
**EFEKTIFITAS EKSTRAK ETIL ASETAT TUMBUHAN *MYRMECODIA PENDANS*
TERHADAP BAKTERI *STREPTOCOCCUS MUTANS* ATCC 25175**

Widyawati

Bagian Konservasi, FKG Universitas Baiturrahmah
Jl. Raya By. Pass KM. 15 Sei Sapih, Padang
Email : widyaramuna@yahoo.co.id

KATA KUNCI

Streptococcus mutans,
Myrmecodiapendans,
karies, KHM, KBM

ABSTRAK

Penyakit karies gigi merupakan salah satu dari berbagai penyakit manusia yang paling umum terjadi. Penyakit ini disebabkan terbentuknya asam di permukaan gigi yang timbul sebagai reaksi dari sisa-sisa makanan yang melekat pada permukaan gigi dengan mikroorganisme yang terdapat pada mulut. Salah satu bakteri yang dianggap sangat berperan dalam mekanisme pembentukan karies gigi dan peningkatan kolonisasi bakteri adalah bakteri *Streptococcus mutans*. Bakteri *S. mutans* dianggap sebagai bakteri penyebab karies gigi karena kemampuannya membentuk biofilm pada permukaan gigi. Pencarian senyawa bioaktif dari bahan alam masih menjadi alternatif, salah satunya dari tumbuhan *Myrmecodia pendans*. Penelitian ini bertujuan mengetahui efektifitas ekstrak etil asetat *M. Pendans* dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode Kirby Bauer dan agar difusi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil uji sensitivitas terpenoid pada konsentrasi 10000; 5000 dan 2000 ppm berturut-turut adalah 17,9; 16,8; 13,6 mm. Hasil uji KHM dan KBM berturut-turut 78.125 dan 625 ppm.

KATA KUNCI

Streptococcus mutans,
Myrmecodiapendans,
caries, KHM, KBM

ABSTRAK

Caries is one of the common diseases in human. This disease is caused by the acid formation in the teeth surface that happened as the reaction of the debris that attached to the teeth surface with microorganism in the mouth. One of the bacteria that consider to have an important role in caries formation mechanism and the increased of bacteria colonization is Streptococcus mutans. The bacteria cause caries due to the ability to create biofilm on the teeth surface. The search of bioactive compound from nature is still becoming an alternative, one of them is Myrmecodia pendans. This study aimed to find out the effectivity of ethyl acetate extract of M. pendans in inhibiting the growth of S. mutans. Antibacterial activity test by using Kirby Bauer method and diffusion agar. The result showed that terpenoid sensitivity test in concentration 10,000; 5,000 and 2,000 ppm respectively are 17.9; 16.8; and 13.6 mm. KHM and KBM test resulted in 78.125 and 625 ppm.

PENDAHULUAN

Gigi berlubang merupakan satu dari penyakit manusia yang paling umum terjadi. Penyakit

ini merupakan akibat penurunan jaringan keras pada gigi yang disebabkan oleh *Streptococcus mutans*. Penyakit gigi berlubang merupakan infeksi gigi yang

cukup berbahaya karena dapat mengakibatkan penyakit degeneratif¹. Karies ditandai dengan terjadinya demineralisasi jaringan sehingga menyebabkan kerusakan matriks organik dapat juga disebabkan oleh ketidakseimbangan faktor-faktor yang terdapat dalam rongga mulut. Karies merupakan penyakit yang berhubungan dengan banyak faktor yang saling mempengaruhi².

Terdapat empat etiologi penyebab karies yaitu host, agent, substrat dan waktu³. Faktor tersebut merupakan faktor utama, dimana bila terdapat keempat faktor utama tersebut yang saling berinteraksi dan dalam waktu tertentu maka terjadilah karies. Selain faktor tersebut diatas ada juga beberapa faktor risiko seseorang terkena karies, antara lain penggunaan fluor, *oral hygiene*, saliva, pola makan, keturunan, ras dan jumlah bakteri⁴. Oleh karena itu, diperlukan suatu senyawa bioaktif yang dapat menjadi agen antibakteri khususnya pada *S. mutans*. Pencarian senyawa bioaktif dari bahan alam masih menjadi alternatif, salah satunya *Myrmecodia pendans* banyak digunakan oleh masyarakat di Papua Barat sebagai ramuan berkhasiat untuk terapi berbagai penyakit⁵.

Tumbuhan sarang semut (*Myrmecodia pendans*) merupakan tumbuhan asal Papua yang terletak di bagian timur Indonesia. Tumbuhan sarang semut dikenal oleh masyarakat Papua sebagai tanaman obat. Tumbuhan sarang semut diyakini dapat mengobati berbagai penyakit diantaranya

kanker, tumor, asam urat, diare, demam dan penyakit lainnya. Tumbuhan ini juga tersebar dari Peniasula Melayu sampai ke Philipina, Kamboja, Sumatera, Jawa, Papua, serta pulau Solomom. Tumbuhan *M. pendans* merupakan family *Rubiaceae* dengan 5 genus, namun hanya dua yang dihuni oleh semut, yaitu *Myrmecodia* (45 spesies) dan *Hypnophytum* (26 spesies), dari spesies ini hanya *H. formicarum*, *M. pendans* dan *M. tuberosa* yang memiliki nilai medisinal⁶.

Penelitian ilmiah tentang *M. pendans* masih sedikit dan umumnya hanya membahas tentang ekologi, taksonomi, etnobotani dan uji aktifitas ekstrak. Dalam penelitian sebelumnya, ekstrak *M. pendans* mengandung flavonoid, tanin, fenolik, glukosidal dan terpenoid. Lima senyawa flavonoid dari ekstrak *M. pendans* dengan analisis menggunakan metode HPLC. Berdasarkan penelitian sebelumnya maka perlu dilakukan penelitian mengenai ekstrak umbi *M. pendans* yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. mutans*⁷.

METODE

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah umbi sarang semut (*M. pendans*) yang didapatkan dari Desa Ayawasi, Kabupaten Sorong Selatan, Provinsi Papua Barat. Bahan penelitian ini dideterminasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Unpad. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etil asetat, *n*-heksana, metanol, akuades, silika gel G60

(70-320 mesh), plat TLC silika dan ODS, ODS RP-18, 10% H₂SO₄ dalam etanol, alkohol 70%, lampu Bunsen, clorheksidin, media agar Mueller hilton.

Peralatan

Pengukuran spektrum dilakukan dengan berbagai alat spektroskopi diantaranya spektrum ultraviolet (UV), spektrum IR diukur dengan FTIR-Shimadzu, spektrum ¹H dan ¹³C-NMR diukur menggunakan spektra JEOL JNM A-500, yang bekerja pada 500 MHz (¹H-NMR), 125 MHz (¹³C-NMR) dengan TMS sebagai standar internal dan spektrometer ES-MS (UPLC MS/MS TQD type, Waters), *Laminar air flow, incubator Memmert, autoclave HVE-50 Hirayama, ELISA reader Diagnostic Automation.*

Ekstraksi Sampel

Umbi *M. pendans* dipotong kecil-kecil (diameter ± 1 cm) sebanyak 1,5 kg. Sebanyak 300 g sampel diekstraksi selama 2x6 jam dengan labu sokhlet 5 L. Ekstraksi dilakukan sebanyak lima kali rotasi menggunakan pelarut etil asetat dengan metode sokletasi. Ekstrak hasil soklet disaring dengan kertas saring *millipore* dan kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu 40° C hingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat etil asetat yang diperoleh dari hasil soklet adalah sebanyak 15 g.

Uji Antibakteri *S. mutans* ATCC 25175 dengan Metode Kirby-Bauer

Peremajaan bakteri

Masing-masing sejumlah satu ose bakteri (*S. mutans*) dari *stock* diinokulasikan ke dalam

tabung reaksi steril yang berisi suspensi muller hilton sebanyak 5 mL hingga mencapai tingkat kekeruhan 0,5 *Mac Farland*. Pencapaian kekeruhan dilakukan dengan cara membandingkan dengan standar kemudian diinkubasi selama 48 jam pada 37°C.

Pengujian Sampel, Kontrol Negatif dan Kontrol Positif

Kapas lidi dicelupkan dalam suspensi bakteri lalu dioleskan pada permukaan media agar hingga merata. Selanjutnya sebanyak 50 µl sampel, 50µl kontrol positif (klorheksidin) dan kontrol negatif (metanol) diteteskan pada kertas samir (disk) kemudian diletakkan diatas media agar. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah 48 jam, diameter zona bening disekitar disk diamati. Zona hambat disekitar disk diukur dengan menggunakan jangka sorong untuk mengetahui luas zona hambatnya.

Penentuan KHM dan KBM

Untuk menentukan nilai MIC digunakan metode mikro dilusi. Bakteri yang diremajakan pada media Muller Hinton broth pada suhu 37° C diencerkan 0,5 *mac Farland*. Uji MIC dalam penelitian ini untuk menentukan konsentrasi minimum suatu ekstrak *M. pendans* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Dengan demikian uji sensitivitas dilakukan dari konsentrasi terkecil ekstrak *M. pendans*. Uji dilakukan dengan mempergunakan *micro plate* dan isolat murni dengan konsentrasi berbeda yang dilarutkan dalam methanol/air (3:1).

Secara aseptik dimasukkan 0,15 ml medium bulyon cair yang telah disterilkan dalam autoclave dan 0,15 ml terpenoid isolat sarang semut ke dalam *micro plate*. Sebagai pembanding kekeruhan dibuat tabung kontrol yang tidak diberi senyawa uji. Konsentrasi terendah ekstrak uji dalam tabung yang menunjukkan kejernihan yang sama dengan tabung kontrol dinyatakan dengan MIC. Air atau MeOH digunakan untuk melarutkan senyawa di mana air dan MeOH tidak berpengaruh. Kontrol positif, klorheksidine, dilarutkan dalam air. Nilai minimal konsentrasi penghambatan (MIC) dan konsentrasi bakterisida minimal (MBC) dari senyawa murni ditentukan dengan menggunakan metode mikro dilusi. Pengujian dilakukan dalam secara duplo.

HASIL

Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa

Umbi *M. pendans* diekstraksi dengan metode sokletasi menggunakan pelarut etil asetat. Metode sokletasi dipilih karena waktu yang digunakan lebih cepat dan hasil yang diperoleh lebih maksimal. Hal ini didasarkan pada beberapa pengulangan dalam isolasi senyawa target dan dibandingkan dengan ekstraksi secara maserasi. Dari ekstrak etil asetat umbi *M. pendans* diisolasi jenis terpenoid dengan massa 130 mg. Struktur senyawa ditentukan dengan 1D-NMR dan 2D-NMR. Senyawa terpenoid yang diperoleh berupa oilic berwarna kuning. Spektrum MS

m/z menunjukkan puncak stabil pada berat molekul 403,33. Hal ini menunjukkan terpenoid type labdane terpene dengan rumus molekul $C_{25}H_{40}O_4$.

Penentuan Kepekaan Bakteri terhadap Senyawa Terpenoid dari Sarang Semut

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. mutans* digunakan klorheksidin sebagai kontrol positif, metanol sebagai kontrol negatif. Penggunaan klorheksidin sebagai kontrol positif dikarenakan antibakteri yang umum digunakan untuk menghilangkan karies pada gigi adalah klorheksidin dengan cara dikumur-kumur. Konsentrasi klorheksidin yang dipakai adalah 2.000 ppm. Penggunaan methanol sebagai kontrol negatif dikarenakan pelarut yang digunakan untuk melarutkan ekstrak *M. pendans* adalah methanol, sehingga untuk mengetahui pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan bakteri maka digunakan pengujian kontrol negatif. Pengujian sampel ekstrak *M. pendans* dibuat dalam konsentrasi 10.000, 5.000, dan 2.000 ppm. Parameter yang digunakan adalah diameter zona hambat/bening disekitar *paper disk*. Diameter zona bening yang diakibatkan oleh aktivitas antibakteri diukur dengan menggunakan jangka sorong lalu dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif. Hasil uji kepekaan ekstrak *M. pendans* terhadap bakteri *S. mutans* ditunjukkan pada tabel berikut.

Tabel 1. Hasil uji kepekaan isolate terpenoid terhadap *S. mutans*.

Senyawa	Zona hambat (mm) pada konsentrasi (ppm)								
	10000			5000			1000		
	Ke-1	Ke-2	Rata-rata	Ke-1	Ke-2	Rata-rata	Ke-1	Ke-2	Rata-rata
ekstrak <i>M. pendans</i>	17.8	17.9	17.9	16.8	16.7	16.8	10.7	10.7	10.7
klorheksidin*	td	td	td	td	td	td	14.6	14.6	14.6

Untuk mengetahui konsentrasi minimum ekstrak *M. pendans* terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans* maka dilakukan pengujian konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi konsentrasi membunuh minimum (KBM). Penentuan nilai KHM dilihat dari perbandingan nilai absorbansi pada baris C (media, senyawa uji dan bakteri) dengan baris D (media, pelarut dan bakteri), Penentuan nilai KHM *S. mutans* ditunjukkan pada tabel 2. Nilai absorbansi larutan pada sumur yang ditandai dengan garis warna

kuning menunjukkan nilai yang relatif sama. Hal ini menunjukkan jumlah bakteri yang tumbuh pada baris C dan D sama. Sedangkan nilai absorbansi larutan pada sumur yang ditandai dengan garis warna merah terdapat perbedaan yang mengindikasikan adanya perbedaan jumlah bakteri yang tumbuh pada C dan⁸. Sehingga nilai KHM untuk setiap senyawa uji adalah konsentrasi pengujian yang dilingkari dengan warna merah. Nilai KHM terpenoid sebesar 78.53 ppm.

Tabel 2. Penentuan nilai KHM ekstrak *M. pendans* terhadap *S. mutans*

Sumur	Concentration (ppm)											
	5000	2500	1250	625	312.5	156.25	78.12	39.06	19.53	9.76	4.88	2.44
M+S	1.19	1.165	0.964	0.807	0.661	0.429	0.201	0.116	0.084	0.06	0.055	0.05
	1.213	1.039	0.743	0.733	0.547	0.381	0.18	0.117	0.082	0.058	0.054	0.052
M+P	0.055	0.057	0.055	0.054	0.052	0.052	0.055	0.053	0.054	0.052	0.055	0.052
	0.107	0.06	0.053	0.053	0.05	0.051	0.053	0.053	0.05	0.051	0.048	0.05
M+S+B	1.236	1.091	0.842	0.749	0.583	0.478	0.214	0.133	0.113	0.135	0.09	0.092
	1.306	1.151	0.803	0.703	0.576	0.546	0.292	0.121	0.112	0.105	0.099	0.098
M+P+B	0.096	0.067	0.055	0.069	0.063	0.098	0.127	0.122	0.135	0.13	0.129	0.15
	0.096	0.067	0.056	0.072	0.071	0.108	0.13	0.125	0.146	0.137	0.148	0.148

Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi dengan menggunakan alat *Elisa reader* maka diperoleh nilai KHM sebesar 78,125 ppm. Untuk mengetahui nilai KBM maka mulai dari plate 1-5 di tanam dalam media padat Mueller Hilton. Hasil pengujian KBM

diperoleh nilai 625 ppm, yang menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut tidak ada terdapat bakteri yang hidup.

Menentukan nilai MIC dapat juga dilakukan dengan mengambil selisih absorbansi kontrol (Medium + bakteri) dan absorbansi sampel

(Medium + bakteri + sampel). Absorbansi Kontrol yang stabil ditunjukkan dengan tidak ada kontaminan di sumur. Di sisi lain, absorbansi sampel yang mengandung media, bakteri dan sampel yang diberikan terdapat penurunan nilai secara signifikan. Itu berarti sampel berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri dan penghambatan terendah terjadi baik pada konsentrasi sampel 78,125 ppm sebagai nilai MIC dan 625 ppm sebagai nilai MBC. Penentuan nilai MBC dapat melihat dengan visualisasi langsung, konsentrasi terendah yang ada bakteri pertumbuhan didefinisikan sebagai nilai MBC.

PEMBAHASAN

Metode yang dipilih pada pengujian aktivitas antibakteri terpenoid sarang semut adalah metode difusi agar / Kirby Bauer. Dasar pemilihan metode ini adalah karena cepat, mudah dan sederhana dalam pengerjaannya. Prinsip dari metode Kirby Bauer adalah zat uji (ekstrak etanol sarang semut) dengan konsentrasi 2000 ppm yang diteteskan pada kertas cakram dapat berdifusi dengan baik pada permukaan media padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Hasil yang didapat terlihat zona hambat pada terpenoid 10,7 mm sedangkan klorheksidin 14,6. Dari hasil diatas dapat disimpulkan bahwa terpenoid sarang semut dan klorheksidin mempunyai efek antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dengan kriteria kuat sesuai dengan pendapat Davis dan Stout (1971) yang

membagi lima kriteria kekuatan efek antibakteri berdasarkan diameter zona hambat yakni : tidak ada zona hambat, diameter zona hambat 5 mm dikategorikan lemah, diameter zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm dikategorikan sangat kuat.

Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum dan Konsentrasi Bunuh Minimum

Konsentrasi Hambat Minimum senyawa terpenoid sarang semut terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175 adalah pada konsentrasi 312,5 ppm sedangkan konsentrasi bunuh minimum terdapat pada konsentrasi 2500 ppm yang menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut tidak terdapat pertumbuhan bakteri.

Senyawa terpenoid sarang semut (*Myrmecodia pendans*) merupakan metabolit sekunder. Bioaktivitas terpenoid telah banyak diteliti dalam bidang kedokteran, diantaranya adalah sebagai bahan antibakteri. Monoterpen dan diterpen diketahui memiliki aktivitas antibakteri yang sangat kuat^{9,10,11}. Senyawa dari golongan diterpen telah banyak yang berhasil diisolasi dari tumbuhan dan diantaranya memiliki aktifitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*^{10,12}.

Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri diantaranya melalui penetrasi membran sel. Lapisan permukaan sel *Streptococcus mutans* terdiri dari 4 komponen yaitu peptidoglikan, antigen polisakarida, glikoprotein dan gliserol dari

asam teikhoik dan lipoteikhoik, juga mengandung fimbria. Molekul pada sitoplasma dinding sel peptidoglikan berfungsi untuk melindungi bakteri dari tekanan osmotik internal yang tinggi, namun ruang antar polimer di dalam dinding membantu pemecahan polisakarida maupun protein oleh enzim proteolitik. Struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana, yaitu berlapis tunggal dengan kandungan lipid yang rendah (1-4%) sehingga memudahkan bahan bioaktif masuk ke dalam sel¹³.

Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri berkaitan dengan toksisitas polifenol terhadap mikroba mungkin terkait dengan penghambatan enzim hidrolitik (protease dan carbohydrases) atau interaksi lain untuk tidak mengaktifkan perlekatan mikroba, amplop sel protein transport, dan interaksi nonspesifik dengan karbohidrat¹⁴. Mekanisme diterpen sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya dinding sel bakteri. Rusaknya transmembran yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati^{14,15,16}. Struktur dinding sel bakteri Gram positif memiliki lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan mengandung polisakarida

(asam teikoat) yang mudah larut dalam air sehingga bersifat polar. Mekanisme kerja senyawa diterpen sebagai zat antibakteri diduga melibatkan kerusakan membran oleh senyawa lipofilik¹⁷.

Struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana, yaitu berlapis tunggal dengan kandungan lipid yang rendah (1-4%) sehingga memudahkan bahan bioaktif masuk ke dalam sel. Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri berkaitan dengan toksisitas polifenol terhadap mikroba yang terkait dengan penghambatan enzim hidrolitik (protease dan carbohydrases) atau interaksi lain untuk tidak mengaktifkan perlekatan mikroba, amplop sel protein transport, dan interaksi nonspesifik dengan karbohidrat^{14,18}. Struktur dinding sel bakteri Gram positif memiliki lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid dan mengandung polisakarida (asam teikoat) yang mudah larut dalam air sehingga bersifat polar¹⁹. Mekanisme kerja senyawa terpenoid sebagai zat antibakteri diduga melibatkan kerusakan membran oleh senyawa lipofilik¹⁷. Terpenoid dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri sehingga sel bakteri kekurangan nutrisi, pertumbuhan bakteri terhambat atau mati¹⁵.

Klorhexidin glukonat diambil sebagai kontrol positif terhadap *Streptococcus mutans* karena klorheksidin glukonat memiliki efek

antibakteri signifikan terhadap *Streptococcus mutans*, yang sesuai dengan penelitian^{20,21}. Mekanisme kerja klorheksidin melalui gangguan pada transport membran sel dan metabolisme bakteri, sehingga dinding sel menjadi lisis^{22,23}. Penelitian yang dilakukan oleh Ccahuana-Vasquez (2010) menunjukkan bahwa karena terjadinya peningkatan berat biofilm tetapi viabilitas bakteri menurun, sehingga pengurangan jumlah EPS dihubungkan dengan kematian sel dan bukan efek khusus dari klorheksidin terhadap penghambatan sintesis polisakarida ekstraseluler²⁴.

SIMPULAN

Hasil uji sensitivitas ekstrak *M. pendans* pada konsentrasi 10000; 5000 dan 2000 ppm berturut-turut adalah 17,9; 16,8; 13,6 mm. Hasil uji KHM dan KBM berturut-turut 78.125 dan 625 ppm. Berdasarkan hasil pengujian kepekaan bakteri terhadap ekstrak *M. pendans* maka ekstrak *M. pendans* berpotensi sebagai antibakteri dan untuk dijadikan agen antibakteri alternatif dan *gold standard* untuk obat kumur.

DAFTAR PUSTAKA

- Pereira, C. A., Eskelson, E., Cavalli, V., Liporoni, P. C. S., Jorge, A. O. C. & Rego, M. A. D. 2011. *Streptococcus mutans* biofilm Adhesion on Composite Resin Surfaces After Different Finishing and Polishing Techniques. *Operative Dentistry*, 36, 311-317.
- Stewart R, Hale K. 2003. The paradigm shift in etiology, prevention and management of dental caries: its effect on the practice of clinical dentistry. *J Cal Dent Assoc*; 31(2): 247 – 51
- Ricketts, D., Chadwick, G. & Hall, A. 2011. Chapter 1 – Management of dental caries. In: BARTLETT, D. R. (ed) *Advanced Operative Dentistry*. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Elsalhy, M., Honkala, S., Soderling, E., Varghese, A. & Honkala, E. 2013. Relationship between daily habits, streptococcus mutans and caries among schoolboys. *J Dent*, 41, 1000-6
- Subroto, Saputro, 2013. Gempur Penyakit dengan Sarang Semut. Penerbit Penebar Swadaya\
- Sangi, M., Runtuwene M. R. J., Simbala H. E.I. Dan makang V. M. A. (2088). *Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara*. Chem. Prog. Vol. 1: 47-53
- Engida, A.M., Kasim, N.S., Tsigie, Y.A., Ismadji, S., Huynh, L.H and Ju, Y. 2013. Extraction, Identification and quantitative HPLC analysis of Flavanoid from Sarang Semut (*Myrmecodia pendans*). *J. Industrial and Product*. 41, 392-396.
- Souza, A.B., Souza, M.G.M., Moreira, M.A., Moreira, M.R., Furtado, N.A.J.C., Martins, C.H.G., Bastos, J.K., Santos, R.A., Heleno, V.C.G., Ambrosio, S.R. & Veneziani, R.C.S. 2011. Antimicrobial evaluation of diterpenes from *Copaifera langsdorffii* Oleoresin against periodontal anaerobic bacteria. *Molecules*. 16, 9611-9619.
- Joanne. E., Dellar., Michael. D., Cole., Peter, G., and Waterman. 1996. Antimicrobial Abietane Diterpenoid From *Plectrants Elegans*. *Departement of Pharmaceutical Sciences*. 003-9422(95)00694-X.
- Singh, G.S., and Pandeya, S.N. 2011. Natural product in discovery of potential and safer antibacterial agent. *Natural product in medicinal chemistry*. 63-101: 978-81-308-0448-4.
- Salib, J.Y., Nabila H.S., Helana N.M., and Emad F.E. 2013. Antibacterial activity of *Barleria cristata* bark extracts. *Journal of Applied Sciences Research*. 9;3: 2156-2159.
- Prabu, G.R., Gnanamani., and Sadulla, S. 2005. Guaijaverin – a plant flavonoid as potential antiplaque agent against *Streptococcus mutans*. *Journal of Applied Microbiology*. 101: 487–495.
- Kang HJ, Baker EN (2012) Structure and assembly of Gram-positive bacterial pili: unique covalent polymers. *Curr Opin Struct Biol* 22(2):200–207. doi:10.1016/j.sbi.2012.01.009

14. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev.* 1999 Oct;12(4):564–582
15. Djoukeng, J. D., Abou-Mansour E., Tabacchi R., Tapondjou A. L., Bouda H. and Lontsi D. 2005. Antibacterial Triterpenes from *Syzygium guineense* (Myrtaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 101 issues 1 – 3: 283 – 286).
16. Carrilho MR, Carvalho RM, Sousa EN, Nicolau J, Breschi L, Mazzoni A, Tjaderhane L, Tay FR, Agee K, Pashley DH (2010) Substantivity of chlorhexidine to human dentin. *Dent Mater* 26:779–785
17. Rachmawati, F., Nuria M. C. dan Sumantri. (2011). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Kloroform Ekstrak Etanol Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urb) serta Identifikasi Senyawa Aktifnya. Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim, Semarang
18. Koburger T, Hubner NO, Braun M, Siebert J, Kramer A. 2010. Standardized comparison of antiseptic efficacy of triclosan, pvp-iodine, octenidinedihydrochloride, polyhexanide and chlorhexidinedigluconate. *J Antimicrob Chemother* 65:1712–1719
19. Marraffini LA, Dedent AC, Schneewind O. 2006. Sortases and the art of anchoring proteins to the envelopes of gram-positive bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev* 70(1):192–221
20. Addy M, Jenkins S, Newcombe R. The effect of some chlorhexidine-containing mouthrinses on salivary bacterial counts. *J Clin Periodontol.* 1991 Feb;18(2):90–93)
21. Pemberton MN, Gibson J (2012) Chlorhexidine and hypersensitivity reactions in dentistry. *Br Dent J* 213:547–550
22. Vrani E, La-Evi A, Mehmedagi A, Uzunovi A. 2004. Formulation ingredients for toothpastes and mouthwashes. *J of Basic Medical Sciences.* 4(4): 51-8.
23. Gold J. 2008. The role of chlorhexidine in caries prevention. *Operative Dentistry.* 33(6):710-1
24. Cchahuana-Vasquez R, Cury J. 2010. *Streptococcus mutans* biofilm model to evaluate antimicrobial substance and enamel demineralization. *J Braz Oral Res.* 24(2).