

POTENSI ANTIBAKTERI DAN ANTIBIOFILM DARI EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU (*Piper betle L.*) TERHADAP *S. MUTANS*

Nadya Rahma, Rio Risandiansyah, Arif Yahya*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan : Apabila kebersihan gigi dan mulut tidak terjaga, *S. mutans* dapat menjadi patogen dengan membentuk biofilm, menginduksi karies gigi dan menyebabkan bakterimia yang perlu dikendalikan pertumbuhannya. Ekstrak *Piper betle L.* (PB) merupakan herbal yang secara tradisional masih digunakan sebagai tanaman obat. Namun, efek antibakteri dan antibiofilm terhadap *S. mutans* dari ekstrak PB tanpa alkohol belum diketahui sehingga perlu diteliti.

Metode : Penelitian eksperimental *in vitro* dilakukan dengan ekstrak PB pasca UAE tanpa alkohol yang dibagi menjadi tiga dosis dan dilakukan skrining fitokimia. Uji antibakteri dilakukan dengan metode Kirby-bauer dengan kelompok uji Listerine®, ekstrak PB dosis 5.000 ppm, 50.000 ppm dan 500.000 ppm. Uji antibiofilm dilakukan dengan tube method dengan PBS sebagai kontrol negatif (KN), Listerine® sebagai kontrol positif (KP) dan ekstrak PB. Data dianalisis dengan T-test dan one way ANOVA dengan taraf signifikansi $p < 0,05$.

Hasil : Skrining fitokimia menunjukkan ekstrak PB mengandung flavonoid, fenol, saponin dan triterpenoid. Hasil antibakteri *S. mutans* ditemukan positif pada dosis 500.000 ppm dengan nilai $8,46 \pm 0,57$ mm dengan $p < 0,05$. Hasil antibiofilm *S. mutans* yang diuji berdasarkan OD_{570nm} adalah pada kelompok KN, KP dan ekstrak PB berturut-turut yaitu $0,437 \pm 0,02$, $0,028 \pm 0,01$ dan $0,282 \pm 0,05$ dengan $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan ekstrak PB mampu mendegradasi biofilm secara signifikan dibandingkan dengan PBS yang diduga terjadi karena adanya senyawa aktif pada ekstrak PB yang bersifat antibiofilm.

Kesimpulan : Ekstrak PB tanpa pelarut alkohol tidak memiliki efek antibakteri namun memiliki kemampuan antibiofilm terhadap *S. mutans*.

Kata Kunci : *Piper betle L.*, daya hambat bakteri, antibiofilm.

*Penulis Korespondensi:

dr. H. Arif Yahya, M. Kes.

Jl. MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144

Alamat e-mail : arifyahya@unisma.ac.id

ANTIBACTERIAL AND ANTIBIOFILM POTENTIAL OF GREEN BETEL LEAF (*Piper betle L.*) EXTRACTS ON *S. MUTANS*

Nadya Rahma, Rio Risandiansyah, Arif Yahya*
Faculty of Medicine, Universitas Islam Malang

ABSTRACT

Introduction : If oral hygiene is not maintained, *S. mutans* is a normal flora that can become pathogenic by forming biofilms, inducing dental caries and causing bacteremia which needs to be controlled for its growth. *Piper betle L.* (PB) extract is a herb that is still traditionally used as a medicinal plant. However, the antibacterial and anti-biofilm effects of non-alcoholic PB extracts on *S. mutans* are not yet known, so it needs to be studied.

Methods : An *in vitro* experimental study was carried out with PB post-UAE extract without alcohol which was divided into three doses and phytochemical screening was carried out. The antibacterial test was carried out using the Kirby-bauer method with the Listerine® test group, PB extract doses of 5.000 ppm, 50.000 ppm and 500.000 ppm. The anti-biofilm test was carried out using the tube method with PBS as the negative control (KN), Listerine® as the positive control (KP) and PB extract. Data were analyzed by T-test and one way ANOVA with a significance level of $p < 0.05$.

Results : Phytochemical screening showed that PB extract contained flavonoids, phenols, saponins and triterpenoids. Antibacterial results of *S. mutans* were found to be positive at a dose of 500,000 ppm with a value of 8.46 ± 0.57 mm with $p < 0.05$. The results of *S. mutans* anti-biofilm tested based on OD_{570nm} were in the KN, KP and PB extract groups, respectively 0.437 ± 0.02 , 0.028 ± 0.01 and 0.282 ± 0.05 with $p < 0.05$. This shows that the PB extract is able to significantly degrade biofilm compared to PBS which occurs due to the presence of active compounds in PB extract which are anti-biofilm.

Conclusion : PB extract without alcohol solvent has no antibacterial effect but has anti-biofilm ability against *S. mutans*.

Keywords : *Piper betle L.*, inhibition of bacteria, anti-biofilm.

*Corresponding author :

dr. H. Arif Yahya, M. Kes.

Jl. MT. Haryono 193 Malang, East Java, Indonesia, 65144

e-mail address : arifyahya@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Insidensi masalah gigi dan mulut mencapai 57,6%, ditangani oleh tenaga medis hanya 10,2%¹. Masalah gigi dan mulut dapat diawali dengan invasi *S. mutans* yang merupakan penyebab tersering terjadinya karies gigi.² *S. mutans* memproduksi enzim *glucosyltransferase* (GTF), yang membuat koloni melekat pada permukaan gigi. *S. mutans* bersifat asidurik dan asidogenik sehingga dapat menghasilkan asam organik dari metabolisme karbohidrat yang menyebabkan demineralisasi hingga terbentuk plak dan karies gigi. Biofilm kemudian berpotensi menimbulkan gigi berlubang sehingga *S. mutans* masuk ke aliran darah dan menyebabkan bakterimia hingga terjadi infark miokard².

Obat kumur dimanfaatkan untuk menyegarkan mulut, menghilangkan halitosis serta menghambat pembentukan biofilm³. Pada umumnya, obat kumur mengandung 5-25% alkohol sebagai antiseptik dan pengawet⁴. Listerine® merupakan salah satu obat kumur yang awalnya tersusun atas 4 minyak atsiri dari ekstrak herbal dengan tambahan komponen kimia lainnya serta 27% pelarut alkohol. Listerine® terbukti mengurangi 20-34% plak dan 28-34% gingivitis⁵ apabila mengikuti anjuran untuk berkumur dua kali dalam satu hari setelah sikat gigi⁶. Penggunaan rutin obat kumur beralkohol dalam jangka waktu yang panjang dikhawatirkan berpotensi memberikan dampak negatif seperti penurunan produksi air liur, perubahan warna gigi, sensasi terbakar, bahkan dapat melukai gusi^{4,7}. Sehingga, penemuan obat kumur yang efektif dan bebas alkohol perlu dilakukan.

Bahan herbal masih dipercaya untuk menjadi terapi beragam penyakit di Indonesia. Penelitian terkait ekstrak *Piper betle* L. (PB) dengan alkohol menunjukkan efek antibakteri yang lebih besar dibandingkan ekstrak daun sirih merah⁸. Ekstrak PB memiliki efek antibakteri terhadap bakteri gram positif⁸. Ekstraksi PB dilakukan tanpa alkohol menggunakan *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) yaitu metode yang menggunakan gelombang ultrasonik (≥ 20 kHz) yang terbukti hasil dari penggunaan UAE lebih efisien dibandingkan maserasi⁹.

Tingkat permasalahan gigi dan mulut yang cukup tinggi dan invasi bakterimia oleh *S. mutans* serta dampak negatif penggunaan jangka panjang obat kumur berbasis alkohol menjadi dasar penelitian ini perlu dilakukan. Ekstrak PB yang mudah ditemukan dan aplikasinya tanpa alkohol diharapkan mampu mencegah permasalahan tersebut.

METODE PENELITIAN

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental *in vitro* di Laboratorium Pusat Riset Kedokteran (LPRK) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan *Research Centre*

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya pada bulan November hingga Desember 2022.

Pembuatan Ekstrak UAE *Piper betle* L.

Simplisia PB didapatkan dari UPT. Balai Materia Medika Kota Batu berbentuk serbuk yang selanjutnya diekstraksi di LPRK FK Unisma. Metode *Ultrasonic Assisted-Extraction* (UAE) dilakukan pada simplisia dan aquades yang diukur menggunakan perbandingan 1 : 10. Sebanyak 50 gram simplisia PB kemudian dilarutkan dalam 500 ml aquades dan diletakkan pada labu erlenmeyer yang ditutup menggunakan aluminium foil. Selanjutnya, labu erlenmeyer diletakkan ke dalam *ultrasonic water bath* 35 kHz selama 15 menit. Setelah itu, sampel disaring sehingga menghasilkan filtrat, kemudian dituang ke gelas beaker yang telah dihitung berat kosongnya dengan rata-rata volume pengisian 50 ml filtrat setiap gelas. Semua gelas beaker yang berisi filtrat kemudian dioven dengan suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental.

Skrining Fitokimia

Skrining dilakukan oleh UPT. Balai Materia Medika kota Batu. Dilakukan identifikasi senyawa Ekstrak PB sesuai dengan prosedur yang berlaku di UPT. Balai Materia Medika Kota Batu.

Pengujian Daya Hambat dari UAE *Piper betle* L. terhadap *S. mutans*

Koloni bakteri *S. mutans* didapat dari *Research Center* FKG Unair Surabaya. *S. mutans* diremajakan pada media *nutrient agar* (NA) dalam tabung reaksi yang telah disiapkan dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu, dibuat suspensi bakteri sesuai 0,5 *McFarland Standard*¹⁰.

Uji efek antibakteri dilakukan dengan metode *Kirby-bauer*. Pada cawan petri ditanam 4 kertas cakram yang terdiri dari kelompok uji Listerine®, ekstrak PB dosis 5.000 ppm, 50.000 ppm dan 500.000 ppm. Kemudian, media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) dituang ke dalam cawan petri. Selanjutnya, bakteri *S. mutans* ditanam dengan teknik *spread plate* menggunakan *cotton swab*. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 2 hari dan setelah itu dilakukan pengukuran diameter zona hambat pada daerah bening kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong¹⁰.

Pengujian Kemampuan UAE *Piper betle* L. terhadap Degradasi Biofilm *S. mutans*

Kelompok uji terbagi menjadi 3 yaitu kelompok PBS sebagai kontrol negatif (KN), Listerine® sebagai kontrol positif (KP) dan ekstrak PB. *S. mutans* ditanam di dalam tabung steril yang masing-masing berisi 5 ml media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) yang kemudian diinkubasi selama 2 x 24 jam. Setelah itu, tabung disentrifugasi agar menyisakan endapan. Selanjutnya dilakukan pembilasan menggunakan PBS sebanyak 2 kali pada semua tabung. Kemudian dilakukan

pengecatan kristal violet terhadap masing-masing tabung yang dibiakkan selama 4 jam. Selanjutnya kristal violet diuang dan dilakukan pengamatan terhadap bakteri yang menempel di dinding tabung. Setelah itu, media diberikan 1-2 ml aquades kemudian dihitung menggunakan spektrofotometri. Hasil nilai absorbansi ini dicatat sebagai nilai KN. Pada kelompok lainnya juga diperlakukan sama dengan kelompok uji kontrol sampai di tahap pemberian kristal violet dan pengamatan biofilm di dinding tabung. Selanjutnya, pemberian 5 ml sampel ekstrak PB 500.000 ppm pada 9 tabung kelompok herbal dan pemberian 5 ml Listerine® pada 9 tabung KP kemudian kedua kelompok ini diinkubasi selama 24 jam. Setelah itu, larutan dibuang dari tabung dan diberikan 1-2 ml aquades. Kemudian diambil sampel dari setiap tabung untuk diamati menggunakan spektrofotometer. Hasil nilai absorbansi yang didapat inilah yang menjadi nilai KP dan kelompok ekstrak PB.

Analisa Data

Data yang diperoleh dilakukan tabulasi dan dibuat deskriptif statistik ($\bar{x} \pm SD$) yang dilanjutkan dengan uji *T-test* dan *one way ANOVA* dengan taraf signifikansi $p < 0,05$. Semua analisa data dilakukan dengan *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)* versi 25.

HASIL DAN ANALISA DATA

Hasil Skrining Fitokimia

Pada penelitian ini dilakukan skrining fitokimia dari ekstrak UAE PB dengan pelarut aquades memiliki kandungan senyawa flavonoid,

alkaloid, fenolik, terpenoid dan saponin tanpa kandungan alkaloid.

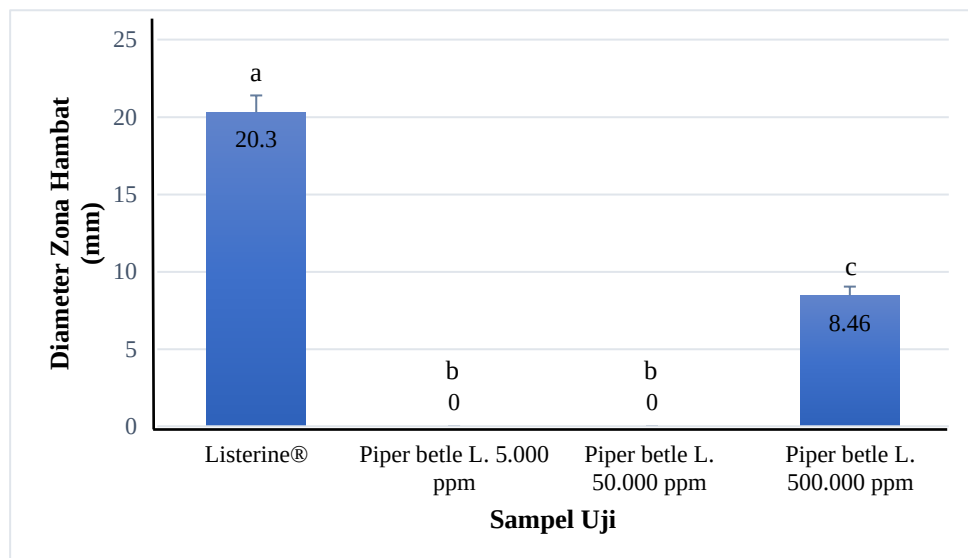
Hasil Uji Antibakteri Ekstrak UAE *Piper betle L.* terhadap *S. mutans*

Hasil uji zona hambat ekstrak UAE PB tanpa pelarut alkohol terhadap *S. mutans* menunjukkan zona bening hanya terlihat pada kelompok uji Listerine® dan ekstrak PB dosis 500.000 ppm. Sementara pada kelompok PB dosis 50.000 ppm dan 5.000 ppm tidak menunjukkan adanya zona bening. Hasil ini dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Hasil uji zona hambat terhadap *S. mutans*

Keterangan : Hasil cawan berisi *S. mutans* yang telah diberi perlakuan setelah diinkubasi 24 jam. Tampak adanya zona bening atau zona hambat pertumbuhan bakteri pada sampel Listerine® dan ekstrak PB dengan dosis 500.000 ppm.



Gambar 2. Diagram Kemampuan Antibakteri Sampel Uji terhadap Pertumbuhan *S. mutans*

Keterangan : gambar di atas menunjukkan grafik diameter zona hambat antara 4 kelompok uji terhadap *S. mutans*. Nilai notasi berbeda menunjukkan angka signifikan $p < 0,05$.

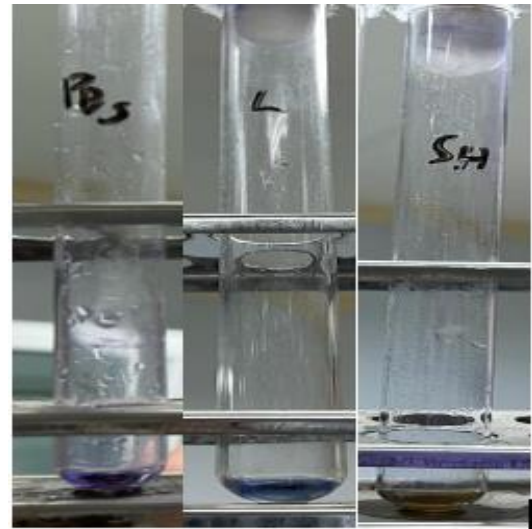
Nilai rata-rata tertinggi zona hambat adalah $20,3 \pm 1,09$ pada kelompok Listerine® dan nilai rata-rata terendah $0,0 \pm 0,0$ pada kelompok PB dosis 50.000 ppm dan 5.000 ppm. Sementara pada dosis 500.000 ppm didapatkan nilai $8,46 \pm 0,57$. Berdasarkan hasil data tersebut ekstrak UAE PB tanpa alkohol menunjukkan diameter zona hambat lebih kecil dibandingkan dengan Listerine®.

Uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai $p > 0,05$ yang artinya data terdistribusi normal. Selanjutnya *Test of Homogeneity of Variances* didapatkan hasil nilai $p > 0,05$ yang bermakna data homogen dan dilanjutkan dengan uji *T-test* yang didapatkan hasil nilai $p < 0,05$. Nilai ini menunjukkan bahwa perbedaan hasil yang terjadi pada kelompok Listerine® dan ekstrak PB dosis 500.000 ppm adalah signifikan dimana hasil kelompok Listerine® lebih baik dibandingkan ekstrak PB. Analisa pengukuran zona hambat didapatkan pada **Gambar 2**.

Hasil Uji Antibiofilm

Hasil pengukuran antibiofilm menggunakan alat spektrofotometer. Semakin gelap cairan maka kemungkinan akan memiliki hasil *optical density* (OD) yang lebih tinggi dibandingkan sampel dengan warna yang lebih terang. Hasil antibiofilm dapat dilihat pada **Gambar 3**.

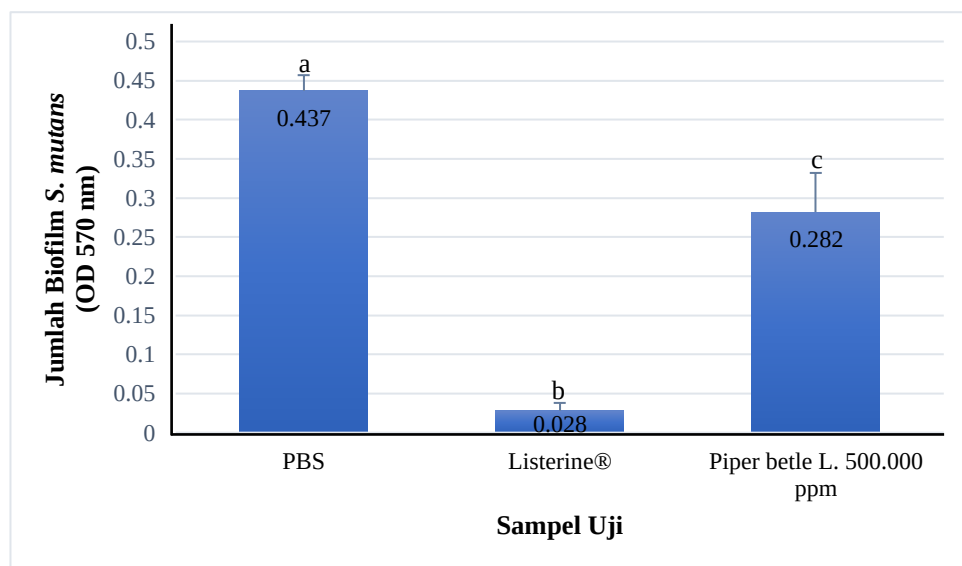
Hasil ekstrak PB dibandingkan dengan KP dan KN yang mana setiap kelompok dilakukan sembilan kali pengulangan ilai rata-rata tertinggi biofilm *S. mutans* adalah $0,437 \pm 0,02$ pada kelompok KN dan nilai rata-rata terendah $0,028 \pm 0,0$ pada kelompok KP. Sementara nilai sampel ekstrak PB berada di tengah-tengah keduanya yaitu $0,282 \pm 0,05$.



Gambar 3. Hasil Uji Antibiofilm terhadap *S. mutans*

Keterangan : gambar diurutkan berdasarkan KN, KP dan ekstrak PB. Terlihat perbedaan warna pada masing-masing sampel yang diukur menggunakan spektrofotometer

Uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk* didapatkan nilai $p > 0,05$ yang artinya data terdistribusi normal. Selanjutnya *Test of Homogeneity of Variances* didapatkan hasil nilai $p > 0,05$ yang bermakna data homogen dan dilanjutkan dengan *One Way ANOVA* yang didapatkan hasil nilai $p < 0,05$. Nilai ini menunjukkan bahwa perbedaan hasil yang terjadi pada kelompok KN, KP dan ekstrak PB dosis 500.000 ppm adalah signifikan dimana hasil kelompok KP lebih baik dibandingkan ekstrak PB dan KN. Analisa hasil antibiofilm dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Diagram Kemampuan Antibiofilm Sampel Uji terhadap *S. mutans*

Keterangan : gambar di atas menunjukkan grafik rata-rata biofilm *S. mutans* yang tersisa setelah pemaparan sampel uji . Nilai notasi berbeda menunjukkan angka signifikan $p < 0,05$.

Pengaruh Ekstrak UAE *Piper betle* L. pada Pertumbuhan *S. mutans*

Pada penelitian ini, kemampuan ekstrak PB tanpa pelarut alkohol dalam konsentrasi 5.000 ppm, 50.000 ppm dan 500.000 ppm terhadap pertumbuhan *S. mutans* didapatkan diameter zona hambat dengan rerata < 10 mm sehingga masuk dalam kategori *nothing* yaitu tidak memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *S. mutans*¹¹.

Penelitian tentang kemampuan zona hambat ekstrak PB dengan pelarut etanol terhadap pertumbuhan *S. mutans* menunjukkan hasil bahwa setiap konsentrasi ekstrak PB dengan pelarut etanol mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* yang secara keseluruhan rata-rata zona hambat mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak yang diberikan¹².

Ini menunjukkan jenis pelarut memiliki kemampuan menarik senyawa yang berbeda. Aquades kemungkinan menarik lebih sedikit senyawa aktif dari PB dibandingkan etanol. Etanol merupakan pelarut yang banyak digunakan untuk mengekstrak komponen polar suatu bahan alam dan dikenal sebagai pelarut universal yang mudah didapat¹³.

PB diekstrak menggunakan metode *ultrasonic* yang diharapkan dapat dengan efisien menarik senyawa aktif dengan mudah dan cepat. Ekstrak PB dilakukan dengan pelarut etanol menggunakan media *ultrasonic*, maserasi dan sokletasi mendapatkan hasil *ultrasonic* mengandung sejumlah besar polifenol dan antioksidan diikuti dengan maserasi dan sokletasi¹⁴. Sama halnya dengan penelitian ini, berdasarkan skrining fitokimia secara kualitatif didapatkan mengandung beragam senyawa aktif. Hal ini menunjukkan bahwa faktor metode ekstraksi menggunakan *ultrasonic* dapat mengekstrak senyawa aktif PB seperti penelitian terdahulu.

Diameter zona hambat pada konsentrasi ekstrak PB dosis 500.000 ppm merupakan kategori *nothing* atau tidak ada¹¹. Namun, ini merupakan angka konsentrasi yang sangat tinggi. Sehingga, faktor konsentrasi ekstrak disini bukan penyebab tidak adanya zona hambat terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

Pada dasarnya, terbentuknya zona hambat tersebut disebabkan kandungan daun sirih yaitu kavikol dan eugenol yang merupakan turunan dari golongan fenolik yang memiliki kemampuan antibakteri⁹. Senyawa ini bekerja pada membran sel bakteri sehingga membuat struktur protein bakteri menjadi terganggu kemudian terjadi peningkatan permeabilitas sel dan akhirnya sel akan rusak dan mati. Kavikol juga menghambat aktivitas enzim glucosyltransferase (GTF) dari *S. mutans* sehingga glukosa yang ada tidak diubah menjadi glukukan. Glukukan merupakan zat adhesin dari bakteri yang melekatkan sel bakteri yang mana terhambatnya pembentukan glukukan menyebabkan perlekatan antar bakteri terhambat sehingga inisiasi pembentukan plak dapat dicegah¹².

Tidak adanya peran dari senyawa fenolik yang terdeteksi positif pada sampel PB, menimbulkan

kemungkinan bahwa kandungan fenolik yang terdeteksi secara skrining kualitatif memiliki jumlah yang sedikit untuk memberi dampak antibakteri. Kuat atau lemahnya aktivitas suatu senyawa dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain adalah kandungan kimia herbal tersebut yang dipengaruhi oleh kondisi habitat yang meliputi cahaya dan temperatur serta tempat PB dibudidayakan¹⁵.

Pengaruh Ekstrak UAE *Piper betle* L. pada Pembentukan Biofilm *S. mutans*.

Jumlah biofilm *S. mutans* tidak langsung dihitung setelah diinkubasi namun perlu diberi pewarna kristal violet yang berguna untuk mengidentifikasi biofilm secara kuantitatif. Kristal violet mampu mengikat molekul bermuatan negatif dan polisakarida dalam matriks ekstraseluler. Ini menandakan bahwa kristal violet mewarnai sel-sel yang masih hidup maupun mati beserta matriks biofilm¹⁶.

Hasil uji antibiofilm dinilai menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 570 nm. Penilaian dilakukan dengan menghitung jumlah biofilm yang tersisa pada tabung reaksi dengan satuan *optical density* (OD). Ekstrak PB dosis 500.000 ppm dengan pelarut aquades mampu menurunkan nilai absorbansi biofilm sebesar 63%.

Antibiofilm merupakan kemampuan untuk menghambat pertumbuhan biofilm yang matur yang dimiliki oleh senyawa metabolit sekunder dari tanaman herbal. Penghambatan pertumbuhan biofilm dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain inhibisi *quorum sensing* AHL pada golongan bakteri gram negatif. Quercetin pada senyawa flavonoid mempengaruhi *quorum sensing* pada *S. aureus* dengan menghambat produksi alginate sehingga tidak terjadinya adhesi pada pembentukan biofilm serta menurunkan EPS yang mengakibatkan *swarming motility*. Eugenol pada senyawa fenolik menyebabkan penurunan regulasi gen, *relA*, pada *S. mutans* yang terlibat dalam pembentukan biofilm. DNase mampu mencerna DNA ekstraseluler yang ada di dalam struktur biofilm sedangkan Dispersin B, suatu hidrolase glikosida bekerja dengan membelah polimer β 1-6 N-acetylglucosamine (PNAG) substansi EPS. Senyawa tanin pada komponen polifenol dapat menghambat pembentukan biofilm namun tidak memiliki daya hambat pada pertumbuhan *S. aureus*. Tanin menghambat pembentukan biofilm dengan meningkatkan IsaA (*Immune-dominant Staphylococcal Antigen A*) yang bekerja dengan cara membelah peptidoglikan yang menghambat pembentukan biofilm. AMP (*Antimicrobial peptide*) merupakan antibiotik yang dipercaya memiliki kemampuan antibiofilm¹⁷.

Berdasarkan skrining fitokimia ekstrak PB diketahui memiliki beragam senyawa seperti flavonoid, fenol, saponin dan terpenoid. Flavonoid memiliki kemampuan antibiofilm seperti mencegah multiplikasi bakteri (adhesi dan kolonisasi) dengan mematikan pergerakan bakteri. Phloretin dapat menghambat

pembentukan biofilm pada *E. coli*. Kandungan lainnya dapat menurunkan ukuran dari biofilm yang terbentuk dari *V. harveyi* dan *E. coli*. EGCG (*Epigallocatechin-3-Galate*) mampu menghancurkan biofilm matur dari *P. gingivalis* dan *E. faecalis*. Senyawa fenolik diketahui memiliki kemampuan meningkatkan permeabilitas membran sel, menghambat pembentukan biofilm dan mediator *quorum sensing*¹⁸. Saponin memiliki kemampuan antibiofilm yang teruji dengan struktur yang lemah dan densitas biofilm yang lebih rendah dibandingkan kelompok tanpa pemberian saponin. Hasil dari RT-qPCR mengindikasikan antibiofilm dengan penurunan regulasi dari gen *srtA*, *fbxC*, *neuA* dan *cpsE*¹⁹. Terpenoid memiliki kandungan β -Caryophyllene yang teruji memiliki kemampuan antibakteri terhadap biofilm dan planktonic *S. mutans*. β -Caryophyllene juga mampu menurunkan *glucosyltransferase* yang menyebabkan terhambatnya agregasi bakteri dan pembentukan biofilm²⁰.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak PB dengan metode UAE tanpa pelarut alkohol, mengandung senyawa Flavonoid, Fenolik, Saponin dan Triterpenoid.
2. Ekstrak PB tanpa pelarut alkohol tidak memiliki daya hambat yang signifikan terhadap *S. mutans*.
3. Ekstrak PB tanpa pelarut alkohol memiliki kemampuan mendegradasi biofilm dengan sebesar 63%.

SARAN

Untuk menunjang penelitian selanjutnya, maka disarankan untuk

1. Menggunakan pelarut jenis lain seperti kloroform lebih kuat menarik senyawa aktif non polar
2. Melakukan fraksinasi, isolasi, kuantifikasi senyawa aktif dan pengujian ulang.
3. Melakukan fase pencegahan biofilm bukan biakkan biofilm matur.
4. Menggunakan kombinasi beberapa herbal lain agar dapat meningkatkan efek antibakteri dan antibiofilm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM) Fakultas Kedokteran UNISMA yang telah mendanai penelitian, Mohammad Inwan yang membantu proses statistik dan dr. Rahma Triliana, M.Kes, Ph.D selaku *peer reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Laporan Nasional Riskesdas 2018 [Internet]. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 2019. Available from: <http://repository.bkpk.kemkes.go.id/3514/1/Laporan%20Riskesdas%202018%20Nasional.pdf> diakses pada tanggal 10 Mei 2023.

2. Rifdayani N, Budiarti LY, Carabelly AN. Perbandingan efek bakterisidal ekstrak mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn) 100% dan povidone iodine 1% terhadap *Streptococcus mutans* in vitro. *Jurnal kedokteran gigi*, II,(2). 2014:1-6.
3. Oktanauli P, Taher P, Prakasa AD. Efek obat kumur beralkohol terhadap jaringan rongga mulut (kajian pustaka). *Jurnal Ilmiah dan Teknologi Kedokteran Gigi*. 2017;13(1):4-7.
4. Moreira AD, Mattos CT, de Araújo MV, de Oliveira Ruellas AC, Sant'Anna EF. Chromatic analysis of teeth exposed to different mouthrinses. *Journal of dentistry*. 2013;41:e24-7.
5. Vlachojannis C, Chrubasik-Hausmann S, Hellwig E, Al-Ahmad A. A preliminary investigation on the antimicrobial activity of Listerine®, its components, and of mixtures thereof. *Phytotherapy research*. 2015;29(10):1590-4.
6. How To Use Mouthwash [Internet]. LISTERINE®. Available from: <https://www.listerine.com/mouth-coach/rinsing-guide> diakses tanggal 20 April 2022.
7. Talumewo M. Perbedaan efektivitas obat kumur antiseptik beralkohol dan non alkohol dalam menurunkan akumulasi plak. *Pharmacon*. 2015;4(4).
8. Anas R, Kurniawan K, Puspitasari Y. Perbedaan daya hambat antibakteri antara ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, 2018;10(1):120-5.
9. Sugumaran M, Gandhi MS, Sankarnarayanan K, Yokes M, Poornima M, Rajasekhar SR. Chemical composition and antimicrobial activity of vellaikodi variety of Piper betle Linn leaf oil against dental pathogens. *International Journal of PharmTech Research*. 2011;3(4):2135-9.
10. Hudzicki J. Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American society for microbiology*. 2009;15:55-63.
11. Parnomo T. Effect of Arabica Coffee Bean Extract (*Coffea arabica*) as a Growth Inhibitor of *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2021;11(3):89-96.
12. Suherman LF. Efek Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* (Doctoral dissertation, Tesis). Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha).
13. Kholifah K. Uji aktivitas ekstrak etanol dan ekstrak air buah pare (*Momordica charantia* L.) terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *Edwardsiella tarda* penyebab penyakit *Edwardsiellosis* pada ikan (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
14. Kopong MV, Warditiani NK. Review artikel: Potensi daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun

- sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai antioksidan. **Humantech: Jurnal Ilmiah Multidisiplin Indonesia**. 2022;2(Spesial Issues 3):710-29.
15. Firdiyani F, Agustini TR, Ma'ruf WF. Ekstraksi senyawa bioaktif sebagai antioksidan alami Spirulina platensis segar dengan pelarut yang berbeda extraction of bioactive compounds as natural antioxidants from fresh Spirulina platensis using different solvents. **Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia**. 2015;18(1):28-37.
 16. Dewi ZY, Nur A, Hertriani T. Efek antibakteri dan penghambatan biofilm ekstrak sereh (*Cymbopogon nardus* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. **Majalah Kedokteran Gigi Indonesia**. 2015;1(2):136-41.
 17. Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. **Virulence**. 2018;9(1):522-54.
 18. Bouyahya A, Chamkhi I, Balahbib A, Rebezov M, Shariati MA, Wilairatana P, Mubarak MS, Benali T, El Omari N. Mechanisms, anti-quorum-sensing actions, and clinical trials of medicinal plant bioactive compounds against bacteria: a comprehensive review. **Molecules**. 2022;27(5):1484.
 19. Shang F, Wang H, Xue T. Anti-biofilm effect of tea saponin on a *Streptococcus agalactiae* strain isolated from bovine mastitis. **Animals**. 2020;10(9):1713.
 20. Yoo HJ, Jwa SK. Inhibitory effects of β -caryophyllene on *Streptococcus mutans* biofilm. **Archives of Oral Biology**. 2018;88:42-6.