

Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap Adhesi Bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada Neutrofil (*Inhibition of Papaya (Carica papaya L.) Leaves Extract on Adhesion of Porphyromonas gingivalis Bacteria to Neutrophils*)

Ermita Windya Pratiwi¹, Depi Praharani², Yuliana Mahdiyah Da'at Arina³

¹Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

^{2,3}Bagian Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

Jl. Kalimantan 37, Jember 68121

e-mail: ermitawindya92@gmail.com

Abstract

Adhesion process of *Porphyromonas gingivalis* on neutrophils significantly play a role in the onset of periodontal infection. Papaya leaves contain several active substances that might impact to bacterial adhesion. This study was aimed to determine inhibition potency of papaya leaf extract (PLE) to adhesion of *Porphyromonas gingivalis* to neutrophils and at different concentration. This was an experimental laboratories *in vitro* study on neutrophils cells from peripheral blood. Samples divided into 5 group: group I/control (without PLE), group II (PLE 25%), group III (PLE 50 %), group IV (PLE 75%), and group V (PLE 100%). Isolated neutrofil was incubated by PLE in 3 hours, then incubated to the *P. gingivalis* in 2.5 hours. The index of adhesion was determined by calculating average number of *P. gingivalis* on 100 neutrophils. The result found that inhibition potency of PLE was significantly different to all groups. The conclusion was PLE inhibited *P. gingivalis* adhesion on neutrophils; and there were differences of inhibition potency of bacterial adhesion of *P. gingivalis* bacteria among PLE at 25%, 50%, 75% and 100% concentration, which higher concentration had higher inhibition effect.

Keywords: adhesion, neutrophils, papaya leaf, *Porphyromonas gingivalis*

Abstrak

Proses adhesi *Porphyromonas gingivalis* pada neutrofil berperan penting untuk terjadinya infeksi periodontal. Daun pepaya mengandung beberapa zat aktif yang diduga dapat mempengaruhi adhesi bakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya daya hambat ekstrak daun pepaya (EDP) terhadap adhesi *P. gingivalis* pada neutrofil dan perbedaan daya hambat dalam berbagai konsentrasi. Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris *in vitro* menggunakan *the post test only control group design*. Sampel terbagi menjadi 5 kelompok: klp I/kontrol (tanpa inkubasi EDP), klp II (EDP 25%), klp III (EDP 50%), klp IV (EDP 75%), dan klp V (100%). Isolat neutrofil diinkubasi dengan EDP selama 3 jam, kemudian dipapar *P. gingivalis* selama 2,5 jam. Indeks adhesi diketahui dengan menghitung rata-rata jumlah *P. gingivalis* yang menempel pada 100 neutrofil. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan indeks adhesi yang signifikan antar kelompok. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak daun pepaya dapat menghambat adhesi bakteri *P. gingivalis* pada neutrofil; dan terdapat perbedaan daya hambat adhesi *P. gingivalis* antara ekstrak daun pepaya konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%, dimana konsentrasi yang lebih tinggi mempunyai daya hambat yang lebih besar.

Kata Kunci: adhesi, ekstrak daun pepaya, neutrofil, *Porphyromonas gingivalis*

Pendahuluan

Penyakit periodontal banyak diderita oleh manusia hampir di seluruh dunia dan mencapai 50% dari jumlah populasi dewasa. Di Indonesia, penyakit periodontal mempunyai prevalensi cukup tinggi. Dari hasil laporan Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT), prevalensi penyakit periodontal mencapai 60% pada masyarakat di Indonesia [1].

Penyakit periodontal merupakan infeksi pada jaringan penyangga gigi yaitu gingiva, ligamen periodontal, sementum dan tulang alveolar [2]. Terdapat beberapa faktor penyebab penyakit periodontal salah satunya yaitu bakteri dan yang predominan sebagai penyebabnya adalah *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) [3]. Secara garis besar faktor virulensi *P. gingivalis* dapat diklasifikasikan menjadi dua kategori. Pertama yang meningkatkan kolonisasi dan invasi bakteri ke dalam tubuh *host* seperti adhesin, kapsul, LPS dan sebagainya. Kedua adalah faktor virulensi yang sifatnya merusak sel *host*, yaitu endotoksin, enzim kolagenase, enzim proteolitik, dan induksi mediator peradangan [4].

Kontak langsung antara agen infeksius seperti *P. gingivalis* dengan sel *host* diawali dengan proses adhesi (perlekatan). Proses ini berperan penting untuk terjadinya kolonisasi, invasi sampai timbulnya suatu infeksi penyakit terutama pada area yang permukaan mukosanya selalu tercuci dengan cairan seperti permukaan mulut [5].

Adhesi bakteri pada sel *host* atau pada permukaan jaringan membutuhkan peranan dari dua faktor, yaitu adhesin pada bakteri dan reseptor pada permukaan sel [6]. Molekul-molekul adhesin pada bakteri *P. gingivalis* terdapat pada hemagglutinin, *fimbriae* dan kapsul polisakarida [2,8,9]. Sementara reseptor berupa residu peptida dan karbohidrat spesifik pada permukaan sel [10].

Saat bakteri masuk ke dalam tubuh *host*, terdapat persaingan antara terjadinya infeksi oleh bakteri atau eliminasi bakteri oleh *host* [8]. Salah satu sel leukosit yang memiliki peran penting dalam sistem pertahanan tubuh *host* dan muncul pertama kali saat terjadi invasi bakteri adalah neutrofil [11].

P. gingivalis mampu berinvasi secara viabel ke sirkulasi darah, sehingga dapat bertemu langsung dengan agen inflamatorik neutrofil dan berikatan melalui reseptor tertentu. Peristiwa ini kemudian akan menginisiasi induksi *P. gingivalis* terhadap peningkatan enzim-enzim

degradatif pada neutrofil serta mampu menginterupsi aktivitas neutrofil [12]. Bakteri yang bertahan secara intraselular dalam neutrofil dapat menggunakan sel tersebut untuk menyebar melalui sistem sirkulasi darah [8]. Oleh karena itu adhesi *P. gingivalis* pada neutrofil perlu dihambat, sehingga tahap awal proses infeksi dapat dicegah dan tidak mengganggu kerja neutrofil.

Belakangan ini, penggunaan obat berbahan alami semakin meningkat karena umumnya dipercaya memiliki efek samping yang lebih rendah apabila dibandingkan dengan obat sintetik. Salah satu tanaman tersebut adalah pepaya. Seluruh bagian tanaman ini memiliki manfaat farmakologi masing-masing termasuk pada daun pepaya. Di berbagai negara, daun pepaya telah digunakan untuk pengobatan secara tradisional [13].

Hasil penelitian Baskaran dkk. (2012), diketahui bahwa ekstrak etanol daun pepaya dapat mencegah infeksi baik pada jamur, bakteri Gram positif dan negatif, termasuk terhadap bakteri *P. gingivalis* (Jati dan Advaita, 2013). Selain itu, ekstrak daun pepaya telah terbukti mengandung bahan analgesik dan antiinflamasi (Alex dkk., 2013). Hasil penelitian Sudarko (2013) mendapatkan bahwa ekstrak daun pepaya konsentrasi 75% paling efektif dapat menurunkan jumlah sel neutrofil pada model tikus periodontitis. Akan tetapi mekanisme yang menjelaskan peran ekstrak daun pepaya dalam penelitian-penelitian tersebut belum dijelaskan. Berdasarkan uraian di atas, penulis ingin mengetahui daya hambat ekstrak daun pepaya terhadap adhesi bakteri *P. gingivalis* pada neutrofil dan perbedaannya dalam berbagai konsentrasi yaitu 25%, 50%, 75% dan 100%.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel berupa isolat neutrofil yang diambil dari darah subyek yaitu orang sehat, dengan kriteria laki-laki dewasa, tidak memiliki riwayat penyakit sistemik, kelainan darah, dan kebiasaan merokok, serta bersedia mengisi *informed consent*.

Pembuatan ekstrak daun pepaya.

Ekstrak daun pepaya dibuat dari daun pepaya jantan yang tidak rusak karena penyakit, masih muda, segar, berwarna hijau muda dan diambil dari ruas ke-empat. Pertama-tama daun dicuci dengan air mengalir, diangin-anginkan selama 2 jam dan dipotong kecil-kecil. Selanjutnya

dikeringkan dalam oven pada suhu 45° selama 48 jam. Daun pepaya kering lalu diblender dan diayak hingga diperoleh serbuk halus sebanyak 150 gram. Serbuk daun pepaya ditambahkan ethanol 70 % dengan perbandingan 1:7,5 kali simplisia yaitu 1125 ml dan dibiarkan termaserasi selama 24 jam dalam maserator dengan pengadukan setiap 6 jam. Setelah 24 jam, maserat disaring dari ampasnya dengan menggunakan kertas saring Whatman. Endapan yang tersisa dalam maserator dimaserasi kembali selama 24 jam. Filtrat dari hasil maserasi pertama dan kedua dicampur lalu dimasukkan ke dalam penguap putar (*rotavapour*) pada suhu 45-50°C dengan tekanan rendah (± 15 mmHg) sehingga diperoleh sediaan pekat (konsentrasi 100 %). Dari sediaan pekat tersebut kemudian diencerkan dengan aquadest hingga diperoleh konsentrasi 75%, 50%, dan 25%.

Pembuatan suspensi *Porphyromonas gingivalis*. Media lempeng BHI-A yang telah ditambah 1 μ l vitamin K, 5 μ l hemin, dan 50 μ l ekstrak *yeast*, dituangkan pada *petridish* tidak bersekat lalu ditunggu sampai padat. *P. gingivalis* ditanam pada media tersebut dan diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C, kemudian koloni *P. gingivalis* dipanen. Setelah dilakukan uji identifikasi *P. gingivalis*, selanjutnya dilakukan pembuatan suspensi. 2 ml media BHI-B yang telah ditambah vitamin K 1 μ l, 5 μ l hemin dan 50 μ l ekstrak *yeast* dicampur 1 ose *P. gingivalis*. Suspensi lalu diukur dengan *densitheck* hingga didapatkan densitas 0,5 Mc. *Farland*. Setelah itu, suspensi diinkubasi dalam inkubator selama 2x24 jam pada suhu 37°C.

Isolasi neutrofil. Subyek diambil darahnya sebanyak 6 cc dari vena perifer dan dicampur dengan antikoagulan (heparin) dalam tabung heparin. Darah tersebut dibagi menjadi dua tabung dengan jumlah masing-masing 3 cc. Menyiapkan 3 ml larutan *histopaque* dalam tabung falcon, lalu ditambahkan 3 ml larutan ficoll secara hati-hati. Sentrifugasi dengan kecepatan 1900 rpm selama 30 menit pada suhu 18°-26°C, sehingga akan terbentuk 6 lapisan dalam tabung falcon yang tersusun dari bagian atas ke bawah adalah plasma, monosit, larutan ficoll, granulosit, larutan histopaque, dan eritrosit. Lapisan granulosit diambil dan ditambahkan 1000 μ l HBSS, kemudian dilakukan *pipetting*. Sentrifugasi dengan kecepatan 1700 rpm selama 10 menit pada suhu 18°-26°C. Endapan pada dasar tabung ditambahkan 1000 μ l HBSS, kemudian dilakukan *pipetting* kembali. Ditambahkan 5 μ l

fungizone dan 20 μ l *penicillin-streptomycin solution stabilised* agar terhindar dari kontaminasi mikroorganisme.

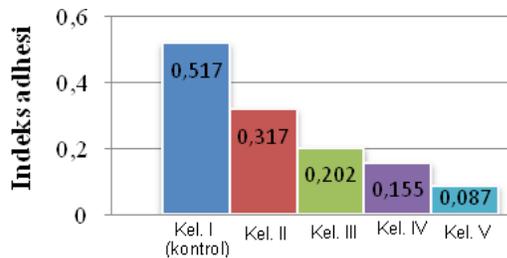
Sampel berjumlah 20 terbagi menjadi 5 kelompok yang terdiri dari kelompok I (kontrol), kelompok II (diinkubasi ekstrak daun pepaya 25%), kelompok III (diinkubasi ekstrak daun pepaya 50%), kelompok IV (diinkubasi ekstrak daun pepaya 75%), dan kelompok V (diinkubasi ekstrak daun pepaya 100%).

Uji adhesi. Pertama-tama disiapkan 2 buah *microplate 12 well* dengan 20 coverslip yang masing-masing diletakkan pada 20 *well*. Neutrofil ditapiskan di atas *coverslip* sebanyak 100 μ l dan diinkubasi dalam *shaker incubator* selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah itu dire suspensi dengan 1000 μ l RPMI dan ditambahkan 20 μ l *penicillin-streptomycin* dan 5 μ l *fungizone*, kemudian dilakukan *pipetting*. Neutrofil diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. RPMI diambil, lalu digantikan oleh *media complete* (M199) sebanyak 1000 μ l. Apabila sudah tidak ada kontaminasi, ditambahkan ekstrak daun pepaya dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% yang sudah difiltrasi sebanyak 200 μ l masing-masing pada 4 sampel. Sementara pada kelompok kontrol tidak diberi ekstrak. Kemudian diinkubasi selama 3 jam pada suhu 37°C. *Media complete* diganti dengan yang baru, setelah itu ditambahkan 200 μ l suspensi *P. gingivalis* lalu inkubasi selama 2,5 jam pada suhu 37°C dan 5% CO₂. Cuci dengan HBSS sebanyak 1 kali, selanjutnya suspensi difiksasi dengan metanol absolut selama 3 menit dan dikeringkan.

Selanjutnya dilakukan pengecatan dengan Giemsa dan diamati di bawah mikroskop *inverted* dengan pembesaran 1000x untuk menghitung indeks adhesi. Penghitungan dilakukan pada semua sampel dengan cara menghitung rata-rata bakteri yang melekat pada setiap 100 neutrofil.

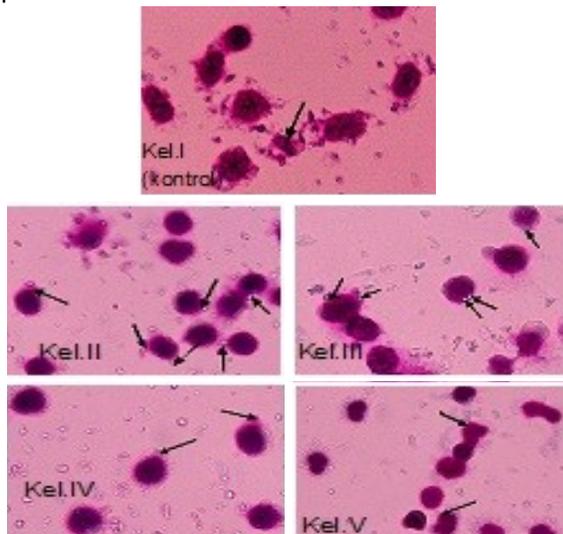
Hasil Penelitian

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh rata-rata indeks adhesi *P. gingivalis* pada neutrofil paling banyak pada kelompok kontrol dan yang paling sedikit pada kelompok V (Gambar 1).



Gambar 1. Diagram batang rata-rata indeks adhesi *Porphyromonas gingivalis* pada neutrofil

Hasil uji Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dengan nilai signifikansi adalah 0,638 ($p > 0,05$). Hasil uji Levene didapatkan bahwa data tersebut homogen dengan nilai signifikansi sebesar 0,418 ($p > 0,05$). Analisis uji *one way anova* didapatkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$), artinya terdapat perbedaan signifikan pada kelima kelompok. Selanjutnya uji LSD menunjukkan signifikansi 0,000 ($p < 0,05$), yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara indeks adhesi pada tiap kelompok. Hasil penelitian yang berupa adhesi *P. gingivalis* pada neutrofil untuk setiap kelompok dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengamatan adhesi *Porphyromonas gingivalis* pada neutrofil dengan mikroskop *inverted* (pengecatan Giemsa, pembesaran 1000x).

Pembahasan

Bakteri *P. gingivalis* mempunyai faktor virulensi yang bersifat merusak *host* salah satunya yaitu enzim proteolitik. Enzim proteolitik paling utama yang dihasilkan *P. gingivalis*

adalah gingipain. Gingipain (protease ekstraselular) pada bakteri *black-pigmented Gram negative anaerob* digunakan untuk menghindari respon imunitas *host* dengan cara memecah molekul-molekul pengenalan bakteri pada *host*, sehingga bakteri tersebut dapat bertahan hidup dalam jaringan periodontal. Selain itu, dapat mendestruksi immunoglobulin, faktor komplemen, menginvasi jaringan lunak serta menghambat migrasi leukosit PMN [17]. Enzim protease dapat memecah protein yang ada pada membran sel *host* seperti neutrofil, sehingga menyebabkan neutrofil menjadi lisis [8].

Membran terluar bakteri *P. gingivalis* tersusun oleh lipopolisakarida (LPS). LPS dapat menginduksi produksi dan pelepasan sel-sel radang, seperti *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat menyebabkan reaksi berantai dan menghasilkan senyawa radikal bebas baru dalam jumlah besar yang bersifat sangat toksik dan dapat mengakibatkan kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel hingga ke organ tubuh [18]. Adanya faktor virulensi tersebut yaitu enzim protease dan LPS menyebabkan sel *host* menjadi rusak. Hal inilah yang terjadi pada kelompok kontrol, neutrofil yang dipapar dengan *P. gingivalis* dan tanpa diinkubasi ekstrak daun pepaya menunjukkan banyak neutrofil yang lisis.

Pada kelompok perlakuan yang diinkubasi dengan ekstrak daun pepaya, neutrofil pada pengamatan menggunakan mikroskop *inverted* terlihat berukuran lebih besar dibandingkan dengan kelompok I (kontrol) yang tidak diinkubasi ekstrak daun pepaya. Hal ini diduga karena ekstrak daun pepaya melapisi membran neutrofil, sehingga tampak lebih besar. Adanya lapisan tersebut diduga mengisolasi reseptor neutrofil sehingga adhesin bakteri *P. gingivalis* tidak dapat berikatan dengan reseptor yang pada akhirnya menyebabkan adhesi bakteri *P. gingivalis* terhadap neutrofil menjadi terhambat.

Adhesi dari bakteri pada permukaan sel dapat dihambat oleh enzim dan bahan kimia yang secara spesifik merusak atau mengisolasi adhesin bakteri maupun reseptor sel *host* [10]. Enzim dan bahan kimia ini diduga juga terkandung dalam ekstrak daun pepaya. Ekstrak daun pepaya mengandung komposisi senyawa kimia yaitu flavonoid, vitamin C, tanin, alkaloid karpain, *cyanogenic glucosides* dan enzim papain [19].

Mekanisme senyawa kimia dalam ekstrak daun pepaya dalam menghambat adhesi bakteri terhadap neutrofil dalam penelitian ini belum diketahui secara pasti. Diduga alkaloid,

glikosida, dan flavonoid dapat mengakibatkan perubahan struktur tersier protein pada permukaan bakteri. Protein atau senyawa tersebut menyisip pada sisi hidrofobik protein, sehingga mengakibatkan penurunan hidrofobisitas sel bakteri yang berinteraksi dengan fimbriae dan mengakibatkan penggumpalan protein permukaan bakteri. Akibatnya protein ini kehilangan struktur hidrofobiknya dan mengakibatkan hidrofobisitas bakteri menurun. Penurunan hidrofobisitas ini akan mencegah terjadinya interaksi hidrofobik dari komponen permukaan bakteri dengan sel *host* sehingga menghambat adhesi bakteri pada sel *host* [20]. Flavonoid dan vitamin C pada daun pepaya juga mempunyai aktivitas antioksidan yang diduga mampu melindungi lipid membran neutrofil dari reaksi oksidasi yang merusak, sehingga menjaga integritas neutrofil [21]. Hal tersebut yang menyebabkan kerusakan neutrofil pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun pepaya lebih rendah daripada kelompok kontrol.

Kontak langsung antara *P. gingivalis* dengan sel *host* diawali dengan proses adhesi. Adhesi bakteri pada sel atau pada permukaan jaringan membutuhkan peranan dari dua faktor, yaitu reseptor dan adhesin. Reseptor berupa residu peptida dan karbohidrat spesifik pada permukaan sel *host*. Sedangkan adhesin bakteri adalah komponen makromolekul pada permukaan sel bakteri yang berinteraksi secara spesifik dengan reseptor sel *host*. Adhesin *P. gingivalis* terdapat pada *fimbriae*, hemagglutinin, dan kapsul polisakarida [8,12].

Ekstrak daun pepaya juga mengandung senyawa yang memiliki aktifitas sebagai antibakteri seperti flavonoid, alkaloid karpain, enzim papain dan tanin [14]. Flavonoid yang bersifat lipofilik akan merusak membran, sehingga permeabilitas akan meningkat dan mengganggu metabolisme bakteri [22]. Alkaloid dapat mengganggu terbentuknya komponen penyusun peptidoglikan pada bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada bakteri [21]. Selain itu, papain yang merupakan enzim proteolitik juga memiliki efek bakterisid dan bakteristatik, sehingga menghambat pertumbuhan baik bakteri Gram positif maupun negatif [23]. Efek antimikroba tannin yaitu dengan menginaktivasi adhesin mikroba dan menginaktivasi enzim hidrolitik seperti protease dan karbohidrolase, serta menghambat enzim pada protein transpor selubung [24]. Adanya antibakteri ini kemungkinan yang menyebabkan

adhesi *P. gingivalis* pada neutrofil semakin rendah dikarenakan perkembangan *P. gingivalis* terhambat dan mati sebelum melakukan adhesi pada neutrofil.

Hasil penelitian ini menunjukkan terdapat perbedaan dalam menghambat adhesi *P. gingivalis* pada neutrofil antara ekstrak daun pepaya konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Dimana ekstrak daun pepaya dengan konsentrasi yang lebih tinggi mempunyai daya hambat yang lebih besar. Hal ini sesuai dengan teori bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka kadar zat aktif yang terisolasi juga semakin tinggi. Tingginya zat aktif inilah yang diduga berperan dalam menghambat adhesi *P. gingivalis* pada neutrofil [25].

Meskipun zat aktif dalam ekstrak daun pepaya dan mekanisme yang berperan dalam menghambat adhesi *P. gingivalis* pada neutrofil belum diketahui secara pasti. Akan tetapi, hasil penelitian ini telah berhasil menunjukkan kemampuan ekstrak daun pepaya dalam menurunkan adhesi *P. gingivalis* pada neutrofil, dan diharapkan dapat dijadikan dasar sebagai pengembangan terapi periodonsia.

Simpulan dan Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian ekstrak daun pepaya dapat menghambat adhesi bakteri *P. gingivalis* pada neutrofil serta terdapat perbedaan daya hambat adhesi bakteri *P. gingivalis* antara ekstrak daun pepaya konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%, dimana konsentrasi yang lebih tinggi mempunyai daya hambat yang lebih besar.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui zat aktif yang terkandung dalam ekstrak daun pepaya yang berfungsi untuk menghambat adhesi *P. gingivalis* pada neutrofil, mengeksplorasi mekanisme ekstrak daun pepaya dalam menghambat adhesi *P. gingivalis* pada neutrofil, dan perlu dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai aplikasi ekstrak daun pepaya sebagai pengembangan terapi untuk penyakit periodontal.

Daftar Pustaka

- [1] Departemen Kesehatan RI. Laporan Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT). Jakarta: Badan Litbangkes; 2011.
- [2] Lamont, RJ, Howard FJ. Life Bellow The Gum Line: Pathogenic Mechanisms of Porphyromonas gingivalis. Microbiology

- and Molecular Biology Reviews. 1998; Vol. 62 (4): 1244-1263.
- [3] Griffen, AL, Mitzi RB, Sharon RL, Melvin LM, Andeugene JL. Prevalence of Porphyromonas gingivalis and Periodontal Health Status. Journal Of Clinical Microbiology. 1998; 36 (11): 3239–3242.
- [4] Brooks, GF, Janet SB, Stephen AM. Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, dan Adelberg. Jakarta : EGC; 2007.
- [5] Giannasca, PJ, Neutra MR. Interaction of Microorganisms with Intestinal M Cells: Mucosal Invasion and Induction of Secretary Imunity. Infect Agents Dis. 1994; 2: 242-248.
- [6] Santoso, S. Protein Adhesin Salmonella typhii sebagai Faktor Virulensi Berpotensi Imunogenik pada Produksi S-Ig Protektif. Tidak diterbitkan. Disertasi. Surabaya: Program Pascasarjana Universitas Airlangga; 2002.
- [8] Wilson, JW, MJ Schurr, CL LeBlanc, R. Ramamurthy, KL Buchanan, CA Nickerson. Mechanisms of Bacterial Pathogenicity. J. Postgrad Med. 2002; Vol: 78: 216-224.
- [9] Khusnan, Siti, IOS. Respon Neutrofil, Adesi pada Sel Epitel, Aglutinasi Eritrosit terhadap Staphylococcus aureus : Kajian Hidrofobisitas in Vitro. Journal Sain Veteriner. 2006. Vol. 24 (I): 102-108.
- [10] Santosaningsih, D. Peranan Protein Fimbriae dan Lipopolisakarida Terhadap Perlekatan Bakteri Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC) 0157 pada Enterosit Kelinci Secara in Vitro: Penelitian Eksperimental Laboratoris. Tidak diterbitkan. Tesis. Surabaya: Program Pascasarjana Universitas Airlangga; 2003.
- [11] Robbins, SL, Kumar, V. Buku Ajar Patologi I. Edisi 4. Terjemahan oleh Staf Pengajar Laboratorium Patologi Universitas Airlangga. Jakarta: EGC; 1995.
- [12] Mubarakah, SN, I Ketut, GM, Edi, W, Sanarto, S, Sumarno, RP. Adhesin 49.4 Kda of Porphyromonas gingivalis Outer Membrane Protein on Neutrophil. Journal of Dental and Medical Sciences. 2012; Vol. 2 (1): 7-13.
- [13] Aravind, G, Debjit, B, Duraivel, S, Harish, G. Traditional and Medicinal Uses of Carica papaya. Journal of Medicinal Plants Studies. 2013; Vol. 1 (1): 7-15.
- [14] Baskaran, C, Ratha BV, Velu S, Kubendiran, K.. The Efficacy of Carica Papaya Leaf Extract on Some Bacterial and a Fungal Strain by Well Diffusion Method. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 2012; Vol. 2 (2): 658-662.
- [15] Jati, RI, Advaita, VM. Efektifitas Antibakteri Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya*) terhadap Pertumbuhan Porphyromonas gingivalis. Berkala Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Gigi Indonesia. 2013; Vol.1 (2): 24-29.
- [16] Sudarko, RJ. Efek Pemberian Ekstrak Daun Pepaya terhadap Jumlah Sel Neutrofil pada Model Tikus Periodontitis. Tidak diterbitkan. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember; 2013.
- [17] Newman, MG, Henry HT, Fermin AC. Carranza's Clinical Periodontology-9th ed. The Curtis Center Independence Square West: Philadelphia; 2006.
- [18] Beumer C, Marty W, Willem R, Danielle R, Ruud B, dan Willem, S. Calf Intestinal Alkaline Phosphatase, A Novel Therapeutic Drug for Lipopolysaccharide (LPS) - Mediated Diseases, Attenuates LPS Toxicity In Mice and Piglets. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2003; Vol. 307(2):737-744.
- [19] Eleazu, CO, Eleazu KC, Awa E, Chukwuma, SC. Comparative Study of The Phytochemical Composition of The Leaves of Five Nigerian Medicinal Plants. Journal of Biotechnology and Pharmacological Research. 2012; Vol. 3 (2): 42-46.
- [20] Parhusip, A. Pengaruh Ekstrak Andaliman terhadap Hidrofobisitas Bakteri Bacillus cereus, Staphylococcus aureus dan Salmonella typhimurium. Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan. 2004; Vol. 2: 2.
- [21] Robinson, T. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Bandung: ITB; 1995.
- [22] Harborne, J, Williams C. Advances in Flavonoid Research Since 1992. Phytochemistry. 2000; Vol. 55: 481-504.
- [23] Sulianti, T. Perbedaan Efek Antimikroba Papacarie dan Papain terhadap Streptococcus mutans-in Vitro. Tidak diterbitkan. Tesis. Jakarta: Fakultas Kedokteran Gigi : Universitas Indonesia; 2012.
- [24] Sung, SH, Kyoung HK, Byong TJ, Sun HC, Jae HP, Dong HK, et al. Antibacterial and antioxidant activities of tannins extracted from agricultural by-products. Journal of Medicinal Plants Research. 2012; Vol. 6(15): 3072-3079.
- [25] Lucia, EW. Aksi Obat: Basis Farmakologi Klinis. Surabaya: Sandika Surabaya; 2011.