



RESEARCH ARTICLE

## Uji Efektivitas Ekstrak Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill*) Konsentrasi 25%, 50%, dan 100% Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* Secara *In Vitro*

I Gusti Agung Ayu Hartini, P. A. Mahendri Kusumawati, Kadek Indah Regina Dwicahyani

Departemen Ilmu Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Mahasaraswati Denpasar

Corresponding Author: Kadek Indah Regina Dwicahyani, e-mail: [indahregina26@gmail.com](mailto:indahregina26@gmail.com)

### ABSTRACT

Dental caries is spread throughout the world and can cause disorders in the body, such as impaired mastication, food absorption, and digestion. Of the several types of bacteria, *Streptococcus mutans* is the species most frequently found and is the main cause of dental caries. One natural resource that can be used as an alternative ingredient to reduce the number of *Streptococcus mutans* bacteria includes Manalagi Apple (*Malus sylvestris Mill*). The purpose of this research is to determine the effectiveness of Manalagi Apple (*Malus sylvestris Mill*) fruit extract in inhibiting the growth of *Streptococcus mutans* bacteria. This research is laboratory research with a Post Test Control Group Design. The samples used were *Streptococcus mutans* bacteria which were divided into 5 groups, namely the group treated with Manalagi Apple (*Malus sylvestris Mill*) fruit extract with concentrations of 25%, 50% and 100%, the group treated with ChKM as a positive control, and the group treated with aquadest as negative control. The resulting inhibitory power at 25% concentration was 10.2 mm, at 50% concentration was 13.12 mm, and at 100% concentration was 15.47 mm. The higher the concentration of the extract, the greater the amount of antibacterial compounds released. It can be concluded that the inhibitory power of Manalagi Apple (*Malus sylvestris Mill*) fruit extract at concentrations of 25%, 50% and 100% can inhibit the growth of *Streptococcus mutans* bacteria, with the most effective concentration being in the treatment group containing Manalagi Apple fruit extract at a concentration of 100%.

**Keywords:** Manalagi Apple (*Malus sylvestris Mill*) fruit extract, *Streptococcus mutans*, inhibition zone

### ABSTRAK

Penyakit karies gigi tersebar di seluruh dunia dan dapat menimbulkan gangguan pada tubuh, seperti gangguan fungsi pengunyahan, penyerapan makanan, dan pencernaan. Dari beberapa jenis bakteri tersebut, *Streptococcus mutans* adalah spesies yang paling sering ditemukan dan menjadi penyebab utama karies gigi. Salah satu sumber daya alam yang dapat digunakan sebagai bahan alternatif untuk mengontrol jumlah bakteri *Streptococcus mutans* di antaranya adalah buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya efektivitas ekstrak buah Apel Manalagi



(*Malus sylvestris Mill*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Penelitian ini merupakan penelitian laboratorium dengan rancangan *Post Test Control Group Design*. Sampel yang digunakan merupakan bakteri *Streptococcus mutans* yang dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok dengan perlakuan ekstrak buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill*) dengan konsentrasi 25%, 50% dan 100%, kelompok perlakuan yang diberi ChKM sebagai kontrol positif, dan kelompok yang diberi perlakuan dengan *aquadest* sebagai kontrol negatif. Daya hambat yang dihasilkan pada konsentrasi 25% sebesar 10,2 mm, konsentrasi 50% sebesar 13,12 mm, dan pada konsentrasi 100% sebesar 15,47 mm. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka jumlah senyawa antibakteri yang dilepaskan semakin besar. Dapat disimpulkan bahwa daya hambat ekstrak buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill*) pada konsentrasi 25%, 50% dan 100% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, dengan konsentrasi yang paling efektif yaitu pada kelompok perlakuan yang mengandung ekstrak buah Apel Manalagi dengan konsentrasi 100%.

**Kata kunci:** ekstrak buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill*), *Streptococcus mutans*, daya hambat



## PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut merupakan salah satu faktor yang mendukung paradigma sehat dan merupakan strategi pembangunan nasional untuk mewujudkan pembangunan kesehatan bagi sumber daya manusia yang produktif secara sosial dan ekonomi. Kesehatan gigi dan mulut adalah suatu keadaan di mana gigi dan mulut berada dalam kondisi bebas dari adanya bau mulut, kekuatan gigi dan gusi yang baik, tidak adanya karang gigi, serta gigi dalam keadaan putih dan bersih. Namun, kesehatan gigi dan mulut ini masih menjadi hal yang sering diabaikan oleh banyak orang, padahal kesehatan gigi dan mulut merupakan bagian integral dari kesehatan umum, artinya seseorang yang sakit gigi akan terganggu kesehatannya secara umum dan pastinya akan berdampak pada timbulnya penyakit gigi dan mulut yang nantinya akan mengganggu fungsi dan aktivitas rongga mulut seperti fungsi pencernaan, estetika, dan komunikasi.

Salah satu bentuk penyakit gigi dan mulut adalah karies gigi. Karies gigi atau gigi berlubang merupakan penyakit gigi terlokalisir yang merusak jaringan keras gigi yang terjadi karena adanya interaksi dari beberapa faktor yaitu; host (gigi), mikroorganisme (bakteri), substrat (diet), dan waktu. Karies disebabkan karena terabaikannya kebersihan rongga mulut sehingga terjadi penumpukan plak. Plak adalah lapisan tipis yang melekat erat di permukaan gigi serta mengandung kumpulan bakteri<sup>1</sup>. Bakteri sangat berperan penting pada proses terjadinya karies gigi. Jumlah bakteri pada mulut seseorang tergantung dari kondisi kebersihan dan kesehatan mulutnya, dengan spesies bakteri yang berbeda pada beberapa wilayah rongga mulut<sup>2</sup>.

Penyakit karies gigi tersebar di seluruh dunia dan dapat menimbulkan gangguan pada tubuh, seperti gangguan fungsi pengunyahan, penyerapan makanan, dan pencernaan.



Selain itu, karies gigi dapat bermanifestasi menjadi penyakit sistemik karena gigi yang berlubang dapat menjadi sumber infeksi. Beberapa mikroorganisme yang terdapat pada rongga mulut yaitu *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus*, dan *Lactobacillus*. Proses karies ditandai dengan terjadinya demineralisasi pada jaringan keras gigi, diikuti dengan kerusakan bahan organiknya<sup>3</sup>.

*Streptococcus mutans* merupakan bakteri gram positif, bersifat nonmotil, dan anaerob fakultatif yang dapat memetabolisme<sup>4</sup>. Bakteri *Streptococcus mutans* pertama kali diisolasi dari plak gigi oleh Clark pada tahun 1924. Clark menyatakan bahwa bakteri *Streptococcus mutans* merupakan bakteri utama penyebab terjadinya karies gigi<sup>5</sup>.

Menurut 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 sumber daya alam. Penggunaan obat herbal dari bahan alami secara umum dinilai lebih aman, memiliki efek samping yang lebih sedikit, serta memiliki banyak khasiat farmakologis, sehingga World Health Organization (WHO) menganjurkan untuk memanfaatkan obat herbal sebagai bahan alami dalam memelihara kesehatan<sup>6</sup>. Indonesia merupakan daerah tropis yang memiliki kekayaan sumber daya alam yang melimpah dan banyak di antaranya dapat dimanfaatkan sebagai obat alternatif alami. Salah satu sumber daya alam yang dapat digunakan sebagai bahan alternatif untuk menurunkan jumlah bakteri *Streptococcus mutans* di antaranya adalah buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) yang populer dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Selain populer untuk dikonsumsi, buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) juga memiliki nilai gizi yang tinggi dan sangat bermanfaat bagi kesehatan tubuh manusia yaitu sebagai antibakteri dan antioksidan. Salah satu kandungan dalam



buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) adalah tanin yang memiliki kemampuan bakterisidal. Zat tanin berfungsi membersihkan dan menyegarkan mulut<sup>7</sup>.

## Research

Kata 'karies' berasal dari bahasa latin yaitu 'rot'. Karies gigi atau gigi berlubang adalah suatu penyakit jaringan keras gigi yaitu enamel, dentin, dan sementum yang disebabkan oleh aktivitas mikroba pada suatu karbohidrat yang mengalami fermentasi. Tanda dari karies gigi adalah adanya demineralisasi pada jaringan keras gigi yang kemudian diikuti oleh kerusakan bahan organiknya. Asam yang dihasilkan dari fermentasi gula oleh bakteri akan menyebabkan demineralisasi lapisan email gigi sehingga struktur gigi menjadi lebih rapuh dan mudah berlubang. Akibatnya, terjadi invasi bakteri dan kerusakan pada bagian pulpa serta penyebaran infeksinya ke jaringan periapikal dan dapat menyebabkan rasa sakit. Penyakit karies bersifat progresif dan kumulatif, bila dibiarkan tanpa disertai perawatan dalam kurun waktu tertentu bisa mengakibatkan kondisi yang lebih parah. Walaupun demikian, mengingat mungkinnya remineralisasi terjadi, pada stadium yang sangat dini penyakit ini dapat dihentikan<sup>8</sup>.

Karies gigi terjadi oleh karena beberapa faktor yaitu; host (gigi), mikroorganisme (bakteri), substrat (diet), dan waktu. Sedangkan faktor lain adalah kualitas oral hygiene, status sosial ekonomi keluarga, pendapatan, dan makanan kariogenik. Faktor-faktor tersebut bekerja sama dan saling mendukung satu sama lain. Karies gigi yang tidak dapat diobati dan dilakukan perawatan dengan baik dapat menimbulkan dampak yang buruk, bisa membatasi aktivitas, dan mempengaruhi kualitas hidup. Karies gigi akan menjadi sumber lokal infeksi di dalam rongga mulut serta rasa sakit. Rasa sakit dan ngilu ini dapat mengganggu aktivitas pengunyahan yang nantinya dapat mengakibatkan adanya



penurunan dalam konsumsi makanan yang menyebabkan asupan gizi yang diterima oleh tubuh menjadi berkurang. Ketidakseimbangan asupan gizi dalam jangka waktu yang panjang dapat mempengaruhi terjadinya perubahan pada jaringan massa tubuh yang akan berdampak pada status gizi tubuh manusia<sup>9</sup>.

Plak yang melekat erat pada permukaan gigi dan gingiva berpotensi cukup besar untuk menimbulkan penyakit pada jaringan keras gigi. Keadaan ini disebabkan karena plak mengandung berbagai macam bakteri dengan berbagai macam hasil metabolismenya. Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Lactobacillus* yang terdapat dalam plak yang melekat pada gigi akan memetabolisme sisa makanan yang bersifat kariogenik, terutama yang berasal dari jenis karbohidrat yang dapat difermentasi, seperti sukrosa, glukosa, fruktosa, dan maltosa. Gula ini mempunyai molekul yang kecil dan berat sehingga mudah meresap dan dimetabolisme oleh bakteri<sup>10</sup>.

Asam yang terbentuk dari metabolisme ini dapat merusak gigi, juga dipergunakan oleh bakteri untuk mendapatkan energi. Asam ini akan dipertahankan oleh plak di permukaan enamel dan mengakibatkan turunnya pH di dalam plak. Plak akan tetap bersifat asam selama beberapa waktu dan untuk kembali ke pH normal dibutuhkan waktu 30 sampai 60 menit. Oleh karena itu, jika seseorang sering dan terus menerus mengonsumsi gula, pHnya akan tetap di bawah pH normal dan mengakibatkan terjadinya demineralisasi dari permukaan enamel yang rentan, yaitu terjadinya pelarutan dari kalsium yang menyebabkan terjadinya kerusakan enamel sehingga bisa menimbulkan karies<sup>11</sup>.

Pada tahap awal demineralisasi, kavitas belum terbentuk di permukaan enamel, namun mineral enamel sudah mulai larut, sehingga secara klinis terlihat perubahan warna



menjadi lebih putih. Lesi awal karies dapat kembali normal melalui proses remineralisasi. Proses remineralisasi oleh ion fluor, tidak hanya memperbaiki permukaan enamel, tetapi dapat membuat enamel tahan terhadap serangan karies berikutnya dan melindungi larutnya kristal hidroksiapatit pada enamel. Bila kondisi lokal mengalami perubahan, yaitu bila pH cukup tinggi  $>5,5$ , maka lebih banyak lagi hidroksiapatit, kalsium, dan fosfat dari saliva yang dapat diendapkan ke permukaan gigi<sup>12</sup>.

Kavitas pada permukaan gigi terjadi bila demineralisasi bagian dalam enamel sudah sedemikian luas, sehingga permukaan enamel tidak mendapat dukungan cukup dari jaringan di bawahnya. Bila sudah terjadi kavitas, maka gigi tidak dapat kembali normal, dan proses karies akan berjalan terus. Hal ini terjadi bila proses demineralisasi dan remineralisasi didominasi oleh proses demineralisasi. Bila proses demineralisasi tersebut tidak dapat diatasi, maka kerusakan akan berlanjut lebih dalam lagi, bahkan dapat mempengaruhi vitalitas gigi<sup>12</sup>.

Faktor penyebab karies gigi terdiri dari penyebab dari dalam diri individu dan penyebab luar individu. Faktor dalam penyebab karies gigi merupakan faktor di dalam mulut yang berhubungan langsung dengan proses terjadinya karies gigi yaitu; host (gigi), mikroorganisme (bakteri), substrat (diet), dan waktu. Sedangkan, faktor luar individu adalah status ekonomi, keluarga, pekerjaan, fasilitas kesehatan gigi, dan pendidikan kesehatan gigi yang pernah diterima. Selain faktor-faktor yang ada di dalam rongga mulut yang berhubungan langsung dengan karies, terdapat juga faktor-faktor tidak langsung yang disebut faktor risiko luar, yang merupakan faktor predisposisi dan faktor penghambat terjadinya karies gigi. Faktor luar antara lain adalah ras, usia, jenis kelamin, tingkat pendidikan, tingkat ekonomi, lingkungan, sikap, dan perilaku yang berhubungan

dengan kesehatan gigi<sup>13</sup>.

Streptococcus mutans pertama kali diisolasi oleh Clark pada tahun 1924 dari gigi manusia yang mengalami karies. Streptococcus mutans berperan penting terhadap terjadinya karies gigi. Istilah Streptococcus mutans diambil berdasarkan hasil pemeriksaan mikrobiologi dengan pengecatan gram. Bakteri ini berbentuk oval dan lain dari bentuk spesies Streptococcus yang lain, sehingga disebut sebagai mutan dari Streptococcus. Streptococcus mutans diklasifikasikan berdasarkan serotipe menjadi 8 kelompok yaitu serotipe a sampai h. Pembagian serotipe ini berdasarkan perbedaan karbohidrat pada dinding sel. Akan tetapi, berdasarkan hibridasi DNA, bakteri ini dibagi menjadi 4 kelompok genetik. Pembagian ini berdasarkan persentase basa DNA yaitu guanine dan cytosine. Strain Streptococcus mutans yang banyak terdapat pada manusia adalah serotipe c, e, dan f (36 to 38% G + C), dimana Streptococcus mutans serotipe c merupakan bakteri utama penyebab karies gigi<sup>14</sup>.



Gambar 1 Streptococcus mutans (Ryan & Ray 2004)

Streptococcus mutans memiliki beberapa faktor penyebab karies gigi seperti pelekatan terhadap permukaan enamel, produksi asam metabolit, kapasitas untuk membangun cadangan glikogen, dan kemampuan untuk mensintesis polisakarida ekstraseluler yang terdapat dalam karies gigi. Biasanya, keberadaan Streptococcus mutans dalam kavitas gigi diikuti oleh karies setelah 6-24 bulan<sup>15</sup>. Asam metabolik yang dihasilkan oleh



*Streptococcus mutans* dapat menyebabkan demineralisasi permukaan gigi dan berperan pada karies gigi. Enzim glukosiltransferase yang dihasilkan bakteri ini merupakan kunci pada proses ini. Bakteri tersebut menggunakan sukrosa sebagai substrat untuk mensintesis glukosa larut dan tidak larut air<sup>16</sup>.

Dua faktor virulensi utama yang terkait pada pelekatan *Streptococcus mutans* yaitu enzim glukosiltransferase dan protein antigen AgI/AgII. Enzim glukosiltransferase mensintesis glukosa dari sukrosa dan sebagai perantara yang mempengaruhi pelekatan sukrosa *Streptococcus mutans* pada permukaan gigi. Antigen AgI/AgII pada kavitas rongga mulut berinteraksi dengan aglutinin glikoprotein kompleks pada saliva. Tanpa struktural yang lengkap, mekanisme pengikatan antigen AgI/AgII terhadap komponen host tidak dapat membentuk pelekatan pada gigi. Polisakarida ekstraseluler menyediakan pelekatan bakteri pada permukaan gigi dan berkontribusi pada ketahanan struktur biofilm. Struktur matriks polisakarida memiliki peran penting pada efek virulensi plak dengan mempengaruhi sifat fisik dan biokimia dari biofilm. Semua bukti sumber EPS dalam plak gigi tampak jelas dari produk interaksi glukosiltransferase dan fruktosiltransferase dengan sukrosa dan hidrolisat pati<sup>17</sup>.

Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) atau di Indonesia dikenal sebagai ‘Apel Malang’ atau ‘Apel Batu’ adalah spesies buah berupa apel liar dari genus *Malus*. Nama ilmiahnya berarti ‘Apel Hutan’ karena sering tumbuh secara liar di hutan dengan ketinggian atau iklim tertentu dan pohonnya memiliki duri yang lumayan tajam. Apel Manalagi mempunyai rasa yang manis walaupun masih muda dan aromanya harum. Umumnya buah ini berwarna hijau atau hijau kekuningan, pada lapisan kulit terluarnya mempunyai pori putih, bentuk buahnya bulat, dan diameter buahnya berkisar antara 5-7



cm serta beratnya berkisar 75-100 gram/buah. Apel Manalagi memiliki mahkota bunga yang melebar dan sering kali terlihat seperti tumbuhan berupa semak dibanding pohon. Tumbuhan ini dapat hidup 80-100 tahun dan tumbuh setinggi 10 m dengan diameter batang sekitar 23-45 cm. Bunganya memiliki organ kelamin hermafrodit dan diserbuki oleh serangga<sup>18</sup>. Apel Manalagi dipilih untuk dikonsumsi karena mudah didapat dan harganya terjangkau untuk semua kalangan. Biasanya masyarakat mengonsumsinya baik secara langsung ataupun dalam berbagai rupa produk olahan dan kulitnya dibuang menjadi limbah industri<sup>19</sup>.

Secara umum cara mengetahui kandungan senyawa kimia dalam tanaman baik dengan kualitatif atau kuantitatif dapat dilakukan dengan uji fitokimia. Hasil uji dalam buah Apel Manalagi yaitu adanya senyawa antioksidan seperti: (a) Flavonoid memiliki kemampuan antibakteri dengan cara merusak dinding sel bakteri, karena berikatan dengan protein melisis sel bakteri sehingga bakteri mati<sup>20</sup>; (b) Pektin merupakan senyawa dalam apel yang diketahui memiliki kemampuan antiinflamasi dan antibakteri; (c) Saponin mempunyai kemampuan antibakteri yang bekerja dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sehingga menyebabkan hemolisis sel<sup>21</sup>; (d) Tanin merupakan komponen zat organik yang kompleks dan terdiri dari senyawa fenolik yang sulit dipisahkan dan sulit mengkristal, mendapatkan protein dari larutannya, dan bersenyawa dengan protein tersebut<sup>22</sup>; (e) Vitamin C merupakan pendonor elektron yang sangat baik dikarenakan memiliki potensial reduksi 1- elektron standart yang rendah (282 mV), serta dapat memproduksi asam semidehidroaskorbat yang relatif stabil<sup>23</sup>.

Kandungan buah Apel Manalagi yang dapat digunakan dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu flavonoid memiliki aktivitas lebih besar untuk menghambat



pertumbuhan bakteri gram positif dibandingkan dengan bakteri gram negatif dikarenakan 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. Dengan terganggunya dinding sel ini akan menyebabkan lisis pada sel<sup>24</sup>.

25 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 bisa merusak metabolisme sel. Selanjutnya bakteri akan mati yang mampu menyebabkan denaturasi pada sel, hal ini dikarenakan struktur dan fungsi dari membran yang berubah. Saponin mempunyai daya antibakteri dengan meningkatkan permeabilitas membran sehingga menyebabkan hemolisis dari sel<sup>21</sup>. Kandungan buah Apel Manalagi yang lain yaitu pektin berfungsi sebagai antiinflamasi dan antibakteri, dimana mekanisme pektin sebagai antibakteri bekerja dengan cara mengikat dan mengganggu permeabilitas permukaan sel bakteri sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri<sup>26</sup>.

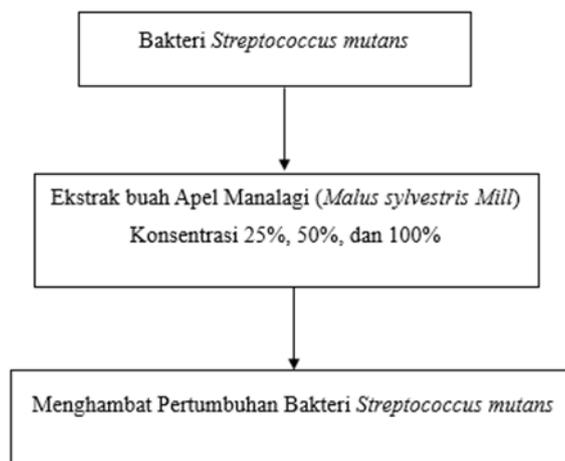
Daya antibakteri pada tanin diduga dapat merusak membran sel bakteri. Selain itu, senyawa astringent tanin juga dapat mengkerutkan dinding sel dan membran sel sehingga mampu mengganggu permeabilitas sel bakteri. Akibat terganggunya permeabilitas ini, bakteri tidak dapat melakukan aktivitas hidupnya sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati<sup>24</sup>.

Buah Apel Manalagi telah diteliti dapat menghambat pertumbuhan dari

Streptococcus alpha, Salmonella thyphosa, dan Streptococcus mutans. Ekstrak apel dapat menghambat pertumbuhan dari Streptococcus alpha mulai dari konsentrasi 40%, sedangkan ekstrak Apel Manalagi dengan konsentrasi 25% dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri Salmonella thyphosa, dan Streptococcus mutans<sup>27</sup>. Telah dibuktikan juga bahwa ekstrak apel dengan kandungannya seperti flavonoid, pektin, tanin, dan saponin dapat menghambat pertumbuhan bakteri penyebab infeksi jaringan periodontal seperti bakteri Phorpyromonas gingivalis dimana konsentrasi terkecil ekstrak Apel Manalagi yang dapat menghambat pertumbuhan Phorpyromonas gingivalis adalah pada konsentrasi 50%<sup>28</sup>.



Gambar 2 Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill)



Gambar 3 Skema Konsep Penelitian



Berdasarkan uraian di atas maka dapat dirumuskan hipotesis pada penelitian ini “Ekstrak buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 100% memiliki efektivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*”.

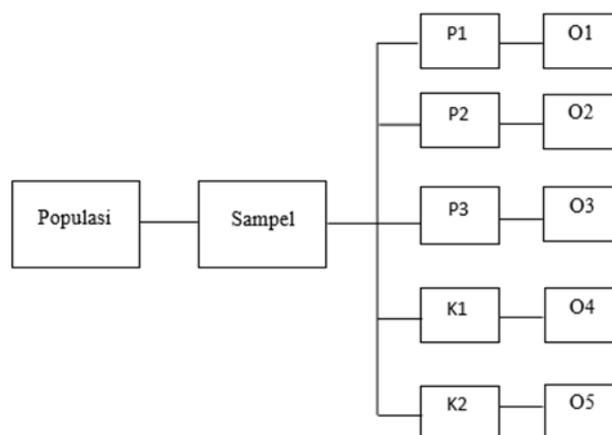
## METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental murni atau true experiment dengan desain penelitian Post-Test Only Control Group Design. Populasi dalam penelitian ini adalah stock culture bakteri yang disimpan di Laboratorium Mikrobiologi Research Center Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Streptococcus mutans* serotipe c yang diperoleh dari stock culture bakteri yang disimpan di Laboratorium Mikrobiologi Research Center Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, Surabaya. Berdasarkan perhitungan dengan rumus diatas maka diperoleh  $n=5$  untuk masing-masing kelompok sehingga didapatkan jumlah sampel secara keseluruhan adalah 25 sampel. Teknik sampling menggunakan teknik purposive sampling atau simple random sample secara acak, yaitu pengambilan sampel secara sengaja, sesuai dengan persyaratan sampel yang diperlukan dengan asumsi bahwa sampel yang diambil dapat mewakili populasi dari lokasi penelitian. Penelitian ini dirancang seperti pada Gambar 4: (a) P1=perlakuan konsentrasi 25%, O1=pengamatan hasil P1; (b) P2=perlakuan konsentrasi 50%, O2=pengamatan hasil P2; (c) P3=perlakuan konsentrasi 100%, O3=pengamatan hasil P3; (d) K1=kontrol positif dengan ChKM, O4=pengamatan hasil K1; (e) K2=kontrol negatif dengan aquadest, O5=pengamatan hasil K2.

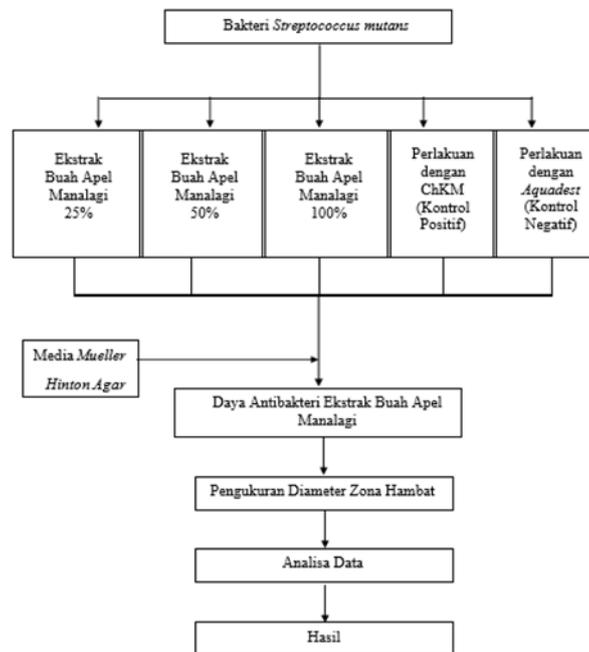
Variabel bebas penelitian adalah ekstrak buah Apel manalagi (konsentrasi 25%,

50%, 100%). Variabel terikatnya zona hambat yang terbentuk. Variabel kendali penelitian adalah media pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, lama inkubasi bakteri selama 24 jam, suhu inkubasi bakteri 37°C, serta penggunaan alat dan media yang sudah steril. Perhitungan dalam pengamatan ini dilakukan dengan menggunakan jangka sorong (mm) untuk mengukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada media Mueller Hinton Agar.

Uji normalitas untuk mengetahui perbedaan bermakna dengan Shapiro-Wilk oleh karena besar sampel penelitian  $<30$ . Uji homogenitas data antar kelompok dengan Levene Test. Data yang diperoleh tidak terdistribusi dengan normal maka digunakan uji Kruskal Wallis untuk mengetahui adanya perbedaan secara bermakna antara ekstrak buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) pada masing-masing konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil uji Kruskal Wallis didapatkan  $p < 0,05$ , maka dilanjutkan dengan uji untuk melihat adanya perbedaan antar perlakuan dengan menggunakan metode Mann Whitney Test.



Gambar 4 Bagan Ranvangan Penelitian



Gambar 5 Skema Alur Penelitian

## Prosedur

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan menggunakan autoklaf pada suhu 120°C selama 15 menit. Buah Apel Manalagi yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Kota Malang, Jawa Timur dan proses pembuatan simplisia ini dilakukan di Kota Bogor, Jawa Barat. Buah Apel Manalagi disiapkan masing-masing sebanyak 500 gram. Buah Apel Manalagi dicuci bersih, diambil dagingnya saja dengan cara diiris, dan dikeringkan dengan diangin-anginkan selama 7 hari, kemudian dihaluskan dengan food processor sampai halus (simplisia). Bahan yang sudah halus dimaserasi dengan etanol 96% selama 72 jam (tiga hari). Hasil maserasi disaring sebanyak tiga kali dengan penyaring buchner yang dilapisi kertas saring dan ditampung dalam Erlenmeyer. Filtrat hasil penyaringan diuapkan dengan vacuum rotary evaporator dan dipanaskan dengan water bath pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak



kental buah Apel Manalagi. Untuk membuat ekstrak 100% dilakukan dengan cara menimbang 25 gram ekstrak dilarutkan dengan aquadest sebanyak 25ml. Untuk ekstrak 50%, mengambil 10ml ekstrak 100% dan ditambah aquadest hingga volumenya 20ml. Untuk ekstrak 25%, mengambil 5ml ekstrak 100% dan ditambah akuades hingga volumenya 20ml. Paper point yang berisi bakteri *Streptococcus mutans* dilarutkan ke dalam larutan TSB, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam. Kekeruhan yang terjadi setelah diinkubasi disetarakan dengan 108 CFU/ml (0,5 Mc Farland). Sebanyak 0,1 ml dimasukkan dalam masing-masing seri konsentrasi yang akan diuji. Sebanyak 3,8 gram MHA dilarutkan ke dalam 100 ml etanol 96% kemudian dipanaskan menggunakan hot plate dan diaduk dengan magnetic stirrer sampai menjadi homogen. Media disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 120°C selama 15 menit untuk cairan dengan volume 100 ml atau lebih sedikit. Setelah disterilisasi media tersebut dapat langsung digunakan untuk mengetahui daya hambat antibakteri dari ekstrak buah Apel Manalagi terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Uji daya hambat antibakteri ekstrak buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* dilakukan dengan metode difusi (metode Kirby Bauer). Suspensi bakteri *Streptococcus mutans* yang telah disesuaikan tingkat kekeruhannya sesuai standar Mc. Farland 0,5 ( $1 \times 10^8$  CFU/ml) dan telah dibiakkan di dalam tabung TSB (Tryptic Soy Broth) kemudian diusap pada permukaan MHA dengan menggunakan lidi kapas steril dan didiamkan selama 5-15 menit agar suspensi meresap ke media. Kemudian bagi menjadi 5 kelompok, kelompok 1 diberi perlakuan ekstrak buah Apel Manalagi dengan konsentrasi 25%, kelompok 2 diberi perlakuan ekstrak buah Apel Manalagi dengan konsentrasi 50%, kelompok 3 diberi perlakuan ekstrak buah Apel

Manalagi dengan konsentrasi 100%, kelompok 4 diberi Chlorphenol Kamfer Menthol (ChKM), dan kelompok 5 diberi aquadest steril. Media diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Mengukur zona hambat. Zona hambat yaitu daerah jernih yang terdapat di sekeliling paper disk. Pengukuran zona hambat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong.

## HASIL

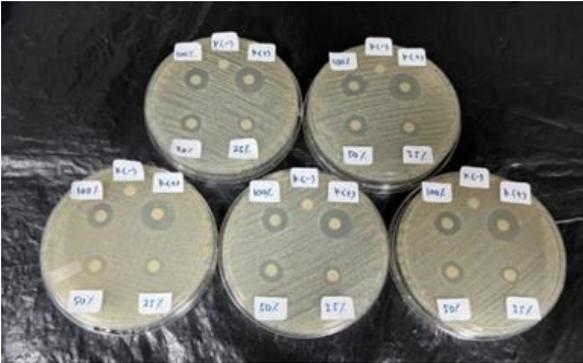
Tabel 1 Hasil Uji Identifikasi Fitokimia Ekstrak Buah Apel Manalagi

No.	Golongan Kimia	Pereaksi	Kesimpulan
1.	Saponin	HCl	Mengandung Saponin
2.	Fenol	FeCl <sub>3</sub>	Mengandung Fenol
3.	Steroid	Pereaksi Liebermann Burchard	Tidak mengandung Steroid
4.	Terpenoid	Vanilin Asam Sulfat	Mengandung Terpenoid
5.	Alkaloid	Mayer Dragendorf	Mengandung Alkaloid
6.	Flavonoid	UV 366	Mengandung Flavonoid
7.	Tanin	Pb Asetat 10%	Tidak mengandung Tanin

Tabel 2 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Bakteri Streptococcus mutans

Pengulangan	Pengukuran Zona Hambat (mm)				
	100%	50%	25%	K (+)	K (-)
I	15,60	13,15	10,20	19,60	0
II	15,40	13,05	10,05	19,80	0
III	15,20	12,80	10,20	20,20	0
IV	15,55	13,20	10,15	20,40	0
V	15,60	13,40	10,40	19,75	0

Gambar 6 Hasil Uji Kirby Bauer



Tabel 3 Hasil Uji Normalitas Data

Variabel Antar Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Konsentrasi 25%	.300	5	.161*	.921	5	.537
Konsentrasi 50%	.175	5	.200*	.980	5	.937
Konsentrasi 100%	.279	5	.200*	.836	5	.155
Kontrol Positif	.273	5	.200*	.911	5	.474

Tabel 4 Hasil Uji Homogenitas Zona Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.532	4	20	.004

Tabel 5 Hasil Uji Kruskal-Wallis Zona Hambat

Variabel Antar Kelompok	N	Mean Rank	Sig (P)
Konsentrasi 25%	5	8.00	
Konsentrasi 50%			
Konsentrasi 100%			
Kontrol Positif			
Kontrol Negatif			
Total			

Tabel 6 Hasil Uji Mann Whitney



Signifikasi	100%	50%	25%	K+	K-
Konsentrasi 100%	-	0.000	0.000	0.000	0.000
Konsentrasi 50%	0.000	-	0.000	0.000	0.000
Konsentrasi 25%	0.000	0.000	-	0.000	0.000
Kontrol Positif	0.000	0.000	0.000	-	0.000
Kontrol Negatif	0.000	0.000	0.000	0.000	-

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan terdapat zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 25%, 50%, dan 100%, dan terdapat perubahan yang cukup signifikan akibat perlakuan ekstrak buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) yang dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat atau zona jernih pada media agar. Zona jernih ini mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar. Dalam penelitian ini terdapat perbedaan hasil dari tiap kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan. Perbedaan yang dihasilkan berupa ukuran dari zona hambat yang terbentuk, dimana pada kelompok kontrol positif zona hambat yang dihasilkan sebesar 19,95 mm (daya hambat kuat), kemudian pada kelompok perlakuan pada konsentrasi 25% didapatkan rata-rata sebesar 10,2 mm (daya hambat sedang), konsentrasi 50% didapatkan rata-rata sebesar 13,12 mm (daya hambat kuat), dan pada konsentrasi 100% didapatkan rata-rata sebesar 15,47 mm (daya hambat kuat). Diameter zona hambat dikategorikan kekuatan daya antibakterinya berdasarkan penggolongan Davis dan Stout yaitu pada diameter zona bening 21 mm atau lebih artinya daya hambat sangat kuat, diameter zona bening 11-20 mm artinya daya hambat kuat, diameter zona bening 6-10 mm artinya daya hambat sedang, dan diameter zona bening 2-5 mm artinya daya hambat lemah.

Pada kelompok perlakuan penggunaan ekstrak dengan konsentrasi yang semakin



tinggi akan menghasilkan daya hambat yang semakin besar. Salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas bahan antimikroba yaitu konsentrasi bahan antimikroba. Daya hambat yang dihasilkan oleh bahan antimikroba akan semakin tinggi apabila konsentrasinya juga tinggi<sup>30, 27</sup>Pengaruh ekstrak kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) pada konsentrasi 25%, 50%, dan 100% yang terbukti memiliki zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Pada penelitiannya didapatkan hasil bahwa semakin tinggi konsentrasi kelompoknya maka semakin tinggi zona hambat yang diperoleh, hal ini dikarenakan kandungan aktif yang terdapat dalam ekstrak kulit Apel Manalagi. Kulit Apel Manalagi terbukti memiliki kandungan yang sama dengan daging buah Apel Manalagi yaitu berupa bahan aktif yang berfungsi sebagai antimikroba seperti flavonoid, saponin, fenol, terpenoid, dan senyawa alkaloid yang memiliki keunggulan sebagai penghambat aktivitas antimikroba. <sup>31</sup>Ekstrak buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella thyposa* pada konsentrasi 25%, 50%, dan 100%. <sup>32</sup>Ekstrak kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, dan 100% mempunyai daya hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*. Tinggi konsentrasi pada ekstrak buah Apel Manalagi mampu untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dikarenakan ekstrak buah Apel Manalagi memiliki senyawa aktif yang menyebabkan adanya aktivitas antibakteri. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka jumlah senyawa antibakteri yang dilepaskan akan semakin besar, sehingga mempermudah penetrasi senyawa tersebut ke dalam sel<sup>33</sup>.

Zona hambat yang terdapat pada penelitian ini dapat dihubungkan dengan adanya senyawa yang terkandung di dalam ekstrak buah Apel Manalagi sehingga terbentuknya zona hambat disebabkan karena kerja zat aktif antibakteri ekstrak buah Apel Manalagi



terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Berdasarkan uji fitokimia yang telah dilakukan pada buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) didapatkan hasil kandungan pada ekstrak buah Apel Manalagi yang berkhasiat sebagai antibakteri adalah saponin, fenol, terpenoid, alkaloid, dan flavonoid. Senyawa aktif flavonoid bekerja dengan menghambat fungsi membran sel dan metabolisme energi bakteri. Saat flavonoid menghambat fungsi membran sel, flavonoid akan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang dapat merusak membran sel bakteri, kemudian diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler bakteri tersebut. Flavonoid juga menghambat penggunaan oksigen dari bakteri. Bakteri membutuhkan energi untuk melakukan proses biosintesis makromolekul, sehingga jika metabolismenya terhambat maka molekul bakteri tersebut tidak berkembang menjadi molekul yang kompleks<sup>34</sup>. Alkaloid bekerja sebagai antibakteri dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan terjadinya kematian pada sel bakteri<sup>35</sup>. Alkaloid juga menghambat pembentukan sintesis protein sehingga dapat mengganggu metabolisme pada bakteri. Golongan senyawa alkaloid dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun gram. Mekanisme kerja dari senyawa terpenoid bereaksi dengan protein transmembran pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga akan terjadi kerusakan. Rusaknya protein transmembran yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri menjadi terhambat atau mati<sup>36</sup>. Golongan senyawa fenol mampu merusak membran sel bakteri dengan menginaktifkan enzim dan mendenaturasi protein sehingga dinding sel bakteri mengalami kerusakan karena



penurunan permeabilitas. Perubahan permeabilitas membran sitoplasma memungkinkan terganggunya transportasi ion-ion organik yang penting ke dalam sel bakteri, sehingga berakibat terhambatnya pertumbuhan bahkan hingga kematian pada sel bakteri. Dalam konsentrasi tinggi, kandungan fenol menembus dan mengganggu dinding sel bakteri, dan mempresipitasi protein dalam sel bakteri<sup>37</sup>. Kandungan saponin dalam buah Apel Manalagi juga berperan sebagai antibakteri dengan merusak permeabilitas dinding sel sehingga dapat menimbulkan kematian pada sel bakteri<sup>38</sup>.

Beberapa faktor lain yang dapat mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri yaitu kekeruhan suspensi bakteri. Jika suspensi bakteri kurang keruh, diameter zona hambat akan lebih besar dan sebaliknya jika suspensi bakteri terlalu keruh maka diameter zona hambatnya akan semakin kecil. Suspensi standar 0,5 Mc Farland adalah suspensi yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan bakteri sama dengan 108 CFU/ml. Dalam mengukur tingkat kekeruhan suspensi bakteri sebaiknya menggunakan alat nephelometer agar kekeruhan suspensi bakteri lebih akurat dibandingkan dengan kekeruhan Mc Farland 0,5. Temperatur inkubasi juga dapat menjadi faktor yang mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Untuk memperoleh pertumbuhan yang optimal, inkubasi dilakukan pada suhu 37°C. Suhu yang kurang dari 37°C dapat menyebabkan diameter zona hambat lebih besar. Hal ini bisa terjadi pada plate yang ditumpuk-tumpuk lebih dari 2 plate pada saat inkubasinya. Inkubasi pada suhu lebih dari 37°C dapat menyebabkan difusi ekstrak yang kurang baik. Tebalnya media agar juga dapat menjadi salah satu faktor yang dapat mempengaruhi diameter zona hambat pada bakteri. Ketebalan agar yang efektif yaitu sekitar 4 mm. Jika kurang dari 4 mm, difusi ekstrak akan menjadi lebih cepat, sedangkan jika ketebalan agar



lebih dari 4 mm maka difusi ekstrak akan lambat<sup>39</sup>.

Ekstraksi buah Apel Manalagi dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol. Pelarut etanol yang digunakan adalah etanol 96% karena mudah melarutkan senyawa-senyawa metabolit aktif yang berefek antimikroba. Sifat-sifat fisika pelarut etanol dapat melarutkan baik non-polar maupun polar karena gugus OH dalam etanol membantu melarutkan molekul polar, ion-ion, dan gugus alkalinnya  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ - dapat mengikat bahan non-polar, sehingga pelarut etanol dapat melarutkan senyawa-senyawa bioaktif<sup>40</sup>. Metode ekstraksi yang dipilih adalah metode maserasi, dengan alasan pelaksanaannya yang sederhana serta mengurangi kemungkinan berkurangnya zat aktif yang terkandung dalam buah Apel Manalagi oleh karena suhu, karena dalam proses maserasi tidak ada proses pemanasan<sup>41</sup>.

Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini menggunakan aquadest steril. Penggunaan aquadest steril sebagai kontrol negatif dikarenakan aquadest steril merupakan air hasil penyulingan yang bebas dari zat-zat pengotor sehingga bersifat murni dalam laboratorium. Aquadest berwarna bening, tidak berbau, dan tidak memiliki rasa. Aquadest memiliki sifat yang netral sehingga tidak akan memberikan pengaruh pada daya hambat ekstrak buah Apel Manalagi terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*<sup>42</sup>. Kontrol positif pada penelitian ini adalah Chlorphenol Kamfer Menthol (ChKM) yang merupakan campuran dari 27% 4-klorofenol, 71% kamfer rasemik, dan 1,6% levomentol. Penambahan disinfektan berupa kamfer berfungsi sebagai bahan pelarut dan dapat mengurangi efek iritasi yang terdapat dalam paraklorofenol yang akan menghasilkan larutan yang stabil dalam suhu ruang. Menthol dalam ChKM mampu mengurangi iritasi yang



disebabkan oleh chlorophenol serta dapat mengurangi rasa sakit<sup>43</sup>. Pengaruh fenol terhadap antibakteri bisa berdasarkan kemampuan lipid dalam menghancurkan bakteri dan membran. Pada konsentrasi yang tinggi, protein sel akan terdenaturasi. Pada konsentrasi yang lebih rendah sangat penting pada sistem enzim yang sudah dilemahkan dan dinding sel bakteri terlarut, sehingga bisa diasumsikan penambahan kapur barus yang korosif dan pengaruh klorin yang beracun dapat dinetralkan oleh fenol, hanya dengan mencampur klorofenol kapur barus dengan rasio 2:1 akan menentukan efek korosif. Hal ini dikarenakan kamfer terlarut karena adanya tambahan fenol, akan tetapi bukti baru mengindikasikan bahwa kamfer mengandung toksik dan dapat meningkatkan toksisitas<sup>44</sup>. Zona hambat pada kontrol positif lebih besar dari pada zona hambat ekstrak buah Apel Manalagi pada konsentrasi 100%. Kandungan kamfer dalam ChKM berfungsi memperpanjang efek antimikroba sehingga daya hambat ChKM lebih besar dibandingkan daya hambat pada ekstrak<sup>45</sup>.

Data yang digunakan merupakan data berdistribusi normal dan tidak homogen sehingga dilakukan pengujian lanjutan menggunakan uji non-parametrik yaitu uji Kruskal-Wallis. Hasil pengujian statistik menggunakan Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rerata zona hambat pada kelima kelompok dengan signifikansi  $p = 0.004$ . Karena hasil uji Kruskal-Wallis didapatkan  $p < 0.05$  maka dilanjutkan dengan metode uji Mann Whitney Test untuk melihat adanya perbedaan antar perlakuan. Pada metode uji Mann Whitney Test menunjukkan hasil bahwa konsentrasi paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* adalah konsentrasi 100%.

Melihat fakta hasil penelitian yaitu terdapat zona hambat pada pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan adanya bukti-bukti penelitian terkait serta analisis



Kruskal-Wallis dan Mann Whitney Test bahwa ekstrak buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terbukti memiliki efek antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, hal ini membuktikan bahwa hipotesis yang telah disusun sebelumnya terbukti.

Berdasarkan hasil penelitian uji zona hambat ekstrak buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) konsentrasi 25%, 50%, dan 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, dapat disimpulkan bahwa: (a) Ekstrak buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) konsentrasi 25%, 50%, dan 100% terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*; (b) Pada penelitian ini terjadi peningkatan rerata zona hambat ekstrak buah Apel Manalagi dari konsentrasi terendah hingga konsentrasi tertinggi; (c) Ekstrak dengan konsentrasi 100% merupakan konsentrasi paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dibandingkan dengan konsentrasi 25% dan 50%.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Beighton, D. B. 2007. Dental caries and pulpitis. In: Ireland R, eds. Dental hygiene and therapy. Oxford: Blackwell Munksgaard. p: 76, 83, 86-90.
2. Mayasari, U., Sapitri, A. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Daun Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *KLOROFIL*. 3(2), 15-16.
3. Hoshino, T., Fujiwara, T., Kawabata, S. 2012. Evolution of cariogenic character in *Streptococcus mutans*: horizontal transmission of glycosyl hydrolase family 70 genes. *Scientific reports*. 2(158), 1-7.
4. Fani, M. M., Kohanteb, J., Dayaghi, M. 2007. Inhibitory Activity of Garlic (*Allium sativum*) extract on multidrug-resistant *Streptococcus mutans*. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*. 25(4), 164.
5. McCracken, A. W., Cawson, R. A. 1983. *Clinical and oral microbiology*. London: Hemisphere Publishing Corporation. p: 475.
6. Sembiring, E. M. A., Aldi, Y., Susi. 2018. Daya Hambat Jus Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) Terhadap



- Pertumbuhan Bakteri Porphyromonas Gingivalis Secara In Vitro. *Andalas Dental Journal*. 87-88.
7. Karyadi, E., Kaswindiarti, S., Roza, M. A., Larissa, S. 2020. Pengaruh Mengunyah Buah Apel Manalagi Terhadap Penurunan Indeks Plak Usia 9-12 Tahun. *Jurnal Ilmu Kedokteran Gigi*. 3(2), 24-25.
  8. Kidd, E. A. M., Bechal, S. J. 2013. *Dasar-dasar Karies*. Jakarta: EGC.
  9. Rohmawati, N. 2016. Karies gigi dan status gizi anak. *Jurnal Kedokteran Gigi*. 13(1), 32-36.
  10. Listriana. 2017. Indeks Karies Gigi Ditinjau Dari Penyakit Umum Dan Sekresi Saliva Pada Anak Di Sekolah Dasar Negeri 30 Palembang 2017. *JPP (Jurnal Kesehatan Palembang)*. 12(2), 136-148.
  11. Putri, M. H., Herijulianti, E., Nurjannah, N. 2011. *Ilmu Pencegahan Penyakit Jaringan Keras dan Jaringan Pendukung Gigi*. Jakarta: EGC.
  12. Sibarani, M. R. 2014. Karies: Etiologi, Karakteristik Klinis dan Tatalaksana. *Majalah Kedokteran UKI*. 30(1), 14-22.
  13. Listriana, Zainur, R. A., Hisata, L. S. 2018. Gambaran Karies Gigi Molar Pertama Permanen Pada Siswaswati Sekolah Dasar Negeri 13 Palembang Tahun 2018. *JPP (Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang)*. 13(2). 136-149.
  14. Fatmawati, D. W. A. 2011. Hubungan Biofilm Streptococcus mutans Terhadap Risiko Terjadinya Karies Gigi. *Stomatognathic (J.K.G Unej)*. 8(3), 127-130.
  15. Forssten, S., Bjorklund, M., Ouwehand, A. 2010. Streptococcus mutans, Caries and simulation Models, *Nutrients*, 2: 290-298.
  16. Devulapalle, K. S., G. Mooser. 2001. Glucosyltransferase inactivation reduces dental caries. *J Dent Res*. 80(2), 466-469.
  17. Sandi, I. M., Bachtiar, H., Hidayati. 2015. Perbandingan Efektivitas Daya Hambat Dadih Dengan Yogurt Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus mutan. *Jurnal B-Dent*. 2(2), 88-94.
  18. Schnitzler, Annik, Arnold, Claire, Cornille, Amandine, Bachmann, Olivier, Christophe. 2014. Wild European Apple (*Malus sylvestris* (L.) Mill.) Population Dynamics: Insight from Genetics and Ecology in the Rhine Valley. *Priorities for a Future Conservation Programme*. 9(5).
  19. Pradayani, M. P., Pertiwi, N. K. F. R., Ambarawati, I. G. A. D. 2021. Daya antibakteri ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* (L.) Mill) terhadap pertumbuhan Streptococcus sanguinis. *Bali Dental Journal*. 5(2), 63-68.
  20. Christianto, C. W. 2012. Efek Antibakteri Ekstrak Biji Alpukat Terhadap Pertumbuhan Streptococcus mutans. *Oral Biology Dent J*. 40-44.
  21. Karlina, C. Y., Ibrahim, M., Trimulyono, G. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulacaoleraceae* L) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escheria coli*. *LenteraBio*. 1(2), 87-93.



22. Malangngi, L. P., Meiske, S.S., Jessy, J. E. P. 2012. Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill). *Jurnal MIPA UNSRAT*. 1(1), 5-10.
23. Sanghajanna, C. 2020. Efektivitas Ekstrak Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Muhammadiyah Semarang.
24. Anggraini, D., Sukrama, 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), 59-60.
25. Prawira, M., Sarwiyono, Surjowardojo, P. 2013. Daya Hambat Dekok Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Penyakit Mastitis Pada Sapi Perah. Program Studi Produksi Ternak di Peternakan Sapi Perah Rakyat, KUD Sumber Makmur Ngantang. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.
26. Perina, Irene, Satiruiani, Soetarjo, F. E., Herman. 2007. Ekstrak Pektin Dari Berbagai Macam Kulit Jeruk. *Jurnal Widya Teknik*. 6(1), 1-10.
27. Jannata, R. H., Gunadi, A., Ermawati, T. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2(1), 23-28.
28. Yuhyi, A. N. 2016. Daya Hambat Ekstrak Apel Manalagi Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
29. Luki, N. P. Y. 2018. Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya*) Efektif Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Pyogens* Secara In Vitro. Skripsi. Universitas Mahasaraswati.
30. Pelczar, M. J., Chan, E. C. S. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Ratna SH dkk, penerjemah: Jakarta: UI Pr. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*. Sirait M. 2007. *Penuntun Fitokimia dalam Farmasi*. Bandung: ITB.
31. Wulandari, Adisti. 2012. Daya Antibakteri Ekstrak Buah Apel Manalagi Terhadap Bakteri *Salmonella thyposa*. *Journal healthy science*. 2(1), 60-75.
32. Rohman, Y., Putri, D. R. R., Ardhila, N. F., Fathimah. 2018. Daya Hambat Terendah Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. *Journal of Islamic Nutrition*. 1(1), 26-32.
33. Lingga, A. R., Pato, U., Rossi, E. 2015. Uji Antibakteri Ekstrak Batang Kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta*. 3(1).
34. Sapara, T. U., Waworuntu, O., Juliatri. 2016. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT*. 5(4).
35. Amalia, A., Sari, I., Nursanty, R. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Sembung (*Blumea*



balsamifera (L.) DC.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Prosiding Seminar Nasional Biotik.

36. Anggraini, W., Nisa, C. S., Ramadhani, R., Burhan, M. 2019. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Buah Blewah (*Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. *Pharmaceutical Journal Of Indonesia*. 5(1), 61-66.

37. Purwantiningsih, I. K., Suranindyah, Y. Y., Widodo. 2014. Aktivitas Senyawa Fenol Dalam Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) Sebagai Antibakteri Alami Untuk Penghambatan Bakteri Penyebab Mastitis. *Buletin Peternakan*. 38(1), 59-64.

38. Kurniawan, B., Aryana, W. F. 2015. Binahong (*Casia Alata* L) For Inhibiting The Growth of Bacteria *Escherichia Coli*. *J Majority*. 4(4), 100-104.

39. Sumarno. 2002. *Teknik Dasar Pemeliharaan Mikroba*. Jakarta: Intan Prawira.

40. Fadillah, H. 2014. Optimalisasi Sabun Cair Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Jahe Merah (*Zingiber Officinale* Rosc. Var. *Rubrum*). *Makalah Publikasi Universitas Tanjungpura Pontianak*. 2(2), 1-11.

41. Kere, M. 2011. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa*) Terhadap *Fusobacterium Nucleatum* sebagai Bahan Medikamen Saluran Akar Secara In Vitro, Skripsi, Universitas Sumatera Utara, Medan.

42. Khotimah, H. dkk. 2017. Karakteristik Hasil Pengolahan Air Menggunakan Alat Destilasi, Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Mulawarman, *J Chemurgy*, 1(2).

43. Walton, R., Torabinejad, M. 2008. *Prinsip & Praktik Ilmu Endodonsia*, EGC Jakarta.

44. Ngajow, M., Abidjulu, J., Kamu, V. S. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal Mipa*, 2(2), 128-132.

45. Tamara, R., Rochyani, L., Teguh, P. B. 2015. Daya Hambat Ekstrak Teripang Emas (*Stichopus hermannii*) terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*. *Denta Jurnal Kedokteran Gigi*. 9(1).

46. Monalisa, D., Handayani, T. 2011. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Liman Terhadap *Streptococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *Bioma*, 13-20.

47. Sufrida, Y., Irlansyah, Edi, J., Mufatis, W. 2007. *Khasiat dan Manfaat Apel*. Jakarta: Agro Media. pp. 22-3.

48. Tarigan, R. 2014. *Karies Gigi*. Jakarta: EGC.