

Antibacterial potential of red betel Leaf (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) against *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586

Potensi antibakteri ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terhadap *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586

¹Aditya Syahrul Ramadhan, ²Dian Lesmana, ³Philips Onggowidjaja

¹Fakultas Kedokteran Gigi/ Universitas Kristen Maranatha, Bandung, Indonesia

²Departmen Fisiologi, Fakultas Kedokteran Gigi/ Universitas Kristen Maranatha, Indonesia

³Departmen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran/ Universitas Kristen Maranatha, Indonesia

Corresponding author: dian.lesmana@dent.maranatha.edu

ABSTRACT

The micro-organism that affects periodontitis is *Fusobacterium nucleatum*. To inhibit the growth of these micro-organisms, alternative herbal medicines are used, such as red betel leaf extract (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) because it contains tannins, flavonoids, and saponins which have antibacterial and anti-inflammatory properties. This study was conducted to determine the antibacterial potential of RBL against the bacteria *F. nucleatum* ATCC 25586 using the agar diffusion method (Kirby-Bauer) with chlorhexidine as a positive control, aquadestas a negative control, RBL ethanol extract with concentrations of 10%, 15%, 20%, 25%, and 30%. Replication 3 times, so the total samples are 21 plates. Data were analyzed by one-way Anova using SPSS v.21. The ethanol extract of RBL appeared to have weak inhibition at concentrations of 10% and 15% and strong inhibition at concentrations of 20%, 25%, and 30% against *F. nucleatum* ATCC 25586. It was concluded that there was a strong antibacterial potential of RBL extract against *F. nucleatum* ATCC 25586 at a concentration of 30%.

Key words: red betel leaf extract (*Piper crocatum* Ruiz & Pav), *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, Kirby-Bauer

ABSTRAK

Organisme mikro yang berpengaruh pada periodontitis adalah *Fusobacterium nucleatum*. Untuk menghambat pertumbuhan organisme mikro tersebut digunakan obat herbal sebagai alternatif, misalnya ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) karena mengandung senyawa tanin, flavonoid, dan saponin yang bersifat antibakteri dan anti-inflamasi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi antibakteri DSM terhadap bakteri *F. nucleatum* ATCC 25586 menggunakan metode difusi agar (Kirby-Bauer) dengan *chlorhexidine* sebagai kontrol positif, akuades sebagai kontrol negatif, ekstrak etanol DSM konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%. Replikasi sebanyak 3 kali, sehingga total objek penelitian sebanyak 21 plat. Data dianalisis dengan *one-way* Anova menggunakan SPSS v.21. Ekstrak etanol DSM tampak memiliki daya hambat lemah pada konsentrasi 10% dan 15% serta daya hambat kuat pada konsentrasi 20%, 25%, dan 30% terhadap *F. nucleatum* ATCC 25586. Disimpulkan bahwa terdapat potensi antibakteri ekstrak DSM yang kuat terhadap bakteri *F. nucleatum* ATCC 25586 pada konsentrasi 30%.

Kata kunci: ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav), *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, Kirby-Bauer

Received: 30 September 2022

Accepted: 22 October 2022

Published: 1 December 2022

PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut penting untuk dijaga karena mulut merupakan tempat masuknya makanan yang menjadi sumber nutrisi dan energi bagi tubuh. Kebersihan rongga mulut yang tidak memadai menyebabkan akumulasi plak sehingga timbul berbagai macam penyakit, salah satunya adalah penyakit periodontal.^{1,2} Tahap awal penyakit periodontal berupa peradangan, perubahan warna, dan perdarahan pada gingiva. Gingivitis dipicu oleh terbentuknya plak pada gigi dan umumnya terjadi pada daerah yang sulit dibersihkan seperti permukaan linguoprosimal gigi posterior rahang bawah. Gingivitis yang tidak diobati dapat berkembang menjadi periodontitis dan menyebabkan resorpsi tulang.³

Periodontitis menjadi penyakit inflamasi kronis, disebabkan oleh plak dan karang gigi yang memengaruhi ligamen periodontal dan tulang di sekitar gigi.⁴ Manifestasi klinis periodontitis berupa proses inflamasi kronis pada gingiva, kerusakan jaringan periodontal, kehilangan tulang alveolar, terbentuknya poket periodontal,

dan gigi goyah atau migrasi.⁵ Periodontitis dapat disebabkan oleh akumulasi bakteri. Beberapa bakteri yang menyebabkan penyakit periodontitis yaitu *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (42,2%), *Fusobacterium nucleatum* (55%), *Peptostreptococcus micros* (3%) dan *Tannerella forsythia* (4%).⁶ *F. nucleatum* ATCC 25586 adalah bakteri yang paling dominan, anaerobik gram negatif, berbentuk batang dan ditemukan pada plak gigi membentuk biofilm dan menyebabkan peradangan pada jaringan periodontal, serta berperan penting dalam proses terjadinya penyakit periodontitis.⁷

Salah satu terapi yang dapat dilakukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri penyebab periodontitis antara lain kontrol plak, *scaling* dan *root planing* serta antibiotik metronidazol, tetrasiklin, dan amoksisilin.⁸ Namun penggunaan antibiotik dalam kurun waktu yang lama akan menimbulkan berbagai efek samping seperti reaksi hipersensitif, reaksi toksik, dan resistensi pada bakteri.⁹ Saat ini, popularitas terapi herbal dari bahan alam telah mengalami peningkatan karena dinilai lebih

aman daripada obat modern, karena memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit daripada obat modern.^{10,11} Salah satu tanaman herbal yang secara empiris biasa digunakan sebagai obat tradisional adalah daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav).

Tanaman sirih merah lebih banyak dikenal sebagai tanaman hias dan tumbuh merambat di pagar atau pohon. Daunnya bertangkai membentuk jantung, bagian atas meruncing, bertepi rata, permukaannya kilap dan tidak berbulu. Panjang daunnya bisa mencapai 15-20 cm. Warna daun bagian atas hijau bercorak putih keabu-abuan. Bagian bawah daun berwarna merah hati cerah, daunnya berlendir, dengan rasa sangat pahit, beraroma wangi khas sirih, batangnya bersulur dan beruas dengan jarak 5-10 cm.¹² Secara umum daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) mengandung minyak atsiri yang memiliki sifat sebagai antibakteri.¹³

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan, bertujuan untuk mencegah penyebaran dan infeksi, membasmi organisme mikro pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta merusakkan bahan oleh organisme mikro.¹⁴ Selain minyak atsiri, beberapa peneliti juga mendapatkan kandungan bermanfaat lain dalam DSM seperti saponin, tanin, dan flavonoid yang bersifat antibakteri dan anti-inflamasi.¹¹

METODE

Penelitian ini menggunakan *F. nucleatum* ATCC 25586 yang didapatkan dari Laboratorium Research Center Universitas Airlangga Surabaya, dengan desain penelitian eksperimen laboratorik secara *in vitro* menggunakan metode difusi cakram (uji Kirby-Bauer) yang menghasilkan diameter zona hambat. Satu kg DSM diperoleh dari perkebunan di Cicalengka, diekstraksi dengan teknik maserasi menggunakan etanol 96% di Laboratorium Farmakologi ITB sampai diperoleh ekstrak dalam wujud kental (*Extractum spissum*). Konsentrasi ekstrak DSM yaitu 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%, kontrol negatif adalah akuades, dan kontrol positif adalah *chlorhexidine gluconate* 0,2%.

F. nucleatum ATCC 25586 diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian beberapa koloni bakteri dimasukkan ke dalam larutan NaCl sebanyak 1-2 mL, lalu diinkubasi selama 2-4 jam pada suhu 37°C, kemudian diencerkan dengan menambah *brain heart infusion* (BHI) hingga konsentrasi bakteri menjadi 10⁶ CFU/mL. Hasil suspensi diambil sebanyak 100 µL lalu ditetaskan ke dalam media *Mueller Hinton agar* (MHA) yang telah memadat dan diratakan dengan memakai batang L. Selanjutnya, cakram kontrol positif, cakram kontrol negatif dan cakram yang mengandung ekstrak etanol DSM dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%. Cakram-cakram ini diletakkan pada permukaan

media yang mengandung suspensi organisme mikro uji. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu diamati diameter daya hambat (DDH) yang terbentuk di sekeliling cakram dan diukur memakai jangka sorong. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan, sehingga diperoleh 21 plat agar. Zona bening yang terbentuk di sekeliling lubang diukur sebagai zona hambat berdasarkan kriteria Davis dan Stout.¹⁵ Data di-uji dengan menggunakan teknik uji *one-way* Anova dan uji *Duncan* dengan SPSS v.21.

Tabel 1 Kategori diameter zona hambat¹⁵

Diameter	Kuat Daya Hambat
≤ 5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
>10-20 mm	Kuat
>20-30 mm	Sangat kuat

HASIL

Hasil uji potensi antibakteri ekstrak etanol DSM terhadap *F. nucleatum* ATCC 25586 menurut kuat daya hambat (Tabel 1) dengan rata-rata (*mean*) dan simpangan baku (SB) disajikan pada Tabel 2, yaitu rerata pertumbuhan *F. nucleatum* ATCC 25586 yang diberikan larutan *chlorhexidine gluconate* 0,2% sebesar 30,467 mm. Rerata pertumbuhan bakteri yang diberi ekstrak DSM 20% sebesar 11,400 mm. Rerata pertumbuhan bakteri yang diberi ekstrak DSM 25% sebesar 15,600 mm, sedangkan untuk rerata pertumbuhan bakteri yang diberi ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 30% sebesar 19,333 mm.

Tabel 2 Rata-rata pertumbuhan *F. nucleatum* ATCC 25586

Kelompok	Rata-rata Pertumbuhan Bakteri	
	Mean	SB
Kontrol Positif	30,467 mm	0,833
Kontrol Negatif	0,000 mm	0,000
Konsentrasi 10%	0,000 mm	0,000
Konsentrasi 15%	0,000 mm	0,000
Konsentrasi 20%	11,400 mm	0,200
Konsentrasi 25%	15,600 mm	0,721
Konsentrasi 30%	19,333 mm	0,808



Gambar 1 Pengamatan zona hambat ekstrak DSM terhadap *F. nucleatum* ATCC 25586; A kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2%, B kontrol negatif akuades, C ekstrak DSM 30%, D ekstrak DSM 25%, E ekstrak DSM 20%, F ekstrak DSM 15%, G ekstrak DSM 10%.

Tabel 3 Perbandingan daya antibakteri ekstrak DSM terhadap *F.nucleatum* ATCC 25586

Uji Anova	
F-hitung	421,166
F-tabel	4,066
P value	0,000
Simpulan	Bermakna

Tabel 4 Uji *Duncan* pada daya antibakteri ekstrak DSM terhadap *F.nucleatum* ATCC 25586

Kelompok	Pengelompokkan Hasil Uji Duncan			
	1	2	3	4
Konsentrasi 20%	11,40			
Konsentrasi 25%		15,60		
Konsentrasi 30%			19,30	
Kontrol Positif				30,47

Uji *one-way* Anova digunakan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan efek antibakteri dari ekstrak DSM terhadap *F.nucleatum* ATCC 25586 tampak pada Tabel 3, yaitu nilai uji Anova berdasarkan zona hambat pertumbuhan *F.nucleatum* ATCC 25586 yang telah diberikan ekstrak DSM 20%, 25%, dan 30% dengan *chlorhexidine gluconate* 0,2% sebagai kontrol positif. Terlihat bahwa nilai F_{hitung} yang diperoleh sebesar 421,166, sedangkan nilai F_{tabel} sebesar 4,066. Demikian pula *p-value* yang dihasilkan sebesar 0,000 ($< 0,05$). Disimpulkan bahwa terdapat perbedaan bermakna daya antibakteri dari ekstrak DSM terhadap *F.nucleatum*.

Perbedaan rinci yang terjadi pada setiap kelompok diujikan lanjut menggunakan uji *Duncan* yang tampak pada Tabel 4; rerata pertumbuhan *F.nucleatum* ATCC 25586 tertinggi terjadi pada kelompok kontrol positif sebesar 30,47 mm; tertinggi kedua pada 30% sebesar 19,30 mm, diikuti berturut-turut oleh kelompok ekstrak DSM dengan konsentrasi 25% sebesar 15,60 mm dan konsentrasi 20% sebesar 11,40 mm.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian eksperimen laboratorium mengenai potensi antibakteri ekstrak etanol DSM 10%, 15%, 20%, 25%, 30% menunjukkan bahwa ekstrak etanol DSM memiliki potensi sebagai antibakteri pada konsentrasi 20%, 25% dan 30% dalam menghambat pertumbuhan *F.nucleatum* ATCC 25586. Tabel 2 memperlihatkan rerata diameter zona hambat pada konsentrasi 20% sebesar 11,400 mm, 25% sebesar 15,600 mm, dan 30% sebesar 19,333 mm; jika dibandingkan dengan *chlorhexidine gluconate* 0,2% sebagai kontrol positif, maka hasil pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram konsentrasi 30% adalah yang paling mendekati, yaitu rerata 19,333 mm dibandingkan dengan konsentrasi 20% dan 25%. Menurut Davis dan Stout,¹⁵ kriteria potensi antibakteri terlihat dari diameter zona hambat (Tabel 1). Kriteria inilah yang diguna-

kan untuk menggolongkan daya hambat kontrol dan bahan uji sampel. Berdasarkan konsentrasi tersebut kelompok kontrol negatif, 10%, dan 15% masuk dalam kategori lemah, sedangkan kelompok 20%, 25%, dan 30% masuk dalam kategori kuat dan kontrol positif masuk dalam kategori sangat kuat.^{15,16}

Pada penelitian ini diketahui dari hasil uji fitokimia di Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran serta artikel pendukung lainnya, bahwa DSM mengandung senyawa aktif seperti tanin, flavonoid, saponin dan triterpenoid yang memiliki sifat antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstrak sel yang mengganggu integritas membran sel *F.nucleatum* yang merupakan spesies dari genus *Fusobacterium*, yang termasuk dalam famili *bacteroidaceae*. Bakteri ini bersifat anaerobik, namun masih dapat tumbuh dengan kadar oksigen hingga 6%; dapat dihambat pertumbuhannya dengan kandungan senyawa tanin, flavonoid, saponin dan triterpenoid yang terdapat di dalam DSM.¹⁷

Tanin merupakan salah satu jenis senyawa golongan polifenol dan memiliki sifat larut dalam air dan pelarut organik yang banyak dijumpai pada tumbuhan. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim *reverse* transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk. Tanin juga memiliki target pada polipeptida dinding sel sehingga dinding sel menjadi kurang sempurna.¹⁸ Organisme mikro yang tumbuh di bawah kondisi anaerobik membutuhkan zat besi untuk berbagai fungsi, termasuk reduksi prekursor ribonukleotida DNA. Kapasitas pengikat besi yang kuat oleh tanin, sehingga mengganggu proses pengikatan zat besi yang dibutuhkan oleh bakteri.¹⁹

Senyawa flavonoid yang terdapat dalam DSM bekerja sebagai antibakteri dengan menghambat sintesis asam nukleat, dan menghambat fungsi membran sitoplasma dan metabolisme energi dari bakteri.²⁰ Mekanisme kerja flavonoid terhadap *F.nucleatum* adalah membentuk kompleks dengan protein ekstrak sel dan dinding sel bakteri, selain itu flavonoid bersifat lipofilik yang dapat merusak membran mikroba tersebut.²¹

Mekanisme saponin sebagai antibakteri yaitu dapat terkait dengan lipopolisakarida pada dinding sel bakteri sehingga meningkatkan permeabilitas dinding sel serta menurunkan tegangan permukaan dinding sel sehingga ketika terjadi interaksi, dinding akan mengalami lisis sehingga zat antibakteri masuk ke dalam sel dengan mudah dan mengakibatkan terjadinya kematian bakteri.²²

Mekanisme senyawa triterpenoid sebagai antibakteri, yaitu bereaksi dengan porin sebagai protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer kuat sehingga merusakkan porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan

sel akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati.²³

Juliantina dkk²⁴ membuktikan bahwa ekstrak DSM mengandung zat-zat yang bersifat antibakteri dan memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif.²⁴ Berdasarkan hasil uji po-

tensi antibakteri dari ekstrak DSM terhadap *F. nucleatum* ini, menunjukkan perbedaan yang cukup besar jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya.

Disimpulkan bahwa terdapat potensi antibakteri ekstrak daun sirih merah yang kuat terhadap bakteri *F. nucleatum* ATCC 25586 pada konsentrasi 30%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Notohartoyo IT, Suratri LMA. Menyikat gigi, konsumsi buah dan sayur, aktivitas fisik, diabetes mellitus dengan jaringan periodontal gigi di Indonesia, tahun 2013. *Bul Penelit Sist Kesehat* 2017;19(4):5-7. eudoi:10.22435/hsr.v19i4.6839.219-225
2. Anitasari S, Rahayu NE. Hubungan frekuensi menyikat gigi dengan tingkat kebersihan gigi dan mulut siswa sekolah dasar negeri di kecamatan Palaran, Samarinda Kalimantan Timur. *Dent J* 2005;38(2):88. doi:10.20473/j.djmk.v38.i2.p88-90
3. Prananta HI, Purwanto P, Misrohmasari EAA, Probosari N, Dwiati Moko S. Perbedaan indeks plak setelah pengolesan ekstrak daging buah naga merah (*Hylocereus costaricensis*) dan larutan pengungkap. *Stomatognatic - J Kedokt Gigi*. 2019;16(1):21. doi:10.19184/stoma.v16i1.19957
4. Liccardo D, Cannavo A, Spagnuolo G. Periodontal disease: A risk factor for diabetes and cardiovascular disease. *Int J Mol Sci* 2019;20(6):1414-1418. doi:10.3390/ijms20061414
5. Ticoalu JP, Kepel BJ, Mintjelungan CN. Hubungan periodontitis dengan penyakit jantung koroner pada pasien di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. *e-GIGI*. 2016;4(2):5-9. doi:10.35790/eg.4.2.2016.14222
6. Merglova V, Koberova-Ivancakova R, Broukal Z, Dort J. The presence of cariogenic and periodontal pathogens in the oral cavity of one-year-old infants delivered pre-term with very low birthweights: A case control study. *BMC Oral Health* 2014;14(1):109-113. doi:10.1186/1472-6831-14-109
7. Signat B, Roques C, Poulet P, Duffaut D. Role of *Fusobacterium nucleatum* in periodontal health and disease. *Curr Issues Mol Biol* 2011;13(2):25-36.
8. Wahyudi MA. Perbedaan kadar matrix metalloproteinase-8 setelah scalling dan pemberian tetrasiklin pada penderita periodontitis kronis. *J PDGI* 2009;58(1):1-6.
9. Azodo C, Umoh A. Association between periodontal status, oral hygiene status and tooth wear among adult male population in Benin City, Nigeria. *Ann Med Health Sci Res* 2013;3(2):149. doi:10.4103/2141-9248.113652
10. Sidiqa AN, Herryawan H. Efektifitas gel daun sirih merah (*Piper crocatum*) pada perawatan periodontitis kronis. *Kartika J Ilm Farm* 2017;5(1):7-10. doi:10.26874/kjif.v5i1.81
11. Sari Lork. Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan manfaat dan keamanannya. *Pharm Sci Res* 2006;3(1):1-7. doi:10.7454/psr.v3i1.3394
12. Sudewo. Basmi penyakit dengan sirih merah: sirih merah pembasmi aneka penyakit. *Agromedia Pustaka* 2010;2(1):37-47
13. Lidya Safitri G, Wibowo AM, Idiawati N. Uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar buah asam paya (*Eleiodoxa conferta* (Griff.) Buret) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella thypi*. *J Kim Khatulistiwa*. 2017;6(1):17-20.
14. Utomo SB, Fujiyanti M, Lestari WP, Mulyani S. Antibacterial activity test of the C-4-methoxyphenylcalix[4]resorcinarene compound modified by hexadecyltrimethylammonium-bromide against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. *Jurnal Kim dan Pendidik Kim* 2018;3(3):201. doi:10.20961/jkpk.v3i3.22742
15. Morales G, Sierra P, Mancilla A. Secondary metabolites from four medicinal plants from northern Chile: Antimicrobial activity and biotoxicity against *Artemia salina*. *J Chil Chem Soc* 2003;48(2):13-8. doi:10.4067/s0717-97072003000200002
16. Andries JR, Gunawan PN, Supit A. Uji efek anti bakteri ekstrak bunga cengkeh terhadap bakteri *Streptococcus mutans* secara in vitro. *e-GIGI*. 2014;2(2):2-8. doi:10.35790/eg.2.2.2014.5763
17. Gunnsteinn Haraldsson, ([Yliopistopaino]). Oral commensal *Prevotella* species and *Fusobacterium nucleatum*: identification and potential pathogenic role. Published online 2005.
18. Fathurrahman NR, Musfiroh I. Teknik analisis instrumentasi senyawa tanin. *Farmaka* 2018;4(2):449-56.
19. Sepvianti W. Uji aktivitas antibakteri senyawa 4 dimetilaminokalkon terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *E. coli* ATCC. *J Kesehat Tanbusai* 2021;2(3):236-40.
20. Pendit PACD, Zubaidah E, Sriherfyna FH. Karakteristik fisik-kimia dan aktivitas antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *J Pangan dan Agroindustri* 2015;4(1):400-9. <https://jpa.ub.ac.id/index.php/jpa/article/view/342>
21. Dwicahyani T, Sumardianto, Rianingsih L. Uji bioaktivitas ekstrak teripang keling *Holothuria atra* sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J Peng Biotek Has Pi* 2018;2(2):2016.
22. Manik DF, Hertiani T, Anshory H. Analisis korelasi antara kadar flavonoid dengan aktivitas antibakteri ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun kersen terhadap *S. aureus*. *Khazanah* 2014;6(2):1-11. doi:10.20885/khazanah.vol6.iss2.art1
23. Halimah H, Sauci DM, Wijayanti I. Studi potensi penggunaan daun mengkudu sebagai bahan antibakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium*. *J Ilmu Pertan Indones* 2019;24(1):58-64. <http://journal.ipb.ac.id/index.php/JIPI>
24. Rachmawaty FJ, Citra DA, Nirwani B, Nurmasitoh T, Tri Bowo E. Manfaat sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai agen antibakteri terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. *J Kedokt dan Kesehat Indones*. 2009;1(1):12-20. doi:10.20885/jkki.vol1.iss1.art3.