

## Daya Hambat Ekstrak Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill.*) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*

*(The Inhibition Effect of Manalagi Apple (Malus sylvestris Mill.) Extract to The Growth of Porphyromonas gingivalis)*

Anugerah Nur Yuhyi, Depi Praharani, Melok Aris W.

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Korespondensi: Anugerah Nur Yuhyi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Jl. Kalimantan 37, Jember 68121. e-mail. igaany@gmail.com

### ABSTRACT

**Background:** Periodontal disease is an inflammation of supporting tooth tissue and if left untreated, tooth loss might occur. One of bacteria that cause periodontal disease is *P. gingivalis*. The infection can be treated by synthetic or natural antibacterial. One of natural antibacterial ingredients that can substitute synthetic antibacterial is Manalagi apple. **Objective:** To determine the inhibitory effect of Manalagi apple extract on the growth of *P. gingivalis* and Manalagi apple extract smallest concentration which still be able to inhibit the growth of *P. gingivalis*. **Methods:** The study was in vitro laboratory experiment with the pre-post test only control group design. The inhibition test used paper disc diffusion method. The inhibition effect was shown by the inhibition zone that as clear region at surrounding the paper disc. The sample was into 5 groups: positive control, negative control, and Manalagi apple extract consisted of 100%, 50% and 25% concentration. **Results:** The results showed that the Manalagi apple extract concentration of 100% and 50% had inhibition zone, but concentration of 25% had no inhibition zone. **Conclusion:** Manalagi apple extract was able to inhibit the growth of *P. gingivalis* bacteria and the minimum concentration of Manalagi apple extract which can inhibit the growth of *P. gingivalis* was the concentration of 50%.

**Keywords:** Antibacterial, extract, Manalagi apple, *P. Gingivalis*

### Pendahuluan

Penyakit gigi dan mulut merupakan penyakit yang diderita oleh sebagian besar penduduk Indonesia. Salah satu penyakit gigi dan mulut yang memiliki prevalensi cukup tinggi di masyarakat adalah penyakit periodontal. Berdasarkan hasil Survey Kesehatan Rumah Tangga-Survey Kesehatan Nasional (SKRT) prevalensi penyakit periodontal menduduki urutan kedua dengan jumlah 42,8% penduduk Indonesia.<sup>1</sup>

Penyakit periodontal dapat didefinisikan sebagai suatu peradangan yang terjadi pada

jaringan pendukung gigi dan apabila tidak dirawat maka dapat menyebabkan kehilangan gigi.<sup>2</sup> Penyakit periodontal yang sering ditemukan adalah gingivitis dan periodontitis. Gingivitis merupakan penyakit periodontal yang hanya mengenai gingiva sedangkan periodontitis merupakan penyakit periodontal yang mengenai struktur yang lebih dalam.<sup>2</sup>

Penyebab utama penyakit periodontal adalah bakteri plak serta produk-produknya. Bakteri plak yang dijumpai pada gingivitis berbeda dengan bakteri yang dijumpai pada periodontitis. Spesies

bakteri pada gingivitis lebih didominasi spesies bakteri Gram positif dari pada Gram negatif. Sedangkan bakteri yang terlibat sebagai patogen pada periodontitis didominasi spesies bakteri Gram negatif anaerob. Pada periodontitis kronis bakteri yang paling sering ditemukan meliputi *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Elkenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Peptostreptococcus micros*, spesies *Treponema* dan *Eubacterium*. Sedangkan pada periodontitis agresif ditemukan keberadaan sejumlah besar *A. actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga spp.* dan *Porphyromonas gingivalis*.<sup>2</sup>

*Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri yang dijumpai baik pada periodontitis kronis maupun periodontitis agresif. Patogen periodontal ini adalah bakteri obligat anaerob Gram negatif yang tidak berspora (*non-spore forming*), tak punya alat gerak (*nonmotile*) dan berbentuk *coccobacilli*.<sup>3</sup>

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri dapat diatasi dengan pemakaian bahan yang bersifat antibakteri. Bahan yang bersifat antibakteri dapat berasal dari sintesis dan alami.<sup>4</sup> Penggunaan antibakteri sintetis sering dapat menimbulkan efek samping, serta mengakibatkan resistensi terhadap bakteri-bakteri tertentu.<sup>5</sup> Oleh karena itu banyak dilakukan penelitian untuk mencari bahan alternatif yang berasal dari bahan alami.

Bahan antibakteri alami yang diharapkan dapat dijadikan bahan alternatif salah satunya adalah apel. Buah apel merupakan buah yang sangat populer di masyarakat dan mempunyai banyak khasiat bagi

tubuh. Buah ini dapat digunakan sebagai obat batuk, penghancur batu ginjal, melancarkan pencernaan, membersihkan tubuh dari racun dan mengobati peradangan di dalam tubuh.<sup>6</sup> Mengunyah apel setiap hari juga dapat membantu membersihkan gigi dan mencegah gusi berdarah. Selain itu, apel juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri.<sup>7</sup>

Jenis apel bermacam-macam, di Indonesia sendiri terdapat beberapa jenis apel yang dikembangkan diantaranya yaitu Rome Beauty, Manalagi, Princess Nobble, Wanglin, dan New Zealand.<sup>8</sup> Jenis apel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu apel Manalagi. Apel Manalagi merupakan jenis apel lokal, rasanya manis, mudah didapat dan harganya cukup terjangkau. Apel Manalagi telah diteliti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus alpha*, *Salmonella thyposa*, dan *Streptococcus mutans*. Ekstrak apel Manalagi dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus alfa* mulai konsentrasi 40%. Sedangkan ekstrak apel Manalagi dengan konsentrasi 25% sudah dapat menghambat pertumbuhan *S. thyposa*<sup>9</sup> dan *S. mutans*.<sup>10</sup>

Berdasarkan uraian tersebut dan dengan melihat manfaat serta kandungan yang dimiliki oleh buah apel dan belum ada penelitian mengenai daya hambat ekstrak apel Manalagi terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*, maka penulis ingin melakukan penelitian mengenai kemampuan ekstrak apel Manalagi dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* dan konsentrasi terkecil ekstrak apel Manalagi yang masih dapat menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*.

## Metode Penelitian

Jenis penelitian ini eksperimental laboratoris *in vitro* dan rancangan yang digunakan adalah *the pre-post test only control group design*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium *Bioscience* RSGM Universitas Jember. Sampel dalam penelitian ini berjumlah 15 dan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol positif (*chlorhexidine* 0,2%), kontrol negatif (aquadest steril), dan ekstrak apel Manalagi konsentrasi 100%, 50%, dan 25%.

### Pembuatan ekstrak apel Manalagi.

Daging buah apel manalagi seberat 1 kg, dipotong-potong tipis dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C selama 24 jam kemudian dihaluskan dengan *blender*, sehingga diperoleh daging buah apel serbuk yang halus. Selanjutnya serbuk tersebut dimaserasi dengan perbandingan 300 gr serbuk dimasukkan ke dalam botol dan ditambahkan 2000 ml etanol 70%, botol ditutup dan dikocok berulang-ulang di atas *shaker*, disimpan selama 2x24 jam kemudian disaring dengan kertas saring. Hasil filtratnya diuapkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 45°C, sehingga didapatkan ekstrak konsentrasi 100% sebanyak 140 ml. Setelah itu dilakukan pengenceran ekstrak apel Manalagi secara serial. Sediaan ekstrak konsentrasi 50% dibuat dengan cara mengambil 1 ml sediaan 100% yang dicampur 1ml aquadest steril. Sediaan ekstrak konsentrasi 25% dibuat dengan cara mengambil 1 ml sediaan 50% yang dicampur 1 ml aquadest steril.

### Pembuatan suspensi *P. gingivalis*.

Satu ose *P. gingivalis* ATCC 33277 dari galur murni dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media BHI-B yang diperkaya sebanyak 2 ml, kemudian tabung reaksi tersebut ditutup kapas dan dimasukkan dalam *desicator* untuk

mendapatkan suasana fakultatif anaerob. Selanjutnya *desicator* dimasukkan ke dalam *incubator* dengan suhu 37°C selama 2x24 jam. Selanjutnya suspensi *P. gingivalis* dalam tabung reaksi tersebut dikocok menggunakan *thermolyne* dan diukur tingkat kekeruhannya menggunakan *spektrofotometer* dengan larutan standar Mc. Farland 0,5 secara visual.

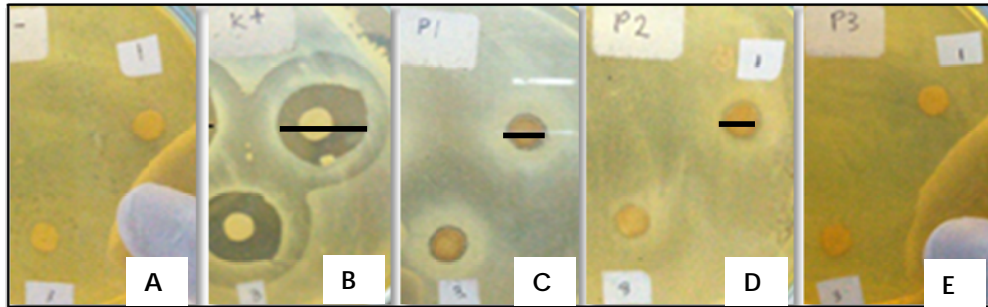
### Uji daya hambat.

Media BHI-A hangat dituang ke dalam setiap *Petridish* hingga mencapai ketebalan 4 mm, inokulasikan 0,1 ml suspensi *P. gingivalis* dengan *sput* pada media tersebut, ratakan dengan gigaskrin, ditunggu sampai padat sehingga didapatkan media lempeng BHI-A. Pada setiap media lempeng BHI-A yang telah diinokulasi dengan *P. gingivalis* tersebut diletakkan 3 *paper disc* berdiameter 6 mm yang masing-masing ditetesi bahan sesuai kelompoknya sebanyak 10 µl dengan mikropipet. Selanjutnya dimasukkan dalam *desicator* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam. Setelah 2x24 jam dilakukan pengukuran diameter zona hambat dengan jangka sorong oleh 3 orang pengamat kemudian diambil rata-rata.

### Hasil Penelitian

Hasil penelitian daya hambat ekstrak apel Manalagi terhadap pertumbuhan *P. gingivalis* yang berupa zona hambat dapat dilihat pada Gambar 1. Rata-rata hasil pengukuran diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 1.

Data yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji Kolmogorov-Smirnov. Uji homogenitas menggunakan uji Levene.



**Gambar 1. Zona Hambat Ekstrak Apel Manalagi terhadap Pertumbuhan *P. gingivalis***

Keterangan: A) kontrol negatif, B) kontrol positif, C) ekstrak apel Manalagi konsentrasi 100%, D) ekstrak apel Manalagi konsentrasi 50%, dan E) ekstrak apel Manalagi konsentrasi 25%.

**Tabel 1. Rata-rata hasil pengukuran diameter zona hambat (mm).**

Kelompok Perlakuan	N	Mean	SD
Kontrol negatif	3	6	0
Kontrol positif	3	17,63	0,38105
Ekstrak apel Manalagi konsentrasi 100%	3	8,46	0,46199
Ekstrak apel Manalagi konsentrasi 50%	3	7,42	0,22301
Ekstrak apel Manalagi konsentrasi 25%	3	6	0

Keterangan:

n : jumlah sampel  
 Mean : rata-rata diameter zona hambat  
 SD : standar deviasi

**Tabel 2. Rangkuman Hasil uji Mann Whitney**

	Kontrol negatif	Kontrol positif	Ekstrak apel Manalagi konsentrasi 100%	Ekstrak apel Manalagi konsentrasi 50%	Ekstrak apel Manalagi konsentrasi 25%
Kontrol negatif	-	0,034*	0,037*	0,037*	1,000
Kontrol positif		-	0,046*	0,046*	0,034*
Ekstrak apel Manalagi konsentrasi 100%			-	0,050	0,037*
Ekstrak apel Manalagi konsentrasi 50%				-	0,037*
Ekstrak apel Manalagi konsentrasi 25%					-

Keterangan:

Tanda \* menunjukkan nilai yang signifikan

Hasil uji normalitas diperoleh nilai signifikansi 0,007 dimana nilai ini lebih kecil dari 0,05 sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa data tidak terdistribusi normal. Hasil uji homogenitas diperoleh nilai signifikansi 0,007 dimana nilai ini lebih kecil dari 0,05 artinya data tidak homogen.

Berdasarkan hasil kedua uji statistik tersebut data hasil penelitian selanjutnya diuji menggunakan uji Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ) untuk mengetahui adanya perbedaan pada setiap kelompok dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney ( $p < 0,05$ ) untuk mengetahui besarnya perbedaan antar kelompok. Hasil uji Kruskal-Wallis diperoleh nilai signifikansi 0,008. Nilai uji statistik tersebut lebih kecil dari 0,05 artinya terdapat perbedaan rata-rata diameter zona hambat yang signifikan pada setiap kelompok. Selanjutnya dilakukan uji Mann-Whitney yang hasilnya menunjukkan bahwa diameter zona hambat antar kelompok berbeda secara signifikan ( $p < 0,05$ ) kecuali antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok ekstrak konsentrasi 25% dan antara kelompok ekstrak konsentrasi 100% dengan kelompok ekstrak konsentrasi 50% (Tabel 2).

### Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak apel Manalagi mampu menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*. Ekstrak apel Manalagi mampu menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* diduga karena adanya kandungan senyawa aktif pada ekstrak apel Manalagi yaitu tannin, flavonoid, saponin, pektin dan vitamin C.

Buah apel mengandung senyawa polifenol yang merupakan senyawa golongan fenol yang dapat melawan bakteri Gram positif

dan Gram negatif secara aktif, bekerja dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel bakteri.<sup>11</sup> Senyawa polifenol yang terdapat dalam buah apel adalah tannin. Tannin bekerja dengan menurunkan proliferasi sel dengan menghalangi enzim utama dalam metabolisme bakteri.<sup>12</sup>

Senyawa lain yang terkandung dalam buah apel yang mempunyai sifat antibakteri adalah flavonoid, saponin dan pektin. Flavonoid mempunyai sifat antibakteri karena mampu bereaksi terhadap DNA bakteri dan dapat menghambat aktivitas enzim glukosiltransferase yang dihasilkan oleh bakteri. Hasil interaksi ini menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas membran sel bakteri.<sup>11</sup> Saponin sebagai antibakteri bekerja dengan meningkatkan permeabilitas membran sehingga menyebabkan hemolisis sel.<sup>13</sup> Pektin bekerja dengan cara mengganggu permeabilitas permukaan sel bakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri.<sup>14</sup>

Buah apel juga banyak mengandung vitamin C. Vitamin C selain sebagai antioksidan juga diketahui berperan dalam mekanisme pertahanan terhadap mikroorganisme. Aktivitas ini dimiliki karena kemampuannya membentuk kompleks dengan protein yang larut dan protein ekstraseluler, dan dapat membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri, sehingga dapat berfungsi sebagai antibakteri.<sup>15</sup>

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak apel manalagi konsentrasi 100% dan 50% mempunyai daya hambat terhadap *P. gingivalis* dimana hasil analisis data zona hambat ekstrak apel Manalagi konsentrasi 100% dengan konsentrasi 50% tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Sedangkan pada konsentrasi 25%

tidak mempunyai daya hambat karena hasil analisis data menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara kontrol negatif dengan ekstrak apel Manalagi konsentrasi 25%. Hal ini berarti bahwa konsentrasi 50% merupakan konsentrasi terkecil ekstrak apel Manalagi yang masih mampu menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* akan tetapi daya hambatnya sama dengan ekstrak apel Manalagi konsentrasi 100%. Hal ini juga menunjukkan bahwa semakin besar zona hambat, maka semakin efektif menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Wulandari yang mendapatkan bahwa ekstrak apel Manalagi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. thyposa* pada konsentrasi 100%, 50% dan 25%.<sup>9</sup> Hasil penelitian Jannata juga menunjukkan bahwa ekstrak apel Manalagi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* pada konsentrasi 100%, 50% dan 25%.<sup>10</sup>

Hasil penelitian yang berbeda ini dapat dikarenakan bakteri *S. alfa* dan *S. mutans* termasuk golongan bakteri Gram positif sedangkan *P. gingivalis* merupakan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif memiliki cara untuk melindungi membran selnya dari penetrasi bahan antibakteri, karena bakteri tersebut mempunyai membran luar yang unik, dinding peptidoglikan yang relatif lebih tipis, dan ruang periplasmik diantara dinding sel dan membran. Struktur membran luar ini mengandung lipopolisakarida (LPS) yaitu suatu struktur kompleks yang terdiri dari lipid A, rantai pendek gula dan rantai panjang karbohidrat yang disebut sebagai antigen O. Antigen O dan polisakarida yang terdapat pada membran luar bakteri berperan dalam mencegah

penetrasi senyawa hidrofobik ke dalam membran sel. Pada membran luar bakteri juga terdapat saluran porin yang memungkinkan penetrasi senyawa berukuran molekul kecil dan hidrofilik seperti gula, asam amino dan ion-ion tertentu. Adanya struktur membran luar yang kompleks inilah yang membatasi akses senyawa aktif antibakteri ke dalam membran sel dan menjadikan bakteri Gram negatif lebih resisten terhadap bahan antibakteri.<sup>12</sup>

*Chlorhexidine* sebagai kontrol positif pada penelitian ini ternyata memiliki kemampuan lebih baik dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* dibandingkan dengan ekstrak apel manalagi konsentrasi 100%. *Chlorhexidine* memiliki sifat bakterisid dan bakteriostatik yang efektif melawan bakteri Gram positif, Gram negatif serta jamur. Mekanisme kerja *chlorhexidine* adalah dengan merusak membran sel. *Chlorhexidine* merupakan suatu kationik biguanida, dengan spektrum antimikroba yang sangat luas. Efek antimikroba *chlorhexidine* dihubungkan dengan interaksi antara *chlorhexidine* (kation) dan permukaan sel bakteri yang sifatnya negatif. Setelah *chlorhexidine* diserap dalam permukaan dinding sel bakteri, *chlorhexidine* akan menurunkan ketahanan membran sel dan menyebabkan keluarnya bahan-bahan intraseluler.<sup>16</sup> Tetapi apabila *chlorhexidine* digunakan dalam jangka waktu panjang dapat menimbulkan beberapa efek samping seperti gangguan pengecapan, sensasi rasa terbakar, perubahan warna pada gigi, restorasi, dan membran mukosa serta peningkatan deposit kalkulus.<sup>17</sup> Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mencari bahan alternatif sebagai pengganti *chlorhexidine*.

Kemampuan antibakteri ekstrak apel Manalagi pada penelitian ini lemah dibanding kontrol positif. Hal ini kemungkinan disebabkan kondisi ekstrak apel Manalagi yang cair dan sudah disimpan cukup lama. Semakin lama ekstrak disimpan, maka daya antibakterinya semakin menurun.<sup>18</sup> Kandungan air dalam suatu bahan mempengaruhi kesegaran dan daya tahan bahan tersebut selama penyimpanan, bahan tersebut akan mengalami kerusakan karena terbentuknya jamur saat disimpan dalam jangka waktu yang lama.<sup>19</sup>

### Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian yang telah dilakukan adalah ekstrak apel Manalagi mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. gingivalis* dan konsentrasi terkecil ekstrak apel Manalagi yang masih dapat menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* pada penelitian ini adalah konsentrasi 50%.

Saran-saran yang dapat diberikan berdasarkan hasil dari penelitian ini adalah perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan ekstrak apel Manalagi dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen lainnya dalam rongga mulut, perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai bentuk sediaan ekstrak apel Manalagi yang dapat diaplikasikan secara efektif dalam rongga mulut sebagai bahan antibakteri dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan apel sebagai antibakteri secara *in vivo*.

### Daftar Pustaka

1. Departemen Kesehatan. Laporan Riset Kesehatan Dasar (Riskesmas) Tahun 2010 Bidang Biomedis. Jakarta: Badan Litbangkes. Depkes RI. 2010.

2. Newman MG, Takei HH, Kokkevoeld PR, dan Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology*. 11th Edition. St. Louis: Sanders Elsevier. 2012.
3. Naito M, Hirakawa H, Yamashita A, Ohara N, Shoji M, Yukitake H, Nakayama K, Toh H, Yoshimura F, Kuhara S, Hattori MM, Hayashi T, dan Nakayama K. Determination of the Genome Sequence of *Porphyromonas gingivalis* Strain ATCC 33277 and Genomic Comparison with Strain W83 Revealed Extensive Genome Rearrangements in *P. gingivalis*. *DNA Res.* 2008; 15 (4): 215–225.
4. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka. 2008.
5. Kumala S, Pasanema DAM, dan Mardiasuti. Pola Resistensi Antibiotik Terhadap Isolat Bakteri Sputum penderita Tersangka Infeksi Saluran Nafas Bawah, *J. Farmasi Indonesia*. 2010; 1(5): 24–32.
6. Yulianti S dan Sitanggang M. *30 Ramuan Penakluk Hipertensi*. Edisi 1. Jakarta: Agromedia. 2006.
7. Hembing. *Ramuan Lengkap Herbal Taklukan Penyakit*. Jakarta: Pustaka Bunda Universitas. 2006.
8. Soelarso. *Budidaya Apel*. Yogyakarta: Kanisius. 1996.
9. Wulandari, Adisti. Daya Antibakteri Ekstrak Buah apel Manalagi terhadap Bakteri *Salmonella thyposa*. *Journal healthy science* 2012; 2(1): 60–75.
10. Jannata RH, Gunadi A, dan Ermawati T. Daya Antibakteri Ekstrak kulit Apel Manalagi (*malus sylvestris Mill.*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan* 2014; 2(1): 23–28.

11. Pelczar MJ dan Chan ECS. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Diterjemahkan oleh: Hadioetomo T, Sutarmi T, dan Angka SL. Jakarta: UI Press. 2009.
12. Geidam YA, Ambali AG, dan Onyeyili PA. Preliminary Phytochemical and Antibacterial Evaluation of Crude Aqueous Extract of Psidium guajava Leaf. *Journal of Applied Sciences* 2007; 7(4): 511-514.
13. Karlina CY, Ibrahim M, dan Trimulyono G. Aktifitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Lentera Bio*. 2013; 2(1): 87-89.
14. Chansiripornchai P, Pramatwinai C, Rungsipipat A, Pongsamart S, dan Nakchat O. The efficiency of polysaccharide gel extracted from fruit-hulls of durian (*Durio zibethinus L.*) for wound healing in pig skin. *Acta Horti*. 2005; 679: 37-43.
15. Cowan MM. Plants product as antimicrobial agent. *Journal of American Society for Microbiology* 1999; 12(4): 564-582.
16. Gupta R, Chandavarkar V, Galgali SR, dan Mishra M. Chlorhexidine, A Medicine for All The Oral Disease. *Global J. Med and Public Health*. 2012; 1(2): 43-48.
17. Farah CS, McIntosh L, dan McCullough MJ. Mouthwaashes. *Australian Prescriber* 2009; 31(6): 162-164.
18. Nasution RDT, Syarmalina, dan Harsojo. Pengaruh Lama Penyimpanan Beberapa Ekstrak Produk Angkak terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Staphylococcus aureus* Menggunakan Laju Pertumbuhan Spesifik. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila. 2009.
19. Yudhaningtyas RDM. Pengaruh Level Pemberian BHT (Buthyl Hidroxy Toluene) dan Lama Penyimpanan terhadap Kadar Air, Kadar Asam Lemak Bebas, dan Angka Peroksida Bungkil Kelapa. Skripsi. Universitas Brawijaya Malang. 2008.