

UJI KONSENTRASI HAMBAT MINIMUM (KHM) EKSTRAK DAUN LEILEM (*Clerodendrum minahassae* L.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans*

Hanna R. R. Situmorang¹⁾, Olivia Waworuntu¹⁾, Christy Mintjelungan¹⁾

¹⁾ Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Caries is one of the dental and oral diseases that are often experienced by the population of Indonesia. Caries is a disease of hard dental tissue, which consists of enamel, dentin and cementum, which is caused by the activity of microorganisms in fermentable carbohydrates. Streptococcus mutans bacteria are known to be the main cause of dental caries. Leilem leaf (Clerodendrum minahassae L.) is one of a herbal plant containing antimicrobial compounds, namely flavonoid, phenol, steroid and terpenoid. A study has been held in Manado by Bontjura et al in 2015 proved that the extract of leilem leaf (Clerodendrum minahassae L.) could inhibit the Streptococcus mutans. The purpose of this study is to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of leilem leaf (Clerodendrum minahassae L.) to Streptococcus mutans. This research is a true experimental research with Randomized Pretest-Posttest Control Group Design. This method used in this study is serial dilution method with turbidimetry and spectrophotometry as the test methods. Leilem leaf was taken from Paniki, subdistrict of Mapanget, and was extracted with maceration method using ethanol 96%. Streptococcus mutans bacterial was taken from a pure bacterial stock in Pharmacy Laboratory Faculty of Mathematics and Natural Science University of Sam Ratulangi Manado. Based on this research the minimal inhibitory concentration (MIC) of leilem leaf extract (Clerodendrum minahassae L.) to Streptococcus mutans is in the concentration of 12,5%.

Keywords : leilem leaf (*Clerodendrum minahassae* L.), *Streptococcus mutans*, minimal inhibitory concentration (MIC), caries.

ABSTRAK

Karies merupakan salah satu penyakit gigi dan mulut yang sering dialami oleh penduduk Indonesia. Karies adalah suatu penyakit jaringan keras gigi, yaitu email, dentin dan sementum, yang disebabkan oleh aktivitas suatu jasad renik dalam suatu karbohidrat yang dapat diragikan. *Streptococcus mutans* diketahui merupakan bakteri penyebab utama timbulnya karies gigi. Ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) merupakan salah satu tanaman herbal yang mengandung senyawa antibakteri, yaitu flavonoid, fenol, steroid, dan terpenoid. Sebuah penelitian yang telah dilakukan oleh Bontjura dkk pada tahun 2015 di Manado membuktikan bahwa ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) dapat menghambat bakteri *Streptococcus mutans*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Penelitian ini merupakan penelitian *Randomized Pretest-Posttest Control Group Design*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode serial dilusi dengan metode pengujian turbidimetri dan spektrofotometri. Daun leilem diperoleh di daerah Paniki, Kecamatan Mapanget, dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Bakteri *Streptococcus mutans* diambil dari stok bakteri murni Laboratorium Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yaitu pada konsentrasi 12,5%.

Kata kunci : daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.), *Streptococcus mutans*, konsentrasi hambat minimum (KHM), karies

PENDAHULUAN

Dalam rongga mulut manusia terdapat banyak mikroorganisme baik flora normal maupun yang patogen. *Streptococcus mutans* merupakan salah satu flora normal yang berada dalam rongga mulut manusia tetapi dapat berubah menjadi patogen apabila terjadi peningkatan populasi bakteri (Jawetz ZE,2004; Dwijayanti KR,2011). Bakteri *Streptococcus mutans* tergolong dalam bakteri Gram positif dan bersifat anaerob fakultatif. (Sumawinata N, 2004; Gronroos Lisa, 2000) Jenis bakteri ini diketahui merupakan bakteri penyebab utama timbulnya karies gigi (Sabir A.,2005). Karies adalah suatu penyakit jaringan keras gigi, yaitu email, dentin dan sementum, yang disebabkan oleh aktivitas suatu jasad renik dalam suatu karbohidrat yang dapat diragikan (Kidd EAM,1992).

Karies merupakan salah satu penyakit gigi dan mulut yang sering dialami oleh penduduk Indonesia. Menurut data dari Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013, prevalensi masalah gigi dan mulut di Indonesia mencapai 25,9% dan indeks DMF-T mencapai 4,6% yang berarti kerusakan gigi penduduk Indonesia mencapai 460 buah gigi per 100 orang (Anonim, 2013).

Berbagai upaya telah dilakukan untuk mencegah terjadinya karies gigi diantaranya modifikasi diet, *pit* dan *fissure sealant*, kontrol plak, penggunaan fluor, mengeliminasi bakteri kariogenik, sampai dengan penggunaan bahan yang bersifat antibakteri (Atria I,2012; Rosidah NA,2014; Hamada S, 1980).

Tanaman leilem (*Clerodendrum minahassae L.*) merupakan salah satu jenis tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri (Bontjura S, 2015). Jenis tanaman ini banyak tumbuh dan sangat umum dikenal

di daerah Minahasa, Sulawesi Utara (Kalangi C,2014). Pada bagian tanaman leilem (*Clerodendrum minahassae L.*) yaitu daun, biasa digunakan sebagai campuran masakan dalam daging atau ikan. Pemanfaatan daun leilem tidak hanya sebagai tanaman sayuran namun juga berkhasiat mengobati sakit perut dan dipergunakan sebagai obat cacing (Arini DID,2015).

Berdasarkan penelitian Shrivastava dkk pada tahun 2007, genus *Clerodendrum* mengandung senyawa flavonoid, fenol, steroid, dan terpenoid serta mempunyai efek sebagai anti-inflamasi, antimikroba, antidiabetes, antimalaria, antivirus, dan antioksidan (Shrivastava N ,2007). Penelitian lebih lanjut dilakukan oleh Bontjura dkk pada tahun 2015 membuktikan bahwa ekstrak daun leilem memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*, tetapi dari penelitian tersebut belum diketahui konsentrasi hambat minimum (KHM).

Berdasarkan uraian di atas dan dalam rangka mengoptimalkan pemanfaatan potensi daun leilem sebagai antibakteri, penulis tertarik untuk melakukan penelitian uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae L.*) sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni (*true experimental design*) dengan rancangan penelitian *randomized pretest-posttest control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado pada bulan Mei – Agustus

2016. Subjek dalam penelitian ini ialah bakteri biakan murni *Streptococcus mutans* yang diperoleh dari Laboratorium Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado. Ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae L.*) di dapat dengan cara ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sampel daun leilem diperoleh dari daerah Paniki, kecamatan Mapanget. Sampel diambil lalu ditimbang sebanyak 2 kg, kemudian dibersihkan dengan mencuci dibawah air mengalir sampai bersih, ditiriskan, diiris tipis-tipis, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruangan kurang lebih lima hari. Sampel yang telah kering diserbukkan dengan menggunakan blender, lalu serbuk daun leilem ditimbang sebanyak 100 gram. Proses maserasi akan dilakukan sebanyak dua kali pengulangan. Maserasi yang pertama, serbuk daun leilem dimasukkan dalam wadah dan ditambahkan etanol 96% hingga semua serbuk daun leilem terendam. Aduk hingga homogen, tutup segera kemudian disimpan dalam ruangan yang terhindar dari cahaya matahari selama lima hari. Selama perendaman, setiap hari diaduk selama 15 menit. Setelah perendaman selama lima hari, ekstrak disaring dengan menggunakan kertas saring dan ekstrak yang tidak tersaring diambil dan di maserasi lagi menggunakan etanol sebanyak 500 mL dan direndam selama dua hari. Setelah direndam selama lima hari, disaring dengan menggunakan kertas saring, lalu diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada temperatur 40° C. Ekstrak inilah yang akan dipakai dalam penelitian.

Metode penelitian yang digunakan yaitu dengan metode serial dilusi atau pengenceran bertingkat dengan menggunakan perbandingan

1:2 (w/v). Metode pengujian yang dipakai dalam penelitian ialah metode *turbidimetri* atau pengujian kekeruhan secara visual, kemudian dilanjutkan dengan menggunakan alat *spektrofotometer* untuk melihat nilai absorban sebagai penentu kekeruhan yang akurat. Bakteri *Streptococcus mutans* yang disimpan di media agar diambil dengan menggunakan jarum *ose* steril, lalu ditanamkan pada media agar miring dengan cara menghapus, kemudian diinkubasi selama 1x24 jam. Bakteri yang telah diremajakan pada media agar miring, kemudian diambil koloninya dari media agar miring dengan menggunakan jarum *ose* steril. Koloni yang diambil dimasukkan kedalam media BHI-B dalam tabung reaksi kemudian diinkubasi 1 x 24 jam. Setelah diinkubasi, dilakukan pembuatan suspensi *Streptococcus mutans* sesuai dengan standar kekeruhan *McFarland* 1. Sebanyak 11 tabung reaksi steril disiapkan. Setiap tabung uji diberi label 1-9, kemudian tabung 10 diberi label K(+) yang merupakan kontrol positif, yaitu tabung yang berisi suspensi bakteri *Streptococcus mutans* sebanyak 0,5 mL setara dengan standar kekeruhan *McFarland* 1. Tabung 11 diberi label K(-) yang merupakan kontrol negatif, yaitu tabung berisi ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae L.*) sebanyak 4 mL dengan konsentrasi 100%. Tabung 1 diisi sebanyak 4 mL konsentrasi 100% ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae L.*) kemudian dimasukkan ke dalam sentrifuge selama lima menit untuk pemisahan antara ampas ekstrak dari larutan ekstrak. Tabung 2-9 diisi dengan 2 mL media cair BHI-B. Kemudian ambil 2 mL larutan dari tabung 1, dimasukkan ke dalam tabung 2, dicampur

hingga homogen sehingga didapat konsentrasi 50%. Hal yang sama dilakukan hingga tabung 9 hingga didapatkan semua konsentrasi ekstrak dengan perbandingan 1:2 (w/v).

Pengujian dilakukan dengan diambil suspensi bakteri yang telah disetarakan dengan standar kekeruhan *McFarland* 1 sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi perlakuan label 1 lalu diukur nilai absorbansi awal dengan spektrofotometer. Selain itu, hal yang sama dilakukan pada tabung perlakuan label 2-9. Setiap tabung yang telah diketahui nilai absorbansi awal kemudian dimasukkan ke dalam inkubator dan diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 1 x 24 jam. Pada penelitian ini, perlakuan dan pengujian diulang sebanyak tiga kali.

Sesudah media tabung perlakuan diinkubasi selama 1x24 jam, semua tabung tersebut dilihat kekeruhannya secara visual. Apabila kekeruhan masing-masing tabung masih setara atau lebih keruh dari tabung K(+) yang berisi suspensi bakteri *Streptococcus mutans* sesuai standar kekeruhan *McFarland* 1 berarti bakteri masih dapat bertumbuh, tetapi ketika larutan dalam tabung terlihat mulai lebih jernih daripada tabung K(+) berarti pertumbuhan bakteri mulai terhambat. Hal inilah yang menunjukkan konsentrasi hambat minimum (KHM). Kemudian semua tabung perlakuan tersebut diukur lagi nilai absorbannya dengan *spektrofotometer* sebagai nilai absorbansi akhir. Jika nilai absorbansi akhir (sesudah inkubasi) masing-masing tabung lebih besar dari nilai absorbansi awal (sebelum inkubasi), maka disimpulkan bahwa masih terjadi pertumbuhan bakteri. Namun, jika sebaliknya tidak terdapat perubahan nilai absorbansi akhir dengan absorbansi awal, atau

nilai absorbansi akhir lebih kecil dari nilai absorbansi awal, maka disimpulkan bahwa pertumbuhan bakteri dihambat. Konsentrasi hambat minimum ditentukan dengan konsentrasi ekstrak terkecil pada tabung perlakuan yang pertama kali mengalami penurunan atau tidak terjadi perubahan nilai absorbansi yang dilihat dari nilai rata-rata absorbansi.

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi FMIPA Universitas Sam Ratulangi untuk pembuatan ekstrak daun leilem, perlakuan, pengujian turbidimetri, serta pengukuran nilai absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil pengujian turbidimetri ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap bakteri *streptococcus mutans* dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji KHM ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap *Streptococcus mutans* dengan metode turbidimetri

Nomor Tabung	Konsentrasi Ekstrak Daun Leilem (<i>Clerodendrum minahassae</i> L.)	Hasil		
		Perlakuan I	Perlakuan II	Perlakuan III
1	100%	-	-	-
2	50%	-	-	-
3	25%	-	-	-
4	12,5%	-	-	-
5	6,25%	-	-	-
6	3,125%	+	+	+
7	1,56%	+	+	+
8	0,78%	+	+	+
9	0,39%	+	+	+
10	K(+)	+	+	+
11	K(-)	-	-	-

Keterangan: Tanda (+): larutan di dalam tabung terlihat keruh, artinya terdapat pertumbuhan bakteri. Tanda (-): larutan di dalam tabung mulai jernih, yang artinya pertumbuhan bakteri mulai terhambat. K(+): Kontrol positif berisi suspensi bakteri yang setara dengan

McFarland 1. K(-): Kontrol negatif yang berisi ekstrak daun leilem 100%.

Berdasarkan hasil pengujian dengan menggunakan metode turbidimetri yang terdapat pada Tabel 2 di atas menunjukkan bahwa hasil nilai negatif terdapat pada ketiga perlakuan pada tabung nomor 5 dengan konsentrasi 6,25% dan ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimum ekstrak daun leilem terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. pertama, kedua, dan ketiga). Panjang gelombang sebelum inkubasi yaitu 342,00 nm dan sesudah inkubasi 348,00 nm. Data hasil

Penelitian kemudian dilanjutkan dengan pengujian melalui pengukuran nilai absorbansi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis untuk mendapatkan hasil pengukuran kekeruan secara kuantitatif. Nilai absorbansi diukur pada konsentrasi 0,39% - 100%, tabung kontrol positif dan kontrol negatif sebelum dan sesudah inkubasi 1x24 jam (perlakuan pengukuran nilai absorbansi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dimasukkan ke dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji KHM ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahasae* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis

No Tabung	Konsentrasi Ekstrak Daun Leilem (<i>Clerodendrum minahasae</i> L.)	Hasil								Ket
		Perlakuan I		Perlakuan II		Perlakuan III		Rata-rata		
		Sebelum Inkubasi	Sesudah Inkubasi	Sebelum Inkubasi	Sesudah Inkubasi	Sebelum Inkubasi	Sesudah Inkubasi	Sebelum Inkubasi	Sesudah Inkubasi	
1	100%	4.000	3.962	4.000	4.000	4.000	3.980	4.000	3.980	Turun
2	50%	4.000	4.000	4.000	4.000	4.000	3.090	4.000	3.696	Turun
3	25%	3.828	3.792	3.918	3.746	3.828	3.789	3.858	3.775	Turun
4	12,5%	3.877	3.726	3.821	3.253	3.792	3.253	3.830	3.410	Turun
5	6,25%	3.719	3.878	3.228	3.648	3.719	3.925	3.555	3.817	Naik
6	3,125%	3.496	3.853	3.496	3.686	2.908	3.253	3.300	3.597	Naik
7	1,56%	3.313	3.639	3.135	3.178	2.599	3.925	3.015	3.580	Naik
8	0,78%	3.338	3.726	3.135	3.286	2.468	2.728	2.980	3.246	Naik
9	0,39%	3.273	3.714	3.161	3.178	2.156	3.714	2.876	3.535	Naik
10	K (+)	1.728	2.085	1.728	2.856	1.478	2.844	1.644	2.595	Naik
11	K (-)	4.000	3.686	4.000	3.925	4.000	3776	4.000	3.795	Turun

Keterangan: “Tetap” menunjukkan nilai absorbansi setelah inkubasi \leq nilai absorbansi sebelum inkubasi, yang berarti bahwa pertumbuhan bakteri terhambat. “Turun” menunjukkan nilai absorbansi setelah inkubasi \leq nilai absorbansi sebelum inkubasi, yang berarti bahwa pertumbuhan bakteri terhambat. “Naik” menunjukkan

nilai absorbansi setelah inkubasi > nilai absorbansi sebelum inkubasi, yang berarti bahwa terdapat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan pengujian spektrofotometer, tabel di atas menunjukkan bahwa tabung dengan konsentrasi 12,5% - 100% (tabung 1 - 4) terjadi penurunan nilai rata-rata absorbansi sedangkan pada tabung dengan konsentrasi 0,39% - 6,25% (nomor 5-9) terjadi kenaikan nilai rata-rata absorbansi. Pada tabung dengan konsentrasi 12,5% mulai terlihat penurunan nilai rata-rata absorbansi, sehingga konsentrasi ini ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun leilem terhadap *Streptococcus mutans*.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang didapatkan setelah inkubasi 1x24 jam melalui metode turbidimetri, konsentrasi hambat minimum ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yaitu pada konsentrasi 6,25%. Konsentrasi ekstrak 6,25% secara visual terlihat mulai jernih pada perlakuan pertama, kedua, dan ketiga jika dibandingkan tabung dengan konsentrasi 0,39% - 3,125% (tabung 6 - 9) yang kekeruhannya mendekati tabung kontrol positif (tabung 10) yang berisi suspensi bakteri *Streptococcus mutans* yang setara dengan kekeruhan McFarland 1. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 6,25% pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* mulai terhambat sedangkan pada konsentrasi 0,39%-3,125% (tabung 6 - 9) masih terdapat pertumbuhan bakteri. Hal ini disebabkan ekstrak tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi ekstrak yang rendah karena semakin rendah

konsentrasi, jumlah senyawa aktif dalam ekstrak semakin sedikit sehingga kemampuan ekstrak dalam menghambat bakteri berkurang (Ajizah A, 2004).

Hasil pengamatan konsentrasi hambat minimum (KHM) melalui metode turbidimetri (pengamatan secara visual) pada penelitian ini sebenarnya sudah cukup untuk menentukan KHM, namun karena metode ini bersifat kualitatif sehingga dengan dipengaruhi subjektif dari peneliti dan warna larutan berwarna kecoklatan (pekat), maka hal itu mempersulit penentuan dan pengamatan KHM. Oleh karena itu, untuk mendapatkan hasil yang akurat perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan mengukur nilai absorbansi sebelum dan sesudah inkubasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Astuningsih C, 2014).

Pada pengujian konsentrasi hambat minimum ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap *Streptococcus mutans* dengan menggunakan metode spektrofotometri berbeda dengan hasil pengamatan kekeruhan dengan metode turbidimetri. Hasil pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer menunjukkan bahwa terjadi kenaikan nilai rata-rata absorbansi sesudah inkubasi pada tabung dengan konsentrasi 0,39% - 6,25% (tabung 5 - 9) sedangkan pada tabung 12,5% - 100% (tabung 1 - 4) mengalami penurunan nilai rata-rata absorbansi sesudah inkubasi. Pada tabung dengan konsentrasi 12,5% pertama kali terjadi penurunan nilai rata-rata absorbansi, sehingga konsentrasi 12,5% ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimum ekstrak daun leilem (*Clerodendrum*

minahassae L.) terhadap *Streptococcus mutans*.

Hasil yang berbeda dalam penentuan konsentrasi hambat minimum pada metode spektrofotometri dan metode turbidimetri disebabkan karena prinsip kerja dari kedua metode. Pada metode turbidimetri hanya dilakukan pengamatan kekeruhan secara visual, hal ini cenderung bersifat kualitatif sehingga dipengaruhi subjektif dari peneliti serta risiko terjadinya kesalahan relatif lebih besar sedangkan pada metode spektrofotometri nilai absorbansi yang dibaca berupa data kuantitatif dan didapatkan hasil analisis yang tepat dibandingkan metode turbidimetri (Astuningsih C, 2014; Triyati E, 1985).

Penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat konsentrasi hambat minimum ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap *Streptococcus mutans* pada pengujian secara turbidimetri berada pada konsentrasi 6,25%, sedangkan konsentrasi hambat minimum yang didapatkan berdasarkan metode spektrofotometri yaitu pada konsentrasi 12,5%. Berdasarkan penelitian tersebut ditemukan hasil lebih akurat dengan menggunakan metode spektrofotometri, maka konsentrasi hambat minimum yang ditetapkan pada penelitian ini adalah 12,5%. Nilai konsentrasi hambat minimum ini membuktikan bahwa ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) mempunyai daya antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dan senyawa aktif yang bersifat antibakteri pada ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) yaitu flavonoid, fenol, steroid, dan terpenoid (Shrivastava N, 2007).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa konsentrasi hambat minimum (KHM ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* terdapat pada konsentrasi 12,5%.

SARAN

Diharapkan dapat dilakukan penelitian lanjutan mengenai uji konsentrasi bunuh minimum (KBM) ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Selain itu, diharapkan dapat dilakukan penelitian konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap bakteri rongga mulut lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah A. 2004. *Sensitivitas Salmonella typhimurium terhadap ekstrak daun Psidium guavaja* L. Samarinda: Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Lambung Mangkurat.
- Anonim. 2013. *Riset kesehatan dasar riskesdas 2013*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2013.h.147-54.
- Arini DID, Kinho J. 2015. Keragaman tumbuhan berkhasiat obat di hutan pantai cagar alam tangkoko. *Jurnal WASIAN*. h. 1-8.
- Astuningsih C, Setyani W, Hindratna H. 2014. Uji daya antibakteri dan identifikasi isolat dan senyawa katetidin dari daun teh

- (*Camellia sinensis* L. var *Assamica*).
Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas.
11(2):h.50-7.
- Atria I. 2012. *Pengaruh mengunyah permen karet probiotik yang mengandung lactobacillus reuteri terhadap koloni bakteri kariogenik streptococcus mutans pada saliva*. [skripsi]. Bandung: Universitas Kristen Maranatha; h.2.
- Bontjura S. 2015. Uji efek antibakteri ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap bakteri *streptococcus mutans*. *Jurnal ilmiah Farmasi-Pharmacoon*; 4 (4):96-101.
- Dwijayanti KR. Daya antibakteri minyak atsiri kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii* BI.) terhadap *Streptococcus mutans* penyebab karies gigi. [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma; 2011.h.1.
- Gronroos Lisa. 2000. *Quantitative and qualitative characterization of mutans streptococci in saliva and in the dentition*. Helsinki: University of Helsinki.. p.7-11.
- Hamada S, Slade HD. 1980. Biology, immunology, and cariogenicity of *streptococcus mutans*. *Microbiological reviews*. 44 (2): 331-384.
- Jawetz ZE, Melnick JL, Adelberg EA. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23. Jakarta: EGC; h.233.
- Kalangi C, Kamu VS, Kumaunang M. 2014. Barcode DNA tanaman leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) berdasarkan gen matK. *Jurnal MIPA unsrat online*. 3(2): 108-112.
- Kidd EAM, Sally JB. 1992 *Dasar-dasar karies penyakit dan penanggulangannya*. Jakarta: EGC; h.1-142.
- Rosidah NA. 2014. *Daya antibakteri ekstrak daun kendali (Hippobroma longiflora [L] G. Don) terhadap pertumbuhan streptococcus mutans*. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa. Jember: Universitas Jember; h. 2, 4, 6.
- Sabir A. 2005. Aktivitas antibakteri flavonoid propolis trigona sp terhadap bakteri *streptococcus mutans* (in vitro). *Majalah Kedokteran Gigi (Dentika J)*. Bagian Konservasi Gigi Universitas Hassanudin Makassar; 38 (3): 135-141.
- Shrivastava N, Patel T. 2007. *Clerodendrum and healthcare: an Overview. Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*. Gujarat, India; p. 142-150.
- Sumawinata N. 2004. *Senarai istilah kedokteran gigi*. Jakarta: EGC. .h.183.
- Triyati E. 1985. Spektrofotometer ultra-violet dan sinar tampak serta aplikasinya dalam oseanologi. *Oseana*; 10(1):h.39-47.