



Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) dalam Menghambat Pembentukan Biofilm *Staphylococcus Aureus* Secara *In Vitro* Effect of *Piper crocatum* in Inhibiting the Biofilm Formation of *Staphylococcus Aureus* In Vitro

Herryawan,¹ Azkya P. Nawawi,² Vadya D. Rindiani³

¹Departemen Periodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia

²Departemen Prostodonsia Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia

³Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi, Indonesia
Email: herryawan@lecture.unjani.ac.id

Received: December 16, 2025; Accepted: March 19, 2026; Published online: March 22, 2026

Abstract: Periodontal disease is caused by the accumulation of plaque biofilm;-one of the bacteria involved is *Staphylococcus aureus*. Red betel leaf (*Piper crocatum*) has potential as a therapeutic agent for various diseases, including oral cavity diseases. This study aimed to determine the effect of administering red betel leaf extract (EDSM) in inhibiting the formation of *Staphylococcus aureus* bacterial biofilms. This was a laboratory experimental study. The test group consisted of EDSM with concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100%, while the positive control used 0.2% chlorhexidine/CHX, and 1% DMSO as a negative control. Red betel leaf extract was prepared using the 96% ethanol maceration method. Inhibition of biofilm formation was measured using the microtiter plate biofilm assay method with a wavelength of 595 nm. Data were analyzed using the Kruskal-Wallis test and the Mann-Whitney post hoc test. The results showed significant differences between the six groups. Post hoc test revealed significant differences between DMSO 1% vs CHX, DMSO 1% vs EDSM 50% concentration, DMSO 1% vs EDSM 25% concentration, CHX vs EDSM 100% concentration, CHX vs EDSM 75% concentration, CHX vs EDSM 50% concentration, CHX vs EDSM 25% concentration, and EDSM 75% vs EDSM 25% concentration with p values <0.05. In conclusion, red betel leaf extract is most effective in inhibiting *Staphylococcus aureus* biofilm formation at a concentration of 25%.

Keywords: antibiofilm; red betel leaf extract; *Staphylococcus aureus*

Abstrak: Penyakit periodontal disebabkan oleh akumulasi biofilm plak; salah satu bakteri yang berperan yaitu *Staphylococcus aureus*. Daun sirih merah (*Piper crocatum*) berpotensi sebagai agen terapi berbagai penyakit termasuk penyakit rongga mulut. Penelitian ini bertujuan menentukan efek pemberian ekstrak daun sirih merah (EDSM) dalam menghambat pembentukan biofilm bakteri *S. aureus*. Jenis penelitian ialah eksperimental laboratorium. Kelompok uji terdiri dari EDSM dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%, sedangkan kontrol positif menggunakan klorheksidin/CHX 0,2%, dan DMSO 1% sebagai kontrol negatif. Ekstrak daun sirih merah dibuat menggunakan metode maserasi etanol 96%. Penghambatan pembentukan biofilm diukur menggunakan metode *microtiter plate biofilm assay* dengan panjang gelombang 595 nm. Data dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis dan uji post hoc Mann-Whitney. Hasil analisis menunjukkan perbedaan bermakna antar enam kelompok. Uji post hoc mengungkapkan perbedaan bermakna antara DMSO 1% vs CHX, DMSO 1% vs EDSM konsentrasi 50%, DMSO 1% vs EDSM konsentrasi 25%, CHX vs EDSM konsentrasi 100%, CHX vs EDSM konsentrasi 75%, CHX vs EDSM konsentrasi 50%, CHX vs EDSM konsentrasi 25%, serta EDSM 75% vs EDSM 25% dengan nilai p<0,05. Simpulan penelitian ini yaitu EDSM paling efektif dalam menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25%.

Kata kunci: antibiofilm; ekstrak daun sirih merah; *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut merupakan bagian integral dari kesehatan umum yang masih belum mendapat perhatian optimal dari masyarakat Indonesia. Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018 menunjukkan prevalensi penyakit gigi dan mulut pada penduduk Indonesia mencapai 57,6%, dengan karies gigi (45,3%) dan penyakit periodontal (14%) sebagai kondisi yang paling dominan.^{1,2}

Penyakit periodontal merupakan respons inflamasi jaringan pendukung gigi akibat akumulasi biofilm bakteri. Penyakit ini dapat berkembang dari gingivitis yang ditandai dengan peradangan pada gingiva, menjadi periodontitis suatu kondisi yang lebih kompleks dengan inflamasi persisten yang menyebabkan destruksi progresif tulang alveolar dan ligamen periodontal.³⁻⁵

Biofilm plak gigi merupakan faktor etiologi utama penyakit periodontal yang terdiri atas komunitas mikroorganisme kompleks yang mencakup lebih dari 400 spesies bakteri dengan dominasi bakteri anaerob gram negatif dan gram positif.³ Salah satu mikroorganisme yang berperan ialah *Staphylococcus aureus*, bakteri gram positif yang merupakan flora normal rongga mulut namun memiliki potensi patogenik ketika terjadi disbiosis mikroba atau penurunan daya tahan tubuh inang. Bakteri ini memiliki kemampuan invasif melalui produksi koagulasi, suatu protein dengan aktivitas mirip enzim yang dapat mengkoagulasi plasma yang mengandung oksalat atau sitrat.^{6,7}

Penatalaksanaan penyakit periodontal dilakukan melalui eliminasi biofilm secara mekanis dan kimiawi. Metode mekanis meliputi penyikatan gigi dengan sikat manual atau elektrik, *flossing*, dan penggunaan sikat interdental, sedangkan pendekatan kimiawi dapat dilakukan dengan obat kumur antimikroba Klorheksidin merupakan gold standard agen antimikroba topikal, namun penggunaannya dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping seperti disgeusia, pewarnaan gigi, dan perubahan pigmentasi mukosa sehingga diperlukan alternatif yang lebih aman dan efektif.⁸⁻¹⁰

Indonesia memiliki kekayaan biodiversitas flora yang berpotensi sebagai sumber agen terapeutik alami, salah satunya ialah daun sirih merah (*Piper crocatum*). Tanaman ini secara tradisional telah dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia, khususnya masyarakat kampung adat Cireundeu di Kecamatan Cimahi Selatan, Kota Cimahi, Jawa Barat, sebagai remedium herbal untuk berbagai kondisi patologis rongga mulut, antiinflamasi, antiseptik, hemostasis, antitusif, sialagog, dan antihelminik secara turun-temurun.¹¹

Sirih merah (*Piper crocatum*) merupakan tanaman merambat yang berasal dari Peru dan telah tersebar luas termasuk di Indonesia. Tanaman ini memiliki daun berbentuk oval atau jantung dengan ujung runcing dan pangkal melebar, serta batang silindris berwarna hijau kemerahan dengan panjang mencapai 1–4 meter. Daunnya bertekstur agak kaku dengan ciri khas garis merah tua pada permukaan atas dan merah keunguan pada permukaan bawah.¹²

Aktivitas farmakologis daun sirih merah telah dilaporkan memiliki efek antiseptik, antihiperqlikemia, antikanker, serta potensi terapeutik pada kondisi odontogenik. Sifat antimikroba dan antiinflamasi dikaitkan dengan kandungan alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid yang bekerja secara multitarget melalui gangguan integritas dinding dan membran sel bakteri serta inaktivasi komponen seluler mikroba.¹³⁻¹⁶

Penelitian Agustina et al¹⁴ melaporkan aktivitas antiseptik ekstrak daun sirih merah terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%, dengan efektivitas tertinggi pada konsentrasi 100%. Studi lain juga melaporkan aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah terhadap mikroorganisme rongga mulut. Putri et al¹⁴ menunjukkan kemampuan ekstrak menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dalam kondisi planktonik, sedangkan Oktaviani et al¹³ melaporkan efektivitas terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sebagai patogen periodontal, serta Herryawan et al¹⁰ dan kolega terhadap bakteri patogen rongga mulut.^{10,13,14} Meskipun demikian, sebagian besar penelitian masih berfokus pada penghambatan bakteri dalam bentuk planktonik, sedangkan infeksi rongga mulut umumnya terjadi dalam bentuk

biofilm yang lebih resisten. Oleh karena itu, diperlukan evaluasi efektivitas ekstrak daun sirih merah terhadap pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* agar diperoleh dasar ilmiah yang lebih relevan secara klinis.

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif non-motil dan tidak membentuk spora yang memiliki virulensi tinggi melalui kemampuan membentuk agregat dan sifat koagulasi positif. Bakteri ini dapat tumbuh pada rentang suhu 6,5-46°C dan pH 4,2-9,3, membentuk koloni dengan diameter hingga 4 mm dalam 24 jam. Koloni berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau dengan pigmentasi abu-abu hingga kuning emas akibat produksi pigmen *lipochrome*.^{6,7,17}

Berdasarkan latar belakang tersebut, eksplorasi potensi antibiofilm ekstrak daun sirih merah terhadap *Staphylococcus aureus* menjadi relevan untuk dikaji. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh ekstrak daun sirih merah dengan variasi konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dalam menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*, serta menganalisis perbedaan efektivitas antar konsentrasi untuk mengidentifikasi konsentrasi optimal yang dapat dikembangkan sebagai alternatif agen antibiofilm dalam manajemen penyakit periodontal.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan studi eksperimental laboratoris menggunakan enam kelompok perlakuan. Sampel penelitian berupa ekstrak daun sirih merah yang diperoleh dari Kampung Adat Cireundeu, Cimahi, Jawa Barat, dan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 dari Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran, Bandung. Ekstrak daun sirih merah dibuat melalui metode maserasi menggunakan etanol 96% selama 72 jam, kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Jumlah pengulangan ditentukan menggunakan rumus Federer dengan minimal empat kali pengulangan untuk setiap kelompok perlakuan, meliputi kontrol negatif (DMSO 1%), kontrol positif (klorheksidin glukonat/CHX 0,2%), dan kelompok uji dengan konsentrasi ekstrak 25%, 50%, 75%, dan 100%.¹⁸

Evaluasi aktivitas antibiofilm dilakukan menggunakan metode *microtiter plate assay*. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* distandarisasi sesuai McFarland 0,5 (~1,5 x 10⁶ CFU/mL) dan diinokulasi bersama sampel uji dalam *microplate* 96-well. Setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37°C, *biofilm* yang terbentuk diwarnai dengan kristal violet 0,1% selama 20 menit, kemudian dilarutkan dengan asam asetat 30%. Absorbansi diukur menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm untuk menentukan *optical density* (OD). Persentase penghambatan biofilm dihitung menggunakan rumus: % penghambatan = ((OD kontrol - OD sampel)/OD kontrol) × 100%.^{18,19}

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan SPSS dengan uji normalitas Shapiro-Wilk. Karena data tidak berdistribusi normal, dilakukan uji non-parametrik Kruskal-Wallis untuk mengetahui perbedaan antar kelompok, dilanjutkan dengan uji *post hoc* Mann-Whitney untuk perbandingan berpasangan antar konsentrasi. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Achmad Yani di Cimahi, dan Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran di Bandung pada September-Desember 2023 setelah mendapat persetujuan etik dengan nomor 1281/UN6.KEP/EC/2023.

HASIL PENELITIAN

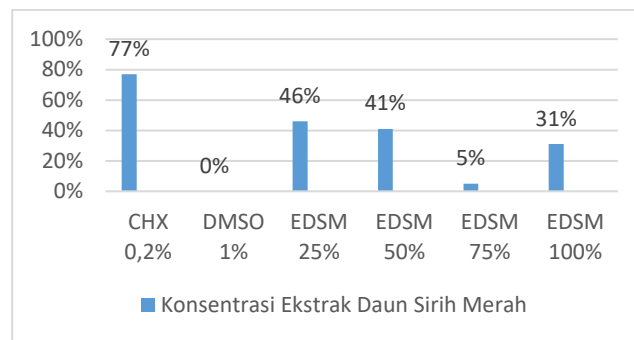
Penelitian ini melibatkan enam kelompok perlakuan yang terdiri atas berbagai konsentrasi ekstrak daun sirih merah serta kelompok kontrol positif dan negatif. Hasil pengukuran *optical density* (OD) menunjukkan bahwa nilai OD yang tinggi mengindikasikan tingkat penghambatan ekstrak yang rendah, sedangkan nilai OD yang rendah menandakan peningkatan aktivitas penghambatan biofilm.

Tabel 1 memperlihatkan nilai rerata OD untuk masing-masing kelompok. Ekstrak daun sirih merah dengan konsentrasi 25% memiliki aktivitas penghambatan biofilm paling tinggi

(2,57±0,523) dibandingkan dengan konsentrasi lainnya, dengan nilai OD terendah setelah kontrol positif CHX (1,20±0,167). Gambar 1 memperlihatkan persentase penghambatan pembentukan biofilm untuk setiap konsentrasi. Ekstrak daun sirih merah dengan konsentrasi 25% menempati urutan kedua setelah control positif CHX 0,2%.

Tabel 1. Hasil pengukuran biofilm menggunakan *Micro Reader*

R = sampel	DMSO 1%	CHX 0,2%	EDSM 25%	EDSM 50%	EDSM 75%	EDSM 100%
R 1	3,7996	1,2528	2,828	3,5019	3,5847	3,5708
R 2	3,8209	1,3625	2,8694	3,0319	3,9849	2,9239
R 3	3,7745	1,2144	2,7987	3,1289	3,7347	3,7985
R 4	3,5639	0,9681	1,7869	2,0788	3,4429	2,1377
Mean	3,739725	1,19945	2,57075	2,93537	3,6868	3,10772
SD	0,1187	0,1665	0,5233	0,6059	0,2317	0,7452



Gambar 1. Persentase penghambatan pembentukan biofilm

Analisis statistik dilakukan untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok perlakuan. Uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk test menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi normal, sehingga dilanjutkan dengan uji non-parametrik Kruskal-Wallis. Tabel 2 memperlihatkan hasil uji Kruskal-Wallis dengan perolehan nilai $p=0,0001$ ($p<0,05$), yang mengindikasikan adanya perbedaan bermakna secara statistik antara keenam kelompok perlakuan.

Tabel 2. Pengaruh ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dibandingkan dengan CHX 0,2% dan DMSO 1% dalam menghambat pembentukan *biofilm S. aureus*

Variabel	Pembentukan Biofilm bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>			Nilai p
	Mean±Std	Median	Range (min-max)	
DMSO 1%	3,74±0,119	3,79	3,56-3,82	0,0001**
CHX	1,20±0,167	1,23	0,97-1,36	
EDSM 100%	3,11±0,745	3,25	2,14-3,80	
EDSM 75%	3,69±0,232	3,66	3,44-3,98	
EDSM 50%	2,94±0,606	3,08	2,08-3,50	
EDSM 25%	2,57±0,523	2,81	1,79-2,87	

Tabel 3 memperlihatkan hasil uji post hoc Mann-Whitney menunjukkan perbedaan bermakna ($p<0,05$) antara DMSO 1% dengan CHX 0,2% serta ekstrak daun sirih merah konsentrasi 25% dan 50%, dan antara CHX 0,2% dengan seluruh konsentrasi ekstrak. Selain itu, terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi 75% dan 25%. Perbandingan lainnya tidak menunjukkan perbedaan bermakna

Tabel 3. Perbedaan pengaruh ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% dibandingkan dengan CHX dan DMSO dalam menghambat pembentukan *biofilm S. aureus*

No	Kelompok	Nilai p Uji Mann-Whitney					
		DMSO 1%	CHX 0,2%	EDSM 25%	EDSM 50%	EDSM 75%	EDSM 100%
1.	DMSO 1%	-					
2.	CHX 0,2%	0,029*	-				
3.	EDSM 25%	0,029*	0,029*	-			
4.	EDSM 50%	0,029*	0,029*	0,200	-		
5.	EDSM 75%	0,686	0,029*	0,029*	0,057	-	
6.	EDSM 100%	0,200	0,029*	0,200	0,686	0,343	-

Temuan ini mengonfirmasi bahwa ekstrak daun sirih merah memiliki kemampuan menghambat pembentukan *biofilm Staphylococcus aureus*, dengan efektivitas tertinggi pada konsentrasi 25%. Menariknya, peningkatan konsentrasi ekstrak tidak selalu diikuti dengan peningkatan aktivitas *antibiofilm*, yang menunjukkan adanya hubungan non-linear antara konsentrasi dan efektivitas penghambatan *biofilm*.

BAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% memiliki aktivitas penghambatan pembentukan *biofilm Staphylococcus aureus*. Konsentrasi 25% memberikan efek penghambatan paling optimal dengan nilai OD terendah (2,57075), sedangkan konsentrasi 75% menunjukkan efektivitas terendah dengan nilai OD tertinggi (3,6868). Dibandingkan klorheksidin 0,2% sebagai kontrol positif, ekstrak 25% menunjukkan aktivitas *antibiofilm* yang lebih rendah (46% vs 77%), namun tetap berpotensi sebagai alternatif agen *antibiofilm* alami.²⁰

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% memiliki aktivitas penghambatan pembentukan *biofilm Staphylococcus aureus*. Konsentrasi 25% memberikan efek penghambatan paling optimal dengan nilai OD terendah (2,57075), sedangkan konsentrasi 75% menunjukkan efektivitas terendah dengan nilai OD tertinggi (3,6868). Dibandingkan klorheksidin 0,2% sebagai kontrol positif, ekstrak 25% menunjukkan aktivitas *antibiofilm* yang lebih rendah (46% vs 77%), namun tetap berpotensi sebagai alternatif agen *antibiofilm* alami.¹⁸

Pola penghambatan yang diamati dalam penelitian ini dapat dijelaskan melalui kurva dosis-respons yaitu efektivitas penghambatan optimal pada konsentrasi (25%) dan menurun pada konsentrasi lebih tinggi, yang diduga akibat fenomena kejenuhan senyawa aktif pada target bakteri.^{18,20} Mekanisme penghambatan kemungkinan berkaitan dengan gangguan quorum sensing melalui sistem Agr, sehingga menghambat komunikasi bakteri dalam pembentukan *biofilm*.

Kandungan fitokimia dalam ekstrak daun sirih merah yang berperan dalam aktivitas *antibiofilm* meliputi flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Flavonoid bekerja dengan membentuk kompleks protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengganggu penjangkaran *Biofilm-Associated Protein* (BAP), menghambat proses polimerisasi matriks *biofilm*, menyebabkan perubahan struktur protein dan asam nukleat yang berujung pada degradasi komponen *extracellular polymeric substances* (EPS).^{18,20}

Tanin dan flavonoid menunjukkan efek sinergis melalui pengikatan protein adhesin, sehingga menurunkan kemampuan adhesi bakteri dan menghambat sintesis dinding sel. Kedua senyawa ini juga dilaporkan menghambat aktivitas gen *icaA* dan *icaD* yang berperan dalam sintesis *polysaccharide intercellular adhesin* (PIA) pada *Staphylococcus aureus*.^{18,20}

Saponin berkontribusi melalui gangguan stabilitas matriks ekstrasel polisakarida, sedangkan alkaloid berperan dalam penghambatan *biofilm* dengan mereduksi gen inisiator pembentuk *biofilm*, gangguan sistem quorum sensing, dan penurunan faktor regulator.¹⁸

Analisis Kruskal-Wallis menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok ($p < 0,05$), yang diperkuat dengan uji post hoc Mann-Whitney bahwa seluruh konsentrasi ekstrak daun sirih merah (25%, 50%, 75%, 100%) serta kontrol positif dan negatif memiliki perbedaan bermakna dalam penghambatan pembentukan *biofilm Staphylococcus aureus*. Kontrol positif menggunakan CHX 0,2% menunjukkan persentase penghambatan *biofilm* tertinggi, yang konsisten dengan penelitian sebelumnya mengenai efektivitas CHX sebagai agen antibiofilm untuk *Staphylococcus aureus*. Mekanisme kerja klorheksidin melibatkan ikatan kationik dengan polisakarida ekstraseluler dan glikoprotein pada membran sel bakteri. Struktur kimia klorheksidin yang terdiri dari dua cincin 4-klorofenil dan dua gugus biguanida yang dihubungkan oleh rantai heksametilena memberikan aktivitas kationik yang menarik CHX ke permukaan bermuatan negatif, termasuk komponen *biofilm* bakteri. Interaksi ini terutama terjadi pada gugus fosfat asam teikoat pada bakteri Gram-positif, yang mengakibatkan destabilisasi membran sel bakteri.¹⁸ Sebaliknya, kontrol negatif DMSO 1% memperlihatkan penghambatan terendah dengan nilai OD tinggi, sehingga menegaskan bahwa aktivitas antibiofilm berasal dari senyawa aktif ekstrak daun sirih merah.¹⁸

Penghambatan *biofilm* oleh ekstrak daun sirih merah dapat terjadi pada berbagai fase. Pada fase adhesi awal, ekstrak dapat mengganggu kemampuan bakteri untuk melekat pada permukaan substrat, sehingga mencegah inisiasi pembentukan *biofilm*. Selama fase pembentukan matriks, ekstrak dapat menghambat produksi dan stabilisasi matriks ekstraseluler yang merupakan scaffolding *biofilm*. Pada fase pertumbuhan dan pembelahan, komponen antibakteri dalam ekstrak dapat menghambat proliferasi bakteri dalam *biofilm*. Terakhir, pada fase pelepasan, ekstrak mungkin dapat mencegah dispersi bakteri atau fragmen *biofilm* ke lingkungan sekitarnya.¹⁸

Penelitian Putri et al¹⁴ dan Rosyada et al¹⁸ membuktikan aktivitas ekstrak terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dalam kondisi planktonik. Hasil penelitian ini memperluas temuan tersebut pada bentuk *biofilm* yang secara klinis lebih relevan dan lebih resisten terhadap agen antimikroba. Penelitian lain juga melaporkan aktivitas antibakteri terhadap patogen rongga mulut seperti *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*¹⁰ dan patogen periodontal¹³, yang menguatkan spektrum antimikroba daun sirih merah, dengan perbedaan utama penelitian ini terletak pada parameter *biofilm* yang memiliki kompleksitas matriks lebih tinggi.^{10,13}

Temuan ini sejalan dengan penelitian Lukaraja et al²¹ yang melaporkan aktivitas antibiofilm ekstrak metanol *Hibiscus tiliaceus* terhadap *Streptococcus mutans* dengan pola penurunan absorbansi seiring peningkatan konsentrasi, yang dikaitkan dengan kandungan senyawa fitokimia seperti flavonoid, saponin, polifenol, fenol, dan tanin.²¹

Aspek penting yang perlu dipertimbangkan ialah stabilitas dan bioavailabilitas senyawa aktif ekstrak daun sirih merah. Proses ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini berpotensi memengaruhi konsentrasi dan aktivitas senyawa bioaktif. Metode ekstraksi etanolik yang dipilih memungkinkan ekstraksi senyawa polar dan semi-polar seperti flavonoid, tanin, dan saponin secara optimal. Namun, efisiensi ekstraksi dapat bervariasi tergantung pada faktor-faktor seperti suhu, waktu ekstraksi, dan rasio pelarut terhadap bahan. Variabilitas ini dapat memengaruhi konsistensi aktivitas antibiofilm yang diamati antara batch ekstrak yang berbeda.¹⁸

Karakteristik fisikokimia seperti viskositas, pH, dan osmolalitas juga berperan dalam penetrasi senyawa aktif ke dalam struktur *biofilm Staphylococcus aureus* yang kompleks.^{13,14,16}

Aktivitas antibiofilm diduga dipengaruhi oleh efek sinergis fitokompleks yaitu kombinasi senyawa dalam ekstrak tumbuhan dapat menghasilkan efek yang lebih besar daripada jumlah efek individual setiap komponen. Dalam konteks aktivitas antibiofilm, flavonoid mungkin bekerja sinergis dengan tanin untuk menghambat adhesi bakteri, sementara saponin dan alkaloid dapat mengganggu integritas matriks *biofilm* secara bersamaan.^{18,22}

Secara klinis, temuan ini menunjukkan potensi ekstrak daun sirih merah sebagai terapi tambahan infeksi oral, namun diperlukan penelitian lanjutan terkait keamanan, toksisitas, serta profil farmakokinetik dan farmakodinamik sebelum aplikasi klinis.¹⁸

Evaluasi profil keamanan yang lengkap diperlukan sebelum ekstrak ini dapat direkomendasikan untuk penggunaan klinis mengingat kemungkinan efek samping dan interaksi

obat dari senyawa aktif tumbuhan.^{13,14} Stabilitas ekstrak selama penyimpanan merupakan faktor penting karena senyawa bioaktif rentan mengalami degradasi akibat cahaya, oksigen, suhu, dan kelembaban, sehingga diperlukan formulasi dan sistem penghantaran yang tepat untuk mempertahankan aktivitas antibiofilm.¹⁸ Dari aspek keberlanjutan, sirih merah mudah dibudidayakan dan proses ekstraksinya relatif sederhana sehingga berpotensi menekan biaya produksi.²² Variasi musiman dan kondisi budidaya dapat memengaruhi komposisi fitokimia, sehingga standardisasi diperlukan untuk menjaga konsistensi kualitas ekstrak.

Berdasarkan perspektif ekonomi dan keberlanjutan, pengembangan ekstrak daun sirih merah sebagai agen *antibiofilm* menawarkan beberapa keuntungan. Sirih merah merupakan tanaman yang relatif mudah dibudidayakan dan memiliki pertumbuhan yang cepat, sehingga dapat menjadi sumber bahan baku yang berkelanjutan. Proses ekstraksi yang relatif sederhana juga dapat mengurangi biaya produksi dibandingkan dengan sintesis senyawa antimikroba sintetik yang kompleks.²²

Variasi musiman dalam kandungan senyawa bioaktif tanaman perlu dipertimbangkan untuk memastikan konsistensi kualitas ekstrak. Faktor-faktor seperti kondisi cuaca, tahap pertumbuhan tanaman, dan metode pemanenan dapat memengaruhi komposisi fitokimia daun sirih merah. Standardisasi proses mulai dari budidaya hingga ekstraksi diperlukan untuk menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antibiofilm yang konsisten. Potensi resistensi bakteri tetap perlu dipantau meskipun mekanisme multitarget ekstrak tumbuhan cenderung menurunkan risiko pengembangan resistensi, sehingga pendekatan kombinasi atau rotasi agen antimikroba dapat dipertimbangkan.^{7,23} Optimalisasi formulasi seperti nanoenkapsulasi, sistem liposom, atau gel dapat meningkatkan stabilitas dan bioavailabilitas serta mempermudah aplikasi topikal.¹⁸ Ekstrak daun sirih merah juga berpotensi dikembangkan sebagai bahan aktif produk perawatan mulut seperti obat kumur atau pasta gigi untuk pencegahan pembentukan biofilm patogen di rongga mulut sebelum terjadi infeksi yang lebih serius.

Penelitian lanjutan perlu mencakup evaluasi spektrum aktivitas ekstrak terhadap berbagai strain *Staphylococcus aureus*, termasuk strain resisten seperti *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), serta uji pada biofilm multispecies yang lebih merepresentasikan kondisi klinis.²⁴ Analisis ekonomi kesehatan diperlukan untuk menilai cost-effectiveness ekstrak daun sirih merah sebagai terapi adjuvan dibandingkan terapi konvensional, khususnya pada sistem kesehatan dengan keterbatasan akses antimikroba sintetik.²⁴ Pengembangan produk juga memerlukan perhatian terhadap aspek regulasi dan standardisasi, termasuk penetapan marker senyawa aktif, batas kontaminan, serta validasi metode analisis untuk menjamin keamanan dan konsistensi mutu.

Penelitian ini memiliki keterbatasan teknis. Ekstrak murni cenderung menggumpal sehingga berpotensi mengganggu pembacaan spektrofotometer. Fenomena ini kemungkinan berkaitan dengan kandungan polisakarida atau senyawa polimer.¹⁸ Pada konsentrasi tinggi (75% dan 100%), kelarutan dalam DMSO 1% kurang optimal akibat kejenuhan, sehingga diperlukan optimalisasi preparasi seperti sonikasi, pemanasan ringan, atau kombinasi pelarut untuk meningkatkan homogenitas.²⁵ Variabilitas antar-batch akibat perbedaan bahan baku, proses ekstraksi, dan penyimpanan juga dapat memengaruhi reproduktibilitas, sehingga diperlukan SOP dan kontrol kualitas yang ketat.^{13,18,26} Keterbatasan model *in vitro* perlu dipertimbangkan karena belum sepenuhnya merepresentasikan kompleksitas lingkungan rongga mulut, termasuk faktor saliva, pH, nutrisi, dan interaksi mikrobiota. Oleh karena itu, studi *in vivo* dan uji klinis diperlukan untuk mengonfirmasi potensi terapeutik ekstrak daun sirih merah.

SIMPULAN

Ekstrak daun sirih merah terbukti memiliki aktivitas *antibiofilm* terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Konsentrasi 25% menunjukkan efektivitas optimal dibandingkan konsentrasi 50%, 75%, dan 100%, meskipun masih lebih rendah dibandingkan klorheksidin 0,2% sebagai kontrol positif. Temuan ini menunjukkan adanya hubungan non-linear antara konsentrasi

dan efektivitas penghambatan *biofilm* yang kemungkinan berkaitan dengan penetrasi senyawa aktif dalam matriks *biofilm*. Dengan demikian, ekstrak daun sirih merah berpotensi dikembangkan sebagai agen adjuvan alami dalam pengendalian biofilm oral, namun penelitian *in vivo* masih diperlukan untuk mengonfirmasi efektivitas klinis dan keamanannya.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam studi ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Laporan nasional Riskesdas 2018. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2019.
2. Suratri MAL. Pengaruh hipertensi terhadap kejadian penyakit jaringan periodontal pada masyarakat Indonesia (Data Riskesdas 2018). *Bul Penelit Kesehat*. 2020;48(4):227-234. Doi: <https://doi.org/10.22435/bpk.v48i4.3516>
3. Uribe-García A, Paniagua-Contreras GL, Monroy-Pérez E, Bustos-Martínez J, Hamdan-Partida A, Garzón J, et al. Frequency and expression of genes involved in adhesion and biofilm formation in *Staphylococcus aureus* strains isolated from periodontal lesions. *J Microbiol Immunol Infect*. 2021;54(2):267-75. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2019.05.010>
4. Andriani I, Chairunnisa FA. Periodontitis kronis dan penatalaksanaan kasus dengan kuretase. *Insisiva Dent J*. 2019;8(1):1-6. Doi: <https://doi.org/10.18196/di.8103>
5. Handayani IT, Karyadi E. Kuretase sebagai perawatan gingivitis marginalis lokalisata pada gigi anterior mandibula (laporan kasus). *Prosiding Dental Seminar 5*. 2021;85-92. Available from: <https://www.scribd.com/document/692888700/ums>
6. Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. *Mikrobiologi Kedokteran* (23rd ed). Jakarta: EGC; 2007.
7. Das M, Abdullah AMS, Haque ZF, Barua N, Pondit A, Mahmud MM, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from human dental infection. *Afr J Microbiol Res*. 2019;13(14):273-278. Doi: <https://doi.org/10.5897/AJMR2019.9076>
8. Sidiqa AN, Herryawan H. Efektivitas gel daun sirih merah (*Piper crocatum*) pada perawatan periodontitis kronis. *Kartika J Ilm Farm*. 2017;5(1):1-6. Doi: <https://doi.org/10.26874/kjif.v5i1.81>
9. Al-Hashimi A, Al-Hashimi AG. Antioxidant and antibacterial activities of *Hibiscus sabdariffa* extracts. *Afr J Food Sci*. 2012;6(21):506-11. Doi: <https://doi.org/10.5897/AJFS12.099>
10. Herryawan H, Sabirin IPR. The effectiveness of red betel leaf (*Piper crocatum*) extract against periodontal pathogens. *Bali Med J*. 2018;7(3):732-735. Doi: <https://doi.org/10.15562/bmj.v7i3.1173>
11. Roudotuljannah Y, Azizah N. Studi etnofarmasi tumbuhan obat di kampung adat Cirendeu. *Herbapharma*. 2019;1(2):44-51.
12. Rachmawaty FJ, Akhmad MM, Pranacipta SH, Nabila Z, Muhammad A. Optimasi ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *MMJJK*. 2018;18(1): 13-19. Doi: <https://doi.org/10.18196/mm.180109>
13. Oktaviani RF, Astuti P, Wahyukundari MA. Aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *J Kedokt Gigi Univ Padjadjaran*. 2022;34(1):66-72. Doi: <https://doi.org/10.24198/jkg.v34i1.34833>
14. Putri AR, Asdinar, Fatimah. Uji daya hambat ekstrak daun sirih merah terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *J Farm Kesehat Sains*. 2023;1(2):127-142. Doi: <https://doi.org/10.32665/faskes.v1i3.2392>
15. Pratiwi I, Suswati I. Efek ekstrak daun sirih merah terhadap pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae*. 2012;8(1):1-5. Doi: <https://doi.org/10.22219/sm.v8i1.4091>
16. Mustamin MI, Rustam N, Kasman. Analisis nilai absorbansi kadar flavonoid daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L). *Gravitasi*. 2017;15(1):1-7. Doi: <https://doi.org/10.22487/gravitasi.v15i1.7891>
17. Milani M, Curia R, Shevlyagina NV, Tatti F. *Bacterial Degradation of Organic and Inorganic Materials*. Cham: Springer; 2023.
18. Rosyada AG, Prihastuti CC, Sari DNI, Setiawati S, Ichsyani M, Laksitasari A, et al. Aktivitas antibiofilm ekstrak etanol kulit bawang merah terhadap *Staphylococcus aureus*. *J Kedokt Gigi Univ Padjadjaran*. 2023;35(1):33-40. Doi: <https://doi.org/10.24198/jkg.v35i1.42451>
19. Haney EF, Trimble MJ, Hancock REW. Microtiter plate assays to assess antibiofilm activity against bacteria. *Nat Protoc*. 2021;16(5):2615-32. Doi: <https://doi.org/10.1038/s41596-021-00515-3>
20. Lerch MF, Schoenfelder SMK, Marincola G, Wencker FDR, Eckart M, Förstner KU, et al. A non-coding RNA from the intercellular adhesion locus controls biofilm formation. *Mol Microbiol*. 2019;111(6):1571-91. Doi: <https://doi.org/10.1111/mmi.14238>

21. Lukaraja W, Lessy W, Seumahu CA, Pesik A. Aktivitas antibakteri dan penghambatan biofilm ekstrak metanol kulit batang *Hibiscus tiliaceus* terhadap *Streptococcus mutans*. Rumphius Pattimura Biol J. 2020;2(2):37-43. Available from: <https://media.neliti.com/media/publications/526380-aktivitas-antibakteri-dan-penghambatan-b-4e9e1136.pdf>
22. Januarti IB, Wijayanti R, Wahyuningsih S, Nisa Z. Potensi ekstrak terpurifikasi daun sirih merah sebagai antioksidan dan antibakteri. JPSCR. 2019;4(2):60-68. Doi: <https://doi.org/10.20961/jpscr.v4i2.27206>
23. Suyasa IBO, Bekti HS, Rinawati LP, Laksmi LP, Wahyuni PD, Agustini GD, et al. Daya hambat ekstrak daun sirih dan daun legundi terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. J Muhammadiyah Med Lab Technol. 2022;5(1):29-41. Doi: <https://doi.org/10.30651/jmlt.v5i1.11015>
24. Risky YT, Agrijanti, Inayati N. Uji screening methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) menggunakan cefoxitin (fox) 30 µg pada pasien penderita abses gigi di klinik BPJS Mataram. J Analisis Med Bio Sains. 2019;6(2):98-104. Doi: <https://doi.org/10.32807/jambs.v6i2.140>
25. Kurniawati A. Pengaruh kumur ekstrak daun ungu terhadap jumlah bakteri dalam saliva. Stomatognatic JKG Unej. 2018;15(2):43-6.
26. Fitriana YNA, Arfiana VFN, Fitri AS. Aktivitas antibakteri daun sirih: uji ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). SaintekS. 2019;16(2):101-8. Doi: <https://doi.org/10.30595/sainteks.v16i2.7126>