

AKTIVITAS ANTIBIOFILM SEDIAAN MOUTHWASH EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle* L.) TERHADAP BAKTERI *Lactobacillus acidophilus*

(Antibiofilm Activity of Mouthwash Prepared from Ethanolic Extract of Green Betel Leaf (*Piper betle* L.) against *Lactobacillus acidophilus* Bacteria)

Sri Wahyu Ningsih¹, Herwin^{2*}, Audia Triani Ollii³

¹Program Studi Magister Farmasi, Program Pascasarjana, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Indonesia

²Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Indonesia

³Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Indonesia

Email: herwin.herwin@umi.ac.id

ABSTRACT

Article Info:

Received: 2026-05-19

Accepted: 2026-07-10

Available Online: 2026-07-12

Keywords:

Antibiofilm; Herbal extract; Mouthwash; Oral bacteria; *Piper betle* L.

Corresponding Author:

Herwin

Laboratorium Mikrobiologi

Fakultas Farmasi

Universitas Muslim Indonesia

Makassar

Indonesia

email: herwin.herwin@umi.ac.id

This study aimed to evaluate the formulation and antibiofilm activity of a mouthwash preparation containing *Piper betle* L. ethanol extract as the active ingredient for the prevention of oral cavity infections. The extract was obtained by maceration using 96% ethanol as the solvent from 400 g of dried simplicia, yielding 28.75 g of concentrated extract with a percentage yield of 7.19%. The antibiofilm activity of the extract was evaluated using the Crystal Violet Microplate Assay method at concentrations of 0.125%, 0.25%, and 0.5%. The highest biofilm inhibition against *Lactobacillus acidophilus* was observed at a concentration of 0.5%, with an inhibition value of 44.34%. Physical evaluation of the mouthwash formulation containing 0.5% ethanol extract of *Piper betle* demonstrated acceptable characteristics, including a brownish-yellow color, liquid form, mint flavor, stable pH of 5.79, and viscosity of 1.01 cP. The mouthwash formulation exhibited antibiofilm activity with a biofilm inhibition of 42.83% against *Lactobacillus acidophilus* at a concentration of 0.5%. The results indicate that the ethanol extract of *Piper betle* possesses moderate antibiofilm activity against *Lactobacillus acidophilus* at a concentration of 0.5% and can be successfully formulated into a mouthwash preparation with satisfactory physical characteristics.



Copyright © 2020 Journal As-Syifaa Farmasi by Faculty of Pharmacy, Muslim University. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License.

Published by:

Fakultas Farmasi

Universitas Muslim Indonesia

Address:

Jl. Urip Sumoharjo Km. 5 (Kampus II UMI) Makassar, Sulawesi Selatan.

Email:

jurnal.farmasi@umi.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi formulasi sediaan *mouthwash* serta aktivitas antibiofilm menggunakan bahan aktif ekstrak etanol daun *Piper betle* L. sebagai upaya pencegahan infeksi rongga mulut. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% terhadap 400 g simplisia kering dan diperoleh ekstrak kental sebanyak 28,75 g dengan rendemen sebesar 7,19%. Aktivitas antibiofilm ekstrak diuji menggunakan metode *Crystal Violet Microplate Assay* pada konsentrasi 0,125%; 0,25%; 0,5% diperoleh penghambatan biofilm tertinggi pada konsentrasi 0,5% sebesar 44,34% terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Evaluasi fisik sediaan *mouthwash* dengan zat aktif ekstrak etanol daun sirih 0,5% menunjukkan karakteristik sediaan dengan warna kuning kecoklatan, bentuk cair, rasa mint, pH stabil 5,79 serta viskositas sebesar 1,01 cP. Aktivitas penghambatan biofilm sediaan *mouthwash* pada konsentrasi 0,5% sebesar 42,83% terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih hijau memiliki aktivitas antibiofilm kategori sedang terhadap *Lactobacillus acidophilus* pada konsentrasi 0,5% dan dapat diformulasikan menjadi sediaan *mouthwash* dengan karakteristik fisik yang baik.

Kata kunci: Antibiofilm; Ekstrak herbal; Mouthwash; Bakteri mulut; *Piper betle* L.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi rongga mulut masih menjadi masalah kesehatan global yang signifikan. Menurut *World Health Organization*, penyakit rongga mulut memengaruhi sekitar 3,5 miliar penduduk dunia, sedangkan karies gigi permanen merupakan penyakit dengan prevalensi tertinggi secara global dan dialami oleh sekitar 2,3 miliar orang. Sebagian besar penyakit tersebut berkaitan dengan pembentukan biofilm mikroba pada permukaan gigi yang berperan sebagai faktor utama dalam patogenesis karies dan penyakit periodontal.¹ Biofilm tersusun atas komunitas mikroorganisme yang terbenam dalam matriks *extracellular polymeric substance* (EPS) sehingga memiliki resistensi 100–1000 kali lebih tinggi terhadap senyawa antimikroba dibandingkan bakteri planktonik. Oleh karena itu, pencegahan pembentukan biofilm menjadi penting dibandingkan hanya membunuh bakteri planktonik karena mampu menghambat tahap awal kolonisasi dan perkembangan infeksi rongga mulut.^{2–4}

Sediaan obat kumur atau *mouthwash* merupakan salah satu strategi efektif dalam pengendalian biofilm oral. Namun, penggunaan

produk sintetis seperti klorheksidin dalam jangka panjang dilaporkan dapat menimbulkan pewarnaan gigi, gangguan pengecapan, iritasi mukosa, serta perubahan keseimbangan mikrobiota oral. Kondisi tersebut mendorong pengembangan formulasi berbasis bahan alam yang dinilai lebih aman untuk penggunaan berkelanjutan.^{5–7} Salah satu tanaman yang potensial adalah daun sirih hijau yang mengandung hidroksikavikol, kavikol, eugenol, flavonoid, dan tanin. Senyawa-senyawa tersebut diketahui mampu menghambat pembentukan EPS, aktivitas enzim glukosiltransferase, serta sistem *quorum sensing* yang berperan penting dalam pembentukan biofilm bakteri rongga mulut.⁸

Beberapa penelitian terdahulu melaporkan bahwa ekstrak sirih hijau mampu menghambat biofilm bakteri oral sebesar 60–90%, bahkan hingga 85% pada beberapa isolat.⁹ Namun, sebagian besar penelitian masih berfokus pada ekstrak atau aktivitas antibakteri terhadap sel planktonik, sedangkan penelitian yang mengembangkan ekstrak etanol daun sirih hijau dalam bentuk sediaan *mouthwash* dan mengevaluasi aktivitas penghambatan pembentukan biofilm (MBIC)

serta eradikasi biofilm (MBEC) terhadap bakteri penyebab infeksi rongga mulut masih sangat terbatas. Selain itu, hubungan antara karakteristik fisik sediaan dan efektivitas antibiofilmnya belum banyak dikaji.¹⁰⁻¹³

Berdasarkan kondisi tersebut, penelitian ini memiliki kebaruan berupa pengembangan sediaan *mouthwash* ekstrak etanol daun sirih hijau yang dievaluasi karakteristik fisiknya serta aktivitas penghambatan dan eradikasi biofilm terhadap *Lactobacillus acidophilus*.^{14,15} Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan *mouthwash* herbal antibiofilm yang efektif dan lebih aman sebagai alternatif pengendalian infeksi rongga mulut berbasis biofilm.

METODE PENELITIAN

Ekstraksi Tanaman

Simplisia daun sirih hijau sebanyak 400 g ditimbang dan ditambahkan 100 mL etanol 96% (4:1), kemudian dilakukan proses maserasi selama 3 × 24 jam dengan sesekali pengadukan, cairan penyari disaring dan dipisahkan dengan residunya. Ekstrak cair yang dihasilkan dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada tekanan rendah dengan suhu 70°C hingga diperoleh ekstrak kental daun. Ekstrak kental dipekatkan dan didiamkan pada suhu ruang hingga seluruh sisa pelarut etanol menguap sempurna. Ekstrak kemudian ditimbang dan disimpan dalam wadah kaca tertutup.¹⁶

Pembuatan Inokulum Bakteri

Koloni bakteri *L. acidophilus* yang berasal dari isolat laboratorium diremajakan terlebih dahulu selama 18-24 jam pada media BHI agar. Setelah itu, koloni bakteri hasil peremajaan diambil sebanyak 1 ose dan disuspensikan dalam larutan NaCl fisiologis 0,85% hingga homogen. Kekakuan

disesuaikan dengan standar 0,5 McFarland ($\approx 1,5 \times 10^8$ CFU/mL) menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 625 nm (absorbansi 0,08-0,13). Untuk uji antibiofilm, suspensi 0,5 McFarland diencerkan dalam BHIB + 1% glukosa hingga mencapai kepadatan akhir sekitar 10^6 – 10^7 CFU/mL.¹⁷

Uji Skrining Antibiofilm

Pengujian skrining ekstrak dilakukan menggunakan metode pewarnaan *Crystal Violet* (CV) yang dimodifikasi. Ekstrak diuji pada konsentrasi 0,125%; 0,25%; 0,5%; 1%; dan 2% (b/v). Sebanyak 100 µL larutan sampel dan 100 µL suspensi inokulum dalam BHIB yang mengandung 1% glukosa dimasukkan ke dalam microplate 96-sumur steril. Klorheksidin 0,2% digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan basis *mouthwash* tanpa ekstrak digunakan sebagai kontrol negatif. Microplate diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, supernatan dibuang dan sumur dicuci tiga kali menggunakan PBS steril. Selanjutnya, ditambahkan 125 µL larutan *Crystal Violet* 1% dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang. Sumur kemudian dibilas dengan air steril, dan pewarna yang terikat dilarutkan menggunakan 200 µL etanol 96%. Nilai absorbansi diukur menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm. Proses pengujian dilakukan sebanyak 3 replikasi.¹⁸

Formulasi Sediaan Mouthwash

Konsentrasi ekstrak etanol daun *Piper betle* L. 0,5% (sebagai zat aktif) hasil skrining antibiofilm, diformulasikan ke dalam sediaan *mouthwash*. Formulasi terdiri atas propilen glikol 10% (kosolven), Tween 80 0,75% (surfaktan), sorbitol 0,25% (humektan), natrium benzoate 0,1% (pengawet), minyak peppermint 0,05% (pemberi rasa), dan aquades hingga 100

mL (pelarut). Seluruh komponen dicampurkan dengan pengadukan konstan hingga diperoleh sediaan homogen.¹⁹ Selanjutnya dilakukan evaluasi karakteristik fisik sediaan *mouthwash* meliputi sifat organoleptik, pH, dan viskositas. Evaluasi organoleptik meliputi pengamatan warna, aroma, dan bentuk fisik selama penyimpanan. Pengukuran pH dilakukan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi, sedangkan viskositas ditentukan menggunakan viskometer Ostwald pada suhu ruang.²⁰

Aktivitas Antibiofilm Sediaan *Mouthwash*

Pengujian aktivitas antibiofilm meliputi penentuan penghambatan biofilm menggunakan metode pewarnaan *Crystal Violet* yang dimodifikasi. Formula sediaan *mouthwash* menggunakan zat aktif ekstrak etanol 0,5% b/v, di uji terhadap biofilm bakteri menggunakan media BHIB + 1% glukosa dalam microplate 96-sumur steril. Pada pengujian penghambatan biofilm dari sediaan diinkubasi bersama suspensi bakteri selama 24 jam pada 37°C. Setelah pencucian menggunakan PBS steril, biofilm diwarnai dengan *Crystal Violet* 1%, kemudian pewarna yang terikat dilarutkan menggunakan etanol 96% dan absorbansi diukur pada panjang

gelombang 595 nm menggunakan microplate reader. Chlorhexidine 0,2% dan basis *mouthwash* tanpa ekstrak digunakan sebagai kontrol positif dan negatif. Persentase inhibisi dan eradikasi biofilm dihitung berdasarkan nilai absorbansi yang telah dikoreksi dengan blanko sediaan.^{17,21}

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi simplisia kering daun sirih hijau sebanyak 400 g menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% menghasilkan ekstrak kental sebanyak 28,75 g dengan nilai rendemen sebesar 7,19%.

Hasil ekstraksi memperlihatkan bahwa persen rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 7,19%. Hasil tersebut belum memenuhi standar persen rendemen yang baik yaitu >10%, tetapi lebih tinggi dibandingkan penelitian sebelumnya, menggunakan metode ekstraksi yang sama, sebesar 4,8%. Metode maserasi dipilih karena kemampuan mempertahankan senyawa bioaktif termolabil, seperti flavonoid, fenolik, dan minyak atsiri yang berperan dalam aktivitas antimikroba. Proses pemekatan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dilakukan pada tekanan rendah untuk meminimalkan degradasi termal dan menjaga stabilitas senyawa fitokimia.^{13,22}

Tabel 1. Hasil ekstraksi ekstrak etanol daun sirih hijau

Sampel	Berat Simplisia (gr)	Volume Pelarut (mL)	Rendemen Ekstrak (%)
Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau	400	4000	7,19

Hasil pengujian aktivitas antibiofil berdasarkan penghambatan biofilm, ekstrak menunjukkan aktivitas antibiofilm terhadap *Lactobacillus acidophilus* yang meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak. Konsentrasi 0,5% menghasilkan aktivitas antibiofilm tertinggi dengan nilai OD 0,758 dan inhibisi 44,34 %. Nilai OD yang lebih

rendah menunjukkan berkurangnya biomassa biofilm, sehingga mengindikasikan bahwa senyawa bioaktif dalam ekstrak mampu menghambat pembentukan dan stabilitas matriks biofilm EPS yang berfungsi melindungi bakteri dari berbagai tekanan lingkungan, termasuk agen antimikroba.²³ Aktivitas ini diduga berasal dari kandungan metabolit

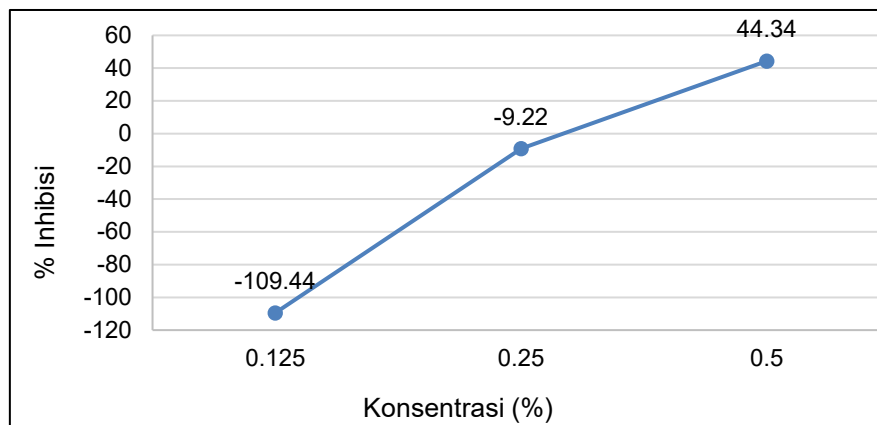
sekunder seperti flavonoid, fenolik, tanin, dan terpenoid yang dapat menghambat adhesi bakteri, menekan produksi EPS, serta mengganggu mekanisme quorum sensing yang berperan dalam pembentukan biofilm.²⁴

Hasil analisis regresi linear penghambatan biofilm dari ekstrak etanol daun

sirih hijau menggunakan konsentrasi ekstrak 0,125%, 0,25% dan 0,5% diperoleh penghambatan tertinggi pada konsentrasi 0,5% sebesar 44,34% terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Tabel 2. Aktivitas antibiofilm ekstrak terhadap *Lactobacillus acidophilus*

Perlakuan	Rata- rata OD	% Inhibisi
Ekstrak 0,5%	0,758	44,34
Ekstrak 0,25%	1,487	-9,22
Ekstrak 0,125%	2,851	- 109,44
Kontrol +	0,699	44,31
Kontrol -	0,866	0



Gambar 1. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak terhadap % inhibisi biofilm *Lactobacillus acidophilus*

Pada konsentrasi 0,5%, aktivitas antibiofilm menurun dengan nilai OD 0,758 dan inhibisi 44,34%, menunjukkan hubungan dosis-respons dimana peningkatan konsentrasi ekstrak meningkatkan efektivitas penghambatan biofilm. Sebaliknya, konsentrasi 0,25% dan 0,125% menghasilkan nilai inhibisi negatif masing-masing sebesar -9,22% dan -109,44%, yang menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut tidak efektif menghambat pembentukan biofilm. Kondisi ini diduga karena jumlah senyawa aktif yang tersedia tidak mencukupi, bahkan dapat memicu respons stres bakteri yang meningkatkan produksi EPS sebagai mekanisme pertahanan diri. Berdasarkan persentase inhibisi, konsentrasi

0,5% tergolong sedang sehingga dapat memungkinkan dengan meningkatkan kadar zat aktif, ekstrak memiliki berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen antibiofilm alami.²⁵

Berdasarkan hasil uji organoleptik selama penyimpanan hingga minggu ke-III, sediaan *mouthwash* menunjukkan stabilitas yang baik pada seluruh parameter yang diamati. Warna sediaan tetap kuning kecoklatan tanpa perubahan selama penyimpanan, yang mengindikasikan tidak terjadinya degradasi atau interaksi bahan yang dapat memengaruhi penampilan sediaan. Bentuk sediaan juga tetap cair dan homogen tanpa adanya pengendapan maupun

pemisahan fase, sehingga menunjukkan kestabilan fisik yang baik. Selain itu, rasa mint tetap terjaga hingga akhir masa pengamatan, menandakan bahwa bahan perasa yang digunakan stabil selama penyimpanan. Tidak

adanya perubahan warna, bentuk, dan rasa menunjukkan bahwa formulasi mouthwash memiliki stabilitas fisik yang baik dan mampu mempertahankan kualitas sediaan selama penyimpanan.¹⁹

Tabel 3. Hasil uji organoleptis sediaan *mouthwash* dengan kadar zat aktif ekstrak etanol 0,5 %

Pemeriksaan	Pengamatan Minggu ke -			
	0	I	II	III
Warna	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan	Kuning kecoklatan
Bentuk	cair	cair	cair	cair
Rasa	mint	mint	mint	mint

Berdasarkan hasil pengamatan, nilai pH sediaan mouthwash pada minggu ke-0 hingga minggu ke-III berturut-turut adalah 5,81; 5,83; 5,83; dan 5,79. Hasil tersebut menunjukkan bahwa tidak terjadi perubahan pH yang signifikan selama masa penyimpanan.

Fluktuasi nilai pH yang sangat kecil mengindikasikan bahwa formulasi memiliki stabilitas kimia yang baik dan mampu mempertahankan derajat keasaman sediaan selama periode pengamatan.²⁰

Tabel 4. Hasil uji pH sediaan *mouthwash* dengan kadar zat aktif ekstrak etanol 0,5 %

Pengamatan Minggu Ke -			
0	I	II	III
5,81	5,83	5,83	5,79

Stabilitas pH merupakan salah satu parameter penting dalam evaluasi mutu *mouthwash* karena dapat memengaruhi stabilitas bahan aktif, efektivitas sediaan, serta kenyamanan penggunaan. Nilai pH yang diperoleh masih berada dalam rentang pH fisiologis rongga mulut, sehingga relatif aman digunakan dan tidak berpotensi menyebabkan iritasi pada mukosa mulut. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa formulasi *mouthwash* memiliki kestabilan pH yang baik selama penyimpanan dan memenuhi persyaratan mutu sediaan cair untuk penggunaan oral.²⁰

Berdasarkan hasil pengujian viskositas, formula *mouthwash* dengan konsentrasi 0,5%

memiliki waktu alir sebesar 26,59 detik dan viskositas sebesar 1,01 cP. Nilai viskositas tersebut menunjukkan bahwa sediaan memiliki kekentalan yang rendah dan mendekati viskositas air, sehingga mudah mengalir serta nyaman digunakan sebagai obat kumur. Viskositas merupakan parameter penting dalam evaluasi sediaan cair karena berpengaruh terhadap stabilitas fisik, kemudahan penggunaan, dan distribusi bahan aktif pada rongga mulut. Nilai viskositas yang rendah pada sediaan mouthwash umumnya diharapkan agar cairan dapat menjangkau seluruh permukaan rongga mulut secara merata saat berkumur.

Tabel 5. Hasil uji viskositas sediaan *mouthwash* dengan zat aktif ekstrak etanol 0,5%

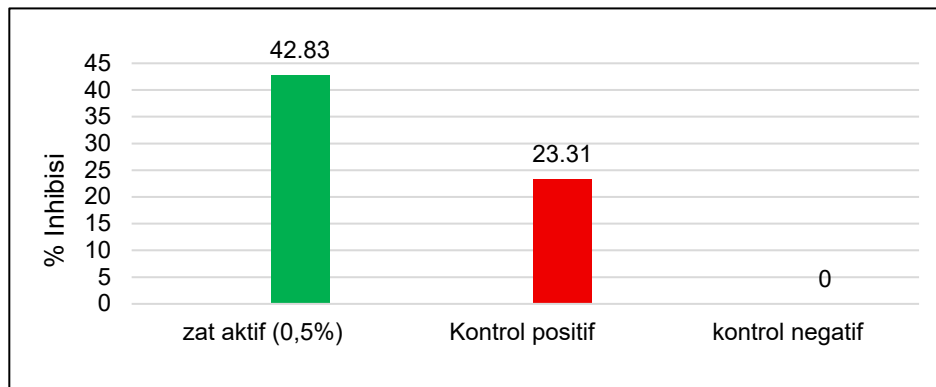
Konsentrasi (%)	Waktu (detik)	Viskositas (cP)
0,5	26,59	1,01

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa formulasi memiliki karakteristik fisik yang sesuai untuk sediaan obat kumur karena tidak terlalu kental maupun terlalu encer. Viskositas yang stabil dan sesuai akan mendukung kenyamanan penggunaan serta menjaga homogenitas sediaan selama penyimpanan. Selain itu, nilai viskositas

sebesar 1,01 cP masih berada dalam kisaran viskositas yang umum ditemukan pada sediaan *mouthwash*, sehingga formulasi dapat dikatakan memenuhi persyaratan fisik dasar untuk penggunaan oral.¹⁹ Berdasarkan hasil pengujian penghambatan biofilm, sediaan dengan konsentrasi ekstrak 0,5% memiliki penghambatan biofilm sebesar 42,83%.

Tabel 6. Hasil Uji Penghambatan Biofilm Sediaan *Mouthwash* Terhadap *Lactobacillus acidophilus*

Perlakuan	Konsentrasi (%)	Mean OD $\pm$ SD	% Inhibisi
Sediaan <i>Mouthwash</i>	0,5	0,357 $\pm$ 0,038	42,83
Kontrol (+)	-	0,479 $\pm$ 0,054	23,31
Kontrol (-)	-	0,625 $\pm$ 0,093	0



Gambar 2. Persentase Inhibisi Biofilm *mouthwash* Terhadap *Lactobacillus acidophilus*

Aktivitas antibiofilm sediaan *mouthwash* mengandung senyawa flavonoid, tanin, senyawa fenolik, dan minyak atsiri seperti eugenol dan chavicol dalam daun sirih hijau. Senyawa tersebut diketahui mampu menghambat adhesi bakteri, merusak integritas membran sel, serta mengganggu mekanisme quorum sensing yang berperan dalam pembentukan biofilm.²⁴ Aktivitas inhibisi terhadap *Lactobacillus acidophilus* berkaitan dengan kemampuan senyawa fenolik dalam menghambat pembentukan *extracellular polymeric substances* (EPS) dan sintesis glukan yang berperan penting dalam pembentukan plak gigi.²⁵ *Lactobacillus acidophilus* relatif lebih rendah dibandingkan bakteri lain karena bakteri tersebut mampu

membentuk matriks biofilm protektif yang dapat menghambat penetrasi agen antibakteri.

Hasil pengujian penghambatan biofilm sediaan *mouthwash* menunjukkan bahwa sediaan *mouthwash* ekstrak etanol daun sirih hijau dengan kadar zat aktif 0,5% memiliki kemampuan mengeradikasi biofilm matang pada *Lactobacillus acidophilus*, dengan aktivitas tertinggi ditunjukkan pada konsentrasi 0,5%. Aktivitas eradikasi ini yang lebih rendah dibandingkan kontrol positif klorheksidin menunjukkan bahwa biofilm matang memiliki tingkat resistensi yang tinggi terhadap senyawa antimikroba. Kondisi ini disebabkan oleh keberadaan matriks *extracellular polymeric substance* (EPS) yang menghambat penetrasi senyawa aktif serta adanya *persister cells* yang

meningkatkan toleransi bakteri terhadap antibakteri.

KESIMPULAN

Hasil evaluasi sediaan mouthwash menggunakan kadar zat aktif ekstrak etanol daun sirih hijau 0,5% memiliki karakteristik sediaan yaitu warna kuning kecoklatan, bentuk cair, rasa mint, pH 5,79, serta viskositas 1,01 cP dengan penghambatan biofilm sebesar sediaan mouthwash sebesar 42,83%.

DAFTAR PUSTAKA

- Sharma S et al. Microbial Biofilm: A Review on Formation, Infection, Antibiotic Resistance, Control Measures, and Innovative Treatment. *Microorganisms*. 2023; 11(6):1614
- Zhu Y et al. Association of Polymicrobial Interactions with Dental Caries Development and Prevention. *Front Microbiol.*; 14. DOI: 10.3389/FMICB.2023.1162380
- Zhu B, Macleod LC, Kitten T, Xu P. *Streptococcus Sanguinis* Biofilm Formation & Interaction with Oral Pathogens. *Future Microbiol.* 2018; 13(8):915–932
- Liu HY, Prentice EL, Webber MA. Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Biofilms. *npj antimicrobials and resistance*; 2(1). DOI: 10.1038/S44259-024-00046-3
- Pinto RM et al. Innovative Strategies Toward the Disassembly of the EPS Matrix in Bacterial Biofilms. *Front Microbiol.*; 11. DOI: 10.3389/FMICB.2020.00952
- Mishra R et al. Natural Anti-Biofilm Agents: Strategies to Control Biofilm-Forming Pathogens. *Front Microbiol.*; 11. DOI: 10.3389/FMICB.2020.566325
- Silva E et al. Evolving Biofilm Inhibition and Eradication in Clinical Settings through Plant-Based Antibiofilm Agents. *Phytomedicine*. 2023; 119:154973
- Nayaka NMDMW et al. *Piper Betle* (L): Recent Review of Antibacterial and Antifungal Properties, Safety Profiles, and Commercial Applications. *Molecules*; 26(8). DOI: 10.3390/MOLECULES26082321
- Wright PP, Ramachandra SS. Quorum Sensing and Quorum Quenching with a Focus on Cariogenic and Periodontopathic Oral Biofilms. *Microorganisms*; 10(9). DOI: 10.3390/MICROORGANISMS10091783
- Lao RCC et al. In Vitro Antibacterial and Antibiofilm Activities of *Piper Betle* L. Ethanolic Leaf Extract on *Staphylococcus Aureus* ATCC 29213. *Acta Med Philipp.* 2023; 57(12):53
- Fitriana NF, Mukhlisah NRI. Review: Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* Linn.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *MEDFARM: Jurnal Farmasi dan Kesehatan*. 2024; 13(1):32–46
- Eva AFZ et al. Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans*. *Sinnun Maxillofacial Journal*. 2023; 5(01):32–38
- Almasyhuri, Sundari D. Uji Aktivitas Antiseptik Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper Betle* Linn.) Dalam Obat Kumur Terhadap *Staphylococcus Aureus* Secara in Vitro. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2019; :10–18
- Jalil V, Khan M, Haider SZ, Shamim S. Investigation of the Antibacterial, Anti-Biofilm, and Antioxidative Effect of *Piper Betle* Leaf Extract against *Bacillus Gaemokensis* MW067143 Isolated from Dental Caries, an In Vitro-In Silico Approach. *Microorganisms*; 10(12). DOI: 10.3390/MICROORGANISMS10122485
- Row S. Effect of *Piper Betle* Leaf Extract on Biofilm Formation and Antibacterial Activity on Oral Isolates. *Rajiv Gandhi Institute of IT and Biotechnology*. DOI: 10.21203/rs.3.rs-6639539/v1
- Herwin, Nurung AH, Ambo NI, Naid T. Identifikasi Komponen Kimia Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (*Lawsonia Inermis* L.) Sebagai Antibakteri Dan Antioksidan. *Journal Microbiology Science*,. 2022; 2(1):26–33
- Hamzah H et al. Antibiofilm Studies of Zerumbone against Polymicrobial Biofilms of *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli*, *Pseudomonas Aeruginosa*, and *Candida Albicans*. *International Journal of*

- Pharmaceutical Research*. 2020; 12(sp1):1307–1314
- 700603: In Vitro Study. *Majalah Obat Tradisional*. 2025; 30(1):110–120
18. Herwin et al. Analysis Of Secondary Metabolites And Antibiofilm Activity Of Ethanol Extract Symbiont Bacteria Isolate From *Polycarpa Aurata* In Barrang Lompo Island, Makassar City. *IOSR J Pharm Biol Sci*. 2025; 20(3):1–8
 19. Rahayu YP, Sutikno, Sirait US. Formulasi Sediaan Obat Kumur (Mouthwash) Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp.) Dan Uji Antibakterinya Terhadap *Streptococcus Mutans* Secara In Vitro. *Pros Semin Nas Has Penelit*. 2022; 5(1):370–379
 20. Pardeny VI et al. *Formulasi Obat Kumur Ekstrak Daun Leunca (Solanum Nigrum L.) Dan Uji Aktivitasnya Terhadap Streptococcus Mutans*. Bandung. 2022
 21. Inayati I, Hartono H, Indarto D, Suryawati B. Antibacterial and Antibiofilm of *Cinnamomum Burmanii* Bark Oil (CbBO) against *Klebsiella Pneumoniae* ATCC 700603: In Vitro Study. *Majalah Obat Tradisional*. 2025; 30(1):110–120
 22. Kementerian Kesehatan RI. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI. 2017
 23. Elawady R et al. Antimicrobial Sub-MIC Induces *Staphylococcus Aureus* Biofilm Formation without Affecting the Bacterial Count. *BMC Infect Dis*.; 24(1). DOI: 10.1186/S12879-024-09790-3
 24. Bouyahya A et al. Mechanisms, Anti-Quorum-Sensing Actions, and Clinical Trials of Medicinal Plant Bioactive Compounds against Bacteria: A Comprehensive Review. *Molecules*.; 27(5). DOI: 10.3390/MOLECULES27051484
 25. Castellanos JS, Betancourt DE, Díaz-Báez D, Baldi3n PA. Effect of Flavonoids from Grape Seed and Cranberry Extracts on the Microbiological Activity of *Streptococcus Mutans*: A Systematic Review of in Vitro Studies. *BMC Oral Health* 2024 24:1. 2024; 24(1):662-