

**UJI PENGHAMBATAN PEMBENTUKAN BIOFILM BAKTERI
Streptococcus mutans OLEH EKSTRAK ETANOL 70%
BIJI PINANG (*Areca catechu* L.)**

Skripsi

**Untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi
pada Program Studi Farmasi**



Oleh:

**PYPOP PUTERI HARDJANTI
1604015204**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2021**

Skripsi dengan judul

**UJI PENGHAMBATAN PEMBENTUKAN BIOFILM BAKTERI
Streptococcus mutans OLEH EKSTRAK ETANOL 70%
BIJI PINANG (*Areca catechu* L.)**

Telah disusun dan dipertahankan di hadapan penguji oleh
Pypop Puteri Hardjanti, NIM 1604015204

Tanda Tangan Tanggal

Ketua Wakil Dekan I apt. Drs. Inding Gusmayadi, M.Si.		9/2/21
Penguji I apt. Vera Ladeska, M.Farm.		17-Maret-2021
Penguji II Maharadingga, M.Si.		16-April-2021
Pembimbing I Dr. H. Priyo Wahyudi, M.Si.		21 - April - 2021
Pembimbing II Wahyu Hidayati, M.Biomed.		29 - April - 2021
Mengetahui:		
Ketua Program Studi apt. Kori Yati, M.Farm.		29-April-2021

Dinyatakan lulus pada tanggal : 25 – Februari – 2021

ABSTRAK

UJI PENGHAMBATAN PEMBENTUKAN BIOFILM BAKTERI *Streptococcus mutans* OLEH EKSTRAK ETANOL 70% BIJI PINANG (*Areca catechu L.*)

Pypop Puteri Hardjanti
1604015204

Plak gigi merupakan biofilm yang tumbuh di rongga mulut, tertanam dalam matriks polimer yang berasal dari bakteri dan saliva. Biji pinang mengandung senyawa polifenol seperti tanin dan flavonoid yang memiliki aktivitas terhadap penghambatan biofilm. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol 70% biji pinang dalam menghambat pembentukan biofilm bakteri *Streptococcus mutans*. Pengujian dilakukan dengan metode *microtiter plate assay*, kemudian biofilm yang terbentuk diwarnai dengan kristal violet 0,1%, dan selanjutnya dibaca absorbansinya pada *microplate reader* dengan panjang gelombang 595 nm. Nilai absorbansi yang didapat kemudian dihitung persen penghambatan pembentukan biofilm dan dengan metode Probit dihitung persamaan regresi linear untuk mendapatkan nilai IC_{50} . Berdasarkan data hasil penelitian, diperoleh kesimpulan bahwa ekstrak etanol 70% biji pinang memiliki aktivitas terhadap penghambatan pembentukan biofilm bakteri *Streptococcus mutans* dengan nilai IC_{50} ekstrak etanol 70% biji pinang yaitu sebesar 957,4145 $\mu\text{g/ml}$ dan potensi relatif yang dimiliki ekstrak etanol 70% biji pinang yaitu 0,5620 kali klorheksidin glukonat.

Kata kunci: *Areca catechu L.*, biofilm, ekstrak etanol 70% biji pinang, klorheksidin glukonat, *Streptococcus mutans*.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Alhamdulillah, segala puji dan syukur bagi Allah SWT berkat rahmat dan ridho-Nya, serta penulis panjatkan shalawat serta salam kepada junjungan besar Nabi Muhammad SAW, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul: **UJI PENGHAMBATAN PEMBENTUKAN BIOFILM BAKTERI *Streptococcus mutans* OLEH EKSTRAK ETANOL 70% BIJI PINANG (*Areca catechu L.*)**. Skripsi ini disusun dalam rangka memenuhi tugas akhir sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) pada program studi Farmasi di Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta.

Selesainya penulisan skripsi ini tak lepas dari bantuan oleh semua pihak. Pada kesempatan yang baik ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si. selaku Dekan Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta.
2. Wakil Dekan I, Wakil Dekan II, Wakil Dekan III, Wakil Dekan IV, dan Ketua Program Studi Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA, Jakarta.
3. Ibu apt. Kori Yati, M. Farm selaku Kaprodi Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta.
4. Bapak Dr. H. Priyo Wahyudi, M.Si selaku Pembimbing 1 yang telah banyak membantu dan mengarahkan penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
5. Ibu Wahyu Hidayati, M.Biomed selaku Pembimbing 2 yang telah banyak membantu dan mengarahkan penulis sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.
6. Ibu apt. Vera Ladeska, M.Farm dan Ibu Maharadingga, M.Si selaku Penguji 1 dan 2 yang telah memberikan saran dan arahan untuk penulis.
7. Dosen Pembimbing Akademik Bapak Dr. Adia Putra Wirman, M.Si yang sudah memberikan masukan serta saran.
8. Bapak dan ibu dosen yang sudah memberikan ilmu yang bermanfaat.
9. Kedua orang tua bapak Harjanto dan ibu Siti Rahayu serta adik kandung Vannes Arafah P.H yang selalu mendoakan dan mendukung penulis.
10. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu yang telah banyak mendukung dan memberikan semangat.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kata sempurna, untuk itu saran dan kritik dari pembaca sangat penulis harapkan. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukan.

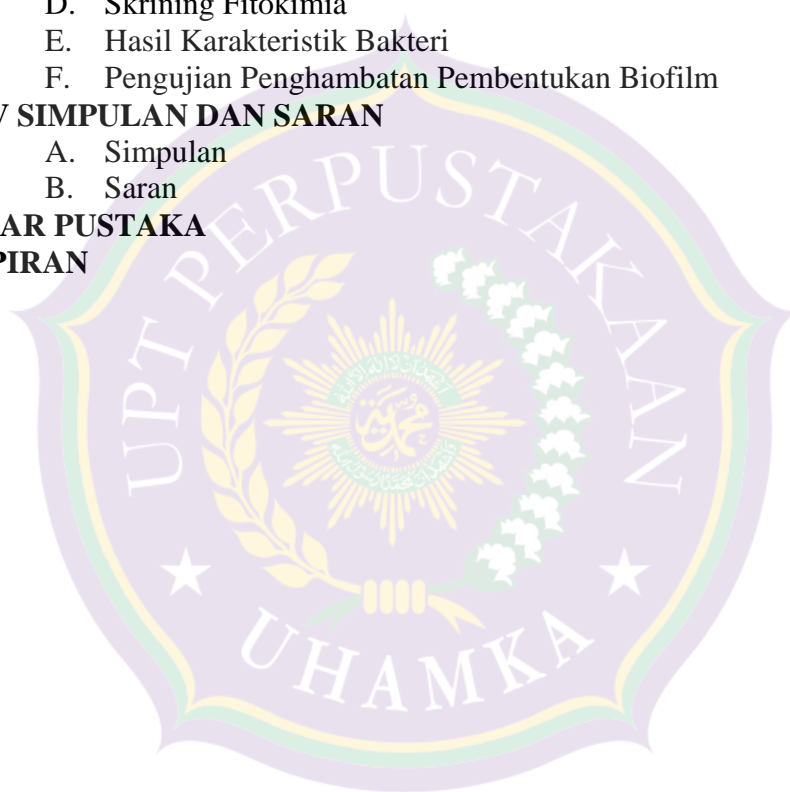
Jakarta, Februari 2021

Penulis

DAFTAR ISI

	Hlm
LEMBAR PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan Penelitian	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Landasan Teori	4
1. Biji Pinang (<i>Areca catechu</i> L.)	4
2. Ekstraksi	5
3. Biofilm	5
4. <i>Streptococcus mutans</i>	7
5. Plak Gigi	8
6. Klorheksidin Glukonat	9
B. Kerangka Berpikir	10
C. Hipotesis	10
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	11
A. Tempat dan Waktu Penelitian	11
1. Tempat Penelitian	11
2. Waktu Penelitian	11
B. Alat dan Bahan Penelitian	11
1. Alat Penelitian	11
2. Bahan Penelitian	11
C. Prosedur Penelitian	11
1. Pengumpulan Bahan	11
2. Determinasi Tanaman	12
3. Penyiapan Simplisia	12
4. Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Biji Pinang (<i>Areca catechu</i> L.)	12
5. Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak 70% Biji Pinang (<i>Areca catechu</i> L.)	13
6. Skrining Fitokimia Biji Pinang	14
7. Sterilisasi Alat	14
8. Pembuatan Medium	14
9. Pembuatan Biakan Bakteri Uji	15
10. Pemeriksaan Karakteristik Bakteri Uji	15
11. Pembuatan Suspensi Bakteri	16

	Hlm
12. Pembuatan Variasi Konsentrasi Larutan Uji dan Kontrol Positif dan Uji Penghambatan Biofilm <i>Streptococcus mutans</i>	16
13. Orientasi Konsentrasi Larutan Uji dan Klorheksidin Glukonat	16
14. Uji Penghambatan Pembentukan Biofilm Bakteri <i>Streptococcus mutans</i> Secara <i>In Vitro</i>	17
D. Analisis Data	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	19
A. Determinasi Tanaman	19
B. Penyiapan Simplisia dan Proses Ekstraksi Biji Pinang	19
C. Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak Etanol 70% Biji Pinang	20
D. Skrining Fitokimia	21
E. Hasil Karakteristik Bakteri	22
F. Pengujian Penghambatan Pembentukan Biofilm	23
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	27
A. Simpulan	27
B. Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	31



DAFTAR TABEL

		Hlm
Tabel 1.	Metode Skrinning Aktivitas Antibiofilm dan Antimikroba Dari Bahan Obat terhadap Bakteri Penghasil Biofilm	7
Tabel 2.	Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Biji Pinang (<i>Areca catechu</i> L.)	14
Tabel 3.	Prosedur Uji Penghambatan Pembentukan Biofilm Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	17
Tabel 4.	Hasil Penyediaan Simplisia dan Proses Ekstraksi Biji Pinang	19
Tabel 5.	Hasil Karakteristik Ekstrak Etanol 70% Biji Pinang (<i>Areca catechu</i> L.)	21
Tabel 6.	Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Biji Pinang	21
Tabel 7.	Hasil Pengujian Penghambatan Pembentukan Biofilm <i>Streptococcus mutans</i> oleh Ekstrak Etanol 70% Biji Pinang	24
Tabel 8.	Hasil Pengujian Penghambatan Pembentukan Biofilm <i>Streptococcus mutans</i> oleh Klorheksidin Glukonat	24

DAFTAR LAMPIRAN

		Hlm
Lampiran 1.	Hasil Determinasi Biji Pinang	31
Lampiran 2.	Skema Prosedur Penelitian	32
Lampiran 3.	Skema Proses Ekstraksi Biji Pinang	33
Lampiran 4.	Perhitungan Kadar Abu, Kadar Air dan Rendemen Ekstrak Etanol 70% Biji Pinang	34
Lampiran 5.	Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Biji Pinang	36
Lampiran 6.	Sertifikat Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	37
Lampiran 7.	Karakteristik Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	38
Lampiran 8.	Pembuatan Variasi Konsentrasi Larutan Ekstrak Etanol 70% untuk Uji Penghambatan Biofilm <i>Streptococcus mutans</i>	39
Lampiran 9.	Pembuatan Variasi Konsentrasi Larutan Klorheksidin Glukonat untuk Uji Penghambatan Biofilm <i>Streptococcus mutans</i>	41
Lampiran 10.	Orientasi Variasi Konsentrasi Ekstrak Etanol 70% Biji Pinang	43
Lampiran 11.	Orientasi Variasi Konsentrasi Klorheksidin Glukonat	45
Lampiran 12.	Pemetaan Volume Pada Sumuran 96	47
Lampiran 13.	Perhitungan Uji Penghambatan Pembentukan Biofilm Bakteri <i>Streptococcus mutans</i> oleh Ekstrak Etanol 70% Biji Pinang	48
Lampiran 14.	Perhitungan Uji Penghambatan Pembentukan Biofilm Bakteri <i>Streptococcus mutans</i> oleh Klorheksidin Glukonat	50
Lampiran 15	Alat dan Bahan Penelitian	52

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Biofilm merupakan suatu kompleks agregasi mikroorganisme yang tumbuh dan melekat di atas substrat padat atau pada suatu permukaan (Rabin *et al.*, 2015). Salah satu permukaan yang dapat ditumbuhi oleh mikroorganisme, khususnya bakteri, adalah gigi. Biofilm yang terbentuk di dalam rongga mulut disebut plak (Fatmawati, 2016). Plak gigi merupakan kumpulan mikroorganisme yang berkembang di permukaan gigi, tertanam dalam matriks polimer yang berasal dari bakteri dan saliva (Marsh *et al.*, 2009). Pembentukan plak gigi oleh bakteri merupakan tahap awal terjadinya karies dan penyakit periodontal (Putri dkk, 2017).

Salah satu bakteri yang umum ditemukan pada plak gigi adalah *Streptococcus mutans*. Bakteri *S. mutans* merupakan bakteri Garam-positif, tidak bergerak, mempunyai benang fibril di permukaan selnya, kadang-kadang berkapsul, fakultatif anaerob, sifat perbenihan α -hemolisis, dan berada pada permukaan gigi. Sembilan serotipe *S. mutans* yang telah dikenali serotipe a – h, dan k, berdasarkan pada spesifisitas serologis dari antigen karbohidrat yang terletak di dinding sel (Marsh *et al.*, 2009). *Streptococcus mutans* serotype c merupakan bakteri utama penyebab karies gigi. Masyarakat menggunakan obat kumur sebagai salah satu alternatif untuk merawat gigi dari plak salah satunya adalah dengan Klorheksidin glukonat (Putri dkk, 2017).

Klorheksidin adalah biguanid kationik dengan kelarutan air yang sangat rendah. Klorheksidin glukonat larut air digunakan dalam sediaan berbasis air sebagai antiseptik. Klorheksidin glukonat bekerja lebih lambat dari alkohol, tetapi karena presistensinya, bahan ini memiliki aktivitas residual yang jika digunakan berulang-ulang, menghasilkan efek bakterisidal yang ekuivalen dengan alkohol. Klorheksidin paling efektif melawan bakteri kokus Gram-positif dan kurang aktif terhadap batang Gram-positif dan Gram-negatif. Namun, klorheksidin memiliki efek samping bila digunakan dengan jangka panjang, diantaranya yaitu gangguan pengecap, sensasi rasa terbakar, perubahan warna pada gigi, restorasi, dan peningkatan pembentukan kalkulus (Deck and Winston, 2012). Untuk

meminimalisir terjadinya efek samping banyak digunakan tanaman obat sebagai penggunaan obat kumur, salah satu bahan alam yang secara empiris dan telah dibuktikan secara ilmiah memiliki efek antimikroba yaitu biji pinang (*Areca catechu* L.).

Biji pinang dalam sistem pengobatan India kuno secara tradisional digunakan dalam sejumlah penyakit seperti pencakar, antelmintik, antimalaria, antihipertensi, diuretik, antibakteri, hipoglikemik, dan aktivitas *antiheartburn*. Sarpangala *et al.*, (2017) melaporkan bahwa mengunyah biji pinang melindungi gigi dari karies gigi. Biji pinang yang telah dikeringkan memiliki komponen kandungan utama diantaranya polifenol, termasuk flavonoid dan tanin, polisakarida, protein, lemak, serat, alkaloid, dan mineral. Metabolit sekunder tumbuhan pada golongan polifenol, seperti flavonoid, asam fenolat dan tanin, menunjukkan aktivitas antibakteri dan antibiofilm. Polifenol berbasis katekin, flavonoid, oligomer proantosianidin, dan beberapa senyawa turunan lainnya menghambat pertumbuhan biofilm *Streptococcus mutans* yaitu pada glukosiltransferase sebagai salah satu faktor virulensi penting *Streptococcus mutans* dengan peran dalam sintesis glukan polisakarida serta komponen matriks biofilm utama (Slobodnikova *et al.*, 2016).

Mekanisme aktivitas antibiofilm dapat terjadi melalui tiga cara yaitu menginaktivasi bakteri pembentukan biofilm, menghambat pembentukan biofilm, dan menghancurkan biofilm. Penghambatan pada pembentukan biofilm dapat terjadi dengan menghambat produksi *glukosiltransferase* pada bakteri *S.mutans*, maupun penekanan biofilm dengan mempengaruhi mekanisme pengaturan bakteri seperti *quorum sensing*, tanpa efek pada pertumbuhan bakteri (Slobodnikova *et al.*, 2016). Tanin yang dapat terhidrolisis dalam fraksi tanin bertanggung jawab terhadap aktivitas antibakteri dari biji pinang serta adanya paparan intraoral yang berkepanjangan pada biji pinang dapat menekan bakteri di dalam mulut (Sarpangala *et al.*, 2017). Anthikat and Anthonysamy (2009) melaporkan bahwa biji pinang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, *Streptococcus salivarius*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus aureus*.

Biji pinang memiliki aktivitas antibakteri namun belum diketahui aktivitas terhadap penghambatan biofilm bakteri *S.mutans*. Berdasarkan hal tersebut

dilakukan penelitian penghambatan pembentukan biofilm bakteri *Streptococcus mutans* oleh ekstrak etanol 70% biji pinang. Pada penelitian ini biji pinang diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70% menggunakan metode maserasi (perendaman), maserat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 – 50 °C, hingga terbentuk ekstrak kental etanol 70% biji pinang. Ekstrak selanjutnya dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui adanya kandungan tanin, flavonoid, fenol dan terpenoid dengan uji kualitatif menggunakan pereaksi warna. Uji penghambatan pembentukan biofilm bakteri *S. mutans* oleh ekstrak etanol 70% biji pinang dilakukan dengan mencampurkan ekstrak, suspensi bakteri uji, dan media *Brain Heart Infusion* (BHI) dengan beberapa variasi konsentrasi ke dalam mikroplat 96 sumuran yang diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Lapisan biofilm dibaca absorbansinya dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm, hasil absorbansi yang didapat dihitung persen penghambatan pembentukan biofilm, kemudian dengan metode Probit dihitung persamaan regresi linear untuk mendapatkan nilai IC₅₀.

B. Permasalahan Penelitian

Biji pinang memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* namun belum diketahui aktivitasnya terhadap penghambatan pembentukan biofilm bakteri *Streptococcus mutans*. Apakah ekstrak etanol 70% biji pinang (*Areca catechu* L.) memiliki aktivitas penghambatan pembentukan biofilm bakteri *Streptococcus mutans*?

C. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol 70% biji pinang (*Areca catechu* L.) dalam menghambat pembentukan biofilm bakteri *Streptococcus mutans*.

D. Manfaat Penelitian

Hasil pada penelitian uji penghambatan pembentukan biofilm bakteri *Streptococcus mutans* oleh ekstrak etanol 70 % biji pinang (*Areca catechu* L.) diharapkan dapat digunakan sebagai alternatif obat kumur dari bahan alam untuk menghambat pertumbuhan biofilm pada gigi.

DAFTAR PUSTAKA

- Amudhan MS, Begum VH, Hebbar KB. 2012. A Review on Phytochemical and Pharmacological Potential of *Areca catechu* L. Seed. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Reserch*.3(11): 4151 – 4157.
- Anthikat NR, Antonysamy M. 2009. Study on the *Areca* Nut for its Antimicrobial Properties. *Journal of Young Pharmacist*. 1(1): 42 - 45.
- Berhe N, Tefera Y, Tintagu T. 2017. Review on Biofilm Formation and its Control Options. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*. (8): 122 – 133.
- Bowen WH, Koo H. 2011. Biology of *Streptococcus mutans*-Derived Glucosyltransferase: Role in Extracellular Matrix Formation of Cariogenic Biofilms. *Caries Research*.(1): 69 – 86.
- Brooks GF, Carroll KC. 2007. Normal Microbial Flora of The Human Body. In: Brook GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA (Eds). *Jawetz, Melnick & Adelberg. Medical Microbiology* 24 edition. McGraw-Hill Education. New York : Hlm 197 - 201.
- Cai JN, Jung JE, Dang MH, Kim MA, Yi HK, Jeon JG. 2016. Functional Relationship Between Sucrose and a Cariogenic Biofilm Formation. *PLoS One*. 11(6): 1 - 12.
- Carroll KC, Hobden JA. 2016. Normal Human Microbiota (Chapter 10). In:Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner T (Eds.). *Jawetz, Melnick & Adelberg. Medical Microbiology* 27 edition. Mc Graw Hill Education. New York: Hlm 169 – 177.
- Celik EU, Tunac AT, Ates M, Sen BH. 2016. Antimicrobial Activity of Different Disinfectants Against Cariogenic Microorganisms. *Brazilian Oral Research*. 30(1): 1 - 6.
- Clarke JK. 1924. On the Bacterial Factor in the Etiology of Dental Caries. *British Journal of Experimental Pathology*.5(3): 141 – 147.
- Deck DH, Winston LG. 2012. Obat Antimikroba Lain; Disinfektan, Antiseptik & Sterilan. In: Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ (Eds). *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Terjemahan: Soeharsono R, Heriyanto P, Iskandar M, Oktavius H. EGC. Jakarta: Hlm 1009 - 1018.
- DepKes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat* (Cetakan Pertama). Jakarta: Bakti Husada : Hlm 14 - 16
- DepKes RI. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia Jilid 2*. Departemen Kesehatan & Kesejahteraan Sosial RI , Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta: Hlm 33.
- DepKes RI. 2008. *Farmakope Hebal Indonesia Edisi 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: Hlm 1 – 221.

- Ergina, Nuryanti S, Pursitasari ID. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*. 3(3) : 165 - 172.
- Fatmawati DWA. 2016. Hubungan Biofilm *Streptococcus mutans* Terhadap Resiko Terjadinya Karies Gigi. *Stomatognatic*. 8(3): 127 – 130.
- Gurenlian JR. 2007. The Role of Dental Plaque Biofilm in Oral Health. *Journal of Dental Hygiene*. 81(5): 1 – 11.
- Hanani E. 2014. *Analisis Fitokimia*. EGC. Jakarta: Hlm 83.
- Haney EF, Trimble MJ, Cheng JT, Vallé Q, Hancock REW. 2018. Critical Assessment of Methods to Quantify Biofilm Growth and Evaluate Antibiofilm Activity of Host Defence Peptides. *Biomolecules*.8(2): 1 – 22.
- Harbone J. 1987. *Metode fitokimia*. Terjemahan: Padmawinata K, Soediro T. ITB. Bandung: Hlm 52, 239.
- KemenKes RI. 2017. *Acuan Bahan Baku Obat Tradisional dari Tumbuhan Obat di Indonesia*. Jakarta: Hlm 35.
- KemenKes RI. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi 2*. Jakarta: Hlm 351-354.
- Kırmusaoğlu S. 2019. The Methods for Detection of Biofilm and Screening Antibiofilm Activity of Agents (Chapter 6). In: Kırmusaoğlu S (Ed) *Antimicrobials, Antibiotic Resistance, Antibiofilm Strategies and Activity Methods*. Intechopen. Turkey: Hlm 1 – 17.
- Kristanti A, Aminah N, Tanjung M, Kumiadi B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press. Surabaya. Hlm 54 - 55.
- Kumar SB. 2017. Chlorhexidine Mouthwash - A Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Reserch*. 9(9): 1450 – 1452.
- Kumoro A. 2015. *Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif dari Tanaman Obat*. Plantaxia. Yogyakarta: Hlm 43 - 69.
- Marsh PD, Martin MV, Lewis MAO, Williams DW. 2009. *Oral Microbiology Fifth Edition*. Elsevier. London: Hlm 25, 74 - 101.
- Marsha C. 2018. Uji Aktivitas Antibiofilm *Streptococcus mutans* dari Hasil Kromatografi Kolom Fraksi Metanol Daun Kapulaga (*Amomum compactum* Sol. ex Maton). *Skripsi*. Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof Dr.Hamka. Jakarta : 1 - 50
- Matsumoto M, Nakano M. 2018. Role of *Streptococcus mutans* Surface Proteins for Biofilm Formation. *Japanese Dental Science Review*. 54(1): 22 – 29.
- Merritt J, Kadouri D, O'Toole G. 2005. Growing and Analyzing Static Biofilms. *Current Protocols in Microbiology*: 1 – 17.

- Peng W, Liu, YJ, Wu N, Sun T, He XY, Gao YX, Wu CJ. 2015. *Areca catechu* L. (*Areceaceae*): A Review of its Traditional Uses, Botany, Phytochemistry, Pharmacology And Toxicology. *Journal of Ethnopharmacology*. China: 1 - 75.
- Priyanto. 2009. *Toksikologi Mekanisme, Terapi Antidotum, dan Penilaian Risiko*. Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi Indonesia. Jakarta : Hlm 177 - 184.
- Putri MH, Sukini, Yodong. 2017. *Bahan Ajar Keperawatan Gigi "Mikrobiologi."* Kementerian Kesehatan RI. Jakarta: 59 - 62, 317 - 320.
- Rabin N, Zheng Y, Temeng C, Du Y, Bonsu E, Sintim HO. 2015. Agents That Inhibit Bacterial Biofilm Formation. *Future Medicinal Chemistry*. (5): 647 – 671.
- Rairisti A. 2014. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Pontianak : 1 - 24.
- Rashid M, Shamsi S, Zaman R, Ilahi A. 2015. *Areca catechu*: Enfolding of Historical and Therapeutic Traditional Knowledge with Modern Update. *International Journal of Phramacognosy*. 2(5): 221 – 228.
- Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V. 2018. Strategies for Combating Bacterial Biofilms: A Focus an Anti-Biofilm Agents and Their Mechanisms of Action. *Virulence*. 9(1): 522 – 554.
- Rusdi NK, Sediarto, Fadila SH. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etanol 70% Dari Ekstrak Daun Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Farmasains*. 1(2): 1 - 94.
- Sajjan P, Laxminara yan N, Kar PP, Sajjanar M. 2016. Chlorhexidine as an Antimicrobial Agent in Dentistry – A Review. *Oral Health and Dental Management*. (2): 93 - 100.
- Sarpangala KB, Sarpangala M, Devasya A. 2017. Antimicrobial Properties of *Areca* Nut, *Areca catechu* L.: a Review. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*.8(3): 8 – 12.
- Slobodnikova L, Fialova S, Rendekova K, Kovac J, Mucaji P. 2016. Antibiofilm Activity Of Plant Polyphenols. *Molecules*. 21(12): 1 – 15.
- Wardhani RAP, Supartono S. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Pada Bakteri. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 4(1): 46 - 51.
- Zimbro M J, Power DA, Miller SM, Wilson GE, Johnson JA. 2009. *Difco & BBL Manual: Manual of Microbiological Culture Media*. In Citeseer. USA : BD. 82-83 and 88 - 90.