

## AKTIVITAS ANTIMIKROBA SELULOSA BAKTERI TERMODIFIKASI EKSTRAK TUMBUHAN

### ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF BACTERIAL CELLULOSE MODIFIED WITH PLANT EXTRACTS

Riza Apriani\*, Nina Utami

Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Garut,  
Jalan Jati No. 42B, Tarogong Kaler, Kabupaten Garut, Indonesia

\*Corresponding Author : aprianiriza@uniga.ac.id

Submitted: 04 Maret 2023

Accepted: 26 Mei 2023

Publish: 30 Mei 2023

#### ABSTRAK

Selulosa bakteri (BC) banyak diaplikasikan di berbagai sektor seperti industri kosmetik, biomedis dan pengemasan. Namun, BC tidak memiliki aktivitas antimikroba dan perlu dimodifikasi dengan agen antimikroba, salah satunya dengan ekstrak tanaman. Artikel *review* ini bertujuan untuk mengkaji informasi terkait aktivitas antimikroba BC yang telah dimodifikasi dengan penambahan beberapa ekstrak tanaman, baik dengan metode *in-situ* maupun *ex-situ*. Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu *systematic literature review*. Artikel diperoleh dari jurnal publikasi internasional yang termasuk ke dalam kategori Q1 sampai Q3 pada penerbitan 10 tahun terakhir. Berdasarkan hasil penelusuran, jenis tanaman yang telah digunakan untuk memodifikasi BC, di antaranya ekstrak temu-temuan, ekstrak etanol batang dan daun gwarri, daun oregano, daun rosemary, daun lovage, daun peterseli, daun teh hijau, kelopak rosella, bunga kembang sepatu varian merah dan merah muda, biji pare, daun gletang, kopi arabika, dan buah andaliman, ekstrak dimetil sulfoksida temu kunci, ekstrak NaOH daun murbei, ekstrak air kulit delima, daun teh hijau dan daun rosemary. Aktivitas antimikroba menunjukkan terdapat peningkatan yang paling signifikan pada BC yang dimodifikasi ekstrak etanol kelopak rosella pada konsentrasi 500 ppm dengan OD600 sampai 0% terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Analisis FTIR dan SEM dari BC murni dan BC yang diperkaya ekstrak tumbuhan menunjukkan perbedaan kandungan gugus fungsi dan struktur fibrillar jaringan tiga dimensi. Artikel *review* ini akan memberikan pandangan dan perspektif lebih lanjut pada modifikasi BC dan pengembangan ide-ide baru di bidang ini.

**Kata kunci :** Aktivitas antimikroba, ekstrak tanaman, selulosa bakteri

#### ABSTRACT

Bacterial cellulose (BC) is utilized in numerous industries, including the cosmetic, biomedical, and packaging industries. Nonetheless, BC lacks antibacterial activity and must be combined with antimicrobial agents, including plant extracts. This article aims to review information on the antibacterial activity of BC that has been modified by the addition of plant extracts, both by *in-situ* and *ex-situ* methods. The method used in this study is systematic literature review. Articles were selected from Q1-Q3 category international journals published within the recent decade. Based on the results, extracts of rhizomes, ethanol extracts of gwarri stems and leaves, oregano leaves, rosemary leaves, lovage leaves, parsley leaves, green tea leaves, rosella petals, and red and pink variants of hibiscus flowers, bitter melon seeds, gletang leaves, arabica coffee, and andaliman fruit, temu Kunci dimethyl sulfoxide extract, mulberry leaf NaOH extract, pomegranate skin water extract, and rosemary leaves have been used to modify BC. Antimicrobial activity showed the most significant increase in BC-modified ethanol extract of rosella petals at a concentration of 500 ppm with an OD600 of 0% against *Pseudomonas aeruginosa*. FTIR and SEM investigations of pure BC and BC modified with plant extracts revealed variations in functional group content and three-dimensional fibrillar network structure. This review article will provide further challenges and perspectives on BC modification and the development of new ideas in this field.

**Keywords :** Antimicrobial activity, bacterial cellulose, plant extract



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

## PENDAHULUAN

Selulosa bakteri (BC) adalah polisakarida ekstraseluler yang disintesis terutama oleh strain *Gluconacetobacter*, *Sarcina*, dan *Acetobacter*. Struktur BC mirip selulosa dari tumbuhan dengan rumus molekul  $(C_6H_{10}O_5)_n$  yang dibentuk oleh rantai linier monosakarida-D-glukosa yang dihubungkan oleh ikatan ( $\beta$ -1→4) glikosida [1]. Namun, bila dibandingkan dengan selulosa dari tanaman, BC memiliki keunggulan seperti kemurnian tinggi, bebas dari kandungan lignin, pektin, dan hemiselulosa, kristalinitas tinggi, serta biokompatibilitas yang sangat baik [2].

Karena sifatnya yang unik, BC banyak digunakan sebagai bahan baru dalam industri makanan, sebagai kemasan yang dapat dimakan, dan produk industri, seperti tekstil untuk mengembangkan fesyen [3]. Selain itu, selulosa bakteri dieksplorasi secara ekstensif untuk aplikasi biomedis seperti pembalut luka, rekayasa jaringan organ, organ sintesis, pembuluh darah buatan, pembawa obat dan beberapa lainnya [4]. Namun, dari banyaknya potensi pengaplikasian tersebut, BC memiliki keterbatasan dalam penggunaannya karena tidak memiliki aktivitas antimikroba, sehingga perlu dimodifikasi dengan beberapa agen antimikroba agar dapat diterapkan dalam aplikasi kesehatan dan lain-lain [2]. Material yang sangat umum digunakan untuk modifikasi BC yaitu ion logam. Logam perak merupakan logam yang paling sering digunakan sebagai komposit selulosa bakteri karena memiliki aktivitas antimikroba yang baik [5]. Beragam bentuk logam perak yang telah digunakan di antaranya dalam bentuk garam [6], terikat pada zeolit [7] atau montmorillonit [8] dan perak sulfadiazine [9]. Selain perak, logam lain juga telah dieksplorasi untuk memodifikasi selulosa bakteri, di antaranya seng dan seng oksida [9,10], serta titanium oksida [11,12]. Namun, penggunaan ion logam tergolong mahal dan dapat berbahaya bagi tubuh manusia [13,14]. Selain dengan logam, penggunaan agen antimikroba dengan penambahan polimer seperti kitosan [6] dan alginat [15] pun sudah banyak dilakukan. Walaupun memiliki keunggulan karena preparasi komposit selulosa bakteri-kitosan cukup sederhana, namun hasil aktivitas antimikroba kitosan cenderung ringan dan sulit mencapai efek antimikroba yang diinginkan [6]. Oleh karena itu, diperlukan strategi lain untuk memodifikasi BC yang melibatkan kombinasi dengan material lain yang lebih aman dan efektif.

Penambahan ekstrak tanaman dinilai lebih aman dengan efek toksitas yang minimal pada penggunaannya [17]. Terdapat beberapa ekstrak tanaman yang dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba, seperti tanaman yang kaya akan kandungan bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, terpen, dan berbagai senyawa fenolik [16]. Maka dari itu, perlu dilakukan studi literatur untuk menelusuri jenis tanaman yang memiliki aktivitas antimikroba paling tinggi setelah dikombinasikan dengan BC dan mengidentifikasi metode modifikasi BC dengan ekstrak tanaman serta mengidentifikasi karakteristik BC meliputi struktur morfologi permukaan yang diuji dengan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dan analisis gugus fungsi yang diperoleh dari spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR) pada BC murni dan BC yang diperkaya ekstrak tanaman pada penelitian-penelitian yang telah ada sebelumnya.

Manfaat dari *review* ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait pemanfaatan ekstrak tanaman sebagai pengembangan aktivitas antimikroba pada selulosa bakteri, serta karakterisasi selulosa bakteri hasil modifikasi dengan ekstrak tanaman.

## METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan dengan metode *systematic literature review*. Tahap perancangan dilakukan dengan menyusun rumusan masalah terlebih dahulu. Selanjutnya tahap pengumpuan data dilakukan dengan mengumpulkan artikel yang diperoleh dari penyedia jurnal di internet. Artikel yang digunakan merupakan artikel yang dipublikasikan pada jurnal internasional ber-ISSN serta telah terindeks scopus Q1 sampai Q3, dengan bantuan mesin pencari *Google Scholar* dan *Science Direct*. Artikel dicari dengan kata kunci “*Bacterial Cellulose*”, “*Antibacterial Activity*”, dan “*Plant Extract*”. Setelah diperoleh hasil pencarian, selanjutnya dilakukan penentuan artikel utama dan artikel penunjang. Kriteria artikel utama adalah artikel yang membahas secara intens mengenai aktivitas antibakteri ekstrak tumbuhan yang ditambahkan pada selulosa bakteri serta karakterisasinya menggunakan SEM dan FTIR. Selanjutnya dilakukan *screening* dengan seksama yang disesuaikan dengan rumusan masalah dan tujuan dari penelitian, sehingga dipilih 10 artikel sebagai acuan utama. Kemudian dilakukan pengambilan data mengenai cara pembuatan bakteri selulosa, metode pengembangan aktivitas antimikroba bakteri selulosa, hasil dari pengembangan tersebut dan karakteristik bakteri selulosa yang meliputi struktur morfologi permukaan, dan kandungan senyawa yang terdapat di dalamnya.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Metode Modifikasi Selulosa Bakteri

Modifikasi BC bertujuan untuk meningkatkan sifat dan memperluas aplikasi BC dalam berbagai bidang. Modifikasi dapat dilakukan dengan dua metode yaitu *ex situ* dan *in situ*. Pada modifikasi *ex situ* dilakukan setelah proses pemurnian BC dengan penyerapan bahan seperti ekstrak tanaman oleh matriks polimer BC. Sementara modifikasi *in situ*, ekstrak tanaman ditambahkan ke media kultur di awal produksi [1]. Dari 10 artikel acuan yang digunakan, 7 di antaranya menggunakan metode modifikasi *ex situ*, sedangkan 3 jurnal lainnya menggunakan metode modifikasi *in situ*.

**Tabel 1.** Jenis tanaman dan metode modifikasi BC yang digunakan

| <i>Ex situ</i>  | <i>In situ</i>  |
|---|---|
| ● Famili <i>Lamiaceae</i> : Oregano ( <i>Oreganum vulgare</i> ), Rosemari ( <i>Salvia rosmarinus</i> )        | ● Famili <i>Moraceae</i> : Murbei ( <i>Morus</i> )  |
| ● Famili <i>Apiaceae</i> : Lovage ( <i>Levisticum officinale</i> ), Peterseli ( <i>Petroselinum crispum</i> ) | ● Famili <i>Rutaceae</i> : Andaliman ( <i>Zanthoxylum acanthopodium</i> )   |
| ● Famili <i>Ebenaceae</i> : Gwarri ( <i>Euclea shimperei</i> )  | ● Famili <i>Theaceae</i> : Teh hijau ( <i>Camellia sinensis</i> )   |
| ● Famili <i>Theaceae</i> : Teh hijau ( <i>Camellia sinensis</i> )   | ● Famili <i>Malvaceae</i> : Rosella rosella ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> ), Kembang sepatu ( <i>H. rosasinensis</i> ) |
| ● Famili <i>Punicaceae</i> : Delima ( <i>Punica granatum</i> )  |   |
| ● Famili <i>Zingiberaceae</i> : Temu kunci ( <i>Boesenbergia notunda</i> )                                    |   |
| ● Famili <i>Cucurbitaceae</i> : Pare ( <i>Momordica charantia</i> )   |   |
| ● Famili <i>Asteraceae</i> : Gletang ( <i>Tridax procumbens</i> )   |   |
| ● Famili <i>Rubiaceae</i> : Kopi arabika ( <i>Coffea Arabica</i> )  |   |

Metode modifikasi BC secara *ex situ* lebih banyak digunakan dibandingkan metode *in situ* karena penyerapan ekstrak tanaman lebih sederhana dan lebih fleksibel daripada metode modifikasi *in situ*. Sementara untuk metode *in situ* terdapat hal yang harus diperhatikan yaitu penambahan bahan aditif di awal produksi yang dapat membatasi pertumbuhan serat fibril BC [1].

Metode *ex situ* dapat mengubah komposisi kimia dari BC dengan adanya penyerapan bahan aditif yang ditambahkan melalui pori BC, sedangkan metode modifikasi *in situ* hanya dapat mengubah sifat fisiko kimia, mekanik, dan morfologi dari BC dengan mempengaruhi pertumbuhan serat fibril BC. Berdasarkan hal tersebut metode modifikasi BC dapat disesuaikan dengan tujuan dari pengaplikasian BC selanjutnya. Salah satu pengaplikasian BC yaitu sebagai pembalut luka, selain harus memiliki sifat antimikroba untuk menghindari kontaminasi patogen, pembalut luka juga diharapkan dapat menyerap eksudat berlebih pada luka. Maka dari itu diperlukan mikro pori BC lebih banyak sehingga dapat menyerap eksudat tersebut [1].

### Analisis Aktivitas Antimikroba

Aktivitas antimikroba dari BC murni dan BC yang diperkaya ekstrak tanaman dianalisis terhadap pertumbuhan bakteri gram negatif, yaitu *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, dan fungi *Candida albicans*, dimana mikroba tersebut merupakan mikroba paling umum ditemukan pada luka [18]. Analisis dilakukan dengan beberapa metode uji, di antaranya metode difusi, metode *Optical density* (OD600), metode *Count Forming Unit* (CFU), metode *minimum inhibitory concentration* (MIC) dan *minimum bactericidal concentration* (MBC).

**Tabel 2.** Hasil aktivitas antimikroba

| Artikel         | Sampel  | Metode modifikasi   | Metode uji                       | Konsen trasi | <i>E. coli</i> | <i>S. typhimurium</i> | <i>P. aeruginosa</i> | <i>S. aureus</i>   | <i>B. cereus</i> | <i>C. albicans</i> | Hasil aktivitas antimikroba |  |
|-----------------|---|---------------------|----------------------------------|--------------|----------------|-----------------------|----------------------|--------------------|------------------|--------------------|-----------------------------|--|
|                 |   |                     |                                  |              |                |                       |                      |                    |                  |                    | Klasifikasi                 |  |
| Bodea dkk, 2022 | BC<br>BC + ekstrak etanol oregano ( <i>O.</i> | -<br><i>Ex Situ</i> | Difusi<br>(diameter zona hambat) | -<br>-       | R<br>R         | -<br>-                | -<br>-               | R<br>1,15 ± 0,5 mm | -<br>-           | R<br>R             | TA<br>L                     |  |

*vulgare)*

|                           |  |                |   |                |                              |                     |                 |   |    |
|---------------------------|--|----------------|---|----------------|------------------------------|---------------------|-----------------|---|----|
|                           | BC+<br>ekstrak<br>etanol<br>Rosemari<br>( <i>S.<br/>rosmarinus</i> ) | -              | R                                       | -              | -                            | 5,15 ±<br>0,5<br>mm | -               | R | L  |
|                           | BC+<br>ekstrak<br>etanol<br>Lovage ( <i>L.<br/>officinale</i> )      | -              | R                                       | -              | -                            | 2,15 ±<br>0,5<br>mm | -               | R | L  |
|                           | BC+<br>ekstrak<br>etanol<br>Peterseli ( <i>P.<br/>crispum</i> )      | -              | R                                       | -              | -                            | R                   | -               | R | TA |
| Fatima<br>dkk,<br>2021    | BC   | -              | -                                       | R              | -                            | -                   | R               | - | -  |
|                           | BC + ekstrak<br>etanol daun<br>gwarri ( <i>E.<br/>shimperi</i> )     | <i>Ex situ</i> | Difusi<br>(diamet<br>er zona<br>hambat) | R              | -                            | -                   | 2 mm            | - | -  |
| Moradia<br>n dkk,<br>2017 | BC   | -              | -                                       | R              | -                            | -                   | R               | - | -  |
|                           | BC +<br>ekstrak air<br>rosemary<br>( <i>S.<br/>rosmarinus</i> )      | <i>Ex situ</i> | Difusi<br>(diamet<br>er zona<br>hambat) | 25%<br><br>50% | 17,5<br>mm<br><br>20,5<br>mm | -                   | 20 mm           | - | -  |
|                           | BC+<br>ekstrak air<br>teh hijau<br>( <i>C.<br/>sinensis</i> )        |                |   | 25%            | 16 mm                        | -                   | 20 mm           | - | -  |
|                           | BC+<br>ekstrak air<br>kulit delima<br>( <i>P.<br/>granatum</i> )     |                |   | 50%            | 18 mm                        | -                   | 24 mm           | - | -  |
|                           | BC   | -              | -                                       | R              | R                            | R                   | R               | - | -  |
| Sajjad<br>dkk,<br>2020    | BC +<br>ekstrak<br>kurkumin  | <i>Ex situ</i> | Difusi<br>(diamet<br>er zona<br>hambat) | 15±0<br>mm     | 16±0<br>mm                   | 16,3±0<br>,4 mm     | 15,5±0<br>,4 mm | - | K  |
| Siddhan<br>dkk,<br>2016   | BC   | -              | -                                       | R              | -                            | -                   | R               | - | -  |
|                           | BC+<br>ekstrak<br>etanol pare<br>( <i>M.<br/>charantia</i> )         | <i>Ex situ</i> | Difusi<br>(diamet<br>er zona<br>hambat) | 24 mm          | -                            | -                   | 25 mm           | - | -  |
|                           | BC+<br>ekstrak<br>etanol<br>gletang ( <i>T.<br/>procumbens</i> )     |                |   | 20 mm          | -                            | -                   | 21 mm           | - | -  |
| Jonsiriv                  | BC   | -              | -                                       | R              | -                            | -                   | R               | - | -  |
|                           |  |                |   |                |                              |                     |                 |   | TA |

|                              |   |                |  |                |   |   |   |  |      |   |      |
|------------------------------|---|----------------|--|----------------|---|---|---|--|------|---|------|
| ilai dkk,<br>2022            | BC+<br>ekstrak<br>dimetil<br>sulfoksida<br>temu kunci<br>( <i>B.<br/>rotunda</i> )  | <i>Ex situ</i> | Mikrodi<br>lusi,<br>MIC<br>(konsen<br>trasi<br>ekstrak<br>mg/mL) | -              | 6,4 ±<br>0,00<br>mg/m<br>L  | - | - | <0,05±<br>0,00<br>mg/<br>mL  | -    | - | -    |
|                              |   |                | Mikrodi<br>lusi,<br>MBC<br>(konsen<br>trasi<br>ekstrak<br>mg/mL) | -              | 12,8 ±<br>0,00<br>mg/m<br>L   | - | - | <0,05±<br>0,0<br>mg/mL   | -    | - | -    |
|                              |   |                | Difusi<br>(diamet<br>er<br>inhibisi)                             | -              | Tidak<br>terlihat<br>zona<br>hamba<br>t<br>namun<br>memb<br>unuh<br>sel-sel<br>bakteri<br>yang<br>berada<br>dalam<br>kontak<br>dekat<br>denga<br>n disk | - | - | Tidak<br>terlihat<br>zona<br>hambat<br>namun<br>memb<br>unuh<br>sel-sel<br>bakteri<br>yang<br>berada<br>dalam<br>kontak<br>dekat<br>dengan<br>disk | -    | - | L    |
| Chen<br>dkk,<br>2019         | BC<br>BC+<br>ekstrak<br>NaOH daun<br>murbei<br>( <i>Morus</i> )                     | <i>In situ</i> | Difusi<br>(diamet<br>er zona<br>hambat)                          | -              | R   | - | - | R  | -    | - | TA   |
|                              |   |                | OD600<br>(%)<br>pertumb<br>uhan<br>mikroba<br>)                  | -              | Terdap<br>at area<br>bening<br>disekit<br>ar<br>cakra<br>m  | - | - | Terdap<br>at area<br>bening<br>disekit<br>ar<br>cakram   | -    | - | L    |
|                              |   |                |  | -              | 0,25 %<br>(6jam)<br>; 0,52<br>% (12<br>jam)   | - | - | 0,22 %<br>(6<br>jam);<br>0,43%<br>(12<br>jam)  | -    | - | -    |
| Gea<br>dkk,<br>2022          | BC<br>BC+<br>ekstrak<br>etanol<br>Andaliman<br>( <i>Z.<br/>acanthopod<br/>ium</i> ) | <i>In situ</i> | Difusi<br>(diamat<br>er zona<br>hambat)                          | -              | R   | - | - | R  | -    | - | TA   |
|                              |   |                |  | mL             | 0,53  | - | - | -  | 10,8 | - | L, S |
|                              |   |                |  |                | mm  |   |   |  | mm   |   |      |
| El-<br>wakil<br>dkk,<br>2019 | BC<br>BC + ektrak<br>etanol kopi<br>arabika<br>( <i>Coffea</i> )                    | <i>Ex situ</i> | CFU,<br>MIC (%)<br>inhibisi)                                     | 0,5 g<br>1,0 g | 18,29<br>%<br>39,51<br>%  | - | - | R  | -    | - | TA   |
|                              |   |                |  |                |   | - | - | 28,25<br>%   | -    | - | -    |
|                              |   |                |  |                |   | - | - | 63,38<br>%   | -    | - | -    |

|   |    |   |         |   |       |       |     |     |       |   |   |  |  |  |  |
|---|----|---|---------|---|-------|-------|-----|-----|-------|---|---|--|--|--|--|
| Indriani<br>ngsih<br>dkk,<br>2020   | BC | - | In situ | OD600<br>(%<br>pertumb<br>uhan<br>mikroba | 1,5 g | 79,27 | -   | -   | 80,28 | - | - |  |  |  |  |
|   |    |   |         |   | %     |       |     |     | %     |   |   |  |  |  |  |
|   |    |   |         |   | 2,0 g | 86,59 | -   | -   | 97,18 | - | - |  |  |  |  |
|   |    |   |         |   | %     |       |     |     | %     |   |   |  |  |  |  |
| <hr/>   |    |   |         |   |       |       |     |     |       |   |   |  |  |  |  |
| BC +<br>ekstrak<br>etanol Teh<br>hijau ( <i>C.<br/>sinensis</i> )           |    |   |         |   |       |       |     |     |       |   |   |  |  |  |  |
| 125<br>ppm  |    |   |         |   | 90%   | 90%   | 90% | 90% | -     | - |   |  |  |  |  |
| 500<br>ppm  |    |   |         |   | 35%   | 70%   | 50% | 35% | -     | - |   |  |  |  |  |
|   |    |   |         |   |       |       |     |     |       |   |   |  |  |  |  |
| 125<br>ppm  |    |   |         |   | 90%   | 90%   | 90% | 85% | -     | - |   |  |  |  |  |
| 500<br>ppm  |    |   |         |   | 15%   | 20%   | 0%  | 15% | -     | - |   |  |  |  |  |
|   |    |   |         |   |       |       |     |     |       |   |   |  |  |  |  |
| Rosella ( <i>H.<br/>sabdariffa</i> )  |    |   |         |   |       |       |     |     |       |   |   |  |  |  |  |
| 125<br>ppm  |    |   |         |   | 95%   | 97%   | 95% | 90% | -     | - |   |  |  |  |  |
| 500<br>ppm  |    |   |         |   | 70%   | 95%   | 60% | 88% | -     | - |   |  |  |  |  |
|   |    |   |         |   |       |       |     |     |       |   |   |  |  |  |  |
| Kembang<br>sepatu ( <i>H.<br/>rosasinensi</i><br>s) varian<br>merah         |    |   |         |   |       |       |     |     |       |   |   |  |  |  |  |
| 125<br>ppm  |    |   |         |   | 95%   | 97%   | 95% | 95% | -     | - |   |  |  |  |  |
| 500<br>ppm  |    |   |         |   | 90%   | 95%   | 60% | 90% | -     | - |   |  |  |  |  |
|   |    |   |         |   |       |       |     |     |       |   |   |  |  |  |  |
| Kembang<br>sepatu ( <i>H.<br/>Rosasinensi</i><br>s) varian<br>merah<br>muda |    |   |         |   |       |       |     |     |       |   |   |  |  |  |  |
| 125<br>ppm  |    |   |         |   | 95%   | 97%   | 95% | 95% | -     | - |   |  |  |  |  |
| 500<br>ppm  |    |   |         |   | 90%   | 95%   | 60% | 90% | -     | - |   |  |  |  |  |
|   |    |   |         |   |       |       |     |     |       |   |   |  |  |  |  |

Ket: R = resisten; TA = tidak ada; L = lemah; S = sedang; K = kuat; SK = sangat kuat.

Berdasarkan Tabel 2, diketahui bahwa ekstrak tanaman dapat meningkatkan aktivitas antimikroba pada selulosa bakteri (BC). Peningkatan aktivitas antimikroba yang paling signifikan untuk metode uji difusi dihasilkan dari ekstrak air kulit delima pada konsentrasi 50% dengan metode modifikasi *ex situ* yaitu zona hambat sebesar 31,52 mm untuk bakteri *S. aureus* dan 24,7 mm untuk bakteri *E. Coli*. Metode MIC menunjukkan konsentrasi minimum pada ekstrak dimetil sulfoksida temu kunci dengan metode modifikasi *ex situ* yaitu  $<0,05 \pm 0$  mg/mL terhadap bakteri *S. aureus* dan 6,4 mg/mL terhadap bakteri *E. coli*. Metode MBC menunjukkan hasil pada ekstrak dimetil sulfoksida temu kunci  $<0,05 \pm 0$  mg/mL terhadap bakteri *S. aureus* dan 12,8 mg/mL terhadap bakteri *E. coli*. Pengujian dengan metode OD600 menunjukkan persen (%) pertumbuhan mikroba terkecil pada ekstrak etanol rosella 500 ppm dengan metode modifikasi *in situ* yaitu 0% terhadap bakteri *P. aeruginosa*. Sementara BC murni tidak menunjukkan aktivitas antimikroba.

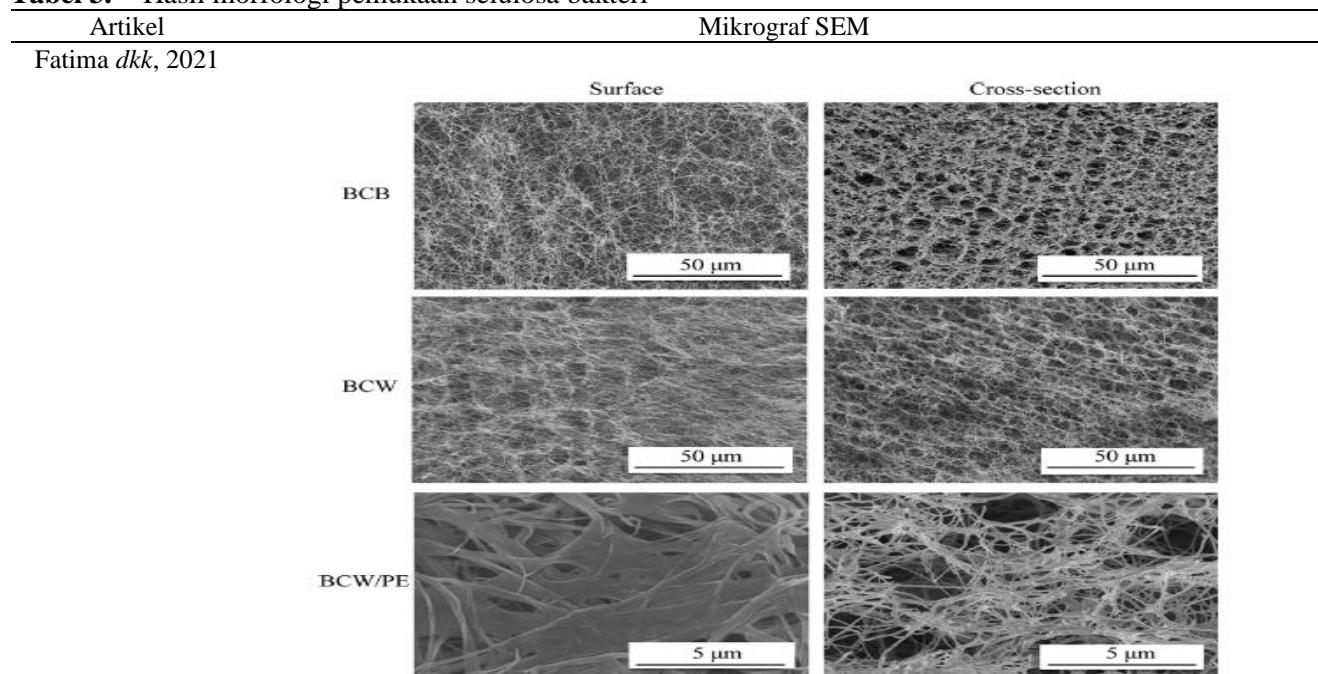
Aktivitas antimikroba ekstrak tanaman dikaitkan dengan fitokimianya. Ekstrak etanol rosella yang mempunyai aktivitas terbesar mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid sebagai antimikroba [19]. Diikuti oleh ekstrak air kulit delima karena kulit delima mengandung senyawa tanin, flavonoid, alkaloid, dan asam organik. Untuk kandungan senyawa flavonoid pada kulit delima diketahui sebagai catechin, epicatechin, epigallocatechin-3-gallate, flavan-3-ol, kaempferol, kaempferol-3-O-glucoside, kaempferol-3-O-rhamnoglucoside, luteolin, luteolin 7-O-glucoside, naringin, pelargonidin, prodelphinidin, quercetin dan rutin yang berperan sebagai antimikroba [20]. Selanjutnya, ekstrak dimetil sulfoksida temu kunci menghasilkan nilai MIC dan MBC paling potensial sebagai antimikroba karena kandungan minyak atsiri, flavonoid, boesenbergin, krachaizin, panduratin A, panduratin B, pinonstrobin, isoprenoid yang memberikan sifat antimikroba [21,22].

Dari data tersebut juga diketahui bahwa aktivitas antimikroba lebih efektif terhadap bakteri gram positif dibandingkan bakteri gram negatif. Selain karena dinding sel bakteri gram negatif lebih tebal, hal tersebut dikarenakan bakteri gram negatif dapat memproduksi enzim laktamase secara konstitutif, sementara bakteri gram positif memproduksi enzim laktamase karena adanya proses induksi dari antimikroba. Maka bakteri gram negatif

lebih resisten daripada bakteri gram positif. Enzim laktamase ini adalah enzim yang berfungsi untuk menginaktivasi antimikroba, sehingga antimikroba tidak dapat bekerja [23].

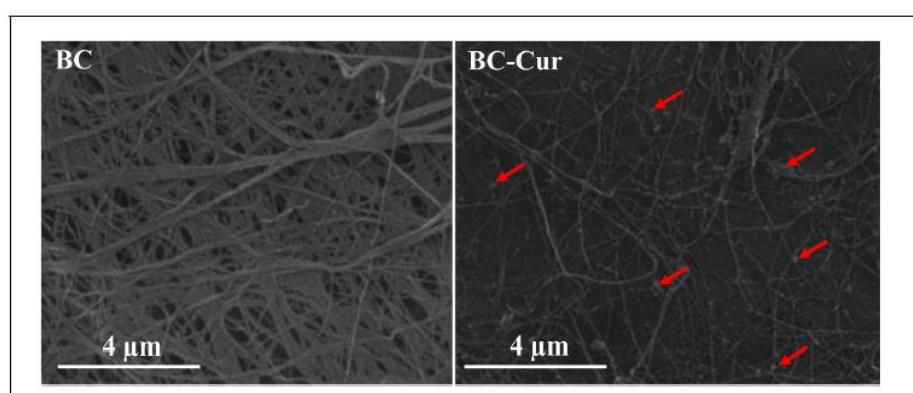
### Analisis Karakteristik Selulosa Bakteri

Tabel 3. Hasil morfologi pemukaan selulosa bakteri



Ket: BCB: BC dari media dasar; BCW: BC dari media tomat busuk; BCW/PE: BC ditambah ekstrak tanaman

Sajjad dkk, 2020



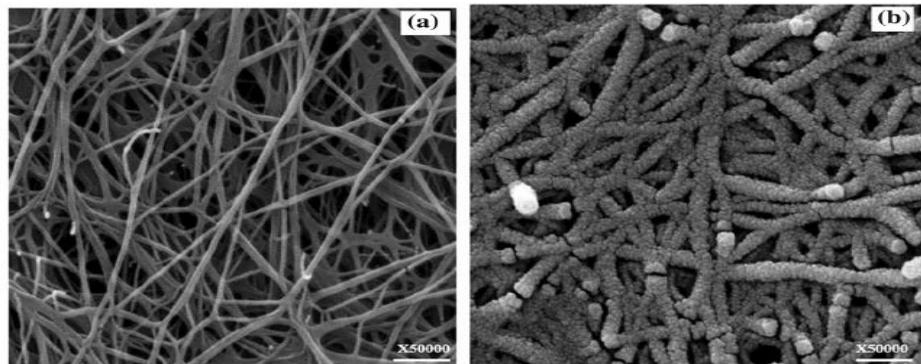
Ket: BC = BC murni; BC-Cur = BC diperkaya ekstrak kurkumin.

---

Artikel

Jonsirivilai dkk,  
2022

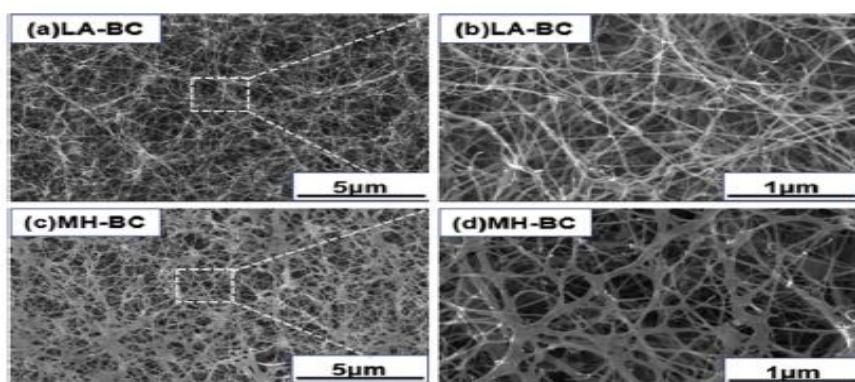
Mikrograf SEM



Ket: a) BC pembesaran X50000, b) BC-FT pembesaran X50000

---

Chen dkk, 2019

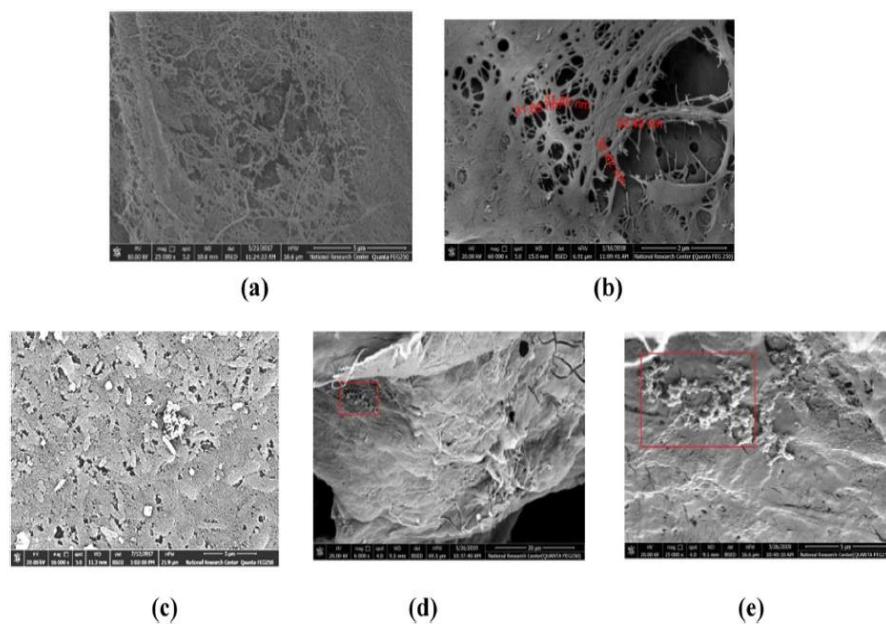


Ket: (a) LA-BC = BC murni (5  $\mu\text{m}$ ); (b) LA-BC = BC murni (1  $\mu\text{m}$ ); (c) MH-BC = BC diperkaya ekstrak murbei (5  $\mu\text{m}$ ); (d) MH-BC = BC diperkaya ekstrak murbei (1  $\mu\text{m}$ ).

Diameter serat LA-BC Gambar b sekitar 60 nm, dan yang dalam Gambar 3d adalah sekitar 200 nm.

---

El-wakil dkk, 2019



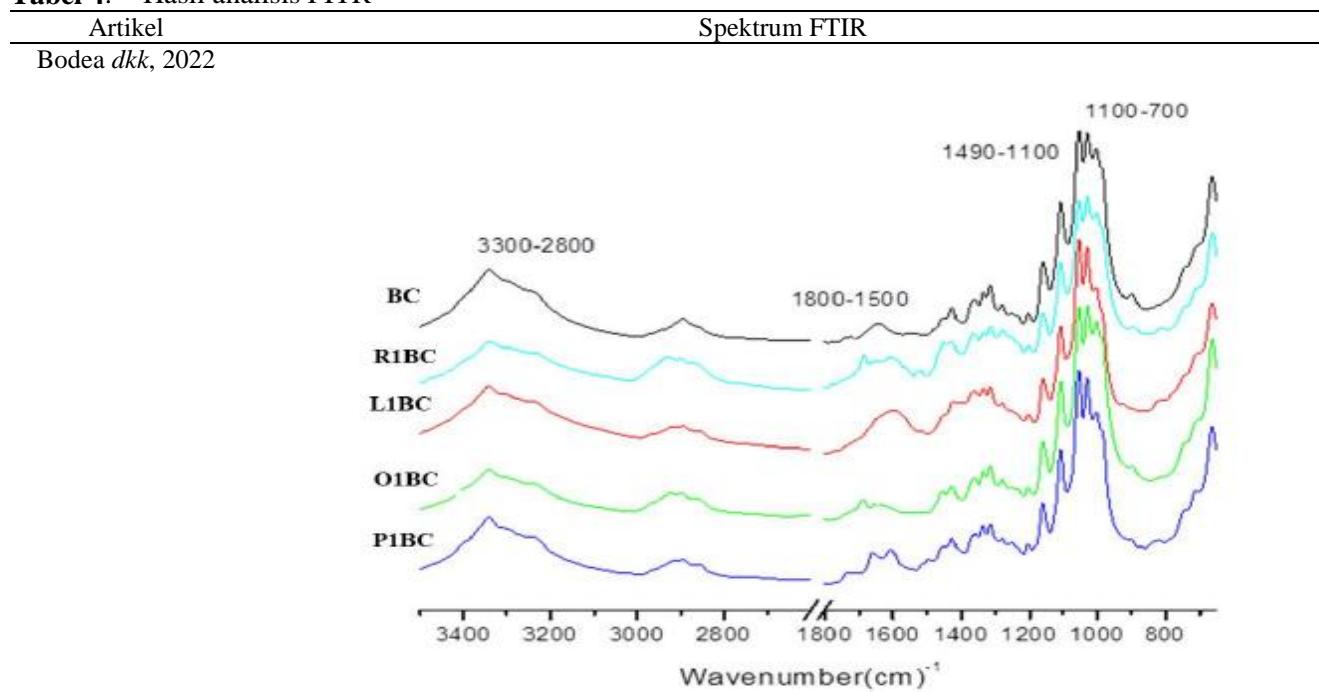
Ket: Permukaan KBC (kombucha BC) pada pembesaran berbeda (a,b), permukaan KBC/CE

---

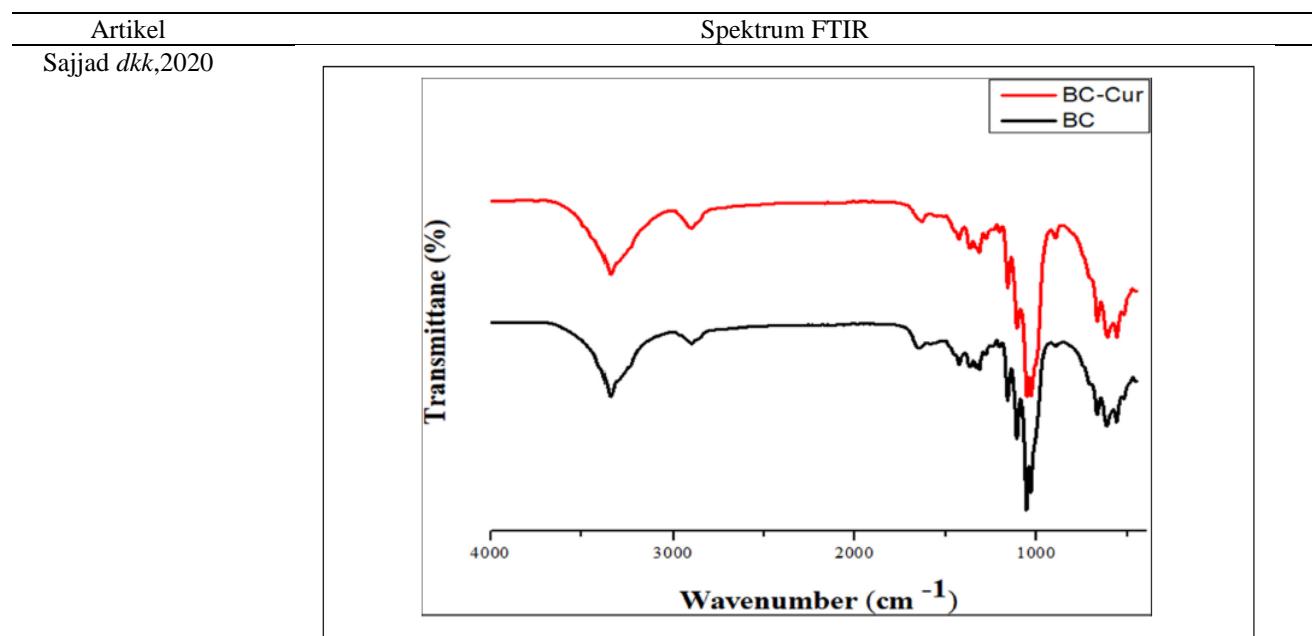
| Artikel | Mikrograf SEM   |
|---------|---|
|         | (Kombucha/Coffe extract) (c), penampang KBC/CE (kombucha BC/ coffee extract) pembesaran berbeda (d,e) |
|         | KBC terdiri dari nanofibers dengan diameter mulai dari 22 hingga 32 nm.                               |

Analisis morfologi permukaan menggunakan SEM dan FE-SEM menunjukkan bahwa BC terdiri dari serat fibril yang bertumpuk membentuk lapisan 3D. Selain itu, mikrograf serat BC juga menunjukkan jaringan berpori yang memungkinkan penyerapan bahan lain seperti ekstrak tanaman [24]. Dari data di atas diketahui bahwa karakteristik BC murni dan BC yang diperkaya ekstrak tanaman menunjukkan perbedaan dari serat fibrillarnya. Hasil mikrograf dari BC yang diperkaya ekstrak etanol gwarri [16], BC diperkaya ekstrak kurkumin [25], BC diperkaya dimetil sulfoksida temu kunci [21], dan BC diperkaya ekstrak etanol kopi [26] memperlihatkan keberhasilan impregnasi ekstrak tanaman yang menggunakan metode modifikasi *ex situ*, menunjukkan fibril selulosa ditutupi oleh partikel kecil ekstrak tanaman. Hasil yang sama juga ditunjukkan oleh BC yang ditambah ekstrak NaOH daun murbei melalui metode modifikasi *in situ*, ukuran serat BC-MH lebih besar yaitu 200 nm dibandingkan BC murni yang berukuran 60 nm [24].

**Tabel 4.** Hasil analisis FITR

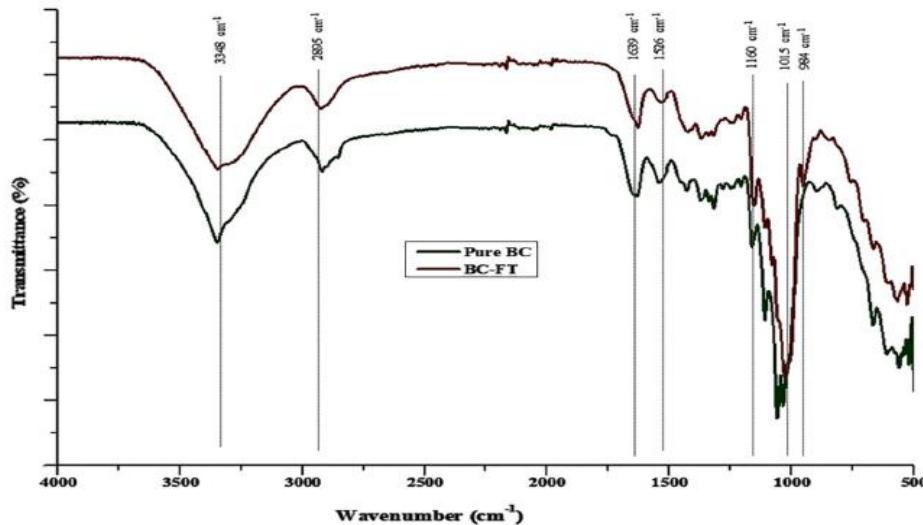


Ket: BC = BC murni; R1BC = BC diperkaya ekstrak rosemary; L1BC = BC diperkaya ekstrak lovage; O1BC = BC diperkaya ekstrak oregano; P1BC = BC diperkaya ekstrak peterseli.  
1800 – 1500  $\text{cm}^{-1}$ : C-C , C=O aromatik  
1514  $\text{cm}^{-1}$ : C=C fenol  
1490 – 1100  $\text{cm}^{-1}$ : CH<sub>2</sub>, C=C, CH<sub>3</sub>, COO-, C-H, C-O-C



Ket: BC = BC murni; BC-Cur = BC diperkaya ekstrak kurkumin  
1512 – 1518  $\text{cm}^{-1}$  : aromatik cincin benzen kurkumin

Jonsirivilai dkk,  
2022

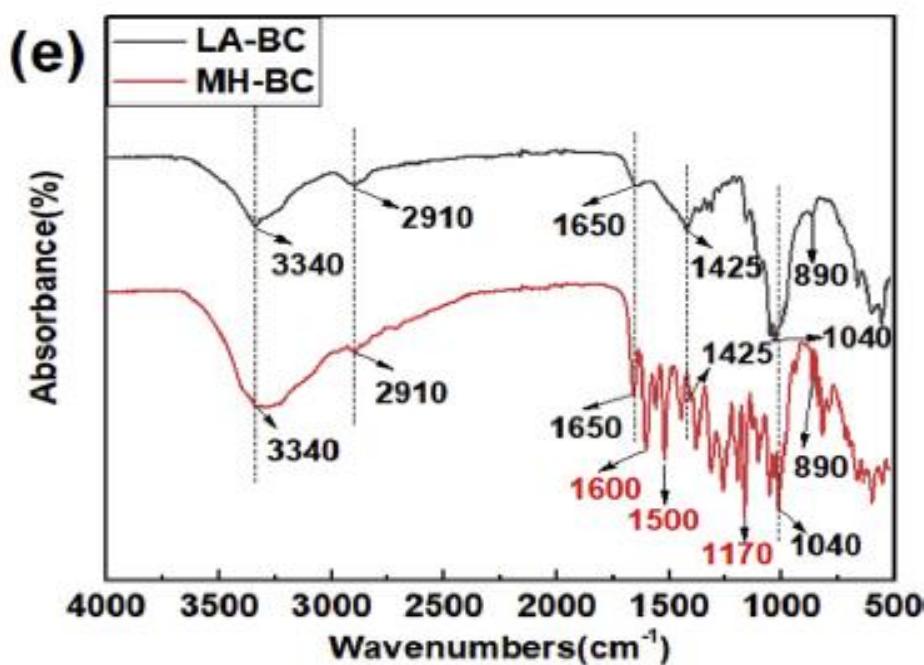


Ket. Spektrum atas BC-FT, spektrum bawah BC murni  
1015  $\text{cm}^{-1}$ , 984  $\text{cm}^{-1}$  dan 950  $\text{cm}^{-1}$  getaran tekuk C–H dari isoprenoid di fingerroot.

---

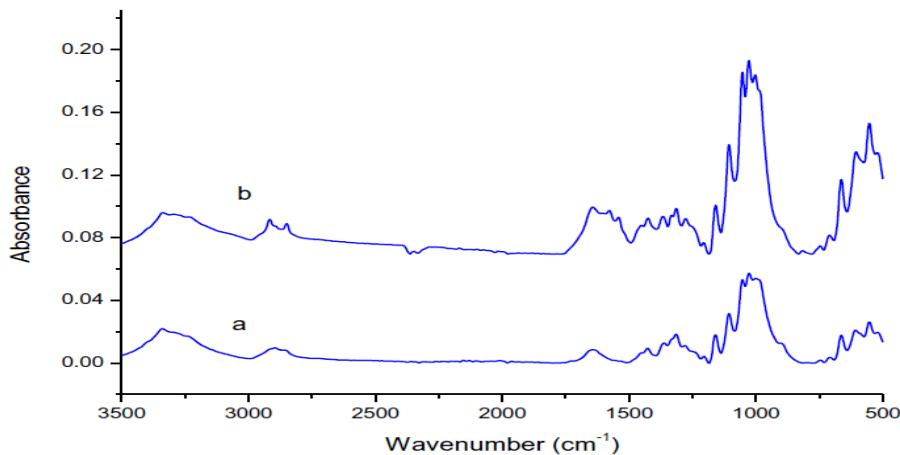
Artikel  
Chen dkk, 2019

Spektrum FTIR

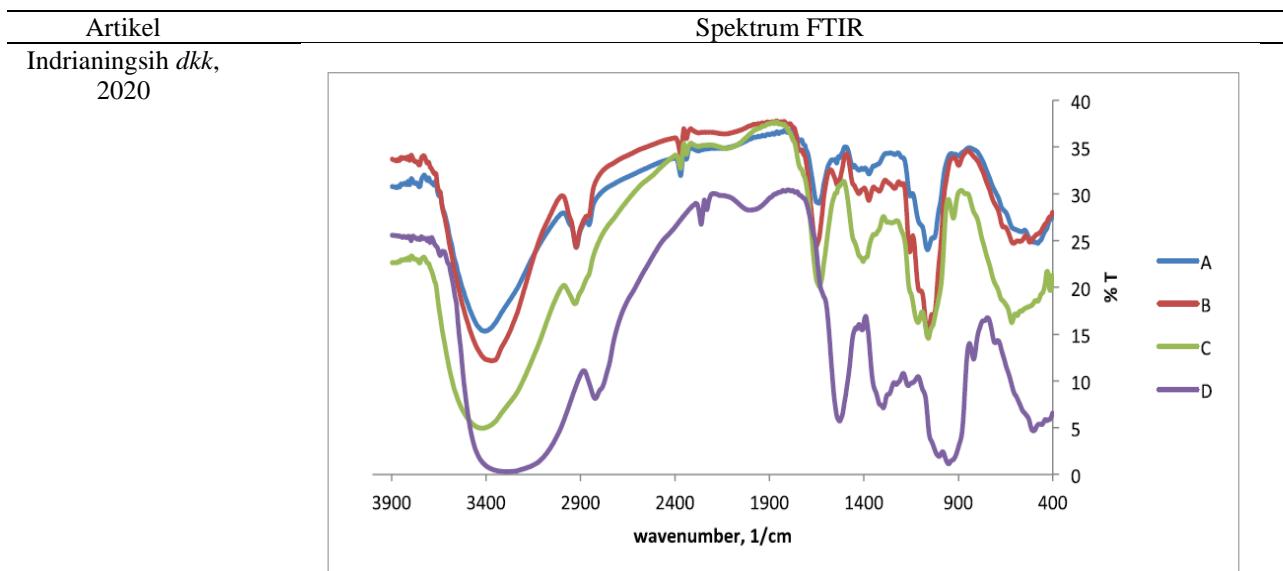


Ket: LA-BC = BC murni; MH-BC = BC diperkaya ekstrak murbei  
1600 – 1500 cm<sup>-1</sup> : cincin benzene  
1170 cm<sup>-1</sup> : C-O-H  
1600 cm<sup>-1</sup> : C=O komponen hidrosilat dari struktur flavonoid

El-wakil dkk,  
2019



Ket: a) KBC (kombucha BC), b) KBC/CE (kombucha BC/ Coffe extract)  
1542 cm<sup>-1</sup> : C=C cincin aromatik asam klorogenat  
1578 cm<sup>-1</sup> : C=N kafein  
1206 dan 1280 cm<sup>-1</sup> : C–O dari gugus fenolik dan karboksilat



Ket: A: BC + teh hijau; B: BC + Rosella; C: BC + kembang sepatu pink; D: BC + kembang sepatu merah

1635  $\text{cm}^{-1}$  : C=C, C=O polifenol

1800 – 1380  $\text{cm}^{-1}$ : aglikon antosianin

2369-2337  $\text{cm}^{-1}$  : cincin aromatik yang didukung dengan adanya puncak serapan pada 1064  $\text{cm}^{-1}$  gugus fungsi COC

2931  $\text{cm}^{-1}$  : senyawa suberin

1111  $\text{cm}^{-1}$  : CC dan CO polisakarida

Analisis gugus fungsi pada BC yang dilakukan dengan instrumen spektrofotometer FTIR menunjukkan bahwa BC yang diperkaya ekstrak tanaman memiliki tambahan puncak serapan selain pada BC murni. Hal ini mengungkapkan keberhasilan impregnasi ekstrak tanaman ke dalam jaringan BC. Ekstrak tanaman yang ditambahkan ke dalam BC akan berikatan dengan gugus fungsi OH dan membentuk ikatan hidrogen yang kuat [26].

Diketahui puncak serapan selulosa bakteri murni di antaranya pada bilangan gelombang sekitar 3424 - 3265  $\text{cm}^{-1}$  terdapat gugus fungsi OH, 2895 - 2859  $\text{cm}^{-1}$  gugus fungsi C-H, 1640-1671  $\text{cm}^{-1}$  gugus fungsi -CO, 1428  $\text{cm}^{-1}$  untuk CH<sub>2</sub>, 1167 – 1055  $\text{cm}^{-1}$  untuk C-O-C, dan 1200 – 900  $\text{cm}^{-1}$  gugus fungsi C-O dan C-C, 896-898  $\text{cm}^{-1}$  getaran simetris dari ikatan β-glikosida [2, 21, 24, 25, 27]. Sementara untuk BC yang diperkaya ekstrak tanaman terdapat penambahan puncak serapan. Pada artikel Bodea, *dkk* [16] ditunjukkan pada serapan puncak 1800-1500  $\text{cm}^{-1}$  adanya C-C dan C=C aromatik. Puncak serapan pada bilangan gelombang 1276 – 1280  $\text{cm}^{-1}$  untuk Ar-O pada aril eter ditunjukkan oleh semua sampel kecuali BC murni, 1514  $\text{cm}^{-1}$  untuk C=C fenol, 1112-1114  $\text{cm}^{-1}$  vibrasi alkohol(C-OH), C-O ester. Fenol memiliki aktivitas antibakteri yang bekerja dengan mekanisme kerja kerusakan membran bakteri, penghambatan faktor virulensi seperti enzim dan racun [28].

Pada artikel Sajjad, *dkk* [24], serapan puncak 1512-1518  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya cincin aromatik benzen dari kurkumin. Kurkumin sendiri memiliki sifat antimikroba yang dapat menghambat replikasi DNA mikroba dan merusak membran sel bakteri dan mengurangi motilitas mikroorganisme [29].

Pada artikel Jonsirivilai, *dkk* [30], serapan puncak 1015, 984, 950  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya C-H dari isoprenoid temu kunci. Isoprenoid yang mencangkup triterpenoid dan fitosterol dianggap sebagai senyawa penting sumber daya alam potensial untuk senyawa obat. Beberapa aktivitas biologis telah dibuktikan salah satu nya yaitu antimikroba [30].

Pada artikel Chen, *dkk* [23], serapan puncak 1500 – 1600  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan adanya cincin benzen, 1170  $\text{cm}^{-1}$  untuk C-O-H, dan 1600  $\text{cm}^{-1}$  untuk C=O komponen hidrosilat dari struktur flavonoid. Kandungan flavonoid pada tumbuhan diketahui memiliki sifat antibakteri dengan cara melepaskan energi tranduksi terhadap membrane sitoplasma bakteri dan menghambat motilitas bakteri [31]. Adapula mekanisme lainnya yaitu gugus hidroksil pada struktur flavonoid mengakibatkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi yang akhirnya menimbulkan efek toksik terhadap bakteri [32].

Pada artikel El-wakil, *dkk* [25], serapan puncak 1542  $\text{cm}^{-1}$  untuk cincin aromatik dalam asam klorogenat, 1578  $\text{cm}^{-1}$  untuk C=N kafein, 1206-1280  $\text{cm}^{-1}$  untuk C-O gugus fenolik dan karboksilat. Kandungan asam

klorogenat, kafein dan fenolik pada kopi arabika berhasil memberikan sifat antimikroba pada BC dengan mekanisme mengubah struktur membrane sitoplasma, mengganggu gaya motif proton, aliran electron dan transport aktif mikroorganisme. Aktivitas antimikroba kopi tidak disebabkan oleh satu mekanisme spesifik dan mengarah pada beberapa target sel [33,34].

Pada artikel Indrianingsih, dkk [2], puncak serapan  $1635\text{ cm}^{-1}$  untuk C=C dan C=O senyawa polifenol dari sampel BC diperkaya ekstrak etanol teh hijau. BC yang diperkaya dengan ekstrak etanol rosella menunjukkan puncak serapan pada bilangan gelombang  $1800-1380\text{ cm}^{-1}$  dari kandungan senyawa aglikon antosianin dan  $2369-2337\text{ cm}^{-1}$  untuk cincin aromatik yang didukung dengan adanya puncak serapan pada  $1064\text{ cm}^{-1}$  dari gugus fungsi COC. BC yang diperkaya ekstrak etanol kembang sepatu varian merah dan merah muda mempunyai puncak serapan yang hampir mirip, pada bilangan gelombang  $2931\text{ cm}^{-1}$  untuk gugus fungsi CH dari suberin dan  $1111\text{ cm}^{-1}$  untuk CC dan CO polisakarida. Polifenol dari teh hijau merupakan turunan senyawa flavonoid yang diketahui mempunyai sifat antimikroba melalui tiga cara yaitu, pembunuhan langsung bakteri, aktivitas sinergis antibiotik, dan pelemanan patogenisitas bakteri [35]. Kandungan aglikon antosianin pada rosella diketahui mempunyai sifat antimikroba yang disebabkan oleh kerusakan sel atau pertumbuhan sel yang tidak bisa dikendalikan dan berujung pada kematian sel [36]. Kandungan polisakarida pada kembang sepatu varian merah dan varian merah muda memberikan sifat antimikroba pada BC dengan mekanisme penghambatan mengubah permeabilitas dinding sel dan membran, merusak protein membran yang mengakibatkan kerusakan struktural dan pelepasan komponen sel termasuk protein dan elektrolit.

Dari data di atas diketahui bahwa karakteristik BC murni dan BC yang diperkaya ekstrak tanaman menunjukkan perbedaan struktur fibrillar jaringan tiga dimensi yang dianalisis dengan SEM dan perbedaan kandungan gugus fungsi yang dianalisis dengan FTIR.

## KESIMPULAN

Modifikasi terhadap BC menjadi hal yang penting untuk pengembangan BC untuk berbagai aplikasi. Selain meningkatkan sifat yang ada, modifikasi ini juga akan menghasilkan sifat yang baru. Pendekatan pengembangan strategi sintetik telah menyebabkan metode baru sintesis komposit. Sifat fisik, kimia, dan biologi yang telah diperbaiki akan meningkatkan aplikasi BC pada bidang biomedis, elektronik, dan lingkungan. Dalam review ini, sifat antimikroba telah ditambahkan dalam BC dengan pendekatan metode *in-situ* dan *ex-situ* menggunakan beberapa ekstrak tanaman. Dengan demikian, informasi yang tercantum dalam artikel ini akan memberikan wawasan tentang perkembangan dan aplikasi BC termodifikasi di masa depan.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Stumpf, T. R., Yang, X., Zhang, J., Cao, X. (2016). In situ and ex situ modification of bacterial cellulose for application in tissue engineering. *Materials Science and Engineering C*. 32:374-8.
- [2] Indrianingsih, A. W., Rosyida, V. T., Apriyana, W., Hayati, N. S., Darsih, C., Nisa, K., Ratih, D. (2020). Antioxidant and antibacterial properties of bacterial cellulose- Indonesian plant extract composites for mask sheet. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. I10(07):037-042.
- [3] Jozala, A. F., Pertile, R. A. N., Santos, C., Ebinuma, V. (2014). Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus* by employing alternative culture media. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 99: 1181-1190.
- [4] Fatima, A., Yasir, S., Khan, M. S., Manan, S., Ullah, M. W., UI-Islam, M. (2021). Plant extract-loades bacterial cellulose composite membran for potential biomedical applications. *Journal of Bioresources and Bioproducts*. 26-32.
- [5] Orlando, I., Basnett, P., Nigmatullin, R., Wang, W., Knowles, J.C., Roy, I. (2020) Chemical Modification of Bacterial Cellulose for the Development of an Antibacterial Wound Dressing. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8.
- [6] Chen, J., Chen, C., Xunran, X.G.L., Hao, Q., Sun, D. (2019). In situ preparation of bacterial cellulose with antimicrobial properties from bioconversion of mulberry leaves. *Carbohydrate Polymers*. 170-175.
- [7] Gupta, A., Low, W.L., Radecka, I., Britland, S.T., Mohd Amin, M.C.I., Martin, C. (2016). Characterisation and in vitro antimicrobial activity of biosynthetic silver-loaded bacterial cellulose hydrogels. *J. Microencapsul.* 33(-): s725–734.
- [8] Horue, M., Cacicudo, M.L., Fernandez, M.A., Rodenak-Kladniew, B., Torres Sánchez, R.M.,

- Castro, G.R. (2020). Antimicrobial activities of bacterial cellulose-Silver montmorillonite nanocomposites for wound healing. *Mater. Sci. Eng. C*. 116:111152.
- [9] Faisul, A.F.A., Mohd Fauzi, F.N.A., Tong, W.Y., Syed Abdullah, S.S. (2019). Interaction of silver sulfadiazine with bacterial cellulose via ex-situ modification method as an alternative diabetic wound healing. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 21(-):101332.
- [10] Janpatch, N., Saito, N., Rujiravanit, R. (2016). Fabrication of bacterial cellulose-ZnO composite via solution plasma process for antibacterial applications. *Carbohydr. Polym.* 148(-): 335–344.
- [11] Shahmohammadi, J.F., Almasi, H. (2016). Morphological, physical, antimicrobial and release properties of ZnO nanoparticles-loaded bacterial cellulose films. *Carbohydr. Polym.* 149(-): 8–19.
- [12] Khan, S., Ul-Islam, M., Khattak, W.A., Ullah, M.W., Park, J.K. (2015). Bacterial cellulose-titanium dioxide nanocomposites: nanostructural characteristics, antibacterial mechanism, and biocompatibility. *Cellulose*. 22(1): 565–579.
- [13] Ullah, M.W., Ul-Islam, M., Khan, S., Kim, Y., Jang, J.H., Park, J.K. (2016). In situ synthesis of a bio-cellulose/titanium dioxide nanocomposite by using a cell-free system. *RSC Adv.* 6(27): 22424–22435.
- [14] Kamal, T., Ul-Islam, M., Khan, S.B., Bakhsh, E.M., Chani, M.T.S. (2022). Development of plant extract impregnated bacterial cellulose as a green antimicrobial composite for potential biomedical applications. *Industrial Crops and Products*. 187.
- [15] Liu, T., Liu, Y., Liu, M., Wang, Y., He, W., Shi, G. et al. (2018). Synthesis of graphene oxide-quaternary ammonium nanocomposite with synergistic antibacterial activity to promote infected wound healing. *Burn. Trauma*. 6: 115.
- [16] Siddhan, P. K. S., Basavaraj, J. (2016). Biosynthesis of bacterial cellulose imparting antibacterial property through novel Bio-Agents. *Research Journal of Biotechnology*. 11(9).
- [17] Mosiewicki, M. A., Marcovich, N. E., Aranguren, M. I. (2011). Characterization of fiber surface treatments in natural fiber composites by infrared and Raman spectroscopy – interface engineering of natural fiber composite for maximum performance (interface engineering of natural fiber composite for maximum performance) ed. Zaferopoulos N, (Cambridge: Woodhead Publishing) pp: 117-45.
- [18] Kobayashi, M., Zhu, Y., Nichols, N., Lampen, O. (1987). A second regulatory encoding a penicillin binding protein required for induction of betalactamase. *J of Bacteriology*, 169(9):3873-76.
- [19] Moradian, S., Almasi, H., Moin, S. (2017). Development of bacterial cellulose-based active membranes containing herbal extracts for shelf life extension of button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *J Food Process Preserv.* (3):1–13.
- [20] Jonsirivilai, B., Torgbo, S., Sukyai, P. (2022). Multifunctional filter membrane for face mask using bacterial cellulose for highly efficient particulate matter removal. *Cellulose*, 29(21): 1-20.
- [21] Ongwisespaiboon, O., Jiraungkoorskul, W. (2017). Fingerroot, *Boosenbergia rotunda* and its aphrodisiac activity. *Pharmacognosy Review*. 11(21):27.
- [22] Hayati, Z., Yulia, W., Karmil, T. F., Azmy, A. (2012). Anti-bacterial activity of rosella flowers extract (*Hibiscus sabdariffa linn*) inhibiting bacterial growth methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Uninet biosciences conference.*, (2)1:22-24.
- [23] Chen, J., Chen, C., Xunran, X. G. L., Hao, Q., Sun, D. (2019). In situ preparation of bacterial cellulose with antimicrobial properties from bioconversion of mulberry leaves. *Carbohydrate Polymers*, 170-175.
- [24] Sajjad, W., He, F., Ullah, M. W., Ikram, M., Shah, S., Khan, R., Khan T., Khalid, A., Yang, G., Wahid, F. (2020). Fabrication of bacterial cellulose-curcumin nanocomposite as a novel dressing for partial thickness skin burn. *Front. Bioengineering and Biotechnology*. 8: 553037.
- [25] El-Wakil, N. A., Hassan, E. A., Hassan, M. L., El-Salam, S. S. (2019). Bacterial cellulose/phytochemical's extract biocomposites for potential effective wound dressings. *Environmental Science and Pollution Research*. 26(26):26529–41.
- [26] Bodea, I. M., Catunescu, G. M., Pop, C. R., Fit, N. I., David, A. P., Dudescu, M. C., Stanila, A.,

- Rotar, A. M., Beteg, F. L. (2022). Antimicrobial properties of bacterial cellulose films enriched with bioactive herbal extracts obtained by microwave-assisted extraction. *Polymers*. 14: 1435.
- [27] Majdanik, M. M., Kepa, M., Wojtyczka, R. D., Idzik, D., Wasik, J. T. (2018). Phenolic compound diminish antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* clinical strain. *Int J Environ Res Public Health*. 15(10): 2321.
- [28] Adamczak, A., Ozarowski, M., Karpinski, T. M. (2020). Curcumin, a natural antimicrobial agent with strain-specific activity. *Pharmaceuticals*. 13(7):153.
- [29] Bandaranayake, W. M. (2002). Bioactivities, bioactive compound and chemical constituents of mangrove plant. *Wetland ecology and management*, 10:421-452.
- [30] Mirzoeva, O. K., Grishanin, R. N., Calder, P. C. (1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effect on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbial*. 152(5):239-46.
- [31] Di carlo, D., Macolo, N., Izzo, A. A., Capasso, F. (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life sci*. 64(4):337-53.
- [32] Martinez-Tome, M., Jimenez-Monreal, A. M., Garcia-jimenez, L., Almela, L., Garcia-Diz, L., Mariscal-Arcas, M., Murcia, M. A. (2021). Assement of antimicrobial activity of coffe brewed in three different ways from different origins. *Eur Food Res Technol*. 223:497-505.
- [33] Wijaya, W., Ridwan, R. D., Budi, H. S. (2017). Antibacterial ablility of Arabica (*coffe Arabica*) and robusta (*coffe canephora*) coffe extract on *Lactobacillus acidophilus*, *Dental Journal*. 49(2):99.
- [34] Xie, Y., Chen, J., Xiao, A., Liu, L. (2017). Antibacterial activity of olyphenols: structure-activity relationship and influence of hyperglycemic condition. 22(11):1913.
- [35] Westfall, A. (2015). Evaluation of the efficacy of anthocyanins ada biologically active ingredients in lipstick formulation. Thesis, Ohio: Ohio State University.
- [36] Zhang, Y., Wu, Y. T., Zheng, W., Han X. X. (2017). The antibacterial activity and antibacterial mechanism of polysaccharide from *Cordyceps cicadae*. *Journal of functional foods*. 38:273-279.