Padjadjaran J Dent Res Student. Oktober 2019;3(2):92-97

LAPORAN PENELITIAN

Uji aktifitas antibakteri ekstrak brokoli (*Brassica oleracea var. Italica)* terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

Suci Auliya[1], Dewi Elianora[1*], Kornialia[2]

[1]Departemen Ortodonti, FKG universitas Baiturrahmah, Padang, Indonesia
[2]Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Anak, FKG universitas Baiturrahmah, Padang, Indonesia

***Korespondensi : dewi.elianora12345@gmail.com**

Submisi: 05 Oktober 2019; Penerimaan: 27 Oktober 2019; Publikasi Online: 31 Oktober 2019
DOI: 10.24198/pjdrs.v3i2.23818

ABSTRAK

Pendahuluan: Karies gigi merupakan penyakit yang sering dikeluhkan masyarakat di Indonesia dan penyebabnya multifaktor, salah satunya adalah bakteri yaitu bakteri *Streptococcus mutans*. Bahan alam dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, diantaranya brokoli. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efektivitas antibakteri ekstrak bunga brokoli (*Brassica oleracea var. italica)* terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. **Metode**: Jenis eksperimental laboratoris secara *in vitro*. Tanaman yang digunakan adalah brokoli segar sebanyak 14 kg, yang didapat dari Padang Laweh, Kota Padang Panjang Provinsi Sumatera Barat dan bagian yang digunakan adalah bunga brokoli. Metode ekstraksi dengan teknik maserasi. Ekstrak bunga brokoli dimasukkan ke dalam tabung gelap 2,5 liter dan dituangkan etanol 96% sebanyak 6 liter dan didiamkan selama 5 hari. Konsentrasi ekstrak brokoli yang digunakan adalah 10%, 30 %, 50%, 70% dan 90% dengan pelarut aquades. Preparat apus bakteri dibuat dengan cara, menaruh satu ose biak pada gelas obyek dan dilakukan pengamatan mikroskop. Pengujian efektivitas antibakteri dengan metode difusi. Pertumbuhan bakteri dan zona hambat yang terbentuk ditandai dengan adanya zona bening, kemudian ukur dengan *electronic digital* caliper. Pengujian secara statistik dengan Uji *One Way* ANOVA. **Hasil**: rerata diameter daya hambat diperoleh pada konsentrasi 10% (1,42 mm), 30% (2,73 mm), 50% (5,83 mm), 70% (8,92 mm). Daya hambat tertinggi pada konsentrasi 90% yaitu 11,07 mm. Terdapat perbedaan signifikan terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. **Simpulan**: Semakin tinggi konsentrasi ekstrak Brokoli (*Brassica oleracea var. italica*) semakin efektif terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutan.*

Kata kunci: Diameter penghambatan, ekstrak Brokoli , *Streptococcus mutans*

Broccoli extract antibacterial activity test (*Brassica Oleracea Var. Italica) Against bacteria Streptococcus mutans*

ABSTRACT

Introduction: *Dental caries is a disease often complained in Indonesia with multifactorial causes, one of which is Streptococcus mutans bacteria. Natural remedies can be used as an antibacterial agent, including broccoli. The purpose of this study was to determine the antibacterial effectiveness of broccoli (Brassica oleracea var. Italica) extract towards Streptococcus mutans.* ***Methods:*** *Type of research is experimental laboratory. The plants used were 14 kg of fresh broccoli from the Padang Laweh area, Padang Panjang City, West Sumatra Province, and the part used was the flowers. The extraction method used was maceration technique. Broccoli extract was put into a 2.5-litre dark tube, and as much as 6 litres of 96% ethanol was poured and allowed to stand for 5 days. The concentration of broccoli extract used was 10%, 30%, 50%, 70%, and 90% with distilled water. Bacterial lear preparation was made by placing a multiply on the glass of the object and observing the microscope; the effectiveness of antibacterial was tested by the diffusion method. Bacterial growth and inhibition zones formed was marked by the presence of clear zones and then measure with an electronic digital calliper. Statistical testing one-way ANOVA test.* ***Results:*** *The mean diameter of inhibition was obtained at the concentrations of 10% (1.42 mm), 30% (2.73 mm), 50% (5.83 mm), 70% (8.92 mm). The highest inhibitory potential was found at a concentration of 90% (11.07 mm). There was a significant difference in the inhibitory of Streptococcus mutans growth.* ***Conclusion:*** *The higher the concentration of broccoli (Brassica oleracea var. Italica) extract, the more effective the inhibitory of Streptococcus mutans bacteria.*

Keywords: *Inhibitory zone, broccoli extract, Streptococcus mutans,*

PENDAHULUAN

Karies gigi merupakan penyakit gigi dan mulut yang terbanyak dialami masyarakat di Indonesia. Tahun 2013 kerusakan gigi karena karies di Indonesia 460 buah gigi per 100 orang[1]. Karies adalah suatu infeksi lokal yang disebabkan oleh multifaktor.[2] Salah satu faktor yang dapat menyebabkan karies adalah mikroorganisme. *Streptococcus mutans* merupakan salah satu mikroorganisme karies yang telah banyak diteliti. Bakteri ini bersifat asidogenik dan asidorik.[3]

Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan megabiodiversitas dan memiliki lebih dari 2.039 spesies tanaman obat.[4] Salah satu bahan alam yang dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri adalah brokoli. Brokoli memiliki banyak manfaat bagi tubuh, yaitu bermanfaat bagi kesehatan jantung, mata, kulit serta mampu melawan kanker.[5] Menurut penelitian Lutfita (2012) brokoli sebagai anti bakteri mengandung beberapa senyawa kimia yaitu *flavonoid, saponin* dan *kuinon*.[6]

Pengujian Ekstrak brokoli terhadap berbagai bakteri juga telah pernah dilakukan, akan tetapi tidak semua bakteri yang diujikan pada ekstrak brokoli dapat menunjukkan daya hambat. Penelitian Jaiswal dkk (2011) terdapat daya hambat pada ekstrak brokoli terhadap bakteri *L. monocytogenes, S. abony, E. faecalis, P. Aeruginosa*, serta didukung dengawn penelitian Suido dan Miyao (2008) menyebutkan bahwa juga terdapat daya hambat terhadap *Candida albicans* dan beberapa bakteri patogen lainnya dengan menggunakan fermentasi brokoli supernatan.[7,8] Berdasarkan hal tersebut, peneliti ingin mengetahui kemampuan ekstrak brokoli (*Brassica oleracea var. italica)* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans.*

METODE

Penelitian ini menggunakan 5 konsentrasi ekstrak Brokoli (*Brassicoleracea var. italica)* yaitu 10%, 30%, 50%, 70% dan 90%. Jenis penelitian ini yaitu eksperimental laboratorium. Sampel penelitian adalah ekstrak brokoli yang diperoleh dari laboratorium LL2Dikti wilayah X. Setiap konsentrasi ekstrak brokoli mengalami 5 kali pengulangan, maka besar sampel berdasarkan rumus Frederer adalah 25 kelompok perlakuan dan kontrol positif yaitu amoksisilin. Lokasi penelitian yaitu Laboratorium LL2Dikti wilayah X (Sumbar, Riau, Jambi), Kota Padang, Provinsi Sumatera Barat. Tanaman yang digunakan adalah brokoli segar sebanyak 14 kg yang didapat dari daerah Padang Laweh, Kota Padang Panjang Provinsi Sumatera Barat. Metode ekstraksi pada penelitian ini dengan teknik maserasi.

Penelitian ini bagian yang digunakan adalah bunga brokoli. Brokoli dibersihkan, ditiriskan dan diiris tipis lalu ditimbang dengan timbangan neraca digital (Precisa XT 220A, Swiss) dan didapatkan hasil seberat 3200 gr. Ekstrak brokoli dimasukkan ke dalam tabung gelap 2,5 liter dan dituangkan etanol 96% sebanyak 6 liter kemudian didiamkan selama 5 hari. Setelah 5 hari, hasil maserasi tersebut disaring dengan corong dan kertas saring *wathman* yang dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer. Selanjutnya dilakukan rotari dengan *hot plate strrier* (*Buchi Rotavapor R-200, Zwitzerland*) hingga diperoleh hasil ekstrak brokoli sebanyak 53 gr.

Konsentrasi ekstrak brokoli yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10%, 30 %, 50%, 70% dan 90% dengan pelarut aquades. Untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak yang akan digunakan, maka digunakan rumus (Donald, 2000 dalam Zoefri, 2015).[9]

Alat yang akan digunakan harus dibersihkan terlebih dahulu dengan cara dicuci bersih kemudian dikeringkan. Alat yang akan digunakan disterilkan dalam *autoclave*. Tekanan yang digunakan sekitar 1 atm dengan suhu 121^0C selama 15 menit. Tabung reaksi, pipet, cawan petri, *triangle-headed cell spreader,* dibungkus dengan kertas perkamen. Pinset dan jarum oese disterilkan dengan cara *flambier* pada lampu spiritus. *Laminar Air Flow cabinet* dibersihkan dan kemudian disterilkan dengan menyalakan lampu UV selama 5 menit. Lemari aseptis dibersihkan dari debu lalu disemprot dengan etanol 70% dan dibiarkan selama 15 menit sebelum digunakan.[10]

$$\text{Persentase} = \frac{\text{zat terlarut yang digunakan}}{\text{volume larutan}} \times 100\%$$

Tabel 1. Konsentrasi Ekstrak :

Ekstrak brokoli(gr)	Volume Akhir (ml)	Konsentrasi
0,5	5	10%
1,5	5	30%
2,5	5	50%
3,5	5	70%
4,5	5	90%

Pembuatan Muller Hinton Agar (MHA) dengan cara bubuk *Mueller-Hinton* agar ditimbang sebanyak 3,4 gram. Kemudian dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* yang sudah berisi 100 ml aquades serta masukkan *magnetic stirer* dan tutup bagian atas *erlenmeyer* dengan kapas. Media dipanaskan di atas *hot plate stirrer* pada suhu 160 ^{0}C dengan kecepatan 200 rpm sampai homogen. Bakteri yang digunakan adalah *Streptococcus mutans* yang diperoleh dari Kopertis wilayah X (Sumbar, Riau, Jambi). Bakteri yang disediakan selanjutnya dilakukan pewarnaan gram terlebih dahulu dan uji katalase sebelum digunakan.

Persiapkan alat dan bahan untuk pewarnaan gram adalah sebagai berikut, preparat apus bakteri dibuat dengan cara menaruh satu ose biak pada gelas obyek, kemudian dibuat apus setipis mungkin, dikeringkan, dan difiksasi panas. Genangi apusan preparat dengan karbol gentian violet selama 1 menit, warna dibuang, genangi apusan dengan iodin gram selama 1 menit. Preparat dibilas dengan air secara perlahan, kemudian pucatkan dengan alkohol 95%. Alkohol dibuang, preparat dicuci dengan air secara perlahan dan diberi pewarna safranin selama 45 detik. Warna kemudian dibersihkan dengan air secara perlahan dan keringkan.[11] Melakukan pengamatan dengan melihat morfologi sel, serta warnanya di bawah mikroskop. Apabila bakteri berwarna keunguan maka dikelompokkan sebagai gram positif dan apabila berwarna merah berarti bakteri gram negatif.

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui aktivitas katalase pada bakteri yang diuji dengan cara menginokulasikan satu oese koloni bakteri pada gelas objek yang bersih kemudian ditetesi H2O2. Gelembung gas yang timbul menunjukkan reaksi positif terhadap uji katalase.[11] Pensuspensi bakteri *Streptococcus mutans* dengan mengambil satu oese koloni *Streptococcus mutans* yang telah disediakan, dimasukan ke dalam tabung reaksi ditambah dengan 10 ml NaCl dan ditutup dengan kapas lalu di *vortexs*. Pengamatan daya antibakteri diukur dengan spektofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 580 nm.[10]

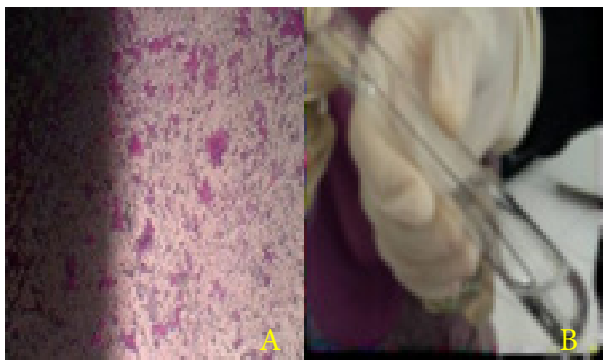
Pengujian efektivitas antibakteri dengan metode difusi dengan cara suspensi, mikroba uji ditanamkan secara merata pada agar *mueller hinton* agar (MHA) yang telah disiapkan. Bakteri yang telah disuspensi diteteskan pada masing–masing cawan petri dan diratakan dengan *triangle-headed cell spreader.* Kertas cakram direndam pada ekstrak brokoli dengan masing-masing konsentrasi selama 15 menit. Setelah 15 menit kertas cakram diletakkan pada media *mueller hinton* agar (MHA) yang telah berisi bakteri *Streptococcus mutans*. Diinkubasi selama 24 jam di dalam inkubator dengan suhu 37^0 C. Setelah 24 jam diamati pertumbuhan bakteri dan zona hambat yang terbentuk ditandai dengan adanya zona bening, kemudian ukur dengan *electronic digital caliper*. Setelah didapatkan hasil maka dilakukan pengujian secara statistik dengan tingkat signifikansi 5% dengan menggunakan aplikasi SPSS statistik 16.0. Data berdistribusi normal dan varian sama maka dilakukan Uji *One Way* ANOVA.

HASIL

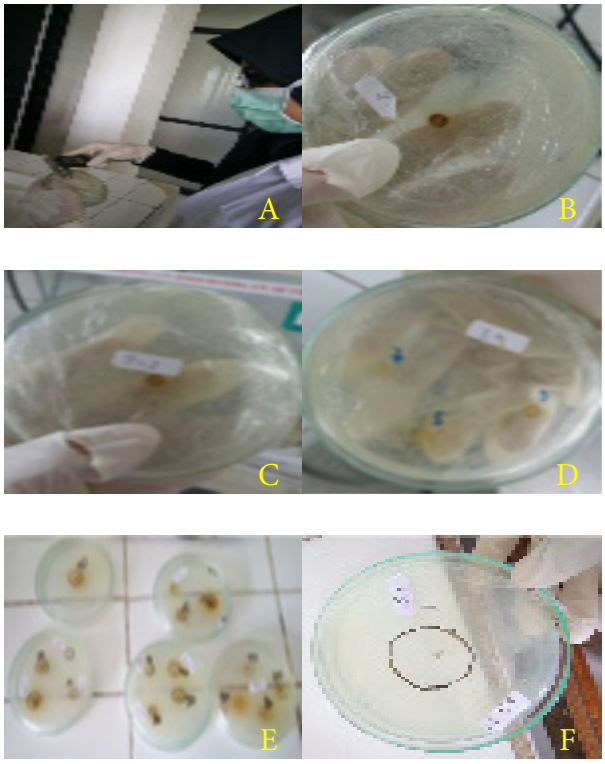
Hasil penelitian diperoleh rerata zona hambat dengan konsentrasi 10% adalah 1,42, konsentrasi 30% yaitu 2,73, konsentrasi 50% diperoleh 5,83, konsentrasi 70% yaitu 8,92 dan rerata diameter daya hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan rerata tertinggi pada konsentrasi 90% yaitu 11,07 mm ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Rerata Diameter Zona Hambat Ekstrak Brokoli terhadap bakteri S. mutans

Pertumbuhan Streptoccocus mutans (mm)						
Percobaan	**D Konsentrasi**					
	Kontrol +	10%	30%	50%	70%	90%
1	25,0 3	1,26	2,53	6,04	8,76	11,10
2	25,05	1,37	3,00	5,68	8,92	11,20
3	25,10	1,42	2,65	5,87	9,21	10,92
4	25.05	1,45	2,70	5,45	8,60	11,35
5	25,12	1,60	2,80	6,15	9,11	10,80
Rerata	**25,07**	**1,42**	**2,73**	**5,83**	**8,92**	**11,07**



Gambar identifikasi bakteri :
A. Hasil pewarnaan gram positif.
B. Hasil uji katalase negatif,



Gambar uji efektivitas antibakteri:
A. Pengukuran zona hambat , B, Zona Hambat pada konsentraksi 90%, C. Zona Hambat pada konsentraksi 90%, D. Zona Hambat pada konsentraksi 10%, 30%, 50%, 70%, E. Semua hasil Penelitian, F. Zona Hambat pada kontrol (+)

Hasil pewarnaan gram menunjukkan warna keunguan yang berarti bakteri tersebut merupakan gram positif. Hasil uji katalese tidak terdapat gelembung atau berarti hasilnya negatif.

PEMBAHASAN

Rerata daya hambat tertinggi pada konsentrasi 90% yaitu 11,07 mm dan tergolong kuat. Sesuai dengan pendapat Davis dan Stout (1971) dalam Ngajow (2013) daya antibakteri berdasarkan diameter zona hambat, ekstrak brokoli dapat dikelompokan pada konsentrasi 10% dan 30 % adalah lemah (<5 mm), konsentrasi 30% dan 70% adalah sedang (5-10 mm) dan konsentrasi 90% daya adalah kuat (10-20 mm).[12]

Hasil rerata daya hambat dari setiap konsentrasi tersebut dibandingkan dengan kontrol positif yaitu amoksisilin yang memiliki diameter daya hambat 25,07 mm. Perbandingan tersebut menunjukan bahwa zona hambat dari setiap konsentrasi ekstrak brokoli belum seefektif daya hambat yang dihasilkan amoksisilin. P enelitian dapat disimpulkan bahwa terdapat efektivitas antibakteri ekstrak brokoli (*Brassicaoleracea var. italica)* terhadap bakteri *Streptococcus mutans.*

Brokoli dimanfaatkan sebagai antibakteri karena mengandung *flavonoid, saponin, kuinon, triterpenoid, steroid, monoterpen* dan *seskuiterpen*. Flavonoid memiliki beberapa manfaat sebagai agen antibakteri, agen antijamur dan antivirus. Flavonoid berkerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma dan motilitas bakteri.[13] Saponin bermanfaat sebagai antibakteri dengan cara menggangu permukaan dinding sel dan menyebabkan kebocoran sel.[12,13] Kuinon akan berikatan dengan protein membuat rangkaian kompleks dengan asam amino. Sehingga mengganggu metabolisme sel bakteri dan menyebabkan protein kehilangan fungsinya.[14]

Tanaman Brokoli (*Brassica oleracea var.italica*) mengandung beberapa zat yang dapat bermanfaat bagi tubuh seperti air, energi, protein, lemak, serat, kalsium, zat besi, vitamin (A, C, E, Tiamin, Riboflavin, Nikotinamid), betakaroten, dan glutation. Selain itu, brokoli mengandung senyawa sianohidroksibutena (CHB), sulforan, dan iberin.[5] Hasil penelitian Suido dkk (2008) menunjukkan bahwa ekstrak *Brassica oleracea var.italica* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*.[15] penelitian Silvan dkk (2014) mendapatkan bahwa ekstrak brokoli tidak memberikan daya hambat pada bakteri *Campylobacter jejuni,* akan tetapi dapat memberikan daya hambat pada bakteri tersebut bila dilakukan pencampuran ekstrak brokoli dan teh dengan rasio 50:50 dengan hasil daya hambatnya lemah.[16] penelitian Suido dan Miyao (2008) yang menguji fermentasi brokoli supernatan untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dan beberapa bakteri patogen lainnya dengan hasil bahwa terdapat daya hambat brokoli supernatan terhadap *Candida albicans* dan beberapa bakteri patogen lainnya.[8] Penelitian Jaiswal dkk (2011) mengenai ekstrak brokoli sebagai antibakteri dan antioksidan terdapat daya hambat pada ekstrak brokoli terhadap bakteri *L. monocytogenes, S. abony, E. faecalis, P. Aeruginosa,* pada semua bakteri terdapat daya hambat dengan kekuatan sedang.[7] Menurut Owis (2015) brokoli mengandung berbagai zat yang dapat bermanfaat bagi tubuh. Brokoli dapat bermanfaat sebagai antikanker, antioksidan, melindungi dari infeksi pada *gastric*, jantung, hepar, antiinflamasi, antidiabetes, antiobesitas dan antibakteri.[17] Owis

(2015) mengulas bahwa antibakteri ekstrak brokoli memberikan daya hambat pada pertumbuhan *B. cereus, B. subtilis, Staph. aureus, E. coli, S. typhi* dan *Shigella flexneri* yang memerikan hasil daya hambat 15,4 mm untuk bakteri *B. subtilis* dan 16,3 mm untuk bakteri *B. cereus.* [17] Menurut Davis dan Stout (1971) dalam Ngajow dkk (2013) dengan hasil tersebut ekstrak brokoli dapat dikategorikan kuat dalam menghambat *B. cereus, B. subtilis.* [12]

Ekstrak tanaman mengandung berbagai zat yang diharapkan dapat mengurangi pertumbuhan bakteri tertentu yang bersifat patogen. Penelitian berbagai ekstrak tanaman untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* yang merupakan salah satu bakteri penyebab karies gigi telah banyak dilakukan. Karies gigi menjadi masalah tersendiri di Indonesia karena penyakit ini cukup menduduki posisi tertinggi dalam sepuluh penyakit yang sering dikeluhkan masyarakat. Penelitian ini memanfaatkan ekstak brokoli untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* karena terdapat penelitian-penelitian sebelumnya yang menggunakan tanaman brokoli sebagai antibakteri yang tergolong kuat dimana zona hambat berkisar 10-20 mm. Penelitian ini hanya dilakukan untuk mengetahui zona hambat bakteri Sreptococcus mutans saja. Fraksinasi untuk mengetahui zat aktif yang paling mempengaruhi sifat anti bakteri brokoli akan dilakukan pada penelitian selanjutnya.

SIMPULAN

Uji aktivitas antibakteri ekstrak brokoli (Brassica oleracea var.italica) terhadap bakteri Streptococcus mutans pada masing-masing konsentrasi tetapi belum dapat mencapai keefektifan kontrol positif yaitu amoksilin. Rerata diameter daya hambat tertinggi terdapat pada konsentrasi 90% yaitu 11,07 mm. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak brokoli (Brassica oleracea var.italica) semakin efektif terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri Streptococcus mutans.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Riset Kesehatan Dasar: Jakarta. 2013; hal. 118
2. Kracher MC. "Current Consept in Preventive Dentistry". 2012; hal. 1
3. Nugraha, Widya Ari. Streptococcus mutans Si Plak Dimana-mana. Jogjakarta: Unversitas Sanatha Darma. 2008; hal. 1-2
4. Zuhud EAM, Hikmat A. Hutan Tropika Indonesia sebagai Gudang Obat Bahan Alam bagi Kesehatan Mandiri Bangsa. Bunga Rampai Biofarmaka Kehutanan untuk Keunggulan Bangsa dan Negara. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Tanaman. Balitbang Kehutanan Kementrian Kehutanan. 2009.
5. Sudarminto. Peluang Usaha Tani Brokoli. Yogyakarta: Pustaka Baru Press. 2015; hal. 21, 39
6. Lutfita, Ratri D. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Flafonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Brokoli (Brassica Oleracea L ev groupbroccoli). Skripsi. Bandung: Universitas Islam Bandung. 2012; hal. 27-28.
7. Jaiswal AK, Abu-Ghannam N, Gupta SA. comparative study on the polyphenolic content, antibacterial activity and antioxidant capacity of different solvent extracts of Brassica oleracia vegetables. Int J Food Sci Tech. 2012;47(2):223-231. doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02829.x
8. Suido, Hirohisa, Miyao M. Bifidobacterium Longum-Fermented Broccoli Supernatant Inhibited The Growth Of Candida Albicans And Some Pathogenic Bacteria In Vitro Health Care R&D. Osaka: Biocontrol Science. 2008;3(2):41-48.
9. Zoefri, Nisa Uswatun. Uji Aktivitas Ekstrak Cabai Keriting (Capsium annum L) Terhadap Bakteri Streptococcus mutans. Skripsi. Padang: Universitas Baiturrahmah. 2015; hal. 30.
10. Ghani, Abdul. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Delima Terhadap Bakteri Aerob Staphyloccocusaureus. Skripsi. Padang: Fakutas Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah. 2015; hal. 15-17
11. Cappucino JG, Natalie S. Manual Laboratorium Mikrobiologi. 8th ed. Jakarta: EGC. 2013; hal. 75, 11.
12. Dewi KA. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas Staphylococcus aureus terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE)Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. Yogyakarta: J Sain Veteriner. 2013; XXXI(2):1
13. Ngajow M. Jemmy A, Vanda KS. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (Pometia Pinnata) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Secara In Vitro. J Mipa

Unsrat. 2013;2(2):128-32. DOI: https://doi.org/10.35799/jm.2.2.2013.3121

14. Majidah, Dewi. Dwi Warna Aju Fatmawati, Achmad Gunadi. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (Apium Graveolens L.) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans Sebagai Alternatif Obat Kumur (Antibacterial Activity Of Celery Leaves Extract (Apium Graveolens L.) Against Streptococcus mutans As An Alternative Mouthwash). Artikel Ilmiah. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. 2014; hal. 2.
15. Asifa SU. Uji Aktivitas Fraksi N-Heksana Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana. L. Manggis). Naskah publikasi. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. 2014;hal. 12.
16. Suido H, Miyao M. Bifidobacterium Longum-Fermented Broccoli Supernatant Inhibited the Growth of Candida albicans and Some Pathogenic Bacteria In Vitro. Biocontrol Sci. 2008;hal. 41-8.
17. Silvan JM, Raúl DP, Micaela C, Diego A. Moreno, CGV, Adolfo J. Martiez R, SPT. Antibacterial Activity of Green Tea and Broccoli Extracts Against Campylobacter jejuni. Spain. 2014;hal . 286-288
18. Owis AI. Broccoli; the green Beauty; literature Review. Egypt J Pharm. 2015;7(9):696-70.