

# Analisa Daya Hambat Ekstrak Daun Lidah Buaya (*Aloe Vera L.*) Terhadap Aktivitas Enzim Glukosiltransferase *Streptococcus Mutans*.

Ainun Wulandari\*, Novi Khila Firani\*\*

\* Mahasiswa Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

\*\* Dosen Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

Email: ainunwlnr@gmail.com, novikhila@yahoo.com

## ABSTRAK

*Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang terdapat didalam rongga mulut yang berperan sebagai agen utama penyebab karies gigi, yang memiliki enzim glukosiltransferase (GTF). Enzim GTF akan mengubah sukrosa menjadi fruktosa dan glukosa. Lidah Buaya (*Aloe vera L.*) sebagai bahan alami memiliki sifat antibakteri. Dalam hal ini memiliki kandungan tanin yang secara spesifik dapat menghambat aktivitas enzim Glukosiltransferase *Streptococcus mutans*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun lidah buaya (*Aloe vera L.*) terhadap aktivitas enzim GTF *Streptococcus mutans*. Penelitian ini menggunakan ekstrak daun lidah buaya konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75% dan 100% sebagai perlakuan, dan aquades sebagai kontrol. Enzim GTF diperoleh dari hasil sentrifugasi bakteri *Streptococcus mutans*. Aktivitas enzim GTF diukur dengan menghitung kadar fruktosa menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Hasil perhitungan aktivitas enzim GTF menunjukkan perbedaan penurunan kadar fruktosa yang signifikan antara kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun lidah buaya dengan kelompok kontrol. Analisa data menggunakan Korelasi dan Regresi menunjukkan berpengaruh sebesar 76,1% terhadap penurunan kadar fruktosa. Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan daun lidah buaya dapat menghambat kerja dari enzim glukosiltransferase.

**Kata Kunci:** Lidah buaya, Enzim glukosiltransferase, *Streptococcus mutans*.

## ABSTRACT

*Streptococcus mutans* is a bacteria in the oral cavity which consists of *glucosyl transferase* (GTF) enzyme and acts as the main agent that causes dental caries. GTF enzyme will convert sucrose into fructose and glucose. Aloe vera (*Aloe vera L.*) is one of herbal plants which has a antibacterial effect. Aloe vera has active substance such as tannin which specifically can inhibit *glucosyltransferase* (GTF) enzyme *Streptococcus mutans*. The purpose of this research is to investigate the effect of Aloe vera leaf (*Aloe vera L.*) extract to the activity of *Streptococcus mutans*'s GTF enzyme. This research used 12,5%, 25%, 50%, 75% and 100% concentration of Aloe vera extract and count as the treatment group, and aquadest as a control group. The GTF enzyme is obtained from the supernatant of *Streptococcus mutans*. The activity of GTF enzyme is measured by calculating the fructose concentration using *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). The results of calculations of enzyme activity GTF shows the difference a significant fructose levels between treatment groups given the Aloe Vera leaf extract with the control group. Data analysis using correlation and regression shows the effect of 76.1% against a decline in the levels of fructose. Based on this research, it can be concluded that leaves of the Aloe Vera can inhibit the action of the glucosyltransferase enzyme.

**Keywords:** *Aloe vera*, *Glucosyltransferase enzyme*, *Streptococcus mutans*

## A. PENDAHULUAN

Karies merupakan suatu penyakit pada jaringan keras gigi yang disebabkan oleh beberapa faktor yakni permukaan dan bentuk gigi, karbohidrat, mikroorganisme dan air ludah.<sup>[1]</sup> Mikroorganisme yang dominan berada pada rongga mulut yang memiliki sifat *acidogenic* dan *acidophilic* yakni *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* sp, *Actinomyces viscosus*, *Streptococcus salivarius* dan *Candida albicans*. Mikroorganisme tersebut mempunyai kemampuan untuk mengubah karbohidrat makanan menjadi asam dan dapat menurunkan pH didalam rongga mulut sehingga dapat menyebabkan terjadinya demineralisasi email gigi sehingga menyebabkan karies.<sup>[2]</sup>

Enzim *glukosiltransferase* dapat mengubah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, serta mengkatalisis pembentukan *soluble* dan *insoluble* glukan dari sukrosa dan berkontribusi signifikan terhadap komposisi matriks polisakarida plak gigi.<sup>[3]</sup> Enzim *glukosiltransferase* (GTF) diproduksi oleh *Streptococcus mutans* yang merupakan faktor virulensi dalam patogenesis karies gigi.<sup>[4]</sup> GTF yang diproduksi oleh *Streptococcus mutans* ada 3 yaitu GTF B, GTF C dan GTF D, Glukan mendukung adanya perlekatan dan akumulasi dari bakteri *Streptococcus mutans* yang bersifat kariogenik pada permukaan gigi. Salah satu cara untuk mencegah terjadinya karies pada gigi yaitu dengan menghambat aktivitas enzim *Glukosiltransferase* (GTF) yang diproduksi oleh *Streptococcus mutans*.<sup>[4]</sup>

Berdasarkan penelitian sebelumnya enzim *Glukosiltransferase* (GTF) telah diuji dapat dihambat oleh ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L*) konsentrasi 10% didapatkan hasil bahwa pada ekstrak daun kersen konsentrasi 10% memiliki kemampuan yang hampir sama dengan kemampuan *chlorhexidine* 0,12% sebagai antibakteri dalam menghambat aktivitas enzim GTF bakteri *Streptococcus mutans*.<sup>[5]</sup> Kandungan pada daun kersen yang dapat menghambat aktivitas enzim GTF yaitu flavonoid. Senyawa flavonoid mampu menghambat aktivitas enzim *Glukosiltransferase* (GTF) pada *Streptococcus mutans* hingga 90,5-95% (Ren *et al.*,2016). Sifat flavonoid dalam menghambat enzim *Glukosiltransferase* (GTF) terdapat pada kelompok flavones dan flavonols. Flavones dan flavonols, mempunyai ikatan ganda antara posisi C-2 dan C-3 pada rantai struktur kimianya yang membuatnya mampu menghambat aktivitas enzim GTF.<sup>[4]</sup> Tanin dapat menghambat aktivitas enzim

GTF hingga 31,93%.<sup>[6]</sup> Tanin mampu membentuk ikatan kompleks dengan protein sehingga menginaktivasi adhesi bakteri,enzim, koagulator protein bakteri, serta hambatan terhadap aktivitas enzim GTF yang menyebabkan koagulasi protoplasma.<sup>[7]</sup> Belum diketahui efek daun lidah buaya terhadap aktivitas enzim GTF, oleh sebab itu penulis ingin mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun lidah buaya (*Aloe vera L*) terhadap aktivitas enzim *Glukosiltransferase* *Streptococcus mutans* sehingga diharapkan bahan ini dapat dikembangkan sebagai alat alternatif untuk obat kumur dan pasta gigi pencegah karies.

## B. METODE PENELITIAN

### 1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium. Desain penelitian ini adalah True Experimental Posttest Control Group design.

### 2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah enzim GTF dari bakteri *Streptococcus mutans*.

### 3. Variabel Penelitian

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun lidah buaya dengan berbagai konsentrasi.

### 4. Prosedur Penelitian

#### a. Pembuatan Ekstrak Daun Lidah Buaya

Daun lidah buaya didapatkan di Balai Materia Medika, Batu. Daun Lidah Buaya dicuci terlebih dahulu sampai bersih dan dilakukan proses perajangan dengan menggunakan slicer. Setelah proses perajangan dan pengeringan selesai dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi. Serbuk simplisia yang telah diblender dimasukkan kedalam ekstraktor kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan serbuk dengan etanol 1:2. Selanjutnya diaduk dengan menggunakan shaker selama 2x24 jam. Setelah itu, disaring sehingga diperoleh filtrat kemudian diuapkan menggunakan evaporator vakum pada suhu 60°C selama 4 jam kemudian diuapkan kembali diatas water bath selama 2 jam sampai larutan etanol terpisah

#### b. Identifikasi Bakteri *Streptococcus mutans*

Untuk membuktikan bahwa koloni yang tumbuh adalah *Streptococcus mutans* maka dilakukan serangkaian tes, antara lain tes pewarnaan gram untuk menentukan bakteri



tersebut termasuk kedalam kategori gram positif kokus dengan hasil positif ungu, tes katalase untuk membedakan *Streptococcus mutans* dengan *Staphylococcus aureus* yaitu dengan hasil negatif tidak terdapat gelembung udara, dan tes optochin untuk membedakan *Streptococcus mutans* dengan *Streptococcus pneumoniae* dengan hasil negatif.

### c. Persiapan Bakteri *Streptococcus mutans*

Bakteri pada penelitian ini diambil dari stok *Streptococcus mutans* dan diinokulasikan ke dalam media BHIB cair. Sesudah kultivasi selama 24 jam, dibuat tabung sediaan yang berisi *Streptococcus mutans* dalam 10ml BHIB dan dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan digetarkan pada 150 rpm dengan menggunakan thermoshaker.<sup>[8]</sup>

### d. Pembuatan enzim GTF *Streptococcus mutans*

Media kultur disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 10 menit sehingga diperoleh supernatan yang mengandung enzim GTF.<sup>[8]</sup>

### e. Pengujian aktivitas enzim GTF

Pengujian aktivitas enzim dilakukan di Unit Layanan Pengujian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. 48 tabung reaksi disediakan pada penelitian ini, tiga tabung pertama untuk kelompok kontrol negatif, tiga tabung kedua untuk perlakuan dengan ekstrak daun lidah buaya konsentrasi 12,5%, tiga tabung ketiga untuk perlakuan dengan ekstrak daun lidah buaya 25%, tiga tabung keempat untuk perlakuan dengan ekstrak daun lidah buaya 50%, tiga tabung kelima untuk perlakuan dengan ekstrak daun lidah buaya 75% dan tiga tabung terakhir untuk perlakuan dengan ekstrak daun lidah buaya 100%. Kelompok kontrol diberi 0,875 ml sukrosa 0,25 M dalam buffer fosfat 0,2 M pH 7, ditambahkan dengan 0,025 ml aquades steril, ditambahkan 0,1 ml larutan supernatan. Sedangkan untuk kelompok perlakuan diberi 0,875 ml sukrosa 0,25 M dalam buffer fosfat 0,2 M pH 7, ditambahkan dengan 0,025 ml ekstrak daun lidah buaya dengan berbagai konsentrasi kemudian ditambahkan 0,1 ml larutan supernatan. Semua bahan perlakuan dan kontrol tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 jam. Setelah diinkubasi dan disaring dengan kertas saring 0,45 µm, konsentrasi fruktosa diuji dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), yaitu dengan cara menyuntikkan 20 µl larutan perlakuan atau larutan kontrol, kemudian dilihat waktu retensinya. Kadar

fruktosa dihitung melalui pembacaan luas area fruktosa.

### f. Analisis Data

Data yang diperoleh berdasarkan jumlah perhitungan fruktosa dilakukan analisis statistika menggunakan program *Statistical Product of Service Solution* (SPSS). Uji normalitas untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena besar sampel  $\leq 50$ . Uji homogenitas ragam untuk mengetahui homogenitas variasi data masing-masing kelompok menggunakan *Levene's test*. uji *One way Anova* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Setelah itu dilanjutkan uji Uji analisis *Post-Hoc Tukey HSD* (*Honestly Significant Difference*), untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. kemudian dilanjutkan uji korelasi *Pearson* untuk menguji hipotesis hubungan antara 2 variabel dan melihat kuat atau lemahnya kuat atau lemahnya hubungan antara 2 variabel tersebut, maka dalam penelitian ini uji korelasi *Pearson* digunakan untuk mengetahui kekuatan hubungan antara konsentrasi ekstrak daun lidah buaya terhadap aktivitas enzim glukosiltransferase *Streptococcus mutans*.

## C. HASIL PENELITIAN

### 1. Identifikasi Bakteri *Streptococcus mutans*

Hasil dari pewarnaan gram serta pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x didapatkan bakteri berbentuk bulat (*coccus*) bergerombol dan berwarna ungu. Hasil dari tes *katalase* yaitu tidak terdapat gelembung udara, ada tes *optochin*, tidak terbentuk zona hambat di sekeliling disk *optochin*, hal ini menunjukkan bahwa bakteri *streptococcus mutans* resisten terhadap *optochin*, maka tes *optochin* negatif. Berdasarkan hasil tes identifikasi yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa bakteri yang digunakan dalam penelitian ini merupakan *Streptococcus mutans*.

### 2. Hasil pembacaan dan perhitungan kadar fruktosa

Berdasarkan hasil pembacaan dan penghitungan kadar fruktosa dengan alat *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) yang terbagi atas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak daun lidah buaya dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%, dan 100%. Hasil penghitungan kadar

fruktosa pada masing-masing kelompok penelitian adalah sebagai berikut (Tabel 1).

Tabel 1. Rata-rata dan standar deviasi kadar fruktosa pada setiap kelompok penelitian.

Kelompok Penelitian	N	Rata-rata (ng/ul)	Standar Deviasi
Aquades steril	3	519,2219	28,81
Aloe vera 12,5%	3	348,6183	70,30
Aloe vera 25%	3	195,6373	45,0
Aloe vera 50%	3	0	0
Aloe vera 75%	3	0	0
Aloe vera 100%	3	0	0

Pada tabel 5.1 menunjukkan bahwa kadar fruktosa kelompok perlakuan konsentrasi 12,5% dan 25% lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak lidah buaya 50%,75% dan 100% tidak terdeteksi kadar fruktosanya.

#### D. PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat ekstrak Lidah Buaya (*Aloe Vera L.*) terhadap aktivitas enzim *Glukosiltransferase Streptococcus mutans*. Enzim *Glukosiltransferase* didapatkan dari supernatan hasil sentrifugasi bakteri *Streptococcus mutans* dalam media cair yaitu *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB). Sebelum digunakan untuk penelitian, bakteri *Streptococcus mutans* diidentifikasi terlebih dahulu untuk memastikan bahwa bakteri tersebut adalah benar *Streptococcus mutans*. Tes yang dilakukan untuk identifikasi adalah tes pewarnaan Gram, tes katalase dan tes optochin.

Pada pengecatan Gram, Hasilnya menunjukkan bahwa *Streptococcus mutans* berbentuk coccus dan berwarna ungu. Warna ungu tersebut menunjukkan bahwa *Streptococcus mutans* adalah bakteri gram positif karena kemampuannya untuk mempertahankan warna kristal violet yang ditetaskan pada pewarnaan gram. Hal ini dikarenakan dinding sel kelompok bakteri ini tersusun oleh sebagian besar peptidoglikan, yang mampu mengikat zat warna dan tidak rusak saat dicuci dengan alkohol.<sup>[9]</sup> Pada tes *katalase* hasil yang didapat adalah negatif, yaitu *Streptococcus mutans* tidak menimbulkan gelembung udara. *Streptococcus* tidak memiliki enzim *katalase* sehingga tidak dapat mengubah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$ .<sup>[10]</sup>

Tes optochin fungsinya untuk membedakan *Streptococcus mutans* dengan *Streptococcus pneumoniae*. Tes optochin dilakukan pada media agar darah menggunakan prinsip disk diffusion. Media agar darah yang telah diberi disk optochin

diinkubasi dan diamati setelah 24 jam. Berdasarkan hasil tes optochin yang didapat adalah negatif dengan tidak terbentuk zona bening disekitar disk optochin.

Lidah buaya (*Aloe Vera L.*) yang meliputi batang, daun, bunga dan akar mengandung senyawa kimia diantaranya flavonoid, saponin dan tanin.<sup>[11]</sup> Ekstrak Lidah buaya (*Aloe vera L.*) memiliki daya hambat terhadap aktivitas enzim *Glukosiltransferase Streptococcus mutans* diduga karena kandungan bahan aktif yang bertindak sebagai inhibitor reaksi enzimatik. Tanin dapat menghambat aktivitas enzim *Glukosiltransferase* (GTF) hingga 31,93%.<sup>[6]</sup>

Spesies bakteri yang paling berpengaruh pada proses karies awal yaitu *Streptococcus mutans*.<sup>[12]</sup> *Streptococcus mutans* menghasilkan enzim *glukosiltransferase* yang memiliki peran dalam penyediaan tempat untuk perlekatan bakteri, sehingga memodulasi formasi biofilm yang lebih padat dan menjadi prekursor dari proses terjadinya karies gigi.<sup>[4]</sup> Enzim *glukosiltransferase* merupakan katalisator dari proses pemecahan sukrosa menjadi fruktosa dan glukosa. Pada reaksi katalitik ini fruktosa dihasilkan dalam bentuk bebas sehingga dapat dibaca menggunakan HPLC, sedangkan glukosa akan diikat kembali oleh enzim *Glukosiltransferase* menjadi glukon yang tidak dapat dibaca menggunakan HPLC.<sup>[5]</sup> Aktivitas enzim *Glukosiltransferase* diukur dengan menghitung kadar fruktosa dengan menggunakan alat *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Semakin rendah kadar fruktosa yang terbaca pada HPLC, menunjukkan bahwa enzim GTF yang dihambat lebih besar.

Aktivitas enzim dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor – faktor tersebut menentukan aktivitas kerja satu enzim. Apabila faktor pendukung tersebut berada pada kondisi yang optimum, maka kerja enzim akan maksimal. Beberapa faktor yang mempengaruhi diantaranya adalah pH (keasaman) yang berpengaruh terhadap kecepatan aktivitas enzim dalam mengkatalisis suatu reaksi, suhu, aktivator dan inhibitor, serta konsentrasi enzim dan substrat.<sup>[13]</sup>

Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan aktivitas enzim *Glukosiltransferase* dari masing-masing kelompok. Pada kelompok kontrol negatif menunjukkan kadar fruktosa yang paling tinggi. Hal ini disebabkan aquades steril tidak dapat menghambat aktivitas enzim *Glukosiltransferase*. Aquades steril tidak memiliki sifat antibakteri. Sedangkan pada kelompok perlakuan yakni



ekstrak lidah buaya (*Aloe vera L.*) dengan konsentrasi 12,5% dan 25% dapat menghambat aktivitas enzim Glukosiltransferase dikarenakan pada konsentrasi tersebut terjadi penurunan kadar fruktosa yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol yakni aquades steril.

Berdasarkan uji korelasi *Pearson* dan regresi, menunjukkan bahwa terdapat hubungan (korelasi) antara pemberian ekstrak daun lidah buaya terhadap penurunan kadar fruktosa dengan nilai signifikansi 0.000 ( $p < 0,05$ ). Adapun kekuatan korelasi yaitu  $r = 0,872$  merupakan kategori sangat tinggi, dengan arah negatif. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak lidah buaya (*Aloe vera L.*) jika konsentrasi bertambah maka akan diikuti menurunnya kadar fruktosa. Pada uji regresi didapatkan, *R square* sebesar 0,761 yang berarti ekstrak lidah buaya (*Aloe vera L.*) berpengaruh sebesar 76,1% terhadap penurunan kadar fruktosa

#### E. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Terdapat pengaruh antara konsentrasi ekstrak daun lidah buaya terhadap aktivitas enzim glukosiltransferase *Streptococcus mutans*.
2. Terdapat perbedaan jumlah kadar fruktosa pada kelompok yang tidak diberi ekstrak daun lidah buaya (*Aloe vera L.*) dan kelompok yang diberi ekstrak daun lidah buaya (*Aloe vera L.*).
3. Terdapat hubungan antara konsentrasi ekstrak daun lidah buaya terhadap penurunan kadar fruktosa.

#### F. SARAN

Dari kesimpulan hasil penelitian, penulis memberikan saran untuk peneliti selanjutnya sebagai berikut:

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai efek antibakteri lidah buaya (*Aloe vera L.*) secara *in vivo* pada berbagai hewan coba maupun clinical trial untuk melihat farmakodinamik, farmakokinetik dan toksisitas ekstrak lidah buaya (*Aloe vera L.*)
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui batas dosis dan lama pemberian ekstrak yang dapat bersifat toksik agar pemanfaatan ekstrak ini dapat diaplikasikan pada manusia khususnya sebagai bahan pasta gigi,

bahan pasta saluran akar, dan bahan sterilisasi saluran akar.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Amalia, Nida. Kaidah, Siti. Widodo. 2014. Perbandingan Efektivitas Berkumur Larutan Teh Putih (*Camellia Sinensis L.*) Seduh Konsentrasi 100 % Dengan 50 % Dalam Meningkatkan Ph Saliva. Jurnal Kedokteran Gigi, Vol.2. No 1, Maret 2014 : 29-33
2. Thaweboon, S., Nakaparksin, J., Thaweboon, B., 2011, Effect of Oil-Pulling on Oral Microorganisms in Biofilm Models, Asia. J. Public. Health., 2(2): 62-66
3. Forsten, S. D, Bjorklund, M, & Ouwehand, A. C. 2010. *Streptococcus mutans*, caries and simulation models. Nutrients; 2:290-298.
4. Koo, H., P. L. Rosalen, J. A. Cury, Park, Y.K., & Bowen, W.H. 2002. Effects of Compounds Found in Propolis on Society, Vol.46 No.5 : 1302-1309.
5. Isnarianti, Rina. Wahyudi, Ivan A. Puspita, Rini M. 2013. *Muntingia calabura L* Leaves Extract Inhibits *Glucosyltransferase* Activity of *Streptococcus mutans*. *Journal of Dentistry Indonesia*, Vol. 20, No. 3 : 59-63
6. Sendamangalam, V. 2010. Antibiofouling effect of polyphenols on *streptococcus biofilms*. Theses and Dissertation. University of Toledo, pp. 29-33
7. Juliantina, F., Citra, D.A., Nirwani, B., Nurmasithoh, T., Bowo, E.T. 2009. Manfaat sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai agen antibakterial terhadap bakteri gram positif dan gram negative. JKKI; 1(1): 2-3.
8. Fujiwara, T, Hoshino, T, Ooshima, T, Sobue, S & Hamada, S. 2000. Purification, Characterization, and Molecular Analysis of the Gene Encoding *Glucosyltransferase* from *Streptococcus oralis*. Infection And Immunity ; Vol. 68, No. 5 Hlm ; 2475-2483
9. Lestari R. 2013. Pewarnaan Sederhana, Negatif, Kapsul dan Gram, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Yogyakarta, Yogyakarta
10. Prepinida, Iral. 2011. Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Siwak (*Salvadora Persica*) Dan Larutan Kumur Komersil Terhadap Pertumbuhan Bakteri Mulut. Skripsi. Diterbitkan, Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor

11. Furnawanthi, I. 2005. Khasiat dan Manfaat Lidah Buaya Si Tanaman Ajaib. Jakarta: AgroMedia Pustaka, hal 1-21
12. Karpinski, Tomasz M, Szkaradkiewicz A K. 2013. Microbiology of dental caries. *J Biol Earth Sci* Vol 3 No 1 Hlm : 21-24
13. Hames, D., dan Hooper, N. 2005. Biochemistry. Ed-4. New York: Taylor and Francis Group

