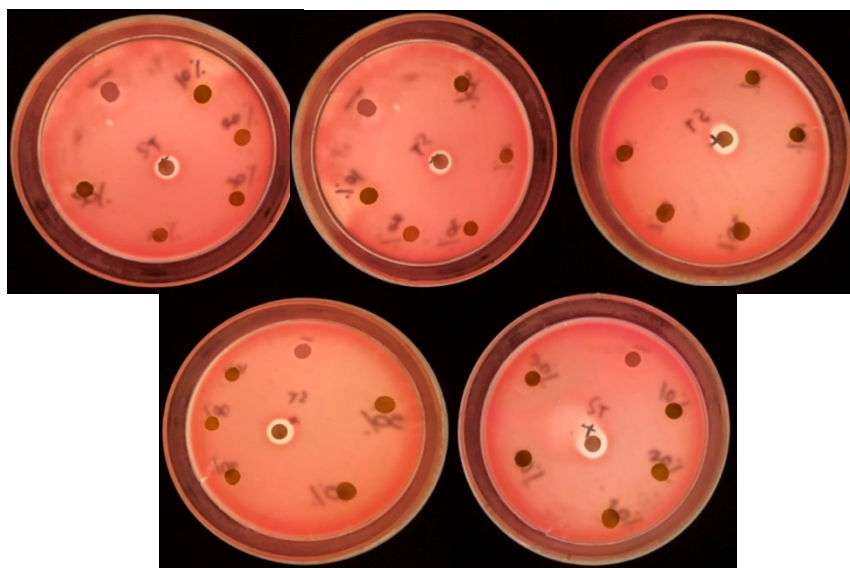
Suspensi bakteri dibuat dengan cara menyiapkan 5 ml *NaCl* steril kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1-2 ose bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Selanjutnya homogenkan dengan menggunakan *Vortex*, dan diukur tingkat kekeruhannya menggunakan spektrofometer hingga didapatkan tingkat kekeruhan 0,5 *McFarland*. Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* ditandai dengan adanya kekeruhan pada tabung reaksi.

7. Teknik *Disc Diffusion Kirby Bauer*

Pada bagian bawah masing-masing *petridish* media *Blood Agar Plate* (BAP) diberi tanda menggunakan spidol bertuliskan ST untuk ekstrak sirih tanah, tanda positif untuk *clorhexidine gluconate* 0,2%, tanda negatif untuk *aquadest*. *Disc* atau kertas cakram berdiameter 6 mm dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%, *clorhexidine gluconate* 0,2% dan *aquadest* ditempatkan pada permukaan media sesuai dengan posisi yang telah ditentukan. Pengulangan setiap perlakuan dilakukan sebanyak 5 kali. *Petridish* dimasukkan ke dalam *anaerobic jar*, dan dilakukan tahap inkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Pengukuran diameter zona hambat pada penelitian ini menggunakan jangka sorong dan dinyatakan dalam satuan milimeter.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian dilakukan menggunakan lima konsentrasi ekstrak etanol daun sirih tanah (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter) yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%, kontrol positif dengan *clorhexidine gluconate* 0,2% dan kontrol negatif menggunakan *aquadest* dengan masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak lima kali.



Gambar 1. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Tanah (*Piper sarmentosum* Roxb. ex Hunter) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan Lima Kali Pengulangan

Gambar 1 menunjukkan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirih tanah (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter) terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan pengulangan sebanyak lima kali dan setelah 24 jam inkubasi. Tidak adanya zona bening disekitar *disc* pada tiap konsentrasi uji dan kontrol negatif. Sedangkan pada kontrol positif yaitu *clorhexidine gluconate* 0,2%, menunjukkan terbentuknya zona bening disekitar *disc*.

Tabel 1. Hasil Zona Hambat Pertumbuhan Ekstrak Etanol Daun Sirih Tanah (*Piper sarmentosum* Roxb. ex Hunter) terhadap Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Konsentrasi %	Pengulangan					Mean (mm)
	I	II	III	IV	V	
10%	-	-	-	-	-	-
20%	-	-	-	-	-	-
30%	-	-	-	-	-	-
40%	-	-	-	-	-	-
50%	-	-	-	-	-	-
<i>clorhexidine gluconate</i> 0,2%	14,45	9,3	11,3	10,5	11,75	11,46
<i>aquadest</i>	-	-	-	-	-	-

Tabel 1 menunjukkan tiap konsentrasi uji ekstrak etanol daun sirih tanah (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter) yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% tidak terbentuk zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan lima kali pengulangan. *Clorhexidine gluconate* 0,2% memiliki diameter zona hambat sebesar 14,45 mm, 9,3 mm, 11,3 mm, 10,5 mm, dan 11,75 mm, dengan rata-rata diameter zona hambat 11,46 mm. Sedangkan pada *aquadest* tidak terbentuk zona hambat.

Data hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih tanah (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* dengan metode *disc diffusion Kirby Bauer*. Hasil penelitian ini ditunjukkan dengan tidak adanya daerah bening atau diameter zona hambat pada tiap konsentrasi uji yang digunakan yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%. Daerah bening disekitar *disc* merupakan pengukuran daya hambat senyawa antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri (Putri, *et al.*, 2017).

Kemampuan antibakteri berkaitan dengan metabolit sekunder yang terdapat pada daun sirih tanah (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter). Daya hambat pertumbuhan mikroorganisme merupakan hal yang tidak sederhana dikarenakan efektivitas sebuah agen antimikroba dipengaruhi oleh banyak faktor. Agen antimikroba dengan konsentrasi atau intensitas yang tinggi sering kali menghasilkan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri. Namun efektivitas agen antimikroba tidak dapat disimpulkan berhubungan secara langsung dengan konsentrasi atau intensitas agen antimikroba tersebut. Peningkatan konsentrasi ekstrak akan meningkatkan jumlah metabolit sekunder yang berperan dalam aktivitas antibakteri, sehingga memiliki hubungan linear dalam penghambatan suatu bakteri (Fauzi *et al.*, 2015). Umumnya diameter zona hambat cenderung meningkat berbanding lurus dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak (Hadi, *et al.*, 2013; Magvirah *et al.*, 2013). Berdasarkan penelitian Saad (2014), ekstrak etanol daun sirih tanah (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter) telah menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* yang merupakan bakteri gram negatif pada konsentrasi 10% dengan zona hambat sebesar 12 mm dan 8 mm. Faktor konsentrasi ekstrak telah dikendalikan dalam penelitian ini tetapi tidak dengan kandungan senyawa antibakteri. Senyawa antibakteri yang tersari tidak diketahui golongannya maupun jumlahnya sehingga dapat mempengaruhi zona hambat yang tidak terbentuk.

Porphyromonas gingivalis merupakan bakteri gram negatif dan mempunyai tiga lapisan dinding sel yaitu, lipoprotein sebagai lapisan luar, lipopolisakarida sebagai lapisan tengah dan peptidoglikan sebagai lapisan dalam. Bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel yang relatif lebih kompleks apabila dibandingkan dengan struktur dinding sel bakteri gram positif. Sehingga dapat mempermudah senyawa antimikroba untuk berpenetrasi ke dalam sel bakteri gram positif dan menemukan target reseptor dan melakukan inhibisi (Boleng, *et al.*, 2015; Lestari, *et al.*, 2016).

Bakteri gram negatif dikelilingi oleh *outer membrane* yang mempunyai peranan penting dalam virulensi bakteri gram negatif. Porin adalah protein berbentuk pori-pori di *outer membrane* berperan sebagai *permeability barrier* yang dapat membatasi penetrasi agen antimikroba karena rendahnya permeabilitas membran luar dibandingkan dengan bakteri gram positif. Bakteri gram negatif relatif lebih resisten dikarenakan penembusan molekul antibakteri yang lambat. Hal-hal tersebut yang dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri daun sirih tanah (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* (Chismirina, *et al.*, 2016; Ariandi, *et al.*, 2021).

Dinding sel bakteri gram negatif memiliki komposisi peptidoglikan hanya satu atau dua lapisan. Peptidoglikan tersebut merupakan 5-10% dari berat kering sel. Sedangkan lapisan peptidoglikan atau lapisan murein atau mukopeptida dari bakteri gram positif terdiri dari 40 lapisan yang merupakan 50% dari komposisi dinding sel. Peptidoglikan yang tebal tersebut

menyebabkan bakteri Gram positif lebih peka dengan pemberian agen antibakteri (Boleng, *et al.*, 2015; Lestari, *et al.*, (2020).

Selain disebabkan oleh jenis bakteri dan kandungan senyawa aktif pada ekstrak, kemungkinan diameter zona hambat yang terbentuk juga dipengaruhi oleh faktor *procedural testing*. Faktor prosedural yang mempengaruhi zona hambat seperti suhu inkubasi, waktu inkubasi, pemilihan media, kedalaman media, kekeruhan suspensi, dan waktu antara inokulasi dan penempatan *disc* (Eloff, *et al.*, 2019).

Penggunaan suhu dan waktu inkubasi yang salah menyebabkan tidak terbentuknya zona hambat. Suhu inkubasi dirancang untuk mengoptimalkan pertumbuhan organisme yang diuji. Untuk pertumbuhan yang optimal, inkubasi uji *disc diffusion* dilakukan pada suhu 35°C-37°C (Eloff, *et al.*, 2019). Durasi inkubasi tergantung pada masing-masing spesies bakteri. Dengan pertumbuhan bakteri yang cepat, diameter zona hambat dapat terbentuk dalam beberapa jam setelah inkubasi dimulai. Pada penelitian ini menggunakan suhu inkubasi 35°C dan waktu inkubasi selama 24 jam.

Media pertumbuhan mikroorganisme yang digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan suatu bakteri terdiri dari campuran nutrisi (*nutrient*) (Putri, *et al.*, 2017). Pada penelitian ini menggunakan media *blood agar plate* (BAP). *Blood agar base* ditambahkan *sheep blood* sebanyak 5-10% sebagai senyawa esensial pada pembuatan media agar darah. Menurut *American Public Health Association* (APHA), salah satu cara untuk menumbuhkan mikroorganisme '*fastidious*' dengan cara memperkaya media akan *nutrient* yaitu penambahan darah atau serum ke dalam media, salah satunya adalah menumbuhkan mikroorganisme '*fastidious*' (Krihariyani, *et al.*, 2016). Berdasarkan penelitian Alibasyah (2016), ekstrak jahe (*Zingiber officinale Roscoe*) memiliki potensi antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis* dengan media *Blood agar plate* (BAP) yang telah ditambahkan *sheep blood*, hemin dan Vitamin K.

Diameter zona hambat juga dipengaruhi oleh variasi kedalaman media agar. Standar kedalaman media agar untuk *Kirby-Bauer Disc Diffusion* adalah 4 mm. Untuk kedalaman media yang tipis atau kurang dari 4 mm menyebabkan difusi ekstrak lebih cepat dan menghasilkan ukuran zona hambat yang lebih besar dikarenakan volume media berkurang serta konsentrasi antimikroba efektif meningkat. Sedangkan jika kedalaman media yang tebal atau lebih dari 4 mm menyebabkan difusi ekstrak lambat dan menghasilkan ukuran zona hambat yang lebih kecil dikarenakan volume media bertambah serta konsentrasi antimikroba efektif berkurang (Zeniusa, *et al.*, 2019). Pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran pada media sehingga tidak dapat diketahui secara pasti ketebalan media *Blood agar plate* (BAP) yang digunakan.

SIMPULAN

Ekstrak daun sirih tanah (*Piper sarmentosum* Roxb Ex Hunter) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*, terbukti dengan tidak adanya zona hambat yang terbentuk disekitar *disc*.

DAFTAR PUSTAKA

- Alibasyah ZM, Andayani R, Farhana A. potensi antibakteri ekstrak jahe (*Zingiber officinale Roscoe*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* secara *in vitro*. J Syiah Kuala Dent Soc. 2016;1(2):147–52.
- Ariandi MZT, Bahar M, Yusmaini H, Zulfa F, Fauziah C, Pramesyanti A. Effectiveness of metabolite substance filtrates of actinomycetes isolates from kebun raya bogor against

- the growth of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhi*: *In Vitro* study. J Biol Trop. 2021;21(1):281–7.
- Bao K, Belibasakis GN, Thurnheer T, Aduse-Opoku J, Curtis MA, Bostanci N. Role of *Porphyromonas gingivalis* gingipains in multi-species biofilm formation. BMC Microbiol. 2014;14(1):1–8.
- Bernabe E. Global, regional, and national levels and trends in burden of oral conditions from 1990 to 2017: a systematic analysis for the global burden of disease 2017 study. J Dent Res. 2020;99(4):362–73.
- Boleng DT. Bakteriologi konsep-konsep dasar. Malang: 2015.
- Carranza FA, Takei HH, Newman MG. Carranza's clinical periodontology. 12th Ed. California: Elsevier Saunders; 2015.
- Chismirina S, Resky C, Aulia P. Konsentrasi hambat dan bunuh minimum ekstrak buah kapulaga (*Amomum compactum*) terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. J Syiah Kuala Dent Soc. 2016;1(2):192–200.
- Eloff JN. Avoiding pitfalls in determining antimicrobial activity of plant extracts and publishing the results. BMC Complement Altern Med. 2019;19(1):1–8.
- Fauzi M, Khotimah S, Raharjo W. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun cengkodok (*Melastoma malabathricum* L.) terhadap *Shigella flexneri* secara *in vitro*. J Mhs PSPD FK Univ Tanjungpura. 2015;3(1):1–19.
- Gholib D. Tanaman herbal anti cendawan. Jakarta: Balai Besar Penelitian Veteriner Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan Badan Penelitian Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian; 2015.
- Hadi DK, Erina, Rinidar, Fakrurrazi, Rosmaidar, Sayuthi A. daya hambat ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap pertumbuhan *Salmonella sp.* dan *Escherichia coli*. J Ilm Mhs Vet. 2019;3(2):87–97.
- Kementrian Kesehatan RI. Laporan Provinsi Kalimantan Timur Riset Kesehatan Dasar. Jakarta: Kemenkes RI; 2018.
- Kementrian Kesehatan RI. Riset Kesehatan Dasar. Jakarta: Kemenkes RI; 2018. Nazir M, Al-Ansari A, Al-Khalifa K, Alhareky M, Gaffar B, Almas K. global prevalence of periodontal disease and lack of its surveillance. Sci World J. 2020;2020:1–8.
- Krihariyani. D, Woelansari. ED, Kurniawan E. Pola pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada media agar darah manusia golongan o, ab, dan darah domba sebagai kontrol. J Ilmu dan Teknol Kesehat. 2016;3(2):191–200.
- Lestari ALD, Noverita, Permana A. Daya hambat propolis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. J Pro-Life. 2020;7(3):237–50.
- Lestari Y, Ardiningsih P, Nurlina. Aktivitas antibakteri gram positif dan negatif dari ekstrak dan fraksi daun nipah (*Nypa fruticans Wurmb.*) asal pesisir sungai kakap kalimantan barat. Jkk. 2016;5(4):1–8.
- Magvirah T, Marwati, Ardhani F. Uji daya hambat bakteri staphylococcus aureus menggunakan ekstrak daun tahongai (*Kleinhovia hospita* L.). J Peternak Lingkung Trop. 2019;2(2):41–50.
- Msoni NZ, Simelane MBC. Herbal medicine. 2018;215–27. Rohmawati N, Dyah Puspita Santik Y. Status penyakit periodontal pada pria perokok dewasa. higeia. 2019;3(2):286–97.
- Putri MH, Sukini, Yodong. Bahan ajar keperawatan gigi mikrobiologi. Jakarta: PPSDMK Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2017.
- Rahman SFSA, Sijam K, Omar D. Antibacterial activity of the crude extract of *Piper sarmentosum* against *Pseudomonas fuscovaginae*. Int J Appl Biol Pharm Technol. 2016;7(1):67–72.

- Rahman SFSA, Sijam K, Omar D. *Piper sarmentosum* Roxb.: a mini review of ethnobotany, phytochemistry and pharmacology. J Anal Pharm Res. 2016;2(5):8–10.
- Saad R, Asyikin N, Khan J, Aldahlli S, Sultan S, Abdulhamid J, et al. Determination of minimum inhibitory concentration utilizing microtitreplate bioassay for three malaysian herbal. Int J Appl Pharm Sci Biomed Sci. 2014;3(1):280–90.
- Sanusi NA, Umar RA, Zahary MN, Rohin MAK, Pauzi MR, Ismail S. Chemical compositions and antimicrobial properties of *Piper Sarmentosum*-a review. IOSR J Dent Med Sci. 2017;16(8):62–5.
- Tamboto JL, Homenta H, Juliarti. uji daya hambat ekstrak daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* secara *in vitro*. Pharmacon. 2017;6(1):31–6.
- Yan Y, Zhan Y, Wang X, Hou J. Clinical evaluation of ultrasonic subgingival debridement versus ultrasonic subgingival scaling combined with manual root planing in the treatment of periodontitis: Study protocol for a randomized controlled trial. Trials. 2020;21(1):1–7.
- Zeniusa P, Ramadhian MR, Nasution SH, Karima N. Uji daya hambat ekstrak etanol teh hijau terhadap *Escherichia coli* secara *in vitro*. Majority. 2019;8(2):136–43.