

<b>Research Report</b>
------------------------

## Kemampuan hambat ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) terhadap adhesi bakteri *Streptococcus mutans*

(Ability of temulawak extract (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) to inhibit bacterial adhesion of *Streptococcus mutans*)

Erin Imaniar B.<sup>1</sup>, Sri Kunarti<sup>2</sup> and Widya Saraswati<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mahasiswa Pendidikan Dokter Gigi

<sup>2</sup>Staf Pengajar Departemen Konservasi Gigi Kedokteran Gigi

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

Surabaya-Indonesia

### ABSTRACT

**Background :** *Streptococcus mutans* is the most cariogenic microorganism in the oral cavity. *Streptococcus mutans* has the ability to use dietary carbohydrates, such as sucrose, to synthesize extracellular polysaccharides (glucan and fructan) through glucosyltransferase and fructosyltransferase. Extracellular polysaccharide has a role in promoting the adhesion of bacteria. Chlorhexidine is the gold standard as antiplaque agent but chlorhexidine is not fully able to inhibit the adhesion of bacteria because it has an effect that can increase *gtfC* and *gtfD* expression on *S. mutans* in planktonic form. Temulawak extract (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) contains of curcumin, xanthorrhizol, saponin, flavonoid and tannin that have an effect to inhibit activity and secretion of glucosyltransferase and fructosyltransferase.

**Purpose:** The aim of this study is to find out the ability of temulawak extract (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) to inhibit adhesion of *Streptococcus mutans*. **Method:** This study was designed as an experimental laboratory study with post test only control group design using *Streptococcus mutans*. Temulawak was extracted using maceration method. The number of bacteria that can perform adhesion to the tooth surface can be determined by performing calculations using formulas plate count method. **Result:** Temulawak extract (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) at concentrations of 25%, 37.5%, 50% and chlorhexidine can inhibit bacterial adhesion of *Streptococcus mutans*. **Conclusion:** Temulawak extract at concentration of 50% and 37.5% has the best ability to inhibit the adhesion of bacteria among other treatment groups.

**Keywords:** Temulawak extract, extracellular polysaccharide, adhesion, *Streptococcus mutans*

Korespondensi (correspondence): 1. Erin Imaniar Basar, Mahasiswa Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Jl. Prof. Moestopo 48, Surabaya. E-mail: erinimaniarbasar@gmail.com.

### PENDAHULUAN

Karies gigi merupakan masalah kesehatan dalam rongga mulut yang paling banyak dijumpai. Berdasarkan data Riskesdas 2013, indeks *DMF-T* penduduk Indonesia adalah sebesar 4,6 yang berarti menunjukkan bahwa kerusakan gigi penduduk Indonesia yaitu 460 buah gigi per 100 orang.<sup>1</sup>

Karies gigi merupakan penyakit dengan penyebab multifaktorial yang melibatkan beberapa faktor, yaitu *host* (gigi), substrat (makanan), agen (bakteri), dan waktu. Salah satu bakteri yang dominan dalam rongga mulut dan merupakan bakteri utama penyebab timbulnya plak dan karies gigi adalah *Streptococcus mutans*.<sup>2</sup>

Dental plak atau biofilm pada permukaan gigi merupakan sekumpulan beraneka ragam mikroorganisme pada permukaan gigi, yang melekat kuat pada matriks ekstraseluler *host* dan polimer mikroba. Adapun tahapan dari pembentukan biofilm yaitu adhesi bakteri pada permukaan gigi (0-24 jam), selanjutnya bakteri akan tumbuh (4-24 jam) dan membelah (1-7 hari) kemudian terbentuk suatu biofilm yang matur (1 minggu atau lebih). Proses adhesi bakteri rongga mulut diperantari secara signifikan oleh polisakarida yaitu glukukan dan fruktan. Glukan dan fruktan merupakan tempat perlekatan yang dihasilkan dari pemecahan sukrosa oleh enzim yang dihasilkan oleh *S. mutans*. Sukrosa tersebut akan dihidrolisis menjadi fruktosa dan glukosa,

selanjutnya fruktosa dihidrolisis oleh enzim fruktosiltransferase menjadi fruktan, sedangkan glukosa dihidrolisis oleh glukosiltransferase menjadi glukukan. Adanya glukukan dan fruktan tersebut dapat membantu perlekatan *S. mutans* pada permukaan gigi.<sup>3-6</sup>

Pada penelitian Silva *et al*, menunjukkan adanya perbedaan pengaruh CHX dalam menghambat pembentukan glukukan pada *S. mutans* dalam biofilm dan *S. mutans* dalam bentuk plaktonik. Berdasarkan penelitian tersebut meskipun CHX dapat menghambat pembentukan glukukan pada *S. mutans* dalam biofilm melalui penurunan ekspresi *gtfC* dan *gtfD*, namun sebaliknya CHX justru dapat meningkatkan ekspresi *gtfC* dan *gtfD* pada *S. mutans* dalam bentuk bebas atau planktonik.<sup>5,7</sup> Hal ini membuktikan bahwa CHX tidak sepenuhnya mampu menghambat pembentukan glukukan dan fruktan. Pembentukan glukukan dan fruktan oleh *S. mutans* masih mungkin terjadi meskipun pemberian CHX telah dilakukan.

Saat ini telah banyak dilakukan penelitian mengenai pengaruh beberapa tanaman obat herbal atau bahan alam yang dievaluasi terhadap mikroba mulut.<sup>2</sup> Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) adalah salah satu obat herbal yang populer di Indonesia. Temulawak diketahui mengandung *curcuminoid*, minyak atsiri, saponin, flavonoid dan tanin yang memiliki kemampuan menghambat dan membunuh bakteri. *Xanthorrhizol* (XNT) merupakan komponen dari minyak atsiri temulawak dan merupakan kandungan unik yang membedakan tanaman ini dari *Curcuma* spesies lain.<sup>8</sup>

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan hambat ekstrak temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.) terhadap adhesi bakteri *Streptococcus mutans*.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratoris dengan menggunakan rancangan *post test only control group design*. Pengujian kemampuan hambatan adhesi bakteri *Streptococcus mutans* oleh ekstrak temulawak ini dilakukan menggunakan metode Anggraeni *et al*. (2000).<sup>4</sup>

Sampel pada penelitian ini adalah gigi premolar rahang atas yang bebas karies. Gigi dipreparasi menggunakan *carborundum diamond disk* dan dibentuk dengan ukuran 5 x 4 x 2 mm. Gigi yang telah dipreparasi tersebut kemudian

direndam dalam saliva selama 1 jam pada suhu kamar, sampel gigi diambil dan dibilas dengan larutan PBS untuk selanjutnya dimasukkan kedalam masing-masing tabung perlakuan:

- ✓ Kontrol positif : *BHI* + *S. mutans* (3 ml), sukrosa 1% (1 ml) , *Chorhexidine* 0,12 % (1 ml).
- ✓ Kontrol negatif : *BHI* + *S. mutans* (3 ml), sukrosa 1% (1 ml).
- ✓ Perlakuan I : *BHI* + *S. mutans* (3 ml), sukrosa 1% (1 ml), ekstrak temulawak 25% (1 ml).
- ✓ Perlakuan II : *BHI* + *S. mutans* (3 ml), sukrosa 1% (1 ml), ekstrak temulawak 37,5% (1 ml).
- ✓ Perlakuan III : *BHI* + *S. mutans* (3 ml), sukrosa 1% (1 ml), ekstrak temulawak 50% (1 ml).

Setelah seluruh sampel telah dimasukkan maka selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam, kemudian sampel gigi dipindahkan ke media *BHI* steril dan divorteks, lalu dilakukan pengenceran sampai 10<sup>-3</sup>. Media *BHI* hasil vorteks dimasukkan sebanyak 0,1 ml ke media *TYC* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam untuk mengetahui jumlah koloni yang menempel pada gigi tersebut dan selanjutnya dihitung menggunakan rumus metode hitung cawan.

Adapun cara perhitungan jumlah koloni bakteri menggunakan metode hitungan cawan adalah sebagai berikut.<sup>9</sup>

$$\text{Jumlah bakteri (CFU/ml)} = \frac{\text{Jumlah koloni pada cawan} \times \text{faktor pengenceran}}{0,1\text{ml}}$$

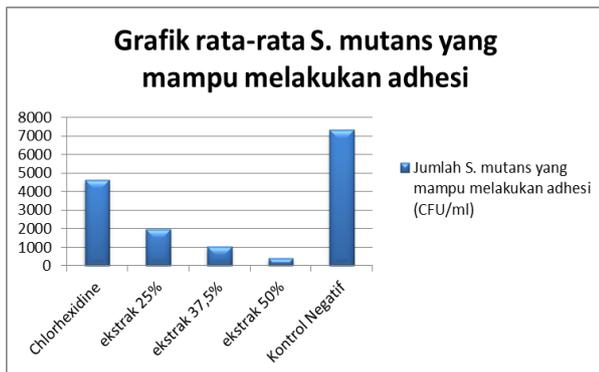
## HASIL

Berdasarkan jumlah koloni pada media *TYC* dan perhitungan menggunakan rumus metode hitung cawan yang terdiri atas kelompok perlakuan *chlorhexidine*, ekstrak temulawak dengan konsentrasi 25%, 37,5% dan 50% serta kelompok kontrol dengan replikasi 4 sampel pada masing – masing kelompok perlakuan, maka diperoleh hasil sebagai berikut.

**Tabel 1.** Nilai rata-rata dan standar deviasi (SD) jumlah *S. mutans* yang mampu melakukan adhesi pada permukaan gigi (CFU/ml)

Kelompok Perlakuan	N	Rata-rata ( $\bar{x}$ )	Standar deviasi (SD)
Kontrol Positif	4	4650	465

(CHX)			
Kontrol Negatif	4	7325	350
Perlakuan I (ekstrak 25%)	4	1975	442
Perlakuan II (ekstrak 37,5%)	4	1050	369
Perlakuan III (ekstrak 50%)	4	400	163



**Gambar 5.1** Grafik rata-rata *S. mutans* yang mampu melakukan adhesi pada semua kelompok perlakuan

Berdasarkan hasil uji normalitas dengan uji *Kolmogorov Smirnov* dapat diketahui bila data pada semua perlakuan mempunyai nilai  $p > \alpha$  ( $\alpha = 0.05$ ) yang berarti data berdistribusi normal, sedangkan pada uji homogenitas didapatkan bahwa nilai  $p = 0,137$ , yang berarti semua kelompok perlakuan tersebut memiliki variansi yang homogen.

Uji perbandingan *mean* dengan *One-Way ANOVA* dilakukan untuk melihat adanya signifikansi perbedaan rata-rata data lebih dari 2 kelompok perlakuan. Berdasarkan analisis data hasil penelitian, diperoleh nilai signifikansinya 0,000 ( $p < 0,05$ ) sehingga dapat dikatakan bahwa ada perbedaan yang bermakna jumlah bakteri *S. mutans* yang melakukan adhesi pada semua kelompok perlakuan.

*Post-Hoc Comparison Test* dengan metode *Tukey HSD* dilakukan untuk membandingkan antar masing-masing kelompok perlakuan, apakah antar 2 kelompok perlakuan tersebut terdapat perbedaan nilai yang bermakna atau tidak. Suatu data dari 2 kelompok perlakuan dianggap ada perbedaan secara bermakna jika nilai signifikansinya kurang dari 0,05. Hasil dari *Post-Hoc Comparison Test* menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna pada semua kelompok perlakuan kecuali pada kelompok konsentrasi 37,5% dan 50%.

**Tabel 2** Nilai p hasil *Post-Hoc Comparison Test*

	Kontrol (+) (CHX)	Kontrol (-)	Perlakuan I (25%)	Perlakuan II (37,5%)	Perlakuan III (50%)
Kontrol (+) (CHX)		0,000	0,000	0,000	0,000
Kontrol (-)			0,000	0,000	0,000
Perlakuan I (25%)				0,023	0,000
Perlakuan II (37,5%)					0,153*
Perlakuan III (50%)					

\*:  $P > 0,05$  sehingga tidak ada perbedaan yang bermakna

## PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris untuk mengetahui kemampuan ekstrak temulawak pada konsentrasi 25%, 37,5% dan 50% dalam menghambat adhesi bakteri *Streptococcus mutans*. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan bakteri *Streptococcus mutans*, sebab bakteri tersebut merupakan mikroorganisme rongga mulut yang paling kariogenik. Hal tersebut disebabkan selain karena bakteri *Streptococcus mutans* memiliki sifat asidogenik (mampu membentuk asam) dan asidurik (tahan terhadap asam), juga karena kemampuan atau kapasitasnya dalam menggunakan *dietary* karbohidrat, seperti sukrosa, untuk mensintesis polisakarida ekstraseluler (glukan dan fruktan). Polisakarida ekstraseluler merupakan faktor virulensi yang cukup penting dari *Streptococcus mutans* karena polisakarida ekstraseluler terutama glukan yang tidak larut bertugas untuk mempromosikan adhesi bakteri.<sup>10</sup>

Penelitian ini menggunakan metode yang dilakukan oleh Anggraeni *et al.* (2005).<sup>4</sup> Adapun hasil pada penelitian ini mengindikasikan adanya kemampuan hambat adhesi bakteri yang baik apabila hasil perhitungan jumlah bakteri menunjukkan nilai yang kecil, sebaliknya kemampuan hambat adhesi bakteri dikatakan buruk bila hasil perhitungan jumlah bakteri menunjukkan nilai yang besar.

Berdasarkan hasil penelitian, pada analisis statistik uji normalitas menunjukkan data berdistribusi normal, sedangkan untuk uji homogenitas dari hasil penelitian menunjukkan data memiliki variasi yang homogen. Hasil uji analisis statistik dengan menggunakan *one-way ANOVA* didapatkan bahwa terdapat perbedaan bermakna jumlah bakteri yang melakukan adhesi antar kelompok perlakuan.

Pada hasil analisis *Tukey HSD* juga dapat diketahui bahwa ekstrak temulawak konsentrasi 25%, 37,5% dan 50% memiliki kemampuan

hambat terhadap adhesi bakteri *Streptococcus mutans* ( $p < 0,05$ ) bila dibandingkan dengan kontrol negatif, sehingga dapat dikatakan pula bahwa hasil pada penelitian ini sesuai dengan hipotesis penelitian. Hal ini kemungkinan dapat disebabkan karena adanya komponen-komponen yang terkandung pada ekstrak temulawak yang menunjang kemampuan dari ekstrak temulawak tersebut sehingga mampu untuk menghambat adhesi dari bakteri *Streptococcus mutans*. Adapun kandungan ekstrak temulawak tersebut antara lain flavonoid, tanin, curcumin *xanthorrhizol*, dan saponin.

Flavonoid terbukti memiliki kemampuan dapat menghambat aktivitas enzim glukosiltransferase (GTF) B dan C serta mampu menghambat produksi asam oleh *Streptococcus mutans* tanpa mempengaruhi kelangsungan hidup bakteri.<sup>11</sup> Senyawa tanin juga diketahui memiliki sifat astringen dapat menyebabkan terjadinya presipitasi pada protein sel bakteri. Sifat astringen dari tanin ini selanjutnya dapat menyebabkan hambatan terhadap aktivitas enzim dari mikroba termasuk enzim glukosiltransferase dan fruktosiltransferase.<sup>12</sup>

Komponen lain dari temulawak yaitu *curcumin* juga memiliki kemampuan dapat mempengaruhi sifat *lipid bilayer* bakteri yang kemudian menyebabkan perubahan pada fungsi membran protein. Perubahan tersebut selanjutnya akan menyebabkan terjadinya modifikasi metabolisme selama pertumbuhan bakteri sehingga akan berdampak pada penurunan kemampuan bakteri untuk dapat mengenali kontak dengan *host*, yang pada akhirnya hal tersebut juga dapat menghambat adesi atau perlekatan bakteri terhadap *host* (permukaan gigi).<sup>13</sup> Saponin juga memiliki kemampuan dalam menghambat adhesi bakteri, yakni dengan melakukan interaksi dengan gugus sterol pada membran sel bakteri gram positif dan gram negatif. Saponin tersebut tidak hanya mampu mengubah tegangan permukaan medium ekstraseluler tetapi juga mengganggu membran sel bakteri tersebut. Sensitivitas dari saponin tergantung pada struktur *aglycone*-nya dan komponen asam lemak dari membran sel bakteri sasaran.<sup>14</sup> Berdasarkan penelitian Rukayadi *et al.* (2006) *xanthorrhizol* yaitu kandungan khas dari ekstrak temulawak, juga menunjukkan aktivitas potensial untuk mengurangi adhesi atau perlekatan *Streptococcus mutans* dalam proses pembentukan biofilm.<sup>15</sup>

Berdasarkan uji *Tukey HSD*, pada penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan

dengan ekstrak temulawak konsentrasi 37,5% dan 50% menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna. Oleh karena itu, berdasarkan hasil uji tersebut dapat dikatakan pula bahwa ekstrak temulawak diantara konsentrasi 37,5% hingga 50% memiliki kemampuan hambat yang sama terhadap adhesi bakteri *Streptococcus mutans* pada permukaan gigi. Hal tersebut dimungkinkan karena ekstrak temulawak pada konsentrasi diantara 37,5% hingga 50% adalah konsentrasi yang paling optimal untuk mampu mengalahkan pengaruh sukrosa dalam merangsang aktivitas enzim glukosiltransferase dan fruktosiltransferase.

Adanya sukrosa dalam rongga mulut secara umum akan merangsang aktivitas enzim glukosiltransferase dan fruktosiltransferase untuk mengubah sukrosa menjadi polisakarida ekstraseluler yaitu glukkan dan fruktan. Hal tersebut akan menyebabkan bakteri mampu melakukan adhesi ke permukaan gigi, namun pengaruh sukrosa tersebut berkebalikan dengan pengaruh dari bahan antiadhesi yaitu dalam hal ini adalah ekstrak temulawak. Ekstrak temulawak justru bekerja dengan menghambat pelepasan maupun menghambat aktivitas dari enzim glukosiltransferase dan fruktosiltransferase, sehingga dengan adanya ekstrak temulawak tersebut menyebabkan enzim glukosiltransferase dan fruktosiltransferase tidak mampu mengubah sukrosa menjadi polisakarida ekstraseluler yang merupakan tempat perlekatan dari bakteri. Oleh karena itu, pada penelitian ini ekstrak temulawak pada konsentrasi 37,5% hingga 50% terbukti merupakan konsentrasi yang paling adekuat untuk mengkompensasi pengaruh sukrosa dalam merangsang aktivitas enzim glukosiltransferase dan fruktosiltransferase, sehingga dengan adanya kemampuan ekstrak temulawak tersebut adhesi bakteri *Streptococcus mutans* ke permukaan gigi dapat dihambat.

Dalam penelitian ini selain menggunakan ekstrak temulawak sebagai bahan uji utama, juga dilakukan pengujian terhadap kemampuan *chlorhexidine* 0,12% sebagai kontrol positif. Hal ini disebabkan karena *chlorhexidine* 0,12% merupakan *gold standard* sebagai agen antiplak dan antingivitis.<sup>16</sup>

*Chlorhexidine* (CHX) memiliki kemampuan dalam menghambat aktivitas enzim glukosiltransferase dan fruktosiltransferase. Berdasarkan penelitian Koo *et al.* (2003) menunjukkan CHX mampu menurunkan pembentukan fruktan, namun sebaliknya pada penelitian Silva *et al.* (2014) menunjukkan bahwa

CHX belum mampu secara maksimal dalam menghambat pembentukan polisakarida ekstraseluler utamanya glukukan dalam rongga mulut. Dalam penelitian tersebut dibuktikan bahwa meskipun CHX dapat menghambat pembentukan glukukan pada *Streptococcus mutans* dalam biofilm, namun sebaliknya CHX justru dapat meningkatkan pembentukan glukukan pada *Streptococcus mutans* dalam bentuk planktonik dengan peningkatan ekspresi gtfC dan gtfD.<sup>7,17</sup>

Berdasarkan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *chlorhexidine* 0,12% mampu menghambat adhesi bakteri namun kemampuannya lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak temulawak dengan konsentrasi 25%, 37,5% dan 50%, sehingga dapat dikatakan bahwa hasil tersebut sesuai dengan penelitian Koo *et al.* (2003) dan Silva *et al.* (2014) diatas. Hal ini kemungkinan berkaitan dengan bentuk bakteri yang digunakan pada penelitian ini yaitu bakteri *S. mutans* dalam bentuk planktonik, sehingga CHX cenderung untuk meningkatkan pembentukkan glukukan dan penghambatan terhadap adhesi bakteri menjadi kurang optimal, sedangkan ekstrak temulawak dengan kandungannya yaitu flavonoid, tanin, curcumin *xanthorrhizol*, dan saponin terbukti lebih adekuat dalam menghambat adhesi bakteri *Streptococcus mutans*. Menurut Silva *et al.* (2014), hal ini disebabkan karena sel-sel planktonik akan mensekresi lebih banyak glukosiltransferase sebagai mekanisme pertahanan terhadap stres bila terkena CHX, sedangkan sebaliknya sel pada biofilm cenderung lebih terlindungi dari bahan antibakteri sehingga mereka tidak perlu menghasilkan lebih banyak gtf bila terkena CHX.<sup>7,17</sup>

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak temulawak pada konsentrasi 25%, 37,5% dan 50% dapat menghambat kemampuan adhesi bakteri *Streptococcus mutans*, dan juga ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) konsentrasi 50% memiliki kemampuan menghambat adhesi bakteri yang sama dengan ekstrak temulawak konsentrasi 37,5%.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Balitbang Kemenkes RI. Riset Kesehatan Dasar: Riskesdas 2013. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI. Hlm. 118.
2. Isnarianti, R., Wahyudi, I.A., Puspita, R.M. *Muntingia calabura* L Leaves Extract Inhibits Glucosyltransferase Activity of *Streptococcus*

- mutans*. Journal of Dentistry Indonesia. 2013; 20(3): 59-63.
3. Alfath, C.R., Yulina, V., Sunnati. Antibacterial Effect of Granati fructus Cortex Extract on *Streptococcus mutans* In Vitro. Journal of Dentistry Indonesia. 2013; 20(1): 5-8
4. Anggraeni, A., Yuliati, A., Nirwana, I. Perlekatan Koloni *Streptococcus Mutans* pada Permukaan Resin Komposit Sinar Tampak. Maj. Ked. Gigi. (Dent. J.) 2005; 38(1): 8-11.
5. Fejerskov, O., Kidd, E. Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management. 2<sup>nd</sup> ed. USA: Blackwell Munksgaard. 2008. Hlm. 166, 269.
6. Fatmawati, D.W.A. Hubungan Biofilm *Streptococcus Mutans* Terhadap Resiko Terjadinya Karies Gigi. Stomatognathic (J.K.G Unej). 2011; 8(3): 127.
7. Silva A.C.B., Stipp r.n., Graner, R.O.M., Sampaio, F.C., Araújo. D.A.M. Influence of Sub-Lethal and Lethal Concentrations of Chlorhexidine on Morphology and Glucosyltransferase Genes Expression in *Streptococcus mutans* UA159. *Advances in Microbiology*. 2014; 4: 945-954
8. Purnamasari, I. W., Astuti, P., Ermawati, T. Viabilitas neutrofil yang diinkubasi dalam ekstrak rimpang temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb) dan dipapar dengan *Streptococcus mutans*. *Dentofasial*. 2014; 13(3):135-140.
9. Wang, N., Strugnell, R., Wijburg, O., Brodnicki, T. Measuring Bacterial Load and Immune Responses in Mice Infected with *Listeria monocytogenes*. *Journal of Visualized Experiments*. 2011; 54: 1-10
10. Margaretha, I. Kajian Senyawa Bioaktif Propolis *Trigona* spp. sebagai Agen Anti Karies Melalui Pendekatan Analisis Kimia Dipandu Dengan *Bioassay*. [DISERTASI]. 2012. Universitas Indonesia
11. Gregoire S, Singh AP, Vorsa N, Koo H. Influence of cranberry phenolics on glucan synthesis by glucosyltransferases and *Streptococcus mutans* acidogenicity. *J Appl Microbiol*. 2007;103(5):1960-8.
12. Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Onoo, T., Iwatsuki, K. Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2001; 48 (4): 487-491.
13. Na, H.S., Cha, M.H., Oh, D.R., Cho, C.W., Rhee, J.H., Kim, Y.R. Protective mechanism of curcumin against *Vibrio vulnificus* Infection.

- FEMS Immunol Med Microbiol 2011; 63: 355-362
14. Patra, A.K., Saxena, J. The effect and mode of action of saponins on the microbial populations and fermentation in the rumen and ruminant production. *Nutrition Research Reviews*. 2009; 22: 204–219
  15. Rukayadi, Y., Hwang, JK. Effect of coating the wells of a polystyrene microtiter plate with xanthorrhizol on the biofilm formation of *Streptococcus mutans*. *J. Basic Microbiol*. 2006; 46(5), 410–415
  16. Balagopal, S., Arjunker R. Chlorhexidine: The Gold Standard Antiplatelet Agent. *Pharm. Sci. & Res*. 2013; 5(12): 270 – 274
  17. Koo, H., Hayacibara, M. F., Schobel, B. D., Cury, J. A., Rosalen, P. L., Park, Y. K., Vacca-Smith, A. M., Bowen, W. H. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm accumulation and polysaccharide production by apigenin and *tt*-farnesol. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003; 52: 782–789