



Indonesian Dental Association

Journal of Indonesian Dental Association

<http://jurnal.pdgi.or.id/index.php/jida>  
ISSN: 2621-6183 (Print); ISSN: 2621-6175 (Online)



Research Article

# Effect of Hexane Fractionation of *Plectranthus amboinicus* Leaf Extract on the Formation of *Fusobacterium nucleatum* Inhibition Zone

Rezky Anggraeni<sup>1§</sup>, Alfred Pakpahan<sup>1</sup>, Juniarta Manalu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology Oral, Faculty of Dentistry, Universitas Trisakti, Indonesia

<sup>2</sup>Undergraduate Student, Faculty of Dentistry, Universitas Trisakti, Indonesia

## KEYWORDS

*Fusobacterium nucleatum*,  
Hexane extract, *Plectranthus*  
*amboinicus*

## ABSTRACT

**Introduction:** Periodontitis is an inflammatory disease in the oral cavity commonly experienced by the Indonesian population. In addition to therapeutic periodontal therapy, preventive care is also needed, such as plaque control by brushing teeth and using mouthwash. *Plectranthus amboinicus* leaves are a plant used by some Indonesian communities as herbal medicine. *Plectranthus amboinicus* is one of the plants that is known to have antibacterial activity. **Objective:** To determine the inhibitory activity of hexane fraction extract of *P. amboinicus* leaves against *Fusobacterium nucleatum*. **Methods:** The antibacterial activity was evaluated using the agar diffusion technique, with chlorhexidine as the positive control. *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586) were treated to hexane fractions of *P. amboinicus* leaf extract at concentrations of 25%, 50%, and 75% over a 24-hour period. To measure the diameter of the inhibition zone, followed by statistical tests, namely Post Hoc Test to see differences in each treatment group. **Results:** Phytochemical testing results showed that the hexane fraction extract of *P. amboinicus* leaves contained active compounds such as phenols, steroids, tannins, and alkaloids. The 75% concentration of the hexane fraction extract from *P. amboinicus* demonstrates an inhibitory effect on *F. nucleatum*, had inhibition zone of 14,68 mm. **Conclusion:** The hexane fraction of *P. amboinicus* leaf extract exhibits inhibitory effects against *Fusobacterium nucleatum*.

<sup>§</sup> Corresponding Author

E-mail address: [rezkyanggraeni@trisakti.ac.id](mailto:rezkyanggraeni@trisakti.ac.id) (Rezky Anggraeni)

DOI: 10.32793/jida.v7i2.1210

**Copyright:** ©2024 Anggraeni R, Pakpahan A, Manalu J. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium provided the original author and sources are credited.

## KATA KUNCI

*Fusobacterium nucleatum*,  
Ekstrak Heksana, *Plectranthus*  
*amboinicus*

## ABSTRAK

**Pendahuluan:** Periodontitis adalah penyakit inflamasi pada rongga mulut yang umum dialami oleh masyarakat Indonesia. Selain perawatan periodontal terapeutik, perawatan pencegahan juga diperlukan, seperti kontrol plak dengan menyikat gigi dan menggunakan obat kumur. Daun *Plectranthus amboinicus* merupakan tanaman yang digunakan oleh sebagian masyarakat Indonesia sebagai obat herbal. *Plectranthus amboinicus* adalah salah satu tanaman yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri. **Tujuan:** Untuk mengetahui aktivitas penghambatan ekstrak fraksi heksana daun *P. amboinicus* terhadap bakteri *Fusobacterium nucleatum*. **Metode:** Aktivitas antibakteri dievaluasi menggunakan teknik difusi agar dengan klorheksidin sebagai kontrol positif. *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586) diberi perlakuan dengan fraksi heksana dari ekstrak daun *P. amboinicus* pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75% selama 24 jam. Kemudian, dilakukan pengukuran diameter zona hambat, diikuti dengan uji statistik menggunakan uji *Post Hoc*, untuk melihat perbedaan pada setiap kelompok perlakuan. **Hasil:** Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa fraksi heksana dari ekstrak daun *P. amboinicus* mengandung senyawa aktif seperti fenol, steroid, tanin, dan alkaloid. Fraksi heksana ekstrak daun *P. amboinicus* dengan konsentrasi 75% menunjukkan efek penghambatan terhadap *F. nucleatum* dengan zona hambat sebesar 14,68 mm. **Kesimpulan:** Ekstrak fraksi heksana daun *P. amboinicus* memiliki aktivitas zona hambat terhadap bakteri *F. nucleatum*.

## PENDAHULUAN

Periodontitis adalah penyakit inflamasi multifaktorial kronis yang berkaitan dengan akumulasi plak, dan ditandai dengan adanya kerusakan secara perlahan pada jaringan pendukung gigi, meliputi ligamen periodontal dan tulang alveolar.<sup>1</sup> Periodontitis termasuk salah satu dari penyakit periodontal yang terbagi menjadi gingivitis dan periodontitis.<sup>2</sup>

Akumulasi plak gigi yang berlebihan pada margin gingiva menyebabkan peradangan dan meningkatkan jumlah bakteri proteolitik dan kebanyakan bersifat anaerob. Terdapatnya spesies periodontal yang bersifat patogen pada sulkus gingiva memicu respon inflamasi pada jaringan gingiva. Ketika dibiarkan menjadi kronis, hal ini dapat menimbulkan dampak yang drastis pada periodonsium individu yang rentan.<sup>2,3</sup>

*Fusobacterium nucleatum* merupakan bakteri patogen oportunistik yang umum ditemukan pada habitat subgingiva. Spesies ini bersifat anaerob, invasif, dan memicu respons inflamasi.<sup>4</sup> Peran dari *F. nucleatum* ini adalah mendukung secara struktural sebagai organisme penghubung, menghubungkan koloni bakteri awal seperti spesies *Streptococcus* dengan koloni bakteri selanjutnya yang sebagian besar bersifat anaerobik dan juga dapat terikat, termasuk *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, sehingga *F. nucleatum* dapat memfasilitasi interaksi antara berbagai jenis bakteri yang terlibat dalam proses perkembangan penyakit periodontal.<sup>5-6</sup>

Perawatan periodontitis kronis mencakup scaling dan *root planning* yang bertujuan untuk menghilangkan bakteri secara mekanis, meskipun tidak dapat sepenuhnya membersihkan semua mikroorganisme patogen.<sup>7</sup> Terapi pendukung melibatkan pemberian antibiotik, antiinflamasi, dan larutan kumur. Klorheksidin glukonat dikenal biokompatibel, sehingga banyak digunakan dalam bentuk obat kumur antiseptik yang diresepkan oleh

praktisi kesehatan gigi dan juga dipakai oleh masyarakat luas. Namun, terdapat efek samping jika digunakan dalam jangka waktu panjang yaitu, xerostomia (mulut kering), perubahan persepsi rasa (hipogeusia), serta perubahan warna pada gigi.<sup>8</sup>

Tanaman telah menjadi sumber obat yang penting selama ribuan tahun.<sup>9</sup> Daun torbangun (*Plectranthus amboinicus*) merupakan tanaman obat yang tergolong dalam famili *Lamiaceae*. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa daun *P. amboinicus* memiliki potensi sebagai obat herbal, antara lain sebagai antikanker, antibakteri dan, diuretik, analgesik, sitotoksitas, antiinflamasi, dan antioksidan. Khasiat farmakologi dari tanaman obat sangat dipengaruhi oleh kandungan fitokimia yang dimilikinya.<sup>10</sup> Terdapat penelitian bahwa senyawa sekunder dari ekstrak etil asetat *P. amboinicus* menunjukkan sifat antimikroba dengan kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*.<sup>11</sup> Penelitian lainnya mengenai potensi dari ekstrak etanol daun *P. amboinicus* sebagai antibakteri terhadap bakteri Gram positif yaitu *P. acnes* dan *S. epidermis*.<sup>12</sup> Selain itu, penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana daun *P. amboinicus* memiliki efek antibakteri yang kuat terhadap *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* pada semua konsentrasi yang diuji, dengan zona hambat berkisar antara 10-20 mm.<sup>13</sup>

Penelitian sebelumnya memperlihatkan penggunaan pelarut heksana dapat menarik senyawa aktif seperti flavonoid, saponin, tannin dan steroid dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. typhi*, hal tersebut membuktikan ekstrak menggunakan peraut heksan memiliki aktivitas antibakteri. Berdasarkan literatur tersebut, belum adanya penelitian ilmiah yang dilakukan mengenai pengaruhnya terhadap bakteri pemicu inflamasi periodontitis, maka penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi dan membandingkan efektivitas *P. amboinicus* terhadap pertumbuhan *F. nucleatum*.

## BAHAN DAN METODE

### Persiapan bahan tanaman, ekstraksi dan fraksinasi

Daun *P. amboinicus* sebanyak 3 kg yang masih segar dihancurkan menggunakan blender. Daun *P. amboinicus* yang telah dihancurkan, direndam bersama dengan pelarut heksan. Kemudian hasil dari rendaman tersebut dilakukan proses maserasi dengan cara memasukkan campuran tersebut ke dalam maserator dan direndam selama 24 jam. Hasil maserasi dimasukkan pada *rotary evaporator* untuk dilakukan pemisahan zat aktif dengan pelarut. Setelah itu, dilakukan proses fraksinasi. Proses fraksinasi heksan dilakukan kembali secara berulang hingga diperkirakan sudah tidak ada lagi senyawa yang ditarik oleh pelarut n-heksana tidak berwarna lagi.

### Uji Fitokimia

Analisis senyawa dilakukan secara kualitatif dengan metode uji menggunakan pewarnaan pada ekstrak. Untuk mengetahui senyawa fenolik digunakan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  5%, senyawa flavonoid menggunakan pereaksi HCl pekat Mg, pereaksi  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2N, dan pereaksi NaOH 10%, senyawa terpenoid dengan pereaksi Lieberman-Burchard. Kemudian untuk senyawa saponin pereaksi yang digunakan adalah pereaksi HCl +  $\text{H}_2\text{O}$ , senyawa tanin menggunakan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1%, dan senyawa alkaloid pereaksinya adalah Wagner dan Dragendorff.

### Penyetaraan pemurnian bakteri dengan McFarland 0,5

Sebanyak 1-2 ose biakan murni bakteri *F. nucleatum* (ATCC 25586) disuspensikan ke dalam akuades (4 ml) pada tabung reaksi steril. Kemudian, suspensi bakteri divorteks hingga homogen sampai didapatkan kekeruhan sesuai standar McFarland 0,5 atau sebanding dengan jumlah bakteri  $1 \times 10^8$  CFU/ml.

### Pembuatan media agar

Pembuatan media MHA (Muller Hinton Agar) (Himedia, India) dilakukan dengan menentukan banyaknya bubuk MHA yang akan digunakan. Untuk membuat 1000 ml dibutuhkan bubuk MHA sebanyak 21 gr. Dalam satu cawan petri dibutuhkan sekitar 20 ml media agar. Sehingga untuk tiga cawan petri dibutuhkan 1,26 gr.

Bubuk MHA 1,26 gram dimasukan ke dalam Erlenmeyer lalu dilarutkan dengan akuades (60 ml). Setelah itu, larutan panaskan menggunakan waterbath hingga mencapai titik didih, aduk rata hingga media menjadi bening dan larut sepenuhnya. Jika diperlukan,

gunakan pH meter untuk memastikan pH sesuai (umumnya sekitar pH 7,0 untuk media umum). Sesuaikan dengan menambahkan larutan HCl atau NaOH secara perlahan. Selanjutnya, tuangkan larutan media ke dalam tabung atau biarkan di dalam labu Erlenmeyer. Sterilkan menggunakan autoklaf pada suhu  $121^\circ\text{C}$  selama 15-20 menit. Setelah sterilisasi, biarkan larutan agar mendingin hingga sekitar  $45-50^\circ\text{C}$ . Tuangkan media ke dalam petri dish steril (sekitar 15-20 mL per petri dish). Media yang telah mengeras pada suhu ruang siap digunakan atau dapat disimpan di kulkas pada suhu  $4^\circ\text{C}$  untuk keperluan selanjutnya.

### Penggoresan bakteri pada cawan petri

Menggunakan mikropipet mengambil biakan bakteri yang telah siap sebanyak 50 mikroliter lalu ditetesi ke atas medium agar pada cawan petri, kemudian digoreskan secara perlahan dan merata menggunakan jarum ose steril pada setiap media agar.

### Penggoresan bakteri pada cawan petri

Media agar yang telah diberi biakan bakteri siap digunakan untuk uji perlakuan. Rendam kertas cakram pada ekstrak daun *P. amboinicus* konsentrasi 12,5% selama 5 detik menggunakan pinset steril. Kemudian, kertas cakram yang sudah diberi larutan diletakkan pada media agar sesuai dengan tanda yang dibuat sebelumnya. Kemudian, ulangi tahapan tersebut pada pemberian konsentrasi 25%, 50%, 75%, kontrol positif (klorheksidin), dan kontrol negatif (akuades). Pinset yang digunakan tiap pemberian berbagai larutan, sebelum digunakan pada larutan lain harus disterilkan kembali dengan cara merendam pinset pada larutan etanol lalu dibakar diatas spiritus. Hal ini dilakukan guna mencegah larutan saling terkontaminasi.

Kemudian, cawan petri ditutup rapat dan dimasukkan pada wadah anaerob setelah itu dimasukkan ke inkubator dengan suhu  $37^\circ\text{C}$  untuk diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam, dilakukan pengukuran diameter zona hambat kemudian dicatat.

### Analisa Statistik

Analisis data menggunakan uji normalitas *Shapiro Wilk*. Apabila data yang diperoleh terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ), maka dilakukan uji ANOVA dua jalan. Jika hasil uji menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) maka dilanjutkan uji *Post hoc*. Semua analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak *Statistical Program for Social Science* (SPSS) 29.0.

## HASIL

### Uji Determinasi dan Fitokimia

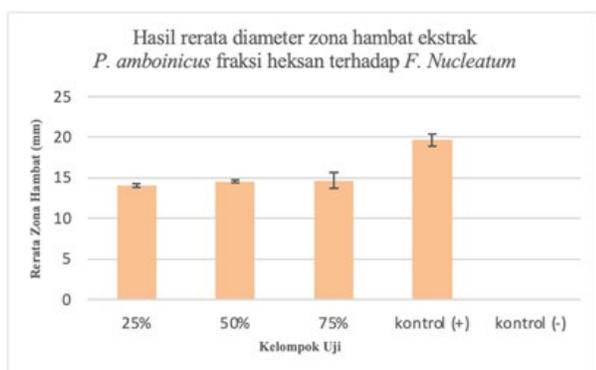
Hasil uji determinasi menyatakan bahwa daun yang digunakan pada penelitian ini adalah jenis *P. amboinicus*. Kemudian, dilanjutkan dengan uji fitokimia menggunakan metode kualitatif. Hasil uji fitokimia ekstrak daun *P. amboinicus* fraksi heksan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia fraksi heksan

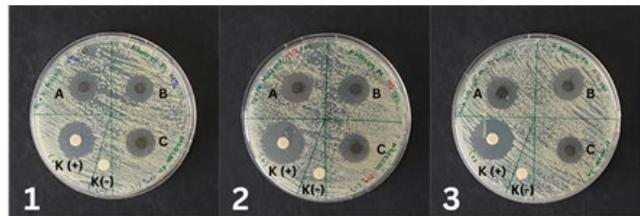
Metabolit Sekunder	Hasil Uji
Fenolik	-
Flavonoid	-
Steroid	+
Terpenoid	-
Saponin	+
Tanin	-
Alkaloid	+

### Uji Antibakteri *F. nucleatum*

Uji antibakteri dikerjakan menggunakan ekstrak daun *P. amboinicus* fraksi heksan dengan tiga konsentrasi yang digunakan yaitu 25%, 50%, dan 75%. Pengulangan sebanyak tiga kali pada setiap konsentrasi dengan menggunakan bakteri *F. nucleatum* yang diinkubasi selama 24 jam. Gambar 1 memperlihatkan diagram batang hasil rerata pengukuran zona hambat terhadap bakteri *F. nucleatum* pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75%. Hasil rata-rata pengukuran ekstrak *P. amboinicus* fraksi heksan sebesar 14,08 mm, 14,53 mm, dan 14,68 mm. Sedangkan pada klorheksidin (kontrol positif) rata-rata diameter zona hambat 19,65 mm serta perlakuan dengan akuades tidak memberikan daya hambat. Uji antibakteri ekstrak *P. amboinicus* terhadap *F. nucleatum* dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Diagram batang rerata diameter zona hambat pertumbuhan *F. nucleatum*.

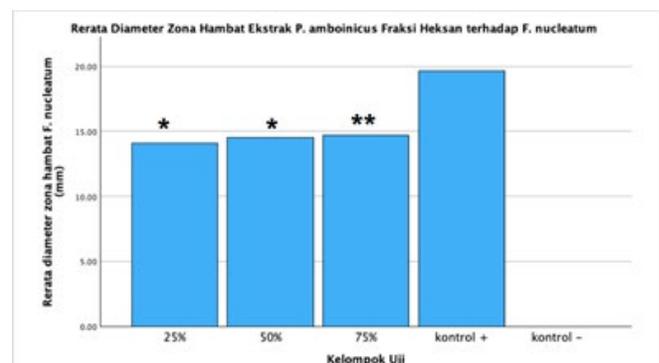


Gambar 2. Uji antibakteri ekstrak *P. amboinicus* fraksi heksan terhadap *F. nucleatum*. (1) Konsentrasi 25%, (2) Konsentrasi 50%, (3) Konsentrasi 75%, (A) Pengulangan I, (B) Pengulangan II, (C) Pengulangan III, K(+): Klorheksidin, K(-): Akuades.

### Uji Statistik

Setelah didapatkan data rata-rata zona hambat ekstrak *P. amboinicus* fraksi heksan, hasil tersebut dilakukan uji statistik. Hasil uji normalitas *Shapiro Wilk* ekstrak *P. amboinicus* fraksi heksan pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75% mendapatkan nilai signifikansi  $p > 0,05$ . Nilai sig. uji normalitas  $p > 0,05$  memiliki arti bahwa data berdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas, nilai signifikansi  $p = 0,117$ . Oleh karena  $p > 0,05$  maka diketahui bahwa varian data adalah homogen. Varian data yang homogen dapat dilakukan uji lanjutan dengan uji ANOVA *One-Way* dan uji *Post Hoc*.

Hasil analisis *Post hoc* diperoleh hasil perbandingan kelompok uji konsentrasi 25%, 50%, dan 75% untuk melihat apakah ada perbedaan bermakna pada tiap kelompok perlakuan terhadap klorheksidin. Nilai  $p < 0,05$  menyatakan bahwa terdapat perbedaan bermakna. Hasil uji *Post hoc* menunjukkan bahwa kelompok uji ekstrak *P. amboinicus* fraksi heksan konsentrasi 25%, 50%, dan 75% memiliki perbedaan bermakna dengan klorheksidin. Dengan melihat hasil diagram batang pada Gambar 3 fraksi heksan konsentrasi 75% memiliki rerata diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan fraksi lain yang memiliki nilai  $p < 0,05$ .



Gambar 3. Diagram batang Hasil uji *Post Hoc*. Simbol (\*) menandakan adanya perbedaan bermakna dengan nilai  $p < 0,05$  dan (\*\*) menandakan adanya perbedaan sangat bermakna dengan nilai  $p < 0,01$ .

## PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan ekstrak daun *P. amboinicus* dengan tiga konsentrasi, yaitu 25%, 50%, dan 75%, memperlihatkan pembentukan zona hambat pada semua konsentrasi. Rata-rata diameter zona hambat terhadap bakteri *F. nucleatum* dengan konsentrasi 25% pada fraksi heksan memberikan hasil yaitu sebesar 14,08 mm, zona yang terbentuk memperlihatkan dengan konsentrasi terkecil ekstrak heksan *P. amboinicus* mampu menghambat pertumbuhan, sedangkan dengan konsentrasi 50% pada fraksi heksan membentuk zona hambat sebesar 14,53 mm, hal ini memperlihatkan peningkatan zona hambat yang terbentuk yang menunjukkan penambahan konsentrasi ekstrak heksan *P. amboinicus* dapat meningkatkan zona hambat yang terbentuk. Untuk konsentrasi tertinggi sebesar 75% dari ekstrak heksan didapatkan zona hambat sebesar 14,68 mm, meskipun pembentukan zona hambat tidak besar, namun terdapat peningkatan zona hambat yang terbentuk, hal ini memperlihatkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin besar pembentukan zona hambat.

Ekstrak heksan terbukti dapat menarik senyawa aktif seperti fenolik, flavonoid, steroid, terpenoid, saponin, tanin, dan alkaloid. Komponen-komponen tersebut bekerja dengan merusak membran sel bakteri, menyebabkan kebocoran isi sel, menghambat proses sintesis protein, serta mengganggu fungsi enzim. Selain itu, sifat antioksidan dari *P. amboinicus* berperan dalam menetralkan radikal bebas, yang secara tidak langsung turut menghambat proliferasi bakteri. Senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun *P. amboinicus* juga telah dibuktikan memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri Gram negatif.<sup>14,15</sup>

Hasil penelitian lain penggunaan ekstrak daun *P. amboinicus* banyak diketahui memiliki efek antibakteri terhadap mikroba yang ada. Penelitian terdahulu menggunakan ekstrak etil asetat daun *P. amboinicus* terhadap bakteri Gram negatif lain seperti *E. coli* dengan menunjukkan hasil daya hambat yang besar.<sup>16</sup> Pada penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun *P. amboinicus* dengan fraksi heksan menghasilkan diameter zona hambat yang tinggi karena heksan meskipun heksan bersifat non polar. Penelitian terdahulu juga menyatakan bahwa semi polar memiliki aktifitas yang baik dalam berinteraksi dengan dinding sel.<sup>17</sup> Sedangkan pada penelitian ini juga mampu membuktikan bahwa ekstrak daun *P. amboinicus* fraksi heksan juga efektif dalam menghambat pertumbuhan dari bakteri *F. nucleatum*.

Penelitian lain juga telah membuktikan bahwa ekstrak daun *P. amboinicus* dapat menghambat bakteri Gram positif seperti bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi 50%, didapat nilai diameter zona hambat sebesar 4,0 mm dan 2,8 mm. Peneliti terdahulu mengklasifikasikan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri berdasarkan 4 kelompok yaitu zona hambatan 20 mm atau lebih dikategorikan

sangat kuat, 10-20 mm dikategorikan kuat, 5-10 mm dikategorikan sedang dan 5 mm atau kurang dikategorikan lemah. Dari hasil pengamatan zona hambat pada bakteri Gram positif tersebut termasuk kategori lemah.<sup>18</sup> Melalui penelitian ini dapat membuktikan bahwa ekstrak daun *P. amboinicus* lebih efisien dalam menghambat bakteri Gram negatif karena pada penelitian ini menggunakan bakteri *F. nucleatum* yang juga termasuk ke dalam kelompok bakteri Gram negatif pada konsentrasi yang sama didapat nilai diameter zona hambat. Meskipun hasil uji ekstrak heksana daun *P. amboinicus* pada beberapa konsentrasi tidak menunjukkan signifikan terhadap kontrol positif, namun hasil uji membentuk zona hambat dengan kategori sedang (*intermediate*).

## KESIMPULAN

Ekstrak daun *P. amboinicus* fraksi heksana mampu menghambat pertumbuhan bakteri *F. nucleatum*, dimana ekstrak tersebut mengandung senyawa aktif flavonoid, tannin, saponin dan steroid yang memiliki aktivitas antibakteri.

## KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Kwon T, Lamster IB, Levin L. Current concepts in the management of periodontitis. *International Dental Journal*. 2021;71(6):462–76. doi:10.1111/idj.12630
2. Könönen E, Gursoy M, Gursoy UK. Periodontitis: A Multifaceted Disease of Tooth-Supporting Tissues. *J Clin Med*. 2019 Jul 31;8(8):1135.
3. Sanz M, Beighton D, Curtis MA, Cury JA, Dige I, Dommisch H, et al. Role of microbial biofilms in the maintenance of oral health and in the development of dental caries and periodontal diseases. consensus report of group 1 of the joint EFP/Orcas Workshop on the boundaries between caries and periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 2017;44.
4. Mesa F, Mesa-López MJ, Egea-Valenzuela J, Benavides-Reyes C, Nibali L, Ide M, Mainas G, Rizzo M, Magan-Fernandez A. A New Comorbidity in Periodontitis: *Fusobacterium nucleatum* and Colorectal Cancer. *Medicina (Kaunas)*. 2022 Apr 15;58(4):546.
5. Brennan CA, Garrett WS. *Fusobacterium nucleatum* - symbiont, opportunist and *Oncobacterium*. *Nat Rev Microbiol*. 2019 Mar;17(3):156- 166.
6. McIlvanna E, Linden GJ, Craig SG, Lundy FT, James JA. *Fusobacterium nucleatum* and oral cancer: a critical review. *BMC Cancer*. 2021 Nov 13;21(1):1212.

7. Reynolds MA, Kao RT, Camargo PM, Caton JG, Clem DS, Fiorellini JP, Geisinger ML, Mills MP, Nares S, Nevins ML. Periodontal regeneration - intrabony defects: a consensus report from the AAP Regeneration Workshop. *J Periodontol*. 2015;86(2 Suppl):S105–S107.
8. Brookes ZLS, Bescos R, Belfield LA, Ali K, Roberts A. Current uses of chlorhexidine for management of oral disease: a narrative review. *J Dent*. 2020;103(July):103497.
9. Puspitasari, Ismi; SARI, Ghani Nurfiana Fadma; Indrayati, Ana. Pemanfaatan tanaman obat keluarga (toga) sebagai alternatif pengobatan mandiri. *Warta LPM*, 2021, 24.3: 456-465.
10. Aisyah, Syarifah Iis, et al. Analisis komparatif kandungan metabolit pada daun mutan tanaman Torbangun (*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng.): Analisis komparatif kandungan metabolit pada daun mutan tanaman Torbangun (*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng.). *AGROSAINSTEK: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian*, 2020, 4.1: 10-16.
11. Nasution J. Analysis of potentials Bangun-Bangun (*Coleus amboinicus*) and Belimbing Wuluh (*Averhoa bilimbi*) plants, as antimicrobial material. *Biospecies*. 2020;13(1):37–45.
12. Lestari NKD, Efendi IKEJ, Deswiniyanti NW, Permatasari AA. Efektivitas antibakteri ekstrak daun jinten (*Coleus amboinicus* L.) terhadap bakteri penyebab jerawat *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. Sintesa. 2022 Feb 15
13. Singarimbun NB, Zega DF, Simanjuntak HA, Purba H, Gurning K. Phytochemicals of extract n-hexane leaves bangun-bangun (*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng) and antibacterial activity causes diarrhea. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*. 2022;10(3):17-20.
14. Paton AJ, Mwanyambo M, Govaerts RHA, Smitha K, Suddee S, Phillipson PB, et al. Nomenclatural changes in *Coleus* and *Plectranthus* (Lamiaceae): A tale of more than two genera. *PhytoKeys*. 2019;129:1–158.
15. Arumugam G, Swamy MK, Sinniah UR. *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng: Botanical, Phytochemical, Pharmacological and Nutritional Significance. *Molecules*. 2016 Mar 30;21(4):369.
16. Abubakar A, Haque M. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*. 2020;12(1):1.
17. Zhang Z, Liu S, Zhang S, Li Y, Shi X, Liu D, Pan Y. *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles inhibit the invasion of *Fusobacterium nucleatum* into oral epithelial cells by downregulating FadA and FomA. *J Periodontol*. 2022 Apr;93(4):515-525.
18. Lukhoba CW, Simmonds MSJ, Paton AJ. *Plectranthus*: A review of Ethnobotanical uses. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006;103(1):1–24.