

Uji Daya Hambat Ekstrak Metanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) terhadap Pertumbuhan Bakteri Saluran Akar Gigi
(Inhibition Test of Purple Leaf (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) Methanol Extract toward Root Canal Bacteria's Growth)

Resti Ayu Indriana, Pudji Astuti, Atik Kurniawati
 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
 Jalan Kalimantan No.37, Kampus Tegal Boto, Jember, Jawa Timur 68121
 e-mail korespondensi: ristyayu47@gmail.com

Abstract

Background: Root canal bacteria in necrotizing pulp are dominated by polymicrobial bacterial colonization. Bacteria control were performed by using antibacterial irrigation. Purple leaf methanol extract contains triterpenoids, alkaloids, flavonoids, glycosides, saponins, and tanins which are to own antibacterial capability. **Objective:** To determine a wide range of concentrations, the minimal concentration of purple leaf methanol extract which able to inhibit the growth of root canal bacteria, and how much is the concentration of the purple leaf methanol extract which is equivalent to 2.6% sodium hypochlorite. **Methods:** The method was used well diffusion. Antibacterial test was indicated by the existance of the inhibition zone around the well hole. Total samples used were 56 samples for each 7 group treatment, which are concentration 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% of purple leaf methanol extract, 2.6% of sodium hypochlorite, and sterile water. The results of the study was then tested by the statistical parametric one way ANOVA and LSD. **Results and Conclusion:** The concentration of purple leaf methanol extract which ables to inhibit the growth of root canal bacteria is 12,5%, 25%, 50%, and 100% also the minimum concentration is 12,5%, and the concentration of purple leaf methanol extract which is equivalent to 2.6% of sodium hypochlorite is concentration of 25%.

Keywords: Antibacterial, Root Canal Bacteria, Purple Leaf Methanol Extract, *Graptophyllum pictum* (L.) Griff

Abstrak

Latar Belakang: Bakteri dalam saluran akar gigi pada pulpa nekrosis didominasi kolonisasi polimikrobia. Pengendalian bakteri dalam saluran akar ini dilakukan dengan menggunakan bahan irigasi yang bersifat antibakteri. Ekstrak metanol daun ungu memiliki kandungan triterpenoid, alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin yang memiliki daya antibakteri. **Tujuan:** Mengetahui berbagai konsentrasi, dan konsentrasi minimal ekstrak daun ungu yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri saluran akar gigi, serta konsentrasi pada ekstrak daun ungu yang setara dengan sodium hipoklorit 2,6%. **Metode Penelitian:** Metode yang digunakan adalah metode difusi sumuran. Daya antibakteri ditunjukkan dengan adanya zona hambat disekitar lubang sumuran. Jumlah keseluruhan sampel sebanyak 56 yang terbagi menjadi 7 kelompok perlakuan, yaitu ekstrak metanol daun ungu konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, sodium hipoklorit 2,6%, dan aquadest steril. Hasil penelitian kemudian dilakukan uji data statistik parametrik one way ANOVA dan LSD. **Hasil dan Kesimpulan:** Konsentrasi ekstrak daun ungu yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri saluran akar gigi adalah 12,5%, 25%, 50%, dan 100% dengan konsentrasi minimal 12,5%, dan konsentrasi ekstrak metanol daun ungu yang setara dengan sodium hipoklorit 2,6% adalah konsentrasi 25%.

Kata kunci: Antibakteri, Bakteri Saluran Akar Gigi, Ekstrak Metanol Daun Ungu, *Graptophyllum pictum* (L.) Griff

Pendahuluan

Bakteri dalam saluran akar gigi pada pulpa nekrosis menunjukkan adanya kolonisasi polimikrobial. Kolonisasi polimikrobial adalah kolonisasi bakteri yang terdiri dari empat hingga tujuh spesies, terutama anaerob, dengan jumlah yang hampir sama antara bakteri gram negatif dengan gram positif [1]. Jenis bakteri yang banyak ditemukan pada saluran akar adalah bakteri anaerob mikrofilli, fakultatif anaerob, dan obligat anaerob [2].

Pengendalian bakteri dengan menggunakan bahan irigasi yang bersifat antibakteri merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan untuk tercapainya keberhasilan perawatan saluran akar gigi. Sodium hipoklorit 2,6% merupakan bahan irigasi yang direkomendasikan sampai sekarang. Sodium hipoklorit memenuhi hampir semua fungsi ideal bahan irigasi. Sodium hipoklorit merupakan antibakteri yang efektif dan dapat melarutkan sisa jaringan pulpa dan bahan organik. Sifat antibakteri sodium hipoklorit berasal dari ion klorin bebas yang merusak komponen protein bakteri [3]. Namun sodium hipoklorit memiliki efek toksik pada jaringan vital apabila digunakan dalam konsentrasi lebih dari 5,25%, dapat menyebabkan iritasi dan ulserasi bila terdorong ke apikal, tidak mampu berkontak dengan baik pada seluruh jaringan, tidak seluruh bakteri dalam saluran akar dapat dihilangkan [4][5].

Pentingnya penggunaan bahan irigasi untuk mendapatkan hasil perawatan saluran akar yang maksimal dan mempertimbangkan efek samping yang ditimbulkan oleh sodium hipoklorit 2,6%, maka diperlukan suatu bahan alternatif herbal yang lebih aman, dan memiliki efek samping yang minimal. Obat-obatan yang dipakai untuk perawatan gigi sampai saat ini berasal dari bahan kimia, dan jarang menggunakan bahan obat yang berasal dari bahan alam [6]. Pemanfaatan bahan herbal untuk pengobatan tradisional banyak dilakukan oleh masyarakat Indonesia. Bahan herbal mudah diperoleh, harganya relatif murah, dan secara umum dinilai lebih aman dari pada penggunaan obat yang berbahan dasar kimia [7]. Bahan alternatif herbal tersebut adalah daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff).

Daun ungu merupakan salah satu tanaman dari tiga belas komoditi yang dikembangkan oleh DITJEN POM sebagai tanaman obat unggulan [8]. Daun ungu adalah salah satu tanaman tradisional yang biasa digunakan sebagai obat hemoroid di Indonesia

[9]. Daun ungu memiliki kandungan kimia triterpenoid, alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin yang diketahui memiliki sifat anti bakteri [10][11].



Gambar 1 Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) [12]

Ekstrak metanol daun ungu terbukti efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. faecalis* [13]. Bakteri *E. faecalis* merupakan spesies bakteri yang paling sering terdeteksi pada gigi pasca perawatan endodontik. Namun, spesies ini ditemukan dengan prevalensi yang jauh lebih rendah pada infeksi primer [14]. Berdasarkan penelitian tersebut, belum pernah dilakukan penelitian terhadap seluruh bakteri pada saluran akar gigi. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk meneliti tentang daya hambat ekstrak metanol daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) terhadap pertumbuhan bakteri saluran akar gigi.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *the post test only control group design*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai dengan Juni 2016, dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jember, klinik Konservasi RSGM Universitas Jember, dan Laboratorium Mikrobiologi FKG Universitas Jember.

Sampel yang digunakan dalam penelitian 7 kelompok perlakuan, yaitu ekstrak daun ungu konsentrasi 100% (P100), 50% (P50), 25% (P25), 12,5% (P12,5), 6,25% (P6,25), sodium hipoklorit 2,6% (K+), dan aquades steril (K-). Masing-masing kelompok perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak delapan kali.

Daun ungu yang digunakan merupakan spesies dari *Graptophyllum pictum* (L.) Griff yang telah dilakukan identifikasi di Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember. Pembuatan ekstrak

daun ungu menggunakan metode maserasi yang dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jember. Daun ungu sebanyak 600 gram dibuat menjadi serbuk simplisia (500 gram). Serbuk simplisia dimaserasi dengan metanol 70% selama 3 hari. Hasil filtrat maserasi kemudian disaring dengan kertas saring, dan diuapkan dengan tujuan bebas dari larutan metanol menggunakan *rotary evaporator* selama 45 menit pada suhu 45-50⁰. Setelah itu, dipekatkan pada *water bath* pada suhu 50⁰C untuk menghilangkan kadar air yang tersisa. Sehingga didapatkan ekstrak metanol daun ungu semisolid (kental) 100% dengan berat 50,6 gram [9]. Ekstrak daun ungu semi solid 100% kemudian dilakukan pengenceran dengan cara *serial dilution* sehingga didapatkan ekstrak metanol daun ungu konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%.

Bakteri saluran akar gigi diambil dari pasien pada gigi 35 dengan diagnosis nekrosis pulpa totalis. Pengambilan bakteri saluran akar gigi dilakukan dengan memasukkan *paper point* steril ke dalam saluran akar gigi selama satu menit. Kemudian *paper point* dimasukkan ke dalam media cair thyogycolat dan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 3x24 jam [15].

Bakteri saluran akar yang telah diinkubasi selama 72 jam diukur absorbansinya dengan menggunakan standar Mc Farlan 0,5 dengan absorbansi 0,05 dan panjang gelombang 50 nm dengan menggunakan spektrofotometer. Media BHI-A yang sudah hangat dengan suhu 40-50⁰C, kemudian dituang ke dalam petridish steril, masing-masing sebanyak 25 ml dengan ketebalan 6 mm. kemudian 0,5 ml suspensi bakteri saluran akar diinokulasikan pada media BHI-A dan diratakan dengan gigaskrin steril agar suspensi dalam media menyebar secara merata, kemudian dibiarkan hingga sediaan menjadi padat, kurang lebih 15 menit. Setelah itu, dilakukan pembuatan lubang sumuran yang sampai pada bagian dasar petridish, sehingga dimungkinkan semua bakteri terkena zat antibakteri oleh kelompok perlakuan.

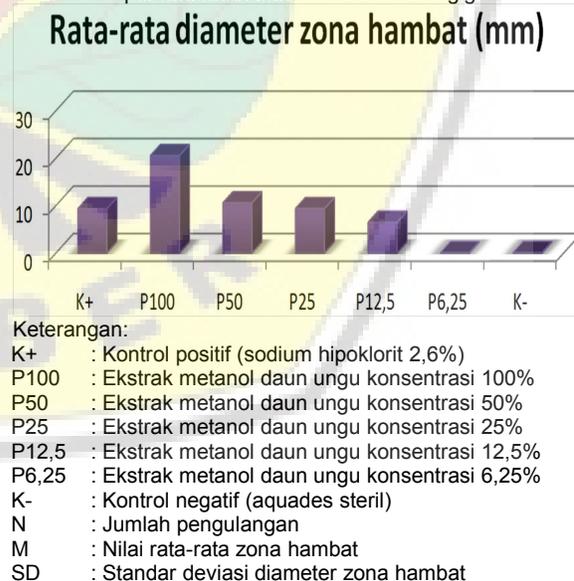
Pengujian antibakteri dimulai dengan memasukkan 20 μ l bahan uji ke dalam lubang sumuran dengan menggunakan mikropipet dengan tip yang berbeda pada setiap bahan. Petridish yang telah diberi perlakuan, dimasukkan ke dalam desikator dan diinkubasi pada suhu 37⁰C. Setelah diinkubasi, zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong digital. Pengukuran zona hambat dilakukan dengan posisi terbalik, dihitung dari tepi (*break point*) ke

tepi (*break point*) melewati pusat lubang sumuran. Apabila terdapat zona hambat yang berbentuk lonjong, maka pengukuran dilakukan pada diameter yang panjang dan diameter yang pendek, kemudian keduanya dijumlah, dan dibagi dua. Analisis statistik dilakukan dengan uji analisis *one way ANOVA* ($\alpha < 0,005$), dan dilanjutkan uji *Least Significant Difference* (LSD) ($\alpha < 0,005$).

Hasil Penelitian

Hasil penelitian tentang daya hambat ekstrak metanol daun ungu terhadap pertumbuhan bakteri saluran akar gigi menunjukkan bahwa di sekeliling lubang sumuran yang diberi bahan uji ekstrak metanol daun ungu dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, dan 12,5% terlihat adanya zona hambat berupa daerah bening (berwarna coklat tua hingga muda) yang tidak ditumbuhi oleh bakteri, sedangkan pada sodium hipoklorit 2,6% (kontrol positif) terlihat adanya zona hambat berupa daerah benih disekitar lubang sumuran yang tidak ditumbuhi oleh bakteri. Aquades steril (kontrol negatif) dan ekstrak metanol daun ungu konsentrasi 6,25% tidak terdapat zona hambat. Data pengamatan zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada gambar 2.

Gambar 2 Grafik statistik rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri saluran akar gigi



Selanjutnya dilakukan uji normalitas Kolmogorof Smirnov untuk mengetahui normalitas data, diperoleh nilai sig. 0,200. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat kemaknaan > 0,05

berarti data berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas, dengan hasil $> 0,05$ menunjukkan data homogen. Data terdistribusi normal dan homogen sehingga memenuhi syarat untuk dilakukan uji statistik parametrik yaitu *one way* ANOVA, dan diperoleh nilai 0,00 yang menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok. Selanjutnya dilakukan uji LSD untuk mengetahui perbedaan lebih lanjut antar kelompok.

Tabel 1 Hasil uji beda antar kelompok perlakuan dengan menggunakan LSD pada uji daya hambat ekstrak metanol daun ungu terhadap bakteri saluran akar gigi

Kelompok Penelitian	K+	P100	P50	P25	P12,5	P6,25	K-
K+	-	0,000	0,000	0,883*	0,000	0,000	0,000
P100	0,000	-	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
P50	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	0,000
P25	0,883*	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000
P12,5	0,000	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000
P6,25	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-	1,000*
K-	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,000*	-

tanda* menunjukkan nilai yang tidak signifikan

Hasil Uji LSD menunjukkan perbandingan diameter zona hambat antar kelompok terdapat perbedaan secara bermakna ($< 0,05$) kecuali perbandingan antara kelompok P25 dengan kelompok K+ dan P6,25 dengan kelompok K- tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($> 0,05$).

Pembahasan

Konsentrasi ekstrak metanol daun ungu yang digunakan pada penelitian ini adalah 100%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%. Konsentrasi ini ditetapkan berdasarkan hasil dari penelitian pendahuluan dimana pada konsentrasi 12,5% masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri saluran akar gigi. Sehingga dilakukan penurunan konsentrasi, yaitu 6,25%. Hal ini dilakukan untuk mengetahui berapa konsentrasi minimum ekstrak daun ungu yang masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri saluran akar.

Data hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun ungu konsentrasi 100%, 50%, 25%, dan 12,5% mampu menghambat pertumbuhan bakteri saluran akar gigi yang ditandai dengan adanya zona hambat disekeliling lubang sumuran. Zona hambat terlihat berupa daerah bening berwarna coklat tua hingga coklat muda dengan daerah yang berwarna coklat tua berada di dekat lubang sumuran. Hal ini diduga disebabkan karena ekstrak metanol daun ungu

berupa larutan pekat berwarna hijau kecoklatan sehingga saat disuspensikan dengan bakteri akan berwarna gelap [16].

Zona hambat pada ekstrak daun ungu yang terbentuk karena adanya senyawa kimia yang terkandung di dalamnya. Senyawa kimia tersebut, antara lain: triterpenoid/steroid bebas, alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, dan tannin [10]. Senyawa tersebut mempunyai mekanisme antibakteri yang berbeda-beda dalam menghambat per-tumbuhan bakteri saluran akar. Rusaknya din-ding sel, dan membran sitoplasma bakteri oleh karena senyawa-senyawa aktif tersebut dapat menyebabkan gangguan fungsi permeabilitas selektif, gangguan pada pengangkutan aktif, dan gangguan pada pengendalian susunan protein dari sel bakteri. Gangguan pada dinding dan membran sel bakteri menghalangi fungsi homeostatis normal pada sel, sehingga mengakibatkan kematian dari sel bakteri [17].

Zona hambat disekeliling lubang sumuran menunjukkan adanya aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri oleh bahan aktif dikelompokkan menjadi empat kategori, yaitu lemah (zona hambat < 6 mm), sedang (zona hambat 6-10 mm), kuat (zona hambat 11-20 mm), dan sangat kuat (zona hambat 21-30 mm) [18]. Aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun ungu konsentrasi 100% (20,47 mm) tergolong kategori kuat. Aktivitas antibakteri ekstrak daun ungu konsentrasi 50% (10,53 mm), 25% (9,31 mm), 12,5% (6,40 mm), dan sodium hipoklorit 2,6% (9,29 mm) tergolong dalam kategori sedang. Makin besar daya hambatnya menunjukkan bahwa khasiat antibakteri tersebut semakin kuat [15]. Hal ini sesuai dengan pernyataan Brooks dkk. bahwa konsentrasi suatu bahan antibakteri berpengaruh pada luas zona hambat. Semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas dalam menghambat bakteri semakin besar [19].

Faktor yang mempengaruhi adanya perbedaan kemampuan antibakteri pada ekstrak daun ungu terhadap pertumbuhan bakteri saluran akar gigi kemungkinan adalah adanya konsentrasi antibakteri, jumlah bakteri, spesies bakteri, adanya bahan organik, suhu, dan pH lingkungan [20]. Komposisi bakteri dalam saluran akar pada pulpa nekrotik menunjukkan adanya kolonisasi polimikrobial, yang terdiri dari empat hingga tujuh spesies, terutama bakteri anaerob fakultatif, dengan jumlah yang hampir sama antara bakteri Gram-negatif dan Gram-positif [1].

Ekstrak metanol daun ungu konsentrasi 6,25% tidak memiliki aktivitas antibakteri dengan besar zona hambatnya 0,00 mm. Hal ini diduga karena jumlah bakteri yang ada terlalu banyak dan potensi ekstrak metanol daun ungu dalam konsentrasi 6,25% yang rendah sehingga tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri saluran akar.

Aktivitas antibakteri ekstrak metanol daun ungu konsentrasi 25% dan sodium hipoklorit 2,6% menunjukkan hasil yang tidak bermakna. Hal tersebut menunjukkan besar potensi daya hambat yang sama. Hal ini diduga karena sodium hipoklorit dan ekstrak daun ungu memiliki sifat antibakteri yang sama, yang berarti dapat menghambat pebanyakan populasi bakteri saluran akar gigi (bakterostatik). Sodium hipoklorit 2,6% dalam menghambat pertumbuhan bakteri saluran akar gigi memiliki mekanisme reaksi saponifikasi yang dapat merusak protein membran bakteri [3]. Sedangkan pada ekstrak metanol daun ungu memiliki kandungan triterpenoid, glikosida, dan saponin yang dapat merusak protein membran bakteri sehingga pertumbuhannya menjadi terhambat [21][22][23]. Diharapkan ekstrak metanol daun ungu konsentrasi 25% dapat menggantikan bahan irigasi saluran akar dalam menghambat pertumbuhan bakteri saluran akar gigi, sehingga dapat menurunkan risiko terjadinya kegagalan post perawatan saluran akar dengan efek samping yang minimal.

Simpulan dan Saran

Kesimpulan dari penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak metanol daun ungu yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri saluran akar gigi adalah konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, dan 100%, konsentrasi minimal ekstrak metanol daun ungu yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri saluran akar gigi adalah konsentrasi 12,5%, dan konsentrasi ekstrak metanol daun ungu yang setara dengan sodium hipoklorit 2,6% adalah konsentrasi 25%.

Saran perlu adanya penelitian lebih lanjut dengan memperkecil rentang antara konsentrasi ekstrak daun ungu 12,5% dengan 6,25% yang kemungkinan akan memberikan nilai aktivitas antibakteri yang lebih rendah, toksisitas ekstrak daun ungu dengan berbagai konsentrasi, dan efek ekstrak daun ungu terhadap kebersihan smear layer pada permukaan akar gigi.

Daftar Pustaka

- [1] Beer R, Baumann MA, Kielbassa AM, Haassel TM. Atlas saku Endodontik. Jakarta: EGC. 2015. p 24-25, 228, 300.
- [2] Mulyawati E. Peran Bahan Disinfektan pada Perawatan Saluran Akar. Journal Dentistry 2011. 18(2): 206.
- [3] Yusof, S.A.B. Sodium Hypochlorite ssebagai Bahan Irigasi Saluran Akar. Skripsi. Medan: USU Repository. 2009. p 23-25.
- [4] Haapasalo M., Shen Y., Qian W., dan Gao Y. Irrigation in Endodontics. Dent Clin N Am. 2010. p 291.
- [5] Nissa U, Darjono A. Analisis Minyak Atsari Serai (*Cymbopogon citrates*) Sebagai Alternatif Bahan Irigasi Saluran Akar Gigi dengan Menghambat Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. Jurnal Majalah Ilmiah Sultan Agung. 2011. 49:124.
- [6] Rahardjo, M., Rosita S. M. D, dan I. Darwati. Pengaruh Pemupukan terhadap Pertumbuhan, Produksi, dan Mutu Simplisia Purwoceng (*Pimpinella pruatjan olkenb*). Jurnal Penelitian Tanaman Industri. 2006. 12(12): 2.
- [7] Sari, L.O.R.K. Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan manfaat dan Keamanannya. Universitas Jember. Majalah Ilmu Kefarmasian. 2006. 3(1): 12.
- [8] BBPP-Lembang. Potensi Tanaman Obat Indonesia. Lembang. Kementrian Pertanian Badan Penyuluhan dan Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian Balai Besar Pelatihan Pertanian (BBPP) Lembang. 2012 Jun [cited 2012 Jun 04]. Available from: <http://www.bbpp-lembang.info/index.php/arsip/artikel/artikel-pertanian/585-potensi-tanaman-obat-indonesia>
- [9] Kurniawati, Atik, dan Yani C. Pengaruh Ekstrak Metanol dari Daun Wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. J.K.G. Unej Stomatognatic. 2008. p 200-201.
- [10] Sitompul, Ninggolan. Aktivitas Antibakteri dan Analisis Kandungan Kimia Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff). Prosiding Seminar Nasional Biologi "Meningkatkan Peran Biologi dalam Mewujudkan "National Achievement with Global Reach". Medan: USU Press. 2011. p: 245.
- [11] Pidada IBR, Suhargo L. Peranan Ekstrak Daun Wungu untuk menghambat atrofi kelenjar mammae mencit betina ovariektomi. Jurnal Penelitian Media Eksata.

- Surabaya: UNAIR. 2009. p: 121.
- [12] Tukiran, Suyatno, dan Hidayati, N. Skrining Fitokimia Pada Beberapa Ekstrak Dari Tumbuhan Bugenvil (*Bougainvillea Glabra*), Bunga Sepatu (*Hibiscus Rosa-Sinensis L.*), Dan Daun Ungu (*Graptophyllum Pictum Griff*). Prosiding Seminar Nasional Kimia, Surabaya: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Surabaya. 2014. p: 238-239.
- [13] Azizah, lin Nur, Edhie, A. F., dan Tamara Yuanita. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Ungu (*Graptophyllum pictum*) terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis* (Penelitian Eksperimental Laboratoris). *Conservative Dentistry Journal*. 2013. 3(2): 3.
- [14] Patel S, Barnes JJ. Prinsip Endodontik. Edisi 2. Jakarta: EGC. 2016. p: 19.
- [15] Agustin, D. W. Perbedaan Khasiat Antibakteri Bahan Irigasi Antara Hidrogen Peroksida 3% dan Infusum Daun Sirih 20% terhadap Bakteri. *Maj. Ked. Gigi (Dental J.)* 2005. 38(1): 45.
- [16] Nurliza C, Fitri YB, Tiurma S. Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Veronia Amygdalina*) sebagai Bahan Alternatif Medikamen Saluran Akar Terhadap *Porphyromonas Gingivalis*. *Dentika Dental journal*. 2014. Vol 18 (1): 48-52.
- [17] Brooks, G.F. Butel, J.S. Morse, S.A. dan Carrol K. C. Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiologi 24th Edition. USA: Mc Graw Hill. 2007. p: 224-256.
- [18] Agustrina, G. Potensi Propolis Lebah Madu Apis Mellifera Spp Sebagai bahan antibakteri. Bogor: Departemen Biokimia FMIPA IPB. 2011.
- [19] Brunton, Parker, Blumenthal, Buxton. Godman & Gilman's Manual Pharmacology and Therapeutics. New York: McGraw Hill. 2008.
- [20] Nweze, E. I., dan Eze, E. E., Justification for The Use Of Octimum Gratissimum L. in Herbal medicine and Its Interaction with Disc Antibiotics. *BMC Complementary and Alternativ Medicine*. 2009. 9(9): 37.
- [21] Santosa, Ratih M., Depi Praharani, & Purwanto. Daya hambat antibakteri Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus viridians*. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa Unej. 2012.
- [22] Mustakim, H. Bahan Alami Glikosida Antrakuinon. Artikel Ilmiah. Purwokerto: Depdiknas FK Unsoed. 2008.
- [23] Monalisa, Dita. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber l.*) terhadap *S. aureus* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal Bioma*. 2011. 9(2): 1-7.