

Potensi Pasta Gigi Ekstrak Etanol Biji Hijau Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus Mitis*

The Potential of Toothpaste Containing Ethanol Extract of Green Robusta Coffee Beans (*Coffea Canephora*) in Inhibiting the Growth of *Streptococcus Mitis*

Miftakhur Rizki, Melok Aris Wahyukundari, Depi Praharani

Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember
Correspondence email to: sholehah.melok@gmail.com

Received: 30 Jan 2024; Revised: 15 Oct 2024; Accepted: 22 Nov 2024; Published: 28 Nov 2024

ABSTRAK

Streptococcus mitis merupakan salah satu bakteri primer pembentuk plak gigi yang memiliki *wall-associated adhesin* untuk perlekatan dan kolonisasi. Plak gigi yang terus terakumulasi menyebabkan penyakit infeksi seperti penyakit periodontal dan karies. Untuk pencegahan akumulasi plak, dilakukan kegiatan kontrol plak, salah satunya dengan menyikat gigi menggunakan pasta gigi. Pasta gigi mengandung berbagai bahan aktif termasuk bahan antibakteri. Ekstrak etanol biji hijau kopi robusta (*Coffea canephora*) memiliki kandungan antibakteri seperti kafein, trigonelin, asam klorogenat, flavonoid, saponin, dan terpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi pasta gigi dengan ekstrak etanol biji hijau kopi robusta konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% dalam menghambat pertumbuhan *S. mitis*. Jenis penelitian yaitu penelitian eksperimental laboratorium *in vitro* dengan rancangan *the post-test-only control group design*. Uji antibakteri dilakukan dengan *agar disk-diffusion test* pada media yang diinokulasi bakteri *S. mitis* dengan 5 kelompok sampel dan 4 kali pengulangan. Pengukuran zona hambat setelah 24 jam inkubasi. Data kemudian dianalisis menggunakan uji Kruskal Wallis, uji Mann Whitney, dan uji Regresi Linear Sederhana dan diperoleh hasil $p < 0,05$ pada ketiganya. Disimpulkan bahwa pasta gigi yang mengandung ekstrak etanol biji hijau kopi robusta memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan *S. Mitis*. Semakin tinggi ekstrak yang diformulasikan pada pasta gigi, makin besar pula zona hambat yang dihasilkan.

Kata Kunci: Biji hijau kopi robusta, *Streptococcus mitis*, Pasta gigi

ABSTRACT

Streptococcus mitis, a primary plaque-forming bacterium, employs wall-associated adhesins for attachment and colonization, contributing to the accumulation of dental plaque and subsequent oral infections such as periodontal disease and dental caries. Plaque control measures, such as tooth brushing with toothpaste, are essential for preventing plaque accumulation. Toothpaste contains various active ingredients, including antibacterial agents. Ethanol extract of green robusta coffee beans (*Coffea canephora*) rich in antibacterial components such as caffeine, trigonelline, chlorogenic acid, flavonoids, saponins, and terpenoids. This study aimed to analyze the potential of toothpaste containing ethanol extract of green robusta coffee beans at concentrations of 12.5%, 25%, and 50% in inhibiting the growth of *S. mitis*. The research utilized an *in vitro* experimental laboratory research with a post-test-only control group design. The study utilizes agar disk-diffusion tests on media inoculated with *S. mitis* to determine the antibacterial activity. Five sample groups with four repetitions each are examined, measuring inhibition zones after 24 hours of incubation. The data were then analyzed using the Kruskal-Wallis test, Mann-Whitney test, and Simple Linear Regression test, with results showing $p < 0.05$ for all tests. It was concluded that toothpaste containing 12.5%, 25%, and 50% ethanol extract of robusta green coffee beans have the potential to inhibit the growth of *S. mitis*. Moreover, the higher the extract formulated in the toothpaste, the larger the inhibition zone produced.

Keywords: Robusta coffee beans, *Streptococcus mitis*, Toothpaste

PENDAHULUAN

Plak gigi adalah biofilm, yang dalam konteks klinis merujuk pada substansi terstruktur yang bersifat elastis, memiliki warna yang cenderung kuning keabuan, yang melekat pada permukaan gigi, restorasi cekat, ataupun restorasi lepasan. Plak gigi terdiri dari koloni mikroorganisme yang terikat erat dalam matriks interseluler. Jika plak gigi terus mengalami akumulasi tanpa pembersihan yang memadai, dampaknya dapat menyebabkan timbulnya penyakit infeksi di dalam rongga mulut, seperti karies dan penyakit periodontal.¹

Proses inisiasi terbentuknya plak gigi dimulai dengan perlekatan awal bakteri koloni primer, yang menjadi inisiator pembentukan plak, yakni *Streptococcus mitis*. *S. mitis* merupakan bakteri anaerob fakultatif gram positif berbentuk bulat dengan susunan berantai, yang menunjukkan kemampuannya dalam menginisiasi pembentukan plak melalui *wall-associated adhesins* yang mendukung proses perlekatan awal dan kolonisasi.^{1,2}

Perlekatan awal bakteri ini dimulai dengan melakukan adhesi pada permukaan gigi melalui interaksi dengan pelikel saliva. Setelah terlekat pada permukaan gigi, bakteri tersebut memiliki kemampuan untuk berikatan dengan bakteri-bakteri lain (ko-adhesi), menginduksi pembentukan mikrokoloni, dan akhirnya mengalami maturasi menjadi struktur plak yang matang.¹ Dalam perkembangannya, ikatan ini terus berlanjut hingga terbentuk ikatan dengan bakteri patogen periodontal, seperti *Porphyromonas gingivalis*. *P. gingivalis* disebutkan memiliki peluang proliferasi cepat dengan susunan biofilm yang dibentuk oleh *S. mitis*.³ *S. mitis* juga dihubungkan dengan patogenesis karies gigi karena kemampuannya dalam memfermentasi substrat (polysachharida) menjadi asam.⁴

Pencegahan akumulasi plak dilakukan dengan kegiatan kontrol plak, baik secara mekanis atau kimiawi. Salah satu kegiatan kontrol plak mekanis adalah dengan menggosok gigi, yang dalam praktiknya dibantu dengan penggunaan pasta gigi. Pasta gigi memiliki kandungan bahan-bahan aktif yang membantu pembersihan plak seperti bahan abrasif, surfaktan, dan bahan antibakteri.⁵ Belakangan ini, berbagai upaya pengembangan terhadap bahan antibakteri yang bersumber dari tumbuhan terus bermunculan, yang dikenal sebagai bahan

herbal. Salah satu contoh bahan herbal yang dikenal dengan kemampuan antibakterinya adalah biji hijau kopi robusta.⁶

Biji hijau kopi robusta yang telah diekstrak dengan etanol diketahui memiliki kandungan bahan aktif yang memiliki sifat antibakteri antara lain kafein, trigonelin, asam klorogenat, flavonoid, terpenoid, dan saponin.^{7,8} Biji hijau kopi robusta juga memiliki kandungan bahan aktif seperti senyawa fenolik, kafein, dan asam klorogenat yang lebih tinggi daripada biji kopi robusta yang sudah di-*roasting* dan memiliki kemampuan lebih baik dalam menghambat bakteri *S. mutans*.^{9,10} Ekstrak etanol biji hijau kopi robusta yang diformulasikan pada pasta gigi diketahui memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*.¹¹

Bakteri *S. Mitis* merupakan bakteri primer dalam pembentukan koloni bakteri pada plak gigi. Hingga kini belum ditemukan informasi mengenai daya hambat pasta gigi mengandung ekstrak etanol biji hijau kopi robusta terhadap pertumbuhan *S. Mitis*. Hal ini merupakan aspek kebaruan penelitian ini sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian ini dengan tujuan untuk mengetahui potensi dan kemampuan pasta gigi yang mengandung ekstrak etanol biji hijau kopi robusta dalam menghambat pertumbuhan *S. Mitis*.

METODE PENELITIAN

Dalam penelitian ini digunakan beberapa variasi konsentrasi ekstrak etanol biji kopi robusta yang sudah diformulasikan pada pasta gigi, yaitu 12,5%, 25%, dan 50% pada penelitian ini, dengan pendekatan eksperimen *in vitro*, dan menerapkan desain penelitian *the post-test-only control group*. Pelaksanaan penelitian dilakukan dalam rentang waktu Agustus hingga Desember 2023, di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember untuk identifikasi tanaman, Laboratorium Biologi Farmasi dan Laboratorium Farmasetika, Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk pembuatan ekstrak dan pasta gigi mengandung ekstrak etanol biji hijau kopi robusta, serta Research Center di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga untuk pengujian potensi antibakteri. Pada penelitian ini menggunakan kontrol positif yaitu pasta gigi

herbal komersial (*Pepsodent C8 Herbal*) dan kontrol negatif (pasta plasebo tanpa penambahan ekstrak). Kelompok sampel terdiri dari kelompok K(+) (kontrol positif), K(-) (kontrol negatif), 12,5% (perlakuan dengan kandungan ekstrak 12,5%), 25% (perlakuan dengan kandungan ekstrak 25%), dan kelompok 50% (perlakuan dengan kandungan ekstrak 50%). Penentuan jumlah sampel dalam penelitian ini mengacu pada rumus Daniel, yang menghasilkan 4 pengulangan pada setiap kelompok sampel.

Pembuatan ekstrak etanol biji hijau kopi robusta dilakukan dengan metode maserasi. Biji hijau kopi robusta kering 1 kg yang diperoleh dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, Jember, digiling dengan mesin penggiling kopi hingga berbentuk serbuk halus dan dimaserasi dengan larutan etanol 96% dengan perbandingan 1 : 5 selama 3 hari dan diaduk 2x sehari pada pagi dan sore hari. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring dan dipisahkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C menghasilkan ekstrak berkonsentrasi 100%.

Pembuatan pasta gigi pada tiap konsentrasi dilakukan dengan mencampurkan ekstrak etanol biji hijau kopi robusta dengan pasta plasebo. Pasta plasebo dibuat sebanyak 100 gram dengan mencampurkan bahan dasar pasta gigi sesuai Tabel 1.¹²

Tabel 1. Formulasi pasta plasebo¹²

Bahan	Jumlah
Magnesium Karbonat	26%
Kalsium Karbonat	29%
Gliserin	6%
Propilen Glikol	8%
Trietanolamin	4%
Akuades Steril	25%
Oleum Menthae Piperithae	2%

Pembuatan pasta gigi yang mengandung ekstrak etanol biji hijau kopi robusta dengan konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50%, dilakukan dengan mencampurkan pasta plasebo dengan ekstrak etanol biji hijau kopi robusta dengan masing-masing konsentrasi dibuat sebanyak 10 gram. Pasta plasebo dibuat dengan mencampurkan bahan-bahan dasar yang bersifat eksipien untuk pasta gigi yang tidak memiliki efek antibakteri.

Tahapan pengujian antibakteri dimulai dengan inokulasi bakteri pada media

uji, dimulai dengan menyiapkan petridish berukuran 110 mm yang telah berisi media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan sudah diberi label. Bakteri *S. mitis* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Research Center FKG Universitas Airlangga. Suspensi *S. mitis* (0,5 Mc Farland) ditetaskan pada swab steril 1 ml menggunakan syringe.

Bakteri kemudian diinokulasikan dengan metode *streak plate*, yaitu dengan menggoreskan swab steril berisi 1 ml suspensi *S. mitis* (0,5 McFarland) ke seluruh permukaan media agar. Goresan atau *streak* dilakukan sebanyak 3 kali dan pada setiap pengulangan dilakukan putaran 60° dan ditunggu hingga permukaan media mengering. Selanjutnya, dilakukan perlakuan pada kertas cakram. Kertas cakram direndam pada setiap kelompok sampel yang sudah dihomogenkan selama 15 menit pada masing-masing kelompok sampel. Setelah selesai, kertas cakram diletakkan pada media MHA yang sudah diinokulasikan *S. mitis* di daerah sesuai label. Petridish lalu ditutup dan dibalik, lalu dilakukan inkubasi secara anaerob pada suhu 37°C menggunakan *gas pack* dan dilakukan pengamatan setelah 24 jam.

Pengukuran zona hambat dilakukan dengan menghitung diameter vertikal dan horizontal dengan jangka sorong digital. Jika ukuran zona hambat mengalami *overlap*, maka perhitungan zona hambat dilakukan dengan mengukur sisi yang tidak *overlap* lalu dikalikan 2 untuk mendapatkan diameter zona hambat.¹³ Hasil penambahan diameter vertikal dan diameter horizontal dijumlahkan, dan dibagi dua lalu dikurangi dengan diameter kertas cakram. Data dari 5 pengulangan perlakuan yang diperoleh lalu dirata-rata. Rumus untuk menghitung diameter daya hambat adalah:

$$d = \frac{a + b}{2} - x$$

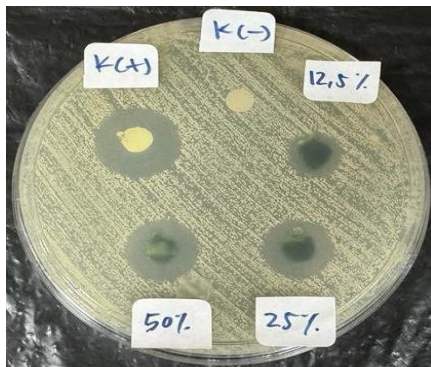
(a: diameter vertikal; b: diameter horizontal; dan x: diameter kertas cakram)

Analisis statistik terhadap data hasil eksperimen dilakukan uji normalitas yaitu uji Shapiro Wilk dan uji homogenitas yaitu uji Levene. Kemudian dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis dan uji Mann Whitney untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan signifikan pada kelompok sampel. Untuk menetapkan apakah terdapat hubungan linear

antara konsentrasi ekstrak dan daya hambat yang dihasilkan, dilakukan uji Regresi Linear Sederhana.

HASIL

Potensi pasta gigi yang diformulasikan dengan ekstrak etanol biji hijau kopi robusta dalam menghambat pertumbuhan *S. mitis* diuji dengan metode agar disk diffusion test / metode difusi cakram. Zona hambatan pasta gigi yang mengandung ekstrak etanol biji hijau kopi robusta terhadap pertumbuhan bakteri *S. mitis* diukur berdasarkan pengamatan pada daerah zona bening di sekitar kertas cakram. Zona bening menunjukkan bahwa pada daerah tersebut tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Daerah zona hambat berupa zona bening dapat dilihat pada Gambar 1.



Keterangan :

K (+) : Kontrol positif (pasta gigi herbal komersial, pepsodent C8 herbal)

K (-) : Kontrol negatif (pasta plasebo)

12,5% : Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 12,5%

25% : Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 25%

50% : Pasta gigi ekstrak biji kopi robusta konsentrasi 50%

Gambar 1. Zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram

Hasil pengukuran menunjukkan rata-rata diameter zona hambat dari terbesar hingga terkecil adalah kelompok K+ yaitu sebesar $19,41 \pm 0,65$ mm, kelompok P50% sebesar $15,95 \pm 0,77$ mm, kelompok P25% sebesar $13,48 \pm 0,11$ mm, dan kelompok P12,5% sebesar $10,13 \pm 0,23$ mm. Pada kelompok K- tidak terdapat adanya zona hambat yaitu ditandai dengan tidak ada zona bening di sekitar kertas cakram. Nilai rata-rata dan standar deviasi zona hambat pasta gigi yang mengandung ekstrak etanol biji hijau kopi robusta terhadap bakteri *S. mitis* dapat dilihat pada Tabel 2 berikut:

Tabel 2. Rata-rata zona hambat dan standar deviasi pasta gigi ekstrak etanol biji hijau kopi robusta terhadap bakteri *S. mitis*

No.	Kelompok Sampel	N	Rata-rata $\pm$ SD (mm)	%
1	K (+)	4	$19,41 \pm 0,65$	100%
2	K (-)	4	$0,00 \pm 0,00$	0%
3	12,5%	4	$10,13 \pm 0,23$	52,19%
4	25%	4	$13,48 \pm 0,11$	69,45%
5	50%	4	$15,95 \pm 0,77$	82,17%

Selanjutnya dilakukan uji statistik dari hasil yang telah diperoleh. Pada uji Kruskal Wallis diperoleh hasil $p < 0,05$ sehingga diketahui bahwa terdapat signifikan pada seluruh kelompok sampel, dan pada uji Mann Whitney diperoleh hasil $p < 0,05$ yang berarti ada perbedaan yang signifikan baik antara kelompok perlakuan ataupun kelompok kontrol. Berdasarkan hasil uji statistik tersebut, diketahui pasta gigi yang mengandung ekstrak etanol biji hijau kopi robusta memiliki potensi dan kemampuan dalam menghambat *S. mitis*.

PEMBAHASAN

Pasta gigi yang mengandung ekstrak etanol biji hijau kopi robusta dapat menghambat pertumbuhan *S. mitis* karena mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat antibakteri seperti kafein, trigonelin, asam klorogenat, flavonoid, saponin, dan terpenoid.^{7,8}

Biji hijau kopi robusta memiliki kandungan kafein sebesar 1,82 mg/gram.¹⁴ Kemampuan antibakteri dari kafein disebabkan karena pada senyawa kafein terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen. Kafein akan menembus dinding sel bakteri dan gugus basa akan berinteraksi dan berikatan dengan asam amino yang terdapat pada DNA bakteri yang menyusun inti sel.¹⁵ Hal ini menyebabkan terjadinya kerusakan pada susunan rantai DNA yang mengarah pada mutasi. Kerusakan susunan rantai DNA ini menyebabkan lisis inti sel yang berakibat kerusakan sel bakteri.^{16, 17, 18}

Trigonelin juga merupakan salah satu senyawa yang berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri.¹⁹ Biji kopi robusta diperkirakan memiliki kandungan trigonelin sebesar 1,18% dari berat keseluruhannya.²⁰ Trigonelin dapat menghambat pertumbuhan

bakteri dengan mengganggu keseimbangan membrane plasma yang menyebabkan terjadinya ketidakstabilan fungsi metabolisme bakteri yang mendorong terjadinya kerusakan dan kematian bakteri.²¹

Asam klorogenat memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri.²² Asam klorogenat dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan merusak struktur membran sel sehingga menyebabkan kebocoran metabolit intraseluler dan memicu inaktivasi sel bakteri.²³ Selain itu, asam klorogenat memiliki mekanisme untuk menurunkan sintesis protein subunit ribosom yang terlibat pada biosintesis protein sehingga memengaruhi DNA sel bakteri dan enzim-enzim yang berfungsi untuk metabolisme sel sehingga berakibat pada kematian sel. Asam klorogenat juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanismenya menurunkan kadar ROS (*Reactive Oxygen Species*) intraseluler pada bakteri.²⁴ ROS intraseluler berfungsi untuk mempertahankan homeostasis normal sel. Penurunan ROS dapat mengganggu homeostasis redoks dan menyebabkan kematian sel dengan memengaruhi jalur sinyal intraseluler.²⁵

Flavonoid memiliki peran penting dalam menghambat pertumbuhan bakteri.²⁶ Biji kopi robusta memiliki kandungan flavonoid sebesar 7,3-7,5 gram/100 gram. Senyawa flavonoid bekerja dengan cara memanfaatkan perbedaan sifat kepolaran antara lipid pada dinding sel bakteri dan gugus fenol pada flavonoid untuk merusak dinding sel dan memungkinkan senyawa tersebut masuk ke dalam inti sel bakteri. Selain itu, senyawa flavonoid juga memiliki kemampuan menghambat bakteri melalui 3 mekanisme yaitu menghambat dan mengganggu sintesis asam nukleat dengan menghambat aktivitas enzim gyrase melalui interkalasi ke dalam DNA, menghambat metabolisme energi dengan mengubah struktur membran sel dan sitoplasma dalam bakteri yang berakibat pada gangguan nutrisi dan metabolit yang akhirnya menghambat pasokan energi untuk bakteri, serta dengan menghambat dan mengganggu fungsi membran plasma sel yaitu dengan membentuk senyawa protein ekstraseluler.²⁷ Senyawa lain yang

memiliki aktivitas antibakteri adalah saponin dan terpenoid. Saponin disebutkan mempunyai kemampuan menghambat bakteri pada macam-macam jenis bakteri Gram positif seperti *S. aureus*, *S. epidermis*, dan *Bacillus cereus*. Mekanisme aktivitas antibakteri saponin yaitu dengan mendegradasi dinding sel bakteri yang kemudian diikuti dengan gangguan membran plasma dan protein membran, yang mengakibatkan terjadinya kebocoran sel.²⁸ Terpenoid memiliki mekanisme antibakteri yaitu dengan mendestruksi membran sel, mengganggu sistem komunikasi antar sel, dan menghambat sintesis protein sel bakteri.²⁹

Hasil uji Regresi Linear Sederhana diperoleh nilai signifikansi $p < 0,05$ yang berarti terdapat hubungan linear antara variabel bebas yaitu konsentrasi ekstrak yang diformulasikan pada pasta gigi dan variabel terikat yaitu potensi daya hambat yang dihasilkan. Hal tersebut menggambarkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol biji hijau kopi robusta yang diformulasikan pada pasta gigi, semakin besar pula hambatan yang dihasilkan pada pertumbuhan bakteri. Hal tersebut diduga disebabkan oleh jumlah kandungan senyawa aktif yang lebih besar pada konsentrasi yang lebih tinggi sehingga menghasilkan daya hambat bakteri yang lebih besar. Hal ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Wulandari *et al.*, 2023, yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diformulasikan ke pasta gigi, semakin besar daya hambat yang dihasilkan.¹¹

Kelompok sampel kontrol negatif, yaitu pasta plasebo, tidak dihasilkan daerah zona bening di sekitar kertas cakram, yang artinya tidak ada kemampuan pasta tanpa bahan aktif tersebut dalam menghambat pertumbuhan *S. mitis*. Hal ini terjadi karena pasta plasebo hanya terdiri dari bahan-bahan dasar pasta yaitu antara lain magnesium karbonat, kalsium karbonat, gliserin, propilen glikol, tea (triethanolamin), akuades steril, dan oleum menthae piperithae.²⁸ Pada kelompok sampel kontrol positif, yaitu pasta gigi komersial Pepsodent Complete 8 Herbal, menghasilkan zona bening dengan diameter paling besar karena selain mengandung bahan aktif herbal, yaitu ekstrak jeruk nipis, daun

sirih, dan garam, kelompok sampel ini juga mengandung bahan aktif lain yang memiliki sifat antibakteri seperti sodium lauryl sulfate (SLS), sodium monofluorophosphate, dan sodium chloride.²⁹

Hasil penelitian ini terdapat beberapa limitasi. Pertama, bakteri yang diuji terbatas pada strain *S. mitis*, sesuai stok di laboratorium mikrobiologi Research Center Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, sehingga tidak dapat merepresentasikan bakteri *S. mitis* secara general. Selain itu, juga belum ada penelitian lebih dalam mengenai mekanisme antibakteri senyawa pada biji hijau kopi robusta yang terkhusus pada *S. mitis*.

SIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pasta gigi yang mengandung ekstrak etanol biji hijau kopi robusta memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan *S. Mitis* hingga 82% dibandingkan dengan sampel kontrol positif. Berdasarkan penelitian ini, semakin tinggi ekstrak yang diformulasikan pada pasta gigi, maka semakin besar pula zona hambat yang dihasilkan.

SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai biokompatibilitas pasta gigi ekstrak etanol biji hijau kopi robusta terhadap jaringan di rongga mulut serta penelitian lebih lanjut pasta gigi yang mengandung ekstrak etanol biji hijau kopi robusta secara in vivo dan klinis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Newman MG, Takei. Henry H, Klokkevold PR, Carranza FA. Newman and Carranza's Clinical Periodontology; 2019.
2. Mitchell J. *Streptococcus mitis* : walking the line between commensalism and pathogenesis. Mol Oral Microbiol. 2011;26(2):89–98.
3. Gordon M. The Role Of Streptococci in Oral Periodontitis: Growth and Disruption of Yellow Complex Bacteria [MSc Thesis]. Canada Qld: Wilfrid Laurier University; 2020.
4. Zhou X, Li Y. Oral Mucosal Microbes. In: Atlas of Oral Microbiology. Elsevier; 2015. p. 95–107.
5. Saroch N. A textbook of Periodontics and Implantology. India: Periobasics publication; 2019.
6. Wijaya W, Ridwan RD, Budi HS. Antibacterial Ability of Arabica (Coffea arabica) and Robusta (Coffea canephora) Coffee Extract on Lactobacillus acidophilus. Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi). 2017;49(2):99-103
7. Rubinadzari N, Sulfiani Saula L, Rahmawati Utami M, Studi Farmasi P, Ilmu Kesehatan F, Singaperbangsa Karawang U. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Hijau dan Sangrai Kopi Robusta (Coffea canephora L.) Serta Kombinasinya Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus. Jurnal Ilmu Kefarmasian. 2022;3(2):221-230.
8. Wigati EI, Pratiwi E, Nissa TF, Utami NF. Uji Karakteristik Fitomia dan Aktivitas Antioksidan Biji Kopi Robusta (Coffea canephora Pierre) dari Bogor, Bandung dan Garut dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi. 2019 May 30;8(1):53–9.
9. A. Norazlin, A. Muhammad-Adib, W.A.R. Wan-Razarinah, S. Roohinejad, M. Koubaa, S. Raseetha. Antioxidant and antimicrobial activity of green and roasted coffee beans on human oral pathogens. Food Res. 2023 Nov 11;7(Supplementary 4):130–8.
10. Gupta S, Potdar G, Jain K, Jethwa K, Thakkar V, Ram S, et al. Antimicrobial effects of green and roasted beans of Coffee robusta and Coffee arabica on Streptococcus mutans – An in vitro comparative study. Journal of Indian Association of Public Health Dentistry. 2023;21(1):27-33.
11. Wulandari A, Arina YMD, Pujiastuti P. Daya Hambat Pasta Gigi yang Mengandung Ekstrak Biji Kopi Robusta (Coffea canephora) terhadap Pertumbuhan Bakteri Porphyromonas gingivalis. Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes. 2023;4(1):31–6.
12. Nanda Prasasti R, Sandra Sari D, Puji Astuti P. The Effectiveness Of Using Toothpaste Containing Robusta Coffee



- Bean Extract In Inhibiting The Formation Of Dental Plaque. ODONTO Dental Journal. 2022;9(1):12-20.
13. Hudzicki J. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol [Internet]. 2009. Available from: www.atcc.org
 14. Davila C, Sîrbu R. Determination of Caffeine Content in Arabica and Robusta Green Coffee of Indian Origin. European Journal of Natural Sciences and Medicine. 2021;4(1):69–79.
 15. Chung, Woo-Hyun. Pleiotropic effects of caffeine leading to chromosome instability and cytotoxicity in eukaryotic microorganisms. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2021, 31.2: 171.
 16. Suryanti E, Dwi Retnowati, Muhammad Eka Prastya, Novita Ariani, Indri Yati, Vera Permatasari, et al. Chemical Composition, Antioxidant, Antibacterial, Antibiofilm, and Cytotoxic Activities of Robusta Coffee Extract (*Coffea canephora*). Hayati. 2023 Mar 6;30(4):632–42.
 17. Sari S, Fakhurrazi, Abrar M, AK MD. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner. 2022;6(1):30–5.
 18. Whitney AK, Weir TL. Interaction of caffeine with the SOS response pathway in *Escherichia coli*. Gut Pathog. 2015 Aug 18;7:21. doi: 10.1186/s13099-015-0069-x. PMID: 26288658; PMCID: PMC4539924.
 19. de Almeida SA, Ferracane JL, da Silva EM, Mushashe AM, Merritt J, Rocha AA, et al. Antimicrobial potential of resin matrices loaded with coffee compounds. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2021 Mar 25;109(3):428–35.
 20. Maheswari RA, Krismariono A, Bargowo L. Daya Hambat Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Pertumbuhan Bakteri Plak. Periodontic Journal. 2015;7(2):16–20.
 21. Dianastri RrNT, Astuti P, Prasetya RC. Daya Hambat Ekstrak Biji Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) terhadap Bakteri *Porphyromonas gingivalis* (in vitro). STOMATOGNATIC - Jurnal Kedokteran Gigi. 2021 Oct 11;18(2):69.
 22. Lou Z, Wang H, Zhu S, Ma C, Wang Z. Antibacterial Activity and Mechanism of Action of Chlorogenic Acid. J Food Sci. 2011 Aug 2;76(6).
 23. Wang L, Pan X, Jiang L, Chu Y, Gao S, Jiang X, et al. The Biological Activity Mechanism of Chlorogenic Acid and Its Applications in Food Industry: A Review. Front Nutr. 2022 Jun 29;9.
 24. Le YJ, He LY, Li S, Xiong CJ, Lu CH, Yang XY. Chlorogenic acid exerts antibacterial effects by affecting lipid metabolism and scavenging ROS in *Streptococcus pyogenes*. FEMS Microbiol Lett. 2022 Aug 8;369(1).
 25. Dharmaraja AT. Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in Therapeutics and Drug Resistance in Cancer and Bacteria. J Med Chem. 2017 Apr 27;60(8):3221–40.
 26. Echeverría J, Opazo J, Mendoza L, Urzúa A, Wilkens M. Structure-Activity and Lipophilicity Relationships of Selected Antibacterial Natural Flavones and Flavanones of Chilean Flora. Molecules. 2017 Apr 10;22(4):608.
 27. Xie Y, Yang W, Tang F, Chen X, Ren L. Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. Curr Med Chem. 2014 Nov 26;22(1):132–49.
 28. Dong S, Yang X, Zhao L, Zhang F, Hou Xue P. Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. Ind Crops Prod. 2020 Jul;149:112350.
 29. Huang W, Wang Y, Tian W, Cui X, Tu P, Li J, et al. Biosynthesis Investigations of Terpenoid, Alkaloid, and Flavonoid Antimicrobial Agents Derived from Medicinal Plants. Antibiotics. 2022 Oct 9;11(10):138-45

