

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L) Griff) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus sanguinis*

Antibacterial Activity Test of Purple Leaf Ethanol Extract (Graptophyllum pictum (L) Griff) against the Growth of Streptococcus sanguinis

Nafila Syahrani, Atik Kurniawati, Ayu Mashartini Prihanti, Erna Sulistyani, Pujiana Endah Lestari
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Jl. Kalimantan No. 37 Jember
e-mail: atik.fkg@unej.ac.id

Abstract

Streptococcus sanguinis has strong adhesion with salivary pellicles which causes other oral bacteria to attach more and has contribution in causing caries and periodontal disease. *S. sanguinis* mediated the adhesion of *S. mutans* to dental pellicle receptors so inhibiting the interaction between *S. sanguinis* and *S. mutans* would prevent the risk of dental caries. Purple leaf (*Graptophyllum pictum*) is one of the medicinal plants or natural ingredients that are useful as antibacterials. The purpose of this study was to examine antibacterial activity of purple leaf extract against *S. sanguinis*. This experimental laboratory study with a pre-posttest control group design was conducted by dilution method on treatment groups, purple leaf extract with concentrations of 25%, 12.5%, 6.25% and 3.12%. Visual and spectrophotometer examination was observed before and after incubation. The result showed that purple leaf extract with concentrations of 6.25% and 3.12% and control + groups had not turbidity and decreased absorbance value. Furthermore, the One Way Anova parametric statistical test and also Post-Hoc Least Significant Difference showed that there were significant differences between the study groups. The purple leaf extract (*Graptophyllum pictum* L. Griff) had antibacterial activity against *S. sanguinis*. The antibacterial test for extracts that are dark in color can be continued using the TVC (Total Viable Count) method to provide a quantitative estimate of the concentration of bacterial cells in the sample in units of CFU/ml.

Keywords: dilution method, purple leaves, *S. sanguinis*

Abstrak

Streptococcus sanguinis memiliki daya adhesin yang kuat dengan pelikel saliva yang menyebabkan bakteri rongga mulut lain dapat menempel lebih banyak serta memiliki kontribusi dalam menyebabkan karies dan penyakit periodontal. Bakteri *S. sanguinis* membantu adhesi *S. mutans* pada reseptor pelikel gigi sehingga hambatan interaksi antara *S. sanguinis* dan *S. mutans* akan mencegah resiko karies gigi. Daun ungu (*Graptophyllum pictum*) merupakan salah satu tanaman obat atau bahan alam yang bermanfaat sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji aktivitas antibakteri ekstrak daun ungu terhadap *S. sanguinis*. Penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian pre-posttest control group design ini dilakukan dengan metode dilusi pada kelompok perlakuan yaitu ekstrak daun ungu dengan konsentrasi 25%, 12.5%, 6.25% dan 3.12%. Dilakukan pengamatan secara visual dan pemeriksaan spektrofotometer sebelum dan sesudah diinkubasi. Hasil penelitian menunjukkan pada kelompok ekstrak daun ungu konsentrasi 6,25%; 3,12% dan Kontrol + tidak terdapat kekeruhan dan nilai absorbansi menurun. Hasil uji *One Way Anova* dan juga *Post-Hoc Least Significant Difference* menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian. Ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff) mempunyai daya antibakteri terhadap *S. sanguis*. Uji antibakteri untuk ekstrak yang berwarna gelap dapat dilanjutkan dengan menggunakan metode TVC (*Total Viable Count*) untuk memberikan estimasi kuantitatif dari konsentrasi sel bakteri dalam sampel dengan satuan CFU/ml.

Kata kunci: daun ungu, metode dilusi *S. sanguinis*

Pendahuluan

Streptococcus sanguinis merupakan bakteri jenis gram positif yang bersifat anaerob fakultatif dan termasuk dalam kelompok *oral streptococci* [1]. Bakteri *S. sanguinis* memfasilitasi bakteri lain untuk berkoloni karena bakteri ini mampu menginisiasi adhesi dari bakteri-bakteri rongga mulut lainnya seperti *Streptococcus mutans*, *Streptococcus gordonii*, *Actinomyces naeslundii*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Prevotella loescheii*. Hal ini dikarenakan *S. sanguinis* memiliki reseptor untuk adhesi dari bakteri pengkloni selanjutnya [2].

Interaksi dari bakteri-bakteri tersebut pada permukaan gigi akan menyebabkan terbentuknya plak gigi. Bakteri ini juga dapat memicu zat-zat nutrisi dan memfasilitasi lingkungan baru untuk bakteri gram negatif rongga mulut sehingga dapat menyebabkan ketidak seimbangan sistem imun pada rongga mulut [3]. Bakteri *S. sanguinis* sudah lama diyakini sebagai bakteri utama pengkloni bakteri lain pada rongga mulut manusia dan dapat berikatan kuat secara langsung dengan pelikel saliva yang menyebabkan perlekatan mikroorganisme rongga mulut lain, terbentuknya plak gigi, serta berkontribusi dalam menyebabkan karies serta penyakit periodontal contohnya yang paling sering ditemui adalah gingivitis dan periodontitis [4]. Pada beberapa penelitian didapati bahwa bakteri *S. mutans* merupakan bakteri yang paling banyak ditemui pada plak gigi dikarenakan bakteri ini dapat hidup pada lingkungan yang bersifat asam [5].

Hasil penelitian menyebutkan bahwa adhesi *S. mutans* pada reseptor pelikel gigi terjadi karena adanya bakteri *S. sanguinis* [2]. Selain karies, bakteri *S. sanguinis* ini juga berhubungan dengan penyakit periodontal. Penyakit periodontal diketahui berawal dari penumpukan plak dan juga kalkulus [6]. Bakteri ini mempunyai agregasi tinggi dengan bakteri lain serta mempunyai peran penting dalam proses maturasi plak pada permukaan gigi, dimana plak ini dapat berkalsifikasi menjadi kalkulus atau biasa disebut dengan karang gigi [7]. Kalkulus merupakan suatu faktor iritasi terus menerus yang menyebabkan tahap awal dari penyakit periodontal yang disebut dengan gingivitis dan apabila kalkulus dibiarkan dan tidak segera dibersihkan maka akan berlanjut menjadi periodontitis [6].

Prevalensi penyakit periodontal di Indonesia menduduki urutan kedua setelah karies, yaitu mencapai 96,58%. Upaya untuk mencegah pertumbuhan berlebih *S. mutans* di dalam plak dapat dilakukan dengan menghambat interaksi yang terjadi antara *S. sanguinis* dan *S. mutans* sehingga mencegah risiko karies gigi [2]. Dari

pernyataan diatas, disimpulkan bahwa perlu adanya penghambatan pertumbuhan bakteri *S. sanguinis*.

Penggunaan obat kumur yang mengandung antiseptic memiliki efek antimikroba, namun obat kumur kimia masih memiliki keterbatasan yaitu efek samping berupa peningkatan pewarnaan gigi dan sensasi perubahan rasa pada penggunaan jangka panjang, maka dari itu perlu digunakan obat alternatif yaitu obat herbal salah satunya daun ungu [8,9]

Daun ungu adalah salah satu tanaman yang mengandung senyawa antibakteri yaitu flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Flavonoid mengganggu fungsi membrane sel dengan cara denaturasi, yaitu perubahan bentuk normal protein akibat terputusnya ikatan hydrogen [10]. Alkaloid menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu komponen pada penyusun peptidoglikan sel bakteri [11]. Lalu untuk tanin sendiri menghambat pertumbuhan bakteri melalui interaksi ikatan hidrofobik dimana ikatan hidrofobik ini akan menyebabkan denaturasi dan membuat metabolisme sel terganggu [10]. Kandungan senyawa antibakteri ini diharapkan mampu menghambat aktivitas dari *S. sanguinis*. Berdasarkan uraian yang telah disebutkan, penulis ingin mengetahui apakah ekstrak daun ungu memiliki aktivitas terhadap pertumbuhan *S. sanguinis*.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan *pre-posttest control group design* dengan sampel yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan dan 2 kontrol pertumbuhan yang masing-masing diberi suspensi bakteri. Setiap perlakuan dilakukan 4 kali pengulangan maka total sampel pada penelitian ini adalah 24 sampel. Ekstrak daun ungu diambil dari daun ungu segar yang tidak terkena hama. Daun ungu sebesar 700gr dicuci terlebih dahulu dengan air bersih kemudian ditiriskan. Setelah itu daun ungu dipotong kecil-kecil dan diangin-anginkan hingga beberapa hari sampai kering. Pastikan juga daun ungu tidak terkena matahari secara langsung. Setelah itu daun ungu kering dihaluskan dengan blender dan diayak sampai diperoleh serbuk halus (simplicia) sebanyak 200 gram.

Simplicia ini direndam dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:7,5 kali yaitu sebanyak 1500 ml dan ditaruh dalam wadah toples kaca selama kurang lebih 3 hari. Pengadukan rendaman simplicia ini dilakukan 2 kali yaitu pada pagi hari dan sore hari. Setelah tiga hari rendaman ini disaring dengan menggunakan kertas saring lalu akan

didapatkan hasil saringan yang disebut ekstrak cair. Ekstrak cair ini akan diuapkan sampai terbebas dari pelarut etanol dengan menggunakan vakum evaporator selama 45 menit pada suhu 45-50.C sampai ekstrak menjadi kental dengan konsentrasi 100%.

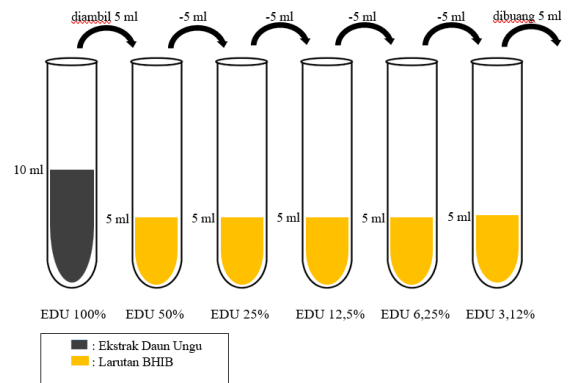
Pembuatan media *Brain Heart Infusion Broth* atau BHIB diawali dengan serbuk BHIB ditimbang sebesar 7,4gram dan dimasukkan ke tabung autoklaf lalu ditambahkan aquades steril sebanyak 200 ml. kemudian dilakukan pengadukan secara perlahan dan dilakukan pemanasan dalam *waterbath* pada suhu 90.C selama 10 menit sampai didapatkan larutan BHIB yang homogen. Setelah itu larutan BHIB tadi disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121.C selama 15 menit.

Dilanjutkan dengan pembuatan suspensi *S. sanguinis*. Bakteri *S. sanguinis* dapat diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember. Setelah itu dilakukan identifikasi bakteri di Laboratorium Bioscience RSGM Universitas Jember. *S. sanguinis* diambil sebanyak 1 ose kemudian dimasukkan pada media BHIB sebanyak 5 ml. Kemudian dilakukan inkubasi menggunakan inkubator pada suhu 37.C selama 24 jam. Suspensi *S. sanguinis* dibuat dengan menggunakan cara dilarutkan dalam NaCl fisiologis 0,45% dan kekeruhannya dapat disesuaikan berdasarkan larutan standar McFarland no. 0,5 yaitu $1,5 \times 10^8$ CFU/ml.

Kemudian pembuatan ekstrak daun ungu dengan konsentrasi 100% dilakukan dengan cara *serial dilution*. Enam tabung reaksi steril disiapkan dan diberi label. Tabung 1 diisi dengan ekstrak daun ungu konsentrasi 100% sebanyak 10 ml, kemudian tabung ke 2 sampai ke 6 diisi media BHIB sebanyak 5 ml. Pada tabung pertama dilakukan pengambilan larutan uji ekstrak daun ungu sebanyak 5 ml kemudian dimasukkan pada tabung 2, maka tabung 2 ini akan tercipta larutan ekstrak daun ungu 50%. Kemudian pada tabung 2 diambil juga larutan sebanyak 5 ml kemudian dimasukkan pada tabung 3, dan tabung 3 ini adalah ekstrak dengan konsentrasi 25%. Selanjutnya tabung 3 diambil juga sebanyak 5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung ke 4 dan tabung ke 4 ini adalah ekstrak daun ungu dengan konsentrasi 12,5%. Hal ini dilakukan seterusnya hingga tabung ke 6. Pada tabung ke 6 larutan diambil sebanyak 5 ml dan dibuang sehingga akan didapatkan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,12%.

Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25% (tabung 3), 12,5% (tabung 4), 6,25% (tabung 5), dan 3,125% (tabung 6). Tabung 3-6 yang berisi larutan ekstrak daun ungu diisi suspensi

bakteri *Streptococcus sanguinis* sebanyak 0,1 ml. Untuk tabung K+ diisi 5 ml amoksisilin dan BHIB serta suspensi bakteri *Streptococcus sanguinis* sebanyak 0,1 ml. Tabung K- diisi 5 ml BHIB dan suspensi bakteri *Streptococcus sanguinis* sebanyak 0,1 ml. Setiap kelompok dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.



Gambar 1. Ilustrasi pembuatan ekstrak daun ungu dengan konsentrasi 100% dilakukan dengan cara *serial dilution*

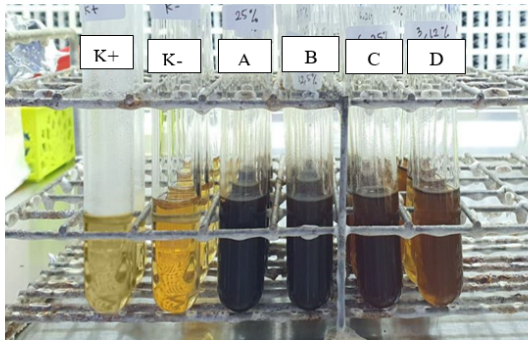
Setelah itu dilakukan pengamatan secara visual dengan cara melihat keruh dan bening pada tiap-tiap konsentrasi. Pembacaan dilanjutkan dengan menggunakan spektrofotometer yaitu dengan cara memindahkan beberapa ml larutan ke dalam wadah microplate lalu dimasukkan ke dalam spektrofotometer. Hasil yang didapatkan nantinya akan berupa angka. Tabung reaksi larutan uji tadi kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37°C.

Metode uji antibakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi cair dengan pengamatan secara visual dan juga pengukuran hasil secara kuantitatif menggunakan metode spektrofotometri dengan alat spektrofotometer. Aktivitas antibakteri dapat dilihat melalui adanya perubahan kekeruhan secara visual dan juga melalui nilai absorbansi yang diukur dengan spektrofotometer.

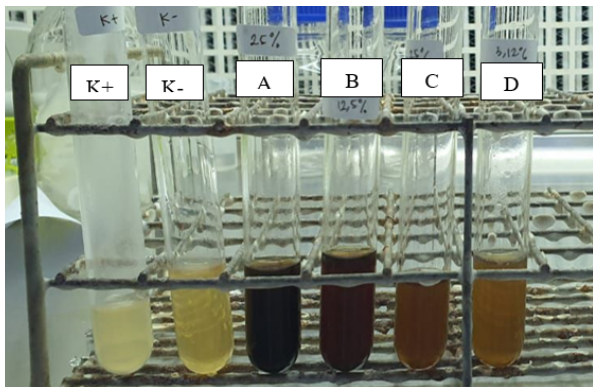
Hasil

Hasil penelitian kualitatif (visual) yaitu mengamati kekeruhan yang ada pada larutan uji sebelum dan sesudah inkubasi didapati bahwa pengamatan sebelum inkubasi terlihat larutan uji tidak mengalami kekeruhan yang berarti bahwa belum terdapat pertumbuhan dari bakteri yang dapat dilihat pada Gambar 2 sedangkan pada hasil pengamatan pada larutan uji sesudah inkubasi

terdapat yang kekeruhan dan warna pada tiap konsentrasinya dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. Hasil Pengamatan Kekeruhan Sebelum Inkubasi. K+) Kelompok kontrol positif (Amoksisilin). K-) Kelompok kontrol negatif (BHIB). A) Kelompok ekstrak daun ungu konsentrasi 25%. B) Kelompok ekstrak daun ungu konsentrasi 12,5%. C) Kelompok ekstrak daun ungu konsentrasi 6,25%. D) Kelompok ekstrak daun ungu konsentrasi 3,12%



Gambar 3. Hasil Pengamatan Kekeruhan Sesudah Inkubasi. K+) Kelompok kontrol positif (Amoksisilin). K-) Kelompok kontrol negatif larutan BHIB. A) Kelompok ekstrak daun ungu konsentrasi 25%. B) Kelompok ekstrak daun ungu konsentrasi 12,5%. C) Kelompok ekstrak daun ungu konsentrasi 6,25%. D) Kelompok ekstrak daun ungu konsentrasi 3,12%.

Hasil pengamatan setelah diinkubasi secara visual lebih jelas disajikan pada tabel pengamatan (Tabel 1). Pengamatan ditunjukkan dengan tanda (+) yang berarti masih terdapat pertumbuhan bakteri *S. sanguinis*, kemudian tanda (-) berarti bahwa pertumbuhan bakteri terhambat. Pada konsentrasi 25% dan 12% larutan tidak dapat diamati karena warnanya yang terlalu pekat maka dari itu data dieksklusi dan tidak dianalisis. Pengamatan visual dinilai kurang efektif karena hanya membandingkan dengan kelompok kontrol saja dan tergantung pada pengelihatannya masing-masing pengamat. Oleh karena itu perlu dilakukan pengujian secara

kuantitatif dengan spektrofotometer.

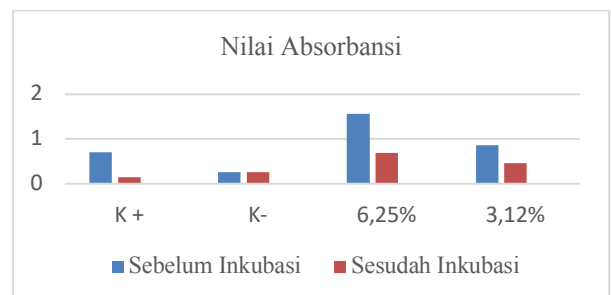
Tabel 1. Hasil Pengamatan Setelah inkubasi Secara Visual.

Kelompok	Hasil			
	P1	P2	P3	P4
K+	-	-	-	-
K-	+	+	+	+
6,25%	+	-	-	-
3,12%	-	-	-	-

Hasil pengamatan secara kuantitatif dilakukan dengan spektrofotometer yang bertujuan untuk menghitung rata-rata nilai absorbansi masing-masing kelompok sebelum dan sesudah inkubasi selama 24 jam. Pada grafik (Gambar 4) dapat dilihat rata-rata nilai absorbansi sebelum dan sesudah inkubasi. Nilai absorbansi pada kelompok K+, konsentrasi 6,25% dan 3,12% menurun setelah dilakukan inkubasi. Nilai absorbansi pada kelompok K- terlihat meningkat setelah diinkubasi. Konsentrasi 25% dan 12,5% data tidak dianalisis.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Nilai Absorbansi

Kelompok	Hasil			
	Rata-rata		Δ OD	Ket
	Sebelum Inkubasi	Sesudah Inkubasi		
K+	0.6985	0.1415	-0.557	Turun
K-	0.2595	0.26	0.0005	Naik
6,25%	1.565	0.6845	-0.881	Turun
3,12%	0.86025	0.45775	-0.4025	Turun



Gambar 4. Diagram nilai absorbansi

Pada kelompok K+, konsentrasi 6,25% dan 3,12% terdapat penurunan nilai absorbansi sesudah inkubasi ditunjukkan dengan nilai ΔOD negatif ($\Delta OD \leq 0$). Nilai $\Delta OD \leq 0$ berarti bahwa tidak ada pertumbuhan bakteri dan aktivitas bakteri terhambat. Sedangkan pada kelompok K- terdapat peningkatan nilai absorbansi sesudah inkubasi yaitu nilai ΔOD positif ($\Delta OD > 0$). Nilai $\Delta OD > 0$ ini menunjukkan bahwa terdapat pertumbuhan bakteri dan aktivitas bakteri tidak terhambat atau tidak ada penghambatan.

Data hasil penelitian secara kuantitatif kemudian dilakukan analisis dengan analisis statistik. Analisis pertama yaitu uji normalitas *Saphiro-Wilk* dengan nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($\alpha > 0,05$). Hasil dari perhitungan dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan analisis statistik untuk uji homogenitas *Levene* dan didapat bahwa hasil nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($\alpha > 0,05$) yang berarti data homogen. Dilanjutkan dengan uji statistik *One Way Anova* yang bertujuan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok percobaan. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa nilai signifikansi 0,000 ($\alpha < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok. Terakhir analisis statistik dilanjutkan dengan uji *post hoc LSD* sebagai penentu signifikansi perbedaan antar kelompok. Hasil uji *post hoc LSD* menunjukkan bahwa pada kelompok yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri yaitu kelompok K+, konsentrasi 6,25% dan 3,12% memiliki nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($\alpha > 0,05$) yang menandakan bahwa kelompok tidak signifikan atau memiliki kemampuan yang sama dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus sanguinis*

Tabel 3. Hasil uji *Post Hoc LSD* kelompok yang mengalami penurunan nilai absorbansi ($\Delta OD \leq 0$)

Kelompok	K+	6,25%	3,12%
K+	-	0.189	0.727
6,25%	0.189	-	0.103
3,12%	0.727	0.103	-

Pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun ungu

(*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) yang dilakukan dengan cara maserasi dan pengenceran menggunakan pelarut etanol 96% terhadap bakteri *S. sanguinis*. Metode maserasi dipilih karena metode ini tidak membutuhkan waktu yang lama dan tidak memerlukan bahan yang banyak. Etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat universal, polar dan mudah didapat. Etanol 96% dipilih sebagai pelarut karena selektif, tidak toksik, absorbsinya baik dan kemampuan penyariannya yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non-polar, semi polar dan polar. Pelarut etanol 96% lebih mudah masuk ke dalam dinding sel sampel uji daripada pelarut etanol dengan konsentrasi lebih rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat [12].

Pengamatan secara kualitatif pada kelompok K- terlihat adanya kekeruhan yang berarti terdapat aktivitas bakteri (pertumbuhan bakteri tidak terhambat). Lalu setelah dilakukan pengamatan kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer didapat bahwa nilai selisih nilai absorbansi (ΔOD) dari kelompok K- adalah lebih dari 0 ($\Delta OD > 0$). Hal ini menunjukkan bahwa pada kontrol negatif diduga terdapat aktivitas atau pertumbuhan *S. sanguinis*. Untuk pengamatan kualitatif kelompok K+, konsentrasi 6,25% dan konsentrasi 3,12% terlihat tidak terdapat kekeruhan yang berarti bahwa pada kelompok dan konsentrasi tersebut tidak ada pertumbuhan bakteri. Hal ini sebanding dengan pengamatan kuantitatif yang menunjukkan bahwa nilai kelompok tersebut memiliki $\Delta OD \leq 0$ yaitu kelompok ini memiliki daya antibakteri terhadap *Streptococcus sanguinis*.

Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka aktivitas bakteri semakin berkurang karena kandungan senyawa yang bersifat antibakteri dalam ekstrak semakin besar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi kecil yaitu 6,25% dan 3,12% nilai absorbansi menurun yang berarti terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri sedangkan pada ekstrak daun ungu dengan konsentrasi besar yaitu 25% dan 12,5% justru terjadi peningkatan yang berarti bahwa masih terdapat aktivitas bakteri. Konsentrasi 25% dan 12,5% merupakan konsentrasi yang lebih besar disbanding dengan 6,25% dan 3,12% dimana seharusnya dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Kenaikan nilai pada konsentrasi 25% dan 12,5% tidak sepenuhnya dikarenakan pertumbuhan bakteri, namun dapat juga disebabkan oleh kepekatan konsentrasi pada larutan dengan konsentrasi tinggi, sehingga nantinya dapat memengaruhi penyerapan cahaya oleh sel-sel bakteri yang mati di dalam larutan [13]. Untuk itu dibutuhkan penelitian lebih lanjut dengan media agar sebagai pembanding *viable counts* untuk

mengetahui aktivitas bakteri yang terdapat pada konsentrasi tinggi yaitu konsentrasi 6,25% dan 3,12% apakah bakteri didalamnya hidup atukah sudah mati [14].

Simpulan dan Saran

Ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) mempunyai daya antibakteri terhadap *S. sanguis*. Namun ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) yang berwarna gelap memberikan hasil yang kurang baik sehingga sulit untuk diinterpretasikan. Oleh karena itu uji antibakteri untuk ekstrak yang berwarna gelap sebaiknya dapat dilanjutkan dengan menggunakan metode TVC (*Total Viable Count*) untuk memberikan estimasi kuantitatif dari konsentrasi sel bakteri dalam sampel dengan satuan CFU/ml.

Daftar Pustaka

- [1] Zhu, B., Macleod, L. C., Kitten, T., & Xu, P. Streptococcus sanguinis biofilm formation & interaction with oral pathogens. *Future microbiology*, 2018;13(8):915–932.
- [2] Andayani, R., Chismirina, S., Kumalasari, I. Pengaruh ekstrak buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap interaksi Streptococcus sanguinis dan Streptococcus mutans secara in vitro. *Cakradonya Dental Journal*, 2014;6(2):727-736.
- [3] Lilyawati, S. A., Fitriani, N., & Prasetya, F. Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Biji Pinang Muda (*Areca catechu*). In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences 2019*;10:135-138
- [4] Marsh, P. D., Moter, A., & Devine, D. A. (Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontology* 2000, 2011;55(1):16-35.
- [5] Corby, P. M., Lyons-Weiler, J., Bretz, W. A., Hart, T. C., Aas, J. A., Boumenna, T., ... & Paster, B. J. Microbial risk indicators of early childhood caries. *Journal of clinical microbiology*, 2005; 43(11):5753-5759.
- [6] Artawa, I. M. B., & Swastini, I. G. A. A. Perbedaan kondisi karang gigi pada masyarakat yang mengkonsumsi air sumur dengan bukan air sumur. *Jurnal Periodontology*, 2010;8:1-2.
- [7] Kemal, Y., Lesang, R., Bachtiar, B. M., & Makmun, L. H. Analisis Morfoogi Koloni dan Keragaman Genotip Streptococcus sanguinis yang Berasal dari Plak Gigi dan Saliva Penderita Penyakit Jantung Koroner; *Dentika: Dental Journal*, 2012;17(2):153-156
- [8] Kemala, D., Hendiani, I., & Satari, M. H. Uji daya antibakteri ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L*) terhadap Streptococcus sanguinis ATCC 10556. *Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students*, 2018);2(2):137-140.
- [9] Aminah, A., Muflihunna, A., & Abidin, Z. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Wungu (*Graptophyllum pictum (Linn) Griff*) Dengan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 2016;8(1):39-44.
- [10] Sya'haya, S., & Iyos, R. N. Pengaruh pemberian ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum Griff*) terhadap penyembuhan hemoroid. *Jurnal Majority*, 2016;5(5):155-160.
- [11] Juliantina, F., Citra, D. A., Nirwani, B., Nurmasitoh, T., & Bowo, E. T. Manfaat sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai agen anti bakterial terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, 2009;1:12-20.
- [12] Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S., & Abdullah, S. S. Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak Dan Fraksi Ascidian *Herdmania momus* Dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Candida albicans*. *Pharmacon*, 2021;10(1):706-712.
- [13] Warokka, K. E., & Wuisan, J. Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia Steenis*) sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan Streptococcus mutans. *e-GiGi*, 2016;4(2).
- [14] Domínguez, M. C., de la Rosa, M., & Borobio, M. V. Application of a spectrophotometric method for the determination of post-antibiotic effect and comparison with viable counts in agar. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2001;47(4):391-398.