

# IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS DAYA HAMBAT EKSTRAK ETANOL BIJI PINANG (*Areca catechu* L.) TERHADAP ISOLAT BAKTERI GUSI

Meiriza Djohari<sup>1</sup>, Syilfia Hasti<sup>1</sup>, Rina Lestari<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau; Jalan Kamboja, Simpang Baru Panam, 28292  
Universitas Riau, Jalan, Panam, Pekanbaru 28423

e-mail: <sup>1</sup>[Meirizadj@gmail.com](mailto:Meirizadj@gmail.com), <sup>1</sup>[Syilfiahasti@gmail.com](mailto:Syilfiahasti@gmail.com), <sup>1</sup>[Rinallestari310796@gmail.com](mailto:Rinallestari310796@gmail.com)

## ABSTRAK

Prevalensi periodontal pada semua kelompok umur di Indonesia adalah 96,58%. Penyebab utama periodontal adalah mikroorganisme pada plak gigi. Pengendalian pengurangan plak dapat dilakukan dengan menggunakan bahan alamiah yang mengandung antibakteri, salah satunya adalah biji pinang (*Areca catechu* L.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri pada gusi, dan mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap isolat bakteri gusi. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi Agar dengan seri konsentrasi 10%, 20%, 30%. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol biji pinang menunjukkan adanya kandungan alkaloid, terpenoid dan flavonoid. Hasil yang diperoleh dari uji identifikasi berdasarkan pengamatan makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia didapatkan dua bakteri Gram positif (*Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus sp*) dan satu bakteri Gram negatif (*Enterobacter aerogenes*). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap isolat bakteri gusi dianalisis statistik dengan *One Way Anova* dan uji alternatif dengan *Kruskal-Wallis*. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus sp* pada konsentrasi 10%, 20%, dan 30% menunjukkan diameter daya hambat yang berbeda signifikan dibandingkan kontrol positif dan negatif, terhadap bakteri *Enterobacter aerogenes* pada konsentrasi 10%, 20%, dan 30% menunjukkan diameter daya hambat yang berbeda signifikan dibandingkan kontrol positif dan tidak berbeda signifikan dibandingkan kontrol negatif.

**Kata kunci :** Antibakteri, Identifikasi Bakteri Isolat, Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.), Diameter Daya Hambat

## ABSTRACT

Periodontal prevalence in all age groups in Indonesia is 96.58%. The main cause of periodontal is microorganisms in dental plaque. Control of plaque reduction can be done using natural ingredients which contain antibacterial, one of which is areca nut seed (*Areca catechu* L.). This research aims to determine the type of bacteria on the gums, and to determine the antibacterial activity of ethanol extract of areca nut (*Areca catechu* L.) on gums' bacteria isolate. Antibacterial activity test used Agar diffusion method with concentration series 10%, 20%, 30%. The results of phytochemical screening of areca nut seed ethanol extract showed the presence of alkaloids, terpenoids and flavonoids. The results from the identification test based on macroscopic, microscopic, and biochemical observations obtained two Gram-positive bacteria (*Staphylococcus epidermidis* and *Streptococcus sp*) and one Gram-negative bacteria (*Enterobacter aerogenes*). Antibacterial activity test of ethanol extract of areca nut seed (*Areca catechu* L.) on gums' bacterial isolates was analyzed statistically with *One Way Anova* and alternative test with *Kruskal-Wallis*. Antibacterial activity of ethanol extract of areca nut seed (*Areca catechu* L.) on *Staphylococcus epidermidis* and *Streptococcus sp* bacteria at concentrations of 10%, 20%, and 30% showed significant difference diameter of inhibitory power compared to positive and negative controls on *Enterobacter aerogenes* bacteria at concentration of 10%, 20%, and 30% showed that the diameter of inhibitory power was significantly different compared to positive controls and not significantly different compared to negative controls.

**Keywords:** Antibacterial, Identification of Bacterial Isolates, Ethanol Extract of Areca nut (*Areca catechu* L.), Inhibitory Power Diameter

## PENDAHULUAN

Prevalensi nasional gigi dan mulut adalah 25,9%, sebanyak 14 provinsi mempunyai prevalensi masalah gigi dan mulut di atas angka nasional, penyakit gigi dan mulut yang paling banyak dialami penduduk Indonesia, penyakit periodontal merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut yang memiliki prevalensi cukup tinggi di masyarakat dengan prevalensi penyakit periodontal pada semua kelompok umur di Indonesia adalah 96,58% (Anonim, 2013).

Penyebab utama penyakit periodontal adalah mikroorganisme yang ditemukan pada plak gigi dan memegang peranan penting dalam terjadinya penyakit periodontal. Berikut jenis mikroorganisme yang dapat diklasifikasikan sebagai periodontal patogen, seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas intermedia*, *Treponema*, *Fusobacterium nucleatum*,

*Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Marsh dan Martin, 2009).

Salah satu penyakit periodontal adalah gingivitis, gingivitis disebabkan oleh kerusakan pada gingiva (Solanki, 2012). Gingivitis disebabkan oleh plak yang tidak dibersihkan yang akan termineralisasi menjadi kalkulus atau karang gigi. Plak dan karang gigi inilah yang akan mengiritasi gusi dan menyebabkan gusi berdarah, bengkak (gingivitis), perkembangan kemudian menjadi periodontitis, jika kerusakan sudah mengenai tulang pendukungnya dan menyebabkan gigi mulai goyang, dan akan berakibat pada pencabutan gigi, sehingga perawatan yang tepat harus dilakukan (Pratiwi, 2007).

Pengendalian pengurangan plak dapat juga dilakukan dengan menggunakan bahan alamiah yang mengandung bahan antibakteri. Pemanfaatan bahan

alamiah memiliki kelebihan dibandingkan bahan kimiawi sehingga dikembangkan obat-obatan tradisional yang digunakan untuk mencegah maupun mengobati penyakit dan salah satu di antaranya adalah biji pinang (*Areca catechu* L.). Biji pinang (*Areca catechu* L.) mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, kuinon, dan tannin yang mempunyai aktivitas antibakteri (Nursidika dkk, 2014).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Kaligis menyatakan bahwa bakteri yang teridentifikasi dari isolat plak gigi di Puskesmas Bahu Manado adalah jenis/genus bakteri *Bacillus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Enterococcus sp.*, *Veillonella sp.*, dan *Lactobacillus sp* (Kaligis dkk, 2017).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Haryastuti menyatakan bahwa pasta ekstrak etanol biji pinang terbukti efektif dalam menghambat pelepasan ion kalsium pada proses demineralisasi gigi yang distimulasi *Streptococcus mutans*. Ekstrak etanol biji pinang lebih efektif dibandingkan dengan ekstrak air, hal ini dibuktikan dengan nilai rata-rata pelepasan ion kalsium lebih kecil (7,29 ppm) dibandingkan dengan ekstrak air (36,14 ppm), dengan konsentrasi ekstrak etanol biji pinang yaitu 25%, 50%, 100% (Haryastuti, 2012).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Afni dkk menyatakan bahwa pasta gigi ekstrak etanol biji pinang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*. Formula pasta gigi yang efektif sebagai antibakteri terhadap bakteri uji adalah dengan konsentrasi ekstrak etanol biji pinang 4,5% yang menghasilkan diameter daya hambat untuk *Streptococcus mutans* sebesar 11,37 mm dan *Staphylococcus aureus* sebesar 20,03 mm. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa pada konsentrasi ekstrak etanol biji pinang 4,5% memiliki daya antibakteri kuat (Afni dkk, 2015).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik melakukan isolasi identifikasi dan uji aktivitas daya hambat ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) untuk mengetahui jenis bakteri yang terdapat pada gusi, dan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap koloni bakteri pada apusan gusi, dan mengetahui konsentrasi ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) yang dapat menghambat pertumbuhan koloni bakteri pada apusan gusi. Penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat biji pinang (*Areca catechu* L.) sebagai antibakteri yang terdapat pada gusi untuk salah satu alternatif penyakit gigi dan mulut khususnya yaitu periodontal sehingga prevalensi penyakit periodontal dapat diturunkan.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Bahan Alam, Laboratorium Kesehatan Daerah Riau dan Laboratorium Biofarmasi Sekolah Tinggi

Ilmu Farmasi Riau. Penelitian ini dilakukan pada bulan April sampai September 2018.

### Alat Penelitian

Masker, *handscoon*, kain kasa, *cotton bud* steril, kapas, benang jagung, spidol, kertas label, kertas koran, pisau, gunting, wadah, rak tabung reaksi, toples, botol gelap, batang pengaduk, kaca objek, slide *latex*, kertas oksidase, kertas cakram Whatman no. 42, tabung reaksi, pipet tetes, pipet mikro, tip kuning, tip biru, beaker glass, erlenmeyer, gelas ukur, cawan Petri, blender, bunsen, jarum Ose, jangka sorong, *vortex*, timbangan analitik digital, oven listrik, autoklaf, *water bath*, *hot plate*, alat destilasi, inkubator, *rotary evaporator*, spektrofotometri visibel.

### Bahan Penelitian

Biji pinang (*Areca catechu* L.), *aquades*, kloroform, kloroform amoniak, larutan besi (III) klorida, asam klorida pekat, asam sulfat, asam asetat anhidrat, logam Magnesium, Pereaksi Mayer, norit, bakteri dari apusan pada gusi yang diambil dari mahasiswa STIFAR, etanol 96%, larutan garam fisiologis (NaCl 0,9%), *aquades*, media *Nutrient Agar*, media *Blood Agar*, media *Macconkey Agar*, media TSIA, media SIM, media Simon citrat, media Urea, media karbohidrat/Gula (glukosa, maltosa, laktosa, sukrosa), *kit Stapiurex*, *Klorheksidin* obat kumur.

### Sampel Bakteri

Sampel bakteri berasal dari apusan gusi, yang didapatkan dengan cara mengambil langsung apusan gusi 5 orang responden dari mahasiswa STIFAR yang telah memenuhi kriteria.

Kriteria Sampel :

1. Mahasiswa Semester VIII
2. Jenis kelamin perempuan
3. Usia 20-22 tahun
4. Dalam keadaan sehat
5. Kondisi gigi berlubang tidak tampak
6. Tidak mengalami gangguan pada gusi (gingivitis)
7. Tidak sariawan
8. Tidak menyikat gigi 2 jam setelah makan
9. Tidak memakai kawat gigi
10. Tidak memakai gigi palsu
11. Tidak menggunakan antibiotik
12. Tidak menggunakan obat kumur sehari-hari
13. Bersedia menjadi sampel

### Pengambilan Sampel Tanaman

Bagian sampel yang digunakan adalah biji pinang (*Areca catechu* L.) dari buah yang sehat yang berwarna kuning oranye yang diambil di Desa Kota Baru Kec. Tapung Hilir Kab. Kampar.

### Identifikasi Tanaman Pinang

Identifikasi tanaman buah pinang (*Areca catechu* L.) dilakukan di Laboratorium Botani Universitas Riau Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Riau.

### **Pembuatan Ekstrak Etanol Biji Pinang**

Buah pinang yang telah diambil dicuci dengan air mengalir dan dikupas untuk memisahkan bagian kulit dengan bijinya. Biji pinang tersebut dirajang dengan derajat kehalusan 2 mm dan dikeringkan dengan oven selama 2 hari. sampel yang telah kering dibuat serbuk dengan cara diblender dan diayak, kemudian disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat. Serbuk simplisia biji pinang di ekstraksi dengan pelarut etanol 96% menggunakan metode maserasi. Serbuk dimasukkan ke dalam bejana kemudian dituangi dengan pelarut etanol 96%, ditutup dan dibiarkan selama 5 × 24 jam pada suhu ruang sambil berulang-ulang diaduk agar zat aktif terekstraksi sempurna. Setelah 5 hari hasil maserasi disaring dengan kertas saring lalu filtratnya dipindahkan ke wadah tertutup. Kemudian dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

Ekstrak yang diperoleh dipekatan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* untuk memisahkan pelarut dengan zat aktif sehingga diperoleh ekstrak kental biji pinang. Ekstrak kemudian ditimbang (Afni dkk, 2015).

### **Skrining Fitokimia Ekstrak**

Pemeriksaan fitokimia yang dilakukan meliputi pemeriksaan alkaloid, terpenoid, flavonoid, steroid dan saponin.

### **Sterilisasi Alat dan Bahan**

Alat-alat yang terbuat dari gelas (tabung reaksi, cawan Petri, pipet tetes) dicuci bersih dan dikeringkan. Selanjutnya dibungkus dengan kertas koran, disterilkan menggunakan oven dengan suhu 160°C selama 2 jam. Media *Nutrient Agar* dan *aquades* yang ditutup dengan kapas, disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 1,5 atm selama 15 menit. Jarum Ose dan pinset disterilkan dengan pemijaran langsung di atas nyala api Bunsen setiap kali pemakaian (Pratiwi, 2008).

### **Pembuatan Media Kultur Bakteri**

Media *Nutrient Agar* (NA) dibuat dengan cara melarutkan 10 gram *nutrient agar*, dimasukkan ke dalam erlemeyer lalu ditambahkan *aquadest* 500 mL. Media dipanaskan di atas *hot plate* sambil diaduk hingga larut sempurna dan cairan berwarna kekuningan dan mendidih. Mulut erlemeyer ditutup dengan penyumbat kapas, kemudian disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1,5 atm selama 15-30 menit.

Media *Blood Agar* dibuat dengan cara melarutkan 2 gram media *Blood Agar* dalam 100 ml *aquadest*, kemudian dipanaskan sampai mendidih dan homogen. Selanjutnya media disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121°C.

Media *MacConkey Agar* dibuat dengan cara pepton ditimbang sebanyak 17 gram, laktosa 10 gram, garam empedu 1,5 gram, sodium klorida 5 gram, *neutral red* 0,03 gram, kristal violet 0,001 gram dan agar 13,5 gram dilarutkan dalam 1 L *aquades*, kemudian

dipanaskan sampai mendidih dan homogen. Selanjutnya media disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

### **Pengambilan Apusan Gusi**

Apusan diambil dari sampel secara aseptis dan semua peralatan serta media yang digunakan dalam keadaan steril. Alat-alat yang digunakan sudah dalam keadaan steril yang telah disterilkan menggunakan oven. Swab gusi diambil dengan cara mengusap apusan di gusi pada bagian atas dan bawah kiri dan kanan menggunakan *cotton bud steril*, dilarutkan dalam vial yang berisi NaCl fisiologis steril, dikultur ke dalam media *Nutrient Agar* dengan cara tuang kemudian diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C.

### **Pemurnian Bakteri**

Pemilihan koloni mikroba yang dimurnikan berdasarkan perbedaan kenampakan morfologi koloni, baik dari segi warna, dan bentuk sehingga diperoleh isolat murni. Pemurnian bakteri dilakukan dengan cara memindahkan bakteri menggunakan metode gores yang kemudian ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* kemudian diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C (Edhar dkk, 2017).

### **Pembuatan Stok Bakteri**

Mengambil satu koloni biakan murni dengan menggunakan jarum Ose steril lalu digoreskan secara aseptis pada media padat agar miring dan tabung media ditutup dengan kapas setelah itu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam (Suryani dkk, 2015).

### **Peremajaan Bakteri**

Bakteri dari stok bakteri diperbanyak dengan cara diambil sebanyak 1 Ose, digoreskan ke dalam media padat agar miring secara zig-zag dan tabung media ditutup dengan kapas lalu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam (Wahyuni dkk, 2014).

### **Identifikasi Bakteri Gusi**

#### **1. Pewarnaan Gram**

Apusan bakteri difiksasi dengan pemanasan lalu dilapisi dengan larutan ungu kristal. biarkan 1 menit kemudian dibilas dengan air dan dikeringkan. kemudian dilapisi dengan larutan lugol biarkan 1 menit dan dibilas dengan air. selanjutnya dibilas dengan etanol 96% selama 30 detik, kemudian dibilas dengan air dan keringkan. setelah itu dilapisi dengan larutan safranin biarkan 1 menit lalu bilas dengan air dan biarkan mengering. Amati di bawah mikroskop (Radji, 2011).

#### **2. Uji Katalase**

Jarum Ose dibakar lalu diambil bakteri dari media kemudian diletakkan dikaca objek. lalu ditetaskan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Hasil dinyatakan positif apabila terbentuk gelembung udara yang ditandai dengan adanya buih. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri memiliki enzim katalase yang berfungsi menguraikan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> menjadi H<sub>2</sub>O dan O<sub>2</sub>. Sedangkan hasil negatif tidak ada gelembung udara dan tidak ada buih (Radji, 2011).

### 3. Uji Koagulase

Jarum ose dibakar lalu diambil bakteri dari media kemudian diletakkan di atas slide *Latex* lalu ditetaskan 1 tetes kit *Stapiurex*. Hasil dinyatakan positif bila terbentuk gumpalan pada slide *Latex*. Sedangkan hasil negatif bila tidak terbentuk gumpalan pada slide *Latex*.

### 4. Uji Oksidase

Jarum ose dibakar lalu diambil bakteri dari media kemudian diletakkan di kertas oksidase, hasil dinyatakan positif bila terjadi perubahan warna kertas menjadi biru pekat. Sedangkan hasil negatif bila tidak terjadi perubahan warna pada kertas oksidase. (Radji, 2011).

### 5. Uji TSI (*Triple Sugar Iron Agar*)

1 ose koloni bakteri diambil dari media selektif dan ditanam pada media TSI Agar dengan cara menggoreskan koloni secara zig-zag pada permukaan media agar miring dan memasukkan pada bagian yang tegak, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Warna merah yang terbentuk pada media adalah basa dan warna kuning media adalah asam. Terbentuknya warna hitam menandakan dihasilkan gas hidrogen sulfida (Radji, 2011).

### 6. Uji SIM (Sulfida Indol Motil)

1 ose koloni bakteri diambil dari media selektif dan ditanam pada media Sulfida Indol Motil (SIM) lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Reagen konvac ditetaskan dan dilihat adanya perubahan warna media yang semula berwarna kuning berubah menjadi hitam-endapan hitam menandakan sulfida positif, bila terbentuk cincin kuning menandakan positif indol, dan bila terdapat kekeruhan pada media menandakan positif motil (Harti, 2015).

### 7. Uji Simon Citrat

1 ose koloni bakteri diambil dari media selektif lalu ditanam pada media simon citrat agar secara zig-zag permukaan media agar miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, hasil dinyatakan positif bila terjadinya perubahan warna media yang semula berwarna hijau menjadi biru. Sedangkan hasil negatif bila tidak terjadi perubahan warna pada media (Harti, 2015).

### 8. Uji Urea

1 ose koloni bakteri diambil dari media selektif lalu ditanam pada media urea agar secara zig-zag permukaan media agar miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, hasil dinyatakan positif bila terjadinya perubahan warna media yang semula berwarna kuning menjadi merah muda dan hasil negatif bila media tetap berwarna kuning (Harti, 2015).

### 9. Uji Fermentasi Karbohidrat

1 ose koloni bakteri disuspensikan ke dalam masing-masing media glukosa, laktosa, maltosa, dan sukrosa, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Amati reaksi yang terjadi, hasil dinyatakan positif bila terjadi perubahan warna media yang semula

merah menjadi kuning dan hasil negatif bila tidak terjadi perubahan warna pada media (Harti, 2015).

### Pembuatan Suspensi Bakteri

NaCl fisiologis 0,9% diambil dan masukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 6 mL. Bakteri uji sebanyak 4 ose dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi NaCl fisiologis 0,9% tadi. Di homogenkan dengan vortex, diukur transmittan bakteri dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 580 nm dengan transmittan 25% (Sihite, 2016).

### Pembuatan Larutan Uji

#### 1. Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.)

Ekstrak etanol biji pinang ditimbang sebanyak 600 mg, kemudian dilarutkan dalam 2 ml etanol 96% sehingga didapat konsentrasi 30%. Selanjutnya dibuat konsentrasi pengenceran ekstrak sebanyak 20% dan 10% dengan cara pengambilan dari konsentrasi sebelumnya.

#### 2. Pembuatan Larutan Kontrol

Kontrol yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri ini adalah kontrol positif dan negatif. Kontrol positif adalah *Klorheksidin* obat kumur dan kontrol negatif adalah etanol 96% dan digunakan sebanyak 10 µl.

### Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi. Suspensi bakteri dipipet sebanyak 0,3 mL dimasukkan ke dalam cawan Petri. Media *Nutrient Agar* dimasukkan ke dalam cawan Petri sebanyak 10-15 mL, kemudian diratakan dengan memutar 3 kali searah jarum jam dan sebaliknya, biarkan mengeras. Kertas cakram steril ditetesi sebanyak 10 µl ekstrak etanol biji pinang pada masing-masing konsentrasi yang telah diencerkan (10%, 20%, 30%) dikering anginkan, kemudian dimasukkan ke dalam cawan Petri. Sebagai kontrol negatif digunakan etanol 96% sedangkan kontrol positif yang digunakan *Klorheksidin* obat kumur. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter hambat diukur menggunakan jangka sorong. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pada masing-masing konsentrasi.

### Analisa Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah hasil uji identifikasi bakteri gusi berdasarkan morfologi dan uji biokimianya dan perbedaan konsentrasi ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang muncul pada gusi. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan gambar, kemudian di analisa dengan uji statistik *One Way Anova* (Analisa varian satu arah) dengan uji lanjutan uji *post hoc Tukey* dan uji alternatif *Kruskal-Wallis* dengan uji lanjutan uji *Mann-Whitney*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Skrining Fitokimia

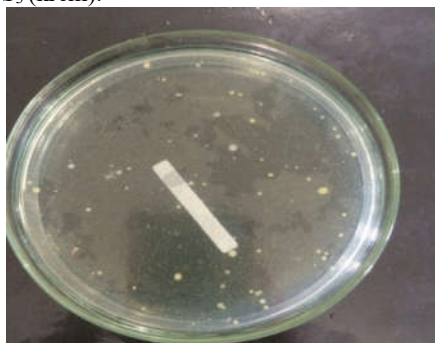
Hasil skrining fitokimia biji pinang segar dan ekstrak etanol biji pinang mengandung alkaloid, flavonoid, dan terpenoid.

**Tabel 1.** Hasil skrining fitokimia biji pinang segar dan ekstrak etanol biji pinang

Sampel	Senyawa Metabolit	Hasil	Hasil Pengamatan
Biji Segar	Alkaloid	+	Endapan putih
	Terpen	+	Lembayung merah
	Flavonoid	+	Kuning-jingga
	Saponin	-	Tidak terbentuk busa
	Steroid	-	Tidak berwarna biru
Ekstrak Etanol Biji Pinang	Alkaloid	+	Endapan putih
	Terpen	+	Lembayung merah
	Flavonoid	+	Kuning-jingga
	Saponin	-	Tidak terbentuk busa
	Steroid	-	Tidak berwarna biru

### Isolasi Bakteri Apusan Gusi

Hasil isolasi bakteri yang diperoleh dari sampel apusan gusi 5 orang responden berdasarkan perbedaan bentuk dan warna koloni bakteri, didapatkan 3 jenis koloni bakteri yaitu koloni GS<sub>1</sub> (putih), GS<sub>2</sub> (kuning), dan GS<sub>3</sub> (krem).



**Gambar 1.** Hasil Isolasi Bakteri Apusan Gusi pada Media Nutrient Agar

### Identifikasi Bakteri

Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa terdapat dua koloni bakteri bersifat Gram positif yaitu koloni bakteri GS<sub>1</sub> (putih) dan koloni bakteri GS<sub>3</sub> (krem) berbentuk kokus dengan parameter sel berwarna ungu dan satu koloni bakteri Gram negatif yaitu koloni bakteri GS<sub>2</sub> (kuning) berbentuk basil dengan parameter sel berwarna merah.

Pada uji katalase koloni bakteri GS<sub>1</sub> (putih) memberikan hasil positif, sedangkan koloni bakteri GS<sub>3</sub> (krem) negatif. Hasil positif ditandai dengan

adanya gelembung udara (O<sub>2</sub>) disekitar olesan bakteri pada kaca objek, hal ini menunjukkan bahwa koloni bakteri GS<sub>1</sub> (putih) menggunakan enzim katalase untuk melindungi dari H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dengan mengubahnya menjadi H<sub>2</sub>O dan O<sub>2</sub>, dan merupakan genus *Staphylococcus*. Hasil negatif ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung udara disekitar olesan bakteri pada kaca objek, hal ini menunjukkan bahwa koloni bakteri GS<sub>3</sub> (krem) tidak menggunakan enzim katalase untuk melindungi dari H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dan merupakan genus *Streptococcus* (Jawetz *et al*, 2012; Syaqui, 2017).

Pada uji oksidase koloni bakteri GS<sub>1</sub> (putih) memberikan hasil negatif, sedangkan koloni bakteri GS<sub>3</sub> (krem) memberikan hasil positif. Hasil positif ditandai dengan terjadi perubahan warna menjadi biru pekat disekitar olesan bakteri pada kertas oksidase, hal ini menunjukkan bahwa koloni bakteri GS<sub>3</sub> (krem) tidak memiliki enzim oksidase, dan merupakan genus *Streptococcus*. Hasil negatif ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna menjadi biru pekat disekitar olesan bakteri pada kertas oksidase. Hal ini menunjukkan bahwa koloni bakteri GS<sub>1</sub> (putih) memiliki enzim oksidase dan merupakan genus *Staphylococcus* (Jawetz *et al*, 2012; Syaqui, 2017).

Pada uji koagulase hanya diujikan pada koloni bakteri GS<sub>1</sub> (putih) yang merupakan genus *Staphylococcus*, pengujian menggunakan slide *Latex* dan kit *Stapiurex*. Koloni bakteri GS<sub>1</sub> (putih) memberikan hasil negatif ditandai dengan tidak terbentuknya gumpalan pada slide *Latex*, hal ini menunjukkan bahwa koloni bakteri GS<sub>1</sub> (putih) tidak memiliki faktor penggumpal pada dinding sel, dan merupakan bakteri *Staphylococcus epidermidis* (Jawetz *et al*, 2012; Syaqui, 2017).

Untuk koloni bakteri GS<sub>2</sub> (kuning) dilakukan tes reaksi biokimia karena koloni bakteri GS<sub>2</sub> (Kuning) tersebut merupakan bakteri Gram negatif. Reaksi biokimia yang pertama dilakukan adalah uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*). Koloni bakteri GS<sub>2</sub> (kuning) memberikan hasil K/A yang artinya warna media kuning pada bagian dasar dan merah pada bagian atas hal ini menunjukkan bahwa pada bagian kuning bersifat asam dan pada bagian merah bersifat basa (Harti, 2015).

Uji berikutnya adalah uji SIM (Sulfida Indol Motil). Pada koloni bakteri GS<sub>2</sub> (kuning) memberikan hasil negatif pada uji sulfida, ditandai dengan tidak terbentuknya warna hitam atau endapan hitam pada media yang berwarna kuning, memberikan hasil negatif pada uji indol ditandai dengan tidak terbentuknya warna merah muda pada media yang berwarna kuning, dan memberikan hasil positif pada uji motil ditandai dengan adanya kekeruhan pada media yang berwarna kuning. Hal ini menunjukkan bahwa pada uji sulfida tidak terjadinya reaksi antara ion S<sup>2-</sup> dan ion Fe<sup>3+</sup> yang dapat membentuk Fe<sub>2</sub>S<sub>3</sub> (endapan hitam), pada uji indol tidak terjadinya reaksi antara indol + piruvat + NH<sub>3</sub> + reagen konvac yang dapat membentuk para dimetil

aminobenzaldehida yang berwarna merah, dan pada uji motil (gerak) terjadi pertumbuhan merata pada media yang berwarna kuning (Harti, 2015).

Uji berikutnya adalah uji *Simon Citrat*. Pada koloni bakteri GS<sub>2</sub> (kuning) memberikan hasil positif pada uji simon citrat ditandai dengan media berubah dari warna hijau menjadi berwarna biru, hal ini menunjukkan bahwa koloni bakteri GS<sub>2</sub> (kuning) menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal yang membebaskan ion hidroksida yang bersifat basa dalam media citrat yang mengandung indikator BTB (*Bromo Thymol Blue*), sehingga dalam suasana basa maka media akan berubah yang semula warna hijau menjadi biru (Harti, 2015).

Uji berikutnya adalah uji urea. Koloni bakteri GS<sub>2</sub> (kuning) memberikan hasil negatif pada uji urea, ditandai dengan media tetap berwarna kuning. Hal ini menunjukkan bahwa koloni bakteri GS<sub>2</sub> (kuning) tidak menghasilkan enzim urease yang dapat menghidrolisis urea menjadi CO<sub>2</sub> dan NH<sub>3</sub>, tidak terjadinya akumulasi NH<sub>3</sub> yang dapat menyebabkan suasana basa, sehingga media yang mengandung indikator *phenol red* tidak berubah warna menjadi merah (Harti, 2015).

Uji berikutnya adalah uji fermentasi karbohidrat yang menggunakan glukosa, laktosa, maltosa, dan sakarosa. Koloni bakteri GS<sub>2</sub> (kuning) dapat memfermentasikan keempat jenis gula ini, ditandai dengan perubahan warna media dari merah menjadi kuning (Harti, 2015).

Dari hasil pengujian identifikasi didapatkan 3 jenis bakteri gigi yaitu *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter aerogenes*, dan *Streptococcus sp*.

**Tabel 2.** Hasil Identifikasi Gram Positif pada Koloni Bakteri Apusan Gusi

Pengamatan	GS <sub>1</sub> (putih)	GS <sub>3</sub> (krem)
<b>Pewarnaan Gram</b>	<b>Positif</b>	<b>Positif</b>
Bentuk Koloni	<i>Kokus</i>	<i>Kokus</i>
Uji Katalase	+	-
Uji Oksidase	-	+
Uji Koagulase	-	Tidak dilakukan
<b>Kesimpulan</b>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus sp</i>

Keterangan:

- Gram (+) : Berwarna ungu
- Uji katalase (+) : Ada gelembung udara
- Uji oksidase (+) : Berwarna biru pekat
- Uji koagulase (+) : Ada gumpalan pada slide *Latex*

**Tabel 3.** Hasil Identifikasi Gram Negatif pada Koloni Bakteri Apusan Gusi

Pengamatan	GS <sub>2</sub> (kuning)
<b>Pewarnaan Gram</b>	<b>Negatif</b>
Bentuk Koloni	<i>Basil</i>
Uji Laktosa	+
Uji Glukosa	+
Uji Maltosa	+
Uji Sukrosa	+
Uji Simon Citrat	+
Uji Sulfida	-
Uji Indol	-
Uji Motil	+
Uji Urea	-
Uji TSIA	K/A
<b>Kesimpulan</b>	<i>Enterobacter aerogenes</i>

Keterangan:

1. Uji Laktosa (+) : Media yang semula warna merah berubah menjadi warna kuning
2. Uji Glukosa (+) : Media yang semula warna merah berubah menjadi warna kuning
3. Uji Maltosa (+) : Media yang semula warna merah berubah menjadi warna kuning
4. Uji Sukrosa (+) : Media yang semula warna merah berubah menjadi warna kuning
5. Uji Simon Citrat (+) : Media yang semula warna hijau berubah menjadi warna biru
6. Uji Sulfida (+) : Media yang semula kuning berubah menjadi warna hitam-endapan hitam
7. Uji Indol (+) : Adanya warna cincin merah pada media yang berwarna kuning
8. Uji Motil (+) : Adanya kekeruhan pada media yang berwarna kuning
9. Uji Urea (+) : Media yang semula kuning berubah menjadi warna merah
10. TSIA A/A : Warna kuning pada atas dan dasar media
11. TSIA K/A : Warna merah pada atas dan kuning pada dasar media
12. TSIA K/K : Warna merah pada atas dan dasar media

Pada penelitian ini terdapat tiga jenis bakteri hasil identifikasi yaitu *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter aerogenes*, dan *Streptococcus sp*. *Staphylococcus epidermidis* merupakan flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, bakteri ini dapat ditemukan pada manusia sejak usia neonatus. Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dapat hidup pada kulit dan saluran pernafasan bagian atas manusia, di rongga mulut serta saluran cerna manusia. *Enterobacter aerogenes* dapat ditemukan hidup bebas dan atau berada di dalam saluran cerna, dan dapat

menyebabkan infeksi saluran kemih dan sepsis (Jawetz *et al*, 2012).

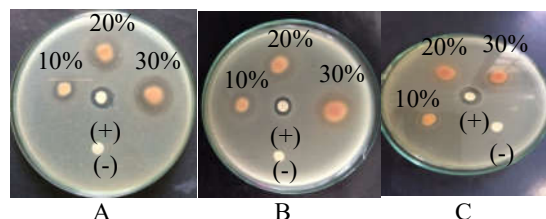
Sesuai Pratiwi (2008) permukaan rongga mulut terdapat banyak koloni mikroorganisme. Salah satu penyakit yang umum pada rongga mulut akibat kolonisasi mikroorganisme adalah karies gigi. Karies gigi diawali akibat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan spesies *Streptococcus* lainnya pada permukaan gigi (Pratiwi, 2008).

#### Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.) terhadap Isolat Bakteri Gusi

Nazri *et al* (2011) mengklasifikasikan diameter daya hambat yang beraktivitas kuat 15-20 mm, diameter daya hambat yang beraktivitas sedang 10-14 mm dan diameter daya hambat yang beraktivitas lemah <9 mm. Jika dilihat dari rata-rata diameter zona hambat pada masing-masing bakteri, hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) dengan variasi konsentrasi 10%, 20%, 30% menunjukkan adanya diameter daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus sp*, tetapi tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *Enterobacter aerogenes*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kontrol positif Pada bakteri *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter aerogenes*, dan *Streptococcus sp* diperoleh nilai rata-rata diameter daya hambat kontrol positif masing-masing sebesar 13,45, 10,90, dan 14,95 mm termasuk pada kategori sedang. Hal ini membuktikan bahwa *Klorheksidin* obat kumur tidak sensitif terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter aerogenes*, dan *Streptococcus sp*. Karena aplikasi *Klorheksidin* obat kumur adalah mencegah timbulnya plak, karies gigi, dan juga gingivitis, yang disebabkan oleh bakteri patogen rongga mulut yaitu *Streptococcus mutans* (Darmadi, 2008; Pratiwi, 2007). Pernyataan ini didukung oleh penelitian Sinaredi dkk (2014) yang menyatakan bahwa *Klorheksidin* obat kumur memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dengan rata-rata diameter daya hambat sebesar 16,08 mm termasuk kategori kuat (Sinaredi dkk, 2014).

Dan pada kontrol negatif menggunakan pelarut etanol 96%, hasilnya tidak memiliki diameter daya hambat. Hal ini membuktikan bahwa etanol 96% merupakan pelarut ekstrak yang baik karena dapat melarutkan tanpa memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri uji, sehingga respon kematian bakteri benar-benar berasal dari larutan uji yang digunakan.



**Gambar 2.** Hasil Pengamatan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.) terhadap Isolat Bakteri Gusi

Keterangan :

A : Daya hambat *Staphylococcus epidermidis*

B : Daya hambat *Enterobacter aerogenes*

C : Daya hambat *Streptococcus sp*.

Aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* dilihat berdasarkan diameter daya hambatnya maka pada ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, berturut-turut diperoleh nilai rata-rata diameter daya hambat masing-masing sebesar 11,35, 14,72, dan 19,55 mm termasuk pada kategori sedang sampai kuat. Pada bakteri *Enterobacter aerogenes* dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, berturut-turut diperoleh nilai rata-rata diameter daya hambat masing-masing sebesar 6, 6, dan 6 mm yang hanya merupakan diameter cakram tanpa adanya daya hambat disekitar kertas cakram, ini berarti ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) pada konsentrasi 10%, 20%, 30% tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *Enterobacter aerogenes*. Pada bakteri *Streptococcus sp* dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, berturut-turut diperoleh nilai rata-rata diameter daya hambat masing-masing sebesar 10,40, 11,50, dan 13,42 mm termasuk pada kategori sedang.

Adanya perbedaan besar daya hambat antara bakteri Gram positif (*Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus sp*) dengan bakteri Gram negatif dapat disebabkan perbedaan struktur dinding sel, ikatan, dan aktivitas senyawa antibakteri. Pada Gram positif memiliki struktur dinding sel yang lebih sederhana yaitu mengandung lebih banyak peptidoglikan, sedikit lipid, dan dinding sel mengandung polisakarida (asam teikoat), asam teikoat adalah polimer yang larut air hal ini menunjukkan dinding sel bakteri Gram positif bersifat polar (Jawetz *et al*, 2012).

**Tabel 3.** Hasil Pengamatan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.) terhadap Isolat Bakteri Gusi

Bakteri Uji	Konsentrasi b/v%	Diameter Daya Hambat (mm)			Rata-rata±SD	Kategori Zona Hambat
		1	2	3		
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	K (+)	13.90	13.35	13.10	13.45±0.40	Sedang
	K (-)	6.00	6.00	6.00	6.00±0.00	Lemah
	10%	11.90	11.10	11.05	11.35±0.47	Sedang
	20%	14.90	14.30	14.95	14.72±0.36	Sedang
	30%	19.85	19.75	19.05	19.55±0.43	Kuat
<i>Enterobacter aerogenes</i>	K(+)	10.90	10.85	10.95	10.90±0.05	Sedang
	K(-)	6.00	6.00	6.00	6.00±0.00	Lemah
	10%	6.00	6.00	6.00	6.00±0.00	Lemah
	20%	6.00	6.00	6.00	6.00±0.00	Lemah
	30%	6.00	6.00	6.00	6.00±0.00	Lemah
<i>Streptococcus sp</i>	K(+)	15.55	14.35	14.95	14.95±0.60	Sedang
	K(-)	6.00	6.00	6.00	6.00±0.00	Lemah
	10%	10.45	10.40	10.35	10.40±0.05	Sedang
	20%	11.05	11.95	11.50	11.50±0.45	Sedang
	30%	14.30	13.35	12.60	13.42±0.85	Sedang

Hasil uji *One Way Anova* dan uji *post hoc Tukey* pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap diameter daya hambat pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Hasil ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok konsentrasi 10%, 20%, dan 30% dengan kelompok kontrol positif dan negatif terhadap diameter daya hambat pada bakteri uji, ditandai dengan nilai signifikan ( $p < 0,05$ ) karena pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* diameter daya hambat kelompok konsentrasi 10%, 20%, dan 30% lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif dan negatif. Adanya perbedaan yang signifikan menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dibandingkan dengan kontrol positif.

Hasil uji *One Way Anova* pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pinang (*areca catechu* L.) terhadap diameter daya hambat pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus sp*. Hasil ini menunjukkan bahwa diameter daya hambat kelompok konsentrasi 10%, 20%, dan 30% lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif dan lebih besar dibandingkan dengan kontrol negatif. Hasil uji *Post hoc Tukey* terhadap bakteri *Streptococcus sp* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 10% dan konsentrasi 20%

ditandai dengan nilai ( $p > 0,05$ ), karena besar diameter daya hambat antara konsentrasi 10% dan konsentrasi 20% tidak jauh berbeda, dan menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok konsentrasi 10%, 20%, dan 30% dengan kelompok kontrol positif dan negatif terhadap diameter daya hambat pada bakteri uji ditandai dengan nilai sig ( $p < 0,05$ ), karena diameter daya hambat kelompok konsentrasi 10%, 20%, dan 30% lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif dan lebih besar dibandingkan dengan kontrol negatif. Tidak adanya perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 10% dan 20% menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas yang sebanding dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus sp*.

Hasil uji *Kruskal-Wallis* dan uji *Mann-Whitney* pada pengujian aktivitas ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap diameter daya hambat pertumbuhan koloni bakteri *Enterobacter aerogenes* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok konsentrasi 10%, 20%, dan 30% dengan kelompok kontrol positif terhadap diameter daya hambat pada bakteri uji ditandai dengan nilai *Asymp. Sig* ( $p < 0,05$ ), karena diameter daya hambat kelompok konsentrasi 10%, 20%, dan 30% lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif dan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok konsentrasi 10%, 20%, dan 30% dengan kelompok kontrol negatif terhadap diameter daya hambat pada bakteri uji ditandai dengan nilai *Asymp. Sig* ( $p > 0,05$ ). Tidak adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok konsentrasi 10%, 20%, dan 30% dengan kelompok kontrol negatif menunjukkan bahwa ekstrak tersebut tidak memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Enterobacter aerogenes*

### SIMPULAN

- Hasil identifikasi dari ketiga koloni bakteri pada apusan gusi diperoleh 3 jenis bakteri yaitu: *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus sp* tergolong bakteri Gram positif, *Enterobacter aerogenes* tergolong bakteri Gram negatif.
- Aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu* L.) terhadap bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus sp* pada konsentrasi 10%, 20%, dan 30% menunjukkan diameter daya hambat yang berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan negatif, dan terhadap bakteri Gram negatif yaitu *Enterobacter aerogenes* pada konsentrasi 10%, 20%, dan 30% menunjukkan diameter daya hambat yang berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan kontrol positif dan tidak berbeda signifikan ( $p > 0,05$ ) dibandingkan dengan kontrol negatif.

### SARAN

Disarankan untuk penelitian selanjutnya untuk meneliti lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri biji



pinang (*Areca catechu* L.) dengan fraksi etil asetat menggunakan metode difusi Agar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afni, N. Said, N. dan Yuliet. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Pasta Gigi Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu* L.) terhadap *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*. *Galenika Journal of Pharmacy*. Vol. 1 (1). 48 – 58.
- Anonim, 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Indonesia: KemenKes RI.
- Darmadi, 2008. *Infeksi Nosokomial Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika.
- Edhar, A.A. Widyastuti, R. dan Djajakirana, G. 2017. Isolasi dan Identifikasi Mikroba Tanah Pendegradasi Selulosa dan Pektin dari Rhizosfer *Aquilaria malaccensis*. *Jurnal Buletin Tanah dan Lahan*. Vol 1 (1). 58-64.
- Harti, A.S. 2015. *Mikrobiologi Kesehatan*. Yogyakarta: CV. Andi Offset.
- Haryastuti, D.A. 2012. Inhibisi Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu* L.) terhadap Pelepasan Kalsium pada Proses Demineralisasi Gigi Yang Distimulasi *Streptococcus mutans*. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Jawetz, E. Melnick, J.L. Adelberg, E.A. Brooks, G.F. Butel, J.S. dan Ornston, L.N. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. Terjemahan Huriawati Hartanto et al. Editor Retno Neary. Jakarta: EGC.
- Kaligis, F.R. Fatimawati. dan Lolo, W.A. 2017. Identifikasi Bakteri pada Plak Gigi Pasien Di Puskesmas Bahu dan Uji Resistensi terhadap Antibiotik Kloramfenikol dan Linkosamida (Klindamisin). *Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT* Vol. 6 (3). 223-232.
- Marsh, P.D. dan Martin, M.V. 2009. *Oral Microbiology*. Edisi 5. China: Elsevier.
- Nazri, M.N.A.A. Ahmad, N. Adnan, A. Mohamad, S.S.A. Dan Ruzainah, S.S.A. 2011. In Vitro Antibacterial and Radical Scavenging Activities of Malaysian Table Salad. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 10. (30). 5728-5735.
- Nursidika, P. Saptarini, O. dan Rafiqua, N. 2014. Aktivitas Antimikroba Fraksi Ekstrak Etanol Buah Pinang (*Areca catechu* L.) pada Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal MKB*. Vol. 46 (2). 94-99.
- Pratiwi, D. 2007. *Gigi Sehat*. Jakarta: Kompas.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Sihite, E.H. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Biji Pinang (*Areca catechu* L.) terhadap Bakteri Pada Plak Gigi Pasien Di Rumah Gigi Panam. *Karya Tulis Ilmiah*. Pekanbaru: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau.
- Sinaredi, B.R. Pradopo, S. dan Wibowo, T.B. 2014. Daya Antibakteri Obat Kumur Chlorhexidine, Povidon Iodine, Fluoride, Suplementasi Zinc terhadap *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*. *Dental Journal*. Vol. 47 (4). 211-214.
- Solanki, G. 2012. A General Overview of Gingiva. *International Journal of Biomedichal Research (IJBR)*. Vol. 3. (2). 79-82.
- Suryani, Y. Sophia, L.W. Cahyanto, T. dan Kinasih, I. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Infusum Cacing Tanah (*Umbricus Rubellus*) dengan Tambahan Kitosan Udang pada *Salmonella thypi*. *Jurnal ISSN 1979-8911*. Vol. 9 (2). 264-281.
- Syauqi, A. 2017. *Mikrobiologi Lingkungan*. Yogyakarta: CV. Andi Offset.