



BDJ

Jus Apel Manalagi (*Malus Sylvestris Mill*) menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* in vitro

Dewi Anggraini¹, I Dewa Made Sukrama¹, Ni Kadek Fiora Rena Pertiwi¹

ABSTRACT

Background: Manalagi apple (*malus sylvestris mill*) is a popular fruit consumed by the people of Indonesia.

Objective: This study aims to determine the inhibition of manalagi apple juice on the growth of *streptococcus mutans* with a concentration of 60%, 80%, 100%.

Methods: This study was an experimental study using disc diffusion method by using 5 samples in each treatment groups namely manalagi apple juice concentration of 60%, 80%, 100%, the positive control group (*vancomycin* 30µg), and a negative control group (aquades sterile) data analysis using kruskal-wallis test and mannwhitney test.

Results: From the Shapiro-wilk test result showed that

the data were normally distributed to a concentration of 80% and 30µg vancomycin with $p = 0.314$ and not normally distributed to a concentration of 60% with a value $p = 0.006$ and a concentration of 100% with a value $p = 0.000$. This study shows that manalagi apple juice at all concentrations have antibacterial activity against the growth of *streptococcus mutans*. 100% concentration is the concentration that is still able to inhibit the growth of *Streptococcus mutans*. **Conclusions:** The conclusion of this study proves that the manalagi apple juice have antibacterial activity against the growth of *streptococcus mutans*.

Keywords: antibacterial activity, manalagi apple juice, *streptococcus mutans*

Cite This Article: Anggraini, D., Sukrama, I.D.M., Pertiwi, N.K.F.R., 2018. Jus Apel Manalagi (*Malus Sylvestris Mill*) menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* in vitro. *Bali Dental Journal* 2(1): 59-64

ABSTRAK

Latar Belakang: Apel Manalagi (*Malus Sylvestris Mill*) merupakan buah yang populer dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat jus apel manalagi terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan konsentrasi 60%, 80%, dan 100%.

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan metode difusi cakram dengan menggunakan 5 sampel pada setiap kelompok perlakuan. Sampel terdiri dari 3 kelompok perlakuan yaitu jus apel manalagi konsentrasi 60%, 80%, 100%, kelompok kontrol positif (*vancomycin* 30µg), dan kelompok kontrol negatif (*aquades* steril) analisis data menggunakan uji kruskal-wallis dan uji

mann-whitney.

Hasil: Dari hasil uji *Shapiro-Wilk* didapatkan bahwa data terdistribusi normal untuk konsentrasi 80% dan *vancomycin* 30µg dengan nilai $p=0,314$ serta tidak terdistribusi normal untuk konsentrasi 60% yaitu dengan nilai $p=0,006$ dan konsentrasi 100% dengan nilai $p=0,000$. Penelitian ini menunjukkan bahwa jus apel manalagi pada semua konsentrasi mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Konsentrasi 100% merupakan konsentrasi yang masih dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

Kesimpulan: Kesimpulan dari penelitian ini membuktikan bahwa jus apel manalagi mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

Kata Kunci: Daya hambat antibakteri, apel manalagi, *Streptococcus mutans*

Cite Pasal Ini: Anggraini, D., Sukrama, I.D.M., Pertiwi, N.K.F.R., 2018. Jus Apel Manalagi (*Malus Sylvestris Mill*) menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* in vitro. *Bali Dental Journal* 2(1): 59-64

¹ Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana

Correspondence to:
Dewi Anggraini
Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana

Diterima : 19 Maret 2018
Disetujui : 18 Mei 2018
Diterbitkan : 30 Mei 2018



PENDAHULUAN

Karies gigi merupakan salah satu masalah kesehatan rongga mulut yang paling banyak diderita oleh masyarakat diseluruh dunia pada setiap lapisan masyarakat dari berbagai kelompok ekonomi dan usia. Di Indonesia karies gigi dan mulut merupakan penyakit endemik dengan tingkat prevalensi dan derajat keparahan yang tinggi, karies gigi diawali oleh adanya lapisan biofilm yang terdiri dari sel-sel bakteri, saliva, dan debris sisa makanan yang melekat pada permukaan gigi. Biofilm yang terbentuk disebut plak dan secara langsung dapat menyediakan daerah perlekatan yang baik untuk kolonisasi dan pertumbuhan berbagai macam bakteri terutama *Streptococcus mutans* yang merupakan flora normal rongga mulut, namun dapat berubah menjadi bakteri patogen apabila terjadi perubahan pada lingkungan hidupnya.^{1,2}

Menurut perkiraan badan kesehatan dunia World Health Organization (WHO), 80% penduduk dunia masih bergantung pada pengobatan tradisional untuk masalah kesehatan mereka termasuk menggunakan obat-obatan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Indonesia adalah daerah tropis yang memiliki berbagai macam tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat alternatif alami, tanaman obat yang dapat digunakan sebagai alternatif untuk menurunkan jumlah *Streptococcus mutans* diantaranya adalah buah apel yang populer dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia, selain populer untuk dikonsumsi apel juga memiliki nilai gizi yang tinggi dan sangat bermanfaat bagi kesehatan tubuh manusia serta sebagai antibakteri, dan antioksidan.^{3,4}

Dalam penelitian ini digunakan jenis varietas apel manalagi (*Malus Sylvestris Mill*) yang merupakan salah satu jenis dari apel Malang yang telah banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia, karena memiliki rasa yang manis, enak, mudah didapat dan harganya yang cukup terjangkau serta salah satu khasiat dari buah apel manalagi adalah dapat menghambat pertumbuhan bakteri, berdasarkan studi

pendahuluan yang telah dilakukan oleh peneliti bahwa jus apel manalagi konsentrasi 60%, 80%, dan 100% terbukti menghambat pertumbuhan *streptococcus mutans* serta tidak ditemukan zona hambat untuk konsentrasi 20% dan 40% karena suspensi jus apel manalaginya yang terlalu encer sehingga tidak memperlihatkan adanya daya hambat, oleh karena itu peneliti tertarik untuk meneliti pengaruh jus apel manalagi (*Malus Sylvestris Mill*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

METODE PENELITIAN

Desain penelitian yang digunakan adalah *True Experimental* dengan rancangan *post test only control group design*.

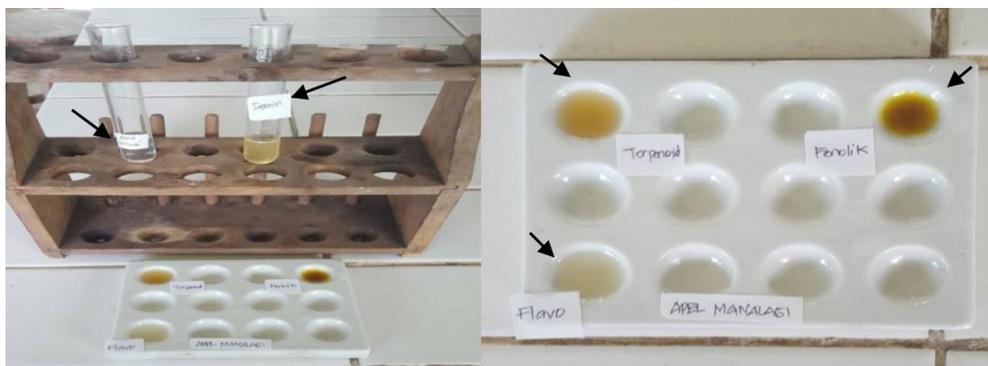
Sampel pada penelitian ini adalah kultur biakan murni *Streptococcus mutans* dengan media blood agar yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi FK Unud. Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu 25 sampel dengan 5 kelompok perlakuan yang dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali.

Pengumpulan data dilakukan dengan mengukur zona hambat yang terlihat pada media blood agar dengan menggunakan *calliper*.

ANALISIS DATA

Data yang telah terkumpul selanjutnya dianalisis dengan menggunakan uji *Shapiro-wilk* untuk mengetahui bahwa data sampel berasal dari populasi yang berdistribusi normal, kemudian digunakan uji LSD (*Least Significant Deference*) untuk mengetahui perbedaan zona hambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*, selanjutnya digunakan uji *Kruskal-walls* karena data tidak terdistribusi secara normal yang kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui kelompok perlakuan yang berbeda bermakna.

HASIL PENELITIAN



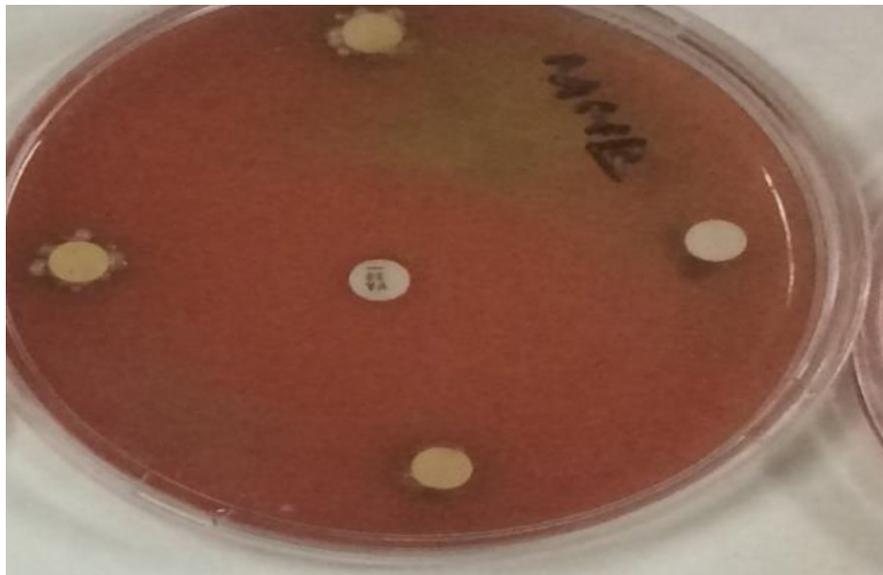
Gambar 1. Hasil uji fitokimia. Tanda panah menunjukkan kandungan jus apel manalagi (alkaloid, terpenoid, saponin, fenolik, dan flavonoid)

**Tabel 1.** Hasil uji fitokimia apel manalagi

No	Jenis pemeriksaan	Satuan	Hasil pemeriksaan	Metode pemeriksaan
1	Alkaloid		+	Culvenor fitzgerald
2	Terpenoid		+ +	Lieberton buchard
3	Steroid		-	Mayer
4	Saponin		+	
5	Fenolik		+ +	
6	Flavonoid		+	

Tabel 2. Hasil uji kandungan kuersetin apel manalagi

No	Flavonoid (mg/100gr QE)	Fenol (mg/100gr GAE)
1	76,19	109,01

**Gambar 2.** Uji pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada media blood agar dengan disk yang telah direndam dalam jus apel manalagi dengan konsentrasi berbeda**Tabel 3.** Hasil pengukuran zona hambat jus apel manalagi terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*

Konsentrasi Pengulangan	60% (mm)	80% (mm)	100% (mm)	Kontrol positif (vancomycin 30µg) (mm)	Kontrol negative
1	12	11	10	34	0
2	11	11	9	32	0
3	12	12	10	33	0
4	11	12	10	33	0
5	11	10	10	34	0
Rata-rata	11.4	11.2	9.8	33.2	0

**Tabel 4.** Hasil uji tes kolmogorov-smirnov dan Shapiro-wilk

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Vancomycin	0.231	5	.200 [*]	0.881	5	0.314
K_60	0.367	5	0.026	0.684	5	0.006
K_80	0.231	5	.200 [*]	0.881	5	0.314
K_100	0.473	5	0.001	0.552	5	0

Tabel 5. Hasil uji tes Kruskal-wallis

Konsentrasi	N	Mean Rank
vancomycin	5	23
Aquades	5	3
60%	5	15.8
80%	5	14.8
100%	5	8.4

PEMBAHASAN

Hasil yang diperoleh pada **Tabel 3** menunjukkan bahwa jus apel manalagi dengan konsentrasi 100% memiliki rata-rata diameter zona hambat paling kecil yaitu 9,8 mm, konsentrasi 80% sebesar 11,2 mm, konsentrasi 60% sebesar 11,4 mm, dan *vancomycin* 30 μ g sebagai kelompok kontrol positif memiliki rata-rata diameter zona hambat terbesar yaitu sebesar 33,2 mm. Uji statistik pada penelitian ini adalah dengan menggunakan uji *Kruskal-wallis* yang sebelumnya telah dilakukan uji normalitas dengan menggunakan *Shapiro-Wilk*. Uji normalitas ini bertujuan untuk menguji apakah data bahan uji dengan jus apel manalagi konsentrasi 60%, 80%, 100%, dan *vancomycin* 30 μ g menyebar (terdistribusi) secara normal. Dari hasil uji *Shapiro-Wilk* didapatkan bahwa konsentrasi 60% yaitu dengan nilai $p=0,006$ dan konsentrasi 100% untuk nilai $p=0,000$ serta tidak terdistribusi normal serta untuk konsentrasi 80% dan *vancomycin* 30 μ g dengan nilai $p=0,314$ data terdistribusi normal.

Data hasil penghitungan lalu dilanjutkan dengan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui apakah data pada masing-masing konsentrasi terdistribusi normal. Hasil uji menunjukkan adanya nilai signifikansi yang diperoleh lebih besar dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi secara normal. Setelah data dikatakan terdistribusi normal kemudian dilakukan uji homogenitas menggunakan uji Levene yang bertujuan untuk menguji ragam populasi, apakah setiap varian pada penelitian ini homogen atau tidak homogen. Hasil uji menunjukkan nilai signifikasinya lebih kecil dari 0,05 berarti data dianggap tidak homogen. Data selanjutnya kemudian dianalisis dengan menggunakan uji statistik non paramaterik, yaitu

uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui apakah ada perbedaan pada seluruh konsentrasi sampel yang dilakukan.

Hasil uji *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai $\alpha < 0,05$ yang berarti terdapat daya hambat terhadap *Streptococcus mutans* pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan pada konsentrasi 60%, 80%, dan 100% serta terdapat perbedaan yang bermakna. Selanjutnya untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang berbedabermakna maka dilanjutkan dengan menggunakan uji *Mann-Whitney*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan tujuan untuk mengetahui adanya daya hambat antibakteri jus apel manalagi terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan yaitu terdapat zona hambat, yang merupakan daerah atau wilayah jernih yang tampak di sekeliling *disk*. Semakin besar diameter pada zona konsentrasi serta kontrol positifnya, berarti semakin besar pula daya antibakterinya. Kriteria kekuatan daya antibakteri menurut Davis dan Stout yaitu, pada diameter zona hambat < 5 mm dikategorikan lemah, diameter zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, diameter zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat > 20 mm dikategorikan sangat kuat.⁵

Hasil penelitian menunjukkan jus apel manalagi konsentrasi 60%, 80%, dan 100% mempunyai zona hambat yang lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yaitu *vancomycin* 30 μ g. Pada hasil penelitian diketahui bahwa penghitungan rata-rata diameter zona hambat pada konsentrasi 100% mempunyai diameter zona hambat yang termasuk kategori sedang. Kemudian pada konsentrasi 60% dan 80% mempunyai diameter zona hambat yang termasuk kategori kuat, dan untuk kontrol positif K(+) *vancomycin* 30 μ g mempunyai diameter zona hambat yang sangat kuat, sedangkan untuk kontrol negatif K(-) aquades steril sendiri tidak memiliki daya antibakteri. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 100% merupakan konsentrasi yang masih dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* karena diameter zona hambatnya terbukti signifikan lebih besar dibandingkan dengan kontrol negatif yaitu aquades steril. Hal ini dikarenakan pada suspensi konsentrasi 100% sangat kental sehingga sulit untuk menyerap ke dalam paper disk yang akan diletakkan pada cawan petri yang sudah diberi media MHB dan bakteri *streptococcus mutans* berbeda dengan suspensi konsentrasi 60% yang dilarutkan dengan aquades steril sebanyak 4 ml dan



suspensi konsentrasi 80% dengan aquades steril sebanyak 2 ml sehingga lebih cair dan lebih mudah menyerap kedalam paper disk yang kemudian menghasilkan zona hambat lebih luas dibandingkan konsentrasi 100%.

Pada penelitian Jannata dkk, 2014 telah dilakukan uji daya hambat antibakteri terhadap ekstrak kulit apel manalagi pada konsentrasi 25%, 50%, dan 100% yang terbukti memiliki zona hambat terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*, pada penelitiannya di dapatkan hasil bahwa semakin tinggi konsentrasi kelompoknya maka semakin tinggi zona hambat yang di peroleh hal ini dikarenakan kandungan aktif yang terdapat dalam ekstrak kulit apel. Kulit apel manalagi juga telah terbukti memiliki kandungan berupa bahan aktif yang berfungsi sebagai antimikroba seperti flavonoid, saponin, tanin, fenolik, terpenoid, dan senyawa alkaloid yang memiliki keunggulan sebagai penghambat aktivitas antimikroba. Adapun cara kerja yang dimiliki oleh bahan aktif antimikroba ini yaitu dengan merusak membran sel dari bakteri yang kemudian dapat meningkatkan permeabilitas dari dinding sel bakteri sehingga dinding sel bakteri tersebut lisis.⁶

Adapun kandungan dalam apel manalagi yang menjadi sumber zat antibakteri yakni polifenol diantaranya adalah katekin, kuersetin, phloridzin, dan asam klorogenik. Katekin merupakan golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh golongan flavonoid. Sifat antibakteri pada katekin disebabkan oleh adanya gugus pyrigalloil dan gugus galloil. Katekin mampu menghambat pembentukan plak gigi dengan mencegah terbentuknya extracellularglucan yang berfungsi sebagai perlekatan *Streptococcus mutans* pada permukaan gigi.^{7,8}

Mekanisme kerja katekin dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* yaitu melalui dua cara pertama sebagai bakterisidal dan kedua dengan menghambat proses glikosilasi. Kemampuan katekin sebagai bakterisidal yaitu dengan cara mendenaturasi protein dalam sel bakteri. Katekin yang merupakan senyawa toksik mengakibatkan terganggunya struktur tiga dimensi protein sel bakteri sehingga menjadi terbuka dan acak tanpa merusak struktur kerangka kovalennya. Hal ini mengakibatkan protein pada sel bakteri terdenaturasi, sehingga aktivitas biologisnya rusak yang menyebabkan protein tidak mampu menjalankan fungsinya. Kemampuan katekin dalam menghambat proses glikosilasi adalah karena katekin akan bekerja secara kompetitif dengan glukosiltransferase (GTFs) dalam mereduksi sakarida yang merupakan bahan dasar proses glikosilasi, sehingga pembentukan polisakarida ekstraselular pada bakteri terhambat. Aktivitas katekin dalam mereduksi glukosa jauh lebih besar dibandingkan dengan aktivitas GTFs dalam menggunakan glukosa tersebut. Hal ini yang menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat.⁹

Flavonoid memiliki aktivitas yang lebih besar untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dibandingkan dengan bakteri gram negatif, hal ini karena senyawa polar yang dimiliki oleh flavonoid lebih cepat dan mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar dari pada lapisan lipid yang memiliki sifat nonpolar. Aktivitas

bakteri yang terhambat menyebabkan terganggunya fungsi dinding sel untuk pembentukan dan melindungi sel dari proses lisis secara osmotik namun, dengan terganggunya dinding sel akan menyebabkan lisis pada sel.¹⁰

Prawira, dkk (2014) menyatakan dalam penelitiannya saponin dapat menekan pertumbuhan dari bakteri karena senyawa tersebut dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel dan apabila berinteraksi dinding sel tersebut dapat lisis maupun pecah, sehingga saponin akan merusak permukaan dinding sel dan zat antibakteri akan masuk dengan mudah ke dalam sel dan akan merusak metabolisme sel kemudian bakteri akan mati serta mampu menyebabkan denaturasi pada sel hal ini dikarenakan struktur dan fungsi membran yang berubah. Daya antibakteri pada tannin juga diduga dapat merusak membran sel bakteri, selain itu senyawa astringent tannin juga dapat mengkerutkan dinding sel dan membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel bakteri. Akibat terganggunya permeabilitas, bakteri tidak dapat melakukan aktivitas hidupnya sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Tannin mempunyai sifat sebagai antibakteri yang berefek spasmolitik, yang dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati.¹¹

Masduki (1996) menyatakan dalam penelitiannya bahwa tannin juga mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik. Naim dalam penelitian Nurrindah menyatakan bahwa mekanisme kerja tannin sebagai antibakteri berhubungan dengan kemampuan tannin dalam menginaktivasi adhesin sel mikroba yang terdapat pada permukaan sel, enzim yang terikat pada membran sel dan polipeptida dinding sel. Tannin yang mempunyai target pada polipeptida dinding sel akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel, karena tannin merupakan senyawa fenol. Senyawa fenol mudah membentuk kompleks protein melalui ikatan hidrogen. Senyawa fenol berikatan dengan atom H dari protein sehingga protein terdenaturasi. Protein yang merupakan komponen enzim apabila mengalami kerusakan akan mengganggu enzim. Apabila terjadi kerusakan pada enzim, maka akan mengakibatkan metabolisme menurun, sehingga ATP menurun. ATP yang menurun mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan dan perkembangan sel bakteri dan selanjutnya menyebabkan kematian sel. Tannin menyebabkan kerusakan pada dinding sel bakteri menyebabkan sel bakteri tanpa dinding yang disebut protoplasma. Kerusakan pada dinding sel bakteri akan menyebabkan kerusakan membran sel yaitu hilangnya sifat permeabilitas membran sel, sehingga keluar masuknya zat-zat antara lain air, nutrisi, enzim-enzim tidak terseleksi.^{12,13,14}

Berdasarkan hasil penelitian jus apel manalagi mengandung senyawa aktif, yakni alkaloid, fenolik, terpenoid,



flavonoid, dan saponin. Adapun senyawa aktif yang lebih besar peranannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah polifenol yang merupakan golongan flavonoid. Pada penelitian ini konsentrasi 60% dinilai lebih efektif dibandingkan konsentrasi 80% sedangkan konsentrasi 80% lebih efektif dibandingkan konsentrasi 100% hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin rendah zona hambat bakteri.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian uji efektivitas antibakteri jus apel manalagi (*Malus Sylvestris Mill*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dapat disimpulkan bahwa:

1. Jus apel manalagi dengan konsentrasi 60% dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara in vitro.
2. Jus apel manalagi dengan konsentrasi 80% dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara in vitro.
3. Jus apel manalagi dengan konsentrasi 100% dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara in vitro.
4. Jus apel manalagi mengandung senyawa aktif yaitu alkaloid, terpenoid, flavonoid, steroid, dan fenolik.

SARAN

- a) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efektivitas antibakteri jus apel manalagi dengan konsentrasi dan metode yang berbeda untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.
- b) Perlu dilakukan penelitian efektivitas antibakteri jus apel manalagi terhadap bakteri patogen dalam rongga mulut.
- c) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan *dilution method* pada masing-masing zat aktif pada jus apel manalagi sebagai antibakteri

DAFTAR PUSTAKA

1. Bagramian, R.A., Garcia-Godoy, F. and Volpe, A.R. the global increase in dental caries. A pending public health crisis. 2009 *Am J Dent* 22, 3-8.
2. Samaranayake laksman. *Essential Microbiology for dentist*. 3rd ed. Churchill livingstone:Elsevier.2006 :255,267
3. Alberto, M. R., Canavosio, M. A. R., and de Nadra, M. C. M. "Antimicrobial effect of polyphenols from apple skins on human bacterial pathogens". *Elect. J. Biotech*.

2006 Vol.9(3) 205-209

4. Mpila, D. A. et al.. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mayana (*Coleus atropurpureus*(L) Benth) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* Secara In Vitro. 2012
5. Charde, M. S., Ahmed A., and Chakole, R. D. "Apple Phytochemicals for Human Benefits". *InJ. J. Pharm. Res*. 2011 Vol. 1 (2) 1-8.
6. Wijaya, A. B. "Perbandingan Efek Antibakteri Dari Jus Pir (*Pyrus bretschneideri*) Terhadap *Streptococcus mutans* pada Waktu Kontak dan Konsentrasi yang Berbeda". Skripsi. 2008
7. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Biokimia Harper* Jakarta:EGC. 2003 p. 650.
8. Puspitasari, G., S. Murwani dan Herawati. Uji Daya Antibakteri Perasan Buah Mengkudu Matang (*Morinda citrifolia*) Terhadap Bakteri Methicilin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) M.2306. Tinjauan In Vitro. *Jurnal Veterinari Medika*. 2012 2(4):18.
9. Ajizah, A. Sensitivitas *Salmonella thymipurium* Terhadap Ekstrak Daun Psidium guajava L. *J. Bioscientiae*. 2004 1(1):31-38.
10. Harborne JB. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern menganalisis tumbuhan*, penerbit ITB, Bandung 1987
11. Hayati N. Uji Daya Antibakteri Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Kemangi Terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *E. coli*, Universitas Negeri Malang, Malang 2006
12. Jannata, R.H., Gunadi, A., dan Ermawati, T, Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill.*), *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, 2014 2(1): 23-28.
13. Jawetz., et al. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg*, Ed.23, Translation of Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology, 23th Ed. Alih bahasa oleh Hartanto, H., et al. Jakarta: EGC 2007.
14. Sirat NM, Senjaya AA, Wirata IN. Hubungan pola jajan kariogenik dengan karies pada siswa sekolah dasar di wilayah kerja Puskesmas III Denpasar Selatan, Bali 2016.

