

# UJI DAYA HAMBAT MINYAK ATSIRI RIMPANG LEMPUYANG WANGI (*ZINGIBER AROMATICUM*) DAN RIMPANG LENGKUAS (*ALPINA GALANGA*) TERHADAP BAKTERI *STREPTOCOCCUS MUTANS*

Royan Salsabila Rachmadanti, Poppy Puspa Maya, Dea Ayu Sukma Putri Utami, Anisa Rahma Dewi, Risca Taranita, Yanty Maryanty  
Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang, Jl. Soekarno Hatta No. 9, Malang 65141, Indonesia  
[royansalsa082@gmail.com](mailto:royansalsa082@gmail.com) ; [[yanty.maryanty@polinema.ac.id](mailto:yanty.maryanty@polinema.ac.id)]

## ABSTRAK

Penyakit gigi dan mulut, terutama karies, disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans*, yang dapat dicegah dengan penggunaan obat kumur. Sebagai alternatif, bahan alami seperti rimpang lempuyang wangi dan lengkuas, yang mengandung fenol dan zerumbone, dapat digunakan sebagai obat kumur alami untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada gigi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan konsentrasi optimal dari minyak atsiri rimpang lempuyang wangi dan lengkuas dalam menghambat bakteri *Streptococcus mutans*. Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi *soxhlet* dengan pelarut *n-hexane* untuk mendapatkan minyak atsiri dari kedua bahan tersebut dengan macam konsentrasi 25; 50; 75; dan 100% (v/v), diikuti dengan skrining fitokimia secara kualitatif dan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan bakteri *Streptococcus mutans* untuk menentukan konsentrasi minyak atsiri terbaik. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa lempuyang dan lengkuas mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Pengujian daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan bahwa ekstrak lempuyang dengan konsentrasi 75% menghasilkan daerah hambat sebesar 9,4 mm, ekstrak lengkuas dengan konsentrasi 100% menghasilkan daerah hambat sebesar 17,3 mm, dan ekstrak kombinasi dengan konsentrasi 100% menghasilkan daerah hambat sebesar 9,8 mm. Dengan demikian, minyak atsiri lengkuas dengan konsentrasi 100% adalah yang paling efektif dalam menghambat bakteri *Streptococcus mutans*, dengan rata-rata diameter daerah hambat sebesar 17,3 mm. Hal ini menunjukkan bahwa minyak atsiri lengkuas efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab karies gigi.

**Kata kunci:** karies gigi, rimpang lempuyang wangi, rimpang lengkuas, *Streptococcus mutans*

## ABSTRACT

Dental and oral diseases, especially caries, are caused by the bacterium *Streptococcus mutans*, which can be prevented by using mouthwash. As an alternative, natural ingredients such as aromatic ginger rhizome and galangal, which contain phenols and zerumbone, can be used as natural mouthwash to inhibit bacterial growth on teeth. The aim of this study is to determine the optimal concentration of essential oils from aromatic ginger and galangal rhizomes for inhibiting *Streptococcus mutans* bacteria. This study uses the Soxhlet extraction method with *n-hexane* solvent to obtain essential oils from these two materials at various concentrations of 25, 50, 75, and 100% (v/v), followed by qualitative phytochemical screening and antibacterial activity testing using *Streptococcus mutans* bacteria to determine the best essential oil concentration. Phytochemical screening results showed that aromatic ginger and galangal contain alkaloids, flavonoids, tannins, and saponins. Inhibition tests against *Streptococcus mutans* showed that aromatic ginger extract at a concentration of 75% produced an inhibition zone of 9.4 mm, galangal extract at a concentration of 100% produced an inhibition zone

of 17.3 mm, dan the combined extract at a concentration of 100% produced an inhibition zone of 9.8 mm. Therefore, galangal essential oil at a concentration of 100% is the most effective in inhibiting *Streptococcus mutans* bacteria, with an average inhibition zone diameter of 17.3 mm. This indicates that galangal essential oil is effective in inhibiting the growth of bacteria that cause dental caries

**Keywords:** dental caries, ginger rhizome, galangal rhizome, *Streptococcus mutans*

## 1. PENDAHULUAN

Pada zaman sekarang, masyarakat Indonesia masih banyak yang mengalami berbagai penyakit, salah satunya penyakit gigi terutama karies gigi. Berpijak kepada Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesmas) tahun 2018, 88,8% dari semua kelompok umur mengalami prevalensi karies gigi. Karies gigi merupakan kondisi yang disebabkan oleh bakteri *Streptococcus mutans*. Salah satu metode untuk mencegah karies gigi ini adalah dengan menggunakan obat kumur. Namun, sebagian besar obat kumur mengandung chlorhexidine dan alkohol yang dapat memberikan efek samping pada penggunaannya. Efek samping yang ditimbulkan ada berbagai macam, seperti memicu pembentukan karang gigi, perubahan warna pada gigi, mengalami reaksi alergi, bahkan sampai pengelupasan mukosa rongga mulut [1]. Selain itu, kandungan alkohol sebesar 25% atau lebih dalam obat kumur dapat menyebabkan kanker mulut.

Maka dari itu, penggunaan bahan kimia dalam obat kumur perlu diawasi, dan sebaiknya digantikan dengan bahan-bahan alami untuk mengurangi risiko yang mungkin timbul. Salah satu alternatif alami yang dapat digunakan sebagai obat kumur adalah lengkuas. Lengkuas memiliki kandungan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, tanin, dan fenol yang memiliki sifat menghambat pertumbuhan bakteri, antijamur, antiradang, antihepatotoksik, antioksidan, dan antialergi [2]. Selain itu, bahan yang dapat digunakan untuk obat kumur yaitu rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum*). Khasiat rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum*) sebagai ramuan dipengaruhi oleh kandungan minyak atsiri dan metabolit sekundernya yaitu alkaloid dan flavonoid. Total flavonoid lempuyang wangi sebesar  $9,924 \pm 0,544$  mg kuersetin/g ekstrak [3]. Flavonoid memiliki potensi sebagai agen yang melawan bakteri dan virus dengan cara menghambat perkembangan bakteri berbahaya seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, dan *Bacillus subtilis* [4]. Dalam hasil riset Sutardi, dkk., (2021) menyatakan bahwa zerumbone merupakan salah satu senyawa terbanyak yang terkandung dalam minyak atsiri rimpang lempuyang wangi serta memiliki aktivitas antibakteri yang kuat. Hal tersebut dibuktikan dengan melakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan rimpang kering dan rimpang basah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Kadar zerumbone pada lempuyang wangi lebih dari 40% [5].

Pada penelitian yang dilakukan oleh Rizkita (2017), uji daya hambat bakteri *Streptococcus mutans* dengan ekstrak daun sereh wangi, sirih hijau, dan jahe merah menghasilkan uji daya hambat tertinggi pada ekstrak daun sirih hijau sebesar 12 mm. Namun pada penelitian tersebut tidak terdapat uji untuk melihat kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin [6].

Ekstraksi adalah metode yang digunakan untuk mengisolasi campuran suatu senyawa menjadi unsur individu. Dalam proses ekstraksi, pelarut harus memenuhi dua kriteria utama: pertama, menjadi pelarut efektif untuk bahan yang akan diekstraksi; kedua, dapat terpisah dengan cepat setelah proses pengolahan. Saat memilih pelarut, beberapa faktor yang harus dipertimbangkan meliputi ketersediaannya, toksisitas, biaya, sifat fisik, suhu kritis yang rendah, dan tekanan kritis untuk mengurangi biaya operasional serta reaktivitas [7]. Salah satu pelarut yang umum digunakan adalah n-hexane karena mampu menghasilkan jumlah hasil rendemen yang tinggi baik dari segi kuantitas jika dibandingkan dengan pelarut etanol menurut penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya [8].

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan konsentrasi optimal dari minyak atsiri rimpang lempuyang wangi dan lengkuas dalam menghambat bakteri *Streptococcus mutans*. Penelitian ini mengevaluasi efektivitas mikrobiologis dari minyak atsiri hasil distilasi rimpang lempuyang wangi dan lengkuas terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yang menyebabkan karies gigi dengan metode Kirby Bauer. Menurut studi Ramadhaniyah (2019), hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak rimpang lengkuas merah efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Ekstrak dengan konsentrasi 100% menunjukkan aktivitas paling tinggi, dengan rata-rata diameter area penghambatan sekitar 20,29 mm. Ekstrak teraktif ini kemudian diuji lebih menggunakan metode KLT-Bioautografi. Hasil uji KLT-Bioautografi menunjukkan bahwa senyawa-senyawa seperti alkaloid, flavonoid, dan senyawa organik lainnya memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* [9]. Pengujian dengan metode KLR-Bioautografi tidak dilaksanakan karena dengan metode Total Plate Count (TPC) Kirby Bauer sudah cukup memenuhi.

## 2. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan rimpang lempuyang wangi, lengkuas, dan pelarut *n-hexane* pro-analis (p.a). Proses pembuatan minyak atsiri lempuyang wangi dan lengkuas dilakukan di Laboratorium Riset Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang menggunakan metode ekstraksi *soxhlet* dengan pelarut *n-hexane*.

### 2.1. Persiapan Sampel

Tahap awal penelitian dilakukan pencucian rimpang lempuyang dan lengkuas, diperkecil ukurannya dan dianginkan sampai layu (kurang lebih 1 hari). Terakhir, rimpang lempuyang wangi dan lengkuas dihaluskan menggunakan blender menjadi serbuk kasar.

### 2.2. Isolasi Minyak Atsiri

Serbuk rimpang lempuyang wangi dan lengkuas dipersiapkan sejumlah 20 gram, kemudian dimuat ke dalam kertas saring yang sebelumnya telah dibentuk seperti bentuk tabung silinder kemudian diikat. Simplisia yang telah dimasukkan ke dalam kantong kemudian ditempatkan di dalam alat *soxhlet* dan ditambahkan dengan 500 mL pelarut organik *n*-heksana. Peralatan *soxhlet* dipanaskan menggunakan heating mantle pada suhu 70°C hingga beberapa siklus proses terjadi. Ekstraksi dihentikan ketika pelarut *n*-heksana di tabung ekstraksi telah menjadi jernih. Minyak atsiri yang telah diperoleh dari proses ekstraksi *soxhlet* selanjutnya dilakukan proses distilasi untuk menguapkan sisa pelarut *n-hexane* sehingga diperoleh minyak atsiri murni.

### 2.3. Pembuatan Larutan Minyak Atsiri

Minyak atsiri dari rimpang lempuyang wangi, lengkuas, dan campuran keduanya dipipet dan di tambahkan aquadest dan dihomogenkan hingga terbentuk larutan dengan macam konsentrasi yaitu 25; 50; 75; dan 100% (v/v).

### 2.4. Uji Skrining Fitokimia

#### a. Uji Alkaloid

Minyak atsiri disertakan dalam tiga tabung reaksi. Pada tabung I ditambahkan tetes pereaksi Wagner. Terbentuknya endapan coklat mengindikasikan keberadaan alkaloid. Pada tabung II ditetesi dengan pereaksi Meyer dan terbentuk endapan putih yang menunjukkan adanya alkaloid. Tabung III ditetesi dengan pereaksi Dragendorff dan terbentuk endapan jingga, mengindikasikan adanya kandungan alkaloid.

**b. Uji Flavonoid**

2-3 potong logam Mg dan beberapa tetes asam klorida pekat dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi sampel minyak atsiri. Hasilnya menunjukkan perubahan warna oranye-merah yang mengindikasikan adanya flavonoid dalam sampel.

**c. Uji Tanin**

Minyak atsiri ditempatkan dalam tabung reaksi, diikuti dengan penambahan  $\text{FeCl}_3$ . Jika reaksi ini menghasilkan endapan berwarna biru hingga hitam kehijauan maka, hal ini berpositif mengdanung tanin.

**d. Uji Saponin**

Minyak atsiri dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian minyak atsiri diberikan tetesan dari HCl 2 N. Apabila terbentuk busa yang stabil dalam rentang waktu 10 menit maka hal ini berpositif mengdanung saponin.

**2.5. Uji Aktivitas Antibakteri**

Diawali dengan pembuatan media pertumbuhan bakteri dengan menggunakan padatan *Blood Agar*. Sebanyak 40 gram *Blood Agar* dilarutkan dengan akuades hingga mencapai volume 1000 mL, dan dihomogenkan menggunakan *hotplate*. Kemudian pada seluruh alat yang meliputi tip mikropipet, cawan petri, *beaker glass*, serta media *Blood Agar* dan aquadest dilakukan proses steril menggunakan *Autoclave* dalam waktu 15 menit menggunakan suhu  $121^\circ\text{C}$ . Pengujian aktivitas hambat bakteri dilakukan menggunakan metode difusi agar *Kirby Bauer* menggunakan kertas cakram. Untuk bakteri *Streptococcus mutans* diperoleh dari sampel penderita karies gigi yang telah dibiakkan pada cawan petri. Selanjutnya campuran agar dan suspensi bakteri *Streptococcus mutans* dimasukkan ke dalam cawan petri dan didiamkan hingga memadat. Setelah agar memadat, kertas cakram yang telah direndam dengan variasi konsentrasi larutan minyak atsiri dan larutan obat kumur sintesis (kontrol positif) diletakkan pada bagian tengah cawan petri. Selanjutnya adalah proses inkubasi menggunakan suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Diameter daerah penghambatan yang muncul di sekitaran kertas cakram diukur memakai jangka sorong.

**3. HASIL DAN PEMBAHASAN****3.1 Ekstraksi**

Hasil ekstraksi lempuyang dan lengkuas dipisahkan antara pelarut n-hexane dengan minyak atsiri menggunakan metode distilasi *batch*.

**Tabel 1.** Jumlah hasil minyak atsiri yang diperoleh dari ekstraksi soxhlet

Bahan	Serbuk Bahan (g)	n-hexane (mL)	Hasil Ekstrak (mL)
Lempuyang	20	500	340
Lengkuas	20	500	350

Penelitian awal menggunakan pelarut methanol tetapi tidak berhasil mengekstrak minyak atsiri dari lempuyang dan lengkuas. Methanol memiliki sifat polar sedangkan minyak atsiri memiliki sifat non polar yang menyebabkan methanol tidak bisa mengekstrak minyak atsiri dengan sempurna [10]. Sehingga dilakukan penggantian

pelarut yang bersifat non polar yaitu N-hexane. N-hexane dipilih sebagai pelarut karena memiliki karakteristik non-polar yang memungkinkan untuk larut dalam senyawa non-polar lainnya seperti alkaloid, sterolid, dan triterpenoid [11]. Di samping itu, n-hexane juga mampu untuk mengekstrak flavonoid dan tanin yang bersifat polar. Perbandingan massa sampel dengan volume n-hexane dipilih 1:25 dikarenakan akan menghasilkan rendemen ekstrak yang lebih besar dikarenakan pelarut n-hexane dapat lebih efektif dalam mengikat dan mengambil senyawa resin yang terkandung di dalam tanaman [12].

### 3.2 Distilasi

Hasil ekstraksi lempuyang dan lengkuas dipisahkan antara minyak atsiri dengan pelarut *n-hexane* menggunakan metode distilasi *batch*.

**Tabel 2.** Jumlah hasil minyak atsiri yang diperoleh dari distilasi

Bahan	Minyak atsiri (mL)
Lempuyang	30
Lengkuas	25

Distilasi dilakukan pada suhu 75°C dan berlangsung selama 120 menit. Minyak atsiri lempuyang yang didapatkan sebanyak 30 mL. Sedangkan minyak atsiri lengkuas didapatkan sebanyak 25 mL. Minyak atsiri lempuyang yang didapatkan lebih banyak daripada minyak atsiri lengkuas dikarenakan lempuyang wangi memiliki kadar kandungan minyak atsiri yang lebih tinggi sekitar 2,5-3,5% dibandingkan dengan lengkuas [13].

### 3.3 Uji Skrining Fitokimia Minyak Atsiri Lempuyang

Hasil pemeriksaan organoleptis minyak atsiri lempuyang menunjukkan bahwa ekstrak yang berwarna coklat tua dengan aroma ekstrak. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 3.

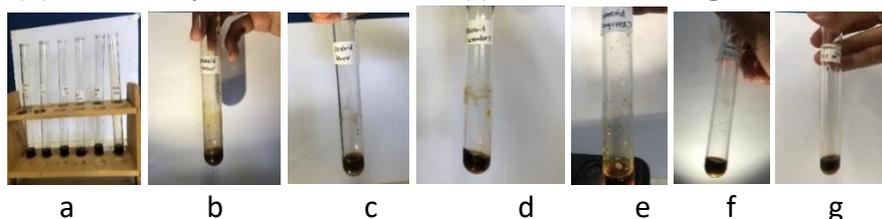
**Tabel 3.** Hasil skrining fitokimia minyak atsiri lempuyang

Nama Uji	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Wagner	+
	Meyer	+
	Dragendorf	+
Flavonoid	Logam Mg dan HCl 37%	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	+
Saponin	HCl 2N	+

Keterangan :

(+) = reaksi positif

(-) = reaksi negatif



**Gambar 1.** Uji skrining fitokimia (alkaloid) minyak atsiri lempuyang (a) Kondisi awal sebelum ditetesi pereaksi, (b) pereaksi Wagner, (c) pereaksi Meyer, (d) pereaksi Dragendorf, (e) logam Mg dan pereaksi HCl 37%, (f) uji tanin pereaksi FeCl<sub>3</sub> 1%, dan (g) uji saponin HCl 2N

Gambar (a) menunjukkan sampel berwarna kecoklatan melalui uji skrining fitokimia yang pada kondisi awal sampel belum ditetesi dengan berbagai pereaksi. Kemudian dalam uji alkaloid terdiri dari tiga tabung reaksi meliputi tabung (b),(c), dan (d). Tabung (b) setelah ditetesi pereaksi Wagner terdapat endapan coklat. Hal ini dikarenakan reaksi antara iodin dengan ion  $I^-$  dari kalium iodida dapat menghasilkan ion  $I_3^-$  dengan warna yang dihasilkan adalah warna coklat. Pada uji ini, ion logam  $K^+$  terbentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen dan terbentuk pula kompleks kalium-alkaloid sehingga membentuk endapan. Tabung (c) setelah ditetesi pereaksi Meyer berubah warna menjadi coklat gelap dan terdapat endapan putih. Hal ini dikarenakan pereaksi Meyer mengandung  $HgCl_2$  dan  $KI$  yang bereaksi dengan alkaloid dan membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap berwarna putih [14]. Tabung (d) setelah ditetesi pereaksi Dragendorff terdapat endapan berwarna jingga. Hal ini dikarenakan pereaksi Dragendorff mengandung ion tetraiodobismutat (III) yang bereaksi dengan alkaloid dan membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap berwarna jingga. Ketiga tabung tersebut menunjukkan bahwa minyak atsiri lempuyang positif mengandung alkaloid [15]. Dengan menggunakan tiga pereaksi yang berbeda, uji alkaloid dapat lebih efektif dalam mendeteksi berbagai jenis alkaloid yang terkandung dalam suatu sampel. Uji flavonoid (e) menggunakan logam  $Mg$  dan pereaksi  $HCl$  37% terjadi perubahan warna dari coklat menjadi merah. Hal ini dikarenakan karena terjadinya reaksi reduksi yang terjadi antara flavonoid dengan logam  $Mg$  dan pereaksi  $HCl$ . Flavonoid mengandung gugus karbonil yang berikatan dengan  $Mg$  dan membentuk kompleks yang berwarna merah atau jingga.  $HCl$  37% digunakan untuk membentuk garam flavilium yang berwarna merah jingga [16]. Pada uji tanin (f) setelah ditambahkan  $FeCl_3$  1%, berubah menjadi hitam dan terdapat endapan, hal ini terjadi karena terjadinya reaksi antara  $FeCl_3$  dengan salah satu gugus  $OH$  yang ada pada senyawa tanin dan membentuk senyawa kompleks [17]. Dan untuk uji saponin (g) ditambahkan  $HCl$  2N menjadi oranye dan terdapat busa. Hal ini dikarenakan  $HCl$  2N digunakan untuk mengaktifkan reaksi reduksi oksidasi yang menghasilkan warna oranye dan menunjukkan adanya saponin. Reaksi ini terjadi karena adanya gugus non polar dan polar dalam saponin yang bersifat aktif di permukaan. Sedangkan busa yang dihasilkan dikarenakan oleh penambahan  $HCl$  2N yang berfungsi untuk mengaktifkan reaksi hidrolisis glikosida dalam saponin. Glikosida ini dapat membentuk busa di dalam air dan menjadi glukosa atau senyawa lain. Sehingga busa yang dihasilkan ini menunjukkan adanya saponin di dalam sampel [18]. Dengan demikian minyak atsiri lempuyang yang digunakan untuk uji antibakteri ini mengandung senyawa berupa alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin.

### 3.4 Uji Skrining Fitokimia Minyak Atsiri Lengkuas

Minyak atsiri lengkuas yang diperoleh dari hasil distilasi diuji skrining fitokimia memiliki warna kuning kecoklatan dan beraroma ekstrak. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 4 berikut.

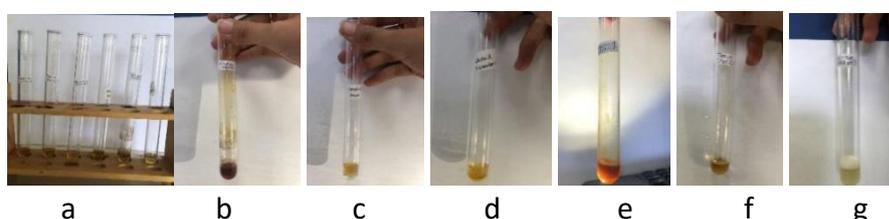
**Tabel 4.** Hasil skrining fitokimia minyak atsiri lengkuas

Nama Uji	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Wagner	+
	Meyer	+
	Dragendorf	+
Flavonoid	Logam Mg dan HCl 37%	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	-
Saponin	HCl 2N	+

Keterangan :

(+ ) = reaksi positif

(-) = reaksi negatif



**Gambar 2.** Uji skrining fitokimia (alkaloid) minyak atsiri lengkuas (a) Kondisi awal sebelum ditetesi pereaksi (b) pereaksi Wagner (c) pereaksi Meyer (d) pereaksi Dragendorf (e) uji flavonoid menggunakan logam Mg dan pereaksi HCl 37% (f) uji tanin menggunakan pereaksi FeCl<sub>3</sub> 1%, dan (g) uji saponin menggunakan HCl 2N

Dalam uji skrining fitokimia minyak atsiri lengkuas memiliki hasil yang sama dengan uji skrining fitokimia pada lempuyang. Adapun kondisi awal sampel sebelum ditetesi dengan berbagai pereaksi ditunjukkan seperti pada Gambar 1(a), yaitu sampel berwarna kuning jernih. Kemudian dalam uji alkaloid terdiri dari tiga tabung reaksi meliputi tabung (b), (c), dan (d). Tabung (b) ditetesi pereaksi Wagner terdapat endapan. Tabung (c) ditetesi pereaksi Meyer berubah menjadi coklat gelap dan endapan putih. Tabung (d) terdapat endapan berwarna jingga setelah ditetesi pereaksi Dragendorf. Untuk uji flavonoid menggunakan logam Mg dan pereaksi HCl 37% terjadi perubahan warna dari coklat menjadi merah seperti Gambar 1(e). Tabung (f) Uji tanin menunjukkan setelah ditambahkan FeCl<sub>3</sub> 1% menunjukkan tidak adanya perubahan warna maupun endapan. Hal ini terjadi karena di dalam sampel tidak terdapat kandungan tanin yang menyebabkan ion Fe<sup>3+</sup> tidak bereaksi dan tidak terjadinya perubahan warna [19]. Tabung (g) Uji saponin juga setelah ditambahkan HCl 2N, menunjukkan perubahan warna menjadi oranye dan terdapat busa. Dengan demikian minyak atsiri lempuyang yang digunakan untuk uji antibakteri ini mengandung golongan senyawa berupa alkaloid, flavonoid, dan saponin.

### 3.5 Uji Skrining Fitokimia Kombinasi Minyak Atsiri Lempuyang dan Lengkuas

Kombinasi minyak atsiri lempuyang dan lengkuas yang diperoleh dari hasil distilasi diuji skrining fitokimia yang ditunjukkan seperti pada Tabel 5 berikut.

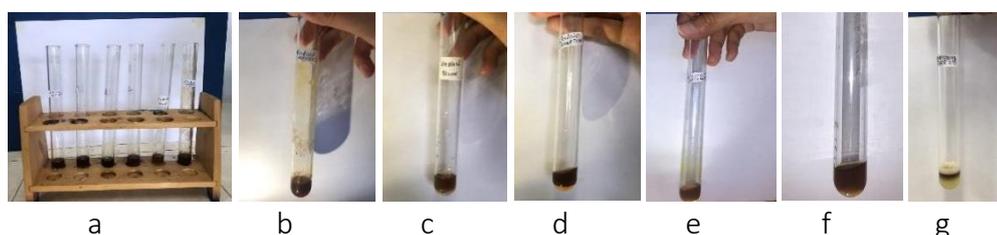
**Tabel 5.** Hasil Uji Skrining Fitokimia Kombinasi

Nama Uji	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Wagner	+
	Meyer	+
	Dragendorf	+
Flavonoid	Logam Mg dan HCl 37%	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	+
Saponin	HCl 2N	+

Keterangan :

(+) = reaksi positif

(-) = reaksi negatif



**Gambar 3.** Uji skrining fitokimia (alkaloid) minyak atsiri lempuyang dan lengkuas(a) Kondisi awal sebelum ditetesi pereaksi (b) pereaksi Wagner (c) pereaksi Meyer (d) pereaksi Dragendorf (e) uji flavonoid logam Mg dan pereaksi HCl 37% (f) uji tanin pereaksi FeCl<sub>3</sub> 1%, dan (g) uji saponin menggunakan HCl 2N

Dalam uji skrining fitokimia minyak atsiri lengkuas memiliki hasil yang sama dengan uji skrining fitokimia pada lempuyang. Pada Gambar (a) menunjukkan kondisi awal sampel sebelum ditetesi dengan berbagai pereaksi, yaitu sampel yang berwarna kuning kecoklatan. Kemudian dalam uji alkaloid terdiri dari tiga tabung reaksi meliputi tabung (b), (c), dan (d). Tabung (b) ditetesi pereaksi Wagner terdapat endapan coklat. Tabung (c) ditetesi pereaksi Meyer berubah menjadi coklat gelap dan terdapat endapan putih. Tabung (d) terdapat endapan berwarna jingga. Ketiga tabung tersebut menunjukkan bahwa minyak atsiri lempuyang positif mengandung alkaloid. Uji flavonoid (e) menggunakan logam Mg dan pereaksi HCl 37% terjadi perubahan dari coklat menjadi merah. Pada uji tanin (f) setelah ditambahkan FeCl<sub>3</sub> 1%, berubah menjadi hitam dan terdapat endapan. Serta untuk uji saponin (g) setelah ditambahkan HCl 2N, berubah menjadi oranye dan terdapat busa. Dengan demikian minyak atsiri lempuyang yang digunakan untuk uji antibakteri ini mengandung senyawa berupa alkaloid, tanin, flavonoid, dan saponin.

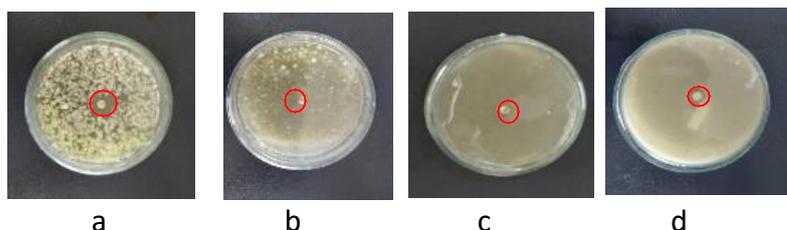
### 3.6 Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri

Dalam pengujian antibakteri minyak atsiri lempuyang, lengkuas, serta kombinasi dengan berbagai macam konsentrasi, terlihat daerah yang menghambat pertumbuhan bakteri penyebab karies gigi. Daerah hambat bakteri terjadi karena adanya kandungan antibakteri dalam minyak atsiri yang menghambat pertumbuhan bakteri. Kandungan antibakteri pada minyak atsiri seperti alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid. Flavonoid dapat mengkoagulasi protein pada bakteri dan menyusun senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler, merusak membrane bakteri sehingga mereka tidak dapat

berkembang lagi. Tanin dapat menghambat enzim *reverse transcriptase* dan DNA *topoisomerase*, mengganggu struktur dinding sel bakteri, yang menyebabkan kematian bakteri. Saponin dapat mengurangi tegangan permukaan sehingga meningkatkan permeabilitas atau kebocoran sel dan mengakibatkan kebocoran senyawa intraseluler. Sedangkan alkaloid menghambat terbentuknya petidoglikan pada bakteri dan menyebabkan lisis pada sel karena mampu menghambat sintesis dinding sel [20]. Daerah hambat bakteri dapat dilihat dari daerah bening di sekitar kertas cakram, seperti terlihat pada Gambar 4-9.



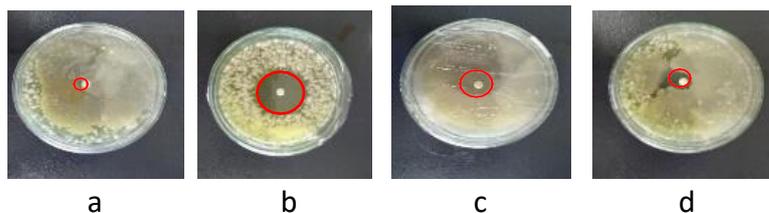
**Gambar 4.** Daerah hambat bakteri dengan konsentrasi minyak atsiri 0%



Keterangan: ○ : daerah hambat

**Gambar 5.** Daerah hambat bakteri dengan minyak atsiri lempuyang (a) konsentrasi 25% (b) konsentrasi 50% (c) konsentrasi 75% (d) konsentrasi 100%

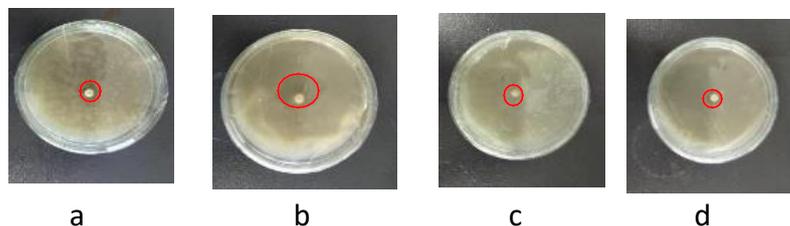
Dalam penelitian ini, digunakan metode difusi kertas cakram *Kirby Bauer* untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri pada minyak atsiri lempuyang wangi. Aktivitas antibakteri diukur dengan melihat ada atau tidaknya daerah penghambatan di sekitar kertas cakram. Pada Gambar 4, kertas cakram dengan konsentrasi minyak atsiri lempuyang 0% tidak menunjukkan adanya daerah hambat. Sebaliknya pada Gambar 5, minyak atsiri lempuyang dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% menunjukkan pengaruh nyata terhadap penghambatan bakteri *Streptococcus mutans*. Daerah hambat ini ditandai dengan lingkaran merah pada Gambar 5. Pada Gambar (a) dengan konsentrasi lempuyang 25% memiliki rata-rata diameter daerah penghambatan bakteri 8,8 mm. Gambar (b) konsentrasi lempuyang 50% memiliki rata-rata diameter daerah hambat bakteri 7,3 mm. Gambar (c) konsentrasi lempuyang 75% menunjukkan rerata diameter daerah hambat bakteri 9,4 mm. Dan Gambar (d) konsentrasi lempuyang 100% menghasilkan rerata diameter daerah hambat bakteri 9,1 mm. Konsentrasi lempuyang 75% merupakan rerata diameter daerah hambat terbesar sebesar 9,4 mm. Penurunan diameter daerah hambat ini disebabkan oleh volume pelarut yang mengurangi kemampuan ekstrak untuk berdifusi [21].



Keterangan: ○ : daerah hambat

**Gambar 6.** Daerah hambat bakteri dengan minyak atsiri lengkuas (a) konsentrasi 25% (b) konsentrasi 50% (c) konsentrasi 75% (d) konsentrasi 100%

Pada Gambar 6, daerah hambat bakteri terdapat pada kertas cakram dengan konsentrasi minyak atsiri lengkuas 25%, 50%, 75%, dan 100%. Daerah hambat tersebut ditandai dengan lingkaran merah. Pada Gambar (a) menunjukkan konsentrasi lengkuas 25% dengan rerata diameter daerah hambat bakteri 13,7mm. Gambar (b) menunjukkan konsentrasi lengkuas 50% dengan rerata diameter daerah hambat bakteri 15,3mm. Gambar (c) menunjukkan konsentrasi lengkuas 75% dengan rerata diameter daerah hambat bakteri 16,4mm. Sedangkan Gambar (d) menunjukkan konsentrasi lengkuas 100% dengan rerata diameter daerah hambat bakteri 17,3mm. Kemampuan hambat ini sebanding dengan konsentrasi. Peningkatan daya hambat antibakteri dengan peningkatan konsentrasi minyak atsiri lengkuas disebabkan oleh peningkatan senyawa antibakteri yang terdapat dalam sampel. Senyawa antibakteri tersebut dapat mengganggu sintesis protein bakteri sehingga mengakibatkan kematian pada bakteri [22].



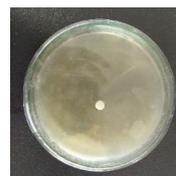
Keterangan: ○ : daerah hambat

**Gambar 7.** Daerah hambat bakteri kombinasi (a) konsentrasi 25% (b) konsentrasi 50% (c) konsentrasi 75% (d) konsentrasi 100%

Dapat dilihat pada Gambar 7, daerah hambat bakteri ditandai dengan lingkaran berwarna merah. Pada Gambar (a) dengan konsentrasi kombinasi 25% menunjukkan rerata diameter daerah hambat bakteri sebesar 5,9 mm. Gambar (b) dengan konsentrasi kombinasi 50% menunjukkan rerata diameter daerah hambat bakteri sebesar 6,2 mm. Gambar (c) dengan konsentrasi 75% menunjukkan rerata diameter daerah hambat bakteri sebesar 7,7 mm. Sedangkan Gambar (d) dengan konsentrasi 100% menunjukkan rerata diameter daerah hambat bakteri sebesar 9,8 mm. Sifat daya hambat ini sejalan dengan konsentrasi. Peningkatan daya hambat antibakteri dengan peningkatan konsentrasi minyak atsiri kombinasi disebabkan oleh peningkatan senyawa antibakteri yang terdapat dalam sampel.



**Gambar 8.** Kontrol Positif dengan obat kumur *Total Care*



**Gambar 9.** Kontrol Negatif (tanpa obat kumur)

Dapat dilihat pada Gambar 8 dan 9 yang merupakan kontrol positif dengan obat kumur *Total Care* dan kontrol negatif tanpa obat kumur. Kontrol positif dan negatif ini merupakan jenis perlakuan yang digunakan untuk membandingkan aktivitas antibakteri minyak atsiri dengan obat kumur di pasaran. Kontrol positif menggunakan antibiotik yang dikenal memiliki aktivitas antibakteri yang kuat dan digunakan sebagai standar untuk membandingkan aktivitas antibakteri pada minyak atsiri. Sedangkan kontrol negatif merupakan suatu perlakuan yang tidak memiliki aktivitas antibakteri sebagai sebuah referensi untuk membandingkan hasil yang didapatkan [23].

**Tabel 6.** Diameter daerah hambat pertumbuhan bakteri sampel *Streptococcus mutans*

Bahan	Konsentrasi Ekstrak Minyak Atsiri (%)	Diameter Daerah Hambat (mm)
Blanko	0	0
Lempuyang	25	8,8
	50	7,3
	75	9,4
	100	9,1
	Lengkuas	25
Lengkuas	50	15,3
	75	16,4
	100	17,3
	Kombinasi	25
Kombinasi	50	6,2
	75	7,7
	100	9,8
Kontrol (+)		9,3
Kontrol (-)		0

Pada Tabel 6 menunjukkan bahwa minyak atsiri lengkuas dengan konsentrasi 100% adalah yang paling efektif dalam menghambat bakteri, dengan diameter daerah hambat terbesar yaitu 17,3mm. Efektivitas daya hambat minyak atsiri berbanding lurus dengan konsentrasinya. Perbedaan ukuran daerah hambat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti variasi konsentrasi, jumlah zat aktif antimikroba dalam ekstrak, kecepatan difusi antimikroba ke dalam medium dan selama inkubasi, pH lingkungan, komponen media, ukuran inokulum, durasi inkubasi, dan aktivitas metabolik mikroorganisme [24].

Zerumbon adalah senyawa seskuiterpen yang ada pada minyak atsiri rimpang lempuyang wangi dan lengkuas. Senyawa bioaktif ini memiliki keunikan pada strukturnya, yaitu terdapat keton dalam 11 rantai karbon. Senyawa ini dapat dimanfaatkan sebagai

agen antimikroba karena memiliki mampu menghambat pertumbuhan mikroba [25]. Diameter daerah hambat minyak atsiri dari lengkuas lebih besar daripada diameter daerah hambat minyak atsiri dari lempuyang. Hal ini disebabkan kandungan zerumbon pada lengkuas sebesar 44,9% [26]. Sedangkan minyak atsiri dari lempuyang wangi mengandung zerumbon sebesar 31,05% [27]. Selain zerumbon, minyak atsiri lengkuas juga mengandung senyawa antibakteri seperti senyawa fenol yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa fenol memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu proses pembentukan dinding dan membran sel bakteri [28].

Pada penelitian ini menggunakan kontrol positif berupa obat kumur komersial dengan bahan aktif utama *Cetylpyridinium chloride* (CPC), *xylytol*, dan *sodium flouride*. Kombinasi bahan-bahan ini bermanfaat untuk menjaga kesehatan mulut dan mencegah penyakit mulut, termasuk pada gigi dan gusi. *Cetylpyridinium chloride* (CPC) bekerja dengan meningkatkan interaksi antar sel mikroorganisme, merusak membran sel yang mengakibatkan kebocoran dari komponen sitoplasma, serta mengganggu metabolisme sel mikrobial [29]. Tidak hanya itu, *Cetylpyridinium chloride* (CPC) juga dapat menghambat sintesis glukan, yang mencegah pembentukan biofilm serta enzim Fts (*Fruktosiltransferase*) yang penting dalam pembentukan biofilm dari mikrobial di rongga mulut [30]. Aktivitas anti mikroba pada senyawa CPC juga dapat melakukan sebuah penetrasi terhadap membran sel bakteri. Aktivitas ini mampu menyebabkan kebocoran intraseluler dan gangguan metabolisme bakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan sel dan berujung pada kematian pada sel itu sendiri [31].

Dari hasil penelitian, penggunaan obat kumur komersial sebagai bahan pembandingan menunjukkan diameter daerah hambat bakteri yang jauh lebih kecil yaitu sebesar 9,3 mm dibandingkan dengan minyak atsiri dari lengkuas dengan diameter daerah hambat berkisar 13,7 mm - 17,3 mm. Menurut David, dkk. Aktivitas penghambatan dengan diameter daerah hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sebagai sangat kuat, 10-20 mm sebagai kuat, 5-10 mm sebagai sedang, dan 5 mm atau kurang sebagai lemah [32]. Oleh karena itu, efektivitas minyak atsiri rimpang lengkuas dalam menghambat bakteri dikategorikan sebagai kuat. Hal ini berarti bahwa minyak atsiri dari lengkuas pada konsentrasi 100% paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dibandingkan dengan minyak atsiri dari rimpang lempuyang wangi dan obat kumur komersial (sebagai kontrol positif).

#### 4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri lengkuas pada konsentrasi 100% dengan diameter daerah hambatan sebesar 17,3 mm, merupakan bahan yang paling efektif dalam menghambat bakteri *Streptococcus mutans* dan dikategorikan memiliki aktivitas antibakteri yang kuat.

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan pembuatan obat kumur dengan konsentrasi minyak atsiri lengkuas terbaik. Uji kandungan fitokimia minyak atsiri secara kuantitatif dan uji organoleptik juga diperlukan.

## REFERENSI

- [1] S. Hernawati, B. S. S. Aldinah, P. Endah, dan A. Irmawati, "The Effectiveness of Red Pomegranate (*Punica granatum* linn) Extract Mouthwash Against The Number of Oral Bacteria Colony," *Malaysian Journal Medicine Health Sciences*, 2020.
- [2] A. R. Khairullah, T. Sholikah, A. N. M. Ansori, F. Amaq, dan A. Widodo, "A review of an important medicinal plant: *Alpinia galanga* (L.) Willd.," *Systematic Reviews in Pharmacy*, vol. 11, no. 10, hal. 387-395, 2020.
- [3] F. L. Syarifah, "Penetapan kadar flavonoid total dan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Sm.) dan lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val)," *Skripsi*, 2019.
- [4] S. G. Rahayu dan P. H. Suharti, "Pengaruh Suhu Pemanasan Daun Kelor (*Moringe Oleifera*) Terhadap Yield Dalam Pembuatan Hdan Sanitizer Gel," *DISTILAT Jurnal Teknologi Separasi*, vol. 7, no. 2, hal. 642–648, 2023.
- [5] O. R. Aji dan H. C. Zakkiyah, "Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) terhadap Cendawan *Pythium* sp. secara In Vitro," *Biota Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, vol. 6, no. 1, hal. 58–63, 2021.
- [6] A. Rizkita, "Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sereh Wangi, Sirih Hijau, Dan Jahe Merah Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus Mutans*," *Universitas Negeri Semarang*, no. November 2017, hal. 1–2, 2017.
- [7] G. F. Fariha dan H. Hardjono, "Pembuatan Minyak Atsiri Bunga Mawar Menggunakan Metode Ultrasonik," *DISTILAT Jurnal Teknologi Separasi*, vol. 9, no. 4, hal. 491–498, 2023.
- [8] R. G. Islami, F. Arlista, dan M. Mufid, "Studi Literatur Proses Pembuatan Minyak Dedak Padi (Rice Bran Oil) Menggunakan Metode Ekstraksi Padat-Cair," *DISTILAT Jurnal Teknologi Separasi*, vol. 7, no. 2, hal. 579–584, 2023.
- [9] N. Ramadhaniyah, "Uji Aktivitas Ekstrak N-Heksan Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* Penyebab Karies Gigi," *Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar*, 2018.
- [10] D. Ramdani dan S. Chuzaemi, "Pengaruh perbedaan jenis pelarut dalam proses ekstraksi buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada pakan terhadap viabilitas protozoa dan produksi gas in-vitro," *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, vol. 27, no. 2, hal. 54–62, 2014.
- [11] M. Fajri dan Y. Daru, "Pengaruh Rasio Volume Pelarut dan Waktu Ekstraksi terhadap Perolehan Minyak Biji Kelor," *agriTECH*, vol. 42, no. 2, hal. 123, 2022.
- [12] E. T. Arung, dan W. Kusuma, "Kebun Raya Balikpapan Provinsi Kalimantan Timur," 2006.
- [13] Azriyenni, A. Mulyadi, Y. Kusumawaty, dan I. Zurani, "Distilasi dan Pengujian Karakteristik Minyak Atsiri Hasil Penyulingan Serai Wangi di Desa Siabu, Salo, Kampar," *Jurnal Pengabdian Masyarakat Teknik*, vol. 4, hal. 82–88, 2022.
- [14] I. D. P. R. Elyana, G. Gdana Putra, dan I. W. Gunam, "Pengaruh Persentase Pengambilan Volume Destilat Cairan Pulpa Hasil Samping Fermentasi Biji Kakao Terhadap Karakteristik Cuka Fermentasi," *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, vol. 5, no. 3, hal. 1–12, 2017.

- [15] S. D. Marlina, V. Suryanti, dan Suyono, "Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam ( *Sechium edule* Jacq . Swartz .) dalam Ekstrak Etanol The phytochemical screenings dan thin layer chromatography analysis of," *Biofarmasi*, vol. 3, no. 1, hal. 26–31, 2005.
- [16] R. A. P. Wardhani dan Supartono, "Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) pada Bakteri," *Indonesia Jurnal Chemical Science*, vol. 4, no. 1, hal. 46–51, 2015.
- [17] I. Nurjannah, B. A. A. Mustariani, dan N. Suryani, "Spin Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstrak Kombinasi Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Dan Kelor (*Moringa oleifera* L.) Sebagai Zat Aktif Pada Sabun Antibakteri," *SPIN Jurnal Kimia Pendidikan Kimia*, vol. 4, no. 1, hal. 23–36, 2022.
- [18] A. Sangkal, R. Ismail, dan N. S. Marasabessy, "Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Bintaro ( *Cerbera manghas* L .) Dengan Pelarut Etanol 70 %, Aseton dan n-Hexan," vol. 4, no. 1, hal. 71–81, 2020.
- [19] A. M. Kopon, A. B. Baunsele, dan E. G. Boelan, "Skrining Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Biji Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Asal Pulau Timor," *Akta Kimia Indonesia*, vol. 5, no. 1, hal. 43, 2020.
- [20] D. Wulan Kusumo, E. Kusuma Ningrum, dan C. Hayu Adi Makayasa, "Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Pada Ekstrak Etanol Bunga Pepaya (*Carica papaya* L.)," *Journal of Current Pharmaceutical Science*, vol. 5, no. 2, hal. 2598–2095, 2022.
- [21] R. I. A. Hamid, paulina V. . Yamlean, dan S. K. E., "Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Pada Daun Pepaya (*Carica papaya*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*," *Trinita Health Science Journal*, vol. 1, no. 2, 2022.
- [22] P. P. Maya, F. A. Rahmadhani, A. R. Dewi, dan A. S. Surydanari, "Studi Efektivitas Disinfektan Alami Dari Ekstrak Daun Pulai (*Alstonia Scholaris*) Untuk Menghambat Jumlah Bakteri Di Toilet Umum," *DISTILAT Jurnal Teknologi Separasi*, vol. 8, no. 1, hal. 154–160, 2023.
- [23] E. Sari, W. Ruf, dan S. Sumardianto, "Kajian Senyawa Bioaktif Ekstrak Teripang Hitam (*Holothuria Edulis*) Basah Dan Kering Sebagai Antibakteri Alami," *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, vol. 3, no. 4, hal. 16–24, 2014.
- [24] I. ZAHRA, "Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 Secara In Vitro," *MEDFARM Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, vol. 10, no. 1, hal. 28–34, 2021.
- [25] T. Kitayama, T. Yokoi, dan Y. Kawai, "The chemistry of zerumbone. Part 5: Structural transformation of the dimethylamine derivatives," *Tetrahedron*, vol. 59, no. 26, hal. 4857–4866, 2003.
- [26] T. S. A. T. Kamazeri, O. A. Samah, M. Taher, D. Susanti, dan H. Qaralleh, "Antimicrobial activity and essential oils of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, dan *Zingiber cassumunar* from Malaysia," *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, vol. 5, no. 3, hal. 202–209, 2012.
- [27] L. S. R. Arambewela, M. Arawwawala, N. L. Owen, dan B. Jarvis, "Volatile oil of *alpinia galanga* willd. of Sri Lanka," *Journal Essential Oil Research*, vol. 19, no. 5, hal. 455–456, 2007.

- [28] D. Aprianti, *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Picung (Pangium Edule Reinw) Dan Pengaruhnya Terhadap Stabilitas Fisiko Kimia, Mikrobiologi Dan Sensori Ikan Kembung (Rastrelliger neglectus)*. 2011.
- [29] A. Desi, "Nilai pH dan Kualitas Zat Gizi Makro Daging Beku, Dingin dan Segar Pada Pasar Tradisional dan Pasar Swalayan. Penelitian Gizi Dan Makanan," vol. 41, no. 1, hal. 21–30, 2018.
- [30] S. R. P. Dewi, A. B. Lutfi, V. Veronita, F. A. Amarel, T. Indira, dan D. H. Harahap, "Perbandingan efektivitas berbagai obat kumur terhadap kadar Immunoglobulin A pada saliva penderita karies Comparison of mouthwashes effectiveness to the level of salivary immunoglobulin A in caries patients," *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*, vol. 30, no. 2, hal. 138, 2018.
- [31] A. Haerian-Ardakani, M. Rizaeei, M. Talebi, N. K. Valian, dan R. Amid, "Comparison of antimicrobial effects of three different mouthwashes," *Iranian Journal Public Health*, vol. 44, no. 7, hal. 997–1003, 2015.
- [32] A. Rawlinson, S. Pollington, T. S. Walsh, D. J. Lamb, I. Marlow, J. Haywood, dan P. Wright, "Efficacy of two alcohol-free cetylpyridinium chloride mouthwashes - A randomized double-blind crossover study," *Journal of Clinical Periodontology*, vol. 35, no. 3, hal. 230–235, 2008.