

Research Report

Daya Antibakteri Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*) terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*

(*Antibacterial Activity of Averrhoa bilimbi linn Leaf Extract against Enterococcus Faecalis*)

Ranggi Hardian Nugro Astuti ¹, Karlina Samadi ², Eric Priyo Prasetyo ²

¹Mahasiswa Program Sarjana Kedokteran Gigi

²Staff Departemen Konservasi

Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Airlangga
Surabaya-Indonesia

ABSTRACT

Background. The prevalence of *Enterococcus faecalis* bacterial infection caused the failure of root canal treatment between 24%-77%. This is due to various factors resistance and virulence of *Enterococcus faecalis*. This research to find alternative materials that have antibacterial properties and by utilizing natural ingredients that can later be used as a root canal irrigation. Antibacterial activity of the *Averrhoa bilimbi linn* leaf extract against *Enterococcus faecalis* bacteria can be determined by Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). **Purpose.** The aim of this study was to determine the concentration of *Averrhoa bilimbi linn* leaf extract that has antibacterial activity against bacteria *Enterococcus faecalis*. **Method.** This research is a laboratory experimental with post test only control group design which use diluted *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 according Mc. Farland standard $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. With treatment *Averrhoa bilimbi linn* leaf extract on concentration 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, and 25% given to each of 0,05 ml *Enterococcus faecalis* and using Brain Heart Infusion Broth (BHIB) as planting media. **Result.** At the concentration 30% of *Averrhoa bilimbi linn* leaf extract, showed that colony's growth less than 10%. At the concentration 35% was not revealed any bacterial growth. **Conclusion.** The *Averrhoa bilimbi linn* leaf extract has antibacterial effect on bacteria *Enterococcus faecalis*. The MIC was at 30% and MBC was at 35%.

Keywords : *Averrhoa bilimbi linn* leaf extract, *Enterococcus faecalis*, MIC, MBC

Korespondensi (*correspondence*): Ranggi Hardian Nugro Astuti, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60132, Indonesia. E-mail: ranggihardian@gmail.com

PENDAHULUAN

Untuk mempertahankan gigi dalam kedudukannya dan berfungsi selama mungkin diperlukan suatu perawatan saluran akar ¹. Perawatan saluran akar mempunyai tiga prinsip dasar yang dikenal dengan "Triad Endodontik" yang terdiri dari preparasi biomekanik, sterilisasi, serta obturasi ². Perawatan saluran akar memiliki tingkat keberhasilan yang tinggi, namun dalam beberapa kasus dapat terjadi kegagalan ³.

Prevalensi kegagalan perawatan saluran akar yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Enterococcus faecalis* berkisar antara 24%-77% ⁴. Bakteri yang tersisa dalam sistem

saluran akar adalah faktor yang signifikan dalam kegagalan endodontik ⁵. Hal ini disebabkan karena berbagai faktor ketahanan dan virulensi dari *Enterococcus faecalis* ⁶. *Enterococcus faecalis* memiliki kemampuan untuk berkompetisi dengan mikroorganisme lain dalam invasinya ke tubuli dentin dan kemampuan untuk bertahan pada keadaan nutrisi yang rendah. Tingginya resistensi *Enterococcus faecalis* disebabkan antara lain karena dapat mengadakan kolonisasi yang baik dan dapat bertahan dalam saluran akar tanpa dukungan dari bakteri lainnya ⁷. Selain itu, *Enterococcus faecalis* dapat tetap hidup walaupun mekanisme fagosit terus

berlangsung. Hal inilah yang menyebabkan bakteri dapat tetap bertahan pada saluran akar⁸. Salah satu tujuan yang paling penting dari keberhasilan perawatan saluran akar adalah untuk menghilangkan atau mengurangi adanya bakteri intra-kanal. Irigasi dalam perawatan saluran akar yang bersifat antimikroba untuk mensterilisasi atau mengurangi jumlah mikroorganisme patogen dalam saluran akar sangat diperlukan.⁹

Bahan yang sering digunakan sebagai bahan irigasi saluran akar saat ini adalah *NaOCl* (natrium hipoklorit), EDTA (*Ethylene diamine tetraacetic acid*), dan Chlorhexidine. Bahan irigasi saluran akar yang berasal dari zat kimia memiliki daya sitotoksik yang tinggi dan dapat merusak jaringan vital apabila ada kelalaian ketika menggunakannya. Efek yang akan terjadi adalah dapat mengakibatkan rasa sakit pada jaringan, edema, *hemorrhagi*, dan iritasi, sehingga diperlukan suatu alternatif yang aman dan dapat digunakan sebagai antibakteri untuk mengurangi infeksi yang terjadi pada saluran akar.¹⁰

Bahan alternatif yang memiliki sifat antibakteri terhadap *Enterococcus faecalis* dan tidak bersifat toksik diharapkan nantinya dapat digunakan sebagai bahan irigasi saluran akar. Saat ini penelitian bahan alami yang bermanfaat di bidang kedokteran gigi telah banyak dilakukan. Penelitian tersebut dilakukan untuk mencari bahan pengganti bahan kimia sintetis dengan memakai bahan dasar dari tanaman tradisional ataupun bahan yang memiliki toksisitas rendah, biokompatibilitas tinggi, dan mudah diperoleh dari lingkungan alam Indonesia¹¹. Salah satu bahan alami yang dapat digunakan adalah ekstrak daun belimbing wuluh. Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*) merupakan salah satu jenis tanaman yang sering dikonsumsi sebagai obat tradisional pada penyakit batuk, darah tinggi, dan diabetes. Daun belimbing wuluh memiliki beberapa kandungan kimia yaitu flavonoid, tanin, dan triterpenoid.^{12,13}

Kandungan flavonoid yang terdapat dalam daun belimbing wuluh merupakan kelompok senyawa fenol ini mempunyai kecenderungan untuk menurunkan aktivitas fisiologis bakteri dengan mengganggu integritas membran sel sehingga dapat melisis bakteri.^{14,15} Flavonoid juga memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein bakteri melalui ikatan

hidrogen. Keadaan ini menyebabkan struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri yang mengandung protein menjadi tidak stabil sehingga sel bakteri menjadi kehilangan aktivitas biologisnya. Fungsi permeabilitas sel bakteri akan terganggu dan sel bakteri akan mengalami lisis yang berakibat pada kematian sel bakteri.¹⁶

Menurut Smullen (2007) tanin yang juga terkandung dalam daun belimbing wuluh dapat merusak membran sel bakteri dan menyebabkan kebocoran intraseluler. Selain itu, senyawa kimia lainnya yaitu triterpenoid yang mempunyai sifat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati.¹¹

Dari uraian di atas, diketahui bahwa daun belimbing wuluh memiliki kandungan kimia yang dapat digunakan sebagai antibakteri dan belum pernah dilakukan penelitian tentang pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. Peneliti terpacu untuk melakukan pengujian daya antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test-only control group design*. Uji statistik yang digunakan yaitu uji parametrik. Uji ini dipilih karena data berskala ordinal dan jumlah sampelnya sedikit. Sampel penelitian yang dipakai pada penelitian ini adalah bakteri *Enterococcus faecalis*. Penentuan jumlah sampel menggunakan rumus Federer. Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa Bilimbi Linn*) dengan konsentrasi 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, dan 25%. Konsentrasi didapatkan dari penelitian pendahuluan yang menggunakan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,2%, 3,1%, 1,5%, dan 0,7%. Dan didapatkan konsentrasi 50% dan 25% sebagai KHM dan KBM sementara.

Ekstrak daun belimbing wuluh diperoleh dari BPKI (Balai Penelitian dan Konsultasi Industri) Ketintang yang diekstrak dengan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi. Uji daya antibakteri adalah uji yang bertujuan mengetahui efek anti bakteri suatu bahan secara langsung terhadap pertumbuhan bakteri dengan melihat Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), jumlah koloni yang tumbuh sebagai indikator. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) didapatkan dengan menggunakan metode dilusi pengenceran seri pada penelitian pendahuluan dan dilusi pengenceran larutan pada penelitian lanjutan. Penghitungan koloni bakteri yang tumbuh pada media setiap konsentrasi dibandingkan dengan jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol positif. Kontrol positif merupakan formulasi antara media pertumbuhan bakteri yaitu media cair *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) dan 0,05 ml bakteri *Enterococcus faecalis* yang telah distandarkan 0,5 mcFarland ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml) dan diinkubasi dalam suhu 37° selama 24 jam. Penghitungan jumlah koloni yang tumbuh dilakukan secara manual dengan membagi *plate* tambah pertumbuhan bakteri menjadi empat kuadran untuk mempermudah penghitungan.

Analisa data yang digunakan adalah uji normalitas menggunakan tes *Kolmogorov-Smirnov* untuk melihat apakah data yang didapat berdistribusi normal, uji homogenitas varians menggunakan tes *Levene*, dan uji statistika menggunakan *Oneway Anova* lalu dilakukan uji parametrik menggunakan *Post Hoc test Tukey HSD*.

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan stok bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

yang diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan, Surabaya. Stok bakteri tersebut kemudian diberikan perlakuan dengan pemberian ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*). Pada penelitian pendahuluan untuk menemukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*) terhadap bakteri *E. faecalis* dilakukan pengenceran dengan metode dilusi sehingga didapatkan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,2%, 3,1%, 1,5%, dan 0.78%. Dilakukan penanaman bakteri pada media *Nutrient Agar* dan diinkubasi 1x 24 jam. Dilakukan penghitungan koloni dan dihasilkan konsentrasi hambat minimum (KHM) sementara pada konsentrasi 25% dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) sementara pada konsentrasi 50%.

Setelah didapatkan hasil tersebut, dilakukan pengenceran kembali dengan *range* yang lebih kecil yaitu dengan konsentrasi 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, dan 25%, kemudian dilakukan inkubasi dan pengecekan *streak*. Hasil *streak* menunjukkan konsentrasi hambat minimum (KHM) pada konsentrasi 30% dan konsentrasi bunuh minimum (KBM)

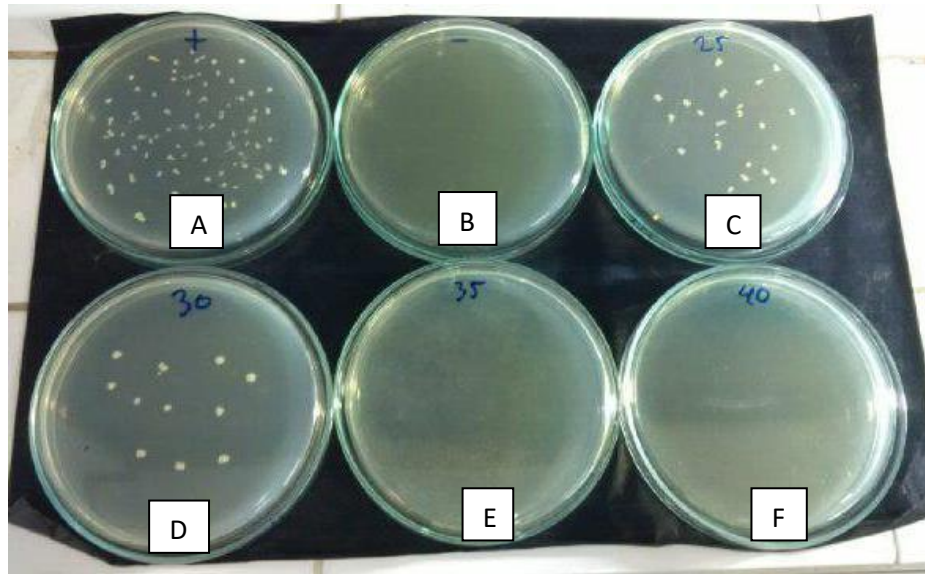
| Replikasi | Jumlah Koloni Bakteri | | | | | |
|-----------|-----------------------|-----------|-----|-----|-------|--------|
| | Kontrol + | Kontrol - | 40% | 35% | 30% | 25% |
| Rata-rata | 138,2 | 0 | 0 | 0 | 13,4 | 20,4 |
| % | 100 % | 0 | 0 | 0 | 9,6 % | 14,7 % |

pada 35%, kemudian dilakukan penanaman pada konsentrasi 25%, 30%, 35%, 40%, kontrol positif, dan kontrol negatif.

Tabel 1 Penghitungan Koloni Hasil Pengenceran

Pada pengenceran yang kedua ini dilakukan replikasi sebanyak 5 kali. Data yang diperoleh pada penghitungan koloni pada tiap replikasi merupakan hasil rata-rata penghitungan yang dilakukan oleh tiga pengamat. Hasil rata-rata dari penghitungan kelima replikasi didapatkan pada konsentrasi 25% ada sebanyak 20,4 koloni, pada konsentrasi 30% sebanyak 13,4 koloni, pada konsentrasi 35% tidak terdapat koloni, pada

konsentrasi 40% tidak terdapat koloni, pada kontrol positif terdapat 138,2 koloni, dan pada kontrol negatif tidak terdapat koloni yang tumbuh. Berdasarkan data tersebut maka diketahui konsentrasi 30% adalah sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi 35% sebagai konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*.



Gambar 1. Hasil Penanaman pada kontrol positif (A), kontrol negatif (B), konsentrasi 25% (C), konsentrasi 30% (D), konsentrasi 35% (E), dan konsentrasi 40% (F) pada media *Nutrient Agar*.

Analisa data yang pertama dilakukan uji normalitas pada masing-masing kelompok dengan menggunakan uji *Kolmogorov Smirnov* untuk melihat apakah distribusinya normal, dan didapatkan $p > 0.05$ yang berarti data berdistribusi normal. Uji homogenitas dengan *Levene Test* dan didapatkan nilai $p > 0.05$ yang berarti data homogen. Untuk melihat adanya signifikansi perbedaan antar kelompok perlakuan, dilakukan uji perbandingan mean dengan *One-Way ANOVA* sebab data yang ada berdistribusi normal dan homogen. Diperoleh $p = 0.000$ ($p < 0.05$) yang menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antar kelompok konsentrasi dan menunjukkan adanya perbedaan efektivitas.

PEMBAHASAN

Daya antibakteri ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* dapat diketahui dengan menentukan Konsentrasi

Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Pada penelitian ini diperoleh hasil rerata jumlah koloni yang tumbuh pada kontrol positif adalah sebanyak 138,2 CFU/ml. Rerata jumlah koloni yang tumbuh pada konsentrasi 30% ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*) adalah sebanyak 12,2 CFU/ml dan tidak ada bakteri yang tumbuh pada konsentrasi 35% ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi 30% ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 90,4% sehingga konsentrasi 30% ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*) sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. Hasil berikutnya diperoleh 35% ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri sebesar 99,9% hal ini

menunjukkan bahwa konsentrasi 35% ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*) sebagai konsentrasi bunuh minimum (KBM) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*.

Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi linn*) memiliki kandungan yang berperan sebagai antibakteri yaitu flavonoid, triterpenoid dan tannin.^{12,13}

Senyawa tanin dapat menghambat bakteri dengan menghancurkan membran plasma bakteri yang terdiri dari 60% protein dan 40% lemak, yang biasanya dalam bentuk fosfolipid. Zat kimia tanin yang terdapat dalam daun belimbing wuluh memiliki kemampuan untuk bereaksi dengan protein membran sel bakteri dan membentuk ikatan kompleks.¹⁷

Ikatan kompleks dengan protein dapat menginaktivasi adhesin bakteri, enzim, koagulator protein bakteri. Inaktivasi adhesin bakteri, enzim, koagulator protein bakteri, dan hambatan terhadap aktivitas *glucosyltransferase* menyebabkan koagulasi protoplasma sehingga terjadi pengerutan dinding sel bakteri yang mengakibatkan meningkatnya permeabilitas dinding bakteri. Peningkatan permeabilitas membran diikuti oleh kebocoran intraseluler yang menyebabkan komponen sel keluar sehingga aktivitas fisiologis sel bakteri menurun dan menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri bahkan kematian bakteri.¹⁸

Dalam mekanisme lain, sebagai antibakteri tanin memiliki kemampuan untuk menghambat enzim *reverse transcriptase* dan DNA topoisomerase sehingga bakteri tidak dapat terbentuk.¹⁹

Mekanisme antibakteri pada flavonoid dalam merusak membran sitoplasma dapat dijelaskan sebagai berikut, flavonoid berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Sebagian besar struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri mengandung protein dan lipid. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu, yang akan berakibat pada lolosnya makromolekul, dan ion dari sel. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi kehilangan bentuknya, dan terjadilah lisis.²⁰

Selain itu, flavonoid memiliki kemampuan sebagai antibakteri melalui mekanisme penghambatan sintesis asam nukleat (disebabkan oleh penghambatan topoisomerase) dan penghambatan metabolisme energi (yang disebabkan oleh penghambatan NADH-cytochrome *c reductase*).²¹

Triterpenoid berbentuk siklik atau asiklik dan sering memiliki gugus alkohol, aldehida, atau asam karboksilat. Senyawa triterpenoid mudah larut dalam lipid, sifat inilah yang mengakibatkan senyawa ini mudah menembus dinding sel bakteri gram positif dan negatif. Kemampuan senyawa triterpenoid ini menyebabkan senyawa ini mudah untuk menembus dinding bakteri sehingga senyawa steroid/triterpenoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme penghambatan terhadap sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri itu sendiri.²²

Triterpenoid bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati.¹¹

Senyawa tanin, flavonoid, dan triterpenoid pada daun belimbing wuluh dengan mekanisme kerja masing – masing bekerja secara sinergis terhadap bakteri. Mekanisme tersebut menyebabkan aktivitas fisiologis bakteri menurun, pertumbuhan bakteri terhambat, dan kematian bakteri *Enterococcus faecalis* yang merupakan bakteri yang paling resisten pada saluran akar dan merupakan salah satu penyebab dari kekambuhan penyakit post perawatan endodontik, sehingga memberikan peluang alternatif bahan baru dalam bidang endodontik khususnya sebagai bahan irigasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Abidin, Trimurni. 2007. *Inovasi Perawatan Konservasi Gigi Melalui Teknologi Tissue Engineering*. Naskah Publikasi Universitas Sumatra Utara ; p.7-9.
2. Shahani, Reddy S. 2011. *Comparison of Antimicrobial Substantivity of Root Canal Irrigants In Instrument Root Canal up to 72h :*

- An in vitro study*. Journal of the Indian Society of Pedodontics & Preventive Dentistry; Vol. 29: p. 28-33
3. Meyyapan R, Sai Satya N, Kannan K, Shafie A, Vinoth Kumar, Deepa Arum. 2014. *Effectiveness of Conventional and three different Rotary Retreatment techniques in canals obturated with Gutta Percha : A Scanning Electron Microscopic Study*. Departement of Conservative Dentistry and Endodontics. Annamalai University. Tamilnadu ; vol : 26; p.259
 4. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB. 2006. *Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment*. J Endod; vol.32(2): p. 93-7.
 5. Marcos SE, Calo CR, Alexandre AZ, Jose FA, Brenda PF. 2013. *Quantitative and Qualitative analysis of microorganisms in root-filled teeth with persistent infection : Monitoring of the endodontic retreatment*. Departement of Restorative Dentistry, Endodontic Division. State University of Campinas. Brazil ; vol;7 ; p.302
 6. Fisher K, Phillips C. 2009. *The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus*. University of Northampton, School of Health, Park Campus, Boughton Green Road, Northampton NN2 7AL, UK Microbiology; 155: p. 1749–57.
 7. Kundabala M, Suchitra U. 2002. *Enterococcus Faecalis: An Endodontic Pathogen*. Journal of Endodontic; 3: p.11-3.
 8. Hojo K, Nogaoka, Ohshima. 2009. *Bacterial Interactions in Dental Biofilm Development*. J Dent Res 88 (11).p 987 - 990
 9. Nisha, Amit Garg. 2010. *Text Book of Endodontics*. Jaypee Brothers. St Louis (USA). p 210.
 10. Yunizar MF, S Larnani, N Archadian. 2014. *Pengaruh Konsentrasi Minyak Atsiri Kayu Manis terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Enterococcus faecalis*. BIMKGI. Vol.2 ; p 1-9.
 11. Depi P, Ratih M, Purwanto. 2012. *Antibacterial Activity of Pare Leaf (Momordica charantia) Extract on Inhibition of Streptococcus viridans Growth*. Jurusan Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember (UNEJ). Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa. p. 3.
 12. Faharani, G B, 2009, *Uji Aktifitas Antibakteri Daun Belimbing Wuluh Terhadap Bakteri Streptococcus Aureus dan Acheria Coli secara Bioautografi*, FMIPA UI, Jakarta.p 23-25
 13. Hayati E K, Jannah A, dan Mukhlisoh W. 2010. *Pengaruh Ekstrak Tunggal dan Gabungan Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi Linn) Terhadap Efektivitas Antibakteri Secara In Vitro*. Kimia. UIN Malang. Malang. p 12-14
 14. Cushine TP, Andrew J Lamb. 2005. *Review Antimicrobial activity of flavonoids*. School of Pharmacy, The Robert Gordon University, Schoolhill, Aberdeen AB10 1FR, UK.Elsevier. vol. 26. p. 343 – 356.
 15. Smullen J, Koutsou G A, Foster H A, Zumba A, Storey DM. 2007. *The antibacterial activity of Plant Extracts Containing Polyphenols against Streptococcus mutans*. Caries Res. Vol. 41. p 342 – 349.
 16. Guaijaverin ,Prabu GR, Gnanamani A, Sadulla S. Guaijaverin. 2006. *A plant flavonoid as potential antiplaque agent against Streptococcus mutans*. Journal of Applied Microbiology;101(2): p. 487-495.
 17. Mailoa MN, Mahendradatta M, Laga A, Djide N. 2014. *Antimicrobial Activities Of Tannins Extract From Guava Leaves (Psidium Guajava L) On Pathogens Microbial*. International Journal Of Scientific & Technology Research;3(1): p. 236-241.
 18. Juliantina F, Citra D A, Nirwani B, Nurmasitoh T, Bowo ET., 2009. *Manfaat Sirih Merah (Piper crocatum) sebagai Agen Antibakterial terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif*. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia 1(1): p. 2-3.
 19. Rijayanti, Rika. 2014. *Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (Mangifera foetida l) terhadap Staphylococcus aureus secara In Vitro*. Naskah Publikasi Universitas Tanjungpura ; p.7-9
 20. Nanin DR. 2010. *Daya Antibakteri Tumbuhan Majapahit (Crescentia Cujete L.) terhadap Bakteri Vibrio Alginolyticus*. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember. p. 9.
 21. Cushnie & Lamb. 2011. *Recent Advances in Understanding the Antimicrobial Properties of Flavonoids*. International Journal of Antimicrobial Agent; vol.38. p. 99-107.
 22. Priggenies D, Ferawaty, A.S., Agus, S.,. 2012. *Potensi Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Terhadap Bakteri Penyakit Kulit Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus epidermidis, dan Micrococcus luteus*. Jurnal of Marine Research. vol. 1(2): p. 152-160.

