

Daya Antibakteri Ekstrak Daun Kendali (*Hippobroma longiflora* [L] G. Don)
terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*
(*Antibacterial Activity of Kendali Leaves (Hippobroma longiflora* [L] G. Don)
Extract against *Streptococcus mutans*)

Ani Nur Rosidah¹, Pujiana Endah Lestari², Pudji Astuti³

¹Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

²Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

³Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

e-mail: aninurrosidah@gmail.com

Abstract

Caries still become a problem in dentistry and its prevalence in Indonesia is quite high. Caries begins with plaque formation, which contain microorganisms, especially Streptococcus mutans. Caries prevention efforts are needed to pressure growth of S. mutans by using an antibacterial agent, for example, kendali leaves. Kendali leaves contain alkaloids, saponins, flavonoids, polyphenols, and terpenoids which have antibacterial activity. Purpose of this study was to determine antibacterial activity of kendali leaves extract against growth of S. mutans and the smallest concentration of kendali leaves extract that still had antibacterial activity. There are 8 treatment groups, which concentrations of 0,001 %, 0,01 %, 0,1 %, 1 %, 10 %, and 100 %, positive and nehative control with repetition as much as 10 times. Antibacterial activity was tested by well diffusion method. Antibacterial activity seen from how wide diameter of inhibition zone, marked by clear area around the well. The results indicated that kendali leaves extract have antibacterial activity against S. mutans which positive control, highest concentration in inhibiting S. mutans followed by leaf extract concentration control 100 %, 10 %, 1 %, 0,1 %, 0,01 % and 0,001 %. The smallest concentration of kendali leaves extract that still had antibacterial activity is 0,001 %.

Keywords: antibacterial activity, kendali leaves extract, *Streptococcus mutans*, Well diffusion method

Abstrak

Karies masih menjadi problema dalam ilmu kedokteran gigi dan di Indonesia prevalensinya cukup tinggi. Karies diawali dengan pembentukan plak, dimana plak tersebut mengandung berbagai macam mikroorganisme terutama *Streptococcus mutans*. Diperlukan upaya pencegahan karies dengan melakukan penekanan terhadap pertumbuhan *S. mutans* dengan menggunakan bahan yang bersifat antibakteri, misalnya daun kendali. Daun kendali memiliki kandungan alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol, dan terpenoid yang memiliki sifat antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak daun kendali terhadap pertumbuhan *S. mutans* serta konsentrasi terkecil ekstrak daun kendali yang masih memiliki daya antibakteri. Terdapat 8 kelompok penelitian yaitu ekstrak daun kendali konsentrasi 0,001%, 0,01%, 0,1%, 1%, 10% dan 100%, kontrol positif, serta kontrol negatif dengan pengulangan sebanyak 10 kali. Uji daya antibakteri dengan menggunakan metode difusi sumuran. Daya antibakteri dilihat dari besarnya diameter zona hambat yang ditandai dengan adanya daerah jernih disekitar lubang sumuran. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kendali mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans* dimana kontrol positif merupakan kelompok dengan diameter zona terbesar dalam menghambat *S. mutans* diikuti oleh ekstrak daun kendali konsentrasi 100%, 10%, 1%, 0,1%, 0,01%, 0,001%. Konsentrasi terkecil dari ekstrak daun kendali yang masih memiliki daya antibakteri yaitu 0,001%.

Kata kunci: daya antibakteri, ekstrak daun kendali, metode difusi sumuran, *Streptococcus mutans*

Pendahuluan

Hasil studi morbiditas Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) Kementerian Kesehatan RI tahun 2004 membuktikan bahwa prevalensi karies mencapai 90,5%. Hasil survei tersebut menandakan jika karies gigi dapat dikategorikan menjadi masalah kesehatan nasional [1]. Pembentukan plak merupakan langkah pertama yang penting pada pembentukan karies. Plak mengandung *Streptococcus mutans* yang berperan pada pembentukan karies. Bakteri ini merupakan flora normal rongga mulut dan diyakini sebagai penyebab utama karies gigi [2, 3].

Pencegahan karies dapat dilakukan dengan kontrol plak misalnya, secara kimiawi menggunakan bahan kumur untuk mengurangi jumlah bakteri penyebab karies gigi. Beberapa penelitian membuktikan bahwa dengan menggunakan obat kumur setiap hari dapat menurunkan penumpukan plak sebesar 10%. Obat kumur yang efektif sebagai agen kontrol terhadap plak adalah klorheksidin [4]. Klorheksidin telah diteliti selama lebih dari 20 tahun dan merupakan bahan kemoterapi yang paling potensial dalam menghambat *S. mutans*. Jarvinen et al menyatakan bahwa dalam waktu lima sampai sepuluh tahun ke depan dimungkinkan terjadinya resistensi *S. mutans* terhadap klorheksidin [5]. Penggunaan klorheksidin dalam jangka waktu lama menimbulkan efek samping berupa timbulnya noda kuning atau coklat pada gigi, deskuamasi mukosa mulut, hingga perubahan keseimbangan flora mulut [6].

Upaya untuk mengendalikan *S. mutans* yaitu dengan menggunakan bahan yang bersifat antibakteri. Bahan yang bersifat antibakteri bisa diperoleh dari bahan alam. Bahan alam memiliki efek samping lebih rendah dibandingkan dengan obat-obatan kimia, selain itu murah dan mudah diperoleh. Hal ini disebabkan tanaman obat bersifat alami, efek sampingnya lebih rendah dari obat-obatan kimia dan tubuh manusia pun relatif lebih mudah menerima obat-obatan dari bahan tanaman dibandingkan dengan obat-obatan kimia [7]. Bagian dari tanaman berkhasiat obat yang penting untuk diketahui manfaatnya adalah daunnya karena daun mudah diambil dan digunakan tanpa harus mencabut tanamannya. Salah satu tanaman liar berkhasiat obat yang dapat dimanfaatkan daunnya adalah tanaman kendali (*Hippobroma longiflora* [L] G. Don.) [8].

Sejauh ini, tanaman kendali hanya dikenal sebagai tanaman liar. Padahal tanaman ini berpotensi untuk dijadikan sebagai tanaman obat [9, 10, 11]. Berdasarkan penelitian Hamidy et al, menyebutkan bahwa tanaman kendali mengandung senyawa kimia flavonoid, fenol, terpenoid, dan steroid yang merupakan bahan obat-obatan modern. Zat aktif yang bersifat sebagai antibakteri yang

dikandung oleh ekstrak metanol daun kendali adalah alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol, dan terpenoid. Tanaman kendali berkhasiat mengobati asma, bronkitis, radang tenggorokan, katarak, sebagai obat luka, obat tetes mata, dan obat kanker [12]. Masyarakat di daerah Bogor, Jawa Barat menggunakan bagian daun yang ditumbuk kemudian diletakkan pada gigi yang sakit [11]. Berdasarkan penelitian Safitri et al, menunjukkan adanya aktivitas antimikroba dari ekstrak etanol bunga, daun dan batang tanaman kendali (*Hippobroma longiflora* (L) G. Don) terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 10% b/b.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak daun kendali (*Hippobroma longiflora* [L] G. Don) terhadap pertumbuhan *S. mutans* dan mengetahui konsentrasi terkecil yang masih mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

Metode Penelitian

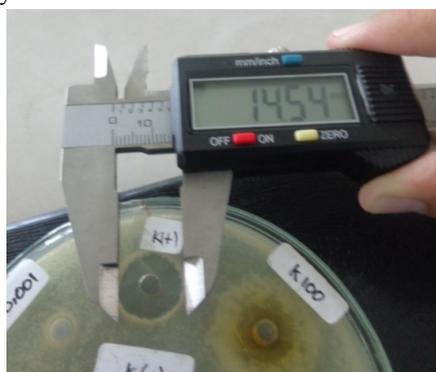
Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan *the post test only control group design*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak daun kendali (*Hippobroma longiflora* [L] G. Don) terhadap pertumbuhan *S. mutans* secara *in-vitro* dengan menggunakan metode difusi sumuran (*well diffusion method*).

Daun Kendali yang digunakan berupa *Hippobroma longiflora* [L] G. Don dan telah diidentifikasi oleh Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember. Dalam pembuatan ekstrak daun kendali, digunakan 2,5 kg daun kendali, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 4 hari. Daun yang telah kering kemudian dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk simplisia seberat 250 gram. Serbuk simplisia tersebut diayak hingga didapatkan 240 gram serbuk halus. Serbuk simplisia dimasukkan dalam toples kaca dan dimaserasi dengan 2400 ml pelarut etanol 70% pada suhu ruang selama 3x24 jam. Kemudian hasil filtrat maserasi disaring dengan menggunakan kertas saring. Selanjutnya filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* (Heidolph, Germany) pada suhu 50° C sampai pelarut tidak tersisa, sehingga diperoleh ekstrak etanol cair. Kemudian hasil ekstrak etanol cair diuapkan di atas *waterbath* buatan hingga didapatkan ekstrak kental dengan konsentrasi 100% sebanyak 57,81 gram dengan berat rendemen 24,084 % (b/b).

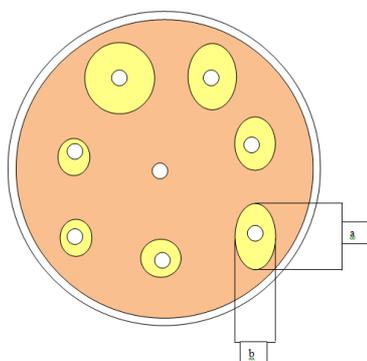
Penentuan konsentrasi menggunakan metode *serial dilution*. Sebelumnya dilakukan penelitian pendahuluan untuk menentukan konsentrasi yang digunakan dalam penelitian, dengan konsentrasi 100 %, 10 %, 1 %, 0,1 %, 0,01 %, 0,001 %, dan 0,0001 %. Pada konsentrasi 0,0001 % tidak terdapat zona hambat disekitar sumuran, sehingga konsentrasi

yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 100 %, 10 %, 1 %, 0,1 %, 0,01 %, dan 0,001 %.

Pengujian daya antibakteri dilakukan dengan memasukkan 10 µl bahan uji ke dalam sumuran dengan menggunakan mikropipet, kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37° C. Selanjutnya dilakukan pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong digital (Inoki, Japan) dengan satuan mm (Gambar 1). Cara pengukuran diameter zona hambat yaitu dengan mengukur diameter panjang (a) ditambah diameter pendek (b) kemudian dibagi 2 (Gambar 2). Pengukuran dilakukan 3 kali oleh orang yang berbeda yang sebelumnya telah dilakukan penyamaan persepsi, kemudian diambil rata-ratanya.



Gambar 1. Pengukuran diameter zona hambat dengan jangka sorong digital



Gambar 2. Cara pengukuran diameter zona hambat terhadap *S. mutans* dengan mengukur diameter terpanjang (a) dan diameter terpendek (b).

Hasil

Hasil penelitian daya antibakteri ekstrak daun kendali terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

Tabel 1. Hasil rata-rata diameter zona hambat *S. mutans* pada ekstrak daun kendali dengan berbagai konsentrasi, kontrol positif, dan kontrol negatif

Kelompok Penelitian	n (jumlah sampel)	Rata-rata diameter (mm)(x ± SD)
K(-)	10	5,0000 ± 0,0000*
K0,001	10	6,2016 ± 0,4529
K0,01	10	6,3558 ± 0,4369
K0,1	10	7,6069 ± 0,4984
K1	10	9,6031 ± 0,3395
K10	10	10,8459 ± 0,4649
K100	10	12,6606 ± 1,2586
K(+)	10	14,1591 ± 0,9992

*tidak ada zona hambat, diameter sumuran adalah 5 mm

Keterangan:

K(-) : Aquades steril (Kontrol negatif)

K0,001 : Konsentrasi 0,001 %

K0,01 : Konsentrasi 0,01 %

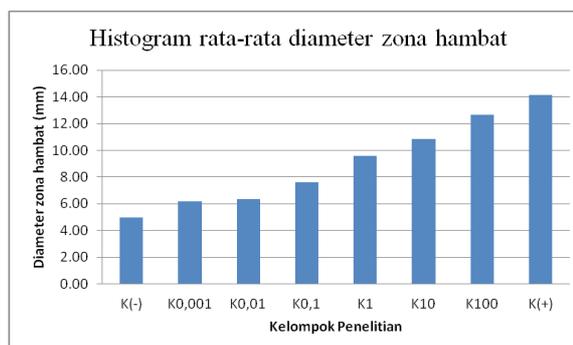
K0,1 : Konsentrasi 0,1 %

K1 : Konsentrasi 1 %

K10 : Konsentrasi 10 %

K100 : Konsentrasi 100 %

K(+): Klorheksidin 0,2 % (Kontrol positif)



Gambar 3. Histogram rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan *S. mutans* dari ekstrak daun kendali berbagai konsentrasi, kontrol positif, dan kontrol negatif

Data diuji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* dan didapatkan $p > 0,05$ sehingga data terdistribusi normal. Setelah data dikatakan normal kemudian dilakukan uji homogenitas varian menggunakan uji *Levene*. Pada uji *Levene* menunjukkan $p < 0,05$ berarti data tidak homogen. Data terdistribusi secara normal dan data tidak homogen, maka uji statistiknya menggunakan uji statistik non-parametrik. Untuk mengetahui apakah ada perbedaan daya antibakteri seluruh kelompok penelitian dilakukan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai $p < 0,05$ berarti daya antibakteri ekstrak daun kendali terhadap pertumbuhan *S. mutans* pada seluruh kelompok penelitian mempunyai perbedaan yang bermakna. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antar kelompok penelitian maka dilakukan uji *Mann-Whitney*. Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney* pada Tabel 2 menunjukkan bahwa antar kelompok penelitian secara signifikan berbeda dengan $p < 0,05$

untuk semua kelompok penelitian, kecuali pada kelompok K0,01 dengan K0,001 tidak berbeda signifikan dengan $p > 0,05$.

Tabel 2. Hasil uji *Mann-Whitney*

Kelompok Penelitian	K100	K10	K1	K0,1	K0,01	K0,001	K(+)	K(-)
K100	-	0,001*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,005*	0,000*
K10		-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K1			-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K0,1				-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K0,01					-	0,450	0,000*	0,000*
K0,001						-	0,000*	0,000*
K(+)							-	0,000*
K(-)								-

Keterangan : tanda * menunjukkan nilai yang signifikan

Pembahasan

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa nilai rata-rata diameter zona hambat yang paling besar pada kelompok penelitian adalah pada kelompok K(+) yaitu klorheksidin 0,2 % sebesar 14,1591 mm. Kemudian berturut-turut kelompok konsentrasi 100 % dengan diameter sebesar 12,6606 mm, kelompok konsentrasi 10 % sebesar 10,8459 mm, kelompok konsentrasi 1 % sebesar 9,6031, kelompok konsentrasi 0,1 % sebesar 7,6069 mm, kelompok konsentrasi 0,01 % sebesar 6,3558 mm, kelompok konsentrasi 0,001 % sebesar 6,2016 mm, dan pada kelompok K(-) yaitu aquades steril sebesar 5,0000 mm.

Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa $p < 0,05$. Secara statistik dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan antar kelompok penelitian dengan rata-rata diameter kelompok ekstrak lebih besar dari diameter kontrol negatif. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kendali memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquades steril yang juga digunakan sebagai pelarut dalam pengenceran ekstrak daun kendali. Kelompok kontrol negatif pada penelitian ini memiliki diameter 5 mm yang sesuai dengan diameter sumuran. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat zona hambat disekitar sumuran.

Berdasarkan hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa $p < 0,05$, kecuali pada kelompok K0,01 dengan K0,001. Pada kelompok perlakuan ekstrak dengan $p < 0,05$ menunjukkan setiap kelompok perlakuan memiliki daya antibakteri yang berbeda dengan rata-rata diameter zona hambat semakin menurun dengan menurunnya konsentrasi. Hal ini diduga dengan semakin menurunnya konsentrasi maka semakin menurun kandungan zat aktifnya. Pada kelompok ekstrak daun kendali K0,01 dengan K0,001 yang tidak memiliki beda signifikan menunjukkan

bahwa ekstrak daun kendali konsentrasi 0,01 % dan 0,001 % memiliki efek yang sama dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Sehingga, dapat ditentukan bahwa konsentrasi terkecil dalam penelitian ini yang masih memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans* adalah konsentrasi 0,001 % yang didukung dengan data pada histogram (Gambar 3).

Terbentuknya zona hambat di sekitar sumuran (yang sudah diisi dengan ekstrak daun kendali) menunjukkan bahwa ekstrak ini diduga mengandung zat aktif yang bersifat sebagai antibakteri. Pada ekstrak daun kendali mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol dan terpenoid [8,10,13].

Senyawa kimia yang memiliki aktivitas antibakteri dalam ekstrak daun kendali yaitu alkaloid. Alkaloid mempunyai mekanisme penghambatan dengan cara berikatan dengan DNA [14]. Hal ini diduga karena alkaloid memiliki gugus basa yang mengandung nitrogen. Gugus basa ini akan bereaksi dengan senyawa asam yang ada pada bakteri seperti DNA yang merupakan penyusun utama inti sel. Dengan terganggunya DNA maka sintesis protein dan asam nukleat dalam sel akan terganggu. Hal ini mengakibatkan metabolisme sel terganggu sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mengalami kematian.

Saponin juga merupakan senyawa aktif yang bersifat antibakteri dalam ekstrak daun kendali. Saponin memiliki sifat seperti sabun. Saponin adalah senyawa aktif yang menimbulkan busa apabila dikocok dalam air. Saponin bekerja dengan meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga membran menjadi tidak stabil dan mengakibatkan hemolisis sel [15].

Golongan senyawa lain yang berperan sebagai antibakteri yaitu flavonoid. Aktivitas flavonoid terhadap bakteri diduga karena kemampuannya dalam mengganggu aktivitas transpeptidase peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel terganggu. Akibatnya, sel tidak dapat menahan tekanan osmotik internal yang dapat mencapai 5 sampai 20 atmosfer. Tekanan ini cukup untuk memecah sel apabila dinding sel dirusak [14]. Kerusakan pada membran ataupun dinding sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat, nukleotida, dan lain-lain yang berasal dari sitoplasmadan sel bakteri mengalami lisis [16].

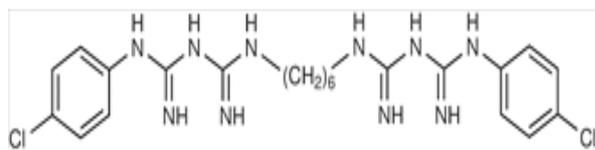
Polifenol memiliki tanda khas yaitu memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya. Senyawa polifenol merupakan senyawa yang tersebar luas sebagai zat warna alam yang menyebabkan warna pada bunga, kayu, buah. Mekanisme polifenol sebagai agen antibakteri berperan sebagai toksin dalam protoplasma, merusak dan menembus dinding sel serta mengendapkan protein sel bakteri. Senyawa fenolik bermolekul besar mampu menginaktifkan enzim esensial di

dalam sel bakteri meskipun dalam konsentrasi yang sangat rendah. Polifenol dapat menyebabkan kerusakan pada sel bakteri, denaturasi protein, menginaktivkan enzim, dan menyebabkan kebocoran sel [17].

Terpenoid merupakan komponen-komponen tanaman yang mempunyai bau dan dapat diisolasi dari bahan nabati dengan penyulingan yang disebut minyak atsiri. Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri kemudian membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa yang akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteriterhambat atau mati [14].

Berdasarkan histogram rata-rata diameter zona hambat (Gambar 3) menunjukkan semakin besar konsentrasi ekstrak maka, semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk. Hamidy et al menyatakan semakin besar konsentrasi maka semakin kuat efek dari ekstrak yang diuji [13]. Hal ini sesuai dengan Ngaisah, yang menyatakan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin banyak jumlah zat aktif yang terkandung di dalamnya [18].

Klorheksidin adalah antiseptik bisbiguanid yang memiliki molekul kation simetris yang terdiri dari dua rantai 4-chlorophenol dan 2 kelompok biguanida yang dihubungkan dengan rantai hexamethylene (Gambar 4) [19]. Klorheksidin sangat luas digunakan karena memiliki sifat antimikroba yang baik terhadap bakteri gram positif, bakteri gram negatif, spora bakteri, virus lipofilik, dan jamur [20]. Klorheksidin merupakan obat kumur yang efektif sebagai agen kontrol terhadap plak. Klorheksidin telah diteliti selama lebih dari 20 tahun dan merupakan bahan kemoterapi yang paling potensial dalam menghambat *S. mutans* [21].

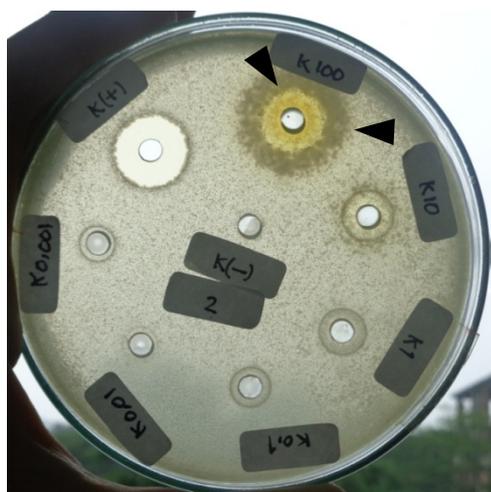


Gambar 4. Struktur kimia klorheksidin [19]

Klorheksidin menunjukkan efek yang berbeda pada konsentrasi yang berbeda. Pada konsentrasi rendah (0,1 µg/ml) bersifat bakteriostatik sedangkan pada konsentrasi tinggi (lebih dari 100 µg/ml) bersifat bakterisida [19]. Mekanisme bakteriostatik klorheksidin yaitu dengan melepaskan potasium dan fosfor sedangkan mekanisme bakterisida klorheksidin dengan menyebabkan peningkatan muatan dalam

sitoplasma sel. Daya afinitasnya dapat memisahkan interaksi dari kation dengan anion pada dinding sel sehingga dinding sel rusak yang diikuti dengan meningkatnya permeabilitas membran sehingga menyebabkan kebocoran sel [22].

Berdasarkan hasil penelitian (Gambar 5) menunjukkan di sekeliling diameter zona hambat kelompok ekstrak daun kendali konsentrasi 100 % terdapat bentukan koloni yang semakin tebal dibandingkan daerah lain. Menurut Gachkar et al, senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman dapat bersifat *volatile* (mudah menguap) atau *non-volatile* (tidak mudah menguap) [23]. Senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun kendali yang bersifat *volatile* yaitu terpenoid. Lamanya kontak antara bakteri dengan zat antibakteri berperan terhadap efektivitas antibakteri tersebut. Hal ini diduga karena terpenoid menguap terlebih dulu sebelum bakteri tumbuh optimal sehingga mempengaruhi efektivitas senyawa antibakteri pada ekstrak daun kendali terhadap pertumbuhan *S. mutans*.



Gambar 5. Tanda panah menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri di sekitar diameter zona hambat

Simpulan dan Saran

Berdasarkan data hasil penelitian yang didapatkan dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kendali memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans* dan konsentrasi terkecil ekstrak daun kendali yang masih mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans* yaitu 0,001 %.

Saran yang dapat diberikan penulis adalah diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak daun kendali dengan uji fitokimia, pengaruh klinis ekstrak daun kendali sebagai obat kumur alternatif, dan uji biokompatibilitas serta keefektifannya terhadap jaringan rongga mulut.

Daftar Pustaka

1. Tampubolon NS. Dampak Karies Gigi dan Penyakit Periodontal terhadap Kualitas Hidup. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar dalam Bidang Ilmu Kedokteran Gigi Pencegahan. Universitas Sumatera Utara. 2005.
2. Sabir A. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigona* sp terhadap *Streptococcus mutans*. Majalah Kedokteran Gigi (Dentika J). Bagian Konservasi Gigi Universitas Hassanudin Makassar. 2005. Vol 38 (3): 135-141.
3. Marsh PD. Dental Plaque as a Microbial Biofilm. Caries Research. Lead Dental Institute and Health Protection Agency. 2004. Vol. 38:204-211.
4. Bahar A. Paradigma Baru Pencegahan Karies Gigi. Jakarta: Lembaga Penerbit Fakultas Ekonomi Universitas Indonesia. 2011.
5. Erviana R. Pengaruh Golongan Senyawa Aktif Daun Sirih Merah (*Piper croatum* Ruiz & Pav) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan Aktivitas Enzim Glukosiltransferase. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada. 2011.
6. Kidd, Edwina AM, Joyston S, dan Bechal. Dasar-dasar Karies Penyakit dan Penanggulangannya. Alih Bahasa oleh Narlan Sumawinata dan Lilian Yuwono. Jakarta: EGC. 1992.
7. Muhlisah F. Tanaman Obat Keluarga (TOGA). Jakarta: Penebar Swadaya. 2007.
8. Ali I. Kitolod: Penakluk Gangguan pada Mata. Jakarta: Agromedia Pustaka. 2003.
9. Heyne K. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid III. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan. 1987.
10. Dalimartha S. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia: Menguak Kekayaan Tumbuhan Indonesia. Jilid 5. Jakarta: Pustaka Bunda. 2008.
11. Safitri I, Inayah, Hamidy M Y, Safril D. Isolasi dan Uji Aktifitas Antimikroba Ekstrak Metanol Bunga, Batang dan Daun Sapu Jagad (*Hippobroma longiflora* (L) G. Don (L) Presl.) terhadap *Streptococcus aureus*. JIK. 2009; Jilid 3 (1): 20-23.
12. Utami P. Buku Pintar Tanaman Obat: 431 Jenis Tanaman Penggempur Aneka Penyakit. Jakarta: Redaksi Agromedia. 2008.
13. Hamidy MY, Safitri I, Inayah, Syafril D, Firmansyah D. Efek Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Sapu Jagad (*Isotoma longifolia*) Terhadap *Escherichia coli*. J. Sains Tek., Agustus 2006; Vol. 12, Hal: 91-96.
14. Cowan M. Plant Product as Antimicrobial Agent, Clinical Microbiology Reviews. 2009; 12 (4), hal. 564-582.
15. Robinson T. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Bandung: Penerbit ITB. 1995.
16. Viklund A. Biologi online [Internet]. Place unknown; 2009 [updated 2009 January 31; cited 2013 November 30]. Available from: <http://zaifbio.wordpress.com/category/mikrobiologi/>. 2009.
17. Heyne K. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan. 1987.
18. Ngaisah S. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* ruiz & pav.) Asal Magelang. Universitas Sebelas Maret Surakarta Skripsi. Tidak diterbitkan. 2010.
19. Gupta R, Chandavarkar V, Galgali SR., Mishra M. Chlorhexidine: A Medicine for all oral disease. *GJMEDPH* 2012. 1(2): 43-48.
20. Tanumihardja M. Larutan Irigasi saluran akar. *Dentofas J Ked Gi*. 2010. 9(2):108-112.
21. Bahar A. *Paradigma Baru Pencegahan Karies Gigi*. Jakarta: Lembaga Penerbit Fakultas Ekonomi Universitas Indonesia. 2011.
22. Herawati E, Sufiawati I, Zubaedah. Laporan Penelitian: Evaluasi klinis efek samping obat kumur klorheksidin terhadap mukosa mulut dan pewarnaan pada gigi. Lembaga Penelitian Universitas Padjajaran: Bandung. 2004.

23. Gachkar L, Yadegari D, Rezaei MB, Taghizadeh M, Astaneh SA, Rasooli I. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*. 2007. 102: 898–904