


Research article
Pengaruh Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kumis Kucing Terhadap Bakteri Streptococcus Mutans
Rizky Mulyanti¹, Member Reni Putra², Dian Soraya Tanjung³, Shania Salsabila⁴
^{1,2,3,4}Dapartemen Konsevasi Gigi, Universitas Prima Indonesia

Article Info	Abstrak
<p>Article History: Received: 28-01-2021 Reviewed: 20-02-2021 Revised: 06-03-2021 Accepted: 22-04-2021 Published: 30-06-2021</p> <p>Key words : antibakteri; streptococcus mutans; daun kumis kucing; karies;</p>	<p>Pendahuluan; streptococcus mutans adalah bakteri patogen dan penyebab utama karies gigi. Maka diperlukan suatu tindakan pencegahan karies gigi dengan bahan antibakteri alami dengan kumis kucing. Tujuan; mengetahui pengaruh efektivitas antibakteri ekstrak daun kumis kucing terhadap bakteri streptococcus mutans. Metode; penelitian menggunakan eksperimental laboratoris dengan desain posttest only control group in vitro. Pengumpulan data dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat menggunakan shear caliper. Kemudian, data dianalisis dengan uji statistik oneway ANOVA dan posthoc LSD. Hasil; bahwa diameter rata-rata zona hambat antibakteri ekstrak daun kumis kucing (<i>Orthosiphon stamineus</i>) dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% terhadap <i>Streptococcus mutans</i>. bakteri adalah $11,50 \pm 0,38$ mm, $10,78 \pm 0,22$ mm, $9,90 \pm 0,13$ mm, $9,10 \pm 0,08$ mm dan $8,25 \pm 0,25$ mm, sedangkan kontrol negatif pada penelitian ini yaitu DMSO tidak memiliki diameter hambat (0 mm). Kesimpulan; bahwa terdapat efektivitas antibakteri ekstrak daun kumis kucing terhadap bakteri <i>Streptococcus mutans</i>.</p> <p>Abstact. Introduction; <i>Streptococcus mutans</i> is a pathogenic bacteria and the main cause of dental caries. We need a preventive measure for dental caries with natural antibacterial ingredients with cat whiskers. Aim; determine the effect of antibacterial effectiveness of cat whiskers leaf extract against <i>streptococcus mutans</i> bacteria. Method; The study used a laboratory experimental design with posttest only control group in vitro. The data was collected by measuring the diameter of the zone of inhibition using a shear caliper. Then, the data were analyzed using one-way ANOVA and posthoc LSD statistical tests. Result; that the average diameter of the inhibition zone of cat whiskers leaf extract (<i>Orthosiphon stamineus</i>) antibacterial with a concentration of 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125% against <i>Streptococcus mutans</i>. bacteria were 11.50 ± 0.38 mm, 10.78 ± 0.22 mm, 9.90 ± 0.13 mm, 9.10 ± 0.08 mm and 8.25 ± 0.25 mm, while the control was negative. In this study, DMSO does not have an inhibitory diameter (0 mm). Conclusion; that there is antibacterial effectiveness of cat whiskers leaf extract against <i>Streptococcus mutans</i> bacteria.</p>
Corresponding author Email	: Rizky Mulyanti : rizkymlynt@gmail.com



Pendahuluan

Karies gigi dan penyakit periodontal merupakan penyakit gigi dan mulut yang paling banyak menyerang penduduk di seluruh dunia. Penyakit ini menjadi penyebab utama kehilangan gigi. Oleh sebab itu, sampai saat ini karies gigi dan penyakit periodontal masih menjadi masalah dunia (Haque et al., 2019). Sekitar 35% atau 2,43 milyar penduduk dunia mengalami karies gigi untuk semua usia (Alhabdan et al., 2018 dan Kolay & Kumar, 2019). Berdasarkan data The Global Burden of Disease Study tahun 2017 diperkirakan 2,3 milyar penduduk dunia mengalami karies gigi permanen dan 530 juta karies gigi sulung (WHO, 2020). Di Amerika Serikat, lebih dari 90% orang dewasa pernah mengalami karies gigi sebelum usia 30 tahun (Young et al., 2015). Prevalensi karies gigi di Indonesia terjadi pada usia 12 tahun sebesar 43,9%, usia 15 tahun mencapai 37,4%, usia 18 tahun 51,1%, usia 35-44 tahun 80,1% dan usia 65 tahun ke atas mencapai 96.7% (Rostinawati et al., 2018).

Karies gigi terbentuk dari adanya akumulasi plak pada permukaan gigi yang disebabkan oleh bakteri penghasil asam. Bakteri ini berinteraksi dengan karbohidrat dalam jangka waktu yang panjang dan membentuk asam sehingga menurunkan pH dan menyebabkan demineralisasi (Takahashi & Nyvad, 2016). Spesies bakteri yang paling sering ditemukan pada karies gigi adalah *Streptococcus mutans* (Al-Shahrani, 2019). *Streptococcus mutans* adalah bakteri gram positif dan juga sebagai faktor etiologi utama penyebab terjadinya karies gigi (Krzyściak et al., 2017 dan Lemos et al., 2019). Tanaman obat telah banyak digunakan oleh masyarakat untuk beberapa tujuan antara lain sebagai antibakteri, antioksidan, antiulcer, antiinflamasi, antivirus, antikanker, dan pencegahan berbagai jenis penyakit (Alshawsh et al., 2012). *Orthosiphon stamineus* Benth adalah salah satu tanaman obat yang termasuk dalam spesies Lamiaceae (Kartini et al., 2020). Bagi masyarakat Indonesia, *Orthosiphon stamineus* Benth dikenal sebagai kumis kucing. Nama kumis kucing berhubungan dengan struktur bunganya yang memiliki struktur benang sari seperti kumis kucing (*Stamineus Benth*, 2019).

Banyak studi farmakologis telah menunjukkan kemampuan dari daun kumis kucing antara lain antimikroba, antioksidan, hepatoproteksi, antigenotoksik, antiplasmodial, sitotoksik, kardioaktif, antidiabetik, dan antiinflamasi (Ashraf et al., 2018). Daun kumis kucing mengandung beberapa senyawa kimia yang bermanfaat yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, polifenol, minyak esensial, sterol, saponin, monoterpenes, diterpenes, triterpenes, dan asam organik. Ada enam flavonoid yang terkandung dalam daun kumis kucing yaitu eupatorin, sinensetin, 5- hydroxy - 6, 7, 30, 40 - tetrametoxiflavone, salvigenin, 6-hydroxy-5, 7, 40-trimethoxyflavone and 5,6,7,30- tetramethoxy -40-hydroxy-8- Cprenylflavone (Hossain & Rahman, 2015). Adanya kecenderungan kembali ke alam, saat ini telah terjadi peningkatan minat dalam penelitian tanaman obat untuk penemuan antibakteri baru, termasuk penelitian daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) sebagai antibakteri terhadap bakteri penyebab penyakit gigi dan mulut. Salah satunya hasil penelitian dari (Nor & Yasin, 2018) yang menyatakan bahwa daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) memiliki potensi sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hasil penelitian lainnya yang dilakukan oleh (Zainal-Abidin et al., 2017) menunjukkan bahwa daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. Penelitian yang dilakukan oleh (Ashraf et al., 2020) juga mengungkapkan bahwa ekstrak daun kumis kucing efektif melawan bakteri *Staphylococcus aureus* MRSA. Aktivitas antibakteri terbaik dari ekstrak daun kumis kucing terhadap *Staphylococcus aureus*. Kekuatan antibakteri yang dimiliki oleh minyak esensial dari daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) adalah kuat (Azizan et al., 2017). Oleh karena itu, peneliti merasa tertarik untuk melakukan penelitian tentang "Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kumis. Kucing (*Orthosiphon stamineus*) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*". Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

Metode

Merupakan penelitian eksperimental laboratories dengan posttest only control group design secara in vitro. Populasi penelitian adalah bakteri *Streptococcus mutans*. Pada penelitian ini terdiri dari 6 kelompok perlakuan. Besar sampel ditentukan dengan menggunakan rumus Federer dan didapatkan 4 kali pengulangan tiap kelompok. Variabel dependen dalam penelitian ini adalah efektivitas antibakteri dan ekstrak daun kumis kucing sebagai variabel independen. Sebelum dilakukan uji efektivitas ekstrak daun kumis kucing diencerkan terlebih dahulu dengan larutan DMSO menjadi lima konsentrasi yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,125%. Pengukuran zona hambat diukur dengan Kaliper geser dan besar zona hambatnya dihitung dengan menggunakan metode Kilbey Bour. Data dikumpulkan, kemudian data dianalisis dengan uji statistik oneway ANOVA dan posthoc LSD.

Hasil Dan Pembahasan

Hasil uji nilai diameter hambat ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dapat dilihat pada tabel berikut;

Tabel 1.

Rerata Diameter Hambat Antibakteri Ekstrak Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus*) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*

K	Diameter Hambat (mm)				Mean
	1	2	3	4	
50%	11,8	11,8	11,4	11,0	11,50±0,38
25%	10,9	11,0	10,5	10,7	10,78±0,22
12,5%	9,8	10,1	10,0	9,9	9,95±0,13
6,25%	9,2	9,1	9,1	9,0	9,10±0,08
3,125%	8,2	8,0	8,6	8,2	8,25±0,25
DMSO	-	-	-	-	-

Sumber; Primer 2021

Keterangan: (-): Tidak ada hambatan

Berdasarkan tabel 1 diatas diperoleh rerata diameter hambat antibakteri ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% terhadap bakteri *Streptococcus mutans* adalah 11,50±0,38 mm, 10,78±0,22 mm, 9,90±0,13 mm, 9,10±0,08 mm dan 8,25±0,25 mm, sedangkan kontrol negatif yaitu DMSO tidak ada diameter hambat (0 mm).

Tabel 2.

Efektivitas antibakteri ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

Kelompok	Mean±SD	p value
50%	11,50±0,38	
25%	10,78±0,22	
12,5%	9,90±0,13	0,001*
6,25%	9,10±0,08	
3,125%	8,25±0,25	

Keterangan: *Ada perbedaan yang signifikan

Berdasarkan tabel 2 diatas, hasil penelitian diperoleh nilai p=0,001 (p<0,05) yang berarti bahwa ada perbedaan diameter hambat antibakteri ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Dari hasil ini dapat dinyatakan bahwa ada efektivitas antibakteri ekstrak

daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

Tabel 3.
Perbedaan efektivitas antibakteri ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

Kelompok	<i>p value</i>
I – II	0,001*
I – III	0,001*
I – IV	0,001*
I – V	0,001*
II – III	0,001*
II – IV	0,001*
II – V	0,001*
III – IV	0,001*
III – V	0,001*
IV – V	0,001*

Keterangan: *Ada perbedaan yang signifikan

Berdasarkan tabel 3 diatas, hasil penelitian diperoleh seluruh pengujian LSD dengan nilai $p=0,001$ ($p<0,05$) yang berarti bahwa ada perbedaan efektivitas yang signifikan diameter hambat antibakteri ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

Pembahasan

Pengukuran efektivitas bakteri terhadap suatu abahan uji dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain difusi cakram, dilusi, antimicrobial gradient dan short automated instrumen system. Pada penelitian ini, uji efektivitas antibakteri s dengan cara difusi dikarenakan teknis pemeriksaan lebih mudah dilakukan (Khusuma et al., 2019). Pada metode difusi dilakukan pengenceran pada ekstrak daun kumis kucing dengan pelarut DMSO sehingga diperoleh beberapa konsentrasi bahan uji yaitu konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, sedangkan DMSO berperan sebagai kelompok kontrol. Masing-masing bahan tersebut ditetaskan ke dalam media Nutrient Agar (NA) yang telah dikultur oleh bakteri *Streptococcus mutans*. Tindakan ini diinkubasi selama 24 jam dan perlakuan tersebut dilakukan replikasi sebanyak 4 kali. Efektifitas antibakteri ekstrak daun kumis kucing dievaluasi melalui diameter hambat pada media agar dan diukur dengan menggunakan kaliper geser.

Pada penelitian ini, pengujian efektifitas antibakteri ekstrak daun kumis kucing dengan mengetahui diameter hambat dan kadar hambat minimum (KHM) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh diameter hambat yang berbeda-beda jumlahnya tiap konsentrasi. Diameter hambat antibakteri ekstrak daun kumis kucing konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% terhadap bakteri *Streptococcus mutans* adalah $11,50\pm 0,38$ mm, $10,78\pm 0,22$ mm, $9,90\pm 0,13$ mm, $9,10\pm 0,08$ mm dan $8,25\pm 0,25$ mm, sedangkan kontrol negatif yaitu DMSO dengan diameter hambat = 0 mm. Hal ini berarti bahwa penanaman bakteri pada media NA dan diinkubasi selama 24 jam tidak terlihat adanya zona bening di sekitar kertas cakram dalam cawan petri. Tidak terlihat zona bening tersebut menunjukkan tidak adanya zona hambat sehingga pertumbuhan bakteri masih tetap ada di sekitar kertas cakram.

Davis dan Stout (1971) dalam Yulianti dkk (Yulianti et al., 2015) menyatakan bahwa diameter zona hambatan 20 mm atau lebih maka aktivitas penghambatannya dikategorikan sangat kuat, 10-20 mm dikategorikan kuat, 5-10 mm dikategorikan sedang dan 5 mm atau kurang dikategorikan lemah. Pada penelitian ini, ekstrak daun kumis kucing konsentrasi 12,5% 6,25%, dan 3,125% memiliki aktivitas hambatan yang sedang, sedangkan ekstrak daun kumis kucing konsentrasi 50% dan 25% dikategorikan aktivitas hambatan yang kuat.

Pada penelitian ini, penentuan nilai KHM menggunakan metode difusi. Perhitungan

nilai KHM dilihat dari konsentrasi minimal bahan uji yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi selama 24 jam. Dari hasil penelitian diperoleh bahwa KHM antibakteri ekstrak daun kumis kucing terhadap bakteri *Streptococcus mutans* adalah 3,125%. Berbeda dengan penelitian (Rukmana & Mulyowati, 2015) yang mengungkapkan bahwa ekstrak etanolik daun kumis kucing konsentrasi 10% merupakan konsentrasi ekstrak paling rendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi*. Adanya perbedaan nilai KHM pada kedua penelitian ini disebabkan perbedaan bakteri uji yang digunakan.

Berdasarkan uji statistik oneway ANOVA diperoleh hasil bahwa ada efektivitas antibakteri ekstrak daun kumis kucing terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Didukung juga dengan hasil posthoc LSD dinyatakan bahwa ada perbedaan yang signifikan diameter hambat antibakteri ekstrak daun kumis kucing antar dua kelompok perlakuan. Hasil penelitian yang dilakukan (Alshawsh et al., 2012) menyatakan bahwa ekstrak daun kumis kucing memiliki efektivitas terutama terhadap bakteri gram positif. Hasil ini juga sejalan dengan penelitian (Rukmana & Mulyowati, 2015) bahwa ekstrak etanolik daun kumis kucing mampu menghambat pertumbuhan dan mampu membunuh bakteri *Salmonella thypi*.

Adanya efektivitas antibakteri dari ekstrak daun kucing terhadap bakteri *Streptococcus mutans* kemungkinan dapat disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung didalamnya. (Singh et al., 2015) menyatakan bahwa daun kumis kucing memiliki banyak mengandung senyawa asam rosmarinik. Senyawa tersebut banyak digunakan sebagai agen antibakteri. Menurut penelitian (Adnyana et al., 2013), beberapa bakteri yang dapat dihambat pertumbuhannya dengan senyawa asam rosmarinik yang diperoleh dari ekstrak daun kumis kucing adalah bakteri *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, dan *Klebsiella pneumoniae*. Ekstrak etanolik daun kumis kucing mengandung senyawa fenolik dan flavonoid. Senyawa-senyawa ini diduga yang menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Senyawa tersebut berikatan dengan protein pada bakteri melalui ikatan non spesifik. membentuk kompleks protein-fenol. Pada konsentrasi rendah, terbentuk kompleks proteinfenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian, kemudian merusak membran sitoplasma dan menyebabkan kebocoran isi sel, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat. Sedangkan pada konsentrasi tinggi, zat tersebut berkoagulasi dengan protein seluler dan membran sitoplasma mengalami lisis.

Senyawa fenol masuk ke dalam sel bakteri melewati dinding sel bakteri dan membran sitoplasma, di dalam sel bakteri senyawa fenol menyebabkan penggumpalan (denaturasi) protein penyusun protoplasma sehingga dalam keadaan demikian metabolisme menjadi inaktif, dan pertumbuhan bakteri menjadi terhambat (Rukmana & Mulyowati, 2015). *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 80% dapat menghambat Hal ini disebabkan adanya peningkatan konsentrasi senyawa fitokimia (Tandra et al., 2020).

Simpulan Dan Saran

Bahwa ada pengaruh efektivitas antibakteri ekstrak daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Aktivitas antibakteri terbaik dari ekstrak daun kumis kucing terhadap *Staphylococcus aureus*.

Daftar Rujukan

- Adnyana, I. K., Setiawan, F., & Insanu, M. (2013). From ethnopharmacology to clinical study of *Orthosiphon stamineus* Benth. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(3), 66–73.
- Al-Shahrani. (2019). Microbiology of dental caries. *A Literature Review. Ann Med Health Sci Res*, 9.
- Alhabdan, Y. A., Albeshr, A. G., Yenugadhathi, N., & Jradi, H. (2018). Prevalence of dental caries and associated factors among primary school children: a population-based cross-sectional study in Riyadh, Saudi Arabia. *Environmental Health and Preventive Medicine*,

23(1), 1–14.

- Alshawsh, M. A., Abdulla, M. A., Ismail, S., Amin, Z. A., Qader, S. W., Hadi, H. A., & Harmal, N. S. (2012). Free radical scavenging, antimicrobial and immunomodulatory activities of *Orthosiphon stamineus*. *Molecules*, *17*(5), 5385–5395.
- Ashraf, K., Halim, H., Lim, S. M., Ramasamy, K., & Sultan, S. (2020). In vitro antioxidant, antimicrobial and antiproliferative studies of four different extracts of *Orthosiphon stamineus*, *Gynura procumbens* and *Ficus deltoidea*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *27*(1), 417–432.
- Ashraf, K., Sultan, S., & Adam, A. (2018). *Orthosiphon stamineus* Benth. is an outstanding food medicine: Review of phytochemical and pharmacological activities. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, *10*(3), 109.
- Azizan, N., Mohd Said, S., Zainal Abidin, Z., & Jantan, I. (2017). Composition and antibacterial activity of the essential oils of *Orthosiphon stamineus* Benth and *Ficus deltoidea* Jack against pathogenic oral bacteria. *Molecules*, *22*(12), 2135.
- Haque, M., Sartelli, M., & Haque, S. Z. (2019). Dental infection and resistance—global health consequences. *Dentistry Journal*, *7*(1), 22.
- Hossain, M. A., & Rahman, S. M. M. (2015). Isolation and characterisation of flavonoids from the leaves of medicinal plant *Orthosiphon stamineus*. *Arabian Journal of Chemistry*, *8*(2), 218–221.
- Kartini, K., Dewi, E. R., Achmad, F., Jayani, N. I. E., Hadiyat, M. A., & Avanti, C. (2020). Thin Layer Chromatography Fingerprinting and Clustering of *Orthosiphon stamineus* Benth. from Different Origins. *Pharmacognosy Journal*, *12*(1).
- Khusuma, A., Safitri, Y., Yuniarni, A., & Rizki, K. (2019). Uji Teknik Difusi Menggunakan Kertas Saring Media Tampung Antibiotik dengan *Escherichia Coli* Sebagai Bakteri Uji. *Jurnal Kesehatan Prima*, *13*(2), 151–155.
- Kolay, S. K., & Kumar, S. (2019). Prevalence of dental caries: Children in Darbhanga population. *Group*, *4068*, 27–35.
- Krzyściak, W., Kościelniak, D., Papież, M., Jurczak, A., & Vyhouskaya, P. (2017). Methods of biotyping of *Streptococcus mutans* species with the routine test as a prognostic value in early childhood caries. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017.
- Lemos, J. A., Palmer, S. R., Zeng, L., Wen, Z. T., Kajfasz, J. K., Freires, I. A., Abranches, J., & Brady, L. J. (2019). The biology of *Streptococcus mutans*. *Gram-Positive Pathogens*, 435–448.
- Nor, N. S. M., & Yasin, R. A. M. (2018). Antibacterial activity of *Orthosiphon stamineus* towards *Staphylococcus aureus* and methicilin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J. Chem. Pharma. Sci.*, 11.
- Rostinawati, T., Aryani, H., & Iskandar, Y. (2018). Identification of bacteria causing dental caries through genetic testing and activity assay of toothpastes. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, *10*(3), 511–513.
- Rukmana, R. M., & Mulyowati, T. (2015). Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etanolik Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus*) pada Bakteri *Streptococcus pyogenes* dan *Salmonella thypi*. *Biomedika*, *8*(2), 15–18.
- Singh, M. K., Gidwani, B., Gupta, A., Dhongade, H., Kaur, C. D., Kashyap, P. P., & Tripathi, D. K. (2015). A review of the medicinal plants of genus *Orthosiphon* (Lamiaceae). *Int J Biol Chem*, *9*(6), 318–331.
- stamineus* Benth, O. (2019). Indonesian Journal of Science and Education. *Indonesian Journal of Science and Education*, *3*(1), 26–33.
- Takahashi, N., & Nyvad, B. (2016). Ecological hypothesis of dentin and root caries. *Caries Research*, *50*(4), 422–431.
- Tandra, T. A., Khairunissa, S., Sim, M., & Florenly, F. (2020). Efek Penambahan Nanokitosan 1% Kedalam Berbagai Konsentrasi Ekstrak Kulit Kelengkeng *Streptococcus Mutans*. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, *11*(1), 403–412.
- WHO. (2020). *Oral health conditions*. <http://www.who.in/new-rooms/fact-sheets/detail/oral>

health

- Young, D. A., Nový, B. B., Zeller, G. G., Hale, R., Hart, T. C., Truelove, E. L., Ekstrand, K. R., Featherstone, J. D. B., Fontana, M., & Ismail, A. (2015). The American Dental Association caries classification system for clinical practice: a report of the American Dental Association Council on Scientific Affairs. *The Journal of the American Dental Association*, *146*(2), 79–86.
- Yulianti, R., Nugraha, D. A., & Nurdianti, L. (2015). Formulasi Sediaan Sabun Mandi Cair Ekstrak Daun Kumis Kucing (Orthosiphon Aristatus (Bl) Miq.). *Kartika: Jurnal Ilmiah Farmasi*, *3*(2), 1–11.
- Zainal-Abidin, Z., Abdul-Wahab, N. A., Ghazi-Ahmad, M. K., & Mohd-Said, S. (2017). In vitro antibacterial activity of Zingiber officinale and Orthosiphon stamineus on Enterococcus faecalis. *Journal of Agricultural Science*, *9*(13), 112–121.