

DAYA ANTIMIKROBA EKSTRAK *COLEUS AMBOINICUS*, *LOUR* TERHADAP *CANDIDA ALBICANS* PADA RESIN AKRILIK

Devi Rianti, Titien Hary Agustantina

Bagian Ilmu Material dan Teknologi Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

Devi Rianti, Titien Hary Agustantina : Daya Antimikroba Ekstrak *Coleus Amboinicus*, *Lour* Terhadap *Candida Albicans* pada Resin Akrilik. Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia. 2003: 10 (Edisi Khusus): 845-851

Abstract

A laboratory experimental study conducted on antimicrobial effects of *Coleus amboinicus*. *Lour* concentrate towards *Candida albicans* on acrylic resin. Samples of this study are 10x10x1 mm heat cured acrylic plates immersed in 15%, 12.5%, 10%, 7.5% of *Coleus amboinicus*. *Lour* concentrate solution. Sterilized aquadest was used as control. 16 samples were used for each exercise. Statistical analyses used are One-way Anova and LSD with 5 % significance degree. The result showed that increasing *Coleus amboinicus*, *Lour* concentrate solution i.e. 7.5%, 10%, 12.5% 15% will increased the antimicrobial effects towards *Candida albicans*. The most effective concentrate solution in reducing *Candida albicans* colonies is 15%.

Key words: Antimicrobial; *coleus amboinicus*; *lour*; *candida albicans*; acrylic resin.

Pendahuluan

Denture stomatitis adalah suatu istilah yang digunakan untuk menjelaskan perubahan-perubahan patologis pada mukosa penyangga gigi tiruan di dalam rongga mulut. Perubahan tersebut ditandai dengan adanya eritema di bawah gigi tiruan lengkap atau sebagian baik di rahang atas maupun rahang bawah.¹ *Denture stomatitis* merupakan terminologi yang universal dan dapat diterima karena terminologi ini sudah dapat menggambarkan suatu peradangan mukosa rongga mulut yang berhubungan dengan gigi tiruan resin akrilik.

Resin akrilik di dalam rongga mulut segera dilapisi *saliva* yang kaya protein

sehingga terbentuk pelikel. Pelikel ini mampu mengadakan perlekatan dengan mikroorganisme antara lain *Candida albicans*.²

Permukaan basis gigi tiruan resin akrilik yang menghadap mukosa adalah bagian yang tidak dipoles, sehingga bagian tersebut permukaannya lebih kasar dan mudah ditempel oleh plak.³ Penumpukan plak dan sisa makanan menyebabkan kepadatan koloni *Candida albicans* meningkat. Peningkatan koloni ini, diikuti oleh peningkatan produksi toksin *Candida albicans* yang akan berpenetrasi ke membran mukosa dan menyebabkan peradangan.⁴ Pendapat ini didukung oleh beberapa sarjana, yang menyatakan bahwa

sifat bahan gigi tiruan. pelikel, *Candida albicans* memberikan kontribusi yang besar terhadap terjadinya *denture stomatitis*.^{2,5} Dari seluruh pemakai gigi tiruan resin akrilik sekitar 65% terjangkit *denture stomatitis*, dan *Candida albicans* lebih sering dijumpai pada gigiriruan dari pada mukosa rongga mulut dengan data 22 orang dari 29 pemakai gigi tiruan.⁶

Denture stomatitis dapat dicegah dengan cara memelihara dan membersihkan gigi tiruan serta melepaskannya pada malam hari.⁷ Salah satu cara pembersihan gigi tiruan adalah secara kimia, yang dilakukan dengan merendam gigi tiruan dalam larutan pembersih gigi tiruan selama 15 menit, 30 menit, 1 jam atau sepanjang malam tergantung dari bahan pembersih yang digunakan.⁸ Dinyatakan bahwa efek fungisid dari bahan pembersih gigi tiruan dapat dicapai minimal dengan perendaman selama 30 menit dan lebih efektif bila dilakukan selama 2 jam.⁹

Pemakaian larutan pembersih gigi tiruan yang ada dipasaran rata-rata berasal dari bahan impor. Pemerintah Indonesia saat ini sedang menggalakkan pemakaian bahan-bahan tradisional sebagai bahan alternatif pengobatan, karena Indonesia kaya akan tanaman berkhasiat obat.

Salah satu tanaman obat keluarga yang sering ditanam dikebun dan mudah tumbuh adalah Daun jinten. Daun jinten dengan nama latin *Coleus amboinicus*, Lour dan nama simplisia *Plectranthi amboinicus folium*, adalah tanaman yang berkhasiat untuk pengobatan sariawan dan antijamur. Kandungan kimia tanaman tersebut antara lain kalium, minyak atsiri yang mengandung karvakrol serta isopropil-o-kresol, fenol, sineol.¹⁰ Peneliti lain menjelaskan bahwa dari 120 kg daun segar *Coleus amboinicus*, Lour diperoleh 25 ml minyak atsiri, setara dengan 0,2% minyak atsiri yang mengandung fenol, atas dasar tersebut dinyatakan sebagai antiseptik yang bernilai tinggi. Setelah dilakukan uji coba untuk menentukan konsentrasi ekstrak *Coleus amboinicus*, Lour yang digunakan untuk penelitian dengan cara penipisan seri mulai konsentrasi 100% sampai dengan 0,390625%, ternyata pada konsentrasi

25%, 50% dan 100% tidak terdapat pertumbuhan *Candida albicans*.¹¹

Senyawa kimia sineol mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*, *Trichiphyton metagrophytes* dan *Cryptococcus neoformans*.¹² Peneliti lain menyatakan bahwa fenol dan kresol dapat membunuh sel vegetatif, jamur dan bakteri pembentuk spora dengan mengadakan denaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan sehingga permeabilitas bakteri meningkat,¹³ sedangkan karvakrol disebutkan dalam Merck Index memiliki sifat antijamur.¹⁴

Menurut beberapa pustaka dikatakan *Coleus amboinicus*, Lour memiliki sifat antijamur. Untuk mengetahui lebih jauh efek penggunaannya, maka perlu dilakukan penelitian tentang daya antimikroba ekstrak *Coleus amboinicus*, Lour terhadap *Candida albicans*. Berdasarkan uraian diatas maka timbul permasalahan pada konsentrasi berapakah larutan ekstrak *Coleus amboinicus*, Lour mempunyai daya antimikroba yang efektif menurunkan jumlah koloni *Candida albicans* pada resin akrilik.

Tujuan penelitian ini untuk menentukan konsentrasi larutan ekstrak *Coleus amboinicus*, Lour yang efektif menurunkan jumlah koloni *Candida albicans* sebagai salah satu alternatif bahan pembersih gigi tiruan.

Bahan dan Cara Kerja

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan percobaan *The post test only control group design*. Pembuatan ekstrak daun jinten atau *Coleus amboinicus*, Lour dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya dengan cara sebagai berikut: Daun jinten segar berumur 3-4 bulan di panen dari kebun percobaan Pusat Penelitian Obat tradisional pada pukul 07.00, dicuci dan dikeringkan pada ruangan dengan suhu 24°C. setelah kering dilakukan penggilingan, serbuk yang di peroleh ditimbang seberat 1000gr. dilakukan maserasi dengan pelarut etanol sebanyak 3000ml, selama 72 jam, kemudian disaring

maserasi dengan pelarut etanol sebanyak 3000ml, selama 72 jam, kemudian disaring dengan corong buchner. Filtrat hasil saringan diuapkan dengan vacuum evaporator selama 5 jam, didapatkan hasil 100 gr ekstrak murni daun jinten. Setelah itu di timbang 1,5gr, 1,25gr, 1gr, 0,75gr disterilkan dengan sinar ultraviolet selama 1 jam, dilarutkan dalam akuades steril sebanyak 10ml, di masukkan dalam ultrasonic selama 15 menit.

Pengukuran daya antimikroba terhadap *Candida albicans* di lakukan di Laboratorium mikrobiologi Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya dengan cara sebagai berikut: Plat resin akrilik ukuran 10x10x1mm dicuci dibawah air mengalir selama 48 jam untuk mengurangi sisa monomer.¹⁵ Sterilisasi plat resin akrilik menggunakan autoclave 121°C selama 18 menit.¹⁶ Plat resin akrilik direndam saliva steril selama 1 jam, kemudian dibilas PBS dua kali.¹⁷ Plat resin akrilik dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi suspensi *Candida albicans* (setelah inkubasi selama 24 jam), kemudian diinkubasi lagi selama 24 jam pada suhu 37°C. Plat resin akrilik dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan ekstraksi *Coleus amboinicus*. Lour dengan masing-masing 4 variasi konsentrasi selama 2 jam. Setiap konsentrasi diulang sesuai dengan besar sampel minimal yaitu 16 kali, untuk kontrol larutan perendam digunakan akuades steril. Plat resin akrilik dibilas dengan PBS dua kali untuk menghilangkan larutan ekstrak *Coleus amboinicus*. Lour yang tertinggal.¹⁶ Plat resin akrilik dimasukkan ke dalam media *Sabouraud's broth* 10ml, kemudian divibrasi dengan vibrator merek vortex selama 30 detik untuk melepaskan *Candida albicans* yang melekat pada plat.¹⁸ Mengambil 0,1ml suspensi *Candida albicans* dalam *Sabouraud's broth* menggunakan eppendorf micropipette dimasukkan dalam *Sabouraud's dextrose* agar, dilakukan spreading, diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.¹⁹ Menghitung jumlah koloni *Candida albicans* dalam CFU/ml

Hasil

Hasil nilai rerata, simpang baku dari jumlah koloni *Candida albicans* yang diukur pada plat resin akrilik setelah direndam dalam larutan ekstrak *Coleus amboinicus*. Lour dengan konsentrasi 7,5%, 10%, 12,5%, 15% dan waktu perendaman selama 120 menit dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rerata, Simpang Baku dari Jumlah Koloni *Candida Albicans* pada plat resin akrilik (CFU/ml)

Konsentras	N	X	SB
Kontrol	16	577,562	7,3754
7,5%	16	15	2,9212
10%	16	7,1875	1,8337
12,5%	16	4,1250	1,4549
15%	16	0,0000	0,0000

Keterangan:

N : Jumlah sampel

X : Nilai rerata

SB : Simpang baku

Sebelum dilakukan uji parametrik untuk mengetahui kemaknaan perbedaan yang ada perlu dilakukan uji normalitas menggunakan *kolmogorov-Smirnof Test*. Hasilnya 4 kelompok perlakuan dan kontrol tersebut berdistribusi normal ($p > 0,05$), selanjutnya untuk uji komparasi terhadap keempat kelompok dan kontrol tersebut dilakukan uji anova satu arah seperti pada Tabel 2.

Dari hasil analisis Anava satu arah diatas terlihat ada perbedaan yang bermakna antar perlakuan dengan $p = 0,000$ ($p < 0,05$), untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan yang ada di antara kelompok perlakuan, analisis dilanjutkan dengan menggunakan uji *Least significant difference (LSD)* pada Tabel 3.

Tabel 2. Hasil Uji Anava satu arah jumlah koloni *Candida albicans* pada plat resin akrilik yang direndam dalam larutan ekstrak *Coleus amboinicus Lour* dengan konsentrasi 7,5%, 10%, 12,5%, 15% sebagai kontrol akuades steril

Sumber variasi	Jumlah kuadrat	Db	Rerata kuadrat	F	P
Perlakuan	4175025.8	4	1043756.456	76288.692	0.000
Waktu	1026.125	75	13.682		
Konsentrasi >> waktu	4176052.0	79			

Keterangan : db = derajat bebas F = F hitung P = Probabilitas

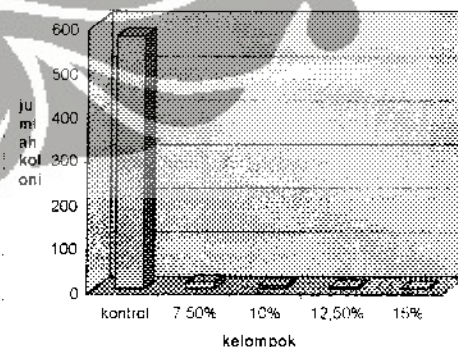
Tabel 3. Uji LSD jumlah koloni *Candida albicans* pada plat resin akrilik yang direndam dalam larutan ekstrak *Coleus amboinicus Lour* 7,5%, 10%, 12,5%, 15%

Kelompok	7,5%	10%	12,5%	15%	Kontrol
Kontrol	B	B	B	B	-
15%	B	B	B	-	
12,5%	B	B	-		
10%	B	-			
7,5%	-				

Keterangan : B: Bermakna

Pada Tabel 3 terlihat ada perbedaan yang bermakna pada masing-masing kelompok sampel, berarti Pengujian LSD pada tabel 3, menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna antara masing-masing kelompok konsentrasi 7,5%, 10%, 12,5%, 15% dan kontrol, dengan kata lain peningkatan konsentrasi larutan ekstrak *Coleus amboinicus Lour* akan mempengaruhi jumlah koloni *Candida albicans*.

Untuk memperjelas posisi jumlah koloni *Candida albicans* masing-masing kelompok yang dipengaruhi oleh konsentrasi larutan ekstrak *Coleus amboinicus Lour* dapat dilihat pada diagram batang pada Gambar 1



Gambar 1. Rerata jumlah koloni *Candida albicans* menurut konsentrasi larutan ekstrak *Coleus amboinicus Lour*

Pembahasan

Permukaan plat dasar gigi tiruan resin akrilik terbagi menjadi dua, yaitu: (1) permukaan poles, yang terdiri dari permukaan palatal, bukal dan lingual; (2) permukaan pendukung atau permukaan tekan, yaitu permukaan yang konturnya ditentukan oleh tekanan jaringan dan tidak dilakukan pemolesan.¹⁹ Permukaan gigi tiruan yang tidak dilakukan pemolesan mempermudah pencampelan plak dan merupakan tempat yang baik untuk menetapnya kuman-kuman. Keradangan sering ditemukan pada jaringan yang berhadapan dengan permukaan tekan.²¹ Sesuai dengan pendapat para sarjana tersebut maka, pada penelitian ini digunakan plat resin akrilik yang tidak dipoles.

Nilai rata-rata jumlah koloni *Candida albicans* pada permukaan plat resin akrilik yang direndam dalam larutan ekstrak ekstrak *Coleus amboinicus*. Lour menunjukkan bahwa perendaman plat resin akrilik dalam konsentrasi yang semakin tinggi, yaitu 7.5%, 10%, 12.5%, 15% menyebabkan makin menurun jumlah koloni *Candida albicans* yang berada pada plat resin akrilik. Perhitungan statistik Menggunakan Anova satu arah, LSD dengan taraf kemaknaan 5% menunjukkan makin tinggi konsentrasi, jumlah koloni *Candida albicans* makin menurun secara bermakna, sebaliknya makin rendah konsentrasi, jumlah koloni *Candida albicans* makin meningkat secara bermakna.

Dalam 10 mg ekstrak daun kering *Coleus amboinicus*. Lour mengandung 5.1581% fenol dan 3.6587 % sineol.²¹ Konsentrasi yang meningkat pada larutan ekstrak *Coleus amboinicus*. Lour akan mengakibatkan penurunan jumlah koloni *Candida albicans*, oleh karena dengan meningkatnya konsentrasi akan meningkat pula kandungan fenol maupun sineol dalam larutan ekstrak tersebut. Peningkatan kadar fenol maupun sineol akan mengakibatkan daya antimikroba ekstrak tersebut terhadap *Candida albicans* akan meningkat pula.

Hal tersebut sesuai dengan penelitian-penelitian lain yang menyatakan bahwa *Coleus amboinicus*. Lour

mengandung fenol dan turunan senyawa fenol yaitu sineol karvakrol dan isopropil-o-kresol serta dinyatakan sebagai antiseptik yang bernilai tinggi,^{10,11} dan dijelaskan lebih lanjut bahwa *Candida albicans* merupakan spesies yang sangat sensitif terhadap senyawa fenol.²² Selain fenol, kandungan lain yaitu sineol juga mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*, *Trichiphyton metagrophytes* dan *Cryptococcus neoformans*.¹²

Fenol digunakan secara luas sebagai desinfektan yang mempunyai aktivitas antimikrobia yang baik dan merupakan bakterisid yang cepat, biasanya aktivitasnya berkurang oleh karena pengenceran.²³ Hal ini sesuai dengan pernyataan bahwa efektifitas suatu bahan dipengaruhi oleh konsentrasi, waktu dan suhu.²⁴

Pada penelitian ini pH larutan ekstrak berkisar antara 4.53 - 4.54 hal itu pula yang mungkin membuat aktivitas antimikrobia larutan ekstrak *Coleus amboinicus*. Lour tersebut lebih baik, karena senyawa fenol ternyata lebih aktif pada pH asam dan dijelaskan lebih lanjut bahwa proses desinfeksi dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain konsentrasi, suhu dan pH.²³

Menurut cara kerja antimikroba, fenol dapat membunuh sel vegetatif jamur dan bakteri pembentuk spora dengan mengadakan denaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan sehingga permeabilitas bakteri dan jamur meningkat.¹³ Mekanisme kerjanya dijelaskan Melville dan Russel²⁵, yaitu: (1) Reaksi dengan sel protein adalah proses penghambatan atau pembunuhan dengan cara merusak sistem koloid dengan mengadakan koagulasi dan presipitasi protein. Adanya koagulasi protein sel mikroba menyebabkan gangguan metabolisme. (2) Mengubah permeabilitas sel membran adalah menurunkan tegangan permukaan yang mengakibatkan kenaikan dari permeabilitas sel membran, sehingga cairan masuk dan mengakibatkan kematian dari mikroba.

Pemakaian larutan ekstrak *Coleus amboinicus*. Lour dengan konsentrasi 7.5% sudah efektif dalam menurunkan jumlah

koloni *Candida albicans* (Tabel 1). Penggunaan ekstrak *Coleus amboinicus Lour* sebagai pembersih gigi tiruan seharusnya dapat menghilangkan *Candida albicans* sampai tidak ada pertumbuhan, pada penelitian ini konsentrasi 15% tidak ada pertumbuhan koloni *Candida albicans* (Tabel 1). Hal tersebut sesuai dengan pendapat peneliti lain²³ serta merupakan syarat *British Pharmacopoeial* yang menyatakan bahwa penggunaan desinfektan kimia harus mampu merusak organisme patogenik, dan dalam prakteknya dapat bekerja sebagai bakterisid maupun fungisid artinya mempunyai efek membunuh semua mikroorganisme secara sempurna.

Sebagai kesimpulan pada penelitian ini konsentrasi larutan ekstrak *Coleus amboinicus Lour* yang semakin meningkat, yaitu 7,5%, 10%, 12,5%, 15% akan meningkatkan daya antimikroba terhadap *Candida albicans*. Konsentrasi yang paling efektif dalam menurunkan jumlah koloni *Candida albicans* adalah 15%.

Larutan ekstrak *Coleus amboinicus Lour* dapat digunakan sebagai alternatif bahan pembersih gigi tiruan resin akrilik. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap sifat fisik mekanik resin akrilik setelah perendaman dalam larutan ekstrak *Coleus amboinicus Lour*, mengingat sifat fisik mekanik akrilik merupakan salah satu syarat pemakaian gigi tiruan.

Kesimpulan

Dari penelitian eksperimental laboratoris yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa: konsentrasi larutan ekstrak *Coleus amboinicus Lour* yang semakin meningkat, yaitu 7,5%, 10%, 12,5%, 15% akan meningkatkan daya antimikroba terhadap *Candida albicans*, konsentrasi yang paling efektif dalam menurunkan jumlah koloni *Candida albicans* adalah 15%. larutan ekstrak *Coleus amboinicus Lour* dapat digunakan sebagai alternatif bahan pembersih gigi tiruan resin akrilik, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap sifat fisik mekanik resin akrilik setelah perendaman dalam larutan ekstrak *Coleus amboinicus Lour*,

mengingat sifat fisik mekanik akrilik merupakan salah satu syarat pemakaian gigi tiruan.

Daftar Pustaka

1. Hadi Soenartyo. Denture stomatitis : Penyebab dan Pengelolaannya. *Dent J*. 2000; 33 (4) : 148-151.
2. Edgerton M and Levine MJ. Characterization of acquired denture pellicle from healthy and stomatitis patients. *J Prosthet Dent*. 1992 ; 68 : 683-691.
3. Lundin SA. and Emilson CG. Microflora in plaque from aproximal posterior composite resin restoration. *Quintessence Int*. 1989; 20: 413-416.
4. Samaranayake YH, Wu PC, Samaranayake LP and So M. Relationship between the cell surface hydrophobicity and adherence of candida albicans to ephithelial and denture acrylic surfaces. *APMIS* 1995; 103: 707-713.
5. Radford DR, Challacombe SJ, and Walter JD. Denture plaque and adherence of candida albicans to denture base materials in vivo and in vitro. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1999; 10 : 99-110.
6. Tawara Y, Honma K and Naito Y. Methicillin resistant staphylococcus aureus and sandida albicans on denture surfaces. *Bull. Tokyo dent. Coll*. 1996; 37: 119-128.
7. Devenport JC. The oral distribution of candida in denture stomatitis. *Brit Dent J*. 1970; 129 : 151-156.
8. Jorgensen BE. 1979. Material and method for cleaning dentures. *J Prosthet Dent* 42 : 619-622
9. Nikawa H and Hamada T. Efficacy of commercial denture cleansers. *Dent. J*. 1998; 31 (3): 77-82.
10. Wijayakusuma H, Dalimartha S, dan Wirian AG. *Tanaman Obat Berkhasiat Indonesia Jilid IV. Edisi 1*. Jakarta: Pustaka Kartini.. 1996: 38-41
11. Heyne. K. *Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid III. Badan Litbang Kehutanan*. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya.. 1987: 1698.
12. Hammerschmidt FJ, Clark AM, Soliman FM, El-Kashoury ES, Kawy MM, and Fishawy AM. 1993. Chemical

- composition and antimicrobial activity of essential oil of *jasonia candicans* and *jasonia montana*. *Planta Med* 59 : 68-70
13. Rahardjo MB. Perbedaan daya antibakteri *allium sativum* linn dan *kaempferia galanga* terhadap *streptococcus mutans* dan bermacam-macam bakteri yang berasal dari saluran akar gigi gangraena pulpa. Tesis. Surabaya: Universitas Airlangga. 1993: 13.
 14. Windholz M. *The Merck Index*. 11th ed. Merck & Co., Inc. USA., 1989: 34-35.
 15. Tamamoto M, Hamada T, Miyake Y, and Suginaka H. Ability of enzymes to remove *Candida*. *J. Prosthet Dent*. 1985; 53 : 214-216.
 16. Sunarintyas S. Pengaruh larutan Papan dan lama perendaman dalam pembersihan resin akrilik terhadap keberadaan *candida albicans*. Tesis. Airlangga: Universitas Surabaya. 1995: 45.
 17. Evans RT, Baker PJ, Coburn RA and Genco RJ. Comparison of antiplaque agents using an in vitro assay reflecting oral condition. *J Dent Res*. 1977; 56 : 559-566
 18. Burns DR, Burns DA, DiPietro GJ, and Gregory RL. Response of processed resilient denture liners to *candida albicans*. *J Prosthet Dent*. 1987; 57 : 507-512.
 19. Darvazeh AMG, Mac Farlane TW, Mc Cuish A, and Larney PJ. Mixed salivary glucose levels and candidal carriage in patients with diabetes mellitus. *J Oral Pathol Med*. 1991; 20 : 280-283.
 20. Wilson HJ, Mansfield MA, Health JR, and Spence D. *Dental Technology and Materials for Students*. 8th edition. London: Blackwell Scientific Publications. 1987: 97-99.
 21. Miner JF. The nature of a denture base : a key factor in denture sore mouth. *J Prosthet Dent*. 1973; 29 : 250-255.
 22. Devi Rianti. Ekstrak *coleus amboinicus*, lour sebagai bahan pembersih terhadap keberadaan *candida albicans* dan kekuatan transversa resin akrilik. Tesis. Surabaya: Universitas Airlangga. 2003: 82.
 23. Regezi JA and Sciubba JJ. *Oral Pathology : Clinical Pathologic Correlation*. Philadelphia: WB Saunders Company. 1989: 110-116.
 24. Hugo WB and Russel AD. *Pharmaceutical Microbiology*. 4th ed. Oxford-London-Edinburgh-Boston-Melbourne: Blackwell Scientific Publications. 1989: 226-233.
 25. Siswandono dan Soekarjo B. *Kimia Medisinal*. Cetakan I. Surabaya: Airlangga University Press. 1995: 247-248
 26. Melville PH and Russel C. *Microbiology for Dental Student*. 3rd ed. London: Williem Heinemann Medical Book ltd. 1981: 155-176.