

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA KIMIA BUNGA CENGKEH (*Syzygium aromaticum*)
TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans***

Usep Suhendra
Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Pakuan, Bogor.
Email : usep_suhendra@yahoo.com

ABSTRAK

Karies gigi disebabkan karena adanya bakteri *Streptococcus mutans*. Bakteri *S. mutans* merupakan bakteri yang terdapat dalam rongga mulut dan mempunyai peran penting dalam proses terjadinya karies gigi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri senyawa kimia bunga cengkeh sebagai inhibitor pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Siplisia bunga Cengkeh diekstraksi secara maserasi dengan metanol, dan diperoleh bobot ekstrak sebanyak 33.1%. Hasil identifikasi senyawa kimia secara kualitatif, ekstrak bunga cengkeh mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan fenolik, dan tidak teridentifikasi senyawa steroid. Hasil uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), diperoleh konsentrasi 25% memiliki aktivitas antibakteri yang baik. Diameter zona hambat ekstrak bunga cengkeh sebesar 37 mm, dan kontrol positif sebesar 28 mm. Dengan demikian ekstrak bunga cengkeh memiliki kemampuan sebagai antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol positif.

Kata Kunci : Karies gigi, Bunga Cengkeh, *Streptococcus mutans*

ABSTRACT

Dental caries is caused by the presence of *Streptococcus mutans* bacteria. *S. mutans* are bacteria found in the oral cavity and have an important role in the process of the occurrence of dental caries. The aim of this study was to determine the antibacterial activity of the chemical compounds of clove flowers as inhibitors of the growth of *S. mutans* bacteria. Siplisia of Clove flowers was extracted by maceration with methanol, obtained as much as 33.1% extract weight. The results of the identification of climax are qualitatively, clove flower extract contains alkaloid compounds, flavonoids, terpenoids, and phenolics, and no steroid compounds are identified. The test results for the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), obtained a concentration of 25% has good antibacterial activity. The diameter of the inhibition zone of clove flower extract was 37 mm, and positive control was 28 mm. The clove flower extract has the ability as a better antibacterial than positive controls.

Key Words : *Dental caries, Clove flower, Streptococcus mutans*

PENDAHULUAN

Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) merupakan tanaman rempah dalam family Myrtaceae yang sejak lama digunakan dalam makanan, minuman, dan obat-obatan (Dian *et*

al 2014; Nanan, 2004). Tanaman cengkeh memiliki batang percabangan yang banyak dan berbentuk bulat mengkilap. Daun tanaman cengkeh berbentuk lonjong sampai elip dengan panjang daun 7-13 cm dan lebar daun 3-6 cm,

dan letak daun cengkeh berhadapan pada ranting tanaman (Nuri, 2016; Balitro, 1997). Karies gigi merupakan masalah utama yang paling banyak dijumpai di rongga mulut, di Indonesia sendiri karies gigi memiliki prevalensi 90.05% yang artinya penyakit ini dapat menyerang seluruh lapisan masyarakat dari berbagai kelompok usia dan ekonomi (Dian *et al.* 2014; Depkes RI, 2013). Karies gigi disebabkan oleh interaksi dari berbagai faktor, seperti faktor host/inang (gigi dan saliva), makanan, dan mikroorganisme. Mikroorganisme penyebab karies adalah bakteri dari jenis *Streptococcus* dan *Lactobacillus*. Namun *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) merupakan bakteri penyebab utama terbentuknya karies gigi (Kidd EAM, 1991).

Pencegahan dan penanganan karies gigi hingga saat ini tidak hanya terbatas pada cara tradisional seperti memeriksakan gigi secara rutin, menyikat gigi dengan pasta gigi yang mengandung fluoride, dan makanan yang rendah gula, namun juga perlu menerapkan metode yang lebih efektif. Peneliti saat ini tertarik untuk mempelajari zat alami yang dapat menjadi alternatif untuk mengontrol terbentuknya karies gigi. Penggunaan beberapa bahan alam sebagai agen pengontrol masalah di rongga mulut ini telah dilaporkan sebelumnya (Rawee Teanpaisan, 2016).

Ekstrak dari bunga cengkeh sebelumnya juga sudah dilaporkan memiliki aktivitas biologi, seperti antibakteri, antijamur, insektisida, dan antioksidan. Bunga cengkeh digunakan secara tradisional sebagai agen perasa dan antimikroba makanan (Dian *et al.* 2014; Velluti *et al.* 2003; Huang Y *et al.* 2002; Lee *et al.* 2001). Bunga cengkeh dilaporkan mengandung senyawa eugenol yang berperan sebagai antioksidan (Dian *et al.* 2013) serta mengandung senyawa terpenoid (Kristijanto *et al.* 2012; Harborne. 1987). Senyawaan metabolit sekunder banyak dimanfaatkan sebagai agen pengobatan untuk berbagai penyakit. Pada penelitian ini ingin mengetahui aktivitas antibakteri dan mekanisme aksi penghambatan ekstrak bunga cengkeh terhadap bakteri *S. mutans* sebagai salah satu penyebab terjadinya karies gigi.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas antara lain tabung reaksi, labu Erlenmeyer, cawan petri, gelas ukur, pipet tetes, dan alat-alat gelas lainnya. Selain itu digunakan alat-alat seperti oven, mikropipet, neraca analitik, spektrofotometer UV-vis, vorteks, inkubator, refrigator, magnetik stirer, pH meter, penangas air, aluminium foil, kapas, bunsen, *laminar air*

flow dan kamera digital, *Streptococcus mutans*, media PYG (peptone, yeast glukosa) *Broth*, *bacto* agar, bakteri indikator NaCl 0,85%, NaOH 1N, HCl 1N, dan aquades.

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental laboratoris murni (*true experimental*) dengan *posttest-only with control group design* dengan rancangan acak lengkap yang menggunakan 7 perlakuan yaitu dengan konsentrasi ekstrak bunga cengkeh 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, dan ampicilin sebagai kontrol positif. Metanol sebagai kontrol dengan jumlah pengulangan untuk setiap kelompok perlakuan adalah 3 kali.

Sampel penelitian ini menggunakan teknik simple random sampling dimana pengambilan anggota sampel dari populasi dilakukan secara acak tanpa memperhatikan strata yang ada dalam populasi. Adapun sampel yang diambil secara acak yaitu bunga cengkeh, isolate *S. mutans*, paper disk. Bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) diambil dari kebun percobaan Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Isolat *S. mutans* dipilih secara acak yang akan digunakan sebagai bahan pada penelitian ini. Pada penelitian ini digunakan isolat *S. mutans* sebagai bakteri uji.

Ekstraksi Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

Bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) diambil di kebun percobaan balai penelitian tanaman rempah dan obat. Bunga yang akan diteliti dilakukan determinasi untuk memastikan kebenaran jenis tumbuhan tersebut. Determinasi tumbuhan dilakukan di Kebun Raya Bogor. Bunga cengkeh dikeringkan pada suhu 50°C selama 3 hari di dalam oven. Simplisia kering lalu diserbukkan dengan menggunakan mesin penyerbuk untuk selanjutnya diekstraksi (Sutomo, 2013).

Ekstrak metanolik dibuat dengan maserasi serbuk kering bunga cengkeh menggunakan metanol sebanyak 3x masing-masing selama 24 jam. Ekstrak dipekatkan dengan vacum evaporator pada suhu 50°C hingga didapatkan ekstrak kental.

Uji Senyawa Aktif (Harborne 1987)

Uji alkaloid : 10 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan H₂SO₄ dan dikocok hingga benar-benar tercampur. Campuran disaring lalu masing-masing ditambahkan pereaksi Meyer, Wagner, dan Dragendorff. Sampel dinyatakan positif mengandung senyawa alkaloid dengan melihat

adanya endapan putih, endapan coklat, dan endapan jingga pada masing-masing pereaksi.

Uji flavonoid : 10 mg sampel ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg, setelah itu ditambahkan 0,2 mL amil alkohol dan 4 mL alkohol. Hasil uji positif bila larutan berwarna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

Uji terpenoid : 10 mg sampel ditambah dengan kloroform, lalu ditetesi dengan anhidrida asam asetat sebanyak 5 tetes. Larutan ditambahkan dengan 3 tetes H₂SO₄. Larutan akan berwarna merah.

Uji fenolik : dilakukan dengan menambahkan 5 g ekstrak dengan 10 mL akuades lalu dipanaskan selama 5 menit, kemudian disaring dan filtratnya dibagi menjadi 3. Filtrat pertama ditambahkan serbuk Mg, 1 mL HCl : EtOH (1:1), dan 0.5 mL amil alkohol sebagai uji flavonoid. Filtrat 2 ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 10% sebagai uji tannin. Filtrat 3 dikocok yang kuat sebagai uji saponin.

Uji steroid : dilakukan dengan menambahkan 1 g ekstrak dengan 3 mL etanol lalu dipanaskan hingga kering. Setelah kering ditambahkan 1 mL dietil eter. Sedangkan uji hidrokuinon dengan menambahkan 1 g ekstrak dengan 3 mL methanol lalu dipanaskan dan disaring. Filtratnya ditambahkan 3 tetes NaOH 10 %. Setiap pengujian dilihat perubahan warna yang terjadi.

Kultivasi Isolat Mikroba Indikator

Mikroba indikator *S. mutans* ditumbuhkan dalam media PYG *broth* pada suhu 37 °C dengan di *shaker*. Sebelum eksperimen, kultur patogen diremajakan terlebih dahulu dalam media PYG selama ± 16 jam (Purnamasari, Munadzirroh, & Yogiartono, 2010).

Uji Aktivitas Terhadap Bakteri *S. mutans* (Xie *et al.* 2011 modifikasi)

Bakteri *S. mutans* yang berumur 16 jam ditambahkan dengan media PYG Agar yang sudah dicairkan dan dituangkan ke dalam cawan. Setelah agar mengeras dan dingin, dibuat sumur pada cawan dengan diameter 5 mm. Sebanyak 50 µl ekstrak bunga cengkeh dimasukkan kedalam sumur dengan menggunakan mikro pipet, kemudian cawan disimpan dalam *refrigerator* selama 2 jam untuk memberikan kesempatan ekstrak berdifusi ke dalam agar. Setelah itu cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Xie *et al.* 2011). Zona bening yang terbentuk di sekitar area sumur menandakan bahwa ekstrak mampu menghambat bakteri indikator. Selanjutnya dilakukan pengukuran diameter zona bening (mm) dengan menggunakan jangka sorong. Diameter dari masing-masing zona hambat diukur sebanyak tiga kali di daerah yang berbeda yang kemudian hasilnya

dirata-ratakan. Hasil diameter zona bening diolah secara statistik setelah dikurangi dengan diameter sumur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrasi Bunga Cengkeh

Pemilihan bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dikarenakan ekstrak dari bunga cengkeh sering dimanfaatkan sebagai sumber minyak cengkeh; hal ini disebabkan minyak cengkeh mengandung senyawa etanol yang memiliki kandungan flavonoid, tanin, fenolat, dan minyak atsiri yang memiliki sifat sebagai antiseptik, analgesik, antiinflamasi, antijamur, antibakteri. Bunga Cengkeh masih belum dikembangkan dalam pengobatan.



Gambar 1. Bunga Cengkeh

Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil pemanenan dari kebun percobaan Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO). Ekstraksi bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan metode maserasi untuk menghasilkan ekstrak yang

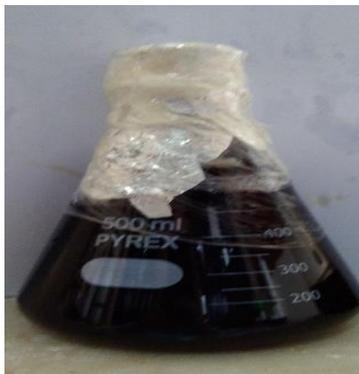
mengandung senyawa metabolit sekunder dengan potensi sebagai antibakteri. Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi dingin, pada metode ini prosesnya tidak menggunakan energi panas, sehingga dapat menjaga aktivitas senyawa aktif yang terkandung dalam bunga cengkeh.

Maserasi merupakan proses pengestrakkan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Pengocokan dilakukan agar mempercepat mendapatkan kesetimbangan antara bahan yang diekstraksi dalam bagian sebelah dalam sel dengan yang masuk ke dalam cairan. Keadaan diam tanpa pengocokan selama maserasi menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif (Voight, 1994). Maserasi pada penelitian ini menggunakan pelarut metanol. Pelarut metanol merupakan pelarut yang mudah masuk kedalam sel melewati dinding sel ekstrak, sehingga metabolit sekunder yang terdapat dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut dan senyawa akan terekstraksi sempurna dengan demikian dapat diperoleh senyawa kimia dengan maksimal (Lenny, 2006).

Bobot ekstrak diperoleh sebanyak 33,1%, hasil ini, tidak berbeda nyata dengan penelitian yang dilakukan Arifin (2016) bahwa bobot ekstrak

bunga cengkeh yang diperoleh pada penelitiannya sebanyak 34,04%. Selanjutnya penentuan kadar air ekstrak bunga cengkeh. Kadar air ditentukan dengan proses pengeringan atau metode Gravimetri. Menurut Brooker *et al.* (1974), proses pengeringan merupakan proses penurunan kadar air bahan sampai mencapai batas akhir kadar air tertentu sehingga dapat memperlambat laju kerusakan sampel akibat aktivitas biologis dan kimia.

Keuntungan utama dari proses pengeringan dengan metode gravimetri adalah sampel lebih tahan lama disimpan pada suhu ruang karena faktor penting dalam proses penurunan mutu bahan pangan yaitu mikroba dan enzim dapat diatasi akibat berkurangnya kandungan air dalam bahan. Pada penelitian ini diperoleh kadar air sebesar 5%.



(1)



(2)

Gambar 2. Hasil ekstraksi. 1) Simplisia yang direndam dengan pelarut metanol dan siap di *shaker*; 2) Ekstrak yang dihasilkan dengan Vacum Evaporator.

Tabel 1. Hasil identifikasi kualitatif golongan senyawa kimia

Golongan Senyawa Kimia	Hasil Identifikasi
Alkaloid	++
Flavonoid	++
Terpenoid	+++
Fenolik	++
Steroid	-

Keterangan : +++ = Sangat Banyak, ++ = Banyak, + = Ada, - = Tidak ada

IDENTIFIKASI SENYAWA KIMIA

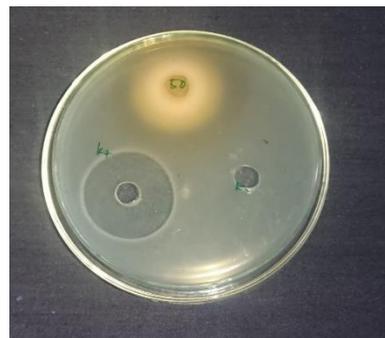
Identifikasi senyawa kimia dilakukan secara kualitatif, uji fitokimia. Fitokimia merupakan bahan-bahan atau senyawa-senyawa kimia yang dihasilkan oleh tumbuhan. Dalam penggunaannya terutama dalam bidang kimia bahan alam, fitokimia diartikan sebagai metabolit sekunder yang khusus dihasilkan oleh tumbuhan. Dengan demikian dapat didefinisikan bahwa fitokimia adalah senyawa kimia non nutrisi yang memiliki fungsi-fungsi proteksi atau pertahanan yang diproduksi di dalam sel tumbuhan.

Hasil identifikasi kualitatif senyawa kimia ekstrak bunga cengkeh mengandung senyawa kimia yaitu alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan fenolik, sedangkan senyawa steroid tidak teridentifikasi. Hasil identifikasi ini sejalan dengan penelitian Taher *et al* (2018), bahwa pada bunga cengkeh senyawa kimia, terpenoid, fenol, flavonoid, dan alkaloid teridentifikasi, serta pada penelitian Taher *et al* (2018), senyawa steroid teridentifikasi. Tidak teridentifikasinya senyawa steroid karena perbedaan pelarut yang digunakan. Selain itu, karena perbedaan proses ekstraksi. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi mutu ekstrak yaitu faktor lingkungan diantaranya radiasi

tanaman, suhu tanaman, ketersediaan air dan kecukupan cahaya dalam proses fotosintesis dan siklus hidup tumbuhan. Faktor lingkungan ini yang dapat mempengaruhi senyawa-senyawa kimia yang terkandung pada bunga Cengkeh (Lambiju *et al.* 2017).

AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans*

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak bunga cengkeh dilakukan dengan metode difusi agar terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri, ekstrak bunga cengkeh menghasilkan zona hambatnya. Zona hambat menandakan bahwa ekstrak bunga cengkeh tersebut berpotensi sebagai antibakteri. Ekstrak bunga Cengkeh memiliki aktivitas antibakteri dengan menghambat bakteri *S mutans*, diameter zona hambatnya sebesar 37 mm, dan kontrol positif sebesar 28 mm (Gambar 3).



Gambar 3. Zona hambat ekstrak Bunga Cengkeh terhadap bakteri *S. mutans*.

Terbentuknya zona hambat disekitar sumuran/cakram menandakan adanya aktivitas penghambatan dari ekstrak bunga cengkeh terhadap bakteri *S.mutans*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sinarmata *et al.* (2007) yang menyatakan bahwa ekstrak dikatakan mempunyai aktivitas antimikroba jika terbentuk zona jernih di sekeliling ekstrak yang ditumbuhkan pada media yang telah diinokulasi oleh mikroba patogen. Zona hambat yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong dengan satuan mm. Zona hambat ekstrak lebih lebar dibandingkan dengan kontrol negatif yaitu aquades dan kontrol positif yaitu ampicilin. Ampicilin merupakan antibiotik dengan spektrum luas yang memiliki aktivitas antibakteri anaerob. Diameter zona hambat antibiotik ampicilin sebagai kontrol positif sebesar 28 mm. dan Diameter zona hambat untuk ekstrak sebesar 37 mm. Mekanisme kerja antibiotik ini adalah dengan menghambat sintesis asam nukleat yang dapat mengakibatkan kematian sel bakteri.

Zona hambat yang terbentuk disebabkan adanya zat-zat aktif pada bunga cengkeh. Bunga Cengkeh mengandung senyawa yang bersifat antibakteri seperti alkaloid, flavonoid, terfenoid, dan fenolik (tabel). Adapun mekanisme kerja senyawa alkaloid yaitu

dengan cara menghambat atau mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Ajizah, 2004). Selain itu, komponen alkaloid diketahui sebagai interkelator DNA dan menghambat enzim topoisomerase sel bakteri (Karou *et al.* 2005). Senyawa flavonoid sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstrasel yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri dan merusak membrane sel tanpa memperbaikinya lagi (Juliantina, 2008). Aktivitas gugus hidroksi yang terdapat pada senyawa flavonoid mengikat peptidoglikan di dinding sel, selain itu gugus hidroksi flavonoid juga mampu merusak membran sel bakteri melalui pengikatan pada lipopolisakarida (Jawets *et al.*, 2012). Terpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder dengan mekanisme kerja sebagai antibakteri yang beraksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin, sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan terhambat atau mati. Senyawa fenolik dalam Bunga cengkeh, yaitu eugenol minyak bunga cengkeh yang mengandung eugenol merupakan bagian dari phenyloporis yang diduga dapat menghambat pertumbuhan

bakteri melalui interaksi membran (Nurdjanah, 2004). Aktivitas antibakteri senyawa fenolik dalam menghambat bakteri yaitu dengan mendenaturasi protein sel. Ikatan hydrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak (Ahmed, 2007).

Menurut Zahro dan Agustini (2013), aktivitas antibakteri dapat digolongkan berdasarkan besarnya zona hambat yang terbentuk dapat diklasifikasikan dalam Tabel 2. Klasifikasi aktivitas antibakteri berdasarkan zona hambat (Tabel), menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak bunga cengkeh tergolong sangat kuat terhadap *S. mutans* yaitu sebesar 37 mm. Hal ini menandakan bahwa senyawa antibakteri yang terkandung di dalam ekstrak metanol Bunga cengkeh memiliki aktivitas penghambatan yang besar terhadap *S. mutans*. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak metanol bunga cengkeh terhadap bakteri *S. mutans* terdapat pada konsentrasi 25% (Gambar). Pada konsentrasi 25%, tampak ekstrak bunga cengkeh menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*, jika

dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Hasil uji KHM yang diperoleh menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak bunga cengkeh menyebabkan semakin tinggi pula penghambatan terhadap bakteri (Lambiju *et al.* 2017).

KESIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

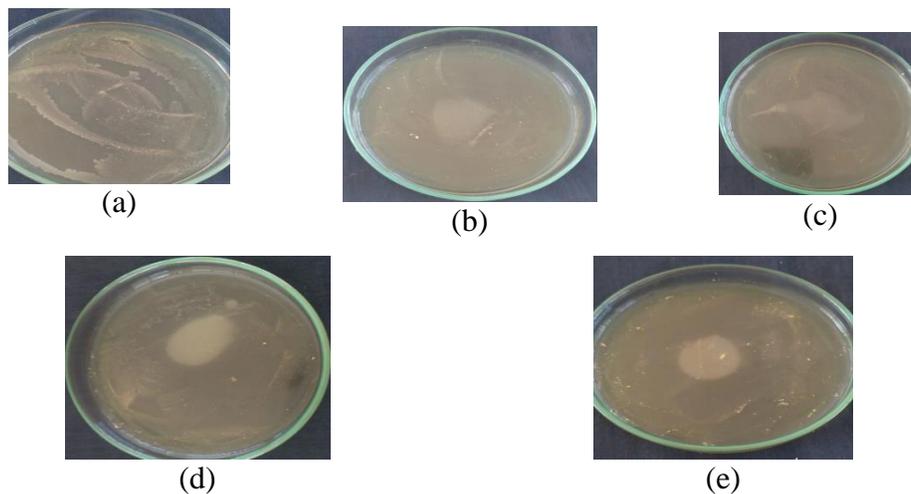
Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki daya hambat yang tergolong kuat terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*. Hasil identifikasi senyawa kimia secara kualitatif bahwa ekstrak bunga cengkeh mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan fenolik. Namun tidak mengandung senyawa steroid.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan berbagai fraksi pelarut sehingga dapat diperoleh senyawaan yang terlarut, berperan dalam mempengaruhi pertumbuhan bakteri *S. mutans*.

Tabel 2. Klasifikasi aktivitas antibakteri berdasarakan zona hambat

Aktivitas Antibakteri	Diameter zona hambat (mm)
Lemah	< 5
Sedang	5-10
Kuat	10-20



Gambar 4. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum Ekstrak Cengkeh terhadap Bakteri *S. mutans*; (a) Konsentrasi 5%, (b) Konsentrasi 10%, (c) Konsentrasi 15%, (d) Konsentrasi 20%, dan (e) Konsentrasi 25%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada LPPM Universitas Pakuan yang telah mendanai penelitian ini melalui skema penelitian dosen pemula. Selain itu pula terima kasih kepada Ilham Fudholi dan Salma Hanuna Ulfa yang telah membantu berkontribusi, dan untuk semua atas membimbing serta mendukung dalam kelancaran penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmed, Bahar. 2007. *Chemistry of Natural Product*. New Delhi. Departement of Phamaceutical Chemistry Faculty of Science Jamia Hamdard.

Ajizah A. *Sensitivitas Salmonella typhimurium terhadap ekstrak daun Psidium Guajava L*. Bioscience, 2004; (1): 31-8.

Brooker, DB, Arkena, FWB dan Hall. 1974. *Drying Cereal Grain*. Connecticut: The AVI Publishing Co. Inc.

Depkes RI. (2013). *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Kementerian Kesehatan RI.

Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi ke-5. Diterjemahkan oleh: Dr. Soendani Noerono. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.

- Harbourne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Padmawinata K. Soediro I. Penerjemah : Niksolihin S. Editor. Bandung (ID): ITB: Terjemahan dari : *Phytochemical Methods*.
- Hurlbutt, M. Novy, B. & Young, D. (2010) *Dental caries : a pH-mediated disease*. CDHA journal. 9-12.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg`s. 2013. *Medical Microbiology Twenty-Seventh Edition*. McGraw-Hill Companies, US.
- Juliantina FR. *Manfaat sirih merah (Piper croatum) sebagai agen antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif*. JKKI. 2008; (3):3-8.
- Karou, Damintoti. Savadogo Aly. 2005. *Antibacterial Activity of Alkaloids from Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology*. 4 (12): 1452-1457.
- Kidd EAM, B.S. (1991). *Dasar-dasar Karies Penyakit dan Penanggulangannya*. Jakarta: EGC.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida* (Makalah). Fakultas Matematika dan Ilmu Alam. Universitas Sumatera Utara.
- Newman, H. (1986). *The Relation between Plaque and Dental Cries*. *J R SocMed*, 1-5.
- Nizel. (1981). *A Nutrition in Preventive Dentistry 2nd Edition*. Philadelphia: W.B. Saunders Co.
- Nurdjanah N. *Diversifikasi penggunaan cengkeh Persepektif*. 2004; 3(2):61-70.
- Purnamasari, D.A., Munadziroh, E., dan Yogiartono, M. (2010). *Concentration of Cacao Ceed Extract asa a Natural Material in Prevent Streptococcus mutans Growth*. *Jurnal PDGI*, 14-18.