

PERAN EKSTRAK DAUN WUNGU (*GRAPTOPHYLLUM PICTUM* L. GRIFF) TERHADAP ADHESI *STREPTOCOCCUS MUTANS* PADA NEUTROFIL

THE ROLE OF CARICATURE PLANT LEAVES (*GRAPTOPHYLLUM PICTUM* L. GRIFF) EXTRACT TOWARDS *STREPTOCOCCUS MUTANS* ADHESION TO NEUTROPHILS

Atik Kurniawati, Sulistiyani, Arina Nur Rahmah

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Correspondence e-mail to: atik.fkg@unej.ac.id

Abstrak

Streptococcus mutans (*S. mutans*) merupakan bakteri utama penyebab karies gigi yang mampu mendemineralisasi email, menginvasi dentin yang dapat berlanjut menjadi inflamasi pulpa (pulpitis). *Streptococcus mutans* menginvasi inang diawali dengan melakukan adhesi (perlekatan). Proses ini merupakan langkah awal dalam proses inflamasi. Oleh karena itu, adhesi *Streptococcus mutans* pada sel inang perlu dicegah agar tidak terjadi infeksi oleh bakteri. Neutrofil merupakan sel pertahanan pertama yang datang pada proses inflamasi. Salah satu upaya untuk mencegah terjadinya adhesi tersebut bisa menggunakan bahan alami yang bersifat anti-inflamasi, salah satunya yaitu daun wungu. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun wungu (EDW) terhadap adhesi bakteri *Streptococcus mutans* pada neutrofil dan perbedaan indeks adhesi dalam berbagai konsentrasi dengan eksperimental laboratoris menggunakan *the post test only control group design*. Sampel terbagi menjadi 5 kelompok (klp): klp I/kontrol (tanpa inkubasi EDW), klp II (EDW 3,125%), klp III (EDW 6,25%), klp IV (EDW 12,5%), dan klp V (EDW 25%). Isolat neutrofil diinkubasi dengan EDW selama 3 jam, kemudian dipapar *S. mutans* selama 4 jam. Indeks adhesi dihitung berapa rata-rata jumlah *S. mutans* yang menempel pada 100 neutrofil. Simpulan penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun wungu berpotensi menurunkan indeks adhesi *Streptococcus mutans*.

Kata kunci: adhesi, *S. mutans*, neutrophil, daun wungu

Abstract

Streptococcus mutans (*S. mutans*) is the main bacteria that cause dental caries which demineralizes tooth enamel and will subsequently invade dentin and causing pulp inflammation (pulpitis), in advanced stages. *S. mutans* invasion begins with adhesion (attachment) to the host cells. This process is the beginning in the inflammatory process. Therefore, it's important to prevent the bacterial attachment in the first place. Caricature plant (*Graptophyllum pictum* L. Griff) can be used as a natural ingredient for this purpose. This study aimed to discover the effect of caricature leaf extract (EDW) on *S. mutans* adhesion to neutrophils and differences in the adhesion index among various concentrations. Laboratory experiments were carried out using *the post test only control group design*. The sample was divided into 5 groups: Control group (without EDW incubation), second group (EDW 3.125%), third group (EDW 6.25%), fourth group (EDW 12.5%), and fifth group (EDW 25%). Isolated neutrophils were incubated with EDW (caricature leaf extract) for 3 hours, then exposed to *S. mutans* for 4 hours. Adhesion index is calculated based on the average number of *S. mutans* attached to 100 neutrophils. The conclusions of study showed that ethanol extract of caricature plant leaf has the potential to inhibit the adhesion index of *S. mutans*.

Keyword: Adhesion, *S. mutans*, Neutrophils, wungu leaves

PENDAHULUAN

Penyakit gigi dan mulut adalah penyakit yang sering dialami oleh masyarakat Indonesia. Salah satu penyakit gigi dan mulut yang sering dialami masyarakat Indonesia adalah karies. Karies merupakan penyakit jaringan keras gigi yaitu email, dentin dan sementum, yang disebabkan oleh aktivitas suatu jasad renik. Karies ditandai dengan adanya demineralisasi jaringan keras gigi yang kemudian diikuti oleh kerusakan bahan organiknya. Berdasarkan RISKESDAS pada tahun 2017 diperkirakan bahwa 90% anak sekolah dan sebagian besar orang dewasa pernah menderita karies gigi.¹

Streptococcus mutans adalah bakteri yang berperan dalam proses terjadinya karies. Ketika lesi karies berkembang, bakteri dapat mengadakan invasi ke jaringan gigi yang lebih dalam seperti dentin, tubuli dentin, dan pulpa.^{1,2} Awal mula terjadinya karies, karena adanya kontak langsung antara agen bakteri dengan sel *host*, yang diawali dengan proses adhesi (perlekatan). Proses ini berperan penting untuk terjadinya kolonisasi, invasi sampai timbulnya suatu infeksi penyakit, termasuk karies.³ Proses adhesi ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan (saliva) yang dapat mendukung seperti *fibrinectin* (suatu protein yang bersifat adhesif), *fibrinogen*, *vitronectin* dan *laktoferin*. Struktur yang bertanggung jawab terhadap sifat adhesi bakteri adalah adhesin *fimbriae*, asam lipoteikoat dan protein adhesin.⁴

S. mutans yang berhasil melakukan invasi ke jaringan gigi yang lebih dalam, maka bakteri dan toksinnya akan menembus tubuli dentin serta mencapai pulpa sehingga menyebabkan reaksi inflamasi. Saat bakteri masuk ke dalam tubuh *host*, terjadi proses fagositosis yang bertujuan untuk mempertahankan diri dari agen infeksius. Salah satu sel leukosit yang memiliki peran penting dalam sistem pertahanan tubuh *host* dan muncul pertama kali saat terjadi invasi bakteri adalah neutrofil.⁵ Neutrofil berperan penting pada respons radang akut, beberapa jam setelah dimulai radang akut, terjadi peningkatan jumlah neutrofil dalam darah. Hal ini disebabkan karena adanya mediator peradangan seperti histamin, bradikinin, serotonin dan prostaglandin.⁶

Penelitian yang telah dilakukan Kurniawati⁷ melalui uji skrining fitokimia

dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) ditemukan zat aktif yang terdapat dalam daun wungu adalah flavonoid, alkaloid, pectin, saponin, tanin, dan steroid.⁷ Pada beberapa penelitian yang telah dilakukan, zat aktif yang terkandung dalam daun wungu seperti flavonoid mempunyai kemampuan sebagai antiinflamasi dengan menghambat perlekatan bakteri *Escherichia coli* (*E. Coli*) pada reseptor membran sel neutrofil dengan menurunkan fungsi hidrofoblastis membran sel pada proses perlekatan melalui interaksi hidrofobik, sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans*.⁸⁻¹⁰

Daun wungu merupakan salah satu tanaman yang mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin sehingga kemungkinan daun wungu dapat digunakan untuk menurunkan indeks adhesi *S. mutans* pada neutrofil karena efek antiinflamasi yang dimiliki. Berdasarkan uraian di atas, penulis ingin mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun wungu terhadap adhesi bakteri *S. mutans* pada neutrofil dan perbedaan indeks adhesi dalam berbagai konsentrasi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini menggunakan sampel berupa isolat neutrofil yang diambil dari darah subyek dengan kriteria laki-laki dewasa, tidak memiliki riwayat penyakit penyakit sistemik, kelainan darah dan kebiasaan merokok, serta bersedia mengisi *informed consent* sebagai tanda persetujuan bahwa darah yang diambil akan dijadikan sampel penelitian.

Ekstrak daun wungu dibuat dari daun wungu dengan keadaan segar, bebas kontaminasi hama. Daun wungu sebanyak 700 gram dicuci dengan air mengalir, dipotong kecil-kecil, dan diangin-anginkan selama 5 hari. Daun wungu kering lalu diblender dan diayak hingga diperoleh serbuk halus sebanyak 200 gram. Serbuk daun wungu ditambahkan ethanol 96 % dengan perbandingan 1:7,5 kali simplisia yaitu 1500 ml dan dibiarkan termaserasi selama 24 jam dalam maserator 3 hari. Setelah 3 hari, maserat disaring dari ampasnya dengan menggunakan kertas saring. Maserat kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* selama 45 menit dengan suhu 45°–50°C sehingga diperoleh sediaan pekat (konsentrasi 100 %). Dari sediaan pekat tersebut kemudian diencerkan

dengan aquades hingga diperoleh konsentrasi 3,125%, 6,25%, dan 12,5%, dan 25%.

Cara pembuatan suspensi *Streptococcus mutans* adalah media BHI-B steril sebanyak 2 mL dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 1 ose *S. mutans* yang dilewatkan di atas lampu spiritus menyala. Tabung reaksi dimasukkan ke dalam desicator dan ditutup rapat. Desicator dimasukkan ke inkubator suhu 37°C selama 2 hari, pertumbuhan *S. mutans* ditandai dengan media yang tampak keruh. Setelah dilakukan inkubasi, suspensi *S. mutans* diukur tingkat kekeruhan dengan menggunakan Densiheck hingga didapatkan kekeruhan 0,5 Mc Farland.

Isolasi neutrofil dilakukan melalui prosedur berikut, subyek diambil darahnya sebanyak 6 cc dari vena perifer dan dicampur dengan antikoagulan (heparin) dalam tabung heparin. Darah tersebut dibagi menjadi dua tabung dengan jumlah masing-masing 3 cc. Menyiapkan 3 mL larutan histopaque 1119 dalam tabung falcon, lalu ditambahkan 3 mL larutan Lymphoprep 1077. Sentrifugasi dengan kecepatan 900 g selama 30 menit.

Lapisan PMN diambil dan ditambahkan HBSS dengan perbandingan 1:2. Sentrifugasi dengan kecepatan 600 g selama 10 menit, sehingga akan terbentuk 6 lapisan dalam tabung falcon yang tersusun dari bagian atas ke bawah adalah plasma, monosit, larutan Ficoll, granulosit, larutan Histopaque, dan eritrosit. Lapisan granulosit diambil dan ditambahkan 1000 µL HBSS. Ditambahkan antijamur yaitu *fungizone* 5 µL dan antibakteri yaitu *penicillin-streptomycin solution stabilised* sebanyak 20 µL untuk 1000 µL larutan media sel agar terhindar dari kontaminasi mikroorganisme.

Uji adhesi. Coverslip sebanyak 20 buah yang telah disterilkan diberikan neutrofil sebanyak 100 µL kemudian diinkubasi dalam shaker incubator selama 20 menit, 37°C untuk melekatkan neutrofil pada coverslip. Setelah itu diresuspensi dengan 1000 µL RPMI dan ditambahkan 20 µL *penicillin-streptomycin* dan 5 µL *fungizone*, kemudian dilakukan *pipetting*. Neutrofil diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. RPMI diambil, lalu digantikan oleh *media complete* (M199) sebanyak 1000 µL. Kemudian larutan RPMI diambil, lalu digantikan dengan *media complete* (M199) sebanyak 1000 µL, apabila sudah tidak ada kontaminasi ditambahkan

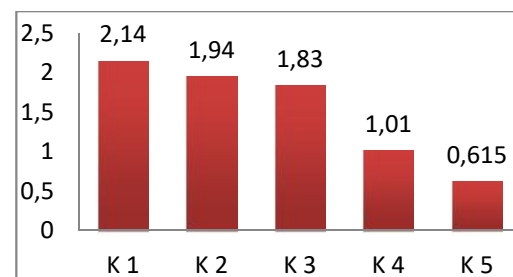
ekstrak daun wungu dengan konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5%, dan 25% sebanyak 100 µL dan dilakukan pipetting sampai benar-benar homogen dan diinkubasi menggunakan *shaker incubator* selama 3 jam pada suhu 37°C untuk melihat penyerapan ekstrak pada neutrofil. Media inkubasi dibuang, dan digantikan dengan M199 sebanyak 1000 µL. Semua *well* masing-masing ditambahkan suspensi *S. mutans* 100 µL, diinkubasikan selama 4 jam dalam suhu 37°C, 5% CO₂. Cucian dengan HBSS selanjutnya fiksasi menggunakan metanol absolut selama 3 menit.

Pengecatan dilakukan dengan Giemsa dan diamati di bawah mikroskop *inverted* dengan pembesaran 1000x untuk menghitung indeks adhesi. Penghitungan dilakukan pada semua sampel dengan cara menghitung rata-rata bakteri yang melekat pada setiap 100 neutrofil.

HASIL

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata adhesi neutrofil terhadap *S. mutans* pada kelompok K5 (diinkubasi ekstrak wungu 25%) paling rendah dibandingkan dengan kelompok K1 (Kontrol), K2 (diinkubasi ekstrak daun wungu 3,125%), K3 (diinkubasi ekstrak daun wungu 6,25%), K4 (diinkubasi ekstrak daun wungu 12,5%). Gambar diagram rata-rata indeks adhesi *S. mutans* terhadap neutrofil dapat dilihat pada Gambar 1.

Indeks Adhesi *S. mutans* Terhadap Neutrofil



Keterangan :

K1 : Kontrol

K2 : Ekstrak Daun Wungu 3,125%

K3 : Ekstrak Daun Wungu 6,25%

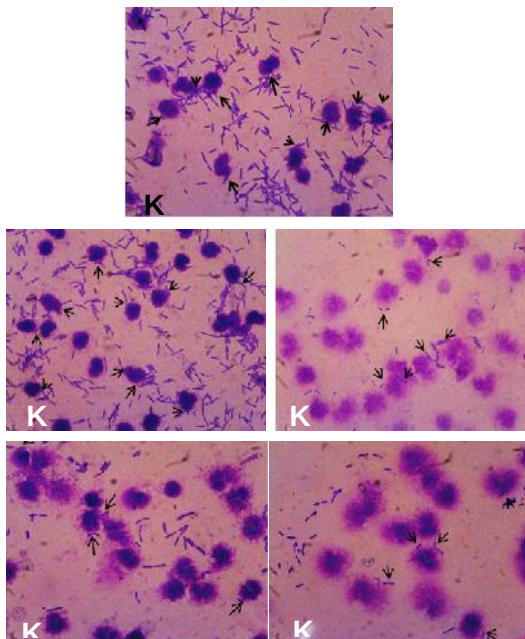
K4 : Ekstrak Daun Wungu 12,5%

K5 : Ekstrak Daun Wungu 25%

Gambar 1. Diagram batang indeks adhesi *Streptococcus mutans* pada neutrofil antar kelompok perlakuan

Hasil analisis dengan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data berdistribusi normal

($p > 0,05$). Pengolahan data kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas *Levene*, didapatkan bahwa data homogen dengan nilai signifikansi sebesar 0,052 ($p > 0,05$). Hasil analisis data menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen, oleh karena itu dilakukan uji parametrik yaitu *One Way Anova*. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan perbedaan indeks adhesi pada keempat kelompok penelitian. Selanjutnya dilakukan uji *Least Significant Different* (LSD) untuk mengetahui perbedaan bermakna antar tiap kelompok. Dari uji LSD diketahui bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antara kelompok K 1 dengan K 4, K 1 dengan K 5, K 2 dengan K 4, K 2 dengan K 5, K 3 dengan K 4, dan K 4 dengan K 5. Sedangkan antara kelompok K 1 dengan K 2, K 1 dengan K 3, K 2 dengan K 3, dan K 4 dengan K 5 tidak terdapat perbedaan yang bermakna ditandai dengan nilai ($p > 0,05$). Hasil penelitian yang berupa adhesi *S. mutans* pada neutrofil untuk setiap kelompok dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengamatan adhesi *Streptococcus mutans* pada neutrofil (pencetakan Giemsa, pembesaran 1000x). Tanda panah menunjukkan hasil positif (adhesi *S. mutans* pada neutrophil)

PEMBAHASAN

Konsentrasi ekstrak daun wungu yang digunakan pada penelitian ini adalah 3,125%, 6,25%, 12,5% dan 25%. Konsentrasi ini dipilih

berdasarkan metode *serial dilution*, metode ini biasanya digunakan untuk memperkirakan substansi konsentrasi dan minimum konsentrasi penghambatan, pemilihan konsentrasi dimulai dari konsentrasi tinggi lalu dibagi 2 secara berulang.¹¹ Selain itu, konsentrasi ini ditetapkan berdasarkan hasil dari uji viabilitas yang telah penulis lakukan sebagai penelitian pendahuluan dimana pada konsentrasi 100%, 75%, dan 50% sel neutrophil mati karena diduga ekstrak daun wungu terlalu pekat dan bersifat toksik sehingga menyebabkan sel neutrophil lisis.

Hasil analisis data pada penelitian uji parametrik menggunakan uji LSD (*Least Significant Difference*) untuk mengetahui apakah ada perbedaan bermakna antar kelompok penelitian menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antar kelompok penelitian kelompok K 1 dengan K 4, K 1 dengan K 5, K 2 dengan K 4, K 2 dengan K 5, K 3 dengan K 4, dan K 4 dengan K 5, yang artinya bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun wungu maka semakin rendah indeks adhesi *S. mutans* pada neutrofil. Peningkatan konsentrasi ekstrak menimbulkan perbedaan yang signifikan terhadap adhesi *S. mutans* pada neutrofil. Selain itu didapatkan hasil pada kelompok K I dengan kelompok K II, kelompok K I dengan kelompok K III, kelompok K II dengan kelompok K III, dan kelompok K IV dengan kelompok K V didapatkan hasil terdapat perbedaan yang tidak bermakna. Artinya bahwa kelompok sampel konsentrasi 3,125% dan 6,25% mempunyai jumlah kandungan zat aktif yang lebih sedikit sehingga kemampuan untuk menghambat adhesi bakteri *S. mutans* pada neutrofil lebih rendah atau hampir setara dengan kelompok kontrol. Walaupun nilai tersebut tidak signifikan, namun pada semua kelompok menunjukkan penurunan indeks adhesi *S. mutans* pada neutrofil.

Penelitian ini menunjukkan hasil bahwa terdapat perbedaan dalam menghambat adhesi *S. mutans* pada neutrofil antara ekstrak daun wungu konsentrasi 3,125%, 6,25%, 12,5% dan 25%. Dari hasil tersebut dapat diamati bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun wungu yang diberikan semakin sedikit pula *S. mutans* yang melekat pada sel neutrofil dan menyebabkan terjadinya penurunan indeks adhesi bakteri pada neutrofil dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang tidak

diberikan ekstrak. Hal ini sesuai dengan pernyataan Lucia¹², bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka kadar zat aktif yang terisolasi juga semakin tinggi. Tingginya zat aktif inilah yang diduga berperan dalam menghambat adhesi *S. mutans* pada neutrofil.¹²

Pada kelompok perlakuan yang diinkubasi dengan ekstrak daun wungu terlihat neutrofil pada pengamatan berukuran lebih besar dibandingkan dengan kelompok I (kontrol) yang tidak diinkubasi ekstrak daun wungu. Hal ini disebabkan karena ekstrak daun wungu melapisi membran neutrofil. Adanya lapisan tersebut diduga mengisolasi reseptor neutrofil sehingga adhesin bakteri atau komponen yang berikatan dengan reseptor sel host tidak dapat berikatan atau terhalang. Oleh karena itu dapat menyebabkan adhesi bakteri *S. mutans* terhadap neutrofil menjadi terhambat. Kemampuan tanin diduga dapat mengikat reseptor pada neutrofil, sehingga adhesin pada bakteri tidak dapat melakukan adhesi pada reseptor neutrofil maka adhesi bakteri pada neutrofil menjadi terhambat.^{13,14}

Kontak langsung antara *S. mutans* dengan sel host diawali dengan proses adhesi. Adhesi bakteri pada sel atau pada permukaan jaringan membutuhkan peranan dari dua faktor, yaitu reseptor dan adhesin. Reseptor berupa residu peptida dan karbohidrat spesifik pada permukaan sel host.^{15,16} Sedangkan adhesin bakteri adalah molekul yang terdapat pada permukaan sel bakteri yang berfungsi untuk melekatkan diri pada permukaan sel host.¹⁷

Bakteri *S. mutans* mampu mendemineralisasi enamel dan dentin dan masuk ke dalam pulpa menyebabkan terjadinya inflamasi pada pulpa. Bakteri dapat masuk ke dalam pulpa dapat melalui tubuli dentin yang sudah terbuka, baik dari karies maupun terbukanya pulpa karena trauma, adanya kebocoran pada restorasi, dari perluasan infeksi pada gingiva atau melalui peredaran darah. Bakteri yang masuk ke dalam pulpa gigi akan direspons tubuh melalui inflamasi dan berkumpulnya sel-sel radang pada daerah tersebut, terutama sel neutrofil.¹⁸

Sel neutrofil akan merespon adanya bakteri *S. mutans* yang masuk karena sel neutrofil aktif pada awal reaksi inflamasi yang diawali dengan proses perlekatan. Proses perlekatan ini terjadi karena adanya interaksi

antara komponen permukaan bakteri dan sel inang.¹⁹ Adhesi dari bakteri pada permukaan sel dapat dihambat oleh enzim dan bahan kimia yang secara spesifik merusak atau mengisolasi adhesin bakteri maupun reseptor sel host. Enzim dan bahan kimia ini diduga juga terkandung dalam ekstrak daun wungu.^{15,16} Ekstrak daun wungu mengandung beberapa senyawa kimia, antara lain: triterpenoid/steroid bebas, alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin.²⁰

Alkaloid, glikosida, dan flavonoid dapat mengakibatkan perubahan struktur tersier protein pada permukaan bakteri. Senyawa tersebut menyisip pada sisi hidrofobik protein, sehingga mengakibatkan penurunan hidrofobisitas sel bakteri yang berinteraksi dengan fimbriae dan mengakibatkan penggumpalan protein permukaan bakteri. Akibatnya protein ini kehilangan struktur hidrofobiknya dan mengakibatkan hidrofobisitas bakteri menurun. Penurunan hidrofobisitas ini akan mencegah terjadinya interaksi hidrofobik dari komponen permukaan bakteri dengan sel host sehingga menghambat adhesi bakteri pada sel host.²¹

Saponin bekerja dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan kematian bakteri karena kebocoran sel.²² Mekanisme triterpenoid sebagai zat antibakteri yaitu bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati.²³

Tanin sebagai antimikroba dapat terjadi melalui beberapa mekanisme yaitu menghambat enzim antimikroba dan menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara bereaksi dengan membran sel dan menginaktivasi enzim-enzim esensial atau materi genetik. Selanjutnya, senyawa tanin dapat membentuk kompleks dengan protein melalui interaksi hidrofobik sehingga dengan adanya ikatan hidrofobik akan terjadi denaturasi dan akhirnya metabolisme sel terganggu.²⁴

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun wungu dapat menghambat adhesi bakteri *Streptococcus mutans* pada neutrofil dimana konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi mempunyai indeks adhesi yang lebih kecil.

Saran penelitian adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui zat aktif yang terkandung dalam ekstrak daun wungu yang berfungsi untuk menurunkan adhesi *S. mutans* pada neutrofil.

DAFTAR PUSTAKA

1. Iswandani W. Gambaran Pengetahuan Anak Usia 7 sampai dengan 12 Tahun Tentang Oral Hygiene Berdasarkan Karakteristik Di SDN Jalan Anyar Kota Bandung. Bandung: Program Studi Diploma III Keperawatan Universitas Pendidikan Indonesia; 2015.
2. Kidd EA, Bechal SJ. *Dasar-Dasar Karies Penyakit dan Penanggulangannya*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2013.
3. Giannasca, PJ, Neutra MR. Interaction of microorganisms with intestinal m cells: mucosal invasion and induction of secretory immunity. *Infect Agents*. 1994; 2(1): 242-8.
4. Doyle R. *Microbial Cell Surface Hydrophobicity*. New York: SocMicrobial; 1990.
5. Purnamasari IW, Astuti P, Ermawati T. Viabilitas neutrofil yang diinkubasi dalam ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza*) dan dipapar dengan *Streptococcus mutans*. *Jurnal Dentofasial*. 2014; 13(3): 135-40
6. Guyton AC, Hall JE. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 11. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2007.
7. Kurniawati A. Pengaruh ekstrak etanol daun wungu (EEDU) *Graptophyllum pictum* L. Griff terhadap aktivitas fagositosis monosit yang dipapar *Candida albicans*, *Jurnal Denta FKG Hangtuah*. 2018; 12(2): 126-33 .
8. Andiyani R, Yuniarni U, Mulyanti D. *Uji Eektivitas Ekstrak Daun Wungu (Graptophyllum pictum (L) Griff) sebagai Penyembuh Luka*. Bandung: Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Islam Bandung; 2015.
9. Riza NF. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Wungu (*Graptophyllum pictum* (L) Griff) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember; 2010.
10. Kusumawati I. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun *Graptophyllum Pictum* (L). Griff. Terhadap Respon Imun Non Spesifik. Surabaya: Universitas Airlangga; 1997.
11. Pratiwi R. Perbedaan Daya Hambat Terhadap *Streptococcus Mutans* Dari Beberapa Pasta Gigi yang Mengandung Herbal. Makasar: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin; 2004.
12. Lucia EW. Aksi Obat: Basis Farmakologi. Klinis. Surabaya: Sandika Surabaya; 2011.
13. Sung SH, Kyoung HK, Byong TJ, Sun HC, Jae HP, Dong, H. K., et al. Antibacterial and antioxidant activities of tannins extracted from agricultural by-products. *J Medicin Plants Res*. 2012; 6(15): 3072-9.
14. O'mahony R, Al-Khteeri H, Deepka W, Fernando N, Vaiara D, Halton J, et al. Bactericidal and anti-adhesive properties of culinary and medical plants against *Helicobacter pylori*. *World J Gastroenterology*. 2005; 11(47): 7499-507.
15. Wilson JW, Schurr MJ, LeBlanc CL, Ramamurthy R, Buchanan KL, and Nickerson CA. Mechanisms of bacterial pathogenicity. *Postgraduate Medical J*. 2002; 78: 216-24.
16. Mubarakah SN, I Ketut GM, Sumarno. 49.4 Kda outer membrane protein of *prophyromonas gingivalis* is hemagglutinin and adhesin protein to neutrophil. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2009; 25(2): 48-59.
17. Kriswandidi LI, Sumarno, Ardani IGW. Karakterisasi adesin *fimbriae Streptococcus mutans* lokal yang berperan dalam patogenesis penyakit karies gigi. *Jurnal Penelitian Medika Eksakta*. 2005; 6(1): 6-15.
18. Grossman IL, Oliet S, Rio CED. *Ilmu Endodontik Dalam Praktik*. ed.11. Jakarta: EGC; 1995.
19. Rakhmawati NYI. Daya adhesi *Streptococcus mutans* pada neutrofil yang diinkubasi ekstrak polifenol biji

- kakao (*Theobroma cacao* L). skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember; 2012.
20. Indriana RA. Uji daya hambat ekstrak metanol daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) griff) terhadap pertumbuhan bakteri saluran akar gigi. Skripsi. Jember: FKG Universitas Jember; 2017.
 21. Parhusip A. pengaruh ekstrak andaliman terhadap hidrofobisitas bakteri *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhimurium*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 2004; 2: 2.
 22. Irianto BW, Kurniawati A, Fatimatussahro N. Efek berkumur seduhan daun wungu (*Graptophyllum Pictum* (L) Griff) terhadap jumlah koloni bakteri saliva pada subyek dengan skor DMF-T 4-5. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*; 2016.
 23. Santosaningsih D. Peranan Protein Fimbriae dan Lipopolisakarida terhadap Perlekatan Bakteri *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) 0157 pada Enterosit Kelinci secara in Vitro: Penelitian Eksperimental Laboratoris. Tidak diterbitkan. Tesis. Surabaya: Program Pascasarjana Universitas Airlangga; 2003.
 24. Sya'haya S, Iyos RN. pengaruh pemberian ekstrak daun ungu *Graptophyllum pictum* Griff) terhadap penyembuhan hemoroid. *Majority*. 2016;5(5):155-60.