

Antibiofilm Effect of Rambutan Leaf Extract (*Nephelium lappaceum* L.) against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Treponema denticola* (in vitro)

Efek Antibiofilm Ekstrak Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Treponema denticola* (in vitro)

Garina Salsabila,¹ Abdul G. Souliissa,² Armelia S. Widyarman³

¹Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti, Jakarta, Indonesia

²Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Masyarakat Pencegahan, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti, Jakarta, Indonesia

³Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti, Jakarta, Indonesia
Email: abdul@trisakti.ac.id

Received: February 14, 2022; Accepted: March 23, 2022; Published on line: March 30, 2022

Abstract: Commonly, periodontal disease is caused by bacteria in subgingival plaque, such as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Treponema denticola*. Rambutan leaf (*Nephelium lappaceum* L.) contains phenolic compounds that can act as antibacterial; therefore, it can be an alternative for chemical treatment of this disease. This study aimed to determine the effect of rambutan leaf extract against *A. actinomycetemcomitans* and *T. denticola* biofilm adhesion. This was an experimental and laboratory study using the post-test only control group design. The biofilm adhesion resistance test was done by using the biofilm assay method with crystal violet staining in 24 hours of incubation time. The material used was rambutan leaf extract in concentrations of 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, and 3.125%. The optical density of biofilm was measured by using a microplate reader with a wavelength of 490 nm. Data were analyzed by using one-way ANOVA and Post-Hoc LSD ($p < 0.05$). The results showed that rambutan leaf extract was most effective in inhibiting biofilm adhesion at 100% of concentration with an average optical density of 0.028 against *A. actinomycetemcomitans*, and at 50% concentration with an average OD of 0.120 against *T. denticola*. In conclusion, rambutan leaf extract can inhibit biofilm adhesion of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Treponema denticola*.

Keywords: periodontal disease; rambutan leaf extract; *Nephelium lappaceum* L.; *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; *Treponema denticola*

Abstrak: Umumnya penyakit periodontal disebabkan oleh bakteri pada plak subgingiva, seperti *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Treponema denticola*. Alternatif untuk perawatan kimiawi penyakit ini dapat berupa obat herbal, seperti daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.). Ekstrak daun rambutan mengandung senyawa fenolik yang berkhasiat sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak daun rambutan terhadap perlekatan biofilm *A. actinomycetemcomitans* dan *T. denticola*. Jenis penelitian ialah eksperimental laboratoris dengan *post-test only control group design*. Uji hambatan perlekatan biofilm dilakukan dengan metode *biofilm assay* dan pewarnaan *crystal violet* dalam masa inkubasi 24 jam. Bahan uji ialah ekstrak daun rambutan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125%. *Optical density* biofilm kedua jenis bakteri diukur menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 490 nm. Data dianalisis dengan uji ANOVA satu jalan dan *Post-Hoc LSD* ($p < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun rambutan paling efektif dalam menghambat perlekatan biofilm pada konsentrasi 100% dengan rerata *optical density* 0,028 terhadap *A. actinomycetemcomitans* dan konsentrasi 50% dengan rerata OD 0,120 terhadap *T. denticola*. Simpulan penelitian ini ialah ekstrak daun rambutan dapat menghambat perlekatan biofilm *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Treponema denticola*.

Kata kunci: penyakit periodontal; ekstrak daun rambutan; *Nephelium lappaceum* L.; *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; *Treponema denticola*

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut dengan prevalensi yang cukup tinggi di dunia terutama di negara berkembang seperti Indonesia.¹ Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018, prevalensi periodontitis di Indonesia mencapai 74,1% pada usia ≥ 15 tahun.² Penyakit periodontal dapat bermanifestasi sebagai gingivitis dan berkembang menjadi periodontitis. Penyakit ini melibatkan jaringan penyangga gigi yaitu gingiva, ligamen periodontal, sementum, dan tulang alveolar.³ Gingivitis adalah peradangan pada gingiva yang bersifat reversibel, ditandai dengan adanya kemerahan dan pembengkakan. Pada periodontitis peradangan tersebut telah menyebar ke jaringan penyangga gigi, menyebabkan terjadinya kerusakan yang bersifat ireversibel pada ligamen periodontal, sementum, dan tulang alveolar. Kerusakan tersebut mengakibatkan hilangnya perlekatan jaringan ikat, yang ditandai dengan adanya poket periodontal.⁴

Etiologi utama penyakit periodontal ialah bakteri yang berkolonisasi membentuk biofilm patogen pada permukaan gigi, yaitu plak gigi.³ Mikrokoloni bakteri pada biofilm plak dikelilingi oleh matriks pelindung khusus yang melindunginya dari kerusakan eksternal dan zat beracun pada lingkungannya.^{5,6} Hal tersebut menjadikan bakteri yang terdapat pada biofilm plak lebih resisten terhadap antimikroba, dibandingkan dengan bakteri yang berada di luar plak pada rongga mulut.⁴ Bakteri yang berperan utama pada penyakit periodontal ialah bakteri plak subgingiva, yaitu bakteri anaerob Gram negatif seperti *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Treponema denticola*.^{3,4,6}

Aggregatibacter actinomycetemcomitans adalah bakteri Gram negatif fakultatif anaerob yang menyebabkan penyakit periodontal seperti *localized aggressive periodontitis* dan dapat menyebabkan resorpsi tulang.⁷ Beberapa faktor virulensi bakteri ini yaitu memiliki kemampuan untuk berkolonisasi di dalam rongga mulut, bertahan dalam poket periodontal, dan menyebabkan kerusakan pada jaringan lunak dan keras penyangga gigi.⁸ *Treponema denticola* merupakan jenis

spirochete yang dominan pada plak subgingiva. Bakteri ini berperan utama dalam terjadinya periodontitis kronis. *Treponema denticola* memiliki beberapa faktor virulensi yang dapat mengganggu sistem pertahanan tubuh dan merusak jaringan ikat periodontal.^{9,10}

Untuk mengatasi masalah kesehatan periodontal, perawatan mekanis dapat dimaksimalkan dengan penggunaan zat antimikroba kimiawi seperti obat kumur klorheksidin. Klorheksidin terbukti efektif melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif dalam rongga mulut. Namun, klorheksidin memiliki beberapa efek samping yaitu menyebabkan *staining* pada gigi dan lidah, memicu reaksi alergi, menimbulkan reaksi hipersensitif, dan jika dipakai dalam jangka waktu yang panjang dapat meningkatkan akumulasi kalkulus. Oleh karena itu, diperlukan alternatif antimikroba lain yang aman dan efektif untuk meminimalisir efek samping bahan kimia. Alternatif tersebut dapat berupa obat herbal yang berasal dari bahan alam.^{3,11} Telah banyak penelitian yang membuktikan khasiat antiinflamasi dan antibakteri dalam ekstrak dari berbagai tanaman yang dapat bermanfaat bagi kesehatan, salah satunya ialah rambutan.^{3,12}

Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) merupakan tanaman buah tropis yang tersebar di Indonesia. Seluruh bagian rambutan, baik yang dapat maupun tidak dapat dimakan mengandung berbagai komponen yang bermanfaat bagi kesehatan manusia.¹² Hasil penelitian menyatakan bahwa daun rambutan memiliki kemampuan menangkal radikal bebas, berpotensi sebagai anti-diabetes, dan antibakteri.¹³ Daun rambutan dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat herbal karena ekstraknya mengandung senyawa fenolik yang dapat berkhasiat sebagai antibakteri.¹⁴ Beberapa hasil penelitian menyatakan bahwa ekstrak daun rambutan memiliki efek antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif, seperti *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa multiresistant* (PAMR), *methicillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA), *Shigella dysenteriae*, dan *Bacillus cereus*.¹⁵⁻¹⁸

Pada saat ini belum banyak penelitian yang menggunakan ekstrak daun rambutan terhadap bakteri patogen rongga mulut. Oleh karena itu, penulis ingin mengetahui efek antibakteri ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Treponema denticola* sebagai bakteri patogen penyebab penyakit periodontal.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan ialah eksperimental laboratorik secara *in vitro* dengan *post-test only control group design* yang dilaksanakan di Laboratorium *Microbiology Center of Research and Education* (MiCORE) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti, Jakarta, Indonesia pada bulan Oktober–November 2021. Sampel yang digunakan ialah ekstrak daun rambutan dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro), serta stok *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC 29522 dan stok *Treponema denticola* ATCC 35405 dari laboratorium MiCORE FKG Universitas Trisakti. Uji determinasi daun rambutan dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Ekstrak etanol daun rambutan dibuat dan dilakukan uji analisis fitokimia di Balitro. Uji fitokimia dilakukan dengan menambahkan pereaksi yang sesuai dengan senyawa masing-masing untuk menguji ada atau tidaknya senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan glikosida pada ekstrak daun rambutan.

Pembuatan ekstrak daun rambutan dilakukan dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Daun rambutan dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan selama dua hari di udara terbuka, lalu dimasukkan ke alat *grinder* dan dihaluskan sampai menjadi serbuk. Serbuk daun rambutan diekstraksi dengan teknik maserasi, yaitu serbuk direndam dengan etanol 70%, kemudian diaduk selama 3 jam dan didiamkan 24 jam. Sampel disaring menggunakan kertas saring sampai diperoleh larutan yang jernih. Kemudian sampel dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* untuk menguapkan etanol, hingga didapatkan ekstrak kental

tanpa sisa pelarut. Setelah itu, ekstrak daun rambutan diencerkan dengan DMSO 10% untuk mendapatkan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125%.

Aggregatibacter actinomycetemcomitans dan *Treponema denticola* dikultur pada medium BHI-B (Sigma Aldrich, Amerika), kemudian diinkubasi di dalam *anaerobic jars* (Oxoid, Kanada) dalam kondisi anaerob selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Setelah dikultur, jumlah bakteri dihitung dengan *microplate reader* (Safas, Monaco) sehingga mencapai jumlah standar McFarland 0,5 atau setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL yang sesuai dengan penelitian sebelumnya oleh Chigurupati et al (2019).¹³

Kultur *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Treponema denticola* didistribusikan ke dalam *96-well plate* (Nest Biotech, China) dengan mikropipet (Lambda, Amerika) lalu diinkubasi di dalam inkubator (Jisico, Seoul) selama 2x24 jam pada suhu 37°C dalam kondisi anaerob. Setelah inkubasi, media dari kultur dibuang sampai hanya tersisa lapisan biofilm yang melekat pada dasar *well plate*. Ekstrak daun rambutan dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125% didistribusikan ke dalam *well plate* yang sudah terdapat lapisan biofilm. Pada penelitian ini, klorheksidin 0,2% digunakan sebagai kontrol positif dan biofilm tanpa perlakuan sebagai kontrol negatif. *Well plate* diinkubasi dan diobservasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan kondisi anaerob. Setelah inkubasi selesai, sisa ekstrak daun rambutan dibuang dan *well plate* dibilas dengan *phosphate buffered saline* (Biomatik, Kanada). Lalu *well plate* dilewatkan di atas api untuk fiksasi. *Crystal violet* 0,05% w/v (Merck, Amerika) didistribusikan ke dalam *well plate* dan didiamkan selama 15 menit, kemudian dibuang dan *well plate* dibilas dengan *phosphate buffered saline* (PBS). Etanol 70% didistribusikan sebanyak 200 µL, dan densitas biofilm diukur menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 490 nm.

Data yang telah dikumpulkan dianalisis dengan uji normalitas menggunakan metode Shapiro-Wilk. Apabila hasil data terdistribusi normal yaitu $p > 0,05$, maka dilanjutkan

dengan metode ANOVA satu jalan dengan tingkat kemaknaan $p < 0,05$. Bila terdapat perbedaan bermakna, analisis dilanjutkan lagi dengan uji *Post-Hoc* LSD (*Least Significant Difference*).

HASIL PENELITIAN

Tabel 1 menyajikan hasil uji fitokimia secara kualitatif yang menunjukkan bahwa ekstrak daun rambutan mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, dan glikosida.

Hasil uji *biofilm assay* menunjukkan bahwa semua konsentrasi dapat menghambat perlekatan biofilm *A. actinomycetemcomitans* (Gambar 1) dan *T. denticola* (Gambar 2). Seluruh data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan terdapat perbedaan bermakna dengan kontrol negatif ($p < 0,05$). Konsentrasi ekstrak daun rambutan yang paling efektif dalam meng-

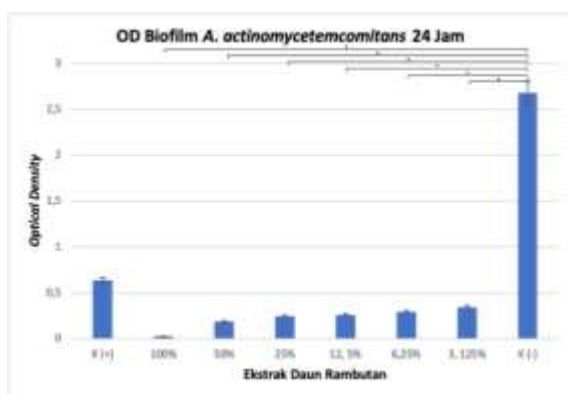
hambat perlekatan biofilm *A. actinomycetemcomitans* dan *T. denticola* ialah konsentrasi 100% dengan rerata *optical density* 0,028 terhadap *A. actinomycetemcomitans* dan konsentrasi 50% dengan rerata OD 0,120 terhadap *T. denticola*.

BAHASAN

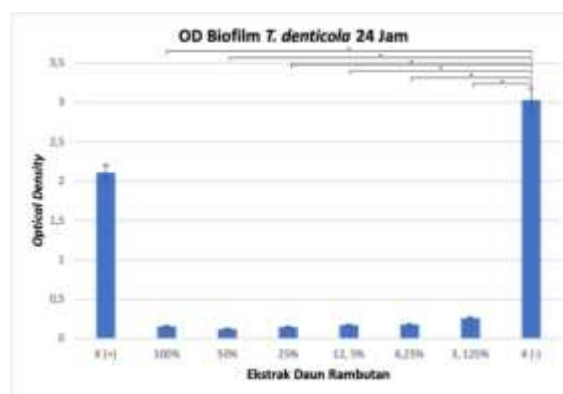
Hasil penelitian uji *biofilm assay* menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi ekstrak daun rambutan dapat menghambat perlekatan biofilm *A. actinomycetemcomitans* dan *T. denticola* pada masa inkubasi 24 jam, serta lebih efektif dalam menghambat perlekatan biofilm *A. actinomycetemcomitans* dan *T. denticola* dibandingkan dengan klorheksidin, karena rerata *optical density* dari perlakuan ekstrak daun rambutan lebih rendah daripada kontrol positif.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak daun rambutan di Balitro

Sampel	Jenis Pengujian	Hasil Pengujian	Metode Pengujian
Ekstrak daun rambutan	Uji fitokimia:		Kualitatif
	- Alkaloid	+	
	- Saponin	+	
	- Tanin	+	
	- Fenolik	+	
	- Flavonoid	+	
	- Triterpenoid	+	
	- Steroid	-	
	- Glikosida	+	



Gambar 1. Grafik hasil rerata densitas biofilm *A. actinomycetemcomitans* setelah masa inkubasi 24 jam. Terdapat perbedaan bermakna antara kontrol negatif dengan seluruh konsentrasi ekstrak daun rambutan ($*p < 0,05$)



Gambar 2. Grafik hasil rerata densitas biofilm *T. denticola* setelah masa inkubasi 24 jam. Terdapat perbedaan bermakna antara kontrol negatif dengan seluruh konsentrasi ekstrak daun rambutan ($*p < 0,05$)

Penelitian sebelumnya oleh Sulistiyaningsih et al¹⁵ yang menguji efek antibakteri ekstrak daun rambutan terhadap bakteri Gram negatif yang berbeda, yaitu *Pseudomonas aeruginosa multiresistant* dengan metode mikrodilusi. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa ekstrak daun rambutan memiliki efek antibakteri terhadap PAMR dan terdapat nilai MIC pada konsentrasi 2,5% serta MBC pada konsentrasi 5%. Aktivitas antibakteri ekstrak daun rambutan kemungkinan berasal dari senyawa flavonoid, polifenol, saponin, dan tanin. Namun, penelitian ini belum dapat dibandingkan dengan penelitian terdahulu, karena belum ada penelitian yang menguji efek antibiofilm ekstrak daun rambutan terhadap bakteri patogen penyakit periodontal seperti *A. actinomycetemcomitans* dan *T. denticola*.

Berdasarkan hasil uji fitokimia, ekstrak daun rambutan yang digunakan pada penelitian ini mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, dan glikosida; masing-masing mempunyai efek berbeda yang saling melengkapi. Alkaloid mengganggu pembentukan peptidoglikan pada sel bakteri dan menyebabkan kematian sel dengan memecah dinding sel bakteri.¹⁹ Saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga menyebabkan lisis sel bakteri. Tanin mengganggu pembentukan dinding sel, menonaktifkan enzim bakteri, dan mengganggu jalannya protein pada sel bakteri sehingga menyebabkan lisis sel bakteri.²⁰ Fenolik menghambat biosintesis asam nukleat dan metabolisme energi bakteri, sehingga memiliki efek antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan negatif.²¹ Flavonoid sebagai antibakteri menghambat sintesis asam nukleat, fungsi membran sel, dan metabolisme energi pada sel bakteri.²² Triterpenoid mengakibatkan rusaknya porin pada sel bakteri, dengan cara bereaksi dengan porin pada membran luar dinding sel bakteri dan membentuk ikatan polimer yang kuat.²³ Glikosida merusak dinding sel bakteri yaitu dengan berpenetrasi ke dalam dinding sel.²⁴

SIMPULAN

Ekstrak daun rambutan (*Nephelium*

lappaceum L.) dapat menghambat perlekatan biofilm *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan *Treponema denticola*. Konsentrasi ekstrak daun rambutan yang paling efektif ialah konsentrasi 100% terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dan konsentrasi 50% terhadap *Treponema denticola*.

Diharapkan adanya penelitian lebih lanjut yang menguji ekstrak daun rambutan terhadap bakteri patogen lain serta diperlukan uji toksisitas untuk mengetahui efek samping ekstrak daun rambutan terhadap rongga mulut.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

Ucapan terima kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada semua pihak yang terlibat dan mendukung jalannya penelitian ini di Laboratorium *Microbiology Center of Research and Education (MiCORE)* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti.

DAFTAR PUSTAKA

1. Susanto A, Carolina DN, Amaliya A, Setia Pribadi IM, Miranda A. Periodontal health status and treatment needs of the community in Indonesia: A cross sectional study. *J Int Oral Health*. 2020; 12(2):114-9.
2. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Riskesmas* 2018. Jakarta: Kemenkes RI; 2018.
3. Milovanova-Palmer J, Pendry B. Is there a role for herbal medicine in the treatment and management of periodontal disease? *J Herb Med*. 2018;12:33-48.
4. Harvey JD. Periodontal microbiology. *Dental Clinics North Am*. 2017;61(2):253-69.
5. Hernández-Jiménez E, del Campo R, Toledano V, Vallejo-Cremades MT, Muñoz A, Largo C, et al. Biofilm vs. planktonic bacterial mode of growth: Which do human macrophages prefer? *Biochem Biophys Res Commun*. 2013;441(4): 947-52.
6. Vargas SAI, Ilyina A, Segura CEP, Silva BY, Méndez GL. Etiology and microbiology

- of periodontal diseases: a review. *African J Microbiol Res.* 2015;9(48): 2300-6.
7. Gholizadeh P, Pormohammad A, Eslami H, Shokouhi B, Fakhrzadeh V, Kafil HS. Oral pathogenesis of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Microbial Pathogenesis.* 2017;113:303-11.
 8. Malik R, Changela R, Krishan P, Gugnani S, Bali D. Virulence factors of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* – a status update. *J Int Clin Dent Res Organ.* 2015;7(2):137-45.
 9. Grenier D. Binding properties of *Treponema denticola* lipooligosaccharide. *J Oral Microbiol.* 2013;5(1):215-17.
 10. Chukkapalli SS, Rivera MF, Velsko IM, Lee JY, Chen H, Zheng D, et al. Invasion of oral and aortic tissues by oral spirochete *Treponema denticola* in ApoE^{-/-} mice causally links periodontal disease and atherosclerosis. *Infection and Immunity.* 2014;82(5):1959–1967.
 11. Jangid K, Doraiswamy JN, Saji VS, Malaiappan S. Efficacy of herbal mouthwashes compared to chlorhexidine in gingivitis – a systematic review. *International J Ethnobiol Ethnomed.* 2014;1(1):1-12.
 12. Basyuni M, Wati R. Distribution and occurrence of polyisoprenoids in rambutan (*Nephellium lappaceum*). *IOP Conference Series Earth and Environmental Science* 101(1):012001. Doi:10.1088/1755-1315/101/1/012001
 13. Chigurupati S, Vijayabalan S, Selvarajan KK, Hashish NE, Mani V, Ahmed ES, et al. Identification of *Nephelium lappaceum* leaves phenolic and flavonoid component with radical scavenging, antidiabetic and antibacterial potential. *Indian J Tradit Knowl.* 2019;18(2):360–365.
 14. Monrroy M, Araújo O, García JR. Active compound identification in extracts of *N. lappaceum* peel and evaluation of antioxidant capacity. *J Chem.* 2020; 2020:1-14.
 15. Sulistiyarningsih S, Mudin SN, Wicaksono IA, Budiman A. Antibacterial activity of ethanol extract and fraction of Rambutan leaf (*Nephelium lappaceum*) against *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistant. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol.* 2018;8(2):257-61.
 16. Ratna R, Base NH, Husnul DR. Uji daya hambat ekstrak etanol daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal Kesehatan Yamasi Makassar.* 2018;2(2).
 17. Maradona D. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun durian (*Durio zibethinus* L.), daun lengkung (*Dimocarpus longan* Lour), dan daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 [Skripsi]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah; 2013.
 18. Sulistiyarningsih, Afini AP, Wicaksono IA. Evaluation of ethanolic extract and fractions of rambutan leaves (*Nephelium lappaceum*) against *Shigella dysenteriae* and *Bacillus cereus* as anti diarrhea agent. *J Pharm Sci Res.* 2018; 3:225-30.
 19. Sebastian J, Widyarman AS. Roselle flower petals extract inhibits periodontal pathogenic biofilms. *J Dentomaxillofac Sci.* 2021;6(2):102-5.
 20. Sapara TU, Waworuntu O, Juliatri. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmacon.* 2016;5(4):10-7.
 21. Widyarman AS, Suhaim OP, Nandary D, Theodora CF. Pomegranate juice inhibits periodontal pathogens biofilm in vitro. *Sci Dent J.* 2018;2(3):101-8.
 22. Nomer NMGR, Duniaji AS, Nociantri KA. Kandungan senyawa flavonoid dan antosianin ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) serta aktivitas antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan.* 2019; 8(2):216–225.
 23. Rini AA, Supriatno, Rahmatan H. Skrining fitokimia dan uji antibakteri ekstrak etanol buah kawista (*Limonia acidissima* L.) dari daerah kabupaten Aceh Besar terhadap bakteri *Escherichia coli*. *J Ilm Mhs Kegur dan Ilmu Pendidik Unsyiah.* 2017;2(1):1-12.
 24. Jannah R, Husni MA, Nursanty R. Inhibition test of methanol extract from soursop leaf (*Annona muricata* Linn.) against *Streptococcus mutans* bacteria. *Jurnal Natural.* 2017;17(1):23-30.