

**PENGARUH PERBEDAAN KONSENTRASI EKSTRAK ETANOL 70% DAUN
LANDEP (*Barleria prionitis* L.) DALAM FORMULASI SEDIAAN PASTA GIGI
TERHADAP SIFAT FISIK, STABILITAS FISIK DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI
PADA BAKTERI *Streptococcus mutans***

**THE EFFECTS OF DIFFERENT CONCENTRATION OF ETHANOL 70%
PORCUPINE FLOWER (*Barleria prionitis* L.) EXTRACTS IN TOOTHPASTE
ON PHYSICAL CHARACTERISTIC, PHYSICAL STABILITY, AND
ANTIBACTERIAL ACTIVITY ON *Streptococcus mutans***

Lupita¹, Lilih Riniwasih Kadiwijati^{2}*

^{1,2}*Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta,
Jl. Sunter Permai Raya, Jakarta Utara, 14350, Indonesia*

**E-mail: lilih.kadiwijati@yahoo.com*

Abstrak

Penyakit karies gigi merupakan penyakit jaringan keras gigi yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans*. Bakteri tersebut dapat memproduksi asam dan polisakarida yang sangat lengket dari sisa makanan sehingga akan terbentuk plak pada gigi yang bersifat asam dan dapat menyebabkan demineralisasi gigi. Salah satu cara dalam mencegah pembentukan karies gigi adalah dengan menggosok gigi menggunakan pasta gigi. Kandungan kimia yang terdapat dalam daun Landep memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak dan sediaan pasta gigi ekstrak etanol 70% daun Landep (*Barleria prionitis* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram dengan konsentrasi 2%, 4%, 8% dan 16%. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik klindamisin, sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 10%. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak daun Landep dapat memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan diameter zona hambat rata-rata sebesar 11,72 mm (2%), 13,62 mm (4%), 15,66 mm (8%), dan 17,52 mm (16%). Ekstrak yang diformulasikan dalam sediaan pasta gigi juga dapat memberikan aktivitas antibakteri dengan diameter zona hambat rata-rata 18,43 mm (2%), 20,10 mm (4%), 20,65 mm (8%), dan 23,83 mm (16%). Evaluasi sifat fisik dan stabilitas fisik yang dilakukan dalam penelitian ini adalah pengujian organoleptis, pH, viskositas, homogenitas dan daya sebar serta pengujian stabilitas fisik pada suhu $4 \pm 2^\circ\text{C}$, $28 \pm 2^\circ\text{C}$, dan $40 \pm 2^\circ\text{C}$.

Kata kunci: Pasta gigi; Daun Landep (*Barleria prionitis* L.); Karies Gigi; *Streptococcus mutans*

Abstract

Tooth caries is a hard tissue disease which is caused by a bacteria called *Streptococcus mutans*. That bacteria could reproduce using the left out food in our teeth which create tartar which is acidic and could cause tooth demineralization. One of the ways to prevent tooth is by brushingteeth using toothpaste. The chemical substances contained in Porcupine Flower leaves have an antibacterial activity. The purpose of this study is to know the effect different concentration of extracts and Porcupine Flower leaves (*Barleria prionitis* L.) 70% ethanol extracts toothpaste on *Streptococcus mutans* bacteria. The antibacterial activity was tested using disk diffusion method with a concentration of 2, 4, 8 and 16%. The positive control used in this study was clindamycin antibiotic while the negative control was DMSO 10%. The results of the test show that the Porcupine Flower leaf extract could give an antibacterial activity on *Streptococcus mutans* with the average inhibition zone at 11,72 mm (2%), 13,62 mm (4%), 15,66 mm (8%), and 17,52 mm (16%). The extract was then formulated into toothpaste which could also give an antibacterial activity with the average inhibition zone at 18,43 mm (2%), 20,10 mm (4%), 22,65 mm (8%), dan 23,83 mm (16%). Physical characteristics and physical stability method that used in this study was organoleptic test, pH level, viscosity, homogeneity, spread power, and physical stability test at $4 \pm 2^\circ\text{C}$, $28 \pm 2^\circ\text{C}$, and $40 \pm 2^\circ\text{C}$.

Keyword: Toothpaste; Porcupine Flower leaves (*Barleria prionitis* L.); Dental caries; *Streptococcus mutans*

PENDAHULUAN

Masalah kesehatan gigi yang umumnya terjadi di dalam masyarakat adalah penyakit karies gigi (Amrin dan Buang, 2013). Karies gigi merupakan penyakit jaringan keras gigi yang disebabkan oleh suatu mikroorganisme yang memfermentasikan karbohidrat yang akan membentuk asam, serta dapat menurunkan pH dibawah pH kritis sehingga dapat menyebabkan demineralisasi gigi (Sumawinata, 2004).

Bakteri kariogenik yang dapat memproduksi asam dari karbohidrat yang diragikan adalah *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus*. Bakteri tersebut dapat tumbuh subur dalam suasana asam dan menempel pada permukaan gigi, serta dapat membuat polisakarida yang sangat lengket dari karbohidrat makanan sehingga akan terbentuk plak yang tebal pada gigi (Kid dan Bechal, 2012).

Menjaga kebersihan gigi dari plak secara rutin merupakan upaya yang sangat penting dalam mencegah pembentukan karies gigi (Ramadhan, 2010). Salah satu metode dalam membersihkan plak adalah dengan cara menyikat gigi dengan menggunakan pasta gigi (Rajendran dan Sivapathasundharam, 2012).

Pasta gigi merupakan sediaan semisolid yang mengandung bahan aktif maupun tambahan yang mempunyai fungsi tertentu. Fluorida merupakan bahan aktif yang pada umumnya digunakan dalam sediaan pasta gigi (Strassler, 2013). Alternatif lain yang dapat digunakan untuk menggantikan peran pasta gigi yang mengandung bahan aktif kimia adalah dengan menggunakan ekstrak bahan alam (Rieger, 2000).

Salah satu tanaman obat yang digunakan masyarakat dalam mengobati sakit gigi adalah dengan menggunakan daun Landep (*Barleria prionitis* L.) yang dikunyah pada gigi yang sakit (Ulung, 2014). Kandungan kimia dari daun Landep adalah saponin, flavonoid, tanin, garam kalium dan silikat (Hidayat dan Napitulu 2013).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Sarwakar et al (2007), menunjukkan bahwa pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Landep (*Barleria prionitis* L.) dapat memberikan zona hambat sebesar $12,18 \pm 0,083$ mm pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/ml}$ terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

Berdasarkan uraian diatas, maka penulis tertarik mengembangkan penelitian sebelumnya dalam pembuatan formula sediaan pasta gigi ekstrak etanol 70% daun Landep (*Barleria prionitis* L.) yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* selaku bakteri gram positif.

METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah Timbangan analitik, blender, ayakan nomor 60, botol cokelat, corong gelas, cawan uap, penjepit kayu, penangas air, rotary evaporator, tabung reaksi, spatel logam, gelas ukur, batang pengaduk, piknometer, botol timbang, tanur, desikator, krus porselen, oven, beaker glass, erlenmeyer, kompor listrik, kulkas, Laminar Air Flow, autoklaf, inkubator, labu ukur, pipet ukur, vial, handgloves, masker, staining dish, lampu spiritus, korek api, pipet tetes, object glass, ose/sengkelit, mikroskop, botol semprot, vortex, ball pipet, mikrotips, pinset, cawan petri, lumpang dan alu, kaca arloji, sudip, jangka sorong, viskometer Brookfield model LVT, dan pH meter.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah Daun Landep, etanol 96%, etanol 70%, aquadest, gliserin, sorbitol, natrium lauril sulfat, kalsium karbonat, metil paraben, propil paraben, natrium karboksimetilselulosa, Oleum Menthae piperithae, bakteri *Streptococcus mutans* (Bionumber 140011564753731), Muller Hinton Agar, Tryptone Soy Agar, darah domba 5%, spiritus, gram stain, larutan lugol, carbol fuchsin, oil immersion, natrium klorida, McFarland 0,5, xylol, DMSO (Dimethyl Sulfoxide), kertas saring Whatman, cotton bud, kapas, besi (III) klorida, asam klorida encer, kloroform, asam klorida pekat, logam magnesium, amil alkohol, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, Dragendorff, Bouchardad, Fehling A, dan Fehling B.

Persiapan Simplisia

Setelah tanaman Landep dilakukan determinasi di LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia), bagian tanaman Landep berupa daun Landep dilakukan proses sortasi lalu daun tersebut dicuci dengan air mengalir dan kemudian dilakukan proses pengeringan dengan cara diangin-anginkan pada udara terbuka sehingga didapatkan simplisia kering. Simplisia kering yang telah diperoleh, dilakukan sortasi lagi yang bertujuan untuk memisahkan simplisia dari kotoran. Daun yang telah kering, dilakukan perajangan kemudian dimasukkan kedalam oven pada suhu 40 OC. Simplisia tersebut lalu dilakukan proses penghalusan menjadi serbuk dengan menggunakan blender. Serbuk simplisia yang telah diperoleh dilakukan pengayakan dan hasil pengayakan ditimbang bobot serbuk simplisia keringnya (Henrich et al, 2013).

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%, yaitu dilakukan dengan cara serbuk simplisia dilakukan perendaman di dalam botol cokelat yang tertutup dengan suhu penyimpanan pada suhu ruang. Perendaman dilakukan selama 1 x 24 jam dengan sesekali diaduk, dan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Hasil perendaman dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring Whatman untuk mendapatkan filtratnya. Residu pertama yang telah didapat, dilakukan perendaman kembali dengan pelarut yang baru, begitu pula untuk ekstraksi selanjutnya hingga sebanyak tiga kali. Semua filtrat yang telah dihasilkan ditampung, dicampur dan dilakukan pemekatan dengan menggunakan rotary evaporator, jika perlu hasil pemekatan diuapkan kembali di atas cawan

uap menggunakan penangas air hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental siap digunakan dalam penelitian ini (Kamarudin *et al*, 2016).

Pengujian Karakteristik Ekstrak

Pengujian karakteristik ekstrak meliputi rendemen, uji organoleptis, susut pengeringan, kadar air, kadar abu dan sisa pelarut.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia untuk ekstrak kental daun Landep meliputi identifikasi senyawa alkaloid, flavonoid, gula pereduksi, saponin, steroid dan triterpenoid serta tanin.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Setelah alat-alat gelas yang akan digunakan dalam penelitian telah dicuci bersih dan dikeringkan, alat-alat tersebut dibungkus dengan kertas coklat, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit. Untuk peralatan penanam bakteri seperti sengkeliit/ose dapat disterilkan dengan cara membakar kawat sengkeliit dengan lampu spiritus sampai berpijar merah membara (Waluyo, 2008).

Bahan-bahan seperti aquadest, natrium klorida 0,9%, media agar miring Blood Agar Base dan MHD agar darah disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 2 atm selama 15 menit (Arora dan Arora, 2009). Proses pembuatan pelarut DMSO 10%, larutan klindamisin 0,2 mg /mL dan larutan uji ekstrak etanol 70% daun landep dibuat secara aseptis dalam labu ukur di dalam Laminar Air Flow (LAF).

Laminar Air Flow (LAF) disterilkan dengan cara menyemprotkan seluruh bagian LAF dengan alkohol 70%, dan LAF dilap sampai kering dan disinari dengan lampu UV selama 60 menit (Pratiwi, 2008).

Inokulasi Biakan Bakteri

Bakteri murni *Streptococcus mutans* yang akan digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri, diinokulasikan menggunakan sengkeliit/ose pada media agar miring Blood Agar Base secara aseptis dalam Laminar Air Flow (LAF). Lalu diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 48 jam (Dwidjoseputro, 2005).

Pewarnaan Gram Bakteri

Bakteri *Streptococcus mutans* yang telah dioleskan pada object glass, dilakukan fiksasi di atas nyala api bunsen sehingga akan membentuk noda pada object glass.

Tambahkan zat warna I yaitu dengan zat warna kristal violet dan biarkan warna meresap selama 1 menit, bilas dengan air keran secara perlahan, kemudian ditambahkan larutan iodium biarkan selama 1 menit lalu bilas dengan air keran secara perlahan. Hilangkan warnanya dengan menambahkan tetesan etanol 95% selama 10-20 detik, lalu bilas dengan air keran secara perlahan. Tambahkan zat warna II safranin selama 45 detik, lalu bilas dengan air keran secara perlahan. Object glass dikeringkan dengan kertas saring. Tambahkan satu tetes minyak emersi diatas objek glass, dilakukan pengamatan bentuk dan warna sel bakteri dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali (Cappucino, 2009).

Pembuatan Larutan Uji Ekstrak

Menimbang 1,6 gram ekstrak kental daun Landep dilarutkan dalam 10 mL DMSO 10%, kocok hingga homogen sehingga didapatkan konsentrasi 16% sebagai larutan induk. Dilakukan pengenceran bertingkat yaitu 5 mL larutan sebelumnya, kemudian diencerkan dengan DMSO 10% hingga tanda batas labu ukur 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi 8%. Larutan uji konsentrasi 4% dan 2% juga dilakukan pengenceran bertingkat. Larutan uji ekstrak daun Landep siap digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri.

Pengujian Kekeruhan Bakteri

Bakteri *Streptococcus mutans* diambil dengan menggunakan sengkeli/ose, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan NaCl 0,9% untuk mendapatkan suspensi bakteri. Kekeruhan bakteri dibandingkan dengan larutan standart 0,5 Mc Farland (Dalynn Biologicals, 2014).

Pembuatan Sediaan Pasta Gigi Ekstrak

Siapkan alat dan bahan dan masing-masing bahan ditimbang bobotnya. Pembuatan sediaan pasta gigi ekstrak dibuat secara aseptis di dalam Laminar Air Flow (LAF). Taburkan Na CMC pada aqua fervida dan aduk ad mengembang, kemudian campurkan campuran Na CMC dengan gliserin dalam lumpang, dan gerus ad terbentuk basis pasta (campuran 1). Masukkan kalsium karbonat dan natrium lauri sulfat pada campuran 1, dan gerus kuat ad homogen (campuran 2). Masukkan sorbitol, propil paraben, dan metil paraben pada campuran 2, dan gerus ad homogen. Masukkan ekstrak daun Landep dengan konsentrasi 2% ke dalam campuran pasta gigi, dan gerus hingga homogen. Tambahkan beberapa tetes *Oleum Menthae Piperithae* ke dalam campuran pasta gigi ekstrak, dan gerus ad homogen. Sediaan pasta gigi ekstrak daun Landep dimasukkan ke dalam wadah pot plastik, dan sediaan siap digunakan dalam penelitian. Perlakuan yang sama dilakukan pada ekstrak daun Landep pada konsentrasi 4%, 8%, dan 16% (Mitsui, 1997).

Evaluasi Sediaan Pasta Gigi

Pengujian evaluasi sediaan pasta gigi dilakukan secara deskriptif dengan 2 tahap evaluasi pada sediaan pasta gigi, yaitu evaluasi sifat fisik dan evaluasi stabilitas fisik. Pengujian sifat fisik dilakukan pada sediaan yang baru dibuat yaitu pada minggu ke-0, sedangkan pada pengujian stabilitas fisik dilakukan pengamatan sediaan pada minggu ke 0, 1, 2, 3, dan 4. Pengujian ini dilakukan selama 4 minggu dengan perlakuan suhu penyimpanan, yaitu pada suhu rendah (4 ± 2 °C), suhu kamar (28 ± 2 °C) dan suhu tinggi (40 ± 2 °C) (Kuncari et al, 2014).

Pengujian sifat fisik dan stabilitas fisik meliputi:

Pengamatan Organoleptis

Pengujian dilakukan dengan pengamatan secara visual menggunakan panca indera terhadap produk sediaan pasta gigi yang telah dibuat berdasarkan warna, bentuk, dan aroma dan rasa.

Pemeriksaan pH

Alat yang digunakan dalam mengukur pH adalah dengan menggunakan pH meter. Elektrode pH meter dilakukan kalibrasi dengan larutan dapar fosfat standar pH 4,00 dan pH 7,00. Elektroda yang telah dikalibrasi, dicelupkan ke dalam sediaan pasta gigi nilai pH yang tercantum pada alat telah stabil dicatat nilainya dan dilakukan pengamatan.

Pemeriksaan Viskositas

Alat yang digunakan dalam mengukur viskositas adalah dengan menggunakan viskometer Brookfield model LVT. Spindel nomor 4 dimasukkan ke dalam wadah yang berisi sediaan pasta gigi dan diatur dengan kecepatan 6 rpm. Nilai viskositas tercantum pada alat telah stabil dicatat.

Pemeriksaan Homogenitas

Dalam pengujian homogenitas, masing-masing sediaan pasta gigi sebanyak 1 gram dioleskan pada kaca objek, kemudian dikatupkan dengan kaca objek yang lainnya untuk diamati homogenitasnya. Apabila tidak terdapat butiran-butiran kasar di atas kaca objek, maka hasil pengujian dinyatakan homogen.

Pemeriksaan Daya Sebar

Pengujian daya sebar dilakukan dengan memasukkan sediaan pasta gigi pada lempeng kaca dan tutup lempeng kaca tersebut dengan lempeng kaca yang lain, lalu diletakkan anak timbangan dan tunggu selama beberapa menit. Hasil uji daya sebar pasta gigi yang telah terbentuk diukur dengan menggunakan penggaris.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Larutan uji yang telah disiapkan, pelarut DMSO 10% dan larutan antibiotik klindamisin 0,2 mg/mL dipipet sebanyak 10 μ L dengan menggunakan mikro pipet. Larutan yang telah dipipet kemudian dimasukkan ke dalam kertas cakram steril yang telah diletakkan pada cawan petri steril.

Tabel 1. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak

| Perlakuan | Keterangan |
|--------------------------|-------------------------------|
| Kelompok Kontrol Positif | Klindamisin 0,2 mg/mL |
| Kelompok Kontrol Negatif | <i>Dimethyl Sulfoxide</i> 10% |
| KE1 | Konsentrasi Ekstrak 2% |
| KE2 | Konsentrasi Ekstrak 4% |
| KE3 | Konsentrasi Ekstrak 8% |
| KE4 | Konsentrasi Ekstrak 16 % |

Tabel 2. Uji Aktivitas Antibakteri Pasta Gigi

| Perlakuan | Keterangan |
|--------------------------|---------------------------------|
| Kelompok Kontrol Positif | Klindamisin 0,2 mg/mL |
| Kelompok Kontrol Negatif | <i>(Dimethyl Sulfoxide 10%)</i> |
| FI | Sediaan tanpa ekstrak |
| FII | Konsentrasi 2% |
| FIII | Konsentrasi 4% |
| FIV | Konsentrasi 8% |
| FV | Konsentrasi 16 % |

Suspensi bakteri *Streptococcus mutans* yang hasil kekeruhannya telah setara dengan McFarland 0,5 diusapkan pada cawan petri yang berisi media MHA + Darah Domba 5% dengan menggunakan cotton bud steril, dan didiamkan sesaat hingga kering. Kertas cakram yang telah berisi beberapa variasi larutan uji ekstrak daun Landep, larutan uji sediaan pasta gigi ekstrak daun Landep, DMSO 10% dan antibiotik klindamisin dipindahkan dengan menggunakan bantuan pinset steril ke dalam cawan petri berisi media MHA + Darah Domba 5% yang telah diusap bakteri *Streptococcus mutans*.

Semua tahap perlakuan pengujian aktivitas antibakteri dilakukan secara aseptis di dalam Laminar Air Flow (LAF). Semua cawan petri diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 48 jam dan diamati hasil pengujian aktivitas antibakteri tersebut. Zona hambat yang terbentuk dapat diukur dengan menggunakan jangka sorong (Pratiwi, 2008).

Analisa Data

Data hasil pengukuran zona hambat ekstrak dan sediaan pasta gigi ekstrak daun Landep terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yang telah diperoleh, dilakukan analisa statistik dengan menggunakan software SPSS (Statistical Package for the Social Science). Pengujian analisa statistik yang dilakukan meliputi uji normalitas metode Shapiro-Wilk dan uji homogenitas dengan metode Levene.

Apabila data yang diperoleh menunjukkan distribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji ANOVA (Analysis of Variance) satu arah (One Way). Uji ANOVA

dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan pengaruh pemberian larutan uji terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Apabila terdapat perbedaan, akan dilanjutkan dengan uji perbandingan berganda menggunakan metode Least Significant Difference (LSD). Uji LSD dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan pengaruh pemberian antar larutan uji terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Hasil Determinasi tanaman yang dilakukan di Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya – LIPI menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah benar merupakan tanaman Landep (*Barleria prionitis* L.) dari suku Acanthaceae

Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam pembuatan ekstrak daun Landep adalah dengan menggunakan metode maserasi. Pemilihan metode maserasi dikarenakan pengerjaannya mudah, dimana proses pembuatan ekstrak tidak dilakukan dengan pemanasan (cara dingin) serta peralatan yang digunakan dalam ekstraksi maserasi sederhana dan murah (BPOM RI, 2013; Henrich et al, 2014).

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi daun Landep adalah dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Etanol atau campurannya dengan air merupakan pelarut daya ekstratif terbesar (tertinggi) untuk semua bahan alam berbobot molekul rendah seperti alkaloida, saponin dan flavonoida. Menurut Farmakope Indonesia, etanol merupakan pelarut pilihan untuk memperoleh ekstrak secara klasik seperti tingtur, ekstrak cair, ekstrak kental, dan kering yang masih digunakan secara luas dalam formulasi sediaan farmasi (Agoes, 2007).

Uji Karakteristik

Hasil pengujian karakteristik ekstrak etanol 70% daun Landep (*Barleria prionitis* L.) dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Karakteristik Ekstrak

| No | Parameter | Keterangan |
|----|-------------------|--|
| 1 | Rendemen | 16,90% |
| 2 | OrganoIeptis | Kental, coklat kehitaman, aromatik, mula-mula tidak berasa lama kelamaan menjadi pahit |
| 3 | Susut Pengeringan | 8,00% |
| 4 | Kadar Air | 9,85% |
| 5 | Kadar Abu | 5,50% |
| 6 | Sisa Pelarut | 0,70% |

Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia ekstrak ekstrak daun Landep dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Skrining Fitokimia

| No. | GoLongan Senyawa | Hasil |
|-----|------------------|-------|
| 1 | AlkaIoid | (+) |
| 2 | Flavonoid | (+) |
| 3 | Saponin | (+) |
| 4 | Gula Pereduksi | (-) |
| 5 | Triterpenoid | (+) |
| 6 | Steroid | (+) |
| 7 | Tanin | (+) |

Perwarnaan Gram Bakteri

Pewarnaan gram merupakan metode pewarnaan yang digunakan dalam mengidentifikasi bakteri yang digunakan dalam penelitian ini. Hasil pengamatan pewarnaan gram menunjukkan bahwa bakteri yang diamati memiliki warna ungu, berbentuk bulat seperti telur, tersusun atas rantai atau rantai pendek dan tidak memiliki spora. Berdasarkan hasil pengamatan yang telah diperoleh, maka dapat diketahui bahwa bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar merupakan bakteri *Streptococcus mutans* selaku bakteri gram positif.

Bakteri gram positif berwarna ungu, disebabkan karena adanya kompleks zat warna ungu kristal iodium yang masuk ke dalam sel bakteri tetap tidak dapat tercuci meskipun diberi larutan pemucat berupa alkohol (Pratiwi, 2008). Reaksi pewarnaan gram didasarkan pada perbedaan komposisi dinding sel bakteri (Cappucino, 2009). Dinding sel yang lebih tebal pada bakteri gram positif yaitu lapisan peptidoglikan, menyusut oleh perlakuan alkohol karena terjadi dehidrasi, menyebabkan pori-pori dinding sel menutup sehingga mencegah larutnya kompleks zat warna ungu kristal iodium pada langkah pemucatan dengan menggunakan alkohol (Waluyo, 2008).

Uji Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun Landep adalah dengan menggunakan metode difusi cakram. Pengujian ini menggunakan larutan uji ekstrak yang dibuat dalam konsentrasi 2% (KE1), 4% (KE2), 8% (KE3), dan 16% (KE4). Bakteri yang digunakan dalam pengujian ini adalah bakteri *Streptococcus mutans*. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik Klindamisin. Kontrol negatif yang digunakan dalam pengujian ini adalah pelarut DMSO 10%.

Tabel 5. Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol 70% Daun Landep

| Kelompok Perlakuan | Diameter Zona Hambat (mm) | | | |
|--------------------|---------------------------|-------|-------|--------------|
| | 1 | 2 | 3 | Rata-Rata |
| KKP | 27,28 | 27,38 | 28,20 | 27,62 ± 0,50 |
| KKN | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 ± 0,00 |
| KE1 (2%) | 11,38 | 11,85 | 11,95 | 11,72 ± 0,30 |
| KE2 (4%) | 13,13 | 13,76 | 13,99 | 13,62 ± 0,45 |
| KE3 (8%) | 15,23 | 15,76 | 15,99 | 15,66 ± 0,39 |
| KE4 (16%) | 17,49 | 17,21 | 17,86 | 17,52 ± 0,33 |

Tabel 6. Diameter Zona Hambat Ekstrak Sediaan Pasta Gigi Ekstrak Etanol Daun Landep

| Kelompok Perlakuan | Diameter Zona Hambat (mm) | | | |
|--------------------|---------------------------|-------|-------|--------------|
| | 1 | 2 | 3 | Rata-Rata |
| KKP | 27,16 | 28,05 | 27,28 | 27,50 ± 0,48 |
| KKN | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 ± 0,00 |
| FI | 13,49 | 13,17 | 13,25 | 13,30 ± 0,17 |
| FII | 18,75 | 18,11 | 18,42 | 18,43 ± 0,32 |
| FIII | 20,27 | 19,97 | 20,05 | 20,10 ± 0,15 |
| FIV | 22,88 | 22,75 | 22,32 | 22,65 ± 0,29 |
| FV | 24,25 | 23,48 | 23,76 | 23,83 ± 0,39 |

Berdasarkan hasil pengukuran zona hambat yang telah diperoleh, maka hasil tersebut dapat dikategorikan dalam kategori daya hambat antibakteri menurut Davis dan Stout (1971) yaitu kategori sangat kuat (diameter zona hambat >20), kategori kuat (diameter zona hambat 10-20 mm), sedang (diameter zona hambat 5-10 mm) dan lemah (diameter zona hambat < 5 mm).

Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak menunjukkan bahwa pada kontrol positif berupa klindamisin 0,2 mg/mL, didapatkan zona hambat rata-rata sebesar 27,62 mm yang berintensitas sangat kuat, sedangkan pada kontrol negatif berupa pelarut DMSO 10% tidak terdapat zona hambat. Pada larutan uji ekstrak dengan konsentrasi terendah yaitu 2% didapatkan zona hambat rata-rata sebesar 11,72 mm yang berintensitas kuat, sedangkan pada larutan uji ekstrak dengan konsentrasi tertinggi yaitu konsentrasi 16% didapatkan zona hambat rata-rata sebesar 17,52 mm yang berintensitas kuat. Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun Landep dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, maka juga dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun Landep, maka semakin besar pula daya hambat antibakteri yang diberikan ekstrak tersebut terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Pada pengujian aktivitas antibakteri sediaan pasta gigi ekstrak daun Landep, dibuat larutan uji sediaan pasta gigi dibuat dengan larutan uji sediaan tanpa ekstrak (FI) dan larutan uji sediaan dengan konsentrasi 2%, (FII), 4% (FIII), 8% (FIV) dan 16% (FV).

Hasil pengujian aktivitas antibakteri sediaan pasta gigi menunjukkan bahwa pada kontrol positif berupa klindamisin 0,2 mg/mL, didapatkan rata-rata zona hambat sebesar 27,50 mm yang berintensitas sangat kuat, sedangkan pada kontrol negatif berupa pelarut DMSO 10% tidak terdapat zona hambat. Pada larutan uji sediaan pasta gigi tanpa ekstrak

didapatkan zona hambat rata-rata sebesar 13,30 mm yang berintensitas kuat. Hal ini disebabkan karena ada terdapatnya zat pengawet berupa metil paraben dan propil paraben yang memiliki aktivitas antibakteri. Pada larutan uji sediaan pasta gigi ekstrak dengan konsentrasi terendah yaitu 2% didapatkan zona hambat rata-rata sebesar 18,43 mm yang berintensitas kuat, sedangkan pasta gigi ekstrak dengan konsentrasi tertinggi yaitu konsentrasi 16% didapatkan zona hambat rata-rata sebesar 23,83 mm yang berintensitas sangat kuat.

Berdasarkan hasil pengujian yang telah diperoleh, maka dapat diketahui bahwa sediaan pasta gigi yang telah dilakukan penambahan ekstrak daun Landep dapat meningkatkan daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dibandingkan sediaan pasta gigi tanpa ekstrak.

Evaluasi Sediaan Pasta Gigi

Pengujian evaluasi sediaan pasta gigi dilakukan secara deskriptif dengan 2 tahap evaluasi pada sediaan pasta gigi, yaitu evaluasi sifat fisik dan evaluasi stabilitas fisik sediaan untuk mengetahui kestabilan sediaan pasta gigi selama waktu penyimpanan dengan perlakuan suhu yang berbeda.

Tabel 7. Hasil Uji Stabilitas Sediaan Pasta Gigi Tanpa Ekstrak (Formula I)

| Pengujian | Suhu 4°C | | | | | Suhu 28°C | | | | | Suhu 40°C | | | | |
|-------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Organoleptis: Bentuk | Semi padat |
| Warna | Krem | Krem gelap | Krem lebih gelap |
| Bau | Mint |
| Rasa | Manis |
| pH | 7,32 | 7,29 | 7,30 | 7,27 | 7,25 | 7,32 | 7,30 | 7,30 | 7,29 | 7,28 | 7,32 | 7,25 | 7,15 | 7,02 | 6,98 |
| Viskositas (cps) | 78.000 | 77.000 | 78.000 | 76.000 | 75.000 | 78.000 | 77.000 | 76.000 | 75.000 | 76.000 | 78.000 | 76.000 | 71.000 | 69.000 | 68.000 |
| Homogenitas | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Daya Sebar | 5,1 | 5,0 | 5,0 | 4,9 | 4,8 | 5,1 | 5,0 | 4,9 | 4,7 | 4,9 | 5,1 | 5,0 | 4,8 | 4,7 | 4,5 |

Tabel 8. Hasil Uji Stabilitas Sediaan Pasta Gigi Ekstrak Daun Landep dengan Konsentrasi 2% (Formula II)

| Pengujian | Suhu 4°C | | | | | Suhu 28°C | | | | | Suhu 40°C | | | | |
|-------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Organoleptis: Bentuk | Semi padat |
| Warna | Hijau muda | Hijau tua | Hijau tua |
| Bau | Mint |
| Rasa | Manis |
| pH | 7,27 | 7,25 | 7,23 | 7,22 | 7,20 | 7,27 | 7,27 | 7,26 | 7,25 | 7,25 | 7,27 | 7,15 | 7,04 | 6,95 | 6,87 |
| Viskositas (cps) | 79.000 | 79.000 | 78.000 | 77.000 | 77.000 | 79.000 | 78.000 | 77.000 | 76.000 | 76.000 | 79.000 | 76.000 | 72.000 | 70.000 | 69.000 |
| Homogenitas | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Daya Sebar | 5,0 | 5,0 | 4,8 | 4,7 | 4,7 | 5,0 | 5,0 | 4,8 | 4,8 | 4,7 | 5,0 | 5,0 | 4,8 | 4,7 | 4,7 |

Tabel 9. Hasil Uji Stabilitas Sediaan Pasta Gigi Ekstrak Daun Landep dengan Konsentrasi 4% (Formula III)

| Pengujian | Suhu 4°C | | | | | Suhu 28°C | | | | | Suhu 40°C | | | | | |
|----------------------|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------------|
| | Minggu ke | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Organoleptis: Bentuk | | Semi padat | Semi padat |
| Warna | | Hijau | Hijau gelap | Hijau lebih gelap |
| Bau | | Mint | Mint |
| Rasa | | Manis | Manis |
| pH | | 7,23 | 7,22 | 7,19 | 7,18 | 7,17 | 7,23 | 7,23 | 7,22 | 7,20 | 7,19 | 7,23 | 7,14 | 7,03 | 6,92 | 6,83 |
| Viskositas (cps) | | 81.000 | 81.000 | 80.000 | 79.000 | 78.000 | 81.000 | 81.000 | 81.000 | 80.000 | 80.000 | 81.000 | 77.000 | 73.000 | 71.000 | 69.000 |
| Homogenitas | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Daya Sebar | | 4,8 | 4,6 | 4,6 | 4,4 | 4,3 | 4,8 | 4,7 | 4,7 | 4,6 | 4,5 | 4,8 | 4,5 | 4,6 | 4,3 | 4,2 |

Tabel 10. Uji Stabilitas Sediaan Pasta Gigi Ekstrak Daun Landep dengan Konsentrasi 8% (Formula IV)

| Pengujian | Suhu 4°C | | | | | Suhu 28°C | | | | | Suhu 40°C | | | | | |
|----------------------|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------------|-------------------|
| | Minggu ke | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Organoleptis: Bentuk | | Semi padat | Semi padat |
| Warna | | Hijau gelap | Hijau lebih gelap | Hijau lebih pekat |
| Bau | | Mint | Mint |
| Rasa | | Agak manis | Agak manis |
| pH | | 7,15 | 7,13 | 7,12 | 7,12 | 7,10 | 7,15 | 7,14 | 7,13 | 7,13 | 7,10 | 7,15 | 7,07 | 6,99 | 6,85 | 6,79 |
| Viskositas (cps) | | 83.000 | 82.000 | 80.000 | 80.000 | 79.000 | 83.000 | 82.000 | 82.000 | 81.000 | 80.000 | 83.000 | 79.000 | 75.000 | 72.000 | 70.000 |
| Homogenitas | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Daya Sebar | | 4,7 | 4,7 | 4,5 | 4,4 | 4,3 | 4,7 | 4,6 | 4,6 | 4,5 | 4,5 | 4,7 | 4,4 | 4,3 | 4,0 | 4,0 |

Tabel 11. Uji Stabilitas Sediaan Pasta Gigi Ekstrak Daun Landep dengan Konsentrasi 16% (Formula V)

| Pengujian | Suhu 4°C | | | | | Suhu 28°C | | | | | Suhu 40°C | | | | | |
|----------------------|-----------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-------------------|--------------------|
| | Minggu ke | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Organoleptis: Bentuk | | Semi padat | Semi padat |
| Warna | | Hijau pekat | Hijau lebih pekat | Hijau sangat pekat |
| Bau | | Mint | Mint |
| Rasa | | Sedikit Pahit | Sedikit Pahit |
| pH | | 7,09 | 7,08 | 7,06 | 7,05 | 7,02 | 7,09 | 7,08 | 7,06 | 7,05 | 7,03 | 7,09 | 6,92 | 6,83 | 6,74 | 6,61 |
| Viskositas (cps) | | 85.000 | 84.000 | 84.000 | 82.000 | 83.000 | 85.000 | 85.000 | 84.000 | 84.000 | 83.000 | 85.000 | 82.000 | 79.000 | 74.000 | 72.000 |
| Homogenitas | | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Daya Sebar | | 4,5 | 4,4 | 4,0 | 4,2 | 4,2 | 4,5 | 4,5 | 4,3 | 4,3 | 4,2 | 4,5 | 4,3 | 4,2 | 4,0 | 3,9 |

Keterangan: Homogen = -

Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Pasta Gigi

Pengamatan Organoleptis Sediaan Pasta Gigi

Sediaan pasta gigi yang telah dibuat memiliki bentuk semi padat. Warna pada sediaan yang dihasilkan menjadi lebih gelap seiring dengan peningkatan konsentrasi. Rasa dari formula pasta gigi I, II dan III memiliki rasa yang manis dan pada formula IV memiliki rasa yang

agak manis sedangkan pada formula pasta gigi V memiliki rasa yang sedikit pahit. Aroma pada formula pasta gigi memiliki bau yang khas yang berasal dari oleum menthae piperithae.

Pengamatan Pengujian pH Sediaan Pasta Gigi

Sediaan pasta gigi yang telah dibuat memiliki nilai pH yang berkisar antara 7,09 - 7,32. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun Landep, maka semakin rendah nilai pH yang diperoleh. Nilai pH dari sediaan pasta gigi yang dibuat harus disesuaikan dengan pH mulut yaitu sebesar 6,7 - 7,2 (Rieger, 2000).

Pengamatan Pengujian Viskositas Sediaan Pasta Gigi

Sediaan pasta gigi yang telah dibuat memiliki nilai viskositas yang berkisar antara 78.000 - 85.000 cps. Nilai viskositas sediaan yang diperoleh mendekati nilai viskositas sediaan pasta gigi yang beredar di pasaran yaitu 82.000 cps sehingga dapat diketahui bahwa sediaan pasta gigi yang telah dibuat memiliki kualitas yang baik.

Pengamatan Pengujian Homogenitas Sediaan Pasta Gigi

Sediaan pasta gigi yang telah dibuat telah memenuhi persyaratan homogenitas. Sediaan dikatakan homogen apabila terdapat persamaan warna dan tidak terdapat partikel atau bahan kasar pada sediaan pasta gigi (Warnida et al, 2016).

Pengamatan Pengujian Daya Sebar Sediaan Pasta Gigi

Sediaan pasta gigi yang telah dibuat memiliki daya sebar sebesar 4,5 - 5,1 cm. Hasil pengujian daya sebar pada kelima formula pasta gigi telah memenuhi persyaratan daya sebar yang berdasarkan literatur Bureau of Indian Standart for Toothpaste and face powder IS 6356-1993 yaitu standar daya sebar untuk sediaan pasta gigi tidak melebihi 8.

Evaluasi Stabilitas Fisik Sediaan Pasta Gigi

Pengamatan Pengujian Organoleptis

Pengamatan organoleptis sediaan pasta gigi menunjukkan adanya perubahan warna menjadi lebih gelap pada minggu ke 3 dan 4 yang disimpan pada suhu 40 °C. Perubahan warna menjadi lebih gelap disebabkan karena terjadinya reaksi oksidasi dalam sediaan (Ansel, 1989). Pengamatan organoleptis berupa bentuk, bau dan rasa tidak menunjukkan adanya perubahan.

Pengamatan Pengujian pH Sediaan Pasta Gigi

Sediaan pasta gigi yang telah dibuat memiliki nilai pH yang berkisar antara 6,61 - 7,32. Nilai pH dari sediaan pasta gigi yang dibuat harus disesuaikan dengan pH mulut yaitu sebesar 6,7 - 7,2 (Rieger, 2000). Apabila pH pasta gigi memiliki pH yang terlalu asam maka dapat menyebabkan iritasi pada gigi dan terlalu basa dapat menyebabkan mulut kering (Young, 2002).

Pada penyimpanan suhu yang berbeda, masing-masing sediaan mengalami penurunan pH terutama pada suhu penyimpanan 40 °C mengalami penurunan pH yang signifikan, Hal ini disebabkan oleh pada suhu yang tinggi terjadi katalisasi ion H⁺ sehingga menghasilkan ion H⁺ yang banyak dan mengakibatkan penurunan pH pada sediaan.

Pengamatan Pengujian Viskositas Sediaan Pasta Gigi

Sediaan pasta gigi memiliki nilai viskositas yang berkisar antara 68.000 - 85.000 cps. Nilai viskositas yang diperoleh mendekati nilai viskositas sediaan pasta gigi yang beredar di pasaran yaitu 82.000 cps sehingga dapat diketahui bahwa sediaan pasta gigi yang telah dibuat memiliki kualitas yang baik. Temperatur penyimpanan dapat mempengaruhi viskositas menjadi dapat berubah-ubah, pada umumnya viskositas sediaan akan berkurang dengan peningkatan temperatur (Ansel, 1989).

Pengamatan Pengujian Homogenitas Sediaan Pasta Gigi

Pengamatan pengamatan homogenitas sediaan pasta gigi menunjukkan bahwa sediaan tersebut tidak terdapat partikel atau bahan kasar dan terdapat persamaan warna yang merata sehingga dapat diketahui bahwa sediaan tersebut homogen pada sebelum dan sesudah penyimpanan.

Pengamatan Pengujian Daya Sebar Sediaan Pasta Gigi

Pengamatan pengujian daya sebar sediaan pasta gigi menunjukkan sediaan tersebut memiliki daya sebar sebesar 3,9 -5,1 cm. Hasil pengujian daya sebar pada kelima sediaan pasta gigi telah memenuhi persyaratan daya sebar pada sebelum dan sesudah penyimpanan berdasarkan literatur Bureau of Indian Standart for Toothpaste and face powder IS 6356-1993 yaitu standar daya sebar nuntuk sediaan pasta gigi tidak melebihi 8.

Analisa Data

Hasil analisa data menunjukkan bahwa pada pengujian normalitas dengan Metode Saphiro-Wilk pada ekstrak dan sediaan pasta gigi ekstrak diperoleh hasil data yang terdistribusi normal dengan nilai Sig. $> \alpha$ (0,05). Pada pengujian homogenitas dengan Metode Levene pada ekstrak dan sediaan pasta gigi ekstrak diperoleh hasil data yang terdistribusi homogen dengan nilai Sig. $> \alpha$ (0,05). Setelah data yang dianalisa telah terdistribusi normal dan homogen, maka dapat dilakukan pengujian One Way ANOVA (Dahlan, 2006)

Berdasarkan hasil pengujian One way ANOVA pada ekstrak dan sediaan pasta gigi ekstrak, maka dapat disimpulkan adanya perbedaan yang bermakna pengaruh pemberian kelompok perlakuan (ekstrak dan sediaan pasta gigi) terhadap diameter zona hambat pada bakteri *Streptococcus mutans* dengan nilai Sig. $(0,000) < \alpha$ (0,05).

Oleh karena hasil pengujian One Way ANOVA terdapat perbedaan antar kelompok perlakuan dan diameter zona hambat, maka dilanjutkan dengan pengujian selanjutnya yaitu uji Post Hoc Test dengan menggunakan metode LSD (Christianus, 2010). Berdasarkan hasil data pengujian Post Hoc Test pada ekstrak dan sediaan pasta gigi, maka dapat disimpulkan adanya perbedaan bermakna pengaruh pemberian antar kelompok perlakuan (ekstrak dan sediaan pasta gigi) terhadap diameter zona hambat pada bakteri *Streptococcus mutans*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak daun Landep (*Barleria prionitis* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan memberikan zona hambat sebesar 11,72 mm yang berintensitas kuat (konsentrasi 2%), 13,62 mm yang berintensitas kuat (konsentrasi 4%), 15,66 mm yang berintensitas kuat (konsentrasi 8%) dan 17,52 mm yang berintensitas kuat (konsentrasi 16%).

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. (2007). *Teknologi Bahan Alam*. Cetakan Pertama. Bandung: Penerbit ITB.
- Ansel, H.C. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. (Ibrahim, F., Penerjemah). Edisi ke-4. Jakarta: UI Press.
- Arora, D.R., & Arora R.B. (2009). *Textbook of Microbiology for Dental Student* (3rd ed). New Delhi: CBS Publishers & Distributors. Hal 178.
- BPOM RI. (2013). *Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak Volume 1*. Jakarta: Badan Pengawasan Obat dan Makanan.
- Bureau of Indian Standards for Toothpaste and Face Powder. IS 6356 – 1993.
- Cristianus, S. (2010). *Seri Belajar Kilat SPSS 17*. Yogyakarta: Penerbit Andi Yogyakarta dan ELCOM. Hal 82.
- Cappucino, J.G. (2009). *Manual Laboratorium Mikrobiologi*, edisi kedelapan, (Natalie Sherman, Penerjemah.). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Dahlan, S. (2006). *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Edisi ke-3. Jakarta: Salemba Medika.
- Dalynn Biological (2014, October). *Mc Farland Standard for Invitros Use Only*. Canada.
- Davis, W.W., Stout, T.R. (1971). *Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay*. *Appl Microbiol* 22(4): 659-660.
- Dwidjoseputro, D. (2005). *Dasar Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Djambatan.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., & Williamson, E. M. (2009). *Farmakognosi dan Fitoterapi* (Winny R. Syarief, Cucu Aisyah, Ella Elviana & Euis Rachmiyani Fidiyasi, Penerjemah). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Hidayat, S.R., & Napitulu. R.M. (2015). *Kitab Tumbuhan Obat*. Jakarta: Agrifio.
- Kamarudin, N.A., Markom, M., Latip, J. (2016). *Effects of Solvents and Extraction Methods on Herbal Plants Phyllanthus niruri, Orthosiphon stamineus and Labisia pumila*. *Indian Journal of Science and Technology*. 9(21): 1-5.
- Kidd, E.A.M., & Bechal, S.J. (2012). *Dasar-Dasar Karies Penyakit dan Penanggulangannya* (Narlan, S., Safrida, F., Penerjemah.). Edisi pertama. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kuncari, E.S., Iskandarsyah, dan Praptiwi. (2014, Desember). *Evaluasi uji Stabilitas Fisik dan Sineresis Sediaan Gel yang Mengandung Minoksidil, Apigenin dan perasan Herba Seledri (Apium graveolens L.)*. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 42(4): 213-222.

- Mitsui, T. (1997). *New Cosmetic Science*, Amsterdam: Elsevier Science.
- Pratiwi S.T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Rajendran, R., & Sivapathasundharam. (2012). *Text Book of Oral Pathology (7th edition)*. India: Elsevier.
- Ramadhan, A.G. (2010). *Serba-Serbi Kesehatan Gigi dan Mulut*. Jakarta: Bukune.
- Rieger, M.M. (2000). *Harry's Cosmeticology (8th ed)*. New York: Chemical Publishing Co., Inc.
- Sawarkar, H.A., Kashyap, P.P., Kaur, C.D., Pandey, A.K., Biswas, D.K., Singh, M.K., Dhongade, H.K. (2016). Antimicrobial and TNF- α Inhibitory Activity of *Barleria prionitis* and *Barleria grandiflora*: A Compare Study. *Indian Journal of Pharmaeutical Education and Research*, 50(3): 412.
- Strassler, H.E. (2013). *Toothpaste Ingridients Make a Difference: Patient-Spesific Recommendation*. Benco Dental.
- Sumawinata, N. (2004). *Senarai Istilah Kedokteran Gigi: Inggris-Indonesia*. Jakarta: EGC.
- Waluyo, L. (2008). *Teknik dan Metode Dasar Dalam Mikrobiologi*. Malang: UMM Press.
- Warnida, H., Jullianor, A., Sukawaty, Y. (2016). Formulasi Pasta Gigi Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleuntherine bulbosa* (Mill.)Urb.). *Jurnal Sains farmasi & Kliniis*, 3(1): 47.
- Young, A. (2002). *Practical Cosmetic Sience*. London: Mills and Boon Limited.