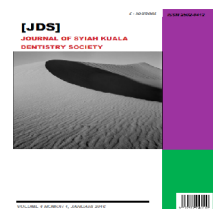




[JDS]  
JOURNAL OF SYIAH KUALA  
DENTISTRY SOCIETY

Journal Homepage : <http://jurnal.unsyiah.ac.id/JDS/>  
E-ISSN : 2502-0412



## PENGARUH AIR REBUSAN DAUN SALAM (*Eugenia polyantha wight*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Enterococcus faecalis*

Rachmi Fanani Hakim<sup>1\*</sup>, Fakhurrrazi<sup>1</sup>, Wahyuda Ferisa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Staf pengajar Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Syiah Kuala

<sup>2</sup> Program Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Syiah Kuala

### Abstract

*Enterococcus faecalis* is one of oral normal flora that has the ability to invade into the tubules dentin and able to survive in acidic and alkaline environments within the root canal. Bay leaves is one kind of medicine antimicrobial plant that have chemical constituents such as tannins, flavonoids, essential oils, steroids, saponins and alkaloids. The purpose of this study was to determine the effect of water stewed of leaves at the concentration of 50%, 75% and 100% of the bacteria *Enterococcus faecalis*. *Enterococcus faecalis* that have been cultured in CHROM VRE Base Vorcomycin was incubated at 37°C anaerobically. *Enterococcus faecalis* that have been cultured and identified exposed to the bay leaves stew water by standard plate count method on MHA. The results of statistical analysis using one-way ANOVA available the value of  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ), so can be concluded that stew water bay leaves has effect on *Enterococcus faecalis* growth. The effect of Stewed Water Bay Leaves on *Enterococcus faecalis* was increased, by increasing its concentration 50%, 75%, and 100% in a row.

**Keyword:** Antibacterial, *Enterococcus Faecalis*, Stew Of Bay Leaves

### PENDAHULUAN

Rongga mulut merupakan salah satu tempat dalam tubuh yang mengandung mikroorganisme dengan populasi dan keanekaragaman paling tinggi dibanding tempat lain.<sup>1</sup> Mikroorganismenya yaitu *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecalis* merupakan spesies yang paling umum dan menyebabkan 85-90% infeksi enterokokus. Enterokokus adalah salah satu penyebab infeksi nosokomial yang paling sering, terutama di unit perawatan intensif, dan ditularkan dari satu pasien ke pasien lainnya.<sup>2</sup>

*Enterococcus faecalis* adalah gram positif yang bersifat fakultatif anaerob serta bagian dari flora normal mulut.<sup>3,4</sup> *Enterococcus faecalis* memiliki kemampuan untuk berinvansi ke dalam tubulus dentin, sehingga medikamen saluran akar sangat sulit untuk mengeliminasi.<sup>5</sup> Bakteri tersebut juga memiliki kemampuan untuk bertahan di lingkungan asam dan basa di dalam saluran akar. *Enterococcus faecalis* resisten pada kedua lingkungan tersebut, lingkungan asam seperti dentin karies termasuk saluran akar, dan lingkungan basa seperti saluran akar diobati dengan  $\text{Ca(OH)}_2$ .<sup>4</sup> Bakteri ini juga merupakan bakteri yang resisten terhadap bahan antimikrobal yang umum digunakan sering diisolasi dari perawatan saluran akar yang gagal.<sup>6</sup>

\* Corresponding author

Email address : [rachmifananihakim@yahoo.com](mailto:rachmifananihakim@yahoo.com)

Saat ini obat-obatan antimikroba alternatif mulai banyak diteliti dan ditemukan aktivitas antimikroba khususnya antibakteri pada tanaman rempah-rempah. Daun salam (*Eugenia polyantha wight*) merupakan salah satu jenis tanaman obat antimikroba. Beberapa bahan kimia yang bersifat antimikroba yang didapat dari daun salam (*Eugenia polyantha wight*) adalah Phenol, Quinone, Flavonoid, Tanin, Coumarin, Terpenoid, Minyak atsiri, Lectin, Polypeptida, Alkaloid, Polyamine, Isothiocyanate, Thiosulfinate, Glucoside dan Polyacetylene.<sup>7,8</sup> Bagian tanaman salam yang paling banyak dimanfaatkan adalah daunnya dan daun salam juga berfungsi sebagai obat kumur. Winarto (2004) menyatakan bahwa daun salam mempunyai kandungan kimia yaitu tanin, flavonoid, dan minyak atsiri 0,05% yang terdiri dari eugenol dan sitral.<sup>2</sup>

Kandungan kimia daun salam merupakan bahan aktif yang mempunyai efek farmakologi. Tanin dan flavonoid merupakan bahan aktif yang mempunyai efek anti-inflamasi dan antimikroba, sedangkan minyak atsiri mempunyai efek analgesik.<sup>1,9</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Sumono dan Wulan (2009) membuktikan bahwa kemampuan air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha wight*) dengan konsentrasi 50%, 75%, dan 100% dapat menurunkan jumlah koloni bakteri *Streptococcus sp*, semakin tinggi konsentrasi rebusan daun salam, jumlah koloni bakteri *Streptococcus sp*, semakin sedikit.<sup>1</sup> Penelitian lain oleh Noveriza dan Miftakhurohmah juga membuktikan bahwa ekstrak methanol daun salam dapat menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum*, meskipun persentase penghambat tertinggi hanya sebesar 57,16 % pada konsentrasi 5%.<sup>10</sup>

Berdasarkan uraian di atas maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha wight*) dengan konsentrasi 50%, 75% dan 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*.

## BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorii dengan desain penelitian *post test only control group* untuk mengetahui pengaruh air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha wight*) pada berbagai konsentrasi terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*. Sampel pada penelitian ini adalah isolat *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan (FKH) Universitas Syiah Kuala Banda Aceh, daun salam (*Eugenia polyantha wight*) yang berada di Lambhuk Banda Aceh.

Kultur *Enterococcus faecalis* dilakukan pada media CHROM-agar VRE diinkubasi 48 jam pada suhu 37°C.<sup>11,12</sup> Identifikasi *Enterococcus faecalis* dengan pewarnaan Gram. Preparat yang kering diamati di bawah mikroskop cahaya untuk mengkonfirmasi warna *Enterococcus faecalis* sebagai Bakteri Gram positif.<sup>11,13</sup>

*Enterococcus faecalis* yang telah dibiakkan di media CHROM-agar VRE Base Non-vancomycin, selanjutnya diambil dengan jarum ose 1-2 dan disuspensikan ke dalam tabung reaksi berisi NaCl 0,9% 5 ml. Kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Kekeruhan suspensi bakteri disetarakan dengan larutan Mc. Farland (3 x 10<sup>8</sup> CFU/ml). *E. faecalis* lalu diinkubasi dalam inkubator selama 48 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan setelah 48 jam dengan cara menghitung koloni *Enterococcus faecalis* yang tumbuh pada media dengan *colony counter*. Tabung yang dipilih adalah yang memiliki jumlah koloni 30-300 koloni bakteri.<sup>11</sup>

Untuk Pembuatan Air Rebusan Daun Salam bahan yang diperlukan untuk mendapatkan air rebusan adalah akuades dan simplisia kering daun salam. Simplisia kering dibuat dengan cara daun salam yang masih segar dari daun yang sudah warna hijau tua, dicuci bersih, kemudian dikeringkan dengan cara dianginkan (jangan terkena sinar matahari). Daun salam yang telah kering dihaluskan dengan blender sehingga menjadi serbuk kering. Sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati dengan

air pada suhu 90°C selama 15 menit. Konsentrasi infusum 100% didapatkan dengan cara larutan yang telah didapat diuapkan sampai volume menjadi 15 ml, selanjutnya larutan infusum diencerkan menggunakan akuades steril sesuai konsentrasi 50%, 75%.<sup>14</sup>

Uji Pengaruh Air Rebusan Daun Salam Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. Lima tabung reaksi disiapkan dan ditandai sesuai konsentrasi yang digunakan. Tabung 1 diisi dengan chlorhexidine 2% (kontrol positif), tabung 2 diisi akuades steril (kontrol negatif), tabung 3 diisi air rebusan daun salam konsentrasi 50%, tabung 4 diisi air rebusan daun salam konsentrasi 75% dan tabung 5 diisi air rebusan konsentrasi 100%. Kemudian setiap tabung diisi 0,5 ml suspensi *Enterococcus faecalis* yang sudah dilakukan pengenceran menggunakan pipet *ependorf* dan dimasukkan ke dalam masing-masing tabung lalu dihomogenkan menggunakan vortex. Selanjutnya dari masing-masing tabung diambil 0,1 ml suspensi *Enterococcus faecalis* dengan menggunakan pipet *ependorf*. Cawan petri diberi label sesuai dengan label pada tabung dan diteteskan ke cawan petri untuk ditanam di media MHA dengan metode *spread plate* menggunakan batang L. Lalu diinkubasi dalam inkubator selama 48 jam pada suhu 37°C dengan suasana anaerob. Selanjutnya 48 jam jumlah koloni pada media MHA dihitung dengan colony counter.<sup>11</sup>

Analisis data hasil penelitian dilakukan dengan uji one way ANOVA satu arah untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh atau tidak pada tiap kategori perlakuan. Jika terdapat pengaruh maka dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD) untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan yang bermakna.<sup>15</sup>

## HASIL

Pada penelitian ini, pengujian pengaruh air rebusan daun salam terhadap pertumbuhan koloni *Enterococcus faecalis* dilakukan pada media MHA dan setiap perlakuan diulang

sebanyak tiga kali. Hasil dari pengujian ini, pertumbuhan koloni bakteri *Enterococcus faecalis* setelah dibagi dengan tingkat pengencerannya (10-6) maka diperoleh jumlah rata-rata pertumbuhan koloni terbanyak pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi 50% yaitu  $21 \times 10^6$  CFU/ml, dan pertumbuhan koloni yang paling sedikit berada pada konsentrasi 100% yaitu  $4 \times 10^6$  CFU/ml, sedangkan pada kelompok kontrol positif (CHX 2%) tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri dan kelompok kontrol negatif (akuades) terdapat pertumbuhan bakteri sebanyak  $62,3 \times 10^6$  CFU/ml. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 1.

Hasil uji normalitas menunjukkan distribusi dan homogenitas varian data penelitian adalah normal dengan nilai  $p > 0,05$ . Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai  $p < 0,05$ , membuktikan terdapatnya pengaruh dari kelompok uji terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. Hasil uji lanjut Least Significant Difference ditunjukkan pada tabel 2.

Pada Tabel 2 menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada tiap konsentrasi air rebusan daun salam 50%, 75% dan 100% terhadap kontrol negatif akuades. Konsentrasi air rebusan daun salam 100% tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif CHX.

Tabel 1. Jumlah Koloni Enterococcus faecalis Setelah Diuji dengan Air Rebusan Daun Salam

Konsentrasi Bahan Uji	Jumlah Koloni (CFU/ml)			Rata-Rata Jumlah Koloni E.faecalis (CFU/ml)
	P1	P2	P3	
Akuades	64 x 10 <sup>6</sup>	51 x 10 <sup>6</sup>	72 x 10 <sup>6</sup>	62,3 x 10 <sup>6</sup>
CHX 2%	0	0	0	0
50%	15 x 10 <sup>6</sup>	20 x 10 <sup>6</sup>	28 x 10 <sup>6</sup>	21 x 10 <sup>6</sup>
75%	12 x 10 <sup>6</sup>	19 x 10 <sup>6</sup>	21 x 10 <sup>6</sup>	17,3 x 10 <sup>6</sup>
100%	5 x 10 <sup>6</sup>	1 x 10 <sup>6</sup>	6 x 10 <sup>6</sup>	4x 10 <sup>6</sup>

Keterangan: P. Pengulangan, CFU (Colony Forming Unit) suatu mikroba yang membentuk suatu koloni dalam ml.

Tabel 2. Tabel uji Least Significant Difference (LSD)

Kelompok Perlakuan	50%	75%	100%	Akuades	CHX
50%	-	0,35	0,00*	0,00*	0,00*
75%	0,35	-	0,01*	0,00*	0,00*
100%	0,00*	0,01*	-	0,00*	0,38
Akuades	0,00*	0,00*	0,00*	-	0,00*
CHX 2%	0,00*	0,00*	0,38	0,00*	-

\* =p<0,05, terdapat perbedaan bermakna

## PEMBAHASAN

Pada penelitian ini daun salam (*Eugenia polyantha wight*) menggunakan air rebusan. Bahan yang diperlukan untuk mendapatkan air rebusan adalah akuades dan simplisia kering daun salam. Simplisia kering didapat dengan cara daun salam (*Eugenia polyantha wight*) dipanen dengan memotong dahan pohonnya, dipisahkan dari tangkainya, selanjutnya dicuci dengan air bersih, ditiriskan dan dikeringkan dengan cara dianginkan (tidak terkena sinar matahari). Daun salam yang telah kering dihaluskan dengan blender sehingga menjadi serbuk kering.<sup>16,14</sup> Sediaan cair yang dibuat dengan air rebusan simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Pembuatan air rebusan daun salam dilakukan sesuai tahapan,

daun salam ditimbang dengan timbangan analitik sebesar 15 gram, setelah itu daun salam diletakkan dalam panci infus dan ditambahkan akuades sebanyak 150 ml, kemudian dipanaskan dalam panci infus selama 15 menit dengan suhu 90°C, setelah itu larutan disaring menggunakan kain kasa steril. Konsentrasi infusum 100% didapatkan dengan cara larutan yang telah didapat diuapkan sampai volume menjadi 15 ml, selanjutnya larutan infusum diencerkan menggunakan akuades steril sesuai konsentrasi 50% dan 75%.<sup>14,17</sup>

Hasil kultur bakteri setelah diinkubasi dalam keadaan anaerob selama 48 jam pada suhu 37°C menunjukkan bahwa bakteri yang tumbuh pada media selektif CHROM-Agar VRE Base Non-vancomycin adalah

*Enterococcus faecalis*. Hal ini terlihat dari warna yang terbentuk yaitu biru kehijauan yang disebabkan karena CHROM-Agar VRE Base Non-vancomycin memiliki komponen chromogenic mix yang mengandung x-glucoside sebagai chromogen. Chromogen x-glucoside ini digunakan untuk mengidentifikasi *Enterococcus faecalis* dengan cara memecah chromogen x-glucoside yang ada pada media oleh enzim  $\beta$ -glukosidase yang dimiliki *Enterococcus faecalis*, sehingga menghasilkan warna biru kehijauan.<sup>18,19</sup>

Tahap selanjutnya adalah konfirmasi *Enterococcus faecalis* dengan pewarnaan Gram. Hasil pewarnaan Gram *Enterococcus faecalis* yang telah dikultur pada media CHROM-Agar VRE Base Non-vancomycin menunjukkan warna ungu dengan bentuk kokus berantai pendek. Warna ungu yang terbentuk menunjukkan bahwa *Enterococcus faecalis* merupakan bakteri Gram-positif, hal ini disebabkan karena bakteri Gram-positif memiliki struktur dinding sel. Pemberian kristal violet menyebabkan seluruh permukaan bakteri terwarnai bakteri Gram-positif. Penambahan Ieugol's iodine akan menghasilkan ikatan kristal violet dengan iodine yang akan meningkatkan kemampuan pengikatan zat warna oleh bakteri. Tetapan etanol 96% menyebabkan terbentuknya pori-pori karena lapisan lipid larut dalam etanol sehingga kompleks kristal violet-iodine akan lepas dari permukaan sel. Pada bakteri Gram-positif hanya terbentuk pori-pori kecil sehingga kompleks Kristal violet-iodine yang berwarna ungu dapat dipertahankan. Pemberian safranin yang berwarna merah tidak akan berpengaruh pada bakteri Gram-positif.<sup>11,18</sup>

Pengujian pengaruh air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha wight*) terhadap *Enterococcus faecalis*. Dengan metode dilusi digunakan untuk menentukan pengaruh air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha wight*) terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. Metode serial dilution adalah proses pengenceran bertingkat yang bertujuan untuk memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba dalam suatu cairan. Setelah pengenceran bertingkat selesai dan diperoleh

tingkat pengenceran yang sesuai dengan syarat metode Standard Plate Count (SPC), cawan yang dipilih adalah cawan yang memiliki pertumbuhan bakteri berkisar 30-300 koloni/cawan, suspensi pada tingkat pengenceran tersebut dicampurkan dengan air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha wight*) yang telah disiapkan sesuai dengan konsentrasi pengenceran yang diharapkan untuk dilihat pengaruh air rebusan daun salam dari *Enterococcus faecalis*.<sup>11,18</sup>

Pada penelitian ini, hasil uji pengaruh air rebusan daun salam (*Eugeniapolyantha wight*) terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis* menunjukkan bahwa pengaruh air rebusan daun salam mampu menghambat pertumbuhan *Enterococcus faecalis* pada setiap konsentrasi. Hal ini dibuktikan dengan menurunnya jumlah koloni *Enterococcus faecalis* yang tumbuh di setiap konsentrasi perlakuan jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Hasil perhitungan rata-rata jumlah koloni *Enterococcus faecalis* yang tumbuh secara berurutan pada konsentrasi 50% yaitu  $21 \times 10^6$  CFU/ml, 75% yaitu  $17,3 \times 10^6$  CFU/ml, 100% yaitu  $4 \times 10^6$  CFU/ml, kontrol negatif yaitu  $62,3 \times 10^6$  CFU/ml dan kontrol positif yaitu 0 CFU/ml. Seperti terlihat pada tabel 1 yang menunjukkan meningkatnya konsentrasi air rebusan daun salam menyebabkan penurunan jumlah koloni bakteri *Enterococcus faecalis*. Konsentrasi terendah yang dapat menurunkan jumlah koloni bakteri *Enterococcus faecalis* dibanding dengan kontrol negatif adalah pada konsentrasi 50%. Kemampuan air rebusan daun salam dalam menghambat pertumbuhan bakteri juga telah diuji oleh beberapa peneliti sebelumnya dengan menggunakan bakteri yang berbeda. Penelitian yang dilakukan oleh Sumono dan Wulan (2009) menunjukkan air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha wight*) pada konsentrasi 50%, 75% dan 100% dapat menurunkan jumlah koloni bakteri *Streptococcus sp.* Penelitian lain oleh Noveriza dan Miftakhurohmah juga membuktikan bahwa ekstrak methanol daun salam dapat menghambat pertumbuhan *F. Oxysporum*.<sup>10</sup>

Hasil penelitian ini dan beberapa penelitian sebelumnya juga telah



membuktikan bahwa daun salam (*Eugenia polyantha wight*) memiliki antibakteri karena memiliki senyawa aktif berupa saponin, triterpenoid, flavonoid, polifenol, alkaloid, tanin dan minyak atsiri.<sup>19, 20</sup> Saponin bersifat antibakteri dengan mengganggu permeabilitas membran sel bakteri dapat menyebabkan kerusakan dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen yang ada pada sel bakteri yaitu protein, asam nukleat dan nukleotida.<sup>21</sup> Triterpenoid merupakan senyawa yang dapat memberikan bau atau aroma khas pada tanaman, walaupun mekanisme kerja triterpenoid sebagai bahan antibakteri belum diketahui dengan baik, akan tetapi senyawa tersebut diduga terlibat dalam perusakan membran sel oleh senyawa lipofilik.<sup>22</sup> Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraselular yang mengganggu integritas membran sel bakteri dan kematian sel.<sup>23,14,24</sup> Polifenol merupakan senyawa golongan dari fenol yang berperan merusak membran sitoplasma bakteri, sehingga menyebabkan ketidakstabilan fungsi pengendalian susunan protein dari sel bakteri.<sup>18</sup> Alkaloid bersifat antibakteri dengan sifatnya yang basa sehingga mempengaruhi tekanan osmotik antara bakteri dengan lingkungan hidupnya.<sup>25</sup> Senyawa tanin diketahui mampu menghambat enzim DNA-topoisomerase yang mengakibatkan terhambatnya proses replikasi bakteri. Tanin juga mempunyai mekanisme mempresipitasi protein bakteri dan menginaktivasi protein transpor pada dinding sel bakteri, sehingga akan merusak dinding sel bakteri.<sup>20,24</sup> Minyak atsiri disebabkan oleh senyawa fenol dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel bakteri dengan melarutkan lemak yang terdapat pada dinding sel. Terjadinya kerusakan pada membran sel mengakibatkan terhambatnya aktivitas dan biosintesa enzim-enzim spesifik yang diperlukan dalam reaksi metabolisme dan kondisi ini pada akhirnya menyebabkan kematian pada bakteri.<sup>14,22</sup>

Penelitian ini menggunakan akuades sebagai kontrol negatif dan CHX 2% sebagai kontrol positif. Berdasarkan hasil uji pengaruh air rebusan daun salam terdapat jumlah koloni *Enterococcus faecalis* menunjukkan jumlah

koloni air rebusan daun salam 50% telah mampu menghambat pertumbuhan koloni bakteri dibanding kontrol negatif. Pada konsentrasi 75% air rebusan daun salam menunjukkan peningkatan kemampuan untuk menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Enterococcus faecalis* dibandingkan dengan konsentrasi 50% dan konsentrasi 100% juga lebih banyak menghambat pertumbuhan koloni *Enterococcus faecalis* dibanding pada konsentrasi 50% dan 75%. Namun, konsentrasi air rebusan daun salam tidak mampu menghambat pertumbuhan koloni secara keseluruhan seperti pada kontrol positif (CHX 2%) karena CHX 2% mengandung sifat bakterisid dan bakteriostatik dengan merusak integritas sel membran yang menyebabkan pengendapan cairan sitoplasma, CHX 2% lebih efektif terhadap *Enterococcus faecalis*.<sup>26,27</sup> Dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa *Eugenia polyantha wight* memiliki antibakteri berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan *Enterococcus faecalis*.

## KESIMPULAN

Air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha wight*) berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. Pengaruh air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha wight*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* meningkat dengan bertambah konsentrasi berturut-turut mulai konsentrasi 50%, 75% dan 100%.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Sumono A dan Wulan A. Kemampuan air rebusan daun salam (*Eugenia polyantha w*) dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Streptococcus* Sp. *Majalah Farmasi Indonesia* 2009;20:112-118.
2. Jewetz, Melnick, dan Adelberg. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 32 Jakarta : EGC; 2008:245.
3. Ahangari Z, Eslami G, Ghannad S. *In vitro antimicrobial activity of propolis in comparison with calcium hydroxide*

- against *Enterococcus faecalis*. *J Dent Sch* 2012;30:9-17.
4. Nakajo K, Komori R, Ishikawa S, Ueno T, Suzuki Y, Iwami Y, Takahashi N. Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen *Enterococcus faecalis*. *Oral Microbiology Immunology* 2006;21:283-288.
  5. Love RM. Invasion of dentinal tubules by root canal bacteria. *Endodontic Topics* 2004;9:52-56.
  6. Zolleti, Siquera J, Santos. Identification of *Enterococcus faecalis* in root- filled teeth with or without periradikular lesion by culture-dependent and- independent approaches clinical research. *JOE* 2006; 32:722-726.
  7. WO Cendranata, K Djamhari M, P Endah A. Daya hambat ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap populasi bakteri pada ulser Recurrent apthous stomatitis. *Jurnal PDGI* 2012; 61:20-23.
  8. Murhadi, AS Suharyono, Susilawati. Aktivitas antibakteri ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha*) dan daun pandan (*Pandanus amaryllifolius*) *Jurnal Teknol dan Industry Pangan* 2007;18:17-24.
  9. Studiawan H, Santosa HM. Uji aktivitas penurun kadar glukosa darah ekstrak daun eugenia polyantha pada mencit yang diinduksi aloksan. *Media Kedokteran Hewan* 2005;21:62-65.
  10. Noveriza R, Miftakhurohmah. Efektivitas ekstrak metanol daun salam (*Eugenia polyantha*) dan daun jeruk peruk (*Cytrus hystrix*) sebagai anti jamur pada pertumbuhan *Fusarium oxysporum*. *Jurnal Littri* 2010;16:6- 11.
  11. Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar. Purwokerto: Laboratorium Mikrobiologi Universitas Jenderal Soedirman, 2008. Hal 35.
  12. Anjali K, Gururaj Nadig, Jayashree Hegde, S Lekha. Assessment of antimicrobial activity of endodontic sealers on *enterococcus faecalis*: an in vitro study. *World Journal of Dentistry*. 2012;3:26-31.
  13. Petunjuk Praktikum Mikrobiologi. Madura: Laboratorium Prodi Agroekoteknologi Universitas Tronojoyo, 2012. Hal 1-2
  14. Sopiudin. Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan. Salemba Medika. Edisi 5 11-12.2011 Jakarta
  15. Wartini Ni Made. Senyawa penyusunan ekstrak flavor daun salam (*Eugenia polyantha* Wight) hasil distilasi uap menggunakan pelarut n- heksana dan tanpa N-heksana. *Agrotekno* 2009;15:72-77.
  16. Dewanti S, Wahyudi MT, Antibacteri activity of bay leaf infuse (*Folia Syzygium polyanthum wight*) To *Escherichia coli* in-vitro. *Jurnal Medika Planta* 2011; 1: 78-81.
  17. Erawati. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Garciniadaedalanthera pierre* dengan Metode DPPH (1,1-Difenil pikrilhidrazil) dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Fraksi Paling Aktif. Depok: Universitas Indonesia. Januari 2012. Skripsi. Hal 8
  18. Qamari AC. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomun burmannii*) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. Banda Aceh: Universitas Syiah Kuala. 2014. Skripsi. Hal 31
  19. Anonymous. Chromogenic listeria differential supplement. Accessed on December 27th 2014 <http://www.tokue.com/ProductPDF/MS086%20MS081%20MS079.pdf>.
  20. Adrianto Dias WA. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha* wight) Dalam Pasta Gigi Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi, Februari. 2012. Skripsi. Hal 5
  21. Hardanti MY. Pengaruh Air Rebusan Daun Salam (*Eugenia polyantha* wight) Sebagai Bahan Desinfeksi dengan Teknik Semprot Terhadap Jumlah Koloni Bakteri

- Rongga Mulut Pada Cetakan Alginat.  
Jember: Januari 2014. Skripsi. Hal 7
22. Setyowati E, Prayitno BS, Sarjito. Pengaruh Perendaman Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*. L) Terhadap Kelulus Hidupan dan Histologi Hati Ikan Patin (*Pangasius hypophthalmus*) yang Diinfeksi Bakteri *Edwardsiella tarda*. *Journal of Aquaculture Management and Technology* 2014; 4(3):174-182
  23. Wiryawana KG, Luvianti S, Hermanab W, Suharti S. Peningkatan Performa Ayam Broiler dengan Suplementasi Daun Salam [*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp] Sebagai Antibakteri *Escherichia coli*. *Media Peternakan* 2007;30:55-62.23.
  24. Dwita E. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius roxb*) Terhadap Pertumbuhan *Aggregabacter actinomycetemcomitans* Secara In Vitro. Banda Aceh: April. 2014. Hal 47
  25. Haryani adam, Grandiosa R, Buwono DI, Santika A. Uji Efektivitas Daun Pepaya (*Carica papaya*) Untuk Pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Mas Koki (*Carrassius auratus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan* 2012;3(3):213-220
  26. Athanassiadis B, Abbott PV, Walsh LJ. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Aust Dent J Suppl* 2007;52(1):64-82
  27. Saputri FA. Perbedaan Efektivitas Antibakteri Antara Klorheksidin 2% dan Propolis 25% Terhadap *Enterococcus faecalis* (in vitro). Makassar: Februari. 2013. Skripsi