

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.) Terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 31987

Antibacterial Activity of Grape Seeds Extracts (*Vitis vinifera* L.) Against *Streptococcus mutans* ATCC 31987

Fathin Hamida¹, Vilya Syafriana^{1,*}, Carla Febriayu Ramadhani¹, Elsa Vera Nanda^{1,2}

¹Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh. Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, DKI Jakarta, 12640, Indonesia

²Program Pendidikan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta, Jl. Rawamangun Muka, Jakarta, 13220, Indonesia

*Korespondens: v.syafriana@istn.ac.id

Submit April 2021 **Revisi** Mei 2021 **Diterima** Mei 2021 **Terbit** Juni 2021

ABSTRAK

Streptococcus mutans merupakan salah satu bakteri penyebab karies gigi. Penggunaan antibiotik merupakan terapi infeksi yang umum dilakukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Biji anggur diketahui mengandung senyawa polifenol yang berpotensi sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas ekstrak biji anggur terhadap *Streptococcus mutans*. Bahan uji yang digunakan adalah buah anggur yang diambil bijinya. Buah anggur diperoleh dari Pasar Induk, Kramat Jati, Jakarta Timur. Ekstrak biji anggur diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat dan etanol 70%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram pada media *Mueller Hinton Agar* dengan konsentrasi 5%, 10%, 20%, dan 40%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% biji anggur memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 5%, 10%, 20%, dan 40% dengan nilai hambatan secara berurutan sebesar 8,46 mm; 8,91 mm; 9,89 mm; dan 11,04 mm. Hasil pada ekstrak etil asetat juga menunjukkan ada aktivitas penghambatan pada konsentrasi 5%, 10%, 20%, dan 40% dengan nilai hambatan secara berurutan sebesar 7,72 mm; 8,50 mm; 9,64 mm; dan 10,51 mm. Ekstrak etanol 70% biji anggur memiliki daya hambat yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etil asetat. Hasil ini dapat menjadi acuan untuk pengembangan potensi biji anggur sebagai bahan obat atau kosmetik (kosmetik-medik) penanganan karies gigi.

Kata kunci: Etanol; Etil asetat; Karies gigi; *Streptococcus mutans*; *Vitis vinifera*

ABSTRACT

Streptococcus mutans is one of the bacteria that cause dental caries. The antibiotics usually used for the therapy of this infection to inhibit bacterial growth. Polyphenol, which recommended as an antibacterial agent, is common secondary metabolites in grape seeds.

The purpose of this study is to know the activity of grape seed extract against Streptococcus mutans. The grape seeds were obtained from fresh fruits which bought from Pasar Induk, Kramat Jati, East Jakarta. The grape seed extract was obtained by the maceration method using ethyl acetate and 70% ethanol. The antibacterial activity test was carried out using the disk diffusion method on Mueller Hinton Agar media with a concentration of 5%, 10%, 20%, and 40%. The results showed that 70% ethanol extract of grape seeds had antibacterial activity at concentrations of 5%, 10%, 20%, and 40% with a value of 8.46 mm; 8.91 mm; 9.89 mm; and 11.04 mm respectively. The results of ethyl acetate extract also showed inhibitory activity at concentrations of 5%, 10%, 20%, and 40% with values of 7.72 mm; 8.50 mm; 9.64 mm; and 10.51 mm respectively. The inhibition of 70% ethanol extract of grape seed is greater than ethyl acetate extract. The results of the study can be used as reference for the potential development of grape seed as a medicinal or cosmetic (cosmetic-medical) ingredient for treating dental caries.

Keywords: Dental caries; Ethanol; Ethyl acetate; Streptococcus mutans; Vitis vinifera

PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut menjadi perhatian masyarakat luas, karena kesehatan gigi dan mulut merupakan salah satu unsur yang sangat penting untuk menunjang kesehatan tubuh. Persentase penduduk Indonesia yang mempunyai masalah gigi dan mulut menurut data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013 dan 2018 mengalami peningkatan dari 25,9% menjadi 57,6%. Beberapa permasalahan gigi dan mulut diantaranya adalah gigi berlubang, plak gigi, karies gigi dan penyakit jaringan periodontal [1,2].

Karies gigi merupakan penyakit multifaktorial yang terjadi karena adanya interaksi dari beberapa faktor, yaitu faktor penjamu, substrat, agen, dan waktu. Gigi dan saliva berperan sebagai faktor penjamu (*host*), karbohidrat sebagai substrat (makanan), dan yang berperan sebagai agen adalah mikroorganisme (bakteri) dari plak. Interaksi dari faktor-faktor tersebut secara bersamaan menyebabkan terjadinya karies. Salah satu bakteri yang secara umum dianggap sebagai agen utama penyebab karies gigi adalah *Streptococcus mutans* [3,4].

Streptococcus mutans merupakan salah satu bakteri Gram positif patogen penyebab karies yang menyebabkan korosi pada email gigi. *Streptococcus mutans* akan menguraikan karbohidrat yang dikonsumsi menjadi sukrosa yang merupakan media terbaik bagi pertumbuhan bakteri tersebut. *Streptococcus mutans* berperan penting dalam metabolisme sukrosa menjadi asam laktat yang dapat mengakibatkan demineralisasi email gigi. Bakteri ini merupakan bakteri yang paling utama sebagai penyebab awal terjadinya karies gigi [3,5].

Pengobatan untuk penyakit ini adalah dengan pemberian antibiotik. Akan tetapi, terapi ini diketahui menimbulkan masalah karena dapat menekan sistem imun, menimbulkan alergi, dan terjadi resistensi [6]. Senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan diketahui memiliki berbagai mekanisme untuk melawan infeksi bakteri. Hal ini memicu pengembangan penemuan antibakteri baru dari tumbuhan [7].

Buah anggur (*Vitis vinifera* L.) dikenal karena mengandung berbagai senyawa polifenol dan resveratrol yang berperan aktif dalam berbagai metabolisme tubuh [8]. Sekitar 60-70% polifenol terdapat pada biji anggur. Pemanfaatan dan pengembangan senyawa polifenol pada biji anggur telah banyak dilakukan untuk terapi kanker dan antioksidan, padahal biji anggur juga berpotensi sebagai antimikroba [9]. Penelitian kami sebelumnya

telah menunjukkan ekstrak biji anggur dapat menghambat pertumbuhan fungi *Candida albicans* dan *Trichophyton mentagrophytes* [10,11]. Selain terhadap fungi, ekstrak biji anggur juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Propionibacterium acnes* [12,13]. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dari biji anggur yang diekstrak menggunakan pelarut etanol 70% dan etil asetat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan untuk pengembangan potensi biji anggur sebagai bahan obat atau kosmetik (kosmetik-medik) penanganan karies gigi.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: *vacuum rotary evaporator*, *waterbath*, oven (Mettler), *Laminar Air Flow* (LAF), *blender* (Philips), timbangan analitik (Excellent), *hot plate stirrer* (B-One), *aluminium foil* (Klin Pak), jangka sorong (Kenmaster), mikroskop (Olympus), autoklaf (Hirayama), inkubator (Mettler), batang pengaduk, vortex (Barnstead), cawan Petri, tabung reaksi (Pyrex), rak tabung, *Beaker glass* (Iwaki), Erlenmeyer (Iwaki), labu ukur (Iwaki), pipet mikro (VWR dan Pippette), pinset (GOOI), jarum ose, kain kasa, kapas, kertas perkamen, pipet tetes, vial, pembakar spiritus, cawan penguap, gelas ukur (Pyrex).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Mueller Hinton Agar* (Oxoid), *blank disc* (Oxoid), cakram antibiotik siprofloksasin 5 µg (Oxoid), DMSO 100%, etanol 70% (Brataco), aquadest (Brataco), pereaksi Bouchardat, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendroff, FeCl₃ (Merck), amoniak (Merck), NaNO₂ (Merck), asam asetat anhidrat (Merck), kloroform (Merck), HCl (Merck), eter, H₂SO₄ (Merck), larutan NaCl fisiologis 0,9%, minyak imersi (Gargille), larutan kristal violet (Merck), larutan iodine (Merck), larutan safranin. Buah anggur (*Vitis vinifera* L.) diperoleh dari Pasar Induk Kramat Jati, Jakarta Timur. Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 31987 diperoleh dari Departemen Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

Metode Penelitian

Pengolahan Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.)

Biji anggur dipisahkan dari buahnya, dicuci dengan air hingga bersih. Biji selanjutnya disortasi basah dan dikeringkan. Proses pengeringan dilakukan selama tujuh hari dengan cara kering-angin. Biji yang telah kering, digiling menggunakan blender hingga menjadi serbuk, lalu diayak dengan mesh 60 untuk mendapatkan serbuk yang homogen [13].

Ekstraksi Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.)

Proses ekstraksi biji anggur dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk simplisia biji anggur dimaserasi dengan perbandingan simplisia dan pelarut sebesar 1:10. Maserasi menggunakan pelarut etil asetat dilakukan dengan menimbang 50 g serbuk simplisia, sedangkan untuk etanol digunakan sebanyak 87 g serbuk simplisia. Setiap pelarut dilakukan maserasi selama 24 jam dengan pengadukan setiap 6 jam, kemudian filtrat disaring. Setelah penyaringan, dilakukan proses remaserasi dengan cara merendam sisa penyaringan dengan pelarut yang baru. Remaserasi dilakukan sebanyak dua kali. Selanjutnya filtrat hasil maserasi dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator*, kemudian diuapkan di atas *waterbath* hingga dihasilkan ekstrak kental biji anggur [12,13].

Penapisan Fitokimia Biji Anggur (*Vitis vinifera* L.)

Penapisan fitokimia dilakukan berdasarkan *Materia Medica Indonesia* [14] dan Pandey & Tripathi [15]. Penapisan meliputi uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid.

Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Pembuatan suspensi bakteri *Streptococcus mutans* dilakukan dengan cara biakan bakteri uji yang telah dilakukan peremajaan diambil sebanyak 1-2 ose yang kemudian disuspensikan ke dalam 5 mL larutan NaCl fisiologis steril 0,9%. Suspensi dihomogenkan dengan vortex lalu disesuaikan kekeruhannya larutan standar Mc. Farland 3 (9×10^8 CFU/mL). Suspensi bakteri tersebut diencerkan hingga diperoleh koloni sekitar sejumlah 9×10^7 CFU/mL [12].

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Biji Anggur

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi cakram. Suspensi bakteri *S. mutans* sebanyak 0,1 ml dipipet lalu dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi Mueller Hinton Agar (MHA) dan dihomogenkan dengan batang L agar suspensi bakteri tersebar secara merata. Setelah media dan suspensi bakteri mengering, kertas cakram steril dimasukkan ke dalam cawan petri dan ditetesi larutan uji sebanyak 20 µl, masing-masing percobaan dengan konsentrasi larutan uji 5%, 10%, 20%, dan 40%. Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin dan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 100%. Hasil inokulasi tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, lalu diamati zona bening yang terbentuk di sekitar cakram. Zona bening yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong sebagai nilai Diameter Daya Hambat (DDH) [16,17].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi

Ekstraksi bertujuan untuk menarik senyawa metabolit sekunder dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstrak diperoleh dengan metode maserasi karena merupakan metode yang sederhana dan cocok untuk senyawa-senyawa bersifat termolabil, seperti flavonoid, saponin dan tanin [18,19].

Pemilihan pelarut juga merupakan hal yang penting dalam ekstraksi. Salah satunya adalah sifat toksisitas dan target senyawa yang akan diekstrak [20]. Pelarut yang digunakan dalam penelitian adalah etil asetat dan etanol 70%. Etil asetat merupakan pelarut dengan toksisitas rendah yang bersifat semi polar, sedangkan alkohol merupakan pelarut polar yang umum digunakan dalam ekstraksi material tumbuhan. Pelarut golongan alkohol yang umum digunakan dalam ekstraksi adalah metanol dan etanol. Penelitian ini memilih etanol sebagai pelarut karena memiliki toksisitas yang lebih rendah dibandingkan metanol [19,21]. Berdasarkan studi literatur, biji anggur diketahui mengandung banyak senyawa polifenol. Pelarut terbaik untuk mengesktrak senyawa polifenol adalah pelarut berbasis alkohol seperti etanol 70%. Selain itu, dilaporkan juga bahwa etil asetat juga cocok untuk menarik senyawa-senyawa polifenol dari tumbuhan [22].

Hasil maserasi dengan pelarut etil asetat diperoleh ekstrak sebanyak 1,20 g dengan nilai rendemen sebesar 2,4%. Hasil maserasi dengan etanol 70% diperoleh ekstrak sebanyak 35,3 g dengan nilai rendemen sebesar 40,57%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa etanol 70% menghasilkan rendemen ekstrak lebih tinggi dibandingkan etil asetat. Hasil ini sesuai

dengan penelitian kami sebelumnya yang juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% memiliki nilai rendemen lebih tinggi dari ekstrak etil asetat [12]. Hasil ini juga sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa semakin tinggi tingkat kepolaran dari pelarut maka daya ekstraksi akan semakin optimal, sehingga rendemen yang diperoleh semakin meningkat [23]. Etanol merupakan pelarut yang lebih polar jika dibandingkan dengan etil asetat. Hasil perhitungan rendemen dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil rendemen ekstrak etil asetat dan etanol 70% biji anggur

Ekstrak	Berat Simplisia (g)	Berat Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
Etil asetat	50	1,2	2,4
Etanol 70%	87	35,3	40,57

Hasil Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dari biji anggur. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil penapisan fitokimia serbuk dan ekstrak biji anggur

Kandungan Kimia	Hasil pemeriksaan biji anggur		
	Serbuk	Ekstrak etanol 70%	Ekstrak Etil Asetat
Alkaloid	(-)	(-)	(-)
Flavonoid	(+)	(+)	(-)
Saponin	(+)	(+)	(-)
Tanin	(+)	(+)	(+)
Triterpenoid	(+)	(+)	(+)

Keterangan :

(-) = Tidak mengandung senyawa yang diidentifikasi; (+) = Mengandung senyawa yang diidentifikasi

Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol 70% dan serbuk biji anggur menunjukkan hasil yang sama, yaitu positif terhadap senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid. Hasil ekstrak etil asetat menunjukkan hasil yang berbeda, yaitu hanya positif terhadap senyawa tanin dan triterpenoid (Tabel 2). Pemulihan peningkatan perolehan senyawa fitokimia yang terkandung dalam tanaman kemungkinan dipengaruhi oleh konstanta dielektrik, struktur kimia pelarut organiknya dan juga tentunya dipengaruhi oleh sifat kimia dari senyawa metabolit/fitokimia pada tanaman itu sendiri [24]. Konstanta dielektrik dari suatu pelarut dapat menjadi parameter untuk menentukan kepolaran dari pelarut. Etanol memiliki konstanta dielektrik sebesar 24,5, sedangkan konstanta dielektrik dari etil asetat adalah 6,0. Semakin tinggi konstanta dielektrik maka kepolaran suatu pelarut itu juga meningkat, sehingga dalam proses ekstraksi, senyawa -senyawa polar akan lebih banyak terekstrak dengan etanol sedangkan untuk senyawa semipolar hingga nonpolar akan lebih banyak berada dalam fraksi etil asetat [25].

Hasil positif flavonoid dan tanin pada ekstrak etanol menunjukkan kesesuaian dengan literatur yang menyatakan bahwa pelarut alkohol lebih banyak menarik senyawa-senyawa polifenol [26]. Flavonoid dan tanin tergolong dalam senyawa polifenol [7]. Tanin merupakan suatu senyawa polifenol yang memiliki berat molekul besar yang terdiri dari gugus hidroksi dan karboksil. Senyawa tanin terdiri dari dua jenis, yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis [27]. Tanin yang mudah terhidrolisis merupakan polimer *gallic* atau *ellagic acid* yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi

merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon [28,29]. Keberadaan gugus hidroksil dan gugus karboksil, yang merupakan gugus polar, menyebabkan meningkatnya kepolaran pada senyawa polifenol, baik flavonoid maupun tanin. Karakteristik molekul yang demikian, memungkinkan pelarut polar seperti etanol 70% mampu mengekstrak senyawa polifenol, secara optimal.

Etil asetat merupakan pelarut semi polar, sehingga dapat menarik senyawa-senyawa golongan fenolik seperti flavonoid, tanin dan golongan terpenoid, yang termasuk kelompok semipolar [30]. Kelompok senyawa fenolik yang dapat ditarik oleh pelarut semipolar, umumnya merupakan golongan tanin yang terkondensasi, sedangkan golongan terpenoid, umumnya akan berada dalam *range* senyawa nonpolar hingga semipolar. Hal ini dapat terlihat dari struktur kimia senyawa golongan terpenoid, yang dibentuk dari kerangka isoprene, yang hanya terdiri dari struktur karbon-karbon. Akan tetapi, senyawa golongan terpenoid, triterpen atau steroid, dapat meningkat kepolarannya jika membentuk suatu glikosida, contohnya saponin, yang merupakan glikosida dari triterpenoid, mampu larut dalam air ataupun pelarut organik polar lainnya

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Pada penelitian ini metode yang digunakan adalah metode difusi cakram. Metode difusi cakram dipilih karena merupakan salah satu metode yang cepat, mudah, sederhana serta pengerjaan dan hasil yang didapatkan cukup teliti. Pada uji aktivitas antibakteri ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera* L.) terhadap *Streptococcus mutans* dibuat dengan menggunakan konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 40%, kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin dan kontrol negatif DMSO 100%. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak biji anggur terhadap *S. mutans* dicantumkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Diameter Daya Hambat (DDH) ekstrak etil asetat dan etanol 70% biji anggur terhadap *Streptococcus mutans*

No	Pelarut	Diameter Daya Hambat (mm)					
		Konsentrasi				Kontrol	
		5%	10%	20%	40%	(+)	(-)
1.	Etil Asetat	7,72	8,50	9,64	10,51	28,70	0
2.	Etanol 70%	8,46	8,91	9,89	11,04	28,91	0

Keterangan: Kontrol (+) Siprofloksasin; Kontrol (-) DMSO 100%

Berdasarkan data pada Tabel 3, tampak bahwa kedua ekstrak dari konsentrasi terendah (5%) hingga tertinggi (40%) memiliki aktivitas terhadap *S. mutans*. Nilai DDH dari kedua ekstrak menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak, semakin besar pula DDH yang diperoleh. Hal ini terjadi karena konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi, memiliki senyawa aktif yang semakin banyak [31]. Nilai DDH dari ekstrak etanol 70% tampak lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etil asetat. Hal ini kemungkinan disebabkan karena ekstrak etanol 70% mengandung senyawa metabolit yang lebih banyak dibandingkan ekstrak etil asetat. Semakin banyak zat aktif yang terekstrak maka akan semakin besar peluang untuk mendapatkan senyawa antimikroba, sehingga nilai zona hambat yang dihasilkan lebih besar [32]. Hasil ini juga sesuai dengan penelitian kami terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* yang menunjukkan bahwa daya hambat ekstrak biji anggur dengan pelarut etanol 70% lebih besar dibandingkan dengan ekstrak dari etil asetat [12].

Biji anggur mengandung beberapa kelompok senyawa yang berfungsi sebagai antibakteri, diantaranya adalah flavonoid, tanin, saponin, serta golongan terpenoid [33]. Senyawa-senyawa tersebut dapat memberikan efek yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan bakteri [34]. Flavonoid memiliki aktivitas untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mendenaturasi protein yang menyebabkan terhentinya aktivitas metabolisme sel bakteri, dengan terhentinya aktivitas metabolisme mengakibatkan kematian pada sel. Flavonoid lipofilik dapat membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga mengganggu integritas membran sel bakteri [33,35-36]. Tanin diduga dapat mengerutkan dinding sel sehingga mengganggu permeabilitas sel bakteri [35]. Selain itu, tanin diduga mengganggu kerja DNA gyrase, yaitu enzim yang berperan dalam replikasi DNA [37]. Golongan senyawa terpenoid diduga dapat merusak dinding sel bakteri dengan jalan mengganggu komponen petidoglikan sel bakteri. Hal tersebut menyebabkan lapisan dinding sel mengalami kerusakan, hingga sel bakteri menjadi lisis dan mengalami kematian [35]. Saponin diduga memiliki aktivitas antibakteri karena zat aktif pada saponin mirip detergen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. Rusaknya membran sel ini akan mengganggu kelangsungan hidup bakteri [33].

KESIMPULAN

Ekstrak etanol dan etil asetat biji anggur dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Ekstrak etanol memiliki nilai daya hambat lebih besar dibandingkan ekstrak etil asetat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kemenristekdikti yang telah memberikan dana hibah pada skema Penelitian Dosen Pemula 2019 (PDP) No. 42/AKM/MONOPNT/2019, sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Kementerian Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. RISKESDAS 2013: Riset Kesehatan Dasar 2013. [Diakses 3 Mei 2021]. Tersedia dari: <https://pusdatin.kemkes.go.id/resources/download/general/Hasil%20Risikesdas%202013.pdf>
- [2] Kementerian Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Hasil Utama RISKESDAS 2018. [Diakses 3 Mei 2021]. Tersedia dari: <https://www.litbang.kemkes.go.id/hasil-utama-risikesdas-2018/>
- [3] Forssten SD, Björklund M, Ouwehand AC. *Streptococcus mutans*, caries and simulation models. *Nutrients*. 2010;2(3):290–298. <https://doi.org/10.3390/nu2030290>
- [4] Zhao W, Xie Q, Bedran-Russo AK, Pan S, Ling J, Wu CD. The preventive effect of grape seed extract on artificial enamel caries progression in a microbial biofilm-induced caries model. *Journal of Dentistry*. 2014;42(8):1010–1018. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2014.05.006>
- [5] Khodadadi E, Moghadamnia AA, Rajabnia R, Khafri S, Zarei R. The effect of different *Vitis vinifera* seed extracts on *Streptococcus mutans* and *Sobrinus* bacteria. *Journal of Dentomaxillofacial Radiology, Pathology and Surgery*. 2019;8(1):1-15.

- [6] Paul RK, Dutta D, Chakraborty D, Nayak A, Dutta PK, Nag M. Antimicrobial agents from natural sources: An overview. *Advance Pharmaceutical Journal*. 2019;4(2):41-51.
- [7] Sadeek AM, Abdallah EM. Phytochemical compounds as antibacterial agents: A mini review. *Saudi Arabia Glob J Pharmaceu Sci*. 2019;7(4):001-006. doi: 10.19080/GJPPS.2019.07.555720.
- [8] Georgiev V, Ananga A, Tsoлова V. Recent advances and uses of grape flavonoids as nutraceuticals. *Nutrients*. 2014;6:391-415.
- [9] Krithika V, Naik R, Pragalyaashree. Functional properties of grape (*Vitis vinifera*) seed extract and possible extraction techniques - A review. *Agri. Review*. 2015;36 (4):313-320.
- [10] Fadillah CY, Al-Mukholladun AW, Syafriana V. Aktivitas antifungi ekstrak etanol biji anggur (*Vitis vinifera* L.) terhadap *Candida albicans*. *Sainstech Farma*. 2017;10(1):25-29.
- [11] Syafriana V, Hamida F, Puspita D, Haryani F, Nanda EV. Aktivitas antifungi ekstrak etanol biji anggur terhadap *Malassezia furfur* dan *Trichophyton mentagrophytes*. *Bioma*. 2020a;16(1):21-30.
- [12] Syafriana V, Hamida F, Damayanti R, Nanda EV. Aktivitas antibakteri ekstrak biji anggur (*Vitis vinifera* L.) terhadap *Streptococcus pyogenes*. *Sainstech Farma*. 2020b;13(1):40-44.
- [13] Syafriana V, Hamida F, Nanda EV, Laili N, Aslamiyah. Aktivitas antibakteri ekstrak n-heksana dan etanol biji anggur terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acnes*. *Prosiding Seminar Nasional Biologi di Era Pandemi COVID-19*; 19 September; Gowa, Indonesia. Indonesia: UIN Alaudin Makassar. 2020c.
- [14] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta. 1995. p. 333-337.
- [15] Pandey A, Tripathi S. Concept of standardization, extraction and pre-phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2014;2(5):115-119.
- [16] Hogg S. *Essential Microbiology*. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd. 2005. p. 367—368.
- [17] Hudzicki J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. American Society for Microbiology. 2016. [diakses pada 26 Agustus 2018]. Available at: <https://asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287-0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf>
- [18] Azwanida NN. A review on the extraction methods use in medicinal plants. *Principle, Medicinal & Aromatic Plants*. 2015;4(3):1-6.
- [19] Zhang Q-W, Lin L-G, Ye W-C. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chin Med*. 2018;13(20):1-26.
- [20] Velavan S. Phytochemical Techniques - A Review. *World Journal of Science and Research*. 2015;1(2):80-91
- [21] Joshi DR, Adhikari N. An Overview on common organic solvents and their toxicity. *Journal of Pharmaceutical Research International*. 2019;June:1–18. doi: 10.9734/jpri/2019/v28i330203.

- [22] Sultana B, Anwar F, Ashraf M. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*. 2009;14(6):2167–2180. <https://doi.org/10.3390/molecules14062167>.
- [23] Noviyanty A, Salingkat CA. Pengaruh jenis pelarut terhadap ekstraksi dari kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Kovalen*. 2019;5(3):271–279.
- [24] Felhi S, Daoud A, Hajlaoui H, Mnafigui K, Gharsallah N, Kadri A. Solvent extraction effects on phytochemical constituents profiles, antioxidant and antimicrobial activities and functional group analysis of *Ecballium elaterium* seeds and peels fruits. *Food Science and Technology*. 2017;37(3):483–492. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.23516>
- [25] Buchari ET, Sulaeman A. Pengaruh pelarut dan temperatur terhadap transport europium (III) melalui membran cair berpendukung. *Jurnal Matematika dan Sains*. 2003;8(4):155.
- [26] Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction: A review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*. 2011;1(1):98-106.
- [27] Sari PP, Rita WS, Puspawati NM. Identifikasi dan uji aktivitas senyawa tanin dari ekstrak daun trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr) sebagai antibakteri *Escherichia coli* (*E. coli*). *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*. 2015;9(1):27-34.
- [28] Waghorn GC, McNabb WC. Consequences of plant phenolic compounds for productivity and health of ruminants. *Proc. Nutr. Soc.* 2003;62:383-392.
- [29] Aguilera-Carbo A, Augur C, Prado-Barragan LA, Favela-Torres E, Aguilar CN. Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2008;78(2):189–199. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1276-2>
- [30] Ratnaningtyas NI, Purnomowati P, Purwati ES, Septiana AT, Ekowati N, Supriyadi A. Antioxidant potential of ethanol and ethyl acetate extract of *Ganoderma* sp. mycelium. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*. 2018;10(1):87-94.
- [31] Dewi S, NYRS Assegaf S, Natalia D. Efek ekstrak etanol daun kesum (*Polygonum minus* Huds.) sebagai antifungi terhadap *Trichophyton rubrum*. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2019;8(2):198–203. Retrieved from <http://jurnal.fk.unand.ac.id>
- [32] Lingga AR, Pato U, Rossi E. Uji antibakteri ekstrak batang kecombrang (*Nicolaia speciosa* Horan) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JOM Faperta*. 2016;3(1):1-15.
- [33] Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999;12(4):564 – 582.
- [34] Fitriah, Mappiratu, Prismawiranti. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun tanaman johar (*Cassia siamea* Lamk.) dari beberapa tingkat kepolaran pelarut. *Jurnal Riset Kimia*. 2017;3(3):249.
- [35] Ibrahim A, Kuncoro. Identifikasi metabolit sekunder dan aktivitas antibakteri ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap beberapa bakteri patogen. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*. 2012;2(1):8-18.
- [36] Górniak I, Bartoszewski R, Króliczewski J. Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews*. 2019;18(1):241–272. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9591-z>
- [37] Khameneh B, Iranshahy M, Soheili V, Bazzaz BSF. Review on plant antimicrobials: A mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*. 2019;8:1-28.