



Indonesian Dental Association

Journal of Indonesian Dental Association

<http://jurnal.pdgi.or.id/index.php/jida>
ISSN: 2621-6183 (Print); ISSN: 2621-6175 (Online)



Research Article

Antibiofilm Effect of Rambutan Leaf Extract (*Nephelium lappaceum* L.) on Selected Periodontal Pathogens

Syarifah Aulia Maulina¹, Abdul Gani Soulissa^{2§}, Armelia Sari Widyarman³

¹ Undergraduate Student, Faculty of Dentistry, Universitas Trisakti, Indonesia

² Department of Preventive and Public Health Dentistry, Faculty of Dentistry, Universitas Trisakti, Indonesia

³ Department of Microbiology, Faculty of Dentistry, Universitas Trisakti, Indonesia

Received date: September 3, 2022. Accepted date: November 11, 2022. Published date: January 9, 2023.

KEYWORDS

antibacterial;
biofilm;
Fusobacterium nucleatum;
periodontal disease;
Porphyromonas gingivalis;
rambutan leaf extract
(*Nephelium lappaceum* L.)

ABSTRACT

Introduction: In Indonesia, periodontal disease is one of the dental and oral diseases with the highest prevalence. Bacteria in subgingival plaque can cause periodontal disease, such as *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*. Herbal medicine has potential as an alternative in the treatment of periodontal disease, for example, rambutan leaves (*Nephelium lappaceum* L.) are known to have antibacterial properties because they contain flavonoids, tannins, and saponins. **Objective:** To determine the effects of rambutan leaf extract (*Nephelium lappaceum* L.) on development of *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* biofilms. **Methods:** This study was carried out using the biofilm assay method with crystal violet staining and rambutan leaf extract (*Nephelium lappaceum* L.) with concentrations of 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, and 3.125% were used as the test material. A microplate reader with a wavelength of 490 nm was used to measure the biofilm density of *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 and *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586. The data obtained were then analyzed statistically using one-way analysis of variance (ANOVA), with a significance level of $p < 0.05$. **Results:** The most effective concentration of rambutan leaf extract for inhibiting biofilm development at 24 hours incubation was a 100% concentration with an average optical density (OD) of 0.147 against *Porphyromonas gingivalis* and a 100% concentration with an average OD of 0.077 against *Fusobacterium nucleatum*. **Conclusion:** Rambutan leaf extract (*Nephelium lappaceum* L.) is capable of inhibiting the development of *Porphyromonas gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum* biofilms, respectively.

[§] Corresponding Author

E-mail address: abdul@trisakti.ac.id (Soulissa AG)

DOI: [10.32793/jida.v5i2.924](https://doi.org/10.32793/jida.v5i2.924)

Copyright: ©2023 Maulina SA, Soulissa AG, Widyarman AS. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium provided the original author and sources are credited.

KATA KUNCI

antibakteri;
biofilm;
Fusobacterium nucleatum;
penyakit periodontal;
Porphyromonas gingivalis;
ekstrak daun rambutan
(*Nephelium lappaceum* L.)

ABSTRAK

Pendahuluan: Di Indonesia, penyakit periodontal menjadi salah satu penyakit gigi dan mulut dengan prevalensi tertinggi. Bakteri pada plak subgingiva dapat menyebabkan terjadinya penyakit periodontal, seperti *Porphyromonas gingivalis* serta *Fusobacterium nucleatum*. Obat herbal memiliki potensi sebagai alternatif dalam perawatan penyakit periodontal, sebagai contoh yaitu daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang diketahui memiliki sifat antibakteri karena mengandung flavonoid, tanin, dan saponin. **Tujuan:** Untuk mengetahui efek ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap pembentukan biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan *Fusobacterium nucleatum*. **Metode:** Penelitian ini dilaksanakan dengan metode biofilm assay dengan pewarnaan crystal violet dan ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125% yang digunakan sebagai bahan uji. *Microplate reader* dengan panjang gelombang 490 nm digunakan untuk mengukur densitas biofilm *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 dan *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586. Data yang didapatkan kemudian dianalisis secara statistik menggunakan analisis varians satu arah (ANOVA), dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$. **Hasil:** Konsentrasi ekstrak daun rambutan yang paling efektif menghambat pembentukan biofilm pada inkubasi 24 jam adalah konsentrasi 100% dengan rata-rata optical density (OD) 0,147 terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan konsentrasi 100% dengan rata-rata OD 0,077 terhadap *Fusobacterium nucleatum*. **Kesimpulan:** Ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) dapat menghambat pembentukan biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan *Fusobacterium nucleatum*.

PENDAHULUAN

Penyakit periodontal menjadi salah satu penyakit gigi dan mulut yang tersering ditemukan di dunia dengan prevalensi yang cukup tinggi, yaitu sekitar 20–50% dari populasi global.^{1,2} Salah satu negara dengan prevalensi penyakit periodontal yang tinggi adalah Indonesia. Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018, prevalensi terjadinya penyakit periodontal di Indonesia sebesar 74,1% pada responden usia ≥ 15 tahun.³ Pada penyakit periodontal terjadi peradangan kronis pada jaringan pendukung gigi yang bersifat progresif serta ditandai dengan terbentuknya poket.⁴ Peradangan yang terlokalisir hanya pada gingiva disebut sebagai gingivitis. Namun, apabila peradangan berlanjut dapat menyebabkan hilangnya perlekatan jaringan pendukung gigi, kerusakan ligamen periodontal dan tulang alveolar, serta terbentuknya poket periodontal maka disebut sebagai periodontitis.⁵

Bakteri pada plak subgingiva memiliki peran utama terhadap terjadinya penyakit periodontal. Bakteri anaerob Gram negatif adalah bakteri yang umum terlibat pada penyakit periodontal, seperti *Porphyromonas gingivalis* dan *Fusobacterium nucleatum*.⁵ Faktor virulensi yang dimiliki oleh *Porphyromonas gingivalis* memungkinkannya untuk bertahan hidup dengan memodulasi respons imun dan inflamasi tubuh serta merusak jaringan periodontal.⁶ *Fusobacterium nucleatum* berperan sebagai penghubung antara koloni awal dan koloni sekunder dalam pembentukan plak gigi. Apabila bakteri ini tidak ada, maka jumlah bakteri koloni akhir akan berkurang secara signifikan.^{6,7}

Kontrol plak dapat dilakukan sebagai perawatan penyakit periodontal, baik secara mekanis maupun kimiawi seperti obat kumur antimikroba berupa klorheksidin yang efektif membunuh bakteri-bakteri di rongga mulut. Namun, terdapat efek samping pada penggunaan klorheksidin dalam jangka panjang, yaitu menyebabkan staining pada gigi dan lidah, meningkatkan hipersensitifitas mulut dan memicu reaksi alergi, meningkatkan akumulasi kalkulus, serta menimbulkan resistensi bakteri.⁸ Obat herbal telah umum digunakan sebagai pencegahan dan pengobatan berbagai penyakit karena dianggap alami, aman, dan biayanya terjangkau sehingga sangat menguntungkan terutama bagi individu dengan status sosial ekonomi yang rendah.⁹ Selain itu, obat herbal memiliki potensi yang besar untuk mengobati penyakit periodontal sehingga dapat menjadi solusi alternatif dari efek samping obat-obatan kimia pada perawatan periodontal. Beberapa penelitian telah membuktikan khasiat antibakteri dari berbagai tanaman dalam bidang kesehatan, salah satunya adalah rambutan.^{8,10}

Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menjadi obat tradisional yang memiliki banyak khasiat dan semua bagiannya termasuk daun, kulit buah, dan biji dilaporkan mengandung konstituen fitokimia yang penting. Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa daun rambutan memiliki efek antioksidan, antidiabetes, dan antimikroba.¹⁰ Beberapa kandungan senyawa pada daun rambutan, yaitu flavonoid, polifenol, tanin, saponin, monoterpen, dan seskuiterpen diketahui memiliki efek antibakteri.^{11,12,13,14}

Chigurupati *et al.* (2019) telah melakukan penelitian yang menyatakan bahwa dengan hasil yang menunjukkan ekstrak daun rambutan mengandung efek antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, dan *Neisseria gonorrhoeae*.¹⁰ Selain itu, Sulistyaningsih *et al.* (2018) melaporkan bahwa terdapat efek antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa multiresistant* pada ekstrak daun rambutan.¹² Namun, belum ada penelitian mengenai efek antibiofilm ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Fusobacterium nucleatum* sebagai bakteri patogen penyakit periodontal sehingga dilakukannya penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) terhadap pembentukan biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan *Fusobacterium nucleatum* secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan dengan jenis penelitian eksperimental laboratorium 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. Daun rambutan didapatkan dari perkebunan Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro), Bogor, Jawa Barat, Indonesia. Pembuatan ekstrak etanol daun rambutan dan uji analisis fitokimia secara kualitatif dilakukan di Balitro.

Ekstrak Daun Rambutan

Teknik maserasi dengan pelarut etanol 70% digunakan untuk membuat ekstrak daun rambutan. Daun rambutan dibersihkan dengan air mengalir, lalu daun tersebut dikeringkan di udara terbuka selama dua hari. Selanjutnya, daun rambutan yang kering dimasukkan ke alat grinder sampai menjadi serbuk. Kemudian serbuk daun rambutan dimaserasi, yaitu direndam dengan menggunakan etanol 70% dan dilakukan pengadukan selama 3 jam, lalu larutan tersebut dibiarkan selama 24 jam. Setelah itu, larutan hasil maserasi dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring dan proses tersebut diulang sampai didapatkan cairan yang jernih tidak berwarna. Ekstrak yang kental dan bebas dari pelarut diperoleh setelah filtrat dievaporasi menggunakan *rotatory evaporator*. Setelah itu, ekstrak daun rambutan tersebut dilakukan pengenceran dengan dimetil sulfoksida (DMSO) 10% untuk mendapatkan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125%.

Kultur *Porphyromonas gingivalis* dan *Fusobacterium nucleatum*

Porphyromonas gingivalis ATCC 33277 dan *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586 dikultur secara

terpisah pada *medium brain heart infusion broth* atau BHI-B (Sigma Aldrich, Amerika), lalu kultur tersebut dilakukan inkubasi selama 3x24 jam pada suhu 37°C dalam suasana anaerob menggunakan *anaerobic jar* (Oxoid, Kanada). Setelah itu, hitung jumlah bakteri pada suspensi bakteri tersebut menggunakan *microplate reader* (MP96 SAFAS, Monaco) sehingga mencapai jumlah Mc Farland 0,5 yang setara dengan 1,5 x 10⁸ CFU/mL.

Biofilm Assay

Porphyromonas gingivalis dan *Fusobacterium nucleatum* yang sudah di kultur didistribusikan ke dalam 96-well plate (Nest Biotech, China) menggunakan mikropipet (Lambda, Amerika) dan lakukan inkubasi menggunakan inkubator (Jisico, Seoul) selama 2x24 jam dengan suhu 37°C dalam kondisi anaerob. Setelah itu, media dari kultur bakteri dibuang agar pada dasar permukaan well plate menyisakan lapisan biofilm. Kemudian, well plate yang berisi lapisan biofilm dimasukkan berbagai konsentrasi yang berbeda dari ekstrak daun rambutan (konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125%). Penelitian ini menggunakan klorheksidin dengan konsentrasi 0,2% sebagai kontrol positif dan biofilm tanpa perlakuan sebagai kontrol negatif. Setelah itu, well plate tersebut diinkubasi selama 24 jam dalam kondisi anaerob. Ekstrak daun rambutan yang tersisa dibuang, lalu well plate dibilas dengan larutan *Phosphate Buffer Saline* atau PBS (Biomatik, Kanada) dan difiksasi dengan cara dilewatkan diatas api. *Crystal violet* (0,05% w/v) didistribusikan dan diamkan selama 15 menit di dalam well plate, kemudian sisa *Crystal violet* (Merck, Amerika) dibuang dan dibilas menggunakan PBS. Setelah itu, distribusikan etanol 70% sebanyak 200 µL dan gunakan *microplate reader* (Safas, Monaco) dengan panjang gelombang 490 nm untuk mengukur densitas biofilm pada well plate.

Analisis Statistik

Analisa statistik dilakukan menggunakan SPSS ver.26 (IBM, Armonk, NY), diawali dengan menganalisis data yang telah dikumpulkan dengan uji normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk*. Data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$) kemudian dilakukan uji *One-Way ANOVA*. Tingkat kemaknaan yang digunakan pada *One-Way ANOVA* adalah ($p < 0,05$). Data yang memiliki perbedaan bermakna kemudian dianalisis menggunakan uji *Post Hoc* LSD dengan tingkat signifikansi ($p < 0,05$).

HASIL

Hasil uji analisis fitokimia secara kualitatif menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, serta glikosida pada ekstrak daun rambutan (Tabel 1.). Hasil

biofilm assay menunjukkan bahwa semua konsentrasi ekstrak daun rambutan dapat menghambat pembentukan biofilm *Porphyromonas gingivalis* (Gambar 1) dan *Fusobacterium nucleatum* (Gambar 2) secara signifikan pada semua masa inkubasi dibandingkan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$). Konsentrasi ekstrak daun rambutan yang paling efektif menghambat pembentukan biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan *Fusobacterium nucleatum* pada masa inkubasi 24 jam adalah konsentrasi 100% dengan rata-rata optical density (OD) 0,147 terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan rata-rata OD 0,077 terhadap *Fusobacterium nucleatum*.

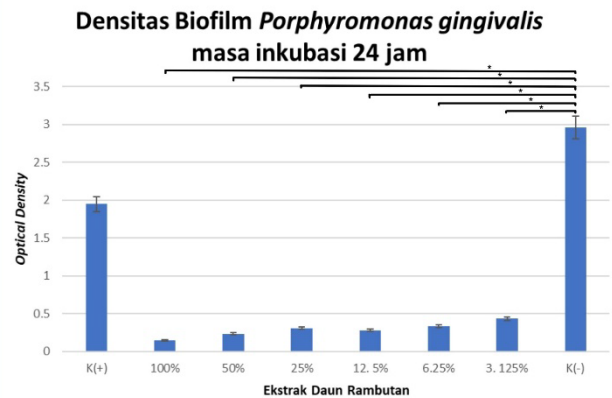
Tabel 1. Hasil uji fitokimia

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

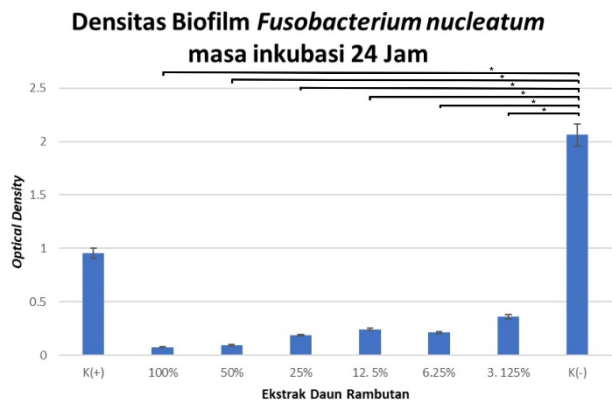
PEMBAHASAN

Hasil biofilm assay menunjukkan bahwa semua konsentrasi ekstrak daun rambutan mampu menghambat perlekatan biofilm baik *Porphyromonas gingivalis* maupun *Fusobacterium nucleatum* pada semua masa inkubasi. Selain itu, pada penelitian ini ekstrak daun rambutan lebih efektif dibandingkan dengan klorheksidin dalam menghambat perlekatan biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan *Fusobacterium nucleatum* karena hasil pengukuran OD ekstrak daun rambutan lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif.

Penelitian Sulistiyansih *et al.* (2018) telah menguji ekstrak daun rambutan dengan efek antibakterinya terhadap bakteri yang berbeda, yaitu *Pseudomonas aeruginosa multiresistant* dengan metode mikrodilusi. Penelitian tersebut menyatakan bahwa terdapat efek antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa multiresistant* pada ekstrak daun rambutan dengan nilai MIC dan MBC di konsentrasi 2,5—5%. Aktivitas antibakteri pada ekstrak daun rambutan diduga karena adanya senyawa flavonoid, saponin, dan tanin.¹² Demikian juga dengan penelitian Garina *et al.* yang menguji efek antibiofilm ekstrak daun rambutan terhadap bakteri *Aggritabacter actinomyetemcomitans* dan *Treponema denticola*. Penelitian tersebut menyatakan bahwa ekstrak daun rambutan dapat menghambat perlekatan biofilm bakteri *Aggritabacter*



Gambar 1. Grafik menunjukkan efek hambat ekstrak daun rambutan dalam konsentrasi berbeda (100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%) terhadap densitas biofilm *P. gingivalis* setelah masa inkubasi 24 jam. Klorheksidin 0,2% digunakan sebagai kontrol positif dan biofilm tanpa perlakuan digunakan sebagai kontrol negatif. * $p < 0,05$



Gambar 2. Grafik menunjukkan efek hambat ekstrak daun rambutan dalam konsentrasi berbeda (100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%) terhadap densitas biofilm *F. nucleatum* setelah masa inkubasi 24 jam. Klorheksidin 0,2% digunakan sebagai kontrol positif dan biofilm tanpa perlakuan digunakan sebagai kontrol negatif. * $p < 0,05$

actinomyetemcomitans dan *Treponema denticola*.¹³ Namun, belum ada penelitian mengenai efek antibiofilm ekstrak daun rambutan terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Fusobacterium nucleatum* sebagai bakteri penyebab penyakit periodontal menjadi alasan bahwa tidak dapat dilakukan perbandingan antara penelitian ini dengan penelitian terdahulu.

Berdasarkan hasil uji fitokimia, berbagai senyawa terkandung di dalam ekstrak daun rambutan, diantaranya yaitu senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, serta glikosida. Alkaloid memiliki efek antibakteri yang mampu mengganggu pembentukan peptidoglikan sel bakteri dan mengakibatkan kematian sel dengan cara memecah dinding sel bakteri.¹⁴ Hasil

penelitian ini tidak dapat membedakan efek ekstrak daun rambutan terhadap viabilitas sel karena hasil metode uji biofilm hanya menggunakan uji crystal violet. Pada uji ini, hasil OD hanya mengukur masa biofilm yang terdiri dari sel dan matriks ekstraseluler biofilm, serta tidak dapat membedakan viabilitas sel bakteri di dalam biofilm.

Namun, literatur menunjukkan bahwa saponin bekerja dengan menyebabkan lisis pada bakteri karena senyawa ini menyebabkan peningkatan permeabilitas membran dengan cara mendenaturasi protein membran yang kemudian mengubah struktur dan fungsi membran sel bakteri.¹⁵ Dengan demikian hasil OD mungkin juga mengindikasikan adanya lisis sel bakteri. Namun diperlukan penelitian lanjut untuk menetapkan asumsi ini.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini adalah ekstrak daun rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) berpotensi untuk menghambat pembentukan biofilm, baik *Porphyromonas gingivalis* maupun *Fusobacterium nucleatum*. Diperlukan penelitian lanjut untuk menetapkan efek bahan uji terhadap viabilitas sel *Porphyromonas gingivalis* dan *Fusobacterium nucleatum*.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Nazir MA. Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2017;1(2):72–80
- Peres MA, Macpherson LMD, Weyant RJ, Daly B, Venturelli R, Mathur MR, et al. Oral diseases: a global public health challenge. *Lancet*. 2019;394(10194):249–60.
- Riskesdas. Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar. Kementerian Kesehatan RI. 2018;1–582.
- Susanto A, Carolina D, Amaliya A, Setia Pribadi I, Miranda A. Periodontal health status and treatment needs of the community in Indonesia: A cross sectional study. *J Int Oral Heal*. 2020;12:114–9.
- How KY, Song KP, Chan KG. *Porphyromonas gingivalis*: An overview of periodontopathic pathogen below the gum line. *Front Microbiol*. 2016;7(53):1–14.
- De Andrade KQ, Almeida-Da-Silva CLC, Coutinho-Silva R. Immunological pathways triggered by *porphyromonas gingivalis* and *fusobacterium nucleatum*: Therapeutic possibilities? *Mediators Inflamm*. 2019;2019:1–20.
- Harvey JD. Periodontal Microbiology. *Dent Clin North Am*. 2017;61(2):253–69.
- Milovanova-Palmer J, Pendry B. Is there a role for herbal medicine in the treatment and management of periodontal disease? *J Herb Med*. 2018;12:1–48.
- Eid Abdelmagyd HA, Shetty SR, Al-Ahmari MMM. Herbal medicine as adjunct in periodontal therapies- A review of clinical trials in past decade. *J Oral Biol Craniofacial Res*. 2019;9(3):212–7.
- 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):360–5.
- Sulistiyaningsih, Afini AP. Evaluation Of Ethanolic Extract and Fractions of Rambutan Leaves (*Nephelium lappaceum*) Against *Shigella Dysenteriae* and *Bacillus Cereus* As Anti Diarrhea Agent. 2018;225–30.
- Sulistiyaningsih S, Mudin SN, Wicaksono IA. Antibacterial activity of ethanol extract and fraction of Rambutan leaf (*Nephelium lappaceum*) against *Pseudomonas aeruginosa* multiresistant. *Natl J Physiol Pharm Pharmacol*. 2018;8(2):257–61.
- Salsabila G, Soulissa AG, Widyanman AS. Antibiofilm Effect of Rambutan Leaf Extract (*Nephelium lappaceum* L.) Against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Treponema denticola* (in vitro). *e-GiGi*. 2022;10(1):103-108.
- Sebastian J, Widyanman AS. Roselle flower petals extract inhibits periodontal pathogenic biofilms. 2021;6(2):8–11.
- Kusumaningrum YN. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Rambutan (*Nephelium lappaceum*) Terhadap *Staphylococcus aureus* & *Escherichia coli* [Essay]. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2012.