

Comparison of antibacterial activity of both seeds and leaves ethanol extract of avocado (*Persea americana Mill.*) against *Streptococcus mutans*

Perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji dan daun alpukat (*Persea americana Mill.*) terhadap *Streptococcus mutans*

¹Beby Tara Calosa, ²Vinna Kurniawati Sugiaman, ²Natallia Pranata

¹Mahasiswa

²Bagian Oral Biology

Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Kristen Maranatha

Bandung, Indonesia

Corresponding author: Vinna Kurniawati Sugiaman, e-mail: vinnakurniawati@yahoo.co.id

ABSTRACT

The bacteria that play a role in initiating caries is *Streptococcus mutans*. Avocado seeds (*Persea americana Mill.*) contain polyphenols that function as an antimicrobial and anti-inflammatory, while avocado leaves contain flavonoid, alkaloid, tannin, and saponin that function as an antibacterial. This laboratory experimental study with a post-test-only control group design, is aimed to determine the effect of ethanol extracts of avocado leaves and seeds on the growth of *S. mutans*; comparing the avocado leaf ethanol extract group and the avocado seed group with concentrations of 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, and 3.125% grown on BHI-B media. Positive control was chlorhexidine and negative control was DMSO. The results showed that the minimum inhibitory concentration (MIC) of 70% ethanol extract of avocado leaves and seeds against *S. mutans* was a concentration of $\leq 50\%$, while the minimum kill concentration (MKC) of extracts was above 50%. One-way Anova analysis results also showed that $F=28.882$ and significant value of 0.000 ($\text{sig} < 0.05$) so it can be concluded that there was a different effect on the concentration of ethanol extract of avocado leaves $2.5 \mu\text{g/mL}$ and the concentration of ethanol extract of avocado seeds $12.6 \mu\text{g/mL}$ on the number of *S. mutans* colonies.

Keywords: *Streptococcus mutans*, *Persea americana Mill*, minimum inhibitory content, minimum kill content

ABSTRAK

Bakteri yang berperan dalam menginisiasi karies adalah *Streptococcus mutans*. Biji alpukat (*Persea americana Mill.*) mengandung polifenol yang berfungsi sebagai antimikroba dan anti-inflamasi, sedangkan daun alpukat mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin yang berfungsi sebagai antibakteri. Penelitian eksperimen laboratorium dengan desain *post-test-only control group* ini, ditujukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun dan biji alpukat terhadap pertumbuhan *S. mutans*; membandingkan kelompok ekstrak etanol daun alpukat dan kelompok biji alpukat dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125% yang ditumbuhkan pada media BHI-B. Kontrol positif adalah klorheksidin dan kontrol negatif adalah DMSO. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar hambat minimal (KHM) ekstrak etanol 70% daun dan biji alpukat terhadap *S. mutans* adalah konsentrasi $\leq 50\%$, sedangkan kadar bunuh minimal (KBM) ekstrak di atas 50%. Analisis *one-way* Anova menunjukkan $F=28,882$ dan nilai signifikan 0,000 ($\text{sig} < 0,05$) sehingga disimpulkan bahwa terdapat pengaruh yang berbeda pada konsentrasi ekstrak etanol daun alpukat $2,5 \mu\text{g/mL}$ dan konsentrasi ekstrak etanol biji alpukat $12,6 \mu\text{g/mL}$ terhadap jumlah koloni *S. mutans*.

Kata kunci: *Streptococcus mutans*, *Persea americana Mill*, kadar hambat minimum, kadar bunuh minimum

Received: 10 September 2022

Accepted: 12 November 2022

Published: 1 January 2023

PENDAHULUAN

Kasus karies gigi di dunia menurut data WHO masih tergolong tinggi karena angka kejadiannya mencapai 60-90%. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di Amerika, Eropa, dan Asia termasuk di Indonesia, ternyata 90-100% anak di bawah 18 tahun terserang karies.¹ Tingginya prevalensi karies gigi di Indonesia dibuktikan dengan data dari Riskesdas 2018 yang menyatakan bahwa prevalensi nasional karies adalah 88,8%. Prevalensi nasional Indeks DMF-T adalah 7,1 yang jika dijabarkan $D-T=4,5$; $M-T=2,5$; $F-T=0,1$; hal ini menunjukkan pada 100 penduduk Indonesia, gigi yang mengalami kerusakan adalah 710 buah.²

Karies gigi dapat dialami oleh setiap individu yang dapat mengenai satu atau lebih permukaan gigi dan dapat meluas ke bagian yang lebih dalam, seperti pulpa dan dentin. Karies gigi ditandai dengan kerusakan ja-

ringan, dimulai dari permukaan gigi (ceruk, *fissure*, dan daerah interproksimal) meluas ke arah pulpa.³ Karies merupakan penyakit yang bersifat multi faktor yang berarti etiologinya dipengaruhi banyak faktor. Beberapa faktor penyebab karies yaitu akumulasi plak, bakteri kariogenik, karbohidrat yang dikonsumsi, serta waktu interaksi seluruh faktor tersebut. Ketika keempat faktor telah saling berinteraksi, karies dapat terbentuk pada jaringan keras gigi.⁴

Bakteri kariogenik penyebab karies yaitu *Streptococcus mutans* yang merupakan bakteri dengan beberapa faktor virulensi yang mendukung terjadinya karies gigi. Faktor virulensi *S. mutans* terdiri atas i) asidogenik atau kemampuan membentuk asam, terutama asam laktat, ii) asidofilik atau kemampuan bakteri untuk beradaptasi dalam kondisi asam, dan iii) menghasilkan gluko-siltransferase (GTF) yang mampu menghidrolisis su-

Research

krosa menjadi glukan.^{5,6}

Perkembangan karies gigi dan bakteri kariogenik perlu dicegah baik searamekanis dan kimiawi, agar tidak semakin parah. Pencegahan secara mekanis, yaitu dengan cara menyikat gigi dan salah satu cara kimiawi adalah dengan menggunakan obat kumur dan mengkonsumsi makanan yang mengandung fitokemikal.⁴⁻⁶ Obat kumur yang beredar luas pada masyarakat dan ditetapkan sebagai standar emas adalah klorheksidin (CHX) karena memiliki kemampuan antimikroba yang unggul terhadap berbagai jenis bakteri. Selain keunggulannya, CHX juga memiliki beberapa kelemahan seperti menyebabkan pewarnaan pada permukaan gigi dan perubahan rasa pada rongga mulut, sehingga dibutuhkan bahan alternatif yang dapat berperan sebagai antibakteri namun penggunaannya tidak menimbulkan efek samping.^{7,8}

Berbagai tanaman diketahui memiliki kemampuan sebagai antibakteri karena beberapa kandungannya seperti flavonoid, alkaloid, dan saponin. Salah satu tanaman yang memiliki kandungan tersebut adalah alpukat (*Persea americana Mill.*) yang merupakan salah satu tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia.⁹ Hampir semua bagian dari tanaman ini dapat dimanfaatkan sebagai obat-obatan. Biji alpukat memiliki kandungan polifenol yang bermanfaat sebagai antimikroba dan anti-inflamasi. Bagian buah alpukat memiliki kandungan gizi yang tinggi, dan daunnya bersifat antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan berbagai bakteri,^{10,11} selain juga mengandung senyawa seperti flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin yang sebagai antibakteri.^{3,12}

Penelitian pada alpukat khususnya daging buah sudah banyak dilakukan, namun pada bagian daun dan biji alpukat masih terbatas sehingga penelitian ini membandingkan aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji dan daun alpukat terhadap *S. mutans*.

METODE

Pembuatan ekstrak daun alpukat dan biji alpukat

Daun dan biji alpukat berasal dari Perkebunan Manoko, Lembang, Jawa Barat dengan varietas unggul yaitu alpukat wina yang telah dilakukan determinasi tanaman di Herbarium Jatinagoriensis, Laboratorium Biostematika dan Molekuler, Jatinanor dengan Lembar Identifikasi Tumbuhan No 02/LBM/IT/11/2021. Cara pembuatan ekstrak etanol daun dan biji alpukat adalah daun yang tua, berwarna hijau tua, permukaan halus dan kasar, dan biji alpukat yang matang dikeringkan dengan *food dehydrator*, kemudian dihaluskan dengan menggunakan grinder hingga menjadi bubuk. Serbuk sampel direndam menggunakan etanol 70% selama 3 hari berturut-turut dan disaring untuk mendapatkan filtrat hasil maserasi yang kemudian dievaporasi dengan *rotary evaporator* hingga volume pelarut susut dan diuapkan kembali dengan cawan hingga menjadi bentuk semi pasta.

Uji fitokimia ekstrak daun dan biji alpukat

Uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Jawa Barat dengan laporan hasil uji No.413/LP-Unpad/HU/XII/2021 dan No analisis S-764/LS-BA.82/2021 meliputi a) pemeriksaan alkaloid: masukkan 0,01 mg ekstrak ke tabung A yang dicampur sampai homogen dengan 0,5 mL HCl 2%, tambahkan reagen Mayer sebanyak 2-3 tetes; dan tabung B lalu tambahkan reagen Wagner sebanyak 2-3 tetes. Kandungan alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih pada tabung A, dan endapan coklat pada tabung B; b) pemeriksaan flavonoid: campur 0,01 mg ekstrak dengan air panas pada tabung reaksi. Ambil 5 mL filtrat dan dicampur dengan 2 cm pita Mg dan 1 mL HCl pekat lalu dikocok. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan pembentukan campuran yang berwarna kuning jingga, atau merah, c) pemeriksaan saponin: campurkan 0,01 mg ekstrak dengan 2 mL air panas di dalam tabung reaksi. Setelah terbentuk busa, tambahkan 1 mL HCl 2N. Kandungan saponin ditunjukkan apabila busa yang terbentuk tidak hilang selama 30 detik, d) pemeriksaan tanin: tambahkan beberapa tetes larutan besi (III) klorida 10% ke dalam 1 mL ekstrak. Apabila ekstrak mengandung tanin, maka terbentuk endapan berwarna biru tua atau hitam kehijauan.

Persiapan inokulum bakteri *S. mutans*

Dua ose *S. mutans*, disuspensi dalam BHI-B dan diinkubasi selama 24 jam, kemudian distandardisasi dengan larutan *McFarland* 0,5 dan lakukan pengamatan secara visual, untuk memastikan bahwa kepadatan telah sama.

Penanaman ekstrak pada media BHI-B

Sebanyak 96 well plate flat round yang telah dilabel dan diisi dengan media BHI-B ke seluruh well plate, kemudian sampel ekstrak etanol daun alpukat dan biji alpukat dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125% dimasukkan ke dalam well plate kontrol negatif DMSO dan sampel uji, kemudian suspensi bakteri dimasukkan sebanyak 10 µL ke dalam well sampel uji dan kontrol positif.

Penanaman ekstrak kontrol positif pada media BHI-B

Tuangkan 200 µL CHX glukonat 0,2% ke dalam 96 well plate flat round yang telah dilabel menggunakan mikropipet dan tip steril yang dilakukan 2 kali pengulangan; ditambahkan 10 µL suspensi bakteri 10^5 dan diinkubasi selama 24 jam.

Pembuatan media kontrol bakteri

Mikrotube steril diberi label, ditambahkan 400 µL BHI-B dan 20 µL suspensi bakteri 10^5 dan di *vortex* agar larutan tercampur homogen. Larutan diencerkan menjadi 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} dan 10^{-4} dengan mencampurkan 100

Tabel 1 Hasil uji fitokimia kualitatif daun dan biji alpukat

No	Metabolit Sekunder	Metode Uji	Hasil Daun alpukat	Hasil Biji alpukat
1	Tanin	Pereaksi FeCl ₃ 1%	+++	+++
2	Flavanoid	a. Pereaksi HCl pekat + Mg	-	+
		b. Pereaksi H ₂ SO ₄ 2N	-	-
		c. Pereaksi NaOH 10%	+++	+++
3	Saponin	Dipanaskan	+	+++
4	Alkaloid	Pereaksi Dragendorff	-	-

Keterangan: +: sedikit, ++: sedang, +++: banyak, -: tidak ada

Formula 1 Formula TPC dan persentase daya bunuh

Nilai	Formula
TPC	Jumlah koloni terbentuk x Faktor pengenceran (CFU/mL) Volume koloni bakteri yang masuk kriteria
% daya bunuh	TPC kontrol bakteri - TPC perlakuan x100% Rerata kontrol koloni bakteri

μ L larutan awal dengan 1000 μ L BHI-B. Tuangkan 100 μ L dari masing-masing hasil pengenceran ke dalam media dan diratakan lalu inkubasi selama 24 jam.

Pencatatan dan perhitungan hasil penelitian

Jumlah koloni untuk menentukan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dihitung menggunakan *colony counter*. Jumlah koloni yang terbentuk disebut *total plate count* (TPC) dengan satuan *colony forming unit/mL* (CFU/mL) (Formula 1).

HASIL

Hasil uji fitokimia kualitatif dari ekstrak etanol daun alpukat dan biji alpukat tampak pada Tabel 1.

Pengaruh terbesar ekstrak etanol daun alpukat terhadap *S. mutans* ATCC25175 pada konsentrasi 12,5% dengan jumlah koloni *S. mutans* adalah 0 CFU/mL, pengaruh terkecil ekstrak etanol daun alpukat terhadap *S. mutans* pada konsentrasi 6,25% (Tabel 2).

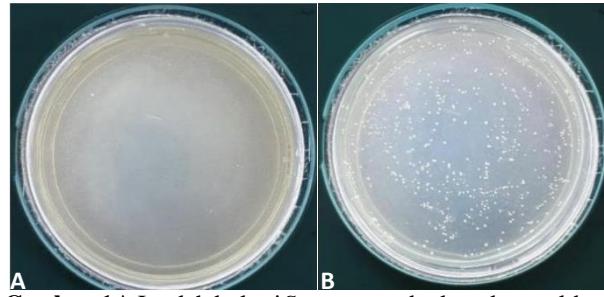
Pengaruh terbesar ekstrak etanol biji alpukat terhadap *S. mutans* ATCC 25175 pada konsentrasi 25% dengan jumlah koloni *S. mutans* adalah 0 CFU/mL, pengaruh terkecil ekstrak etanol biji alpukat terhadap *S. mutans* pada konsentrasi 12,5% (Tabel 3).

Tabel 2 Jumlah koloni *S. mutans* pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun alpukat

Konsentrasi Ekstrak	Rerata Koloni (CFU/mL)	Rerata Daya Bunuh	Keterangan
50%	0	100%	
25%	0	100%	
12,5%	0	100%	KBM
6,25%	10 x10 ⁻¹	100%	KHM

Tabel 3 Jumlah koloni *S. mutans* pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol biji alpukat

Konsentrasi Ekstrak	Rerata Koloni (CFU/mL)	Rerata Daya Bunuh	Keterangan
50%	0	100%	
25%	0	100%	KBM
12,5%	0,85 x10 ⁻³	100%	KHM

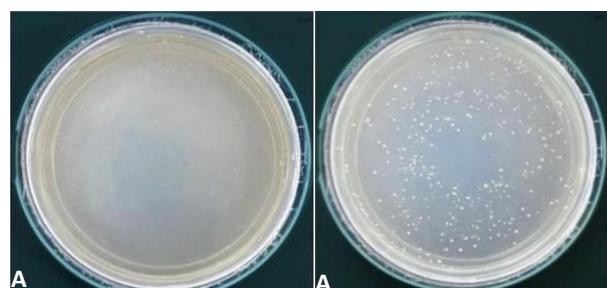
**Gambar 1** A Jumlah koloni *S. mutans* pada ekstrak etanol daun alpukat A 25% (KBM), B 12,5% (KHM).

Berdasarkan tabel 4 hasil rerata absorbansi pengaruh ekstrak etanol daun alpukat terhadap jumlah koloni *S. mutans* menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 600 nm, menghasilkan data kuantitatif sehingga dipastikan KHM berada pada konsentrasi 6,25%.

Berdasarkan tabel 5 hasil rerata absorbansi pengaruh ekstrak etanol daun alpukat terhadap jumlah koloni bakteri.

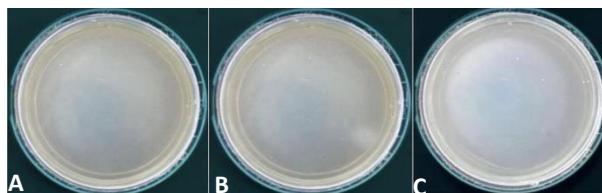
Tabel 4 Nilai rerata absorbansi ekstrak etanol daun alpukat terhadap *S. mutans*.

Konsentrasi Ekstrak	Kontrol media	Rerata Absorbansi Sampel+Bakteri	Selisih	Ket
0%	2,938	2,893	0,045	
25%	3,373	3,332	0,041	
12,5%	3,070	3,053	0,017	KBM
6,25%	2,681	2,673	0,008	KHM

**Gambar 2** A Jumlah koloni *S. mutans* pada konsentrasi ekstrak etanol biji alpukat 12,5% (KBM); B 6,25% (KHM).**Tabel 5** Nilai rerata absorbansi ekstrak etanol biji alpukat terhadap *S. mutans*.

Konsentrasi Ekstrak	Kontrol media	Rerata Absorbansi Sampel+Bakteri	Selisih	Ket
50%	2,917	2,816	0,101	
25%	2,628	2,494	0,134	KBM
12,5%	2,721	2,701	0,02	KHM

teri *S. mutans* menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 600 nm, menghasilkan data kuantitatif sehingga dipastikan KHM berada dikonsentrasi 12,5%. Jumlah koloni bakteri *S. mutans* dengan 3 kali pengulangan setelah diinkubasi 24 jam pada CHX glukonat 0,2% didapat rerata koloni 0 CFU/mL dengan rerata daya bunuh 100%.



Gambar 3 Jumlah koloni *S. mutans* pada CHX glukonat 0,2%, A pengulangan-1, B pengulangan-2, C pengulangan-3

Uji normalitas dilakukan dengan *Shapiro-wilk*, yang bertujuan untuk mengetahui apakah sebaran data yang diperoleh normal atau tidak, yang dapat diketahui dari nilai signifikansi atau *p-value* pada masing-masing konsentrasi pada jumlah koloni kemudian dibandingkan dengan $\alpha=0,05$ dengan keputusan uji, jika nilai *P(sig)* $\geq 0,05$ maka data berdistribusi normal. Dilanjutkan dengan uji Anova, yang menunjukkan nilai *F*-hitung jumlah koloni sebesar 28,882 dan signifikansi 0,000 lebih kecil dari 0,05 sehingga disimpulkan bahwa terdapat pengaruh yang berbeda masing-masing konsentrasi terhadap jumlah koloni.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa ekstrak etanol daun dan biji alpukat memiliki daya hambat dan bunuh terhadap pertumbuhan *S. mutans*. Daun alpukat memiliki KHM pada konsentrasi 6,25% atau 62500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan biji alpukat pada konsentrasi 12,5% atau 12500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ sedangkan KBM daun alpukat terdapat pada konsentrasi 12,5% atau 125000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan pada biji alpukat 50% dengan daya bunuh 100%. Kelompok kontrol positif CHX glukonat pada konsentrasi 0,2% memiliki efek hambat dan bunuh terhadap bakteri *S. mutans* dengan rerata daya bunuh 99%, sehingga ekstrak etanol daun dan biji alpukat dapat dikatakan memiliki efek antibakteri yang sama dengan CHX glukonat 0,2%. Nilai uji statistik didapatkan *p-value* 0,00 yang menyatakan bahwa nilai KHM dan KBM ini memiliki efek yang signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *S. mutans*.

Daun alpukat mengandung beberapa senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri, yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin, sehingga memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Berdasarkan beberapa penelitian diketahui bahwa daun alpukat dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri, diantaranya *Pseudomonas sp*, *Staphylococcus sp*, *Lactobacillus acidophilus*, *Proteus sp*, *Bacillus sp*, dan *Escherichia sp*.^{13,14}

Semakin banyak metabolit sekunder yang terkandung di dalam suatu ekstrak, maka biasanya akan menunjukkan semakin tingginya juga daya hambatnya,¹⁴ sehingga kandungan senyawa aktif dari daun alpukat ini memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Kandungan tanin dan flavonoid di dalam daun alpukat merupakan golongan fenol yang memiliki aktivitas antimikroba, bersifat bakterisid, sehingga tidak hanya mencegah perkembangbiakan bakteri, namun dapat membunuhnya.¹⁵ Senyawa flavonoid dapat mencegah perkembangbiakan bakteri dengan cara mengkoagulasi protein pada bakteri melalui kandungan gugus OH yang dimilikinya. Selain itu, kematian sel bakteri dapat terjadi karena rusaknya membran sel bakteri yang memiliki fungsi dalam melindungi bagian dalam bakteri dan dinding sel bakteri yang berperan dalam pengaturan. Kerusakan ini terjadi karena sifat lipofilik yang dimiliki oleh flavonoid.^{15,16}

Senyawa antibakteri lainnya yaitu tanin, yang dapat menghambat pembentukan sel bakteri karena terjadinya inaktivasi enzim dan fungsi materi genetik, terhambatnya DNA topoisomerase dan enzim reverse transkripsi yang juga berakibat pada kurang sempurnanya pembentukan dinding sel yang menyebabkan lisisnya sel bakteri.¹⁷ Tanin juga dapat berikatan secara stabil dengan protein bakteri karena terjadinya koagulasi protoplasma bakteri, sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat dan efek antibakteri dapat terbukti.¹³

Komponen aktif lainnya yaitu saponin, merupakan metabolit sekunder dari tanaman dan memiliki efek sebagai antibakteri karena strukturnya.¹⁸ Sebagai antibakteri saponin efektif merusak dinding sel bakteri dan juga bersifat hidrofobik, sehingga terjadi peningkatan permeabilitas membran sel bakteri. Saponin juga dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel melalui ikatannya dengan membran sel bakteri yang menyebabkan terjadinya hemolisis sel.^{13,19,20}

Penelitian terhadap pertumbuhan *S. aureus* melalui pengujian mengenai uji zona hambat dari ekstrak etil asetat daun alpukat sudah pernah dilakukan; pada penelitian ini diketahui bahwa efek ekstrak etil asetat daun alpukat berbanding lurus dengan daya hambatnya. Jadi semakin tinggi konsentrasi ekstrak akan menyebabkan semakin besar diameter zona hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri tersebut.¹⁶

Disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun dan biji alpukat memiliki KHM dan KBM terhadap pertumbuhan *S. mutans*. Ekstrak etanol 70% daun dengan konsentrasi 6,25% dan biji dengan konsentrasi 12,5% merupakan KHM terhadap *S. mutans* sedangkan KBM daun alpukat adalah 12,5% dan biji alpukat adalah 25%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Disampaikan kepada Universitas Kristen Maranatha yang telah mendukung pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tarigan R. Karies Gigi edisi revisi. Jakarta: Hipokrates. 2014.
2. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Laporan Nasional RISKESDAS 2018. Balitbang Kemenkes RI. 2018.
3. Prasko P, Sutomo B, Suwarsono S, Supardan I. Daya hambat daun alpukat muda terhadap bakteri mulut (*Streptococcus Mutans*). J Kesehat Gigi 2015;2(2):110–4.
4. Chen X, Daliri EB, Kim N, Kim JR, Yoo D, Oh DH. Microbial etiology and prevention of dental caries: exploiting natural products to inhibit cariogenic biofilms. Pathogens 2020; 9(7): 569
5. Alejandra BM, Daniel OM. Virulence factor of *Streptococcus mutans* related to dental caries. Stagilococcus and Streptococcus. IntechOpen 2020.
6. Goldstein EJC, Tyrrell KL, Citron DM. Lactobacillus species: taxonomic complexity and controversial susceptibilities. Clin Infect Dis 2015;60(suppl_2):S98–107.
7. Soumya P, Mohanraj S, Manipal S, Prabu D, Bharathwaj VV, Rajmohan M. Effects of chlorhexidine on taste perception: a systematic review. J Pharm Sci Res 2019;11(10):3468–74.
8. Listrianah L, Zainur RA, Hisata LS. Gambaran karies gigi molar pertama permanen pada siswa-siswi Sekolah Dasar Negeri 13 Palembang Tahun 2018. Jurnal Kesehat Poltekkes Palembang 2018;13(2):136–49.
9. Marlinda M, Sangi MS, Wuntu AD. Analisis senyawa metabolit sekunder dan uji toksitas ekstrak etanol biji buah alpukat (*Persea americana Mill.*). J Mipa 2012;1(1):24–8.
10. Arifah CN, Saleh C. Uji fitokimia dan uji stabilitas zat warna dari ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana Mill.*) dengan metode spektroskopi UV-VIS. J At 2016;1(1).
11. Mardianingsih A, Ismiyati N. Aktivitas sitotoksik ekstrak etanolik daun alpukat (*Persea americana mill.*) pada sel kanker leher rahim hela. Tradit Med J 2014;19(1):24–8.
12. Ismiyati N, Lestari T. Pengembangan formulas i masker ekstrak air daun alpukat (*Persea americana Mill.*) sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* untuk pengobatan jerawat [Skripsi]. Yogyakarta: FarmPoltekkes Bhakti Setya Indonesia; 2014.
13. Wijaya I. Potensi daun alpukat sebagai antibakteri. J Ilm Kesehat Sandi Husada 2020;12(2):695–701.
14. Yuliana D, Hariningsih Y, Waskita KN. Aktivitas antibakteri ekstrak dan fraksi daun alpukat (*Persea americana Mill.*) terhadap Bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Duta Pharma J 2021; 1(1): 21-31.
15. Yuniharni D, Marpaung L, Lenny S. Uji aktivitas antibakteri senyawa flavonoid total dan tanin total dari ekstrak daun jambu monyet (*Anacardium occidentale* L). Quimica: Jurnal Kimia Sains dan Terapan 2021;3(1):30-7.
16. Ramayanti S, Purnakarya I. Peran makanan terhadap kejadian karies gigi. J Kesehat Masy 2013;7(2):89–93.
17. Agatha V, Kurnia C, Sugiaman VK. Aktifitas antibakteri ekstrak kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap bakteri *Prevotella intermedia*. Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran 2021;33(2):167-73.
18. Dong S, Yang X, Zhao L, Zhang F, Hou Z, Xue P. Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. Industrial Crops and Products 2020; 149.
19. Khan MI, Ahhmed A, Shin JH, Baek JS, Kim MY, Kim JD. Green tea seed isolated saponins exerts antibacterial effects against various strains of grampositive and gramnegative bacteria, a comprehensive study *in vitro* and *in vivo*. Evid Based Complement Alternat Med 2018: 1-12.
20. Sun X, Yang X, Xue P, Zhang Z, Ren G. Improved antibacterial effects of alkali-transformed saponin from quinoa husks against halitosis-related bacteria. BMC Complement Altern Med 2019; 19: 46.