

Research Report

Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) Ekstrak Propolis Lawang terhadap *Candida albicans***(Minimum Fungicidal Concentration (MFC) Propolis Extract from Lawang Againsts *Candida albicans*)**Alvita Wibowo¹, Ira Widjiastuti², Widya Saraswati² and Laksmiari Setyowati²¹Mahasiswa Pendidikan Dokter Gigi²Staf Pengajar Departemen Konservasi Gigi Kedokteran Gigi

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

Surabaya-Indonesia

ABSTRACT

Background: *Candida albicans* is the most resistant fungi in root canals. The existence of *Candida albicans* after root canal treatment can cause the failure of root canal treatment. The prevalence of this case is 36,7%. Propolis is a resinous substance which has many pharmaceutical and biological effects such as antimicrobial activities. Its active components include flavonoid, saponin, and tannin, have an important role in antimicrobial activities. In this study, antifungal aspect of propolis extract was investigated. **Purpose:** The aim of this study was to determine the minimum fungicidal concentration (MFC) of propolis extract againsts *Candida albicans*. **Methods:** This research was a laboratory experimental study. Propolis extract produced by propolis farm from Lawang. The antifungal activity test was performed by colony counting fungi in sabouraud's dextrose agar (SDA) to determine the value of MFC of propolis extract againsts *Candida albicans*. **Result:** At the concentration of 72,5%, 73,5%, 74,5%, 75,5%, 76,5%, and 77,5% there are decreases in the number of *Candida albicans* fungal colonies when compared with positive control group. There are significant differences in each study group ($p < 0,05$). At the concentration of 76,5% was not revealed any fungal growth of *Candida albicans*, it was because the antifungal effect of propolis extract has reached MFC. **Conclusion:** The minimum fungicidal concentration of propolis extract againsts *Candida albicans* is 76,5%.

Keywords: Propolis extract, antimicrobial, *Candida albicans*, Minimum Fungicidal Concentration (MFC).**ABSTRAK**

Latar belakang: *Candida albicans* merupakan jamur paling resisten dalam saluran akar. Keberadaan *Candida albicans* setelah perawatan saluran akar dapat menyebabkan kegagalan perawatan saluran akar. Prevalensi dari kasus ini adalah 36,7%. Propolis merupakan sebuah bahan resin yang memiliki banyak efek farmasi dan biologis seperti aktivitas antimikroba. Kandungan aktif propolis termasuk flavonoid, saponin, and tanin, memiliki peranan penting dalam aktivitas antimikroba. Dalam penelitian ini, aspek antifungi dari ekstrak propolis yang diteliti. **Tujuan:** Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi bunuh minimal ekstrak propolis terhadap *Candida albicans*. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris. Propolis diproduksi dari perkebunan propolis di Lawang. Uji aktivitas antifungi dilakukan dengan menghitung koloni fungi pada sabouraud's dextrose agar (SDA) untuk menentukan nilai KBM dari ekstrak propolis terhadap *Candida albicans*. **Hasil:** Pada konsentrasi 72,5%, 73,5%, 74,5%, 75,5%, 76,5%, and 77,5% terdapat penurunan jumlah koloni *Candida albicans* ketika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Terdapat perbedaan yang signifikan pada antar kelompok ($p < 0,05$). Pada konsentrasi 76,5% tidak ditemukan pertumbuhan jamur *Candida albicans*, hal ini karena efek antifungi dari ekstrak propolis yang telah mencapai KBM. **Simpulan:** KBM dari ekstrak propolis terhadap *Candida albicans* adalah 76,5%.

Kata kunci: Ekstak propolis, antimikroba, *Candida albicans*, Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM).

Korespondensi (correspondence): 1. Alvita Wibowo, Mahasiswa Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Jl. Prof. Moestopo 47, Surabaya. E-mail: alvitawibowo@yahoo.com.

PENDAHULUAN

Mikroorganisme oportunistis patogen yang masuk melalui jaringan pulpa yang terbuka dapat menginfeksi jaringan pulpa dan periapikal. Infeksi saluran akar adalah infeksi polimikroba karena di dalam ruang pulpa selain ditemukan bakteri, juga ditemukan virus dan jamur.¹

Candida albicans adalah spesies jamur yang paling sering didapatkan dalam infeksi saluran akar primer dan pada kegagalan perawatan saluran akar. *Candida albicans* merupakan fungi yang resisten dalam saluran akar. *Candida albicans* juga merupakan spesies yang paling sering didapatkan pada kegagalan perawatan saluran akar dengan periodontitis apikalis yang persisten sebesar 36,7%.²

Candida albicans dapat berpenetrasi ke dalam tubulus dentin, membentuk koloni dan biofilm. *Candida albicans* mempunyai afinitas pada dentin dan *smear layer* sehingga disebut *dentinophilic microorganism*. *Candida albicans* dapat beradaptasi dengan lingkungan yang keras dengan bekerja sama dengan bakteri gram positif fakultatif yaitu *Enterococcus faecalis*.³

Candida albicans memproduksi enzim proteolitik (*aspartyl protease*, kolagenase, dan hyaluronidase), asam, dan fosfat alkanin untuk mendegradasi kolagen dentin dan protein ekstraseluler. *Candida albicans* dapat beradaptasi pada tekanan oksigen yang rendah, pada kondisi *supply* nutrisi yang rendah, serta dapat bertumbuh pada rentang pH 3-8. *Candida albicans* dapat mengubah ekspresi gen dan bentuk morfologi sebagai respon dari perubahan lingkungan.²

Jaringan pulpa yang telah mengalami infeksi harus dilakukan perawatan saluran akar. Perawatan saluran akar adalah perawatan untuk menghilangkan infeksi pada pulpa gigi dan mencegah mikroorganisme menginfeksi atau menginfeksi ulang pulpa gigi atau jaringan periradikular.⁴ Perawatan saluran akar mempunyai tiga tahap dasar yang disebut dengan *endodontic triad* yang terdiri dari preparasi biomekanikal, irigasi dan disinfeksi (kontrol mikrobial), serta obturasi.⁵ *Candida albicans* merupakan fungi yang resisten dalam saluran akar, maka dari itu diperlukan bahan irigasi saluran akar yang memiliki daya antifungi yang tinggi.

Saat ini penggunaan obat mengarah pada obat ekstrak biologis dari tumbuh-tumbuhan atau produk hewan alami untuk mengurangi berbagai aktivitas toksisitas dari bahan kimia. Salah satu ekstrak biologis tersebut adalah propolis. Propolis merupakan produk dari lebah madu yang

merupakan suatu campuran dari lilin lebah, sedikit gula, dan getah pepohonan yang dikumpulkan lebah madu.⁶ Beberapa penelitian menunjukkan propolis memiliki efek antiinflamasi, antibakteri, antivirus, antioksidan, dan *immunomodulatory*, dan antifungi. Propolis terdiri dari 50% resin, 30% wax, 10% minyak esensial dan aromatik, 5% polen, dan 5% bahan organik lainnya.⁷ Aktivitas antifungal dari propolis terdapat pada keberadaan flavonoid, saponin, dan tannin.⁸

Komposisi kimia dari propolis sangat bervariasi karena luasnya lahan tanaman serta terdapat berbagai macam lebah madu.⁹ Berdasarkan perbedaan komposisi ekstrak propolis dan jenis lebah, maka pada penelitian ini digunakan propolis dari Lawang, yaitu propolis yang merupakan produk dari lebah *Apis mellifera*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi bunuh minimal ekstrak propolis lawang terhadap *Candida albicans*.

BAHAN DAN METODE

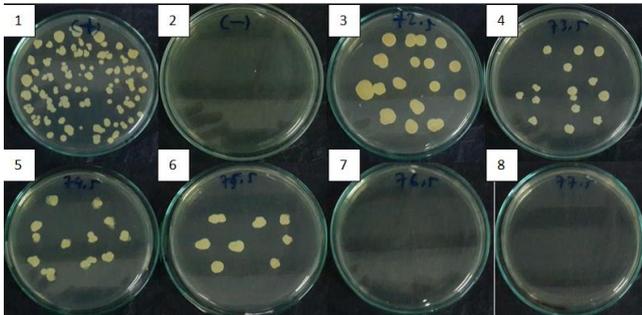
Pada penelitian ini telah dilakukan uji kelaikan etik di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. Sampel penelitian stok *Candida albicans* dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

Candida albicans ditanam ke dalam tabung berisi *Sabouraud's broth* dengan menggunakan ose dan disimpan di dalam inkubator bersuhu 37°C selama 1x24 jam. Kemudian dilakukan standarisasi dengan 0,5 Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml). Metode pengenceran konsentrasi menggunakan metode dilusi. Sampel dibagi dalam kelompok kontrol positif, kontrol negatif, ekstrak propolis dengan konsentrasi 72,5%, 73,5%, 74,5%, 75,5%, 76,5%, dan 77,5%. Pada kontrol positif diisi media dan inokulum *Candida albicans*. Pada kontrol negatif diisi dengan media tanpa ada penambahan ekstrak propolis dan jamur *Candida albicans*. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam (37°C).¹⁰

Dilakukan kultur *Candida albicans* pada media padat *Sabouraud's Dextrose Agar* (SDA) dan diinkubasi selama 48 jam (37°C). Penghitungan koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada media padat SDA secara visual. Setelah itu dilakukan pengolahan dan analisa data menggunakan *Kruskal Wallis Test* ($p < 0,05$) untuk melihat signifikansi perbedaan antar kelompok penelitian.

HASIL

Berdasarkan hasil pengamatan dan perhitungan jumlah koloni jamur *Candida albicans* untuk mengetahui KBM ekstrak propolis terhadap *Candida albicans*, didapatkan hasil yang dapat dilihat pada gambar 1 dan tabel 1.



Gambar 1. Pertumbuhan koloni *C. albicans* tiap-tiap konsentrasi pada media SDA padat dengan teknik streaking 1) Kontrol (+) 2) Kontrol (-) 3) Konsentrasi 72,5% 4) Konsentrasi 73,5% 5) Konsentrasi 74,5% 6) Konsentrasi 75,5% 7) Konsentrasi 76,5% 8) Konsentrasi 77,5%.

Tabel 1. Rerata jumlah koloni *Candida albicans* pada berbagai konsentrasi.

Kelompok Perlakuan	N	x Jumlah Koloni (CFU/ml)	x Jumlah Koloni (%)	SD
Kontrol (+)	3	123,7	100	4,51
Kontrol (-)	3	0	0	0
72,5%	3	20,7	16,73	6,35
73,5%	3	15	12,13	1,00
74,5%	3	12	9,7	1,73
75,5%	3	7	5,66	1,53
76,5%	3	0	0	0
77,5%	3	0	0	0

Pada gambar 1 terlihat hasil penelitian bahwa ekstrak propolis pada konsentrasi 77,5% dan 76,5% memiliki daya bunuh karena menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni sel *Candida albicans*. Pada konsentrasi 76,5% merupakan nilai KBM karena sudah tidak ditemukan pertumbuhan koloni sel *Candida albicans*. Sedangkan pada konsentrasi 74,5% merupakan nilai Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) terhadap *Candida albicans*.

Pada hasil analisis *Kruskal-Wallis test* untuk melihat signifikansi perbedaan antar kelompok perlakuan, diperoleh $p=0,002$ ($p<0,05$)

yang berarti ada perbedaan yang signifikan antar kelompok kontrol positif, kontrol negatif, dan ekstrak propolis dengan konsentrasi 72,5%, 73,5%, 74,5%, 75,5%, 76,5%, dan 77,5%.

Pada tabel 1 menunjukkan bahwa konsentrasi 76,5% didapatkan jumlah koloni yang hidup 0 CFU/ml sehingga dinyatakan sebagai KBM. KBM adalah konsentrasi bunuh minimal yang dapat membunuh 99% dari jumlah koloni pada kontrol positif.

PEMBAHASAN

Salah satu penyebab kegagalan perawatan saluran akar adalah keberadaan mikroorganisme yang resisten dalam saluran akar, salah satunya adalah *Candida albicans*. maka dari itu diperlukan bahan irigasi saluran akar yang memiliki daya antifungi yang tinggi. Propolis memiliki daya antifungi terhadap *Candida albicans*. Oleh sebab itu, pada penelitian ini peneliti ingin mengetahui konsentrasi bunuh minimal (KBM) ekstrak propolis Lawang terhadap *Candida albicans*.

Pada penelitian ini dilakukan perhitungan jumlah koloni jamur *Candida albicans* pada ekstrak propolis dengan konsentrasi 72,5%, 73,5%, 74,5%, 75,5%, 76,5%, dan 77,5%. Pada hasil penelitian menunjukkan rata-rata pertumbuhan koloni *Candida albicans* pada kelompok kontrol positif adalah 123,7 CFU/ml. Rata-rata pertumbuhan koloni *Candida albicans* pada kelompok konsentrasi ekstrak propolis 74,5% adalah 12 CFU/ml yang dapat dinyatakan sebagai konsentrasi hambat minimal (KHM) karena dapat menghambat sebanyak 90% dari jumlah koloni jamur yang berhasil tumbuh pada kontrol positif (Pokorski, 2015). Pada kelompok konsentrasi ekstrak propolis 76,5% sudah tidak didapatkan pertumbuhan koloni *Candida albicans* sehingga dapat dinyatakan sebagai konsentrasi bunuh minimal (KBM) karena dapat membunuh sebanyak 99% jumlah koloni pada kontrol positif.¹¹

Berdasarkan analisis statistik *Kruskal-Wallis test*, diperoleh $p=0,002$ ($p<0,05$) yang berarti ada perbedaan yang signifikan antar kelompok konsentrasi dan menunjukkan adanya perbedaan efektivitas. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak propolis mempunyai efek menghambat dan membunuh *Candida albicans*. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa propolis memiliki daya antifungi.¹² Aktivitas antifungi propolis sangat bervariasi, hal ini karena komposisi kimia dari propolis yang digunakan. Komposisi kimia propolis dipengaruhi oleh wilayah geografis, kondisi iklim, waktu dan

metode panen, luasnya lahan tanaman serta terdapat berbagai macam lebah madu.⁹

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini berupa ekstrak propolis dengan 100% kandungan murni, dimana propolis yang digunakan adalah propolis dari Lawang yang berasal dari lebah *apis mellifera*. Pada penelitian ini dilakukan uji fitokimia di Laboratorium Balai Penelitian dan Konsultasi Industri Surabaya, yang didapatkan kandungan saponin sebesar 2,07%, flavonoid sebesar 2,38%, dan tanin 1,08%, dan *caffeic acid* sebesar 3,62%. *Caffeic acid* memegang peranan penting sebagai bahan antiinflamasi dan *immunomodulatory*. Aktivitas antifungi dari propolis terdapat pada kandungan saponin, flavonoid, dan tannin.¹³

Saponin memiliki daya antifungi. Saponin mengandung gugus polar (hidrofilik) dan non polar (hidrofobik), yang dapat berperan sebagai surfaktan/ sabun/ deterjen yang dapat melarutkan *smear layer*. Sifat surfaktan saponin dapat menyebabkan kematian sel dengan cara menyerang lapis batas sel. Gugus hidrokarbon non polar yang larut dalam lemak (hidrofobik) berikatan dengan sterol membran sel fungi, terutama ergosterol kemudian mengganggu permeabilitas membran sel fungi, sehingga terjadi kebocoran bahan-bahan intra sel seperti enzim-enzim, protein, dan nutrisi yang diperlukan untuk pembentukan ATP. Sel menjadi kekurangan ATP sehingga pertumbuhan terhambat dan sel lisis.¹⁴

Kandungan flavonoid juga memiliki daya antifungi. Flavonoid bekerja dengan cara denaturasi protein yaitu dengan mengikat protein ekstraseluler yang ada dalam dinding sel fungi, kemudian merusak dinding sel fungi dan menghambat kerja enzim. Denaturasi protein menyebabkan gangguan dalam pembentukan sel sehingga merubah komposisi komponen protein yang menyebabkan permeabilitas membran sel meningkat. Hal ini menyebabkan terjadinya kebocoran bahan intrasel, sel menjadi kekurangan ATP, metabolisme sel terganggu, pertumbuhan terhambat, dan sel lisis.¹⁵ Kerusakan sel juga menyebabkan *detachment* dari dinding sel fungi dan penurunan pembentukan *germ tube* dan penurunan pembentukan panjang hifa.¹⁶

Mekanisme antifungi tanin adalah dengan menghambat sintesis khitin yang digunakan untuk pembentukan dinding sel dan merusak membran sel fungi. Kemampuan inhibisi sintesis khitin yang dimiliki oleh tanin disebabkan karena besarnya daya polimerasi yang terdapat pada gugus *hydroxyl* di cincin B dalam struktur kimia

tanin.¹⁷ Tanin juga dapat menghambat biosintesis ergosterol dalam membran sel fungi. Hal ini menyebabkan permeabilitas sel meningkat, sitoplasma keluar dari sel dan volume sel menurun sehingga sel mengkerut. Sel menjadi kekurangan ATP, metabolisme sel terganggu, pertumbuhan terhambat, dan sel lisis. Tanin juga dapat menghambat proses *budding yeast* dan menghambat pembentukan pseudohifa.¹⁸

Ekstrak propolis dengan konsentrasi 76,5% tidak hanya mampu membunuh jamur *Candida albicans*, tetapi juga beberapa bakteri yang berada dalam saluran akar karena memiliki daya antibakteri. Berdasarkan penelitian sebelumnya, diketahui bahwa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) larutan propolis (Melia propolis) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* adalah 6,25% (Santoso *et al.*, 2012). Ekstrak propolis Lawang terhadap *Fusobacterium nucleatum* memiliki KHM 1,48% dan KBM 1,54%.¹⁹

Propolis memiliki beberapa manfaat, selain sebagai bahan antibakteri dan antifungi, juga sebagai bahan antiinflamasi, antivirus, antioksidan dan *hepatoprotective*. Propolis memiliki kandungan yang potensial untuk dikembangkan sebagai bahan irigasi saluran akar. Propolis mengandung saponin yang dapat melarutkan *smear layer*. Selain itu, saponin dapat menurunkan tegangan permukaan sehingga permeabilitas dentin meningkat yang dapat mempermudah penetrasi bahan adhesif. Kandungan flavonoid memiliki sifat anti alergi dan antiinflamasi. *Caffeic acid phenyl ester* (CAPE) berperan sebagai antioksidan, *anti-oncogenic*, dan dalam penyembuhan luka. Antiinflamasi dan antioksidan dari propolis dapat meningkatkan penyembuhan jaringan periapikal.⁸ Keseluruhan manfaat tersebut diatas diperlukan sebagai persyaratan bahan irigasi saluran akar yang ideal.^{20,21}

Terdapat variasi komposisi kimia yang menonjol antara propolis yang berasal dari satu daerah dengan yang berasal dari daerah lain. Pada penelitian sebelumnya, ditemukan bahwa propolis Mesir mengandung *phenolic acid esters* (72,7%), *phenolic acids* (1,1%), *aliphatic acids* (2,4%), *dihydrochlacones* (6,5%), *chlacones* (1,7%), *flavonones* (1,9%), *flavones* (4,6%), dan *tetrahydrofuran derivatives* (0,7%), sehingga kandungan terbesar dalam propolis Mesir adalah *phenolic acid esters*. Pada propolis USA terdapat beberapa vitamin seperti vitamin B1, B2, B6, asam nikotik, asam pantotik, dan ribloflavin.

Propolis Jerman memiliki peranan yang tinggi sebagai bahan antimikroba, khususnya dalam melawan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Propolis Austria memiliki kehebatan dalam melawan *Candida albicans*.⁶ Propolis Brazil memiliki KHM antara 0,2-125µg/mL dan KBM antara 125-500 µg/mL.²² Kandungan terbesar dalam propolis Lawang adalah *Caffeic acid* yang memegang peranan dalam antiinflamasi dan *immunomodulatory*, sedangkan aktifitas antifungi tertinggi ada dalam kandungan flavonoid.¹³ Ekstrak propolis Lawang dengan konsentrasi 76,5% merupakan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) terhadap *Candida albicans*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Widjiastuti I, Sutopo ML. 2008. Efektivitas H₂O₂ 3% dan Chlorhexidine Gluconate 0,2% sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar Gigi Nekrose. *Endo Restorasi Jurnal Ilmu Konservasi Gigi*; 1(1): 18-22.
2. Ghogre P. 2014. Endodontic Mycology : A New Perspective of Root Canal Infection. *Research and Reviews : Journal of Dental Sciences*; 2(1):43-47.
3. Peciuliene V, Maneliene R, Balcikonyte E, Drukteinis S, Rutkunas V. 2008. Microorganisms in Root Canal Infections : A Review. *Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal*; 10(1):4-9.
4. Narayan LL, Vaishnavi C. 2010. Endodontic Microbiology. *Conserv Dentistry J*; 13(4): 233-239.
5. Krasner P, Rankow HJ, Abrams ES. 2010. *Endodontics Colleagues for Excellence : Access Opening and canal Location*. Available from : https://www.aae.org/uploadedfiles/publication_s_and_research/endodontics_colleagues_for_excellence_newsletter/ecfespring2010_final.pdf. [April 10, 2016].
6. Susilo B, Mertaniasih NM, Koendhori EB, Agil M. 2009. Komposisi Kimiawi dan Aktivitas Antimikroba Propolis dari Malang Jawa Timur. *Jurnal Penelitian Med. Eksakta*; 8(1): 23-30.
7. Huang S, Zhang C, Wang K, LI G, HU F. 2014. Recent Advances in the Chemical Composition of Propolis. *Molecules Journal*; 19:19610-19632.
8. Ramani N, Mathew S. 2012. Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine Digluconate and Propolis when Used as an Intracanal medicament : ez vivo study. *JIOH*; 4(2):17-21.
9. Chandna P, Adhlaka VK, Das S, Singh S. 2014. Complementary and Alternative Medicine (CAM) : A Review of Propolis in Dentistry. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*; 2(6):670-685.
10. Muthoharoh A, Zainab. 2015. Penapisan Fitokimia, Penetapan Kadar Naftokuinon Total, dan Aktivitas Antifungi Fraksi Tidak Larut Etil Asetat Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.) Terhadap *Candida albicans* ATCC 10231. *Pharmaciana*; 5(2):199-208.
11. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. 2016. Review Paper : Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity : A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*; 6 (2016):71-79.
12. Miguel MG, Antunes MD. 2011. Is Propolis Safe as an Alternative Medicine? *J Pharm Bioallied Sci*; 3(4):479-495.
13. Agrawal N, Gupta ND, Tewari RK, Garg AK, Singh R. 2014. Oral Health Form Hive: Potential Uses Of Propolis In Dentistry. *Biolife*; 2(4):1110-1116.
14. Retnowati Y, Bialangi N, Posangi NW. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media Yang Diekspos dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Saintek*; 6(2):1-9.
15. Clara C, Matasyoh JC, Wagara IN, Nakavuma J. 2014. Antifungal Activity of Flavonoids Isolated from *Monanthotaxis littoralis* Against Mycotoxigenic Fungi from Maize. *American Journal of Chemistry and Application*; 1(4):54-60.
16. Chua EG, Parolia A, Ahlawat P, Pau A, Amalraj D. 2014. Antifungal Effectiveness of Various Intracanal Medicaments Against *Candida albicans* : an ex-vivo study. *BMC Oral Health*; 14(53):1-8.
17. Ismarani. 2012. Potensi Senyawa Tannin dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah*; 3(2):46-55.
18. Lim SH, Darah I, Jain K, Sulaiman S. 2011. Gallic Acid : An Anticandidal Compound in Hydrolysable Tannin Extracted from The Barks of *Rhizophora apiculata* Blume. *Journal of Applied Pharmaceutical*; 1(6):75-79 .

19. Mayangsari A. 2013. *Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) Ekstrak Propolis Lawang terhadap Fusobacterium nucleatum*. Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. p. 38.
20. Neha S, Jyoti L, Manoj C, Ajay S. 2014. Chlorhexidine Gluconate- A Promising Endodontic Irrigant : A Riview. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*; 13(1):40-44.
21. Widjiastuti I, Suardita K, Saraswati W. 2014. The Expressions of NF- κ B and TGF β -1 on Odontoblast-Like Cells of Human Dental Pulp Injected With Propolis Extracts. *Dent. J. (Maj. Ked. Gigi)*; 47(1):13-18.
22. Freires IA, Queiroz VC, Furletti VF, Ikegaki M, de Alencar SM, Duarte MC, Rosalen PL. 2016. Chemical Composition and Antifungal Potential of Brazillian Propolis Againts *Candida* spp. *J Mycol Med*; 26(2):122-132.