

Integrasi Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) dan ZnO dalam Mouthwash: Karakteristik Fisikokimia dan Aktivitas Antibakteri

Integration of Butterfly Pea (Clitoria ternatea L.) Flower Extract and ZnO into a Mouthwash: Physicochemical Characteristics and Antibacterial Activity

Ahmad Hafizullah Ritonga^{1*}, Zenni Samsidar Ritonga², Barita Aritonang³, Herlina⁴, Hasni Yaturramadhan Harahap⁵

^{1,2,3,4,5}Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam, Deli Serdang-20512, Sumatera Utara
*Email: ahmad.hafizullah.r@gmail.com

Abstrak

Latar Belakang: Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) merupakan sumber flavonoid yang berpotensi memberikan aktivitas biologis, sedangkan ZnO diketahui memiliki aktivitas antibakteri sehingga integrasi keduanya menarik dikembangkan dalam sediaan *mouthwash*. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan mengevaluasi karakteristik fisikokimia dan aktivitas antibakteri *mouthwash* yang mengintegrasikan ekstrak bunga telang dan ZnO. **Metode:** Ekstrak diperoleh melalui maserasi menggunakan etanol 70%, kemudian kadar flavonoid total ditentukan secara spektrofotometri UV-Vis dengan metode $AlCl_3$ -kuersetin. *Mouthwash* diformulasikan menggunakan variasi konsentrasi ekstrak 0,5% (F1), 1,0% (F2), dan 1,5% (F3), dengan ZnO tetap 0,05%, serta kontrol ZnO tanpa ekstrak. Evaluasi meliputi organoleptik, homogenitas, pH, viskositas, stabilitas fisik, dan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. **Hasil:** Ekstrak bunga telang menunjukkan absorbansi rata-rata 0,3562 pada 373,4 nm dengan kadar flavonoid total 19,61 mg QE/g. F3 menunjukkan karakteristik terbaik dengan pH $6,08 \pm 0,05$, viskositas $2,68 \pm 0,07$ mPa·s, homogen, dan stabil tanpa pemisahan fase. Zona hambat F3 mencapai $13,67 \pm 0,45$ mm, lebih tinggi dibandingkan kontrol ZnO sebesar $8,21 \pm 0,32$ mm. **Kesimpulan:** Temuan ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak hingga 1,5% pada kadar ZnO tetap menghasilkan *mouthwash* dengan karakteristik fisikokimia yang baik serta aktivitas antibakteri tertinggi di antara formula yang diuji.

Kata kunci: *Clitoria ternatea*; ZnO; *mouthwash*; flavonoid; fisikokimia; aktivitas antibakteri.

Abstract

Background: Butterfly pea (*Clitoria ternatea* L.) is a source of flavonoids with potential biological activity, while ZnO is known for its antibacterial properties, making their integration into a mouthwash formulation of particular interest. **Objective:** This study aimed to evaluate the physicochemical characteristics and antibacterial activity of a mouthwash integrating butterfly pea flower extract and ZnO. **Methods:** The extract was obtained by maceration using 70% ethanol, and its total flavonoid content was determined by UV-Vis spectrophotometry using the $AlCl_3$ -quercetin method. Mouthwash formulations were prepared with extract concentrations of 0.5% (F1), 1.0% (F2), and 1.5% (F3), while ZnO was maintained at 0.05%, with ZnO without extract used as a control. Evaluations included organoleptic properties, homogeneity, pH, viscosity, physical stability, and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. **Results:** The extract exhibited a mean absorbance of 0.3562 at 373.4 nm, corresponding to a total flavonoid content of 19.61 mg QE/g. F3 showed the best characteristics, with a pH of 6.08 ± 0.05 , viscosity of 2.68 ± 0.07 mPa·s, good homogeneity, and no phase separation. F3 produced an inhibition zone of 13.67 ± 0.45 mm, higher than the ZnO control (8.21 ± 0.32 mm). **Conclusion:** These findings indicate that increasing the extract concentration to 1.5% at a fixed ZnO concentration produced a mouthwash with favorable physicochemical characteristics and the highest antibacterial activity among the tested formulations.

Keywords: *Clitoria ternatea*; ZnO; mouthwash; flavonoids; physicochemical characteristics; antibacterial

*Corresponding author: Ahmad Hafizullah Ritonga, Institut Kesehatan Medistra Lubuk Pakam, Deli Serdang, Indonesia

E-mail : ahmad.hafizullah.r@gmail.com

Doi : 10.35451/jfm.v9i1.3955

Received : September 25, 2026, Accepted: October 4, 2026, Published: October 30, 2026

Copyright: © 2026 Ahmad Hafizullah Ritonga (s). Creative Commons License This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

1. PENDAHULUAN

Kesehatan rongga mulut sangat dipengaruhi oleh keseimbangan mikrobiota oral, faktor pejamu, pola konsumsi, dan praktik kebersihan mulut. Gangguan keseimbangan tersebut dapat meningkatkan akumulasi dan maturasi biofilm dental, memfasilitasi persistensi mikroorganisme patogen, serta berkontribusi terhadap karies, inflamasi gingiva, dan penyakit periodontal [1–3]. *Mouthwash* banyak digunakan sebagai terapi pendamping pembersihan mekanis karena bentuk sediaan cair memungkinkan bahan aktif menjangkau area rongga mulut yang relatif sulit dicapai melalui penyikatan gigi dan memberikan kontak langsung dengan mikroorganisme oral [4,5]. Sejumlah penelitian klinis menunjukkan bahwa *mouthwash* antimikroba dapat menurunkan beban bakteri, akumulasi plak, dan inflamasi gingiva, meskipun efektivitasnya sangat dipengaruhi oleh jenis serta konsentrasi bahan aktif yang digunakan [1,3,6]. Kondisi tersebut mendorong pengembangan *mouthwash* berbasis bahan alam yang mengandung senyawa bioaktif tumbuhan, baik sebagai bahan aktif tunggal maupun dikombinasikan dengan agen antibakteri lainnya [7–11].

Ekstrak tumbuhan merupakan kandidat yang menarik dalam pengembangan sediaan perawatan rongga mulut karena mengandung beragam metabolit sekunder dengan potensi aktivitas antibakteri, antioksidan, dan antiinflamasi. Iskandar et al. [7] menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ekstrak *Euphorbia hirta* memengaruhi karakteristik fisikokimia sekaligus aktivitas antibakteri *mouthwash*. Formulasi herbal yang mengombinasikan beberapa ekstrak tumbuhan juga dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba dan antibiofilm terhadap *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus*, serta mikroorganisme oral lainnya [8]. Penelitian yang lebih baru menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak tumbuhan dalam *mouthwash* dapat memengaruhi pH dan viskositas sekaligus meningkatkan aktivitas antimikroba atau antibiofilm [9].

Salah satu sumber bahan alam yang potensial adalah bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) karena mengandung beragam senyawa fenolik dan flavonoid [12–14]. Karakterisasi kimia bunga telang telah mengidentifikasi berbagai antosianin dan senyawa fenolik, terutama turunan delphinidin dan cyanidin [15,16]. Escher et al. [15] melalui analisis UHPLC-Q-TOF-MS/MS mengidentifikasi berbagai komponen fenolik dan antosianin tipe ternatin pada kelopak *C. ternatea*, serta menunjukkan bahwa karakteristik spektral dan stabilitasnya dipengaruhi oleh kondisi lingkungan seperti pH, suhu, dan cahaya. Thuy et al. [16] selanjutnya mengidentifikasi sejumlah antosianin turunan delphinidin dan cyanidin menggunakan UPLC/UV/MS. Pola absorpsi dan stabilitas antosianin bunga telang dipengaruhi oleh pH, sehingga kondisi fisikokimia menjadi aspek penting ketika ekstrak diaplikasikan dalam suatu sediaan cair [17]. Selain itu, kondisi ekstraksi secara nyata memengaruhi perolehan senyawa fenolik dan antosianin *C. ternatea*, sehingga jenis pelarut dan kondisi proses perlu dikendalikan dalam formulasi farmasi [18,19].

Potensi bunga telang tidak terbatas pada kandungan kimianya. Ekstrak *C. ternatea* asal Indonesia telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri yang berkaitan dengan kandungan senyawa fenoliknya [20]. Satria et al. [21] melaporkan bahwa ekstrak mahkota bunga telang asal Medan memiliki aktivitas antibakteri dan antibiofilm terhadap *S. mutans* dan *S. aureus*, dengan konsentrasi hambat minimum sebesar 6,25 mg/mL. Fraksi antosianin bunga *C. ternatea* dilaporkan mampu menghambat pembentukan biofilm tahap awal sekaligus mengganggu biofilm yang telah terbentuk pada *S. mutans*, *Actinomyces viscosus*, dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* [22]. Ekstrak kelopak *C. ternatea* juga dilaporkan menunjukkan aktivitas antibiofilm terhadap *Alcaligenes faecalis* yang diisolasi dari plak gigi [23].

Nanopartikel ZnO merupakan salah satu senyawa yang dapat melengkapi aktivitas antibakteri ekstrak bunga telang. Berbagai penelitian eksperimental menunjukkan bahwa ZnO mampu menghambat pertumbuhan bakteri dan pembentukan biofilm [24–27], termasuk terhadap bakteri *S. aureus* dan bakteri lainnya yang berhubungan dengan rongga mulut [28–32]. Mendes et al. [28] menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ZnO berkaitan dengan interaksi terhadap membran dan proses seluler bakteri, dengan kontribusi pembentukan *reactive oxygen species*, pelepasan ion Zn^{2+} , dan interaksi permukaan. ZnO juga dilaporkan dapat menurunkan pembentukan biofilm dan karakteristik virulensi *S. aureus* [29]. Dalam aplikasi rongga mulut, formulasi yang mengandung ZnO telah menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan *S. mutans*, pembentukan biofilm, dan produksi asam [30], sedangkan pelapisan ZnO pada *orthodontic aligner* menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *S. mutans* [31]. Aktivitas antibakteri ZnO juga diketahui dipengaruhi oleh konsentrasi, karakteristik permukaan, ukuran partikel, serta interaksinya dengan lingkungan biologis [32].

Potensi sistem berbasis seng untuk sediaan *mouthwash* turut didukung oleh penelitian klinis dan mikrobioma oral. *Mouthwash* yang mengandung *o-cymen-5-ol* dan zinc chloride dilaporkan menurunkan kelimpahan relatif beberapa kelompok bakteri yang berpotensi patogen tanpa menyebabkan perubahan besar terhadap keseluruhan mikrobioma oral pada individu sehat [33]. Selain itu, *mouthwash* dengan sistem amine–zinc lactate–fluoride menunjukkan efek antibakteri jangka pendek dan jangka panjang serta perbaikan parameter plak dan gingiva dalam pengujian klinis [4]. Namun, hasil penggunaan garam seng tidak dapat secara langsung diekstrapolasikan terhadap ZnO karena keduanya memiliki karakteristik fisikokimia dan mekanisme aktivitas antibakteri yang berbeda.

Meskipun bukti ilmiah mengenai *C. ternatea* dan ZnO terus berkembang, masih terdapat kesenjangan penelitian yang penting. Penelitian terdahulu lebih banyak mengevaluasi ekstrak bunga telang sebagai agen antibakteri atau antibiofilm secara terpisah [21–23], mengkarakterisasi komponen fenolik dan antosianinnya [15–19], atau mengevaluasi ZnO sebagai agen antibakteri [28–32]. Sementara itu, penelitian *mouthwash* herbal umumnya menggunakan ekstrak tumbuhan tanpa mengintegrasikannya dengan ZnO pada konsentrasi rendah dan tetap [7–11], sedangkan penelitian *mouthwash* berbasis seng lebih banyak menggunakan garam seng yang larut dibandingkan ZnO [4,33]. Oleh karena itu, masih terbatas informasi mengenai adanya pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak *C. ternatea* terhadap karakteristik fisikokimia dan aktivitas antibakteri *mouthwash* ketika konsentrasi ZnO dipertahankan tetap. Kandungan flavonoid ekstrak juga masih jarang dihubungkan secara terintegrasi dengan karakteristik sediaan dan respons antibakteri *mouthwash* berbasis bunga telang–ZnO.

Berdasarkan kesenjangan tersebut, kebaruan penelitian ini terletak pada integrasi ekstrak bunga telang yang dikarakterisasi secara kimia dengan ZnO berkonsentrasi rendah dan tetap dalam sistem *mouthwash*, sementara konsentrasi ekstrak divariasikan secara sistematis. Rancangan ini memungkinkan pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak dievaluasi tanpa perubahan simultan konsentrasi ZnO. Penetapan kadar flavonoid total menggunakan spektrofotometri UV-Vis memberikan dasar karakterisasi kimia ekstrak, sedangkan evaluasi fisikokimia dan aktivitas antibakteri memberikan informasi mengenai aspek farmasetika dan fungsi biologis formulasi. Pendekatan penelitian ini juga tidak didasarkan pada asumsi adanya efek sinergis antara ekstrak bunga telang dan ZnO, melainkan mengevaluasi apakah peningkatan konsentrasi ekstrak pada kadar ZnO yang tetap dapat meningkatkan aktivitas antibakteri dengan tetap mempertahankan karakteristik fisikokimia *mouthwash* yang sesuai.

Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi karakteristik fisikokimia dan aktivitas antibakteri *mouthwash* yang mengandung variasi konsentrasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan konsentrasi ZnO yang dipertahankan tetap. Secara khusus, penelitian ini dilakukan untuk menentukan kadar flavonoid total ekstrak menggunakan spektrofotometri UV-Vis, mengevaluasi karakteristik organoleptik, homogenitas, pH, viskositas, dan stabilitas fisik formulasi, serta menentukan aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus*. Pendekatan terintegrasi tersebut diharapkan dapat memberikan dasar kimia dan farmasetika bagi pengembangan formulasi *mouthwash* berbasis ekstrak bunga telang dan ZnO.

2. METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium untuk mengevaluasi pengaruh variasi konsentrasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) pada konsentrasi ZnO tetap terhadap karakteristik fisikokimia dan aktivitas antibakteri *mouthwash*. Formula F1, F2, dan F3 masing-masing mengandung ekstrak bunga telang 0,5%, 1,0%, dan 1,5% (b/v), dengan ZnO tetap 0,05% (b/v). Kontrol ZnO (K-ZnO) mengandung ZnO 0,05% tanpa ekstrak bunga telang. Seluruh pengujian kuantitatif dilakukan dalam tiga kali pengulangan.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah bunga telang (*Clitoria ternatea* L.), etanol 70%, ZnO, kuersetin, AlCl₃, natrium asetat, gliserin, Tween 80, sorbitol, natrium benzoat, mentol, *peppermint oil*, dan akuades. Pengujian antibakteri menggunakan kultur *Staphylococcus aureus*, *Nutrient Agar* (NA), NaCl fisiologis 0,9%, standar 0,5 McFarland, dan kertas cakram steril.

Alat

Peralatan yang digunakan meliputi spektrofotometer UV-Vis, kuvet, timbangan analitik, *rotary evaporator*, blender, ayakan, gelas beker, gelas ukur, labu ukur, pipet volume, mikropipet, batang pengaduk, *magnetic stirrer*, pH meter, dan viskometer. Pengujian antibakteri menggunakan autoklaf, inkubator, cawan Petri, tabung reaksi, jarum ose, kertas cakram steril, dan jangka sorong digital.

Preparasi dan Ekstraksi Bunga Telang

Bunga telang disortasi, dicuci dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Simplisia kering dihaluskan dan diayak hingga diperoleh serbuk. Selanjutnya, sebanyak 180 g serbuk simplisia dimaserasi menggunakan 1.800 mL etanol 70% selama lima hari pada suhu ruang dengan pengadukan berkala. Campuran disaring dan residunya diremaserasi menggunakan 900 mL etanol 70% selama dua hari. Filtrat hasil maserasi dan remaserasi digabungkan, kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60 °C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak disimpan dalam wadah tertutup sampai digunakan.

Penetapan Kadar Flavonoid Total

Larutan stok kuersetin 1.000 ppm dibuat dengan melarutkan 100 mg kuersetin dalam etanol 70% hingga 100 mL. Larutan kemudian diencerkan menjadi 100 ppm dan dibuat seri standar 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm. Panjang gelombang maksimum ditentukan pada rentang 300–600 nm dan diperoleh pada 373,4 nm. Selanjutnya, sebanyak 100 mg ekstrak bunga telang dilarutkan dalam etanol 70% hingga 100 mL. Sebanyak 3 mL larutan ekstrak ditambahkan 0,2 mL AlCl_3 10% dan 0,2 mL natrium asetat, kemudian dicukupkan dengan etanol 70% hingga 10 mL. Absorbansi diukur pada 373,4 nm sebanyak tiga kali. Kadar flavonoid total dihitung berdasarkan persamaan regresi kurva baku kuersetin dan dinyatakan sebagai mg *quercetin equivalent* per gram ekstrak (mg QE/g).

Pembuatan dan Formulasi Mouthwash

Ekstrak bunga telang sesuai formula ditimbang dan didispersikan dalam gliserin hingga merata. Natrium benzoat dilarutkan dalam sebagian akuades pada wadah terpisah. Tween 80 dicampurkan dengan *peppermint oil* dan mentol, kemudian ditambahkan sorbitol sambil diaduk hingga homogen. Campuran ekstrak dan campuran bahan tambahan digabungkan, kemudian ZnO 0,05 g ditambahkan secara bertahap sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Pengadukan dilanjutkan hingga seluruh komponen terdispersi secara merata dan tidak terlihat adanya gumpalan. Selanjutnya, campuran diperiksa secara visual untuk memastikan keseragaman sediaan sebelum dilakukan pencukupan volume akhir. Akuades ditambahkan hingga volume 100 mL dan pengadukan dilanjutkan sampai diperoleh sediaan yang homogen. *Mouthwash* kemudian dimasukkan ke dalam wadah tertutup dan disimpan pada suhu ruang sebelum pengujian. Komposisi masing-masing formula ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Formulasi *mouthwash* ekstrak bunga telang dan ZnO

Bahan	K-ZnO	F1	F2	F3
Ekstrak bunga telang	–	0,50 g	1,00 g	1,50 g
ZnO	0,05 g	0,05 g	0,05 g	0,05 g
Gliserin	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL
Tween 80	3 mL	3 mL	3 mL	3 mL
Sorbitol	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL
Natrium benzoat	0,01 g	0,01 g	0,01 g	0,01 g
Mentol	0,05 g	0,05 g	0,05 g	0,05 g
<i>Peppermint oil</i>	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Akuades	ad 100 mL	ad 100 mL	ad 100 mL	ad 100 mL

Evaluasi Karakteristik Fisikokimia

Evaluasi karakteristik fisikokimia yang dilakukan meliputi uji organoleptis dan homogenitas, uji pH, uji viskositas, dan uji stabilitas fisik.

- Organoleptik dan homogenitas. Sediaan diamati terhadap warna, aroma, penampilan, homogenitas, keberadaan partikel kasar, endapan, dan pemisahan fase.
- pH. pH meter dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan buffer standar. Elektroda dicelupkan ke dalam sampel hingga pembacaan stabil. Setiap formula diukur sebanyak tiga kali pada suhu ruang.
- Viskositas. Sebanyak sampel yang mencukupi dimasukkan ke dalam wadah pengukuran dan viskositas diukur menggunakan viskometer pada suhu ruang. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali dan dinyatakan dalam mPa·s.
- Stabilitas fisik. Sediaan disimpan dalam wadah tertutup pada suhu ruang dan diamati terhadap perubahan warna, aroma, homogenitas, pembentukan endapan, dan pemisahan fase selama periode penyimpanan.

Preparasi Suspensi *Staphylococcus aureus*

Kultur *Staphylococcus aureus* terlebih dahulu diremajakan dengan mengambil satu koloni menggunakan ose steril, kemudian diinokulasikan pada media Nutrient Agar (NA) secara aseptis. Kultur diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18–24 jam hingga diperoleh pertumbuhan koloni yang baik. Setelah inkubasi, beberapa koloni hasil peremajaan diambil menggunakan ose steril dan disuspensikan ke dalam NaCl fisiologis 0,9%. Suspensi dihomogenkan hingga diperoleh kekeruhan yang merata, kemudian kekeruhannya disesuaikan dengan standar 0,5 McFarland. Suspensi bakteri yang telah memenuhi standar kekeruhan tersebut selanjutnya digunakan sebagai inokulum pada pengujian aktivitas antibakteri *mouthwash* dengan metode difusi cakram.

Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode difusi cakram. Suspensi *S. aureus* disebarkan secara merata pada permukaan media agar steril. Kertas cakram steril direndam selama 15 menit dalam masing-masing sediaan K-ZnO, F1, F2, dan F3, kemudian ditempatkan pada permukaan media yang telah diinokulasi. Cawan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18–24 jam. Diameter zona bening di sekitar cakram diukur menggunakan jangka sorong digital dalam dua arah yang saling tegak lurus. Nilai zona hambat dinyatakan dalam milimeter (mm). Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali untuk setiap formula.

Analisis Data

Data kuantitatif yang meliputi absorbansi, kadar flavonoid total, pH, viskositas, dan diameter zona hambat dianalisis secara deskriptif. Hasil pengukuran pH, viskositas, dan diameter zona hambat disajikan sebagai rerata $\pm$ standar deviasi (SD) dari tiga kali pengulangan ($n = 3$). Data organoleptik, homogenitas, stabilitas fisik, dan kategori aktivitas antibakteri disajikan secara deskriptif. Perbandingan antarformula dilakukan berdasarkan pola perubahan nilai rerata masing-masing parameter tanpa pengujian statistik inferensial.

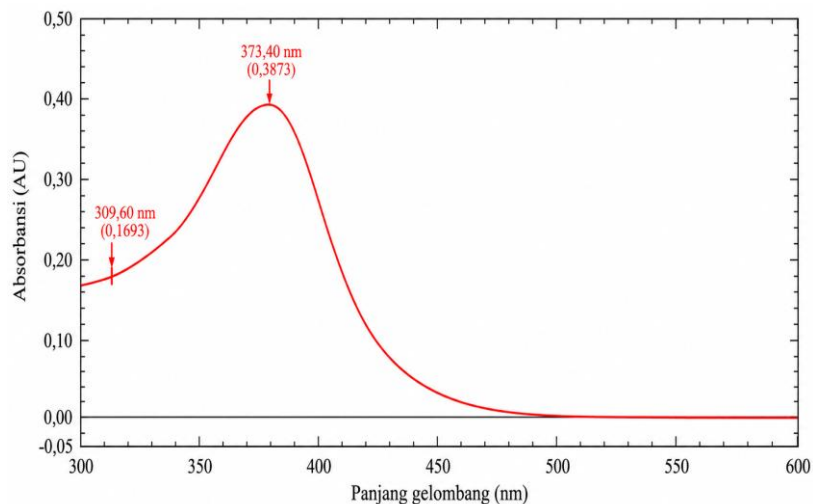
3. HASIL

Karakterisasi UV-Vis dan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Bunga Telang

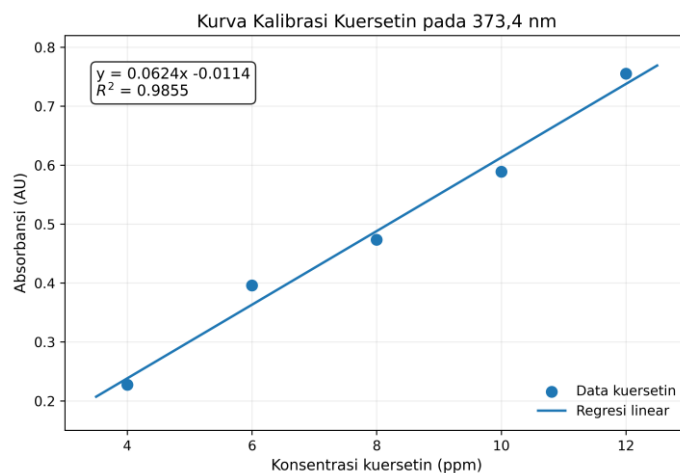
Karakterisasi kimia ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dilakukan melalui penetapan kadar flavonoid total menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan kuersetin sebagai standar (Gambar 1). Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan terhadap larutan kuersetin 6 ppm dalam etanol 70%. Hasil pemindaian pada rentang panjang gelombang 300–600 nm menunjukkan puncak serapan maksimum pada 373,4 nm dengan absorbansi 0,3873. Panjang gelombang tersebut selanjutnya digunakan untuk pengukuran kurva kalibrasi kuersetin dan penetapan kadar flavonoid total ekstrak.

Kurva kalibrasi (Gambar 2) dibuat menggunakan larutan standar kuersetin pada konsentrasi 4, 6, 8, 10, dan 12 ppm. Absorbansi masing-masing konsentrasi berturut-turut adalah 0,2273; 0,3958; 0,4733; 0,5888; dan 0,7552. Peningkatan konsentrasi kuersetin diikuti oleh peningkatan absorbansi dan menghasilkan hubungan linear dengan persamaan regresi $y = 0,0624x - 0,0114$ serta koefisien determinasi $R^2 = 0,9855$. Pengukuran ekstrak bunga telang pada panjang gelombang 373,4 nm dilakukan sebanyak tiga kali dan menghasilkan absorbansi

masing-masing sebesar 0,3558; 0,3563; dan 0,3566, dengan rata-rata 0,3562. Berdasarkan persamaan regresi kurva kalibrasi kuersetin, diperoleh kadar flavonoid total ekstrak bunga telang sebesar 19,61 mg QE/g ekstrak, setara dengan 1,961%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang yang digunakan dalam formulasi memiliki kandungan flavonoid terukur. Nilai kadar flavonoid total sebesar 19,61 mg QE/g digunakan sebagai karakteristik kimia ekstrak sebelum diintegrasikan dengan ZnO dalam formulasi *mouthwash*.



Gambar 1. Spektrum UV-Vis larutan standar kuersetin 6 ppm dengan panjang gelombang maksimum 373,4 nm



Gambar 2. Kurva kalibrasi kuersetin pada panjang gelombang 373,4 nm

Karakteristik Fisikokimia *Mouthwash* Ekstrak Bunga Telang–ZnO

Karakteristik fisikokimia dievaluasi pada enam sediaan, yaitu kontrol negatif (K–), kontrol ekstrak (K-E), kontrol ZnO (K-ZnO), serta formula F1, F2, dan F3. K– merupakan basis *mouthwash* tanpa ekstrak dan ZnO; K-E mengandung ekstrak bunga telang 1,5% tanpa ZnO; sedangkan K-ZnO mengandung ZnO 0,05% tanpa ekstrak. Pada formula uji (Tabel 2), konsentrasi ZnO dipertahankan sebesar 0,05%, sedangkan konsentrasi ekstrak bunga telang ditingkatkan dari 0,5% pada F1, 1,0% pada F2, hingga 1,5% pada F3.

Seluruh sediaan menunjukkan pH yang relatif seragam pada rentang 6,08–6,15, dengan perubahan kecil seiring peningkatan konsentrasi ekstrak. Sebaliknya, viskositas formula kombinasi meningkat dari $2,36 \pm 0,06$ mPa·s pada F1 menjadi $2,68 \pm 0,07$ mPa·s pada F3. Secara deskriptif, peningkatan konsentrasi ekstrak lebih terlihat pengaruhnya terhadap viskositas dibandingkan pH. Seluruh formula tetap homogen dan tidak menunjukkan pemisahan fase selama periode pengamatan.

Tabel 2. Karakteristik fisikokimia *mouthwash* ekstrak bunga telang dan ZnO

Formula	Ekstrak (%)	ZnO (%)	pH	Viskositas (mPa·s)	Homogenitas	Pemisahan fase
K-	0	0	6,15 ± 0,04	2,08 ± 0,05	Homogen	Tidak ada
K-E	1,5	0	6,10 ± 0,05	2,57 ± 0,06	Homogen	Tidak ada
K-ZnO	0	0,05	6,12 ± 0,04	2,21 ± 0,05	Homogen	Tidak ada
F1	0,5	0,05	6,11 ± 0,04	2,36 ± 0,06	Homogen	Tidak ada
F2	1,0	0,05	6,10 ± 0,05	2,51 ± 0,06	Homogen	Tidak ada
F3	1,5	0,05	6,08 ± 0,05	2,68 ± 0,07	Homogen	Tidak ada

Keterangan: K- (kontrol negatif), K-E (kontrol ekstrak), K-ZnO (kontrol ZnO), dan data kuantitatif disajikan sebagai rerata ± SD (n = 3).

Aktivitas Antibakteri *Mouthwash* terhadap *Staphylococcus aureus*

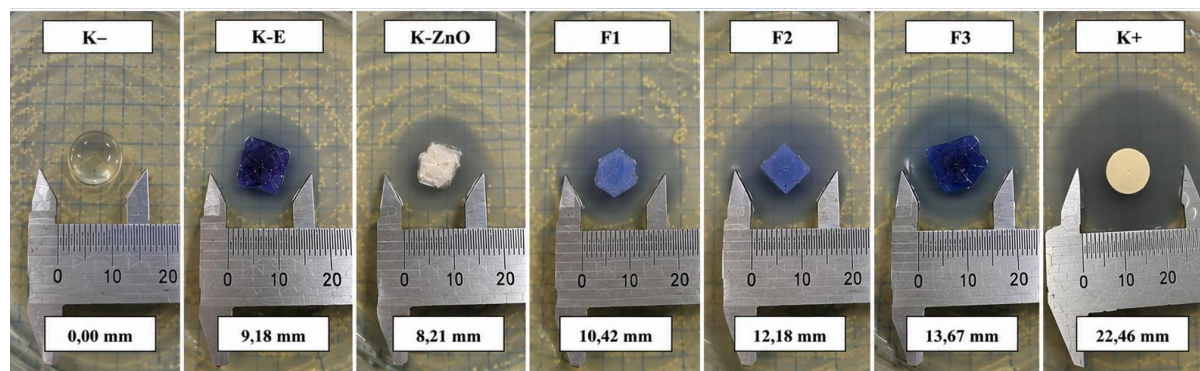
Aktivitas antibakteri sediaan *mouthwash* dievaluasi berdasarkan diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* (Tabel 3). Pengujian mencakup kontrol negatif (K-), kontrol ekstrak (K-E), kontrol ZnO (K-ZnO), tiga formula kombinasi (F1-F3), serta kontrol positif (K+). K- merupakan basis *mouthwash* tanpa ekstrak dan ZnO, K-E mengandung ekstrak bunga telang 1,5% tanpa ZnO, K-ZnO mengandung ZnO 0,05% tanpa ekstrak, sedangkan K+ menggunakan ciprofloxacin. F1, F2, dan F3 masing-masing mengandung ekstrak bunga telang 0,5%, 1,0%, dan 1,5% dengan konsentrasi ZnO tetap sebesar 0,05%.

Tabel 3. Aktivitas antibakteri *mouthwash* terhadap *Staphylococcus aureus*

Kelompok	Perlakuan	Diameter zona hambat (mm)	Kategori
K-	Basis <i>mouthwash</i> tanpa ekstrak dan ZnO	0,00 ± 0,00	Tidak menghambat
K-E	Ekstrak bunga telang 1,5% tanpa ZnO	9,18 ± 0,34	Sedang
K-ZnO	ZnO 0,05% tanpa ekstrak	8,21 ± 0,32	Sedang
F1	Ekstrak 0,5% + ZnO 0,05%	10,42 ± 0,36	Kuat
F2	Ekstrak 1,0% + ZnO 0,05%	12,18 ± 0,41	Kuat
F3	Ekstrak 1,5% + ZnO 0,05%	13,67 ± 0,45	Kuat
K+	Ciprofloxacin	22,46 ± 0,58	Sangat kuat

Data disajikan sebagai rerata ± SD (n = 3). Kategori diameter zona hambat: ≤5 mm = lemah; >5–10 mm = sedang; >10–20 mm = kuat; dan >20 mm = sangat kuat.

Kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat (0,00 ± 0,00 mm), sedangkan kontrol positif menghasilkan diameter zona hambat terbesar sebesar 22,46 ± 0,58 mm dan termasuk kategori sangat kuat. Kontrol ekstrak (K-E) menghasilkan zona hambat sebesar 9,18 ± 0,34 mm, sedangkan K-ZnO menghasilkan zona hambat 8,21 ± 0,32 mm; keduanya termasuk kategori sedang. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang dan ZnO secara individual memiliki aktivitas penghambatan pada kondisi pengujian yang digunakan.

Gambar 3. Pengukuran diameter zona hambat kontrol dan formula *mouthwash* ekstrak bunga telang-ZnO

Pada formula kombinasi (Gambar 3) terlihat peningkatan diameter zona hambat seiring peningkatan konsentrasi ekstrak pada konsentrasi ZnO yang tetap. F1 menghasilkan zona hambat $10,42 \pm 0,36$ mm, meningkat menjadi $12,18 \pm 0,41$ mm pada F2 dan mencapai $13,67 \pm 0,45$ mm pada F3. Ketiga formula tersebut termasuk dalam kategori aktivitas antibakteri kuat. Dibandingkan dengan K-ZnO, diameter zona hambat F1, F2, dan F3 masing-masing lebih tinggi sebesar 2,21; 3,97; dan 5,46 mm.

F3 menunjukkan aktivitas antibakteri tertinggi di antara formula kombinasi dan juga menghasilkan zona hambat yang lebih besar dibandingkan K-E maupun K-ZnO. Pola tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak bunga telang dari 0,5% menjadi 1,5% pada konsentrasi ZnO tetap 0,05% diikuti oleh peningkatan aktivitas penghambatan terhadap *S. aureus*. Meskipun demikian, hasil ini tidak secara langsung menunjukkan efek sinergis antara ekstrak bunga telang dan ZnO karena penetapan sinergisme memerlukan pendekatan pengujian dan analisis interaksi yang khusus.

4. PEMBAHASAN

Hasil karakterisasi ekstrak bunga telang menunjukkan kadar flavonoid total sebesar 19,61 mg QE/g ekstrak atau 1,961%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak yang digunakan dalam formulasi mengandung senyawa flavonoid yang dapat terukur menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Keberadaan kelompok senyawa tersebut sejalan dengan karakteristik kimia *Clitoria ternatea* yang diketahui kaya akan senyawa fenolik dan antosianin. Escher et al. [15] mengidentifikasi berbagai komponen fenolik dan antosianin tipe ternatin pada bunga telang, sedangkan Thuy et al. [16] melaporkan keberadaan berbagai turunan antosianin menggunakan UPLC/UV/MS. Dengan demikian, penetapan kadar flavonoid total memberikan dasar karakterisasi kimia ekstrak sebelum diaplikasikan dalam formulasi *mouthwash*. Namun, nilai flavonoid total tidak menggambarkan kadar masing-masing senyawa secara individual.

Karakteristik fisikokimia menunjukkan bahwa seluruh formula memiliki pH yang relatif seragam pada rentang 6,08–6,15, sehingga peningkatan konsentrasi ekstrak dari 0,5% hingga 1,5% tidak menghasilkan perubahan pH yang besar. Perubahan yang lebih jelas terlihat pada viskositas, yaitu meningkat dari $2,36 \pm 0,06$ mPa·s pada F1 menjadi $2,68 \pm 0,07$ mPa·s pada F3. Peningkatan tersebut menunjukkan secara deskriptif bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar perubahan viskositas sediaan. Pola ini sejalan dengan Iskandar et al. [7], yang menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ekstrak tumbuhan dalam formulasi *mouthwash* dapat memengaruhi karakteristik fisikokimia sediaan. Meskipun viskositas meningkat, seluruh formula tetap homogen dan tidak mengalami pemisahan fase selama periode pengamatan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak bunga telang hingga konsentrasi 1,5% masih dapat diintegrasikan dengan ZnO 0,05% tanpa menimbulkan ketidakstabilan fisik yang teramati.

Aktivitas antibakteri memperlihatkan pola peningkatan seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak pada formula yang mengandung ZnO tetap 0,05%. K- tidak menghasilkan zona hambat, sedangkan K-E dan K-ZnO masing-masing menghasilkan zona hambat $9,18 \pm 0,34$ mm dan $8,21 \pm 0,32$ mm. Pada formula kombinasi, diameter zona hambat meningkat dari $10,42 \pm 0,36$ mm pada F1, menjadi $12,18 \pm 0,41$ mm pada F2, dan mencapai $13,67 \pm 0,45$ mm pada F3. Aktivitas ekstrak bunga telang terhadap *S. aureus* sejalan dengan Satria et al. [21], yang melaporkan aktivitas antibakteri ekstrak *C. ternatea* terhadap *S. aureus* dan *S. mutans*. Temuan mengenai aktivitas biologis bunga telang terhadap mikroorganisme oral juga diperkuat oleh laporan aktivitas antibiofilm fraksi antosianinnya terhadap beberapa bakteri pembentuk biofilm oral [22].

Aktivitas pada K-ZnO menunjukkan bahwa ZnO pada konsentrasi 0,05% juga memberikan kontribusi terhadap penghambatan *S. aureus*. Mendes et al. [28] menjelaskan bahwa aktivitas antibakteri ZnO dapat melibatkan beberapa mekanisme, termasuk interaksi dengan permukaan sel bakteri, pembentukan *reactive oxygen species* (ROS), dan pelepasan ion Zn^{2+} . Aktivitas ZnO terhadap *S. aureus* juga didukung oleh Abdelghafar et al. [22], yang melaporkan bahwa nanopartikel ZnO dapat mengurangi pembentukan biofilm dan menekan karakteristik virulensi *S. aureus*. Mekanisme tersebut dapat menjelaskan adanya zona hambat pada kontrol ZnO dalam penelitian ini, meskipun besarnya aktivitas tetap dipengaruhi oleh konsentrasi dan kondisi formulasi. Peningkatan zona hambat dari F1 hingga F3 merupakan temuan penting karena konsentrasi ZnO dipertahankan tetap sebesar 0,05%, sedangkan konsentrasi ekstrak ditingkatkan secara bertahap. Dibandingkan K-ZnO, F3 menghasilkan zona hambat yang lebih besar, yaitu $13,67 \pm 0,45$ mm dibandingkan $8,21 \pm 0,32$ mm. Pola ini

menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak bunga telang pada kadar ZnO yang tetap diikuti peningkatan aktivitas antibakteri formulasi. Namun, hasil tersebut tidak dapat dinyatakan sebagai efek sinergis, karena penelitian ini tidak menggunakan metode khusus untuk mengevaluasi sinergisme antara ekstrak dan ZnO. Oleh karena itu, interpretasi yang lebih tepat adalah bahwa integrasi kedua komponen menghasilkan aktivitas antibakteri dan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak berkaitan secara deskriptif dengan peningkatan diameter zona hambat.

Secara keseluruhan, hasil penelitian memperlihatkan keterkaitan antara komposisi, karakteristik fisikokimia, dan aktivitas antibakteri *mouthwash*. Formula F3 dengan ekstrak 1,5% dan ZnO 0,05% menghasilkan diameter zona hambat tertinggi di antara formula kombinasi, sementara pH tetap relatif seragam, sediaan homogen, dan tidak terjadi pemisahan fase. Dengan demikian, peningkatan konsentrasi ekstrak hingga 1,5% masih dapat dipertahankan dalam sistem *mouthwash* dan diikuti peningkatan aktivitas penghambatan terhadap *S. aureus*. Karena hasil penelitian dianalisis secara deskriptif, perbedaan antarformula tersebut tidak diinterpretasikan sebagai perbedaan yang signifikan secara statistik.

5. KESIMPULAN

Ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) memiliki kadar flavonoid total sebesar 19,61 mg QE/g dan dapat diintegrasikan dengan ZnO 0,05% dalam sediaan *mouthwash* dengan karakteristik fisikokimia yang relatif stabil. Peningkatan konsentrasi ekstrak dari 0,5% hingga 1,5% hanya menghasilkan perubahan kecil pada pH, tetapi diikuti peningkatan viskositas dan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Formula F3 yang mengandung ekstrak 1,5% dan ZnO 0,05% menghasilkan diameter zona hambat tertinggi di antara formula kombinasi, yaitu $13,67 \pm 0,45$ mm, serta tetap homogen tanpa pemisahan fase. Hasil ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak pada kadar ZnO yang tetap berkaitan dengan peningkatan aktivitas antibakteri tanpa menyebabkan ketidakstabilan fisik yang teramati pada sediaan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Newman BA, Rosebrough CN, Tamashiro RA, Dias Ribeiro AP, Whitlock JA, Sidhu G, Aukhil I, Porral DY, Progulske-Fox A, Myntti MF, Wang GP. A randomized controlled trial to evaluate the effectiveness of a novel mouth rinse in patients with gingivitis. *BMC Oral Health* 2022;22:461. <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02518-2>.
- [2] Lin Y-C, Tsai C-F, Huang H-L. Effects of hypochlorous acid mouthwash on salivary bacteria including *Staphylococcus aureus* in patients with periodontal disease: a randomized controlled trial. *BMC Oral Health* 2023;23:698. <https://doi.org/10.1186/s12903-023-03358-4>.
- [3] Fahim MFM, Zarnigar P. Effect of prepared herbal mouthwash in maintaining the oral health of school children: A single-blind randomised control trial. *EXPLORE* 2024;20:535–43. <https://doi.org/10.1016/j.explore.2023.12.003>.
- [4] Montesani L, Montesani L, Mateo L, Daep C, Huber N, Isapour G, Zhang Y-P. Antibacterial and clinical effectiveness of a mouthwash with a novel active system of amine + zinc lactate + fluoride: a randomized controlled trial. *Clin Oral Investig* 2024;28:90. <https://doi.org/10.1007/s00784-023-05487-0>.
- [5] Sabarish R, A RL, Joseph RA, Palraj KK, Thayanidhi PM, Santhanakrishnan M. Evaluation of antibacterial and antifungal activities of a commercially available herbal mouthwash in accordance with the PN-EN 1040 and EN 1650 standards. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2025;111:116680. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2025.116680>.
- [6] Kumar RS, Ankola A V, Sankeshwari RM, Hampiholi V, Jalihal S, Pai Khot AJ, Santhosh VN, Ragu K. Clinical and microbial evaluation of mouthwash containing *Achyranthes aspera* and *Trachyspermum ammi*: A randomized controlled non-inferiority trial. *J Oral Biol Craniofac Res* 2024;14:522–9. <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2024.06.006>.
- [7] Iskandar B, Lukman A, Syaputra S, Al-Abrori UNH, Surboyono MDC, Lee C-K. Formulation, characteristics and anti-bacterial effects of *Euphorbia hirta* L. mouthwash. *J Taibah Univ Med Sci* 2022;17:271–82. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2021.08.009>.
- [8] Sakthivel A, Sankaran K, Rengasamy G, Vishnu Priya V, Sathishkumar P. Formulation of Mouthwash Using Combined Herbal Extracts to Control the Predominant Oral Pathogens and Biofilm. *J Herb Med* 2024;46:100905. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2024.100905>.
- [9] Suwandi T, Sundjojo M, Panjaitan CC, Hepziba ER, Setiabudi TO. Antibacterial effects of rosella petal extract (*Hibiscus sabdariffa* L.) in mouthwash formulation against *Streptococcus sanguinis* and

- Porphyromonas gingivalis Biofilms: An in vitro study. Saudi Dent J 2025;37:4. <https://doi.org/10.1007/s44445-025-00007-0>.
- [10] Kumar RS, Ankola A V, Nagamoti MB, Sankeshwari RM, Sutar KP, Jigan SI, Pai Khot AJ. Antibacterial and cytotoxicity properties of a polyherbal mouthwash containing Achyranthes aspera and Trachyspermum ammi against selected periodontal pathogens. J Ayurveda Integr Med 2024;15:101046. <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2024.101046>.
- [11] Mulyanti S, Laela DS, Vasall PRN, Permadi N, Aripin D, Amaliya A, Rukayadi Y, Julacha E. Antibacterial and Anti-Inflammatory Properties of Citrus aurantiifolia Essential Oil–Based Mouthwash: Potential and Cytotoxicity Concerns. Scientifica (Cairo) 2026;2026:5570684. <https://doi.org/10.1155/sci5/5570684>.
- [12] Harefa K, Ritonga AH, Aritonang B, Gurusinga R, Wulan S, Irmayani I. The Impact of Butterfly Pea Flower (Clitoria ternatea L.) Extract on Atherosclerosis Biomarker Profiles in Obese White Rats (Rattus norvegicus L.). J Biomed Transl Res 2024;10:7–14. <https://doi.org/10.14710/jbtr.v10i1.20281>.
- [13] Harefa K, Ritonga AH, Safitri R, Aritonang B. Anti-inflammatory Activity of Clitoria ternatea L. and Hibiscus sabdariffa L. Extract Combination in Reducing VCAM-1 Levels in Atherosclerosis. J Keperawatan Dan Fisioter 2024;7:128–36. <https://doi.org/10.35451/jkf.v7i1.2300>.
- [14] Harefa K, Ritonga AH, Safitri R, Aritonang B, Gurusinga R, Irmayani I, Wulan S. Butterfly Pea and Roselle Combination Extracts Reduce V-CAM, ICAM, and IL-6 Levels in High Fat Atherogenic Diet Rats. Indones Biomed J 2024;16:527–33. <https://doi.org/10.18585/inabj.v16i6.3361>.
- [15] Escher GB, Wen M, Zhang L, Rosso ND, Granato D. Phenolic composition by UHPLC-Q-TOF-MS/MS and stability of anthocyanins from Clitoria ternatea L. (butterfly pea) blue petals. Food Chem 2020;331:127341. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127341>.
- [16] Thuy NM, Minh VQ, Ben TC, Thi Nguyen MT, Ha HT, Tai N V. Identification of Anthocyanin Compounds in Butterfly Pea Flowers (Clitoria ternatea L.) by Ultra Performance Liquid Chromatography/Ultraviolet Coupled to Mass Spectrometry. Molecules 2021;26:4539. <https://doi.org/10.3390/molecules26154539>.
- [17] Fu X, Wu Q, Wang J, Chen Y, Zhu G, Zhu Z. Spectral Characteristic, Storage Stability and Antioxidant Properties of Anthocyanin Extracts from Flowers of Butterfly Pea (Clitoria ternatea L.). Molecules 2021;26:7000. <https://doi.org/10.3390/molecules26227000>.
- [18] Caroline Paz Gonçalves G, Lizandra Gomes Rosas A, Carneiro de Sousa R, Regina Rodrigues Vieira T, César de Albuquerque Sousa T, Ramires T, Ferreira Ferreira da Silveira T, Barros L, Padilha da Silva W, Renato Guerra Dias Á, da Rosa Zavareze E, Dillenburg Meinhart A. A green method for anthocyanin extraction from Clitoria ternatea flowers cultivated in southern Brazil: Characterization, in vivo toxicity, and biological activity. Food Chem 2024;435:137575. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137575>.
- [19] Sai-Ut S, Teksee A, Pongsetkul J, Sinthusamran S, Rawdkuen S. Optimization of ultrasonic assisted ethanolic extraction for natural pigments from butterfly pea flower applied in Thai dessert using Box-Behnken approach. Food Chem X 2024;22:101484. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101484>.
- [20] Indrianingsih AW, Wulanjati MP, Windarsih A, Bhattacharjya DK, Suzuki T, Katayama T. In vitro studies of antioxidant, antidiabetic, and antibacterial activities of Theobroma cacao, Annona muricata and Clitoria ternatea. Biocatal Agric Biotechnol 2021;33:101995. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101995>.
- [21] Satria D, Sofyanti E, Wulandari P, Fajarini, Pakpahan SD, Limbong SA. Antibacterial activity of Medan Butterfly pea (Clitoria ternatea L.) corolla extract against Streptococcus mutans ATCC®25175™ and Staphylococcus aureus ATCC®6538™. Pharmacia 4AD;69:195–202. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.69.e77076>.
- [22] Sathiaseelan A, Song KP, Tan HS, Choo WS. Antibiofilm activity of Clitoria ternatea flowers anthocyanin fraction against biofilm-forming oral bacteria. FEMS Microbiol Lett 2025;372:fnaf035. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaf035>.
- [23] Ray RR, Pattnaik S. Evaluating the antibacterial and antibiofilm activities of the extract of Clitoria ternatea petals, present in blue tea, against Alcaligenes faecalis. Pharmacol Res - Nat Prod 2026;10:100572. <https://doi.org/10.1016/j.prenap.2026.100572>.
- [24] Isfa B, Jamarun N, Emriadi E, Arief S, Ritonga AH, Tanjung DA, Sisca V. Characterization and Application of TiO₂/ZnO Nanoparticles as Pigments in Matt-Type Water-Based Paint. Int J Technol 2023;14:291–319. <https://doi.org/10.14716/ijtech.v14i2.5501>.
- [25] Ritonga AH, Santika I, Harahap HY, Aritonang B. Antibacterial Activity of Taro Leaves Extract Combined with ZnO and Organo-ZnO Against Staphylococcus aureus. Forte J 2025;5:137–46.

- <https://doi.org/10.51771/fj.v5i1.1197>.
- [26] Ritonga AH, Sisca V, Aritonang B, Meilani D, Putri GE, Siahaan EWB. Integrated PLA/LLDPE nanocomposites with compatibilizer and hydroxyapatite-zinc oxide: Mechanical, physical, thermal, and morphological properties. *South African J Chem Eng* 2025;52:1–7. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2025.01.005>.
 - [27] Ritonga AH, Aritonang B, Meilani D, Herlina, Sisca V, Putri GE, Siregar J, Siahaan EWB. Oleic acid-modified zinc oxide incorporated compatibilized PLA/LLDPE nanocomposites: Physical, mechanical, thermal, and morphological properties. *South African J Chem Eng* 2026;56:100869. <https://doi.org/10.1016/j.sajce.2026.100869>.
 - [28] Mendes CR, Dilarri G, Forsan CF, Sapata V de MR, Lopes PRM, de Moraes PB, Montagnolli RN, Ferreira H, Bidoia ED. Antibacterial action and target mechanisms of zinc oxide nanoparticles against bacterial pathogens. *Sci Rep* 2022;12:2658. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06657-y>.
 - [29] Abdelghafar A, Yousef N, Askoura M. Zinc oxide nanoparticles reduce biofilm formation, synergize antibiotics action and attenuate *Staphylococcus aureus* virulence in host; an important message to clinicians. *BMC Microbiol* 2022;22:244. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02658-z>.
 - [30] Barma MD, Muthupandiyan I, Samuel SR, Amaechi BT. Inhibition of *Streptococcus mutans*, antioxidant property and cytotoxicity of novel nano-zinc oxide varnish. *Arch Oral Biol* 2021;126:105132. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2021.105132>.
 - [31] Anita P, Sathyanarayana HP, Kumar K, Ramanathan K, Kailasam V. Antimicrobial efficacy of zinc oxide nanoparticle-coated aligners on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 2023;163:338–46. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2021.11.020>.
 - [32] Sevinc-Sasmaz C, Torlak E. Synthesis-dependent surface attachment and antimicrobial mechanisms of ZnO nanoparticles against oral pathogens. *Appl Surf Sci* 2026;749:167901. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2026.167901>.
 - [33] Pascual J, Mira Otal J, Torrent-Silla D, Porcar M, Vilanova C, Vivancos Cuadras F. A mouthwash formulated with o-cymen-5-ol and zinc chloride specifically targets potential pathogens without impairing the native oral microbiome in healthy individuals. *J Oral Microbiol* 2023;15:2185962. <https://doi.org/10.1080/20002297.2023.2185962>.