

**EFEK ANTIBIOFILM EKSTRAK ETANOL *CINNAMON*
(*Cinnamomum burmanii*) TERHADAP *Porphyromonas*
Gingivalis dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans***

Caesary Cloudya Panjaitan
144011800004

TESIS INI
DIAJUKAN UNTUK MEMENUHI SEBAGIAN DARI
PERSYARATAN GUNA MEMPEROLEH GELAR
MAGISTER KEDOKTERAN GIGI



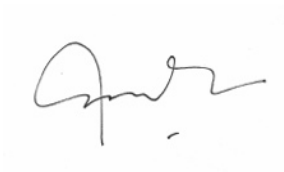
**PROGRAM MAGISTER ILMU KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS TRISAKTI
2020**

LAMPIRAN
PENGESAHAN DAN PERSETUJUAN PEMBIMBING

**EFEK ANTIBIOFILM EKSTRAK ETANOL *CINNAMON*
(*Cinnamomum burmanii*) TERHADAP *Porphyromonas*
Gingivalis dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans***

Tesis ini telah diperiksa dan disetujui
27 Agustus 2020

Pembimbing



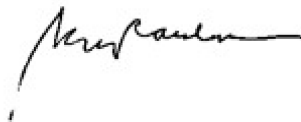
(Prof. drg. Rahmi Amtha, MDs., Sp.PM, Ph.D)

Pembimbing II



(Prof. Dr. drg. Tri Erri Astoeti, M.Kes)

Program Pascasarjana
Ketua Program Studi Magister Ilmu Kedokteran Gigi
FKG USAKTI



(Prof. Dr. drg. Boedi O. Roeslan., M. Biomed)

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yesus atas kasihNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Efek Antibiofilm Ekstrak Etanol *Cinnamomum burmanii* terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Tesis ini disusun demi memenuhi sebagian dari persyaratan untuk memperoleh gelar Magister Kedokteran Gigi di Program Magister Ilmu Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti. Penulis berharap tesis ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan, masyarakat umum, profesi kedokteran gigi hingga pemerintahan khususnya mengenai kegunaan *Cinnamomum burmanii* untuk kesehatan rongga mulut.

Keberhasilan penyelesaian tesis ini tidak terlepas dari doa dan dukungan berbagai pihak. Maka pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. drg. Teri Erri Astoeti, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi sekaligus dosen pembimbing yang telah memberikan kesempatan berharga kepada penulis untuk mendapatkan ilmu di Program MIKG FKG USAKTI dan selalu memberikan semangat dari awal hingga akhir penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
2. Prof. Dr. drg. Boedi O. Roeslan, M.Biomed, selaku Kepala Program MIKG atas ilmu dan semangatnya kepada penulis dalam menempuh pendidikan ini.
3. Prof. drg. Rahmi Amtha, MDs., Sp.PM, Ph.D selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu untuk memberikan ilmu, bimbingan, saran dan masukan yang sangat berharga selama proses penelitian penulis hingga penyusunan tesis ini.
4. Prof. Dr. drg. E. Arlia Budiyanti, SU, Sp.KGA selaku ketua tim penguji tesis atas saran dan perbaikan dalam penyempurnaan penulisan tesis ini.
5. Dr. drg. Yohana Yusra, M.Kes dan Dr. drg. Trijani suwandi selaku tim penguji tesis sekaligus *support system* penulis yang tak henti-hentinya memberikan semangat dari awal hingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan ini.

6. Prof. Dr. drg. Hj. Melanie Sadono Djamil M. Biomed., PBO selaku salah satu dosen pengajar MIKG dan sudah seperti orang tua bagi penulis dan teman sejawat seangkatan, yang selalu memberikan semangat, ilmu, dan doa yang tulus hingga kami berempat dapat menyelesaikan pendidikan ini dengan sangat baik.
7. Seluruh Dosen MIKG FKG USAKTI yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas ilmu pengajaran yang diberikan selama berjalannya program pendidikan ini dan khususnya Dr. drg. Joko Kusnoto, MS. Sp.Ort dan drg. Dewi Liliany, M.Kes yang sudah membantu penulis dan teman seangkatan secara teknis berjalannya kegiatan belajar mengajar sehingga pendidikan ini dapat selesai dengan sangat baik.
8. Drg. Orliando Roeslan, M.Biomed, PhD., selaku Kepala Laboratorium BioCore FKG Usakti beserta staf laboran yang telah membimbing dan bekerja sama dengan penulis selama proses penelitian.
9. Dr. drg. Armelia Sari, M.Biomed selaku Kepala Laboratorium MiCore FKG Usakti yang tak pernah lelah memberikan ilmu, waktu dan bimbingannya dalam proses penelitian hingga penulisan tesis ini, serta staf laboran Micore Mario dan Monic yang bekerja bersama penulis menyelesaikan penelitian.
10. Seluruh staf IKGMP FKG Usakti atas dukungan kepada penulis dalam menempuh pendidikan di program ini.
11. Keluarga terkasih, Papi Pdm. O. Panjaitan, SE., Mami Pdm. I.R. Simbolon, SE, Amd.Keb., Abang Sesar Anthony Panjaitan, ST., dan Adik Daniel Caesar Panjaitan, ST. serta keluarga besar yang tak henti-hentinya memberikan doa, cinta dan dukungan kepada penulis dari awal hingga akhirnya penulis mendapat gelar Magister Kedokteran Gigi.
12. Suami tercinta, Bernard Dimas Rexa, ST., yang selalu mendampingi dan memberikan doa serta dukungan kepada penulis tanpa kenal waktu.
13. Sahabat seperjuangan MIKG angkatan 2018, drg. Nurani Hayati, drg. Dicha Yuliadewi Rahmawati dan drg. Hernindya Dwifulqi yang telah menjadi keluarga baru bagi penulis, yang saling memberikan doa dan semangat dari

hari pertama di kelas hingga bersama-sama menyelesaikan pendidikan ini tepat pada waktunya.

14. Bunga Panjaitan, Lady Xena dan teman-teman yang sudah membantu dan selalu memberikan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan ini.
15. Semua pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan tesis ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu. Semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas dengan berkat dan kasihNya untuk kita semua.

Akhir kata, penulis meminta maaf atas kekurangan dan kesalahan yang terdapat dalam penelitian maupun penulisan tesis ini, penulis berharap tulisan ini dapat bermanfaat bagi semua pembaca, khususnya untuk bidang kesehatan gigi dan mulut.

Jakarta, 27 Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN DAN PERSEGTUJUAN PEMBIMBING	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR LAMBANG	xii
ABSTRAK	xiii
<i>ABSTRACT</i>	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
E. Originalitas Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. <i>Cinnamon (Cinnamomum burmanii)</i>	5
1. Deskripsi	6
2. Taksonomi	6
3. Komposisi	7
4. Manfaat	7
B. Biofilm	8
1. Definisi	8
2. Struktur	9
3. Proses Pembentukan	10
4. Penggondokan Biofilm	13

C. <i>Porphyromonas gingivalis</i>	14
D. <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	15
BAB III KERANGKA TEORI, KONSEP, DAN HIPOTESIS	18
A. Kerangka Teori	18
B. Kerangka Konsep	21
C. Hipotesis	21
BAB IV METODE PENELITIAN	22
A. Jenis dan Rancangan Penelitian	22
B. Tempat dan Waktu Penelitian	22
C. Sampel Penelitian	23
D. Variabel Penelitian	23
E. Definisi Operasional Variabel	23
F. Bahan dan Alat	25
G. Cara Kerja	26
H. Alur Kerja	31
I. Analisis Data	33
BAB V HASIL PENELITIAN	34
A. Hasil Fitokimia	34
B. Hasil Uji Sitotoksisitas	34
C. Hasil Uji Biofilm	35
D. Hasil Uji Statistik	39
BAB VI PEMBAHASAN	43
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	50
<i>SUMMARY</i>	52
DAFTAR PUSTAKA	60
LAMPIRAN	65

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Identifikasi Tanaman <i>Cinnamon</i> (<i>Cinnamomum burmanii</i>)	65
Lampiran 2. Persiapan Ekstrak Etanol <i>Cinnamon</i> (<i>Cinnamomum burmanii</i>)	66
Lampiran 3. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol <i>Cinnamon</i> (<i>Cinnamomum burmanii</i>) : Senyawa Flavonoid, Alkaloid, Saponin, Tanin, Kuinon, dan Terpenoid	67
Lampiran 4. Sertifikat Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol <i>Cinnamon</i> (<i>Cinnamomum burmanii</i>)	68
Lampiran 5. Hasil Uji Sitotoksitas/ MTT Assay	69
Lampiran 6. Hasil Uji Biofilm Ekstrak Etanol <i>Cinnamon</i> (<i>Cinnamomum burmanii</i>) terhadap <i>Porphyromonas gingivalis</i> dan <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	70
Lampiran 7. Hasil Uji Normalitas Biofilm Ekstrak Etanol <i>Cinnamon</i> (<i>Cinnamomum burmanii</i>) terhadap <i>Porphyromonas gingivalis</i> dan <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	71
Lampiran 8. Hasil Uji ANOVA 1 Jalan (<i>One Way ANOVA</i>) Biofilm Ekstrak Etanol <i>Cinnamon</i> (<i>Cinnamomum burmanii</i>) terhadap <i>Porphyromonas gingivalis</i> dan <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	72
Lampiran 9. Hasil Uji <i>Post Hoc</i> Biofilm Ekstrak Etanol <i>Cinnamon</i> (<i>Cinnamomum burmanii</i>) terhadap <i>Porphyromonas gingivalis</i> dan <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	75

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Definisi Operasional Variabel	23
Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Eetanol <i>Cinnamon</i> (Kualitatif)	34
Tabel 3. Hasil rerata persentase viabilitas fibroblas dengan metode MTT <i>assay</i> setelah diberi perlakuan selama 24 jam	35
Tabel 4. Hasil uji normalitas ekstrak etanol <i>Cinnamon</i> terhadap <i>Porphyromonas gingivalis</i> dengan masa inkubasi 1 menit dan 3 jam	39
Tabel 5. Hasil uji normalitas ekstrak etanol <i>Cinnamon</i> terhadap <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> dengan masa inkubasi 1 menit dan 3 jam	40
Tabel 6. Hasil uji ANOVA satu jalan pada uji biofilm ekstrak etanol <i>Cinnamon</i> terhadap <i>Porphyromonas gingivalis</i> pada inkubasi 1 menit dan 3 jam	40
Tabel 7. Hasil uji ANOVA satu jalan pada uji biofilm ekstrak etanol <i>Cinnamon</i> terhadap <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> pada inkubasi 1 menit dan 3 jam	41
Tabel 8. Hasil uji <i>Post Hoc</i> LSD pada uji biofilm ekstrak etanol <i>Cinnamon</i> terhadap <i>Porphyromonas gingivalis</i> (<i>Pg</i>)	41
Tabel 9. Hasil uji <i>Post Hoc</i> LSD pada uji biofilm ekstrak etanol <i>Cinnamon</i> terhadap <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kulit batang <i>Cinnamon</i> (<i>C. burmannii</i>)	5
Gambar 2. Proses pembentukan biofilm	10
Gambar 3. Koloni <i>Porphyromonas gingivalis</i> di agar darah	14
Gambar 4. Penampakan pewarnaan Gram negatif <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> dengan mikroskop <i>pembesaran 10x100⁴¹</i>	16
Gambar 5. Skema kerangka teori	20
Gambar 6. Skema kerangka konsep	21
Gambar 7. Skema alur kerja persiapan ekstrak	31
Gambar 8. Skema alur kerja uji fitokimia	31
Gambar 9. Skema alur kerja uji sitotoksitas (<i>MTT Assay</i>)	32
Gambar 10. Skema alur kerja uji biofilm	32
Gambar 11. Hasil uji biofilm ekstrak etanol <i>Cinnamon</i> terhadap <i>Poprhyromonas gingivalis</i> pada masa inkubasi 1 menit	36
Gambar 12. Hasil uji biofilm ekstrak etanol <i>Cinnamon</i> terhadap <i>Poprhyromonas gingivalis</i> pada masa inkubasi 3 jam	37
Gambar 13. Hasil uji biofilm ekstrak etanol <i>Cinnamon</i> Terhadap <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> pada masa inkubasi 1 menit	38
Gambar 14. Hasil uji biofilm ekstrak etanol <i>Cinnamon</i> terhadap <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> pada masa inkubasi 3 jam	39

DAFTAR SINGKATAN

<i>Pg</i>	: <i>Poprhyromonas gingivalis</i>
<i>Aa</i>	: <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
<i>EPS</i>	: <i>Ekstracellular Polimeric Substances</i>
m	: meter
<i>DPP IV</i>	: <i>Dipeptitidil peptidase IV</i>
LPS	: Lipoporisakarida
HECEK	: <i>Haemophilus, Actinobacillus, Cardiobacterium, Eikenella,</i> dan <i>Kingella</i>
CDT	: <i>Cytolethal distending toxin</i>
HSPs	: <i>Heat shock proteins</i>
ATCC	: <i>American type culture collection</i>
ml	: Mililiter
nm	: Nano meter
mg	: Miligram
OD	: <i>Optical ensity</i>
BHI	: <i>Brain heart infusion</i>
MTT	: <i>(3-(4,5- Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide)</i>
EEC	: Ekstrak etanol <i>cinnamon</i>
IL	: Interleukin
DMSO	: Dimetil Sulfoksida
H ₂ O ₂	: Hidrogen Peroksida
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>

DAFTAR LAMBANG

%	: Persen
β	: Beta
α	: Alpha
$^{\circ}\text{C}$: Derajat Celsius
μ	: Mikro
$^{\circ}$: Derajat
λ	: Lamda
\pm	: <i>Plus minus</i>
=	: Sama dengan
<	: Kurang dari
>	: Lebih dari

ABSTRAK

Periodontitis merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut di Indonesia dengan prevalensi sebesar 74,1% (Riskesdas 2018). Periodontitis merupakan penyakit inflamasi destruktif pada jaringan pendukung gigi dengan manifestasi klinis terbentuknya poket, kegoyangan gigi, dan resesi gingiva dengan bakteri utama adalah *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Bakteri ini membentuk biofilm sebagai penyebab utama etiopatogenesis periodontitis. Perawatan periodontitis dapat diawali dengan pengendalian biofilm, salah satunya dengan penggunaan obat kumur. *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) merupakan bahan alam Indonesia yang memiliki banyak manfaat, salah satunya sebagai alternatif obat kumur. Senyawa aktif yang terkandung pada *Cinnamon* (*C. burmanii*) dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri dan antibiofilm. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antibiofilm ekstrak etanol *Cinnamon* (*C. burmanii*) terhadap *P. gingivalis* dan *A. actinomycetemcomitans* sebagai penyebab periodontitis. Ekstrak etanol *Cinnamon* (EEC) 15%, 10%, 7,5%, 5% dan 2,5% dilakukan uji fitokimia secara kualitatif untuk mengetahui kandungan senyawa aktif, uji sitotoksisitas (MTT assay) terhadap sel fibroblas dengan inkubasi 24 jam dan uji antibiofilm terhadap *P. gingivalis* dan *A. actinomycetemcomitans* dengan masa inkubasi selama 1 menit dan 3 jam. Hasil uji fitokimia EEC mengandung senyawa flavonoid (*cinnamaldehyde*), alkaloid, saponin, tannin, kuinon dan terpenoid. Uji sitotoksisitas menunjukkan bahwa EEC tidak memberikan efek toksik terhadap sel fibroblas (>90%). Uji biofilm menyatakan bahwa seluruh konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon* memiliki efek antibiofilm terhadap bakteri *P. gingivalis* dan *A. actinomycetemcomitans* yang tidak berbeda signifikan dengan obat kumur klorheksidin 0,2% ($p>0,05$).

Kata kunci: ekstrak etanol *Cinnamon*, *Cinnamomum burmanii*, antibiofilm, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

ABSTRACT

Periodontitis is common oral health problem in Indonesia with a prevalence of 74.1% (Riskesdas 2018). Periodontitis is an inflammatory disease in the supporting tissues with clinical manifestations of pocket formation, tooth mobility, and gingival recession with the main bacteria being *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. These bacteria form biofilms as the main cause of etiopathogenesis of periodontitis. Periodontitis treatment can be initiated by controlling biofilms, one of which is by using mouthwash. Cinnamon (*Cinnamomum burmanii*) is one of Indonesian plants that has many benefits, such as an alternative mouthwash. The active compound contained in Cinnamon (*C. burmanii*) reported as antibacterial and antibiofilm activity. The purpose of this study was to determine the antibiofilm effects of Cinnamon ethanol extract (*C. burmanii*) on *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans*. Cinnamon ethanol extract (CEE) 15%, 10%, 7.5%, 5% and 2.5% was tested in to qualitative phytochemical test, cytotoxicity tests (MTT assay) on fibroblast cells with 24-hour incubation and antibiofilm tests on *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* with incubation 1 minute and 3 hours. EEC phytochemical test results contain flavonoids (cinnamaldehyde), alkaloids, saponins, tannins, quinones and terpenoids. Cytotoxicity tests showed that EEC did not have toxic effects on fibroblast cells (> 90%). The biofilm test stated that all concentration of CEE had an antibiofilm effect on *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* which were not significantly different from the 0.2% chlorhexidine mouthwash ($p>0.05$).

Keywords: Cinnamon ethanol extract, *Cinnamomum burmanii*, antibiofilm, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit periodontal merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut yang sering dialami oleh masyarakat Indonesia. Penyakit periodontal yang paling sering ditemukan adalah gingivitis dan periodontitis. Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013, gingivitis dan periodontitis menjadi penyakit periodontal yang banyak ditemukan di Indonesia yaitu sebesar 23,4%¹ dan terjadi peningkatan untuk kasus periodontitis berdasarkan data Riskesdas 2018 yaitu sebesar 74,1%.²

Periodontitis merupakan penyakit inflamasi destruktif pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme spesifik, sehingga dapat menyebabkan kerusakan progresif pada ligamen periodontal dan tulang alveolar dengan manifestasi klinis terbentuknya poket, kegoyangan gigi, hilangnya perlekatan dan resesi gingiva.³ Ada empat bakteri yang sangat terkait dalam inisiasi dan perkembangan periodontitis yaitu *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Tannerella forsythensis*, dan *Prevotella intermedia*.^{3,4}

Berdasarkan penelitian Mahalakshmi dkk., diketahui bahwa bakteri yang paling dominan pada periodontitis kronis adalah *Porphyromonas gingivalis* dengan prevalensi sekitar 80,5%.⁵ *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dominan pada periodontitis agresif dengan frekuensi sekitar 90% dan pada periodontitis kronis sebesar 21%.⁶ Bakteri ini berkumpul dan bereplikasi membentuk mikrokoloni dan melekat secara *irreversible* pada permukaan epitel dan membentuk matriks yang terdiri dari *Ekstracelluler Polimeric Substances* (EPS) yang disebut biofilm, dimana biofilm ini merupakan penyebab utama dalam etiopatogenesis periodontitis.⁷

Perawatan periodontitis dapat diawali dengan pengendalian biofilm secara mekanik dan kimiawi. Perawatan secara mekanik dapat dilakukan

dengan menyikat gigi, *scaling* dan *root planing*, serta perawatan secara kimiawi dengan obat kumur dan antibiotik baik secara lokal maupun sistemik.⁸⁻⁹ Salah satu obat kumur yang secara meta analisis telah dibuktikan dapat mencegah pembentukan biofilm adalah klorheksidin¹⁰, namun pada tahun 2018 dilaporkan bahwa klorheksidin memiliki efek sitoksisitas pada sel normal dalam rongga mulut selain efek samping secara klinis berupa perubahan warna pada gigi, iritasi pada mukosa mulut, dan perubahan pengecapan rasa pada lidah.¹¹ Penggunaan antibiotik dalam jangka waktu yang lama juga dapat menyebabkan resistensi terhadap bakteri.⁸ Oleh karena itu, alternatif lain yang terus dikembangkan yaitu obat kumur yang berasal dari bahan alam.

Salah satu bahan alam yang dapat digunakan sebagai alternatif obat kumur yaitu tanaman kayu manis atau yang biasa juga disebut dengan *Cinnamon*. Tanaman *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) merupakan salah satu hasil kekayaan alam Indonesia yang diproduksi lebih dari 80.000 ton/tahunnya, sehingga bahan alam ini mudah didapatkan dengan harga yang terjangkau.¹² *Cinnamon* menjadi salah satu rempah yang digunakan sebagai pemberi rasa dan aroma pada makanan. Dilaporkan juga bahwa *Cinnamon* memiliki manfaat bagi kesehatan, seperti menjaga regulasi darah¹³ dan menurunkan kadar kolesterol.¹⁴ Senyawa aktif yang terdapat pada *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, kuinon, dan terpenoid dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri, antibiofilm, dan antiinflamasi.¹⁵

Penelitian yang telah dilakukan oleh Gupta dkk., dengan pemberian ekstrak *Cinnamon* dengan konsentrasi 20% yang dikumurkan selama 30 hari terbukti dapat mengurangi plak dan gingivitis secara klinis.¹⁶ Penelitian lainnya menyatakan bahwa kandungan *cinnamaldehyde* pada *Cinnamon* (*C. cassia* dan *C. zeylanicum*) memiliki aktivitas antibakteri dan antibiofilm pada bakteri *Staphylococcus aureus* (bakteri Gram positif) dan *Escherichia coli* (bakteri Gram negatif).¹⁷

Penelitian terkait *Cinnamon* dalam bentuk ekstrak, minyak atsiri dan obat kumur secara klinis maupun *in vitro* sudah dilakukan, namun belum dilakukan penelitian ekstrak etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) dalam berbagai konsentrasi dan 2 masa inkubasi. Satu menit berdasarkan protap berkumur sebagian besar obat kumur antiseptik¹⁸ dan 3 jam berdasarkan efektivitas kerja periode singkat suatu obat kumur berbahan alam¹⁹ dalam memberikan efek antibiofilm, khususnya terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sebagai bakteri utama penyebab periodontitis. Pada penelitian ini ingin diketahui efek antibiofilm *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan sebelumnya dapat dirumuskan permasalahan penelitian ini sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) memiliki efek antibiofilm terhadap *Porphyromonas gingivalis*?
2. Apakah ekstrak etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) memiliki efek antibiofilm terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui:

1. Efek antibiofilm ekstrak etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) terhadap *Porphyromonas gingivalis*
2. Efek antibiofilm ekstrak etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan manfaat ilmiah dalam berbagai sasaran.

1. Manfaat bagi ilmu pengetahuan adalah untuk memberikan informasi efek antibiofilm ekstrak etanol *Cinnamon (Cinnamomum burmanii)* terhadap *Phorphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sebagai bahan alternatif obat kumur periodontitis.
2. Manfaat bagi masyarakat luas adalah untuk menambah wawasan masyarakat tentang kegunaan tanaman kayu manis atau *Cinnamon (Cinnamomum burmanii)* sebagai bahan alam alternatif obat kumur periodontitis yang memiliki efek antibiofilm terhadap *Phorphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
3. Manfaat bagi profesi atau bidang kedokteran gigi adalah sebagai informasi ilmiah kepada teman sejawat dokter gigi mengenai bahan alam sebagai alternatif bahan obat kumur periodontitis dengan mengetahui secara ilmiah efek antibiofilm ekstrak etanol *Cinnamon (Cinnamomum burmanii)* terhadap *Phorphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.
4. Manfaat bagi pemerintah adalah sebagai penentuan kebijakan pemanfaatan bahan alam khususnya *Cinnamon (Cinnamomum burmanii)* sebagai alternatif obat kumur periodontitis yang memiliki efek antibiofilm terhadap *Phorphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

E. Originalitas Penelitian

Originalitas penelitian ini adalah sebagai berikut:

Belum dilakukan penelitian ekstrak etanol *Cinnamon (Cinnamomum burmanii)* dengan berbagai konsentrasi pada 2 masa inkubasi bakteri (1 menit dan 3 jam) untuk melihat efek antibiofilm terhadap *Phorphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang merupakan bakteri utama penyebab periodontitis.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. *Cinnamon (Cinnamomum burmannii)*

Tanaman kayu manis atau yang biasa disebut juga dengan *Cinnamon* merupakan rempah-rempah yang telah digunakan selama ribuan tahun baik untuk menambah cita rasa maupun sebagai obat-obatan.²⁰ *Cinnamon* didapat dari kayu pohon yang besar dengan cabang yang halus dan muda, yang tumbuh di Asia Selatan (*Cinnamomum zeylanicum*) dan Asia Tenggara (*Cinnamomum cassium*). Di Indonesia terdapat 12 spesies dari 54 spesies *Cinnamon* (*Cinnamomum sp.*) yang dikenal di dunia. Tiga jenis *Cinnamon* yang menonjol di pasar dunia yaitu *Cinnamomum burmannii* (Gambar 1) di Indonesia, *Cinnamomum zeylanicum* (di Sri Lanka) dan *Cinnamomum cassia* (di China).²⁰

Jenis tanaman *Cinnamon* yang selama ini banyak dikembangkan di Indonesia adalah *Cinnamomum burmannii*, yang merupakan usaha perkebunan rakyat, terutama di Sumatera Barat, Jambi dan Sumatera Utara. *Cinnamomum burmannii* merupakan produk ekspor tradisional yang masih dikuasai Indonesia sebagai negara pengekspor utama di dunia dengan per tahunnya memproduksi sebanyak kurang lebih 80.000 ton.^{12, 20}



Gambar 1. Kulit batang *Cinnamon (C. burmannii)*²¹

1. Deskripsi

Cinnamon ditanam di daerah pegunungan dengan ketinggian 1.500 meter dan dibudidayakan untuk diambil kulit kayunya. Tinggi pohon kayu manis dapat mencapai 1-12 m. Tanaman ini berdaun hijau dan lonjong, daun muda berwarna merah dengan warna pucuk kemerahan, bunganya berkeping dua atau bunga sempurna dengan warna kuning yang berukuran kecil. Buahnya berbiji satu dan berdaging, berbentuk bulat memanjang, buah muda berwarna hijau tua dan buah tua berwarna ungu tua sedangkan daun tuanya berwarna hijau tua dan kulit berwarna kecoklatan.²²

Cinnamon biasanya dihasilkan sekitar 3-4 tahun setelah penanaman dan pemotongan batang untuk merangsang kembali pertumbuhan batang muda. Batang dipotong pada saat musim hujan agar memfasilitasi pengelupasan dari kulit kayu. Kulit *Cinnamon* dapat berasal dari dahan atau ranting serta dijual dalam bentuk kering. Setelah bagian luar dari kulit *Cinnamon* dibersihkan, batang digosok sampai halus. Kemudian kulit tersebut dipotong dengan pisau khusus sehingga menjadi potongan-potongan kayu manis dengan ukuran yang sama.^{20, 22}

2. Taksonomi

Adapun taksonomi *Cinnamon* sebagai berikut:²⁰

Kerajaan : *Plantae*
Divisio : *Magnoliophyta*
Kelas : *Magnoliopsida*
Ordo : *Lurales*
Suku : *Lauraceae*
Marga : *Cinnamomum*
Spesies : *Cinnamomum burmannii*

3. Komposisi

Secara umum, komponen terbesar dari *Cinnamon*, serta yang paling dominan berperan sebagai antibakteri adalah *cinnamaldehyde* (*aldehida sinamat, 3-fenil-2-propenal*) yang diidentifikasi sebagai unsur utama dari kulit dan eugenol [*2-metoksi-4-(2propenil)fenol*] sebagai komponen utama dalam ekstrak *Cinnamon*.^{23,24} Diketahui ekstrak etanol *Cinnamon* mengandung senyawa aktif yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, kuinon, dan terpenoid.^{25,26} Sedangkan ekstrak metanol mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, terpenoid dan glikosida.²⁷ Pada kandungan ekstrak air dingin *Cinnamon* mengandung karbohidrat, steroid, alkaloid, flavonoid dan saponin. Ekstrak air panas *Cinnamon* mengandung karbohidrat, steroid, alkaloid dan saponin.²⁸

Terdapat efek antimikroba pada ekstrak *Cinnamon* yang diperkirakan diperankan oleh zat-zat aktif yang larut dalam etanol. Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri.²⁹ Sifat basa alkaloid akan mempengaruhi tekanan osmotik antara bakteri dengan lingkungan hidupnya.³⁰ Saponin memiliki kemampuan dalam membentuk busa dan menghemolisis darah.³¹ Tanin berperan sebagai antibakteri dengan cara bereaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik bakteri.³² Kuinon mampu berikatan secara kompleks dengan asam amino sehingga protein bakteri tidak dapat berfungsi.³³ Terpenoid akan berikatan dengan lemak dan karbohidrat sehingga menyebabkan permeabilitas membran sel bakteri terganggu.³⁴

4. Manfaat

Saat ini *Cinnamon* memiliki kegunaan utama sebagai rempah-rempah yang digunakan sebagai penambah cita rasa makanan dan digunakan sebagai varian wewangian. *Cinnamon* dilaporkan memiliki

manfaat untuk kesehatan terutama dalam memperbaiki regulasi darah dan menurunkan kadar kolesterol.¹⁴ *Cinnamon* juga digunakan sebagai bahan tambahan ke pasta gigi untuk menutupi rasa pirofosfat, yang merupakan senyawa pengecap yang tidak enak namun berperan dalam menghambat kalsifikasi plak. Secara *in vitro*, dilaporkan bahwa *Cinnamon* mengandung senyawa yang berperan sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri dan antibiofilm.¹⁵

B. Biofilm

Biofilm merupakan penyebab utama dalam etiopatogenesis karies gigi dan penyakit periodontal. Salah satu penyakit periodontal yaitu periodontitis disebabkan oleh biofilm bakteri pada permukaan gigi yang mengeluarkan enzim kolagenase dan dapat menyebabkan kerusakan jaringan gingiva serta tulang pendukung gigi.¹⁵ Peradangan dimulai ketika biofilm bakteri terakumulasi di dalam mulut, kemudian *host* melepaskan sel neutrofil (PMN) yang menargetkan bakteri dan berusaha memfagositosis patogen.

Host juga melepaskan mediator kimia seperti sitokin untuk menanggapi invasi bakteri, interleukin 1 beta (IL-1 β) dan prostaglandin untuk menargetkan biofilm bakteri dan melawan infeksi periodontal. Di sisi lain, produksi yang berlebihan dari mediator dapat menyebabkan kerusakan lebih lanjut pada tulang dan perlekatan jaringan ikat.²³

Meskipun biofilm dapat dihilangkan dengan membersihkan gigi secara rutin, biofilm memiliki potensi untuk berkalsifikasi menjadi kalkulus sehingga proses penghilangannya menjadi sulit. Oleh karena itu, biofilm menimbulkan tantangan besar bagi dokter gigi dalam pengendalian dan pemberantasan penyakit terkait biofilm.⁷

1. Definisi

Biofilm merupakan matriks yang tersusun dari *Ekstracelluler Polimeric Substances* (EPS) yang berasal dari kumpulan bakteri yang bereplikasi membentuk mikrokoloni melekat secara *irreversible* pada

permukaan epitel. Pembentukan biofilm melibatkan suatu proses yang disebut *quorum sensing*. Proses *quorum sensing* merupakan komunikasi antar bakteri yang dapat mengeluarkan substansi yang disebut dengan EPS. Biofilm merupakan agregasi mikroorganisme yang melekat satu sama lain atau ke permukaan *host* yang ditempati dan tertutup oleh substansi polimer ekstraseluler (EPS) yang dihasilkan sendiri atau oleh saliva.³⁵

2. Struktur

Struktur dari biofilm adalah berupa mikrokoloni yang terbentuk dari mekanisme *quorum sensing*, resistensi antimikroba, serta perlekatan antar bakteri yang menyebabkan interaksi fisiologis dari mikrokoloni biofilm menjadi matang. Biofilm tersusun dari matriks (85%) dan kumpulan dari sel-sel bakteri (15 %). EPS menyusun 50%-90% karbon organik biofilm yang merupakan material utama pada matriks. Material utama EPS tersusun dari suatu polisakarida yang dihasilkan dari sel bakteri itu sendiri. EPS bersifat hidrofilik karena dapat mengikat air dalam jumlah yang banyak dengan tingkat kelarutan yang berbeda-beda.³⁶

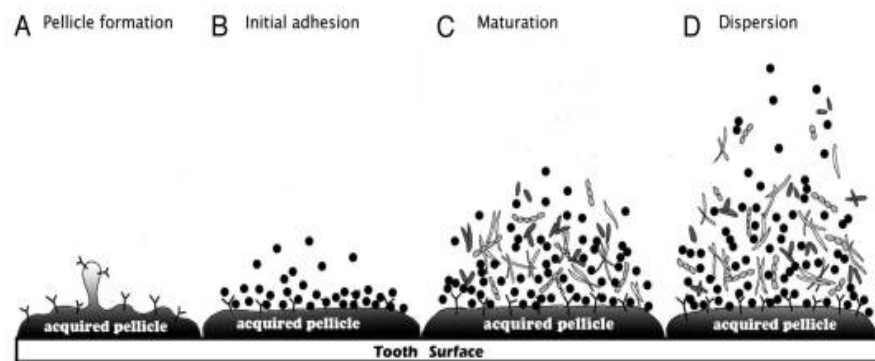
Komponen biofilm yang matang adalah sekitar 5–25% sel bakteri dan 75-95% matriks glikokaliks.³⁷ Biofilm terdiri dari sel-sel mikroba terbungkus dalam matriks zat polimer ekstraseluler seperti polisakarida, protein, dan asam nukleat.³⁸ Di lapisan bawah biofilm, mikroba terikat bersama dalam matriks polisakarida dengan bahan organik dan anorganik lainnya. Di atasnya, ada lapisan *amorf* berongga yang meluas ke medium di sekitarnya. Lapisan cairan yang berbatasan dengan biofilm memiliki sub lapisan yang tetap dan dinamis.³⁹

Biofilm diklasifikasikan menjadi dua, yaitu berdasarkan lokasi dan patogenitasnya. Berdasarkan lokasinya biofilm dibagi menjadi dua, yaitu supragingiva yang berada pada mahkota sampai margin gingiva, dan subgingiva yang berada pada apikal sampai margin gingiva.

Berdasarkan patogenitasnya biofilm dibagi menjadi dua, yaitu kariogenik yang umumnya bersifat asam dan bakteri Gram positif dan periopatojenik yang kebanyakan basofilik dan bakteri Gram negatif.⁴⁰

3. Proses pembentukan

Proses dari pembentukan biofilm dibagi menjadi empat fase (Gambar 2):



Gambar 2. Proses pembentukan biofilm⁴¹

a. Pembentukan *acquired pellicle*

Permukaan dalam rongga mulut, termasuk jaringan keras dan lunak, dilapisi dengan lapisan bahan organik yang dikenal sebagai *acquired pellicle*.⁴² Pelikel merupakan film tipis yang menutupi gigi segera setelah gigi dibersihkan secara menyeluruh, dan berasal dari protein saliva.⁴³ Pelikel pada permukaan gigi terdiri lebih dari 180 peptida, protein, dan glikoprotein, termasuk keratin, musin, protein kaya prolin, dan molekul lain yang dapat berfungsi sebagai tempat adhesi atau reseptor untuk bakteri. Pelikel saliva dapat dideteksi pada permukaan enamel bersih dalam 1 menit setelah dimasukkan ke mulut. Setelah 2 jam, pelikel pada dasarnya dalam keseimbangan antara adsorpsi dan pelepasan, pematangan pelikel lebih lanjut dapat diobservasi selama beberapa jam.⁴⁴

Bakteri yang menempel pada permukaan gigi tidak langsung berkontak dengan enamel tetapi berinteraksi dengan *acquired pellicle*. Namun, pelikel bukan hanya matriks adhesi pasif. Banyak protein mempertahankan aktivitas enzimatik ketika masuk ke dalam pelikel, dan beberapa diantaranya, seperti peroksidase, lisozim, dan α -amilase, dapat mempengaruhi fisiologi dan metabolisme sel bakteri yang melekat.⁴³

b. Adhesi awal bakteri

Adhesi bakteri pada pelikel adalah langkah kedua dari pembentukan biofilm.⁴⁰ Protein dan karbohidrat yang terpapar pada permukaan sel beberapa bakteri planktonik dapat mengenali protein pengikat pada *acquired pellicle*, yaitu α -amilase dan glikoprotein / protein kaya akan prolin dan berikatan dengan pelikel.⁴³

Selama 4-8 jam pertama, 60%-80% bakteri yang muncul adalah anggota genus *Streptococcus*. Bakteri lain yang muncul pada saat ini termasuk spesies bakteri obligat aerob, yaitu yang tidak dapat bertahan hidup tanpa oksigen, seperti *Haemophilus spp.* dan *Neisseria spp.*, serta organisme fakultatif anaerob, yaitu yang dapat tumbuh dalam tekanan atau tidak adanya oksigen termasuk *Actinomyces spp.* dan *Veilonella spp.* Spesies ini dianggap sebagai bakteri kolonisasi primer pada permukaan gigi.⁴³

Bakteri kolonisasi primer mengenali reseptor, di antara reseptor ditemukan protein kaya fosfat seperti statherin dan enzim seperti α -amilase. *Streptococcus* mengenali reseptor di pelikel saliva yang melapisi enamel.⁴⁴ Banyak *Streptococcus* oral memiliki kemampuan untuk mengikat protein seperti α -amilase, protein kaya prolin, dan glikoprotein kaya prolin.⁴³ *Actinomyces* berikatan dengan protein kaya prolin dan statherin.⁴⁴

Bakteri kolonisasi primer menyediakan tempat pengikatan baru untuk adhesi oleh bakteri mulut lainnya. Aktivitas metabolik

dari bakteri kolonisasi primer memodifikasi lingkungan mikro lokal dengan cara mempengaruhi kemampuan bakteri lain untuk bertahan hidup dalam biofilm plak gigi, seperti mengeluarkan oksigen dan memberikan kondisi tekanan oksigen rendah yang memungkinkan kelangsungan hidup dan pertumbuhan anaerob obligat.⁴³

c. Maturasi

Bakteri kolonisasi primer yang melekat pada permukaan gigi memberikan reseptor baru untuk perlekatan oleh bakteri lain, dalam proses yang dikenal sebagai "koadesi." Bersama dengan pertumbuhan mikroorganisme yang melekat, koadesi mengarah pada pengembangan koloni mikro dan akhirnya menjadi biofilm yang matang.⁴³

Kemudian bakteri kolonisasi sekunder mengenali polisakarida atau reseptor protein pada permukaan sel bakteri kolonisasi primer dan melekat padanya. Spesies bakteri melekat berikutnya termasuk *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema spp*, *Tannerella forsythensis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Bakteri kolonisasi sekunder mengikat bakteri yang sebelumnya sudah terikat pada gigi. Pengikatan berurutan menghasilkan penampilan permukaan yang baru lahir yang membentuk jembatan dengan sel mitra agregat berikutnya.⁴⁴

Jembatan koagregasi biasanya mengacu pada struktur satu spesies bakteri dengan dua atau lebih reseptor yang berbeda yang dapat dikenali oleh adhesi yang berbeda dari dua atau lebih spesies bakteri yang berbeda. Agregasi adalah fondasi interaksi bakteri dalam pembentukan biofilm,⁴³ namun agregasi juga spesifik karena setiap strain bakteri menunjukkan spesifisitas bakteri lainnya.⁴⁴

Fusobacteria koagregat dengan semua bakteri oral. Sementara *Veillonella spp.*, *Capnocytophaga spp.* dan *Prevotella spp.* terikat ke

Streptococcus dan / atau *Actinomyces*. *Fusobacterium nucleatum* adalah salah satu spesies jembatan koagregasi yang paling dikenal yang memfasilitasi agregasi *Streptococcus* dan obligat anaerob.⁴²

Transisi dari plak gigi supragingiva hingga plak matang yang tumbuh di bawah margin gingiva melibatkan pergeseran populasi mikroba dari organisme Gram positif ke jumlah bakteri Gram negatif. Oleh karena itu pada tahap akhir koagregasi pembentukan plak antara spesies Gram negatif yang berbeda cenderung mendominasi. Contoh dari jenis interaksi ini adalah koagregasi dari *F. nucleatum* dengan *P. gingivalis* atau *Treponema denticola*.⁴³

d. Dispersi

Setelah tahap maturasi, masuk ke tahap dispersi yang juga penting untuk siklus hidup biofilm. Biofilm menyebar karena beberapa faktor, seperti kurangnya nutrisi, persaingan bakteri yang ketat, dan populasi yang terlalu besar. Dispersi dapat terjadi di seluruh biofilm atau hanya sebagian. Pelepasan bakteri planktonik menginisiasi biofilm baru di tempat lain.⁴⁴

4. Pengendalian biofilm

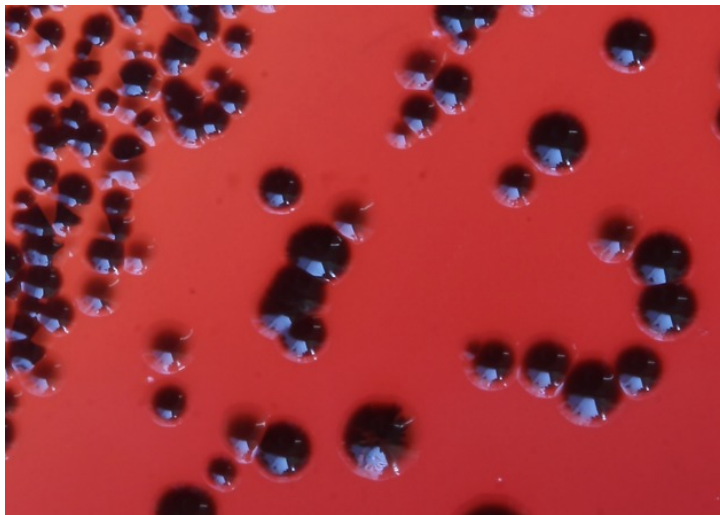
Terdapat tiga pendekatan yang dapat digunakan untuk mengatasi masalah terbentuknya biofilm yaitu menghambat pembentukan, melemahkan dan menghancurkan biofilm. Penghambatan biofilm dapat dilakukan dengan cara menghalangi kerja protein permukaan. Bakteri tidak menempel pada permukaan dan tidak terbentuk koloni bakteri sehingga menghindari terjadinya biofilm. Cara yang kedua adalah dengan melemahkan ataupun mengganggu kondisi biofilm yang telah terbentuk baik secara mekanik ataupun dengan menghalangi sinyal antar sel pada biofilm. Pendekatan ketiga adalah dengan cara menambahkan agen yang dapat memicu penghancuran biofilm.⁴⁴

C. *Porphyromonas gingivalis*

Porphyromonas gingivalis merupakan bakteri anaerob Gram negatif, non-motil, berpigmen hitam, *assacharolytic* dan berbentuk kokus (Gambar 3).⁴⁵ *Porphyromonas gingivalis* merupakan patogen utama penyakit periodontal.⁴⁶

Secara taksonomi, *Porphyromonas gingivalis* diklasifikasikan sebagai berikut:⁴⁷

Kingdom : *Bacteria*
Filum : *Bacteroidetes*
Kelas : *Bacteroides*
Ordo : *Bacteriodales*
Famili : *Porphyromonadaceae*
Genus : *Porphyromonas*
Spesies : *Porphyromonas gingivalis*



Gambar 3. Koloni *Porphyromonas gingivalis* di agar darah⁴⁷

Porphyromonas gingivalis secara lokal dapat menyerang jaringan periodontal dan menghindari mekanisme pertahanan inang. Dengan menggunakan faktor virulensi yang menyebabkan deregulasi respon imun dan inflamasi bawaan. Pembentukan biofilm dapat meningkatkan virulensi *Porphyromonas gingivalis* melalui peningkatan aktivitas *dipeptidil peptidase IV* (DPP IV). Karena pentingnya untuk kolonisasi dan pertumbuhan bakteri, pembentukan biofilm dan aktivitas DPP IV dapat menghadirkan target terapi yang menarik untuk mengatasi periodontitis.⁴⁸

Faktor virulensi dapat didefinisikan sebagai konstituen atau metabolit dari suatu organisme yang penting dalam berbagai tahap siklus kehidupan dan menyebabkan kerusakan pada inang. Dengan menghindari mekanisme pertahanan anti bakteri dari inang, menghasilkan zat yang dapat memicu kerusakan jaringan. Faktor virulensi dari *Porphyromonas gingivalis* terdiri dari enzim hyaluronidase, enzim chondroitin sulfatase dan kapsul yang berfungsi menurunkan fagositosis untuk invasi, inhibitor kemotaksis.⁴⁹ Lipopolisakarida (LPS) sebagai stimulator respon proinflamasi dan resorpsi tulang.³¹ LPS menginduksi sitokin proinflamasi, seperti IL-1 β , IL-6, dan IL-8, yang menginduksi perusakan jaringan periodontal.⁴⁶ Fimbriae berfungsi untuk adhesi atau perlekatan ke *host*. Kolagenase, protease dan gelatinase berfungsi untuk degradasi inhibitor plasma protease, dan penghancuran jaringan periodontal. Aminopeptidase berfungsi untuk mendegradasi protein.⁴⁹

D. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Aggregatibacter actinomycetemcomitans merupakan bakteri Gram negatif, anaerob fakultatif, non-motil, non-hemolytic, non-sporing dan berbentuk batang.⁵⁰ *A. actinomycetemcomitans* yang berada di rongga mulut, adalah anggota kelompok *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella*, dan *Kingella* (HACEK) dari mikroorganisme patogen.⁵¹ *A. actinomycetemcomitans* merupakan agen penyebab dari *localized aggressive*

periodontitis pada remaja yang merupakan bentuk penyakit periodontal yang cepat berkembang.⁵¹

Aggregatibacter actinomycetemcomitans (Gambar 4) sebelumnya dikenal sebagai *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Secara taksonomi, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* diklasifikasikan sebagai berikut:⁵¹

Kingdom : *Bacteria*
Filum : *Proteobacteria*
Kelas : *Gammaproteobacteria*
Ordo : *Pasteurellales*
Famili : *Pasteurellaceae*
Genus : *Aggregatibacter*
Spesies : *Actinomycetemcomitans*



Gambar 4. Penampakan pewarnaan Gram negatif *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan mikroskop pembesaran $10 \times 100^{\times 51}$

Penelitian mengenai serologis *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* telah mengidentifikasi serotipe spesifik dan antigen bakteri yang mungkin penting dalam etiologi penyakit periodontal. Hingga saat ini, tujuh serotipe telah ditetapkan, yaitu a hingga g. Serotipe a, b dan c paling banyak ditemukan di rongga mulut. Klon spesifik serotipe b dengan

peningkatan aktivitas leukotoksik sebagian besar terkait dengan kasus *localized aggressive periodontitis*, serotipe c ditemukan pada subjek sehat.⁵²

Aggregatibacter actinomycetemcomitans memiliki beberapa faktor virulensi. Faktor virulensi *A. actinomycetemcomitans* dapat dikategorikan secara luas ke dalam tiga kelompok, yaitu faktor-faktor yang mendorong kolonisasi dan persistensi dalam rongga mulut yang terdiri dari adhesins, invasins, bakteriosin dan resistensi antibiotik. Faktor-faktor yang mengganggu pertahanan *host* terdiri dari leukotoxin, lipopolisakarida (LPS), penghambat *chemotaxis*, *cytolethal distending toxin* (CDT), protein immunosupresif. Faktor-faktor yang menghancurkan jaringan *host* terdiri dari sitotoksin, *heat shock proteins* (HSPs), kolagenase, dan agen resorpsi tulang.⁵³

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

A. KERANGKA TEORI

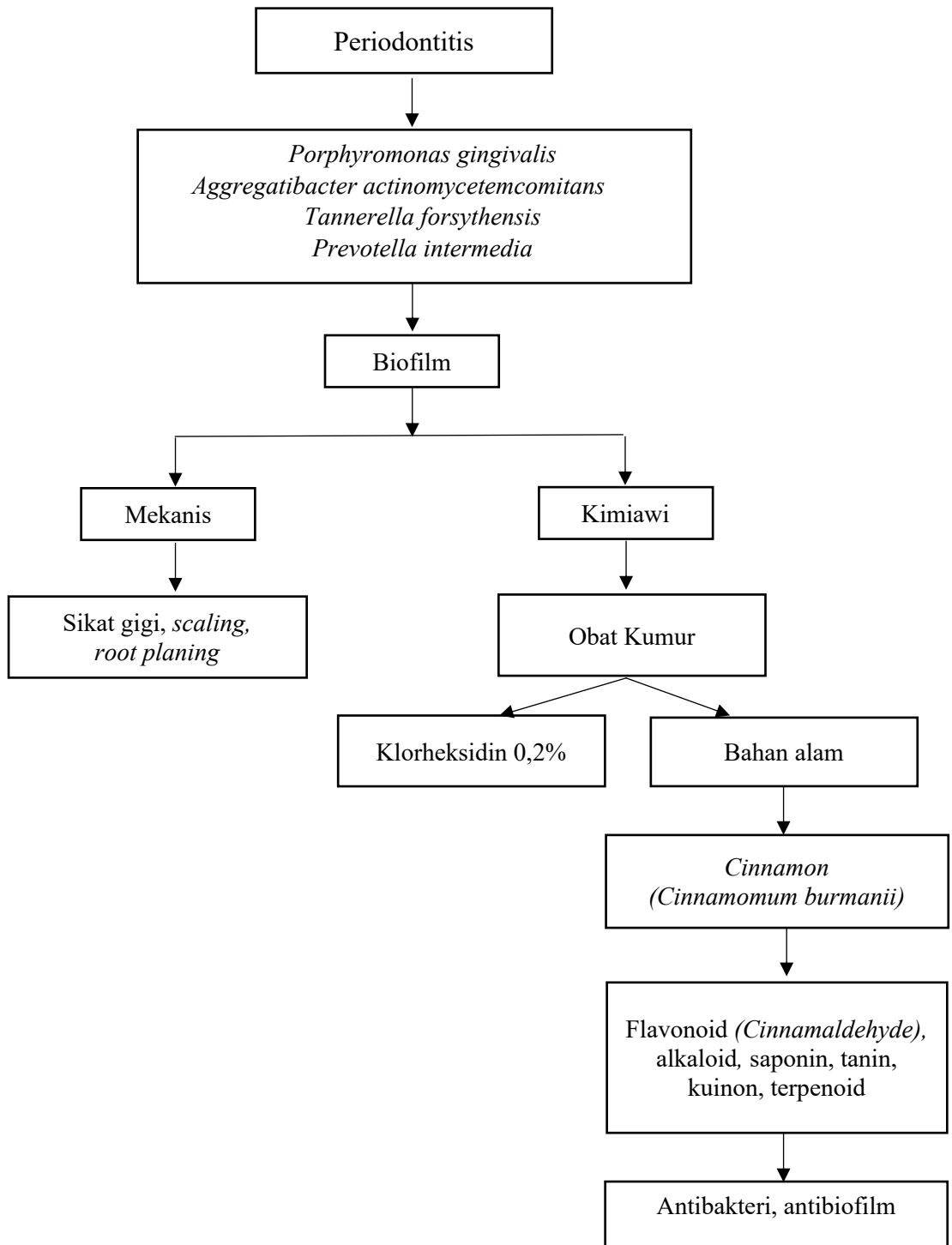
Periodontitis merupakan penyakit inflamasi destruktif pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh bakteri patogen seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythensis*, dan *Prevotella intermedia*. Bakteri ini berkumpul dan bereplikasi membentuk mikrokoloni dan melekat secara *irreversible* pada permukaan epitel dan membentuk matriks yang disebut dengan biofilm, dimana biofilm merupakan penyebab utama dalam etiopatogenesis periodontitis.

Perawatan periodontitis dapat diawali dengan pengendalian biofilm secara mekanik dan kimiawi. Perawatan secara mekanik dapat dilakukan pembersihan dengan menyikat gigi, benang gigi, *scaling* dan *root planing*, serta perawatan secara kimiawi dengan obat kumur dan antibiotik baik secara lokal maupun sistemik. Salah satu obat kumur yang secara meta analisis telah dibuktikan dapat mencegah pembentukan biofilm adalah klorheksidin, namun dilaporkan bahwa klorheksidin memiliki efek sitoksisitas pada sel normal dalam rongga mulut selain efek samping secara klinis berupa perubahan warna pada gigi, iritasi pada mukosa mulut, dan perubahan pengecapan rasa pada lidah. Penggunaan antibiotik dalam jangka waktu yang lama juga dapat menyebabkan resistensi terhadap bakteri. Alternatif lain yang perlu dikembangkan yaitu obat kumur yang berasal dari bahan alam.

Salah satu bahan alam yang dapat digunakan sebagai alternatif obat kumur yaitu *Cinnamon (Cinnamomum burmanii)*. Kandungan senyawa aktif yang terdapat pada *Cinnamon (C. burmanii)* seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, kuinon dan terpenoid dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri, antibiofilm, dan antiinflamasi.

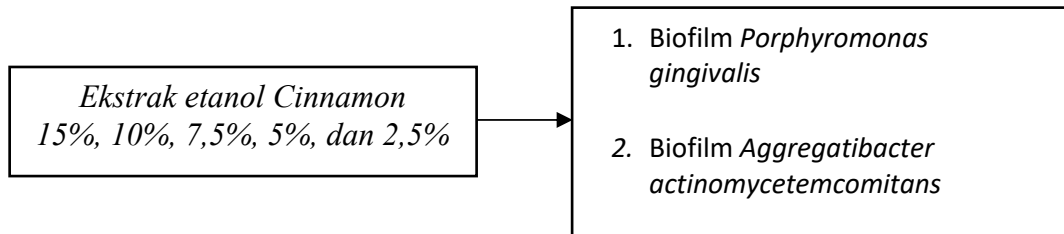
Kandungan utama *Cinnamon* yaitu senyawa *cinnamaldehyde* yang tergolong pada senyawa flavonoid bekerja dengan merusak morfologi membran sel, dan menurunkan produksi faktor virulensi bakteri. Flavonoid berperan sebagai antibakteri dengan mengganggu proses difusi makanan ke dalam sel sehingga pertumbuhan bakteri terhenti atau mati. Alkaloid akan mempengaruhi tekanan osmotik antara bakteri dengan lingkungan hidupnya. Saponin bekerja dengan cara melisiskan membran sel dan menghambat DNA polimerase sehingga sintesis asam nukleat bakteri terganggu. Tanin berperan sebagai antibakteri dengan cara kerja bereaksi dengan membran sel sehingga terjadi gangguan pada dinding sel, dengan cara inaktivasi enzim dan adhesin sehingga bakteri tidak dapat melekat pada sel inang, dan dengan cara mendestruksi materi genetik bakteri sehingga dapat menambah toksisitas pada bakteri, dan bakteri menjadi lisis. Kuinon mampu membentuk kompleks dengan asam amino sehingga protein bakteri kehilangan fungsi. Terpenoid akan berikatan dengan lemak dan karbohidrat menyebabkan permeabilitas membran sel bakteri terganggu.

Skema kerangka teori dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Skema kerangka teori

B. KERANGKA KONSEP



Gambar 6. Skema kerangka konsep

C. HIPOTESIS

1. *Ekstrak etanol Cinnamon (Cinnamomum burmanii)* memiliki efek antibiofilm terhadap *Porphyromonas gingivalis*
2. *Ekstrak etanol Cinnamon (Cinnamomum burmanii)* memiliki efek antibiofilm terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah studi eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post-test only control group design* untuk mengetahui efek antibiofilm ekstrak etanol *Cinnamon (Cinnamomum burmanii)* terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Uji Fitokimia

Waktu : Juni 2020

Tempat : Laboratorium *Biology Center of Research and Education (BioCORE)* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti.

2. Pembuatan Ekstrak Etanol *Cinnamon*

Waktu : Agustus - Oktober 2019

Tempat : Laboratorium *Biology Center of Research and Education (BioCORE)* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti

3. Uji Sitotoksisitas / MTT Assay

Waktu : Oktober – November 2019

Tempat : Laboratorium *Biology Center of Research and Education (BioCORE)* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti

4. Uji Biofilm

Waktu : April 2020

Tempat : Laboratorium *Microbiology Center of Research and Education (MiCORE)* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Trisakti.

C. Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah ekstrak etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) dengan konsentrasi 15%, 10%, 7,5%, 5%, dan 2,5% dengan masing-masing dilakukan 3 kali pengulangan.

D. Variabel penelitian

- a. Variabel bebas : Ekstrak etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*)
- b. Variabel tergantung : Biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

E. Definisi Operasional Variabel

Tabel 1. Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi	Satuan	Skala
Variabel bebas: Ekstrak etanol <i>Cinnamon</i>	Serbuk batang <i>Cinnamon</i> yang diperoleh dari BALITTRO dan sudah diidentifikasi oleh LIPI, kemudian dilarutkan dengan menggunakan etanol 80% (perbandingan serbuk : pelarut = 1 : 10), kemudian diuapkan dengan <i>rotary evaporator</i> hingga diperoleh ekstrak. Ekstrak dilarutkan dengan DMSO 10% dan diencerkan ke 5 konsentrasi yaitu 15%, 10%, 7,5%, 5%, dan 2,5%.	mL	Nominal
Variabel tergantung: Biofilm <i>Porphyromonas gingivalis</i>	Matriks ekstraseluler yang mengandung <i>P. gingivalis</i> ATCC® 33227™ dan diberikan perlakuan ekstrak etanol <i>Cinnamon</i> (konsentrasi 15%, 10%, 7,5%, 5%, dan 2,5%), diinkubasi selama 1 menit dan 3 jam. Kemudian dihitung dengan menggunakan <i>microplate absorbance reader</i> dengan	OD	Rasio

panjang gelombang 595nm dalam *Optical Density*.

Optical Density (OD) adalah satuan dalam menghitung kepadatan bakteri sebagai kekeruhan suatu medium. Jika medium semakin keruh maka akan memberikan nilai OD yang semakin tinggi. Semakin tinggi nilai OD menunjukkan kepadatan bakteri yang tinggi sehingga diartikan efek antibiofilm suatu zat dalam medium semakin kecil, dan begitu sebaliknya.⁵⁴

Variabel	Matriks ekstraseluler yang mengandung	OD	Rasio
tergantung:	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>		
Biofilm	ATCC [®] 29522 TM dan diberikan ekstrak		
<i>Aggregatibacter</i>	etanol <i>Cinnamon</i> (konsentrasi 15%, 10%,		
<i>actinomycetemc</i>	7,5%, 5%, dan 2,5%), diinkubasi selama 1		
<i>o-mitans</i>	menit dan 3 jam. Kemudian dihitung dengan menggunakan <i>microplate absorbance reader</i> dengan panjang gelombang 595nm dalam <i>Optical Density</i> .		

Optical Density (OD) adalah satuan dalam menghitung kepadatan bakteri sebagai kekeruhan suatu medium. Jika medium semakin keruh maka akan memberikan nilai OD yang semakin tinggi. Semakin tinggi nilai OD menunjukkan kepadatan bakteri yang tinggi sehingga diartikan efek antibiofilm suatu zat dalam medium semakin kecil, dan begitu sebaliknya.⁵⁴

F. Bahan dan Alat

1. Bahan
 - a. Serbuk *Cinnamon (C. burmanii)*
 - b. Etanol 80%
 - c. *Ekstrak etanol Cinnamon (15%, 10%, 7,5%, 5%, dan 2,5%)*
 - d. DMSO 10%
 - e. Kultur fibroblas gingiva
 - f. H₂O₂ 0,1%
 - g. Aquades steril
 - h. NH₃
 - i. H₂SO₄
 - j. Dragendroff
 - k. HCl
 - l. FeCl₃
 - m. NaOH
 - n. n-heksana
 - o. *Liebermann-Burchard*
 - p. Medium kultur (DMEM)
 - q. *Phosphate Buffered Saline (PBS)*
 - r. *MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide)* 5mg/mL PBS (50 mg MTT and 10 mL PBS)
 - s. Alkohol
 - t. Aluminium foil
 - u. Kultur *Porphyromonas gingivalis ATCC® 33227™*
 - v. Kultur *Aggregatibacter actinomycetemcomitans ATCC® 29522™*
 - w. Klorheksidin 0,2%
 - x. Larutan *crystal violet*
 - y. Media BHI

2. Alat
 - a. Kertas saring Whatmann 0,1 mm
 - b. 96-well plate (Biologix[®], Indonesia)
 - c. Mikropipet tip 1000 dan 200
 - d. *Yellow tip* dan *blue tip*
 - e. Rak tabung 15 & 50 ml
 - f. *Microtube* 1,5 ml
 - g. *Waterbath*
 - h. Mesin Vortex (VortexV-Plus, Biosan[®])
 - i. *Microplate Absorbance Reader* (iMark[™] Bio-Rad, USA)
 - j. *Stopwatch*
 - k. Inkubator
 - l. *Autoclave*
 - m. Lampu spiritus
 - n. Tabung reaksi
 - o. *Spectrophotometer*
 - p. Micropipette

G. Cara Kerja

1. Persiapan *Cinnamon*

Pengambilan kulit batang *Cinnamon* di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO) Bogor dan diidentifikasi oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI).
2. Pembuatan ekstrak etanol *Cinnamon*
 - a. *Maserasi*

Serbuk kulit batang *Cinnamon* dimaserasi dengan menggunakan pelarut dengan cara direndam pada etanol 80% (sampel : pelarut = 1: 10) selama 3 x 24 jam dengan sesekali larutan dikocok. Hasil larutan disaring dengan menggunakan kertas saring *Whatmann* 0,1 mm, sehingga diperoleh maserat. Pelarut (etanol) dalam maserat

diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C sampai diperoleh ekstrak etanol *Cinnamon*. Ekstrak yang diperoleh disimpan dalam wadah tertutup lalu dimasukkan dalam lemari pendingin dengan suhu -20°C.⁵⁵

b. *Pengenceran*

Ekstrak etanol *Cinnamon* tersebut dilarutkan dengan DMSO 10% dengan perbandingan 1 : 1 yang kemudian diencerkan dengan aquades menjadi 5 konsentrasi 15%, 10%, 7,5%, 5%, dan 2,5% dengan menggunakan rumus pengenceran $N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$.⁵⁶

3. Uji Fitokimia⁵⁷

a. Uji Flavonoid

Sebanyak 2 ml ekstrak etanol *Cinnamon* ditambahkan 2 ml NH₃ encer dan 1 ml H₂SO₄, dilakukan pengocokan. Adanya perubahan warna larutan menjadi kuning menunjukkan adanya flavonoid.

b. Uji Alkaloid

Sebanyak 2 mL ekstrak etanol ditambahkan ditambahkan 2 ml pereaksi dragendroff. Adanya endapan jingga menunjukkan adanya alkaloid.

c. Uji Saponin

Sebanyak 2 mL ekstrak etanol *Cinnamon* ditambahkan 2 mL aquades, kemudian dikocok kuat secara vertikal dan ditambahkan HCl. Adanya saponin ditunjukkan dengan timbulnya busa yang tetap stabil dalam larutan setelah penambahan HCl.

d. Uji Tanin

Sebanyak 2 mL ekstrak etanol *Cinnamon* ditambahkan 2 mL FeCl₃ 1%, kemudian dilakukan pengocokkan. Adanya perubahan warna larutan menjadi coklat kehitaman menunjukkan adanya tanin.

- e. Uji Kuinon
Sebanyak 2 mL ekstrak etanol *Cinnamon* ditambahkan 2 mL NaOH 1%, kemudian dilakukan pengocokkan. Adanya perubahan warna larutan menjadi merah menunjukkan adanya kuinon.
 - f. Uji Terpenoid
Sebanyak 2 mL ekstrak etanol *Cinnamon* ditambahkan 2 mL n-heksana, kemudian dikocok. Lapisan n-heksana ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchard. Adanya perubahan warna menjadi merah menunjukkan adanya terpenoid.
4. Uji sitotoksitas / *MTT assay* (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide)⁵⁸
- a. Ambil sel yang telah dikultus di inkubator dan amati kondisi sel untuk dilakukan pemanenan sel
 - b. Hitung jumlah sel dan buat pengenceran sel dengan medium kultur (DMEM) sesuai kebutuhan mengikuti protokol penghitungan sel ((*seeding density* x jumlah)/hitung jumlah sel)
 - c. Masukkan sel ke dalam sumuran, masing-masing 100 μ l (sesuai dengan desain)
 - d. Amati keadaan sel di mikroskop *inverted* untuk melihat distribusi sel dan inkubasi sel di dalam inkubator inkubasi pada suhu 37^oC selama 48 jam (agar sel pulih kembali setelah panen)
 - e. Siapkan ekstrak etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) dengan konsentrasi 15%, 10%, 7,5% 5%, dan 2,5% sebagai perlakuan, H₂O₂ 0,1% sebagai kontrol positif dan aquades sebagai kontrol negatif
 - f. Buang media sel (balikkan *plate* 180^o) di atas tempat buangan dengan jarak 15 cm, kemudian tekan *plate* secara perlahan di atas tisu makan untuk meniriskan sisa cairan
 - g. Masukkan 100 μ l PBS ke dalam semua sumuran yang terisi sel, kemudian buang kembali PBS

- h. Masukkan ekstrak etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) dengan konsentrasi 15%, 10%, 7,5%, 5%, dan 2,5%, H₂O₂ 0,1% dan aquades dalam sumuran (triplo)
- i. Inkubasi pada suhu 37^oC selama 24 jam
- j. Siapkan reagen MTT untuk perlakuan sebanyak 0,5 mg/ml (1 mL MTT dalam 5mg/mL PBS), encerkan dengan 10 ml medium kultur (untuk 1 buah 96 *well plate*).
- k. Buang media sel, cuci PBS 1 kali dan tambahkan reagen MTT 100 μ L ke setiap sumuran, termasuk kontrol media (tanpa sel)
- l. Inkubasi pada suhu 37^oC selama 4 jam
- m. Jika formazan telah jelas terbentuk, tambahkan *stopper* 100 μ L SDS 10% dalam 0,1 N HCl.
- n. Inkubasi pada suhu 37^oC selama 1 jam
- o. Masukkan 96-*well plate* ke dalam *Microplate Absorbance Reader* (iMarkTM Bio-Rad, USA) dengan λ =550-600 nm (595 nm)
- p. Perhitungan dilakukan dengan pengulangan sebanyak tiga kali
- q. Nilai *optical density* (OD) dimasukkan ke dalam rumus untuk mendapatkan persentase viabilitas fibroblas yang masih hidup. Adapun rumusnya sebagai berikut:

$$\text{Persentase viabilitas sel} = \frac{(\text{OD perlakuan} - \text{OD kontrol media})}{(\text{OD kontrol sel} - \text{OD kontrol media})} \times 100\%$$

Hasil persentase viabilitas sel tersebut menjadi acuan apakah ekstrak etanol *Cinnamon* dengan konsentrasi 15%, 10%, 7,5%, 5%, dan 2,5%, kontrol negatif dan kontrol positif memiliki efek sitotoksitas terhadap fibroblas.

5. Uji Biofilm⁵⁴

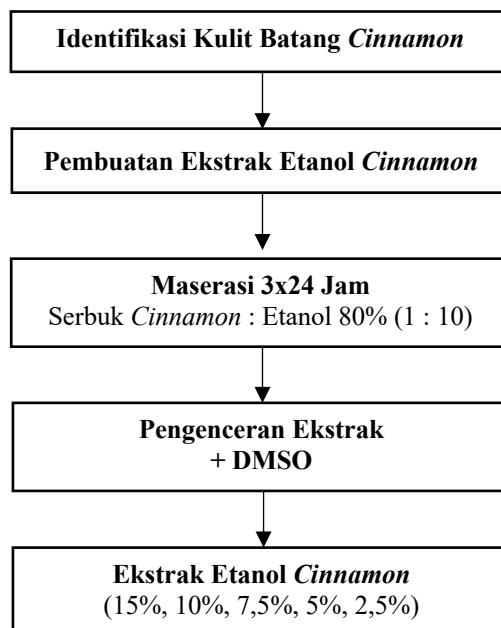
Kultur *Phorphyromonas gingivalis* (*Pg*) dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*) dilakukan di *tube* dengan media BHI

(*brain heart infusion*) dengan perhitungan OD (*optical density*) *Phorphyromonas gingivalis* = 0.539 dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* = 0.218 di *microplate reader 96-wellplate* lalu dilakukan pengenceran bakteri (rumus $N1 \times V1 = N2 \times V2$) dengan media BHI sehingga didapatkan volume *Phorphyromonas gingivalis* sebanyak 7,34 ml dan volume *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sebanyak 18,2 ml. Kemudian bakteri dari *tube* menggunakan pipet ke *96-wellplate* masing-masing sumur sebanyak 200 μ l dan diinkubasi pada suhu 37°C dalam waktu 24 jam. Media BHI dibuang dari setiap sumur dengan menyisakan bakteri di dasar sumur. Masukkan 200 μ l ekstrak *Cinnamon (Cinnamomum burmanii)* dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 20%, 15%, 10%, 7.5%, 5%, dan 2,5%, klorheksidin 0,2% dan aquades ke dalam *96-wellplate* menggunakan pipet. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C dalam waktu 1 menit dan 3 jam.⁴⁷ Setelah diinkubasi, *96-wellplate* dibilas dan dikeringkan lalu berikan pewarnaan dengan *crystal violet* dan didiamkan selama 15 menit dan kemudian dibilas kembali dengan aquades keringkan lalu beri etanol absolut sebanyak 200 μ L untuk melarutkan *crystal violet* yang berikatan dengan sisa-sisa biofilm. Kemudian kekeruhan biofilm diukur pada panjang gelombang 595 nm dengan menggunakan *elisa reader* dan didapatkan hasil *optical density* (OD) dari biofilm *Phorphyromonas gingivalis* (*Pg*) dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*).

H. Alur kerja

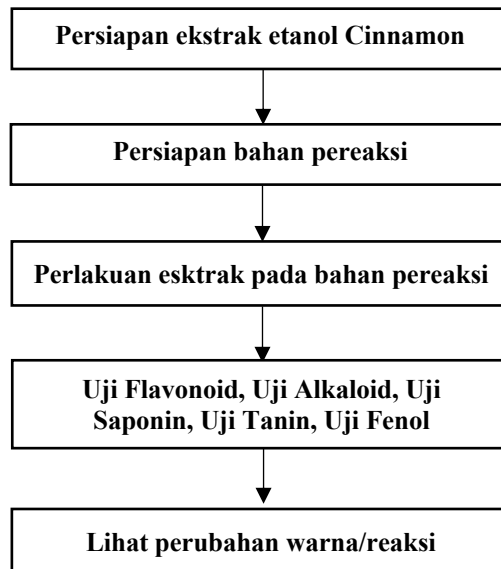
Alur kerja persiapan ekstrak (Gambar 7), alur kerja uji fitokimia (Gambar 8), alur kerja sitotoksitas (Gambar 9), alur kerja uji biofilm (Gambar 10) dapat dilihat sebagai berikut:

1. Persiapan Ekstrak



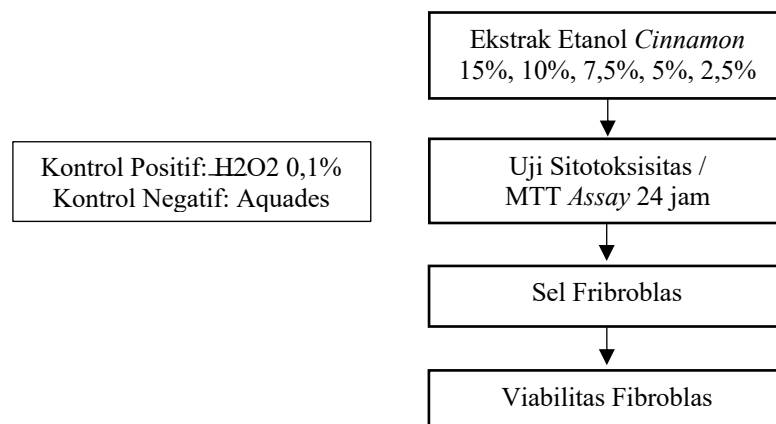
Gambar 7. Skema alur kerja persiapan ekstrak

2. Uji Fitokimia



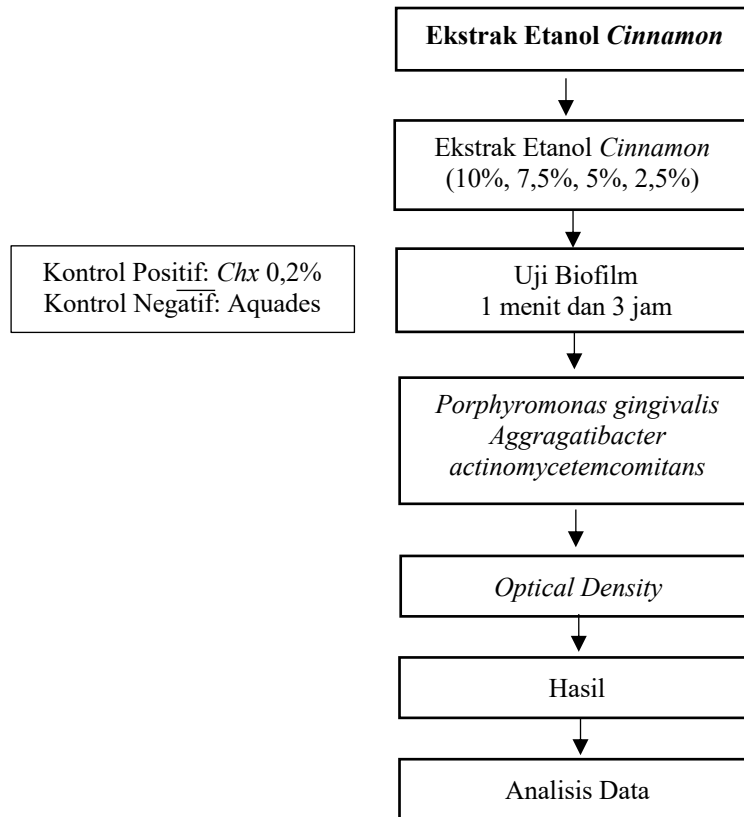
Gambar 8. Skema alur kerja uji fitokimia

3. Uji Sitotoksitas



Gambar 9. Skema alur kerja uji sitotoksitas (*MTT Assay*)

4. Uji Biofilm



Gambar 10. Skema alur kerja uji biofilm

I. Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode uji normalitas *Saphiro wilk*. Apabila data terdistribusi normal ($p > 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji statistik *one way* ANOVA dengan tingkat kemaknaan ($p < 0,05$). Kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey LSD* dengan tingkat kemaknaan ($p < 0,05$). Analisis data menggunakan *software* SPSS versi 24.

BAB V

HASIL PENELITIAN

A. Hasil Uji Fitokimia

Pengujian fitokimia dilakukan dengan teknik kualitatif menggunakan pereaksi untuk golongan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, kuinon dan terpenoid. Didapatkan data kualitatif positif (+) pada setiap jenis pemeriksaan dimana terjadi perubahan warna atau reaksi sesuai dengan ketentuan setelah sampel atau ekstrak etanol *Cinnamon* diberikan perlakuan terhadap bahan pereaksi. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Cinnamon* memiliki kandungan senyawa aktif flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, kuinon dan terpenoid (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol *Cinnamon* (Kualitatif)

No	Jenis Pemeriksaan	Hasil Pengujian
1	Flavonoid	+
2	Alkaloid	+
3	Saponin	+
4	Tanin	+
5	Kuinon	+
6	Terpenoid	+

B. Hasil Uji Sitotoksisitas

Pengujian sitotoksisitas menggunakan metode *MTT assay* dengan ekstrak etanol *Cinnamon* (15%, 10%, 7,5%, 5% dan 2,5%) sebagai kelompok perlakuan, H₂O₂ 0,1% sebagai kontrol positif, dan aquades sebagai kontrol negatif dilakukan selama 24 jam dengan melihat nilai persentase viabilitas fibroblas.

Dapat dilihat bahwa persentase rerata viabilitas fibroblas paling tinggi pada perlakuan ekstrak etanol *Cinnamon* (EEC) dengan konsentrasi 2,5% (434,67%) dan viabilitas fibroblas terendah pada perlakuan EEC konsentrasi 15% (275,67%). Aquades sebagai kontrol negatif dengan persentase rerata tertinggi yaitu sebesar 545,3% dari keseluruhan perlakuan, sedangkan viabilitas H₂O₂ 0,1% sebagai kontrol negatif menunjukkan persentasi rerata terendah yaitu sebesar 3,33% (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil rerata persentase viabilitas fibroblas dengan metode MTT *assay* setelah diberi perlakuan selama 24 jam

Perlakuan (%)	Persentase Viabilitas Fibroblas			
	P1 (%)	P2 (%)	P3 (%)	Rerata (%)
EEC 2,5	391	433	480	434,67
EEC 5	318	422	502	414
EEC 7,5	291	386	453	376,67
EEC 10	282	308	329	306,33
EEC 15	266	242	319	275,67
H ₂ O ₂ 0,1	2	6	2	3,33
Aquades	562	531	543	545,33

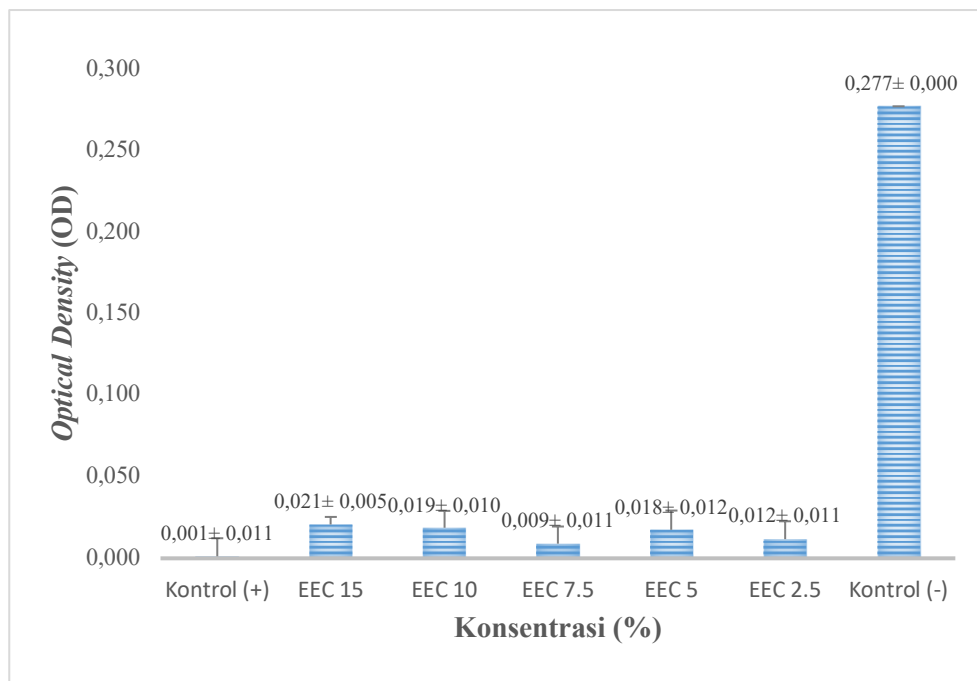
*Keterangan: P1= Pengulangan 1; P2= Pengulangan 2; P3= Pengulangan 3; EEC = Ekstrak Etanol *Cinnamon*; H₂O₂= Hidrogen Peroksida

C. Hasil Uji Biofilm

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan 5 konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon* (15%, 10%, 7,5%, 5%, 2,5%), klorheksidin 0,2% sebagai kontrol positif dan aquades sebagai kontrol negatif dengan dua waktu inkubasi yang berbeda (1 menit dan 3 jam), menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Cinnamon* (*C. burmanii*) memiliki efek antibiofilm terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

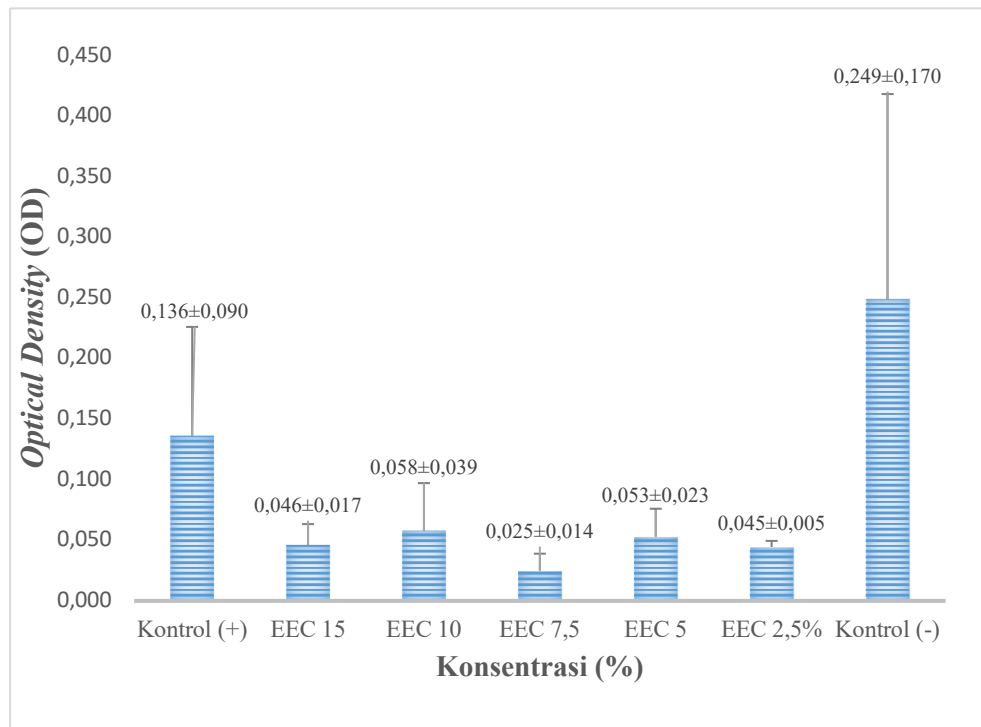
Uji antibiofilm dengan masa inkubasi 1 menit pada *Porphyromonas gingivalis* menunjukkan bahwa klorheksidin 0,2% memberikan efek

antibiofilm tertinggi ($0,001\pm 0,011$) dan dilanjutkan dengan ekstrak etanol *Cinnamon* konsentrasi 7,5% ($0,009\pm 0,011$) yang memiliki nilai OD terendah dibandingkan nilai OD pada ekstrak etanol *Cinnamon* lainnya. Namun, nilai OD tertinggi terlihat pada perlakuan kontrol negatif yaitu sebesar $0,277\pm 0,000$. (Gambar 11).



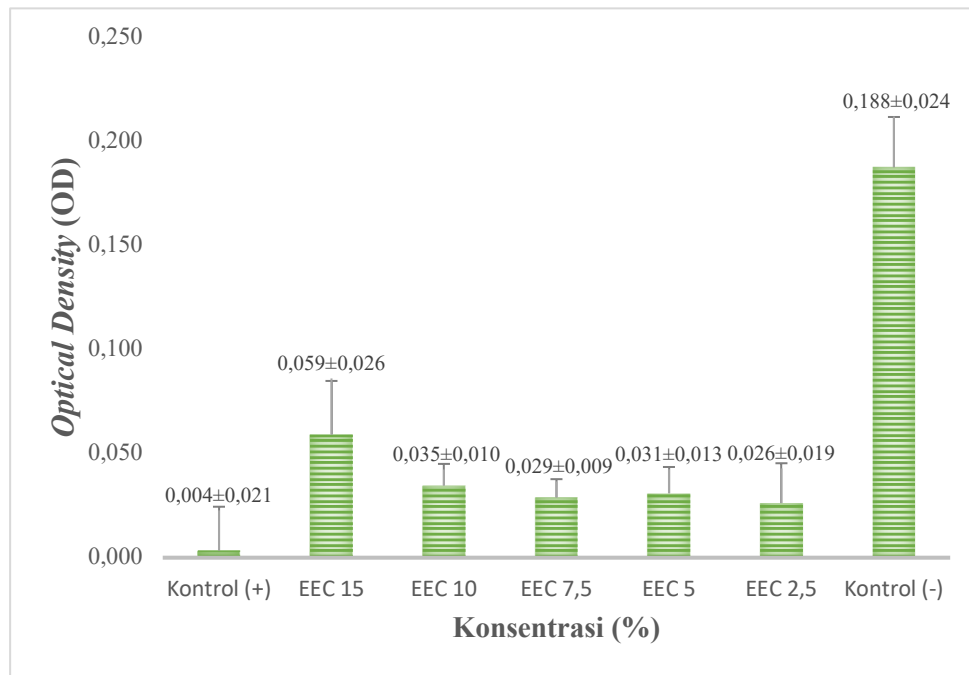
Gambar 11. Hasil uji biofilm ekstrak etanol *Cinnamon* terhadap *Porphyromonas gingivalis* pada masa inkubasi 1 menit

Hasil uji biofilm terhadap *Porphyromonas gingivalis* dengan masa inkubasi selama 3 jam, didapatkan bahwa ekstrak etanol *Cinnamon* pada konsentrasi 7,5% ($0,025\pm 0,014$) memiliki efek antibiofilm yang tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Pada masa inkubasi ini, semua konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon* memiliki efek antibiofilm lebih baik dibandingkan kontrol positif maupun kontrol negatif. Hal ini terlihat dari nilai OD yang tinggi pada kontrol positif dan negatif yaitu masing-masing sebesar $0,136\pm 0,090$ dan $0,249\pm 0,170$. (Gambar 12).



Gambar 12. Hasil uji biofilm ekstrak etanol *Cinnamon* terhadap *Poprhyromonas gingivalis* pada masa inkubasi 3 jam

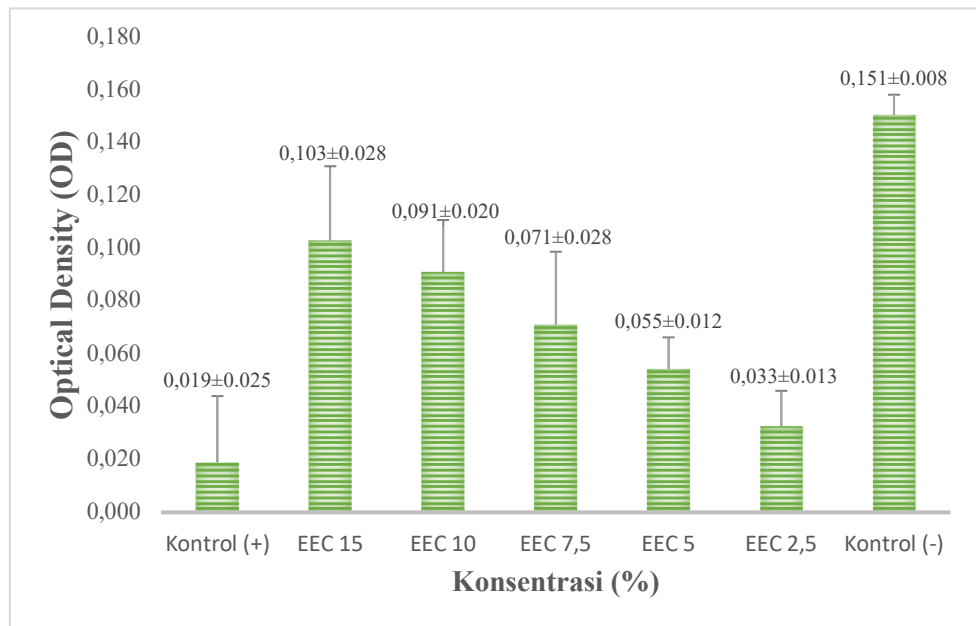
Uji antibiofilm dengan masa inkubasi 1 menit pada *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Cinnamon* memiliki efek antibiofilm yang tertinggi pada konsentrasi 2,5% (0,026±0,019) dan semakin meningkat konsentrasi EEC terlihat memberikan efek antibiofilm yang semakin rendah. Klorheksidin 0,2% sebagai kontrol positif memiliki nilai OD terendah yaitu sebesar 0,004±0,021 dan kontrol negatif memiliki nilai OD tertinggi yaitu sebesar 0,188±0,024 (Gambar 13).



Gambar 13. Hasil uji biofilm ekstrak etanol *Cinnamon* terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada masa inkubasi 1 menit

Hasil uji biofilm terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan masa inkubasi 3 jam menunjukkan efek antibiofilm terbesar terlihat pada ekstrak etanol *Cinnamon* konsentrasi 2,5% dengan nilai OD $0,033\pm 0,013$ dan semakin meningkat konsentrasi EEC terlihat memberikan efek antibiofilm yang semakin rendah. Hal ini dapat dilihat dari nilai OD yang semakin tinggi dengan kenaikan konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon*. Pada masa inkubasi ini, klorheksidin 0,2% sebagai kontrol positif memiliki efek antibiofilm tertinggi dibanding semua perlakuan dengan nilai OD sebesar $0,019\pm 0,025$, dimana kontrol negatif tetap memiliki efek antibiofilm terendah dengan nilai OD sebesar $0,151\pm 0,008$ (Gambar 14).

Semakin meningkat konsentrasi EEC terlihat memberikan efek antibiofilm yang semakin rendah. Hal ini dapat dilihat dari nilai OD yang semakin tinggi dengan kenaikan konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon*.



Gambar 14. Hasil uji biofilm *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang telah diberi ekstrak etanol *Cinnamon* (*C. burmanii*) pada masa inkubasi 3 jam

D. Hasil Uji Statistik

Dilakukan uji normalitas menggunakan metode *Saphiro-Wilk* pada uji biofilm ekstrak etanol *Cinnamon* terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan masa inkubasi 1 menit dan 3 jam. Hasil uji normalitas pada masa inkubasi 1 menit dan 3 jam terhadap *Porphyromonas gingivalis* secara berurutan terdistribusi normal dengan $p=0,140$ dan $p=0,066$ ($p>0,05$) (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil uji normalitas ekstrak etanol *Cinnamon* terhadap *Porphyromonas gingivalis* dengan masa inkubasi 1 menit dan 3 jam

Uji Normalitas	
Uji Antibiofilm <i>P. gingivalis</i>	<i>p-value</i>
Inkubasi 1 menit	0,140*
Inkubasi 3 jam	0,066*

*Signifikansi $p>0,05$

Hasil uji normalitas pada uji biofilm terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan masa inkubasi 1 menit dan 3 jam menunjukkan data terdistribusi normal dengan masing-masing nilai $p = 0,426$ dan $p = 0,992$ ($p > 0,05$) (Tabel 5).

Tabel 5. Hasil uji normalitas ekstrak etanol *Cinnamon* terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan masa inkubasi 1 menit dan 3 jam

Uji Normalitas	
Uji Antibiofilm <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	<i>p-value</i>
Inkubasi 1 menit	0,426*
Inkubasi 3 jam	0,992*

*Signifikansi $p > 0,05$

Kemudian data dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA satu jalan (*one way*). Hasil uji ANOVA satu jalan pada uji biofilm terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada masa inkubasi 1 menit dan 3 jam menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) (Tabel 6 dan 7).

Tabel 6. Hasil uji ANOVA satu jalan pada uji biofilm ekstrak etanol *Cinnamon* terhadap *Porphyromonas gingivalis* pada inkubasi 1 menit dan 3 jam

Perlakuan	<i>p-value</i>	Pg 1 Menit		Pg 3 Jam	
		<i>Mean</i>	<i>Std. Dev</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Dev</i>
Kontrol (+)		0,001	0,011	0,136	0,090
EEC 15%		0,021	0,005	0,046	0,017
EEC 10%		0,019	0,010	0,058	0,039
EEC 7,5%	0,000*	0,019	0,011	0,025	0,014
EEC 5%		0,018	0,012	0,053	0,023
EEC 2,5%		0,012	0,011	0,045	0,005
Kontrol (-)		0,277	0,000	0,249	0,170

*Signifikansi $p < 0,05$

Tabel 7. Hasil uji ANOVA satu jalan pada uji biofilm ekstrak etanol *Cinnamon* terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada inkubasi 1 menit dan 3 jam

Perlakuan	p-value	Aa 1 Menit		Aa 3 Jam	
		Mean	Std. Dev	Mean	Std. Dev
Kontrol (+)		0,004	0,021	0,019	0,025
EEC 15%		0,059	0,026	0,103	0,028
EEC 10%		0,035	0,01	0,091	0,02
EEC 7,5%	0,000*	0,029	0,009	0,071	0,028
EEC 5%		0,031	0,013	0,055	0,012
EEC 2,5%		0,026	0,019	0,033	0,013
Kontrol (-)		0,188	0,024	0,151	0,008

*Signifikansi $p < 0,05$

Kemudian data dianalisis dengan uji *Post Hoc* LSD untuk melihat signifikansi setiap kelompok perlakuan. Hasil analisis data dengan uji *Post Hoc* LSD pada *Porphyromonas gingivalis* dengan masa inkubasi 1 menit dan 3 jam menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p = 0,000$; $p < 0,05$) pada semua konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon* (*C.burmanii*) terhadap kontrol negatif. (Tabel 8).

Tabel 8. Hasil uji *Post Hoc* LSD pada uji biofilm ekstrak etanol *Cinnamon* terhadap *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*)

Perlakuan	Pg 1 Menit		Pg 3 Jam	
	Mean \pm SD	Nilai P : Kontrol (-)	Mean \pm SD	Nilai P : Kontrol (-)
EEC 15%	0,021 \pm 0,005	0,000*	0,046 \pm 0,017	0,000*
EEC 10%	0,019 \pm 0,010	0,000*	0,058 \pm 0,039	0,000*
EEC 7,5%	0,009 \pm 0,011	0,000*	0,025 \pm 0,014	0,000*
EEC 5%	0,018 \pm 0,012	0,000*	0,053 \pm 0,023	0,000*
EEC 2,5%	0,012 \pm 0,011	0,000*	0,045 \pm 0,005	0,000*

*Signifikansi $p < 0,05$

Hasil analisis data dengan uji *Post Hoc* LSD pada *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan masa inkubasi 1 menit dan 3 jam menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p=0,021$, $p=0,005$, $p=0,000$; $p<0,05$) pada seluruh konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon* (*C. burmanii*) terhadap kontrol negatif. (Tabel 9)

Tabel 9. Hasil uji *Post Hoc* LSD pada uji biofilm ekstrak etanol *Cinnamon* terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*)

Perlakuan	<i>Aa</i> 1 Menit		<i>Aa</i> 3 Jam	
	Mean \pm SD	Nilai P : Kontrol (-)	Mean \pm SD	Nilai P : Kontrol -
EEC 15%	0,059 \pm 0,026	0,000*	0,103 \pm 0,028	0,021*
EEC 10%	0,035 \pm 0,010	0,000*	0,091 \pm 0,020	0,005*
EEC 7,5%	0,029 \pm 0,009	0,000*	0,071 \pm 0,028	0,000*
EEC 5%	0,031 \pm 0,013	0,000*	0,055 \pm 0,012	0,000*
EEC 2,5%	0,026 \pm 0,019	0,000*	0,033 \pm 0,013	0,000*

*Signifikansi $p<0,05$

Hasil analisis data dengan uji *Post Hoc* LSD pada *Porphyromonas gingivalis* dengan masa inkubasi 1 menit dan 3 jam menunjukkan setiap antar konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon* (*C. burmanii*) tidak berbeda signifikan ($p>0,05$).

Hasil analisis data dengan uji *Post Hoc* LSD pada *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan masa inkubasi 1 menit dan 3 jam menunjukkan setiap antar konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon* (*C. burmanii*) tidak berbeda signifikan ($p>0,05$).

BAB VI PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek antibiofilm ekstrak etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* (*Pg*) dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*) sebagai bakteri utama penyebab periodontitis. Ekstrak diperoleh dari teknik maserasi *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) dengan etanol 80% sebagai pelarut (*Cinnamon*:etanol = 1:10).⁴⁴ Etanol dipilih sebagai pelarut pada penelitian ini karena memiliki sifat polar sekaligus non polar. Etanol bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil (-OH) dan bersifat non polar karena memiliki gugus hidrokarbon (CH₂CH₃).⁵⁵

Setelah didapat ekstrak etanol *Cinnamon*, pengenceran dilakukan menjadi 5 konsentrasi (15%, 10%, 7,5%, 5%, dan 2,5%) menggunakan pelarut dimetil sulfoksida (DMSO) 10% karena ekstrak etanol *Cinnamon* tidak larut dalam air, yang sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Ida dkk.⁵⁹ Dimetil sulfoksida (DMSO) tidak berwarna dan dapat melarutkan senyawa polar dan non polar serta dapat larut dalam berbagai pelarut organik, termasuk dalam air. DMSO sebagai pelarut digunakan dengan konsentrasi tidak boleh melebihi 10% karena dapat menyebabkan pecahnya membran sel.⁵⁶

Hasil ekstraksi kemudian diuji kandungan kimianya (uji fitokimia) untuk memastikan senyawa kimia apa saja yang terkandung dalam ekstrak etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmannii*) tersebut. Metode uji fitokimia yang digunakan pada penelitian ini adalah secara kualitatif. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Cinnamon* mengandung senyawa kimia berupa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, kuinon dan terpenoid hal ini sesuai dengan penelitian oleh Mubarak dkk.⁵⁷

Menurut Zhang dkk., kandungan terbesar *Cinnamon* adalah *cinnamaldehyde* sebesar 92,40% yang termasuk golongan flavonoid dan memiliki aktivitas antibakteri dan antibiofilm *E. Coli* dan *S. Aureus*.⁶⁰ Pada penelitian ini, tidak

dilakukan penghitungan kuantitatif senyawa aktif yang terkandung dalam *Cinnamon (Cinnamomum burmanii)* sehingga tidak dapat diketahui dari 6 senyawa aktif yang ditemukan apakah memiliki kandungan flavonoid paling besar atau tidak. Hal ini disebabkan karena kendala uji fitokimia kuantitatif tidak dapat dilakukan di Biocore FKG Usakti. Adapun solusi untuk melakukan uji fitokimia kuantitatif di laboratorium luar terkendala pandemi *Covid-19* di berbagai tempat yang menyebabkan laboratorium tidak beroperasi.

Jika dilihat hasil uji fitokimia pada penelitian ini, ditemukan adanya senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol *Cinnamon (Cinnamomum burmanii)* yang dipercaya berperan memiliki efek antibiofilm terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Raorane dkk., yang melaporkan bahwa flavonoid terbukti memiliki efek sebagai antibiofilm dan antivirulensi pada bakteri dengan cara menghambat pembentukan biofilm pada strain dan isolasi *Acinetobacter baumannii*.⁶¹

Efek antibiofilm yang dimiliki oleh senyawa aktif flavonoid, alkaloid dan saponin yang ditemukan pada penelitian ini juga didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Apriliany dkk., yang melaporkan bahwa senyawa flavonoid, alkaloid dan saponin yang terdapat pada *Cinnamon burmanii* memiliki cara kerja sebagai anti *quorum sensing* atau dengan kata lain merusak sistem komunikasi antar sel pada bakteri sehingga menghambat pembentukan biofilm pada *Pseudomonas aeruginosa*.⁶²

Hasil penelitian Firmino dkk., melaporkan minyak atsiri yang mengandung senyawa flavonoid dan tanin ditemukan dalam *Cinnamomum zeylanicum* dan *Cinnamomum cassia* dengan konsentrasi 0,2% dapat memberikan efek antibiofilm pada bakteri *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Escherichia coli*. Penggunaan mikroskop elektron memperlihatkan adanya perubahan morfologis sel bakteri, yang dikonfirmasi oleh peningkatan asam nukleat dan kadar protein dalam suspensi sel dimana hal ini menunjukkan bahwa membran sel dalam keadaan rusak.¹⁷ Hal tersebut memperkuat penelitian ini bahwa flavonoid dan tanin yang ditemukan dalam ekstrak etanol *Cinnamon (Cinnamomum*

burmanii) pada penelitian ini memiliki peran aktif dalam menghambat dan menghancurkan biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* walau tidak dilakukan pengamatan lebih lanjut terhadap cara kerja senyawa dalam memberikan efek antibiofilm terhadap bakteri.

Pada penelitian ini konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon* 7,5% memiliki efek antibiofilm terbaik terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan 2,5% terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Hal ini dikarenakan kandungan senyawa aktif yang banyak ditemukan dalam ekstrak etanol *Cinnamon*. Aktivitas antibiofilm ditunjukkan dengan adanya hasil positif pada uji fitokimia terhadap senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, kuinon dan terpenoid. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mubarak dkk., telah membuktikan bahwa *Cinnamon* (*Cinnamomum burmannii*) memiliki aktivitas antibiofilm karena memiliki senyawa aktif tersebut.⁵⁷ Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri.²⁹ Sifat basa alkaloid akan mempengaruhi tekanan osmotik antara bakteri dengan lingkungan hidupnya.³⁰ Saponin memiliki kemampuan dalam membentuk busa dan menghemolisis darah.³¹ Tanin berperan sebagai antibakteri dengan cara bereaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik bakteri.³² Kuinon mampu membentuk kompleks dengan asam amino sehingga protein bakteri kehilangan fungsi.³³ Terpenoid akan berikatan dengan lemak dan karbohidrat menyebabkan permeabilitas membran sel bakteri terganggu.³⁴

Pratiwi dkk., melaporkan kandungan *cinnamaldehyde* pada minyak atsiri *Cinnamon* (*C. burmanii*) dengan konsentrasi yang semakin kecil (0,12%) dapat membunuh *P. aeruginosa* dan *S. aureus* dan melepaskan hingga 50% biofilm yang terbentuk. Berkurangnya biofilm bakteri diperkirakan disebabkan oleh beberapa faktor seperti keberadaan *Ekstracellular Polimeric Substances (EPS)* yang mengelilingi sel bakteri menjadi rentan. Agen antimikroba diserap ke EPS dan secara efektif diencerkan dalam konsentrasinya sebelum mencapai sel-sel individu dalam biofilm.⁶³ Hal tersebut selaras dengan penelitian ini dimana konsentrasi yang rendah (7,5% terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan 2,5% *Aggregatibacter*

actinomyces comitans) memberikan efek antibiofilm yang lebih baik dibandingkan konsentrasi yang tinggi.

Penelitian senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) hampir sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Waty dkk., dalam hal pelarut dan spesies *Cinnamon* yang digunakan. Dengan pembagian konsentrasi menjadi 6,25%, 12,5% dan 25% secara *in vitro* dilaporkan ekstrak etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) memiliki efek antibakteri dengan kandungan senyawa alkaloid, flavonoid dan saponin terbukti menghambat pertumbuhan 6 spesies *Streptococcus* (bakteri Gram positif).⁵⁵

Ekstrak etanol *Cinnamon* dengan konsentrasi 15%, 10%, 7,5%, 5% dan 2,5% dilakukan uji sitotoksitas untuk mengetahui apakah memiliki efek toksik terhadap fibroblas sebagai sel normal pada rongga mulut manusia. Digunakan aquades sebagai kontrol negatif dan hidrogen peroksida (H₂O₂) 0,1% sebagai kontrol positif dimana hidrogen peroksida (H₂O₂) 0,1% diketahui sebagai bahan yang memiliki efek toksik terhadap sel epitel manusia.⁶⁴

Penelitian ini menggunakan kultur fibroblas yang diberi perlakuan dengan menggunakan 5 konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon*. Fibroblas paling banyak ditemukan dan merupakan sel utama jaringan ikat yang terletak pada lamina propria rongga mulut. Fibroblas juga mudah dibiakkan sehingga sering digunakan sebagai subjek penelitian biologis dan penelitian ini menggunakan fibroblas yang sudah dibiakkan di laboratorium.⁶⁵

Hasil uji sitotoksitas ekstrak etanol *Cinnamon* menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin rendah persentase rerata viabilitas fibroblas. Pada penelitian ini ditemukan bahwa semua (5 konsentrasi) ekstrak etanol *Cinnamon* tidak toksik terhadap fibroblas (viabilitas fibroblas lebih dari 90%) dan mendekati persentase viabilitas fibroblas pada kontrol negatif (aquades) pada Tabel 3. Sementara itu, kontrol positif yaitu hidrogen peroksida (H₂O₂) 0,1% memiliki efek sangat toksik terhadap fibroblas (persentase rerata viabilitas fibroblas kurang dari 30%).⁶⁶ Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Singh, dimana dilaporkan senyawa *cinnamaldehyde* yang terkandung pada *Cinnamon* (*C. zeylanicum*) tidak memiliki efek toksik terhadap viabilitas fibroblas.⁶⁷

Penelitian ini menguji efek sitotoksisitas 5 (15%, 10%, 7,5%, 5%, dan 2,5%) konsentrasi ekstrak *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) yang menunjukkan bahwa ekstrak tidak toksik terhadap fibroblas, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Unlu dkk., yang menggunakan *Cinnamomum zeylanicum* pada konsentrasi 2,5%-20% tidak menunjukkan efek toksik, namun pada konsentrasi 25% dan 50% memberikan efek toksik.⁶⁸

Uji biofilm ekstrak etanol *Cinnamon* terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan masa inkubasi yaitu 1 menit dan 3 jam. Pemilihan waktu inkubasi 1 menit dikarenakan sebagian besar obat kumur antiseptik menetapkan waktu berkumurnya adalah selama 1 menit,¹⁸ sedangkan masa inkubasi 3 jam digunakan berdasarkan efektivitas kerja periode singkat suatu obat kumur berbahan alam.¹⁹ Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Cinnamon* secara signifikan memiliki efek antibiofilm terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* baik dalam waktu inkubasi 1 menit maupun 3 jam.

Data penelitian memperlihatkan nilai *Optical Density* (OD) dari *Porphyromonas gingivalis* atau *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang diberikan perlakuan ekstrak etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) dengan 5 konsentrasi (15%, 10%, 7,5%, 5%, dan 2,5%) lebih kecil dibandingkan dengan kontrol negatif, dan dari hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dari seluruh konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon* terhadap kontrol negatif ($p=0,000$; $p<0,05$) (Tabel 6 dan 7).

Pada masa inkubasi 1 menit, didapatkan hasil uji biofilm pada *Porphyromonas gingivalis* bahwa klorheksidin 0,2% memiliki efek antibiofilm terbesar terhadap *Porphyromonas gingivalis* (OD = $0,001 \pm 0,011$) dan dilanjutkan dengan konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon* 7,5% (OD = $0,009 \pm 0,011$). Namun, pada uji statistik tidak ada perbedaan yang signifikan seluruh konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon* dengan klorheksidin 0,2% ($p>0,05$). Hal ini berarti bahwa seluruh konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon* memiliki efek antibiofilm yang lebih kecil dibandingkan dengan klorheksidin 0,2%, namun secara statistik tidak berbeda signifikan. Hal ini sesuai dengan penelitian Gupta dan Jain yang menyatakan

pemberian obat kumur klorheksidin menunjukkan penurunan maksimum pada skor plak dan gingiva, diikuti oleh ekstrak *Cinnamon*, tetapi secara statistik tidak signifikan.¹⁶

Kemudian hasil uji antibiofilm ekstrak etanol *Cinnamon* terhadap *Porphyromonas gingivalis* dengan masa inkubasi 1 menit terdistribusi secara normal ($p = 0,140$; $p > 0,05$). Kemudian dilakukan uji ANOVA satu jalan dengan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa hipotesis kerja diterima ($p < 0,05$) dimana dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol *Cinnamon* pada masa inkubasi 1 menit memiliki efek antibiofilm terhadap *Porphyromonas gingivalis*.

Pada masa inkubasi 3 jam, seluruh konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon* terbukti memiliki efek antibiofilm terhadap *Porphyromonas gingivalis* yang tidak berbeda dengan klorheksidin 0,2% ($p > 0,05$). Efek antibiofilm tertinggi ekstrak etanol *Cinnamon* pada konsentrasi 7,5% ($0,025 \pm 0,014$), namun selanjutnya diikuti dengan konsentersasi yang lebih rendah 2,5% ($0,045 \pm 0,005$). Hal ini kemungkinan besar disebabkan karena ketidakteraturan dalam persiapan konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon*.

Uji antibiofilm terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada masa inkubasi 1 menit menunjukkan bahwa klorheksidin 0,2% sebagai kontrol positif memiliki efek antibiofilm terbaik jika dibandingkan dengan 5 konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon*, namun berdasarkan uji statistik tidak terdapat perbedaan signifikan ($p = 0,000$; $p < 0,05$) antara klorheksidin dengan 5 konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon*. Hal ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Mubarak dkk., yang mengatakan pada penelitiannya dengan ekstrak *Cinnamon* (*C. burmanii*) konsentrasi 1,5% memiliki perbedaan bermakna dengan kelompok klorheksidin sebagai kontrol positif dalam menghambat jumlah koloni *E. faecalis*.⁵⁴

Uji antibiofilm *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada masa inkubasi 3 jam menunjukkan bahwa klorheksidin 0,2% memiliki efek antibiofilm tertinggi ($0,019 \pm 0,025$) dan diikuti dengan ekstrak etanol *Cinnamon* dengan konsentrasi 2,5% hingga 15%. Namun, berdasarkan uji statistik tidak terdapat perbedaan signifikan ($p = 0,000$; $p < 0,05$) antara klorheksidin dengan 5 konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon*.

Efek antibiofilm signifikan terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada penelitian ini sebagian besar ditunjukkan pada konsentrasi yang rendah. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi pada bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus* dan Firmino terhadap bakteri *S. pyogenes*, *P. aeruginosa*, dan *E. coli*, yang menemukan kemampuan daya hambat pembentukan biofilm dengan menggunakan konsentrasi *Cinnamon* yang kecil (0,01-0,12% v/v).^{17,63} Konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon* yang tinggi tidak memiliki efek antibiofilm yang baik pada penelitian ini dan pada beberapa penelitian lain, kemungkinan disebabkan karena konsentrasi yang tinggi dari ekstrak etanol *Cinnamon* akan meningkatkan jumlah residu yang tidak dapat bereaksi dengan baik terhadap matriks ekstraselular biofilm yang terbentuk dan kemungkinan lainnya adalah karena perbedaan karakteristik bakteri yang digunakan.

Berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Waty dkk., dengan ekstrak etanol *Cinnamon* konsentrasi 6,25%, 12,5% dan 25% terhadap *Streptococcus* memperlihatkan semakin tinggi konsentrasi maka semakin baik daya hambat bakterinya.⁴⁴ Hal ini mungkin dikarenakan berbedanya jenis bakteri yang digunakan dengan penelitian ini. Pada penelitian ini efek antibiofilm diujikan pada bakteri Gram negatif yang merupakan bakteri kolonisasi sekunder pada pembentukan plak, berbeda dengan *Streptococcus* yang merupakan bakteri Gram positif dan berperan sebagai bakteri kolonisasi primer.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Ekstrak etanol *Cinnamon* mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, kuinon dan terpenoid yang ditemukan positif dari hasil uji fitokimia secara kualitatif.

Ekstrak etanol *Cinnamon* dengan konsentrasi 15%, 10%, 7,5%, 5%, dan 2,5% tidak bersifat toksik terhadap fibroblas, hal ini terlihat dari nilai persentase rerata viabilitas fibroblas setelah perlakuan yang berada di atas 90%.

Pemberian ekstrak etanol *Cinnamon* pada konsentrasi 7,5% memiliki efek antibiofilm yang paling tinggi dan tidak berbeda signifikan dengan klorheksidin 0,2% terhadap *Porphyromonas gingivalis* selama masa inkubasi 1 menit dan 3 jam.

Pemberian ekstrak etanol *Cinnamon* pada konsentrasi 2,5% memiliki efek antibiofilm yang paling tinggi dan tidak berbeda signifikan dengan klorheksidin 0,2% terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* selama masa inkubasi 1 menit dan 3 jam.

Seluruh konsentrasi ekstrak etanol *Cinnamon* memiliki efek antibiofilm yang berbeda secara signifikan dengan aquades sebagai kontrol negatif baik terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* selama masa inkubasi 1 menit dan 3 jam.

Hipotesis pada penelitian ini diterima, dimana ekstrak etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) dengan konsentrasi 15%, 10%, 7,5%, 5% dan 2,5% memiliki efek antibiofilm terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* selama masa inkubasi 1 menit dan 3 jam ($p=0,00$; $p<0,05$) serta tidak ada perbedaan secara signifikan dengan efek antibiofilm klorheksidin 0,2% sebagai kontrol positif atau 'gold standard' obat kumur.

B. SARAN

1. Perlu dilakukan pengujian terhadap senyawa aktif (uji fitokimia) secara kuantitatif dari ekstrak etanol *Cinnamon* agar diketahui senyawa utama yang berperan dan cara bekerja ekstrak etanol *Cinnamon* ini dalam memberikan efek antibiofilm terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.
2. Perlu dilakukan pengujian lanjutan secara *in vivo* terhadap hewan untuk mengetahui efek antibiofilm ekstrak etanol *Cinnamon* ini sebagai salah satu tahap supaya obat kumur dengan bahan alam *Cinnamon* dapat terwujud dan digunakan oleh masyarakat dengan aman dan efektif.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap *Cinnamon* dengan pelarut dan metode ekstraksi lainnya agar bahan alam dengan cara sederhana dapat digunakan tanpa mengurangi efektivitas antibiofilmnya terhadap bakteri.

SUMMARY

Antibiofilm Effect of Cinnamon Ethanol Extract (*Cinnamomum burmanii*) on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

INTRODUCTION

Periodontal disease is an oral health problem that is often experienced by Indonesian population. The most common periodontal disease is gingivitis and periodontitis. Based on the 2013 Basic Health Research (Riskesdas) data, gingivitis and periodontitis became periodontal tissue diseases that are found in Indonesia in the amount of 23.4% and there was an increase for periodontitis cases based on 2018 Riskesdas data which was 74.1%.

Periodontitis is a destructive inflammatory disease in the supporting tissues caused by specific microorganisms, it can cause progressive damage to the periodontal ligament and alveolar bone with clinical manifestations of pocket formation, tooth oscillation, loss of adhesion and gingival recession. There are four bacteria that are strongly involved in the initiation and the development of periodontitis; *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Tannerella forsythensis*, and *Prevotella intermedia*.

Based on the research of Mahalakshmi et al., It is known that the most dominant bacteria in chronic periodontitis is *Porphyromonas gingivalis* with a prevalence of around 80.5%. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* is dominant in aggressive periodontitis with a frequency of around 90% and in chronic periodontitis of 21%. gather and replicate to form microcolonies and irreversibly adhere to the surface of the epithelium and form a matrix consisting of Extracellular Polymeric Substances (EPS) called biofilms, the main cause in etiopathogenesis of periodontitis.

Periodontitis treatment can be started by controlling biofilm mechanically and chemically. Mechanical treatment by brushing teeth, scaling and root planning, and

chemical treatment by mouthwash and antibiotics locally and systemically. One of the mouthwash that has been proven by meta analysis to prevent the formation of biofilms is chlorhexidine, however in 2018 it was reported that chlorhexidine has a cytotoxic effect on normal cells in the oral cavity in addition to clinical side effects such as discoloration of the teeth, irritation of the oral mucosa, and changes in taste. The use of antibiotics for a long time can also cause resistance against bacteria. Therefore, another alternative that continues to be developed is mouthwash derived from natural ingredients.

One of the natural ingredients that can be used as an alternative to mouthwash is Cinnamon. Cinnamon (*Cinnamomum burmanii*) is one of Indonesia's natural wealth which is produced more than 80,000 tons / year, therefore the material is available and affordable. Cinnamon is one of the spices used as flavoring and aroma in food. In addition, Cinnamon also has health benefits, such as maintaining blood regulation and reducing cholesterol levels. Cinnamon (*Cinnamomum burmanii*) has constituents such as flavonoids, alkaloids, saponins, tannins, quinones, and terpenoids are reported as antibacterial, antibiofilms, and anti-inflammatory.

In a study conducted by Gupta et al., A study that was conducted by Cinnamon extract 20% which was wasted for 30 days was proven to reduce clinical plaque and gingivitis. Other studies have said that the cinnamaldehyde content in Cinnamon (*C. cassia and C zeylanicum*) has antibacterial and antibiofilm activity in the bacteria *Staphylococcus aureus* (Gram-positive bacteria) and *Escherichia coli* (Gram-negative bacteria) .

Research related to Cinnamon in the form of extracts, essential oils and mouthwash clinically or in vitro has been done, but research of Cinnamon ethanol extract (*Cinnamomum burmanii*) has not been conducted in various concentrations and 2 incubation periods. One minute based on mouth rinse most antiseptic mouthrinses and 3 hours based on the effectiveness of the short period of action of a natural mouthwash in giving antibiofilm effects, especially against *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* as the main bacteria causing periodontitis. Therefore, we want to know the effect of

Cinnamon (*Cinnamomum burmanii*) antibiofilm on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

MATERIAL AND METHODS

This study was experimental laboratory research with post test only control group design. Samples in this study include Cinnamon ethanol extract (15%, 10%, 7,5%, 5% and 2,5%).

Cinnamon ethanol extract (*Cinnamomum burmanii*) preparation

Cinnamon bark was taken from the Indonesian Spice and Medicinal Plants Research Institute (BALITRO) and identified by the Indonesian Institute of Sciences (LIPI).

Cinnamon bark powder macerated with solvent by immersing it in 80% ethanol (sample: solvent = 1: 10) for 3 x 24 hours with occasional shaking. Then, the solution was filtered using Whatmann 0.1 mm filter paper to obtain maserat. The solvent (ethanol) in the maserate was evaporated using a rotary evaporator at 60°C until the Cinnamon ethanol extract was obtained. The extract was stored in a closed container and then put in a refrigerator at -20°C.

Cinnamon ethanol extract was dissolved with 10% DMSO in a ratio of 1: 1 and diluted with distilled water to 5 concentrations of 15%, 10%, 7.5%, 5%, and 2.5% ($N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$)

Phytochemical screening

A qualitative phytochemical test to detect the presence of flavonoids, alkaloids, saponins, tannins, quinones, and terpenoids was carried out using standard procedures.

Cytotoxicity assay / MTT assay (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide)

Human gingival fibroblast were cultured and incubated in an atmosphere of 5% carbon dioxide in incubator (80% oxygen, 20% nitrogen) at 37°C. When the

cells reached confluence, they were challenge by 100 µL of cinnamon ethanol extract at concentrations of 15%, 10%, 7.5%, 5%, 2.5% and also hydrogen peroxide 0.1% as as positive control and aquades as negative control. After 24h of incubation time the cells were checked for viability using MTT assay method.

MTT solutions were made of 5mg of Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide 98% powder (Sigma-Aldrich[®], Singapore) and 1ml of NaCl (0,9%). The cells were then added by 100µL MTT solution into each plates, and incubated for 4h in 37°C. Subsequently, 100 µL acidified solution were added and after 1h incubation time optical density values were read using microplate absorbance reader (iMark[™] Bio-Rad, USA) at 595nm wavelength.

Biofilm Assay

Porphyromonas gingivalis ATCC[®] 33227[™] and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ATCC[®] 29522[™] were cultured in tubes with BHI (brain heart infusion) media using Optical Density (OD) *Phorphyromonas gingivalis* = 0.539 and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* = 0.218 96-wellplate. Then the bacteria was diluted ($N1 \times V1 = N2 \times V2$) with BHI media.

The effect of Cinnamon ethanol extract on *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* was analyzed using a biofilm assay with crystal violet dye. For inhibition examination the biofilm of *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* were treated using Cinnamon ethanol extract, 0.2% chlorhexidine as positive control and aquades as negative control in incubation time for 1 minute and 3 hours.

After each incubation period, all preparation were removed and the biofilm plates were rinsed twice with PBS. Crystal violet dye was then added and incubated for 15 min, and rinsed with aquades. Subsequently, 90% of ethanol were added and a microplate reader was used to determine the optical density (OD) at a wavelength of 600 nm.

STATISTIC ANALYSIS

The data was statistically analyzed using Saphiro-Wilk as data normality test, continued with One-Way Anova and Post Hoc LSD test in $p < 0,05$ was set as the significant difference.

RESULTS

A qualitative phytochemical test showed that cinnamon ethanol extract has active compounds containing flavonoids, alkaloids, saponins, tannins, quinones and terpenoids.

The results of cytotoxicity test showed the highest percentage of fibroblasts viability in the Cinnamon ethanol extract (EEC) at concentration of 2.5% (434.67%) and the lowest at a concentration of 15% (275.67%). Aquades as a negative control with the highest average percentage of the entire treatment (545.3%), while the viability of H₂O₂ 0.1% as a negative control showed the lowest percentage (3.33%).

The results of biofilm assay showed that all Cinnamon ethanol extracts (*C. burmanii*) had an antibiofilm effect on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in the incubation period of 1 minute and 3 hours. Biofilm test with an incubation period of 1 minute on *Porphyromonas gingivalis* showed that chlorhexidine 0.2% gave the highest antibiofilm effect (0.001 ± 0.011) and continued with Cinnamon ethanol extract with a concentration of 7.5% (0.009 ± 0.011). In 3 hours, Cinnamon ethanol extract at 7.5% (0.025 ± 0.014) had the highest antibiofilm effect on *Porphyromonas gingivalis* compared to other treatments.

Biofilm test in 1 minute and 3 hours incubation on *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* showed that Cinnamon ethanol extract had the highest antibiofilm effect at concentration 2.5% (0.026 ± 0.019 ; $0,033 \pm 0,013$) and increasing concentrations of EEC seemed to give a lower antibiofilm effect.

DISCUSSION

Phytochemical tests confirm any chemical compounds contained in the Cinnamon ethanol extract (*Cinnamomum burmannii*) with qualitative methods. Phytochemical test results show that Cinnamon ethanol extract contains flavonoids, alkaloids, saponins, tannins, quinones and terpenoids, according to research by Mubarak et al.

Cytotoxicity assay result in this study is supported the research conducted by Singh who reported *Cinnamaldehyde* in Cinnamon (*C. zeylanicum*) did not have a toxic effect on viability of fibroblasts.

Research conducted by Prabuseenivasan et al., proves that the most content of Cinnamon (*C. zeylanicum*) is *cinnamaldehyde* of 52.4% which belongs to the flavonoid group having antibacterial and antibiofilm activity in 4 Gram negative bacteria and 2 Gram positive bacteria. In this study, the quantitative calculation of active compounds in Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) was not carried out. Therefore, the most active compounds cannot be identified in this study. This is due to the constraints on quantitative phytochemical testing that cannot be done at Biocore FKG Usakti. The solution to conduct quantitative phytochemical tests in external laboratories is constrained by the Covid-19 pandemic in various places which causes the laboratory not to operate.

In this study the concentration of Cinnamon ethanol extract 7.5% had the best antibiofilm effect on *Porphyromonas gingivalis* and 2.5% on *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. This is because the content of active compounds that are found in Cinnamon ethanol extract. Antibiofilm activity was demonstrated by the presence of positive results in phytochemical tests on flavonoid compounds, alkaloids, saponins, tannins, quinones and terpenoids. According to research conducted by Mubarak et al., It has been proven that Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) has antibiofilm activity because it has the active compound.

Flavonoids function as antibacterial by forming complex compounds against extracellular proteins that interfere with the integrity of bacterial cell membranes. Alkaloids will affect osmotic pressure between bacteria and their environment. Saponins have the ability to form foam and hemolysis of the blood.

Tannins work an antibacterial role by reacting with cell membranes, enzyme inactivation and destruction or inactivation of bacterial genetic material functions. Quinones are able to form complexes with amino acids so that the bacterial protein loses function. Terpenoids will bind to fats and carbohydrates causing the bacterial cell membrane permeability to be disrupted.

Pratiwi et al. reported that *cinnamaldehyde* in Cinnamon (*C. burmanii*) essential oil with the smallest concentration (0.12%) could kill *P. aeruginosa* and *S. aureus* and release up to 50% of the formed biofilms. The reduction in bacterial biofilms is thought to be caused by several factors such as the presence of Extracellular Polymeric Substances (EPS) which surround bacterial cells becoming vulnerable. Antimicrobial agents are absorbed into EPS and are effectively diluted in their concentration before reaching individual cells in biofilms. This is consistent with this study where a low concentration (7.5% of *Porphyromonas gingivalis* and 2.5% *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) gives an antibiofilm effect. which is better than high concentration.

CONCLUSION

1. Cinnamon ethanol extract containing active compounds flavonoids, alkaloids, saponins, tannins, quinones and terpenoids were found to be positive from the results of a qualitative phytochemical test.
2. Cinnamon ethanol extract with a concentration of 15%, 10%, 7.5%, 5%, and 2.5% is not toxic to fibroblasts, this can be seen from the average percentage value of fibroblasts viability after treatment which is above 90%.
3. Cinnamon ethanol extract 7.5% had the highest antibiofilm effect and was not significantly different from 0.2% chlorhexidine against *Porphyromonas gingivalis* during the incubation period of 1 minute and 3 hours.
4. Cinnamon ethanol extract 2.5% had the highest antibiofilm effect and was not significantly different from 0.2% chlorhexidine against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* during the incubation period of 1 minute and 3 hours.

5. All concentrations of Cinnamon ethanol extract had a significantly different antibiofilm effect from aquades as a negative control for both *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* during the incubation period of 1 minute and 3 hours.
6. The hypothesis in this study was accepted, where ethanol extract Cinnamon (*Cinnamomum burmanii*) with concentrations of 15%, 10%, 7.5%, 5% and 2.5% had an antibiofilm effect on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* during incubation 1 minutes and 3 hours ($p = 0.00$; $p < 0.05$) and there was no significant difference with the effect of 0.2% chlorhexidine antibiofilm as a positive control or 'gold standard' mouthwash.

SUGGESTION

1. Quantitative phytochemical tests of the Cinnamon ethanol extract are needed to be carried out to know the main compounds and how to work Cinnamon ethanol extracts in providing antibiofilm effects on *Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.
2. In vivo testing needs to be carried out to determine the antibiofilm effect of Cinnamon ethanol extract as mouthwash with Cinnamon natural ingredients can be realized and used by the public safely and effectively.
3. Further research needs to be carried out on Cinnamon with solvents and other extraction methods so that natural ingredients in a simple way can be used without reducing the effectiveness of antibiofilm on bacteria.

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Hasil utama Riskesdas 2013. Jakarta: Kemenkes RI. 2013; 110-1.
2. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Hasil utama Riskesdas 2018. Jakarta: Kemenkes RI. 2018; 94.
3. Newman M, Takei H, Carranza F. *In Carranza's Clinical Periodontology*. Novak M, Novak K. St Louis, Missouri: Elsevier Mosby; 2012:160.
4. Segura VAI, Ilyana A, Ceniseros SEP, Belmares SY, González ML. Etiology and Microbiology of Periodontal Diseases: A review. *African Journal of Microbiology Research*; 2015: 9 (48) : 2301-2302.
5. Mahalakshmi K, Krishnan P, Chandrasekaran SC, Panishankar KH, Subashini N. Prevalence of periodonpathic bacteria in the subgingival plaque of a south indian population with periodontitis. *J Clin Diagn Research*; 2012: 6 (4) : 747-52.
6. Do JH, Takei HH, Carranza FA. *Periodontal Examination and Diagnosis. Book Chapter in Newman and Carranza's Clinical Periodontology 13th Ed.* St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders; 2019: 390.
7. Chandki R, Banthia P, Banthia R. Biofilms: A microbial home. *J Indian Soc Periodontol* 2011; 15(2):111-4.
8. Lee HJ, Kim JK, Cho JY, Lee JM, Hong SH. Quantification of Subgingival Bacterial Pathogens at Different Stages of Periodontal Diseases. *Curr Microbiol* 2012; 65: 22-27.
9. Ehizele A, Akhionbare O. Effect of non-surgical perio- dontal therapy on the concentration of volatile sulfur com-pound in mouth air of a group of nigerian young adults. *Ann Med Health Sci Res* 2013; 3: 433-437.
10. Sajjan P, Laxminarayan N, Kar PP, S. M. Chlorhexidine as an Antimicrobial Agent in Dentistry – A Review. *Oral Health Dent. Manag* 2016; 15: 93-100.
11. Liu JX, Werner J, Kirsch T, Zuckerman JD, Virk MS. Cytotoxicity evaluation of chlorhexidine gluconate on human fibroblasts, myoblasts, and osteoblasts. *J. Bone Jt. Infect* 2018; 3 (4):165-172.
12. Ferry Y. Development Prospects Of Cinnamon Plant (*Cinnamomum Burmanii L*) In Indonesia. *Sirinov* 2013; 1: 11-20.
13. Ping H, Zhang G, Ren G. Antidiabetic effects of cinnamon oil in diabetic KK-Ay mice. *Food and Chemical Toxicology* 2010; 48:2344-2349.
14. Li J, Liu T, Wang L, Guo X, Xu T, Wu L, et al. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic action of cinnamaldehyde in C57blks/j Db/db mice. *J Tradit Chin Med* 2012; 15; 32(3): 1-2
15. Palombo EA. Traditional Medicinal Plant Extracts and Natural Products with Activity against Oral Bacteria: Potential Application in the Prevention and Treatment of Oral Diseases. *eCAM* 2011; 1741-427.
16. Gupta D, Jain A. Effect of Cinnamon Extract and Chlorhexidine Gluconate (0.2%) on the Clinical Level of Dental Plaque and Gingival Health: A 4-Week, Triple-Blind Randomized Controlled Trial. *J Int Acad Periodontol* 2015; 17(3): 91-98.

17. Firmino DF, Cavalcante TTA, Gomes GA, Firmino NCS, Rosa LD, Carvalho MG, Catunda FEA. Antibacterial and Antibiofilm Activities of *Cinnamomum* Sp. Essential Oil and *Cinnamaldehyde*: Antimicrobial Activities. *Sci. World J* 2018; 7405736
18. Bescos R, Ashworth A, Cutler C, Brookeas ZL, Belfield L, Rodiles A, et al. Effects of Chlorhexidine mouthwash on the oral microbiome. *Scientific Report* 2020; 10:5254
19. Malhotra S and Yeltiwar RK. Evaluation of two mouth rinses in reduction of oral malodor using a spectrophotometric technique. *J Indian Soc Periodontol* 2011; 15: 250–254.
20. Chen P, Sun J, Ford P. Differentiation of the Four Major Species of Cinnamons (*C. burmannii*, *C. verum*, *C. cassia*, and *C. loureiroi*) Using a Flow Injection Mass Spectrometric (FIMS) Fingerprinting Method. *J. Agric Food Chem* 2014; 26: 62(12): 2516–2521.
21. Janick J, Whipkey A. Quality Attributes of Ginger and Cinnamon Essential Oils from Madagascar. *ASHS Press, Alexandria, VA*. 2007.
22. Inna M, Atmania N, Priskasari S. Potential Use of *Cinnamomum burmannii* Essential Oil-based Chewing Gum as Oral Antibiofilm Agent. *Journal of Dentistry Indonesia* 2010; 17 (3): 80-86.
23. Emilda E. Efek Senyawa Bioaktif Kayu Manis *Cinnamomum burmannii* NEES EX.BL.) terhadap Diabetes Melitus: Kajian Pustaka. *J. Fitofarmaka Indones* 2018; 5: 246–252.
24. Kumar S, Kumari R, and Mishra S. Pharmacological Properties and Their Medicinal Uses of *Cinnamomum*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2019; 71: 1735-1761.
25. Ramya BS and Ganesh P. Phytochemical Analysis and Comparative Effect of *Cinnamomum zeylanicum*, *Piper nigrum* and *Pimpinella anisum* with Selected Antibiotics and Its Antibacterial Activity against Enterobacteriaceae Family. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives* 2012; 3(4): 914-917.
26. Anggriawan MB, Roswiem AP, Nurcholis W. The Potency of Aqueous and Ethanolic Bark Extracts of Cinnamon Padang (*Cinnamomum Burmannii*) Against a-Glukosidase Enzyme Activities. *Jurnal Kedokteran Yarsi* 2015; 23 (2) : 091-102.
27. Shreya A, Manisha D, and Solani J. Phytochemical Screening And Anti-Microbial Activity Of Cinnamon Spice Against Urinary Tract Infection And Fungal Pathogens. *International Journal of Life Science & Pharma Research* 2015; 5(4): 27-34.
28. Pandey S, Pandey R, and Singh, R. Phytochemical Screening of Selected Medicinal Plant *Cinnamon zeylanicum* Bark extract, Area of research; Uttarakhand, India. *International Journal of Scientific and Research Publications* 2014; 4(6): 1-6.
29. Kumar S, Kumari R, and Mishra S. Pharmacological Properties and Their Medicinal Uses of *Cinnamomum*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2019; 71: 1735-1761.

30. Ervina M, Nawu, YE, Esar SY. Comparison of *In Vitro* Antioxidant Activity of Infusion, Extract and Fractions of Indonesian Cinnamon (*Cinnamomum Burmannii*) Bark. *International Food Research Journal* 2016; 23(3): 1346-1350.
31. Vasconcelos NG, Croda J, Simionatto S. Antibacterial mechanisms of cinnamon and its constituents: A review. *Microb Pathog* 2018; 120: 198–203.
32. Puspita PJ, Safithri M, Sugiharti NP. Antibacterial Activities of Sirih Merah (*Piper crocatum*) Leaf Extracts (Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah). *Current Biochemistry* 2018; 5 (3): 1 – 10.
33. Rahman, R. Effect of the Addition Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) Powder on Chemical and Total Microbial Properties in Chicken Nugget. *Journal of Agropolitan* 2018; 5: 2.
34. Nurdin SU, Sukohar A, Ramadhani OS. Antiglucosidase and Antioxidant Activities of Ginger, Cinnamon, Turmeric and Their Combination. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Research* 2017; 10 (1) : 5-6 .
35. Homenta H. Infeksi Biofilm Bakterial. *J. e-Biomedik* 2016; 4:1–11.
36. Jeffrey J, Satari MH, and Kurnia D. Antibacterial Effect of Lime (*Citrus aurantifolia*) Peel Extract in Preventing Biofilm Formation. *J Med Heal* 2019; 2: 1020–1029.
37. Putri MH, Sukini Y. *MIKROBIOLOGI*. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan. 2017; 54-67.
38. Sambyal SS, Sharma P, Shrivastava D. Anti-biofilm Activity of Selected Plant Essential Oils against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Int J Curr Microbiol Appl Sci* 2017; 6 (3): 444-450.
39. Rabin N, Zheng Y, Opoku TC, Du Y, Bonsu E, Sintim HO. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Med Chem* 2015; 7(4) : 493–512.
40. Huang R, Li M, Gregory RL. Bacterial interactions in dental biofilm. *Virulence* 2011; 2(5) : 435–44.
41. Algburi A, Comito N, Kashtanov D, Dicks LMT, Chikindas ML. Control of Biofilm Formation: Antibiotics and Beyond. *Appl Environ Microbiol* 2017; 83(3) : 02508.
42. Ventura TMDS, Cassiano LPS, Souza ESCM. The proteomic profile of the acquired enamel pellicle according to its location in the dental arches. *Archives of Oral Biology* 2017; 79: 20–29.
43. Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. *Carranza's Clinical Periodontology 13th Ed*. Elsevier Health Sciences. 2018; 1779.
44. Wille J, Coenye T. Biofilm dispersion: The key to biofilm eradication or opening Pandora's box? *J Biofilm* 2020; 2: 100027
45. Nakayama K. *Porphyromonas gingivalis* and related bacteria: from colonial pigmentation to the type IX secretion system and gliding motility. *J Periodontal Res* 2015; 50(1) : 1–8.
46. Pan W, Wang Q, Chen Q. The cytokine network involved in the host immune response to Periodontitis. *International Journal of Oral Science* 2019; 11: 30.

47. Mysak J, Podzimek S, Sommerova P, Lyuya-Mi Y, Bartova J, Janatova T, et al. Porphyromonas gingivalis: Major Periodontopathic Pathogen Overview. *J Immunol Res* 2014; 6; 1-8.
48. How KY, Song KP, Chan KG. Porphyromonas gingivalis: An Overview of Periodontopathic Pathogen below the Gum Line. *Front Microbiol* 2016; 2(9): 7.
49. How KY, Song KP and Chan KG. Porphyromonas gingivalis: An Overview of Periodontopathic Pathogen below the Gum Line. *Front Microbiol* 2016; 7: 53.
50. 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.
51. Fine DH, Markowitz K, Furgang D, Velliyagounder K. Aggregatibacter actinomycetemcomitans as an Early Colonizer of Oral Tissues: Epithelium as a Reservoir? *J Clin Microbiol* 2010; 48(12): 4464–73.
52. Kachlany SC. Aggregatibacter actinomycetemcomitans Leukotoxin. *J Dent Res* 2010; 89(6): 561–70.
53. Raja M, Ummer F, Dhivakar C. Aggregatibacter Actinomycetemcomitans – A Tooth Killer? *J Clin Diagn Res* 2014; 8(8): 13–6.
54. Wilson C, Lukowicz R, Merchant S, Flynn HV, Caballero J, Sandovalm J, et al. Quantitative and Qualitative Assessment Methods for Biofilm Growth: A Mini-review. *Res Rev J Eng Technol* 2017; 12: 6(4).
55. Waty S, Suryanto D, and Yurnaliza. Antibacterial activity of cinnamon ethanol extract (*Cinnamomum burmannii*) and its application as a mouthwash to inhibit streptococcus growth. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci* 2018; 130.
56. Verheijen M, Lienhard M, Schrooders Y, Clayton O, Nudischer R, Boerno S, et al. DMSO induces drastic changes in human cellular processes and epigenetic landscape *in vitro*. *Sci Rep* 2019; 9: 4641.
57. Mubarak Z, Chismirina S, Qamari CA. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. *Cakradonya Dent J* 2016; 8(1): 1-76.
58. Arifianti L, Sukadirman, Studiawan HR. Uji Aktivitas Ekstrak Biji Sirsak (*Annona muricata L.*) Terhadap Sel Kanker Mamalia Secara In Vitro. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia* 2014; 1: 1–67.
59. Ida MY, Rukayadi Y, Norhayati H. Effects of extraction conditions on yield, total phenolic contents and antibacterial activity of methanolic *Cinnamomum zeylanicum* Blume leaves extract. *International Food Research Journal* 2017; 24(2): 779-786.
60. Zhang Y, Liu X, Wang Y, Jiang P, Quek SY. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against Escherichia coli and Staphylococcus aureus. *Food Control* 2016; 59: 282-289.
61. Raorane CJ, Lee JH, Kim YG, Rajasekharan SK, Garcia-Contreras R, and Lee J. Antibiofilm and Antivirulence Efficacies of Flavonoids and Curcumin Against *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Microbiology* 2019; 10: 990.

62. Apriliany F, Anshory H, Hertiani T. Anti quorum sensing activity of kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Ness. Ex. Bl) against *Pseudomonas aeruginosa*. *Trad Med J* 2013; 18(3): 173-177.
63. Pratiwi SUT, Lagendijk EL, Weert S, Idroes R, Hertiani T, Hondel CV. Effect of *Cinnamomum burmannii* Nees ex Bl. and *Massoia aromatica* Becc. Essential oils on planktonic growth and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* In Vitro. *Int J Appl Res Nat Prod* 2015; 8: 1–13.
64. Park WH. H₂O₂ inhibits the growth of human pulmonary fibroblast cells by inducing cell death, GSH depletion and G1 phase arrest. *Mol Med Rep* 2013; 7: 1235–1240.
65. Smith PC, Martínez C, Martínez J, McCulloch CA. Role of Fibroblast Populations in Periodontal Wound Healing and Tissue Remodeling. *Front Physiol* 2019; 10.
66. Konjhozic-Prcic A, Jakupovic S, Hasic-Brankovic L, Vukovic A. In vitro comparison of cytotoxicity of four root canal sealers on human gingival fibroblasts. *Med Arch* 2015; 69: 24–27.
67. Singh R, Koppikar SJ, Paul P, Gilda S, Paradkar AR, Ghanekar RK. Comparative analysis of cytotoxic effect of aqueous cinnamon extract from *Cinnamomum zeylanicum* bark with commercial cinnamaldehyde on various cell lines. *Pharm Biol* 2009; 47: 1174–1179.
68. Unlu M, Ergene E, Unlu GV, Zeytinoglu HS, Vural N. Composition, antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (*Lauraceae*). *Food and Chemical Toxicology* 2010; 48: 3274–3280.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Identifikasi Tanaman *Cinnamon (Cinnamomum burmanii)*



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)
Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911
Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612
Website : www.biologi.lipi.go.id



Cibinong, 17 November 2019

No : 762 /IPH.1.01/lf.07./II/2019
Lampiran :
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan

kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr (i). Caesary Cloudya Panjaitan
Universitas Trisakti


Dengan hormat:

Bersama ini saya sampaikan hasil identifikasi / determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogriense". Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1.	Kayu manis	<i>C. burmannii</i>	Lauraceae

Demikian semoga berguna bagi Saudara.

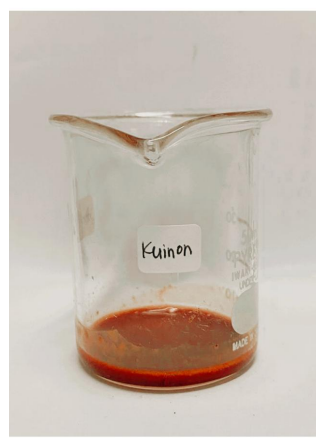
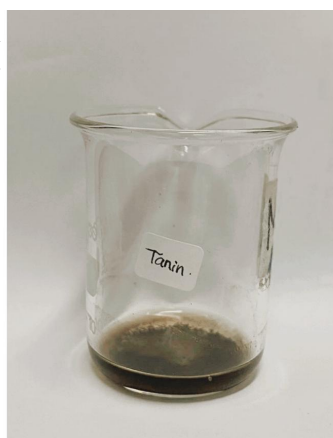
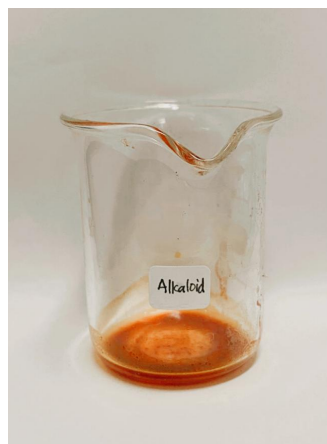
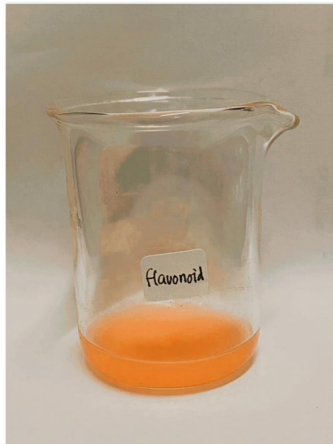
Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,


Dr. Joeni Setijo Rahajoe
NIP. 196706241993032004

Lampiran 2. Persiapan Ekstrak Etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*)



Lampiran 3. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol *Cinnamomum burmanii* : Senyawa Flavonoid, Alkaloid, Saponin, Tanin, Kuinon dan Terpenoid



**Lampiran 4. Sertifikat Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol *Cinnamon*
(*Cinnamomum burmanii*)**



FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS TRISAKTI
Jl. Kyai Tapa Grogol, Jakarta 11440, Telp. +62 21 5672731 ext. 1102

Sertifikat Pengujian
Certificate of Analysis

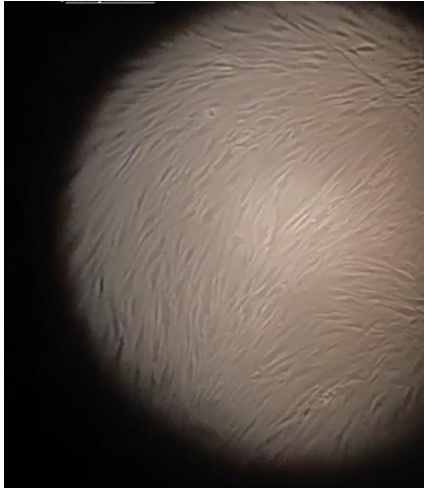
Kepada Yth.
Caesary Cloudya Panjaitan
FKG Universitas Trisakti

No.	Ekstrak	Jenis Pemeriksaan	Hasil Pengujian	Metode Pengujian
1.	Cinnamon (<i>Cinnamomum burmanii</i>)	Steroid/Triterpenoid	+	Kualitatif
		Alkaloid	+	
		Terpenoid	+	
		Tanin	+	
		Fenol	+	
		Flavonoid	+	
		Saponin	+	
		Kuinon	+	

Jakarta, 25 Juni 2020
Mengetahui,
Kepala Laboratorium BioCORE

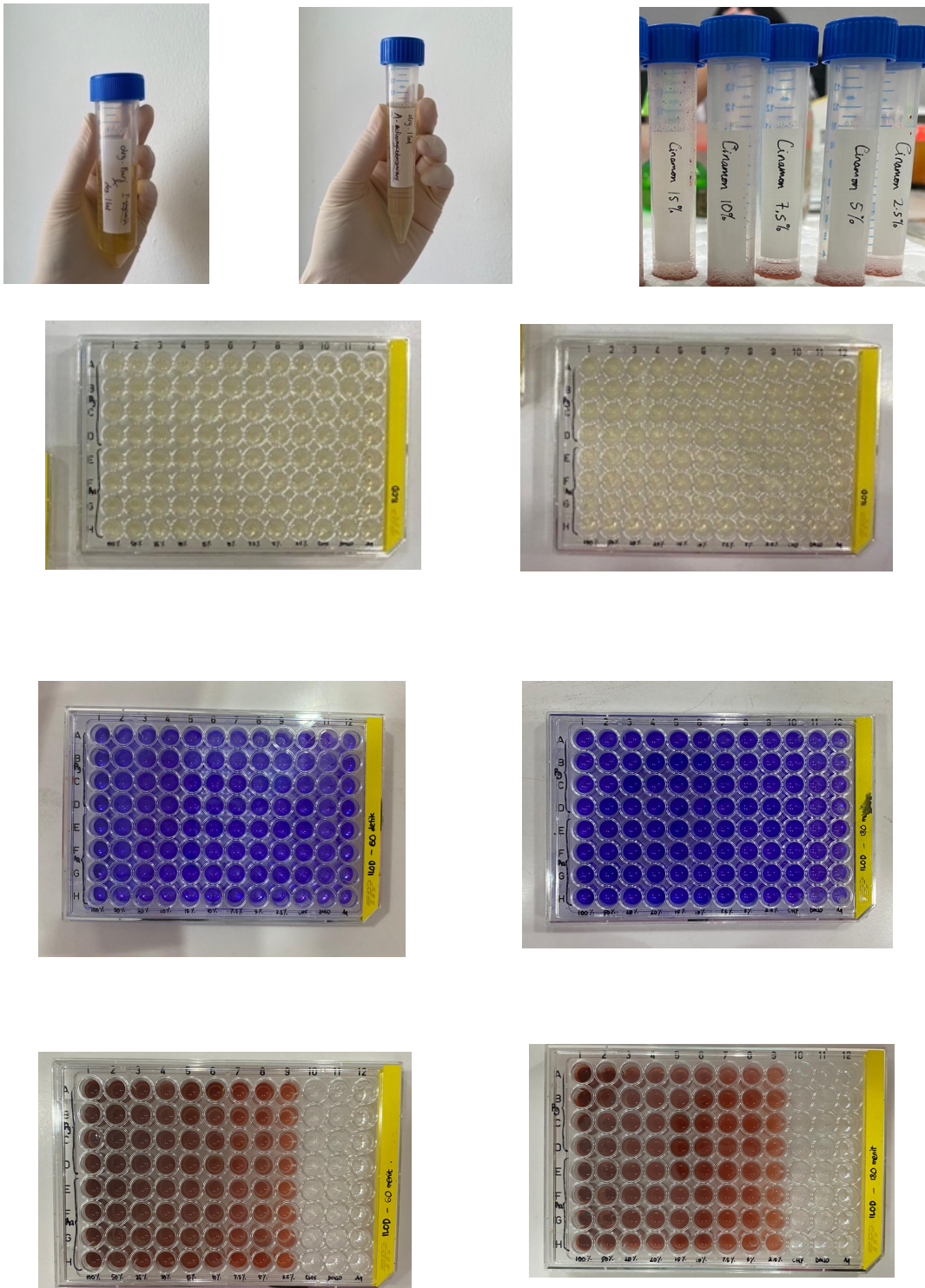
(drg. Orliando Roeslan, PhD)

Lampiran 5. Hasil Uji Sitotoksisitas / MTT Assay



Pengulangan 1	BLANK	15%	10%	7.5%	5%	2.5%	CHX (+)	H2O2	M+S	Aquades
1	0,097	0,275	0,204	0,209	0,207	0,2	0,099	0,081	0,092	0,281
2	0,080	0,271	0,305	0,211	0,253	0,243	0,087	0,085	0,091	0,333
3	0,084	0,256	0,237	0,248	0,178	0,294	0,098	0,084	0,125	0,309
Rata	0,087	0,267	0,249	0,223	0,213	0,246	0,095	0,083	0,103	0,308
Pengulangan 2	BLANK	15%	10%	7.5%	5%	2.5%	CHX (+)	H2O2	M+S	Aquades
1	0,097	0,281	0,307	0,236	0,219	0,189	0,099	0,081	0,092	0,307
2	0,080	0,275	0,270	0,322	0,265	0,224	0,087	0,085	0,091	0,295
3	0,084	0,271	0,290	0,280	0,260	0,231	0,098	0,084	0,125	0,354
Rata	0,087	0,276	0,289	0,279	0,248	0,215	0,095	0,083	0,103	0,319
Pengulangan 3	BLANK	15%	10%	7.5%	5%	2.5%	CHX (+)	H2O2	M+S	Aquades
1	0,097	0,281	0,307	0,236	0,219	0,189	0,099	0,081	0,092	0,307
2	0,080	0,275	0,270	0,322	0,265	0,224	0,087	0,085	0,091	0,295
3	0,084	0,271	0,290	0,280	0,260	0,231	0,098	0,084	0,125	0,354
Rata	0,087	0,276	0,289	0,279	0,248	0,215	0,095	0,083	0,103	0,319

Lampiran 6. Hasil Uji Biofilm Ekstrak Etanol Cinnamon (*Cinnamomum burmanii*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*



Lampiran 7. Hasil Uji Normalitas Biofilm Ekstrak Etanol *Cinnamon*
(*Cinnamomum burmanii*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan
Aggregatibacter actinomycetemcomitans

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Ekstrak_Cinnamon	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Biofilm_Pg_1Menit	kontrol negatif	.282	4	.	.819	4	.140
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.294	4	.	.774	4	.063
	Ekstrak Cinnamon 5%	.158	4	.	.995	4	.980
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	.288	4	.	.887	4	.369
	Ekstrak Cinnamon 10%	.260	4	.	.822	4	.147
	Ekstrak Cinnamon 15%	.293	4	.	.918	4	.528
	Ekstrak Cinnamon 20%	.293	4	.	.857	4	.249
	Ekstrak Cinnamon 25%	.185	4	.	.991	4	.964
	Ekstrak Cinnamon 50%	.301	4	.	.887	4	.369
	Ekstrak Cinnamon 100%	.233	4	.	.956	4	.753
Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.268	4	.	.943	4	.673	
Biofilm_Pg_3Jam	kontrol negatif	.361	4	.	.777	4	.066
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.274	4	.	.864	4	.275
	Ekstrak Cinnamon 5%	.232	4	.	.923	4	.552
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	.263	4	.	.902	4	.439
	Ekstrak Cinnamon 10%	.380	4	.	.776	4	.065
	Ekstrak Cinnamon 15%	.250	4	.	.958	4	.769
	Ekstrak Cinnamon 20%	.232	4	.	.946	4	.693
	Ekstrak Cinnamon 25%	.236	4	.	.911	4	.488
	Ekstrak Cinnamon 50%	.313	4	.	.838	4	.189
	Ekstrak Cinnamon 100%	.286	4	.	.861	4	.264
Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.430	4	.	.661	4	.004	
Biofilm_Aa_1Menit	kontrol negatif	.295	4	.	.899	4	.426
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.240	4	.	.966	4	.817
	Ekstrak Cinnamon 5%	.280	4	.	.854	4	.239
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	.253	4	.	.879	4	.336
	Ekstrak Cinnamon 10%	.273	4	.	.876	4	.321
	Ekstrak Cinnamon 15%	.357	4	.	.785	4	.078
	Ekstrak Cinnamon 20%	.181	4	.	.984	4	.925
	Ekstrak Cinnamon 25%	.244	4	.	.875	4	.317
	Ekstrak Cinnamon 50%	.218	4	.	.981	4	.905
	Ekstrak Cinnamon 100%	.330	4	.	.891	4	.386
	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.353	4	.	.839	4	.193
	Biofilm_Aa_3Jam	kontrol negatif	.141	4	.	.997	4
Ekstrak Cinnamon 2.5%		.295	4	.	.800	4	.103
Ekstrak Cinnamon 5%		.309	4	.	.827	4	.161
Ekstrak Cinnamon 7.5%		.184	4	.	.973	4	.859
Ekstrak Cinnamon 10%		.296	4	.	.829	4	.165
Ekstrak Cinnamon 15%		.193	4	.	.975	4	.870
Ekstrak Cinnamon 20%		.246	4	.	.913	4	.501
Ekstrak Cinnamon 25%		.225	4	.	.947	4	.697
Ekstrak Cinnamon 50%		.275	4	.	.847	4	.217
Ekstrak Cinnamon 100%		.326	4	.	.859	4	.256
Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.344	4	.	.782	4	.074	

Lampiran 8. Hasil Uji Anova Satu Jalan (*One way Anova*) Biofilm Ekstrak Etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

		Descriptives							
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
Biofilm_Pg_1 Menit	kontrol negatif	4	.321250	.0560498	.0280249	.232062	.410438	.2670	.3740
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	4	.011750	.0109848	.0054924	-.005729	.029229	.0018	.0217
	Ekstrak Cinnamon 5%	4	.017500	.0118145	.0059073	-.001300	.036300	.0028	.0308
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	4	.009000	.0105198	.0052599	-.007739	.025739	.0000	.0240
	Ekstrak Cinnamon 10%	4	.018750	.0103722	.0051861	.002245	.035255	.0040	.0260
	Ekstrak Cinnamon 15%	4	.020750	.0046547	.0023274	.013343	.028157	.0143	.0253
	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	4	-.015500	.0113284	.0056642	-.033526	-.002526	-.0310	-.0040
	Total	44	.053381	.0919876	.0138676	.025414	.081347	-.0310	.3740
	Biofilm_Pg_3Jam	kontrol negatif	4	.298000	.1953646	.0976823	.012869	.608869	.1640
Ekstrak Cinnamon 2.5%		4	.044500	.0049917	.0024958	.036557	.052443	.0398	.0498
Ekstrak Cinnamon 5%		4	.053000	.0230416	.0115208	.016336	.089664	.0288	.0778
Ekstrak Cinnamon 7.5%		4	.025000	.0139523	.0069761	.002799	.047201	.0130	.0430
Ekstrak Cinnamon 10%		4	.058000	.0391833	.0195917	-.004349	.120349	.0300	.1160
Ekstrak Cinnamon 15%		4	.046250	.0171075	.0085538	.019028	.073472	.0233	.0643

	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	4	.136000	.0900481	.0450241	- .007287	.279287	.0010	.1850
	Total	4	.074977	.0985417	.0148557	.045018	.104937	-.0135	.5870
Biofilm_Aa_1 Menit	kontrol negatif	4	.187750	.0241437	.0120718	.149332	.226168	.1660	.2220
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	4	.026250	.0191572	.0095786	- .004233	.056733	.0008	.0468
	Ekstrak Cinnamon 5%	4	.031000	.0126062	.0063031	.010941	.051059	.0177	.0428
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	4	.029000	.0087560	.0043780	.015067	.042933	.0170	.0360
	Ekstrak Cinnamon 10%	4	.034750	.0103401	.0051700	.018297	.051203	.0250	.0460
	Ekstrak Cinnamon 15%	4	.059250	.0257294	.0128647	.018309	.100191	.0213	.0773
	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	4	.003500	.0210000	.0105000	- .029916	.036916	-.0270	.0210
	Total	4	.056250	.0543471	.0081931	.039727	.072773	-.0270	.2220
	Biofilm_Aa_3Jam	kontrol negatif	4	.150750	.0076322	.0038161	.138606	.162894	.1420
Ekstrak Cinnamon 2.5%	4	.032750	.0133417	.0066708	.011520	.053980	.0198	.0448	
Ekstrak Cinnamon 5%	4	.054500	.0118708	.0059354	.035611	.073389	.0458	.0718	
Ekstrak Cinnamon 7.5%	4	.071250	.0275968	.0137984	.027337	.115163	.0430	.1070	
Ekstrak Cinnamon 10%	4	.091250	.0196193	.0098096	.060031	.122469	.0740	.1120	
Ekstrak Cinnamon 15%	4	.103000	.0282651	.0141326	.058024	.147976	.0673	.1323	
Kontrol Positif (CHX 0.2%)	4	.019000	.0250998	.0125499	- .020939	.058939	.0020	.0560	
Total	4	.075773	.0471968	.0071152	.061424	.090122	-.0095	.1600	

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Biofilm_Pg_1Menit	Between Groups	.337	10	.034	42.136	.000
	Within Groups	.026	33	.001		
	Total	.364	43			
Biofilm_Pg_3Jam	Between Groups	.264	10	.026	5.661	.000
	Within Groups	.154	33	.005		
	Total	.418	43			
Biofilm_Aa_1Menit	Between Groups	.103	10	.010	14.246	.000
	Within Groups	.024	33	.001		
	Total	.127	43			
Biofilm_Aa_3Jam	Between Groups	.070	10	.007	8.998	.000
	Within Groups	.026	33	.001		
	Total	.096	43			

Lampiran 9. Hasil Uji *Post Hoc* Biofilm Ekstrak Etanol *Cinnamon* (*Cinnamomum burmanii*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

		Multiple Comparisons						
Dependent Variable	(I) Ekstrak_Cinnamon	(J) Ekstrak_Cinnamon	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
D	kontrol negatif	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.309500*	.0200100	.000	.268789	.350211	
		Ekstrak Cinnamon 5%	.3037500*	.0200100	.000	.263039	.344461	
		Ekstrak Cinnamon 7.5%	.3122500*	.0200100	.000	.271539	.352961	
		Ekstrak Cinnamon 10%	.3025000*	.0200100	.000	.261789	.343211	
		Ekstrak Cinnamon 15%	.3005000*	.0200100	.000	.259789	.341211	

	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.33675 00'	.0200 100	.00 0	.2960 39	.3774 61
Ekstrak Cinnamon 2.5%	kontrol	-	.0200	.00	-	-
	negatif	.30950 00'	100	0	.3502 11	.2687 89
Ekstrak Cinnamon 5%	kontrol	-	.0200	.77	-	.0349
	negatif	.00575 00	100	6	.0464 61	61
Ekstrak Cinnamon 7.5%	kontrol	.00275 00	.0200 100	.89 2	- .0379	.0434 61
	negatif	-	.0200	.72	-	.0337
Ekstrak Cinnamon 10%	kontrol	.00700 00	100	9	.0477 11	11
	negatif	-	.0200	.65	-	.0317
Ekstrak Cinnamon 15%	kontrol	.00900 00	100	6	.0497 11	11
	negatif	-	.0200	.18	-	.0679
	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.02725 00	.0200 100	.18 2	.0134 61	.0679 61
Ekstrak Cinnamon 5%	kontrol	-	.0200	.00	-	-
	negatif	.30375 00'	100	0	.3444 61	.2630 39
Ekstrak Cinnamon 2.5%	kontrol	.00575 00	.0200 100	.77 6	- .0349	.0464 61
	negatif	-	.0200	.67	-	.0492
Ekstrak Cinnamon 7.5%	kontrol	.00850 00	.0200 100	.67 4	.0322 11	11
	negatif	-	.0200	.95	-	.0394
Ekstrak Cinnamon 10%	kontrol	.00125 00	100	1	.0419 61	61
	negatif	-	.0200	.87	-	.0374
Ekstrak Cinnamon 15%	kontrol	.00325 00	100	2	.0439 61	61
	negatif	-	.0200	.87	-	.0374

	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.03300 00	.0200 100	.10 9	- .0077 11	.0737 11
Ekstrak Cinnamon 7.5%	kontrol negatif	- .31225 00*	.0200 100	.00 0	- .3529 61	- .2715 39
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	- .00275 00	.0200 100	.89 2	- .0434 61	.0379 61
	Ekstrak Cinnamon 5%	- .00850 00	.0200 100	.67 4	- .0492 11	.0322 11
	Ekstrak Cinnamon 10%	- .00975 00	.0200 100	.62 9	- .0504 61	.0309 61
	Ekstrak Cinnamon 15%	- .01175 00	.0200 100	.56 1	- .0524 61	.0289 61
	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.02450 00	.0200 100	.22 9	- .0162 11	.0652 11
Ekstrak Cinnamon 10%	kontrol negatif	- .30250 00*	.0200 100	.00 0	- .3432 11	- .2617 89
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.00700 00	.0200 100	.72 9	- .0337 11	.0477 11

	Ekstrak Cinnamon 5%	.00125 00	.0200 100	.95 1	- .0394 61	.0419 61
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	.00975 00	.0200 100	.62 9	- .0309 61	.0504 61
	Ekstrak Cinnamon 15%	- .00200 00	.0200 100	.92 1	- .0427 11	.0387 11
	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.03425 00	.0200 100	.09 6	- .0064 61	.0749 61
Ekstrak Cinnamon 15%	kontrol negatif	- .30050 00	.0200 100	.00 0	- .3412 11	- .2597 89
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.00900 00	.0200 100	.65 6	- .0317 11	.0497 11
	Ekstrak Cinnamon 5%	.00325 00	.0200 100	.87 2	- .0374 61	.0439 61
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	.01175 00	.0200 100	.56 1	- .0289 61	.0524 61
	Ekstrak Cinnamon 10%	.00200 00	.0200 100	.92 1	- .0387 11	.0427 11
	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.03625 00	.0200 100	.07 9	- .0044 61	.0769 61

Kontrol Positif (CHX 0.2%)	kontrol negatif	-	.0200	.00	-	-
		.33675	100	0	.3774	.2960
		00			61	39
	Ekstrak	-	.0200	.18	-	.0134
	Cinnamon	.02725	100	2	.0679	61
	2.5%	00			61	
	Ekstrak	-	.0200	.10	-	.0077
	Cinnamon	.03300	100	9	.0737	11
5%	00			11		
Ekstrak	-	.0200	.22	-	.0162	
Cinnamon	.02450	100	9	.0652	11	
7.5%	00			11		
Ekstrak	-	.0200	.09	-	.0064	
Cinnamon	.03425	100	6	.0749	61	
10%	00			61		
Ekstrak	-	.0200	.07	-	.0044	
Cinnamon	.03625	100	9	.0769	61	
15%	00			61		

Multiple Comparisons

Dependent Variable	(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
D	LS kontrol negatif	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.253500*	.0482671	.000	.155300	.351700
		Ekstrak Cinnamon 5%	.245000*	.0482671	.000	.146800	.343200
		Ekstrak Cinnamon 7.5%	.273000*	.0482671	.000	.174800	.371200
		Ekstrak Cinnamon 10%	.240000*	.0482671	.000	.141800	.338200
		Ekstrak Cinnamon 15%	.251750*	.0482671	.000	.153550	.349950
		Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.162000*	.0482671	.002	.063800	.260200
		Ekstrak Cinnamon 2.5%	kontrol negatif	-.253500*	.0482671	.000	-.351700
Ekstrak Cinnamon 2.5%	Ekstrak Cinnamon 5%	-.008500	.0482671	.861	-.106700	.089700	
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	.019500	.0482671	.689	-.078700	.117700	
	Ekstrak Cinnamon 10%	-.013500	.0482671	.781	-.111700	.084700	
	Ekstrak Cinnamon 15%	-.001750	.0482671	.971	-.099950	.096450	
	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.050000	.0482671	.282	-.041800	.141800	

	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	- .09150 00	.0482 671	.06 7	- .1897 00	.0067 00
Ekstrak Cinnamon 5%	kontrol negatif	- .24500 00*	.0482 671	.00 0	- .3432 00	- .1468 00
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.00850 00	.0482 671	.86 1	- .0897 00	.1067 00
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	.02800 00	.0482 671	.56 6	- .0702 00	.1262 00
	Ekstrak Cinnamon 10%	- .00500 00	.0482 671	.91 8	- .1032 00	.0932 00
	Ekstrak Cinnamon 15%	.00675 00	.0482 671	.89 0	- .0914 50	.1049 50
	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	- .08300 00	.0482 671	.09 5	- .1812 00	.0152 00
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	kontrol negatif	- .27300 00*	.0482 671	.00 0	- .3712 00
Ekstrak Cinnamon 2.5%		- .01950 00	.0482 671	.68 9	- .1177 00	.0787 00
Ekstrak Cinnamon 5%		- .02800 00	.0482 671	.56 6	- .1262 00	.0702 00
Ekstrak Cinnamon 10%		- .03300 00	.0482 671	.49 9	- .1312 00	.0652 00
Ekstrak Cinnamon 15%		- .02125 00	.0482 671	.66 3	- .1194 50	.0769 50

	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	- .11100 00*	.0482 671	.02 8	- .2092 00	- .0128 00
Ekstrak Cinnamon 10%	kontrol negatif	- .24000 00*	.0482 671	.00 0	- .3382 00	- .1418 00
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.01350 00	.0482 671	.78 1	- .0847 00	.1117 00
	Ekstrak Cinnamon 5%	.00500 00	.0482 671	.91 8	- .0932 00	.1032 00
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	.03300 00	.0482 671	.49 9	- .0652 00	.1312 00
	Ekstrak Cinnamon 15%	.01175 00	.0482 671	.80 9	- .0864 50	.1099 50
	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	- .07800 00	.0482 671	.11 6	- .1762 00	.0202 00
Ekstrak Cinnamon 15%	kontrol negatif	- .25175 00*	.0482 671	.00 0	- .3499 50	- .1535 50
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.00175 00	.0482 671	.97 1	- .0964 50	.0999 50
	Ekstrak Cinnamon 5%	- .00675 00	.0482 671	.89 0	- .1049 50	.0914 50
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	.02125 00	.0482 671	.66 3	- .0769 50	.1194 50
	Ekstrak Cinnamon 10%	- .01175 00	.0482 671	.80 9	- .1099 50	.0864 50
	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	- .08975 00	.0482 671	.07 2	- .1879 50	.0084 50

Kontrol Positif (CHX 0.2%)	kontrol negatif	-	.0482	.00	-	-
		.16200	671	2	.2602	.0638
		00*			00	00
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.09150	.0482	.06	-	.1897
		00	671	7	.0067	00
					00	
	Ekstrak Cinnamon 5%	.08300	.0482	.09	-	.1812
		00	671	5	.0152	00
					00	
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	.11100	.0482	.02	.0128	.2092
		00*	671	8	00	00
	Ekstrak Cinnamon 10%	.07800	.0482	.11	-	.1762
		00	671	6	.0202	00
					00	
	Ekstrak Cinnamon 15%	.08975	.0482	.07	-	.1879
		00	671	2	.0084	50
					50	

Multiple Comparisons

Dependent Variable	(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
D	LS kontrol negatif	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.161500*	.0190241	.000	.122795	.200205
		Ekstrak Cinnamon 5%	.156750*	.0190241	.000	.118045	.195455
		Ekstrak Cinnamon 7.5%	.158750*	.0190241	.000	.120045	.197455
		Ekstrak Cinnamon 10%	.153000*	.0190241	.000	.114295	.191705
		Ekstrak Cinnamon 15%	.128500*	.0190241	.000	.089795	.167205
		Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.184250*	.0190241	.000	.145545	.222955

Ekstrak Cinnamon 2.5%	kontrol negatif	- .16150 00*	.0190 241	.00 0	- .2002 05	- .1227 95
	Ekstrak Cinnamon 5%	- .00475 00	.0190 241	.80 4	- .0434 55	.0339 55
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	- .00275 00	.0190 241	.88 6	- .0414 55	.0359 55
	Ekstrak Cinnamon 10%	- .00850 00	.0190 241	.65 8	- .0472 05	.0302 05
	Ekstrak Cinnamon 15%	- .03300 00	.0190 241	.09 2	- .0717 05	.0057 05
		Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.02275 00	.0190 241	.24 0	- .0159 55
Ekstrak Cinnamon 5%	kontrol negatif	- .15675 00*	.0190 241	.00 0	- .1954 55	- .1180 45
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.00475 00	.0190 241	.80 4	- .0339 55	.0434 55
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	.00200 00	.0190 241	.91 7	- .0367 05	.0407 05
	Ekstrak Cinnamon 10%	- .00375 00	.0190 241	.84 5	- .0424 55	.0349 55
	Ekstrak Cinnamon 15%	- .02825 00	.0190 241	.14 7	- .0669 55	.0104 55

	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.02750 00	.0190 241	.15 8	- .0112 05	.0662 05
Ekstrak Cinnamon 7.5%	kontrol negatif	- .15875 00*	.0190 241	.00 0	- .1974 55	- .1200 45
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.00275 00	.0190 241	.88 6	- .0359 55	.0414 55
	Ekstrak Cinnamon 5%	- .00200 00	.0190 241	.91 7	- .0407 05	.0367 05
	Ekstrak Cinnamon 10%	- .00575 00	.0190 241	.76 4	- .0444 55	.0329 55
	Ekstrak Cinnamon 15%	- .03025 00	.0190 241	.12 1	- .0689 55	.0084 55
	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.02550 00	.0190 241	.18 9	- .0132 05	.0642 05
Ekstrak Cinnamon 10%	kontrol negatif	- .15300 00*	.0190 241	.00 0	- .1917 05	- .1142 95
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.00850 00	.0190 241	.65 8	- .0302 05	.0472 05
	Ekstrak Cinnamon 5%	.00375 00	.0190 241	.84 5	- .0349 55	.0424 55
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	.00575 00	.0190 241	.76 4	- .0329 55	.0444 55
	Ekstrak Cinnamon 15%	- .02450 00	.0190 241	.20 7	- .0632 05	.0142 05
	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.03125 00	.0190 241	.11 0	- .0074 55	.0699 55

Ekstrak Cinnamon 15%	kontrol negatif	- .12850 00*	.0190 241	.00 0	- .1672 05	- .0897 95
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.03300 00	.0190 241	.09 2	- .0057 05	.0717 05
	Ekstrak Cinnamon 5%	.02825 00	.0190 241	.14 7	- .0104 55	.0669 55
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	.03025 00	.0190 241	.12 1	- .0084 55	.0689 55
	Ekstrak Cinnamon 10%	.02450 00	.0190 241	.20 7	- .0142 05	.0632 05

	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.05575 00*	.0190 241	.00 6	.0170 45	.0944 55
Kontrol Positif (CHX 0.2%)	kontrol negatif	- .18425 00*	.0190 241	.00 0	- .2229 55	- .1455 45
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	- .02275 00	.0190 241	.24 0	- .0614 55	.0159 55
	Ekstrak Cinnamon 5%	- .02750 00	.0190 241	.15 8	- .0662 05	.0112 05
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	- .02550 00	.0190 241	.18 9	- .0642 05	.0132 05
	Ekstrak Cinnamon 10%	- .03125 00	.0190 241	.11 0	- .0699 55	.0074 55
	Ekstrak Cinnamon 15%	- .05575 00*	.0190 241	.00 6	- .0944 55	- .0170 45

Multiple Comparisons

Dependent Variable	(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LS D	kontrol negatif	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.118000*	.0197339	.000	.077851	.158149
		Ekstrak Cinnamon 5%	.096250*	.0197339	.000	.056101	.136399
		Ekstrak Cinnamon 7.5%	.079500*	.0197339	.000	.039351	.119649
		Ekstrak Cinnamon 10%	.059500*	.0197339	.005	.019351	.099649
		Ekstrak Cinnamon 15%	.047750*	.0197339	.021	.007601	.087899
		Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.131750*	.0197339	.000	.091601	.171899
		Ekstrak Cinnamon 2.5%	kontrol negatif	-.118000	.0197339	.000	-.158149
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	Ekstrak Cinnamon 5%	-.021750	.0197339	.278	-.061899	.018399
		Ekstrak Cinnamon 7.5%	-.038500	.0197339	.060	-.078649	.001649
		Ekstrak Cinnamon 10%	-.058500	.0197339	.006	-.098649	.018351
		Ekstrak Cinnamon 15%	-.070250	.0197339	.001	-.110399	.030101
		kontrol negatif	.118000	.0197339	.000	.158149	.077851
		Ekstrak Cinnamon 2.5%	.118000	.0197339	.000	.158149	.077851

	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.01375 00	.0197 339	.49 1	- .0263 99	.0538 99
Ekstrak Cinnamon 5%	kontrol negatif	- .09625 00*	.0197 339	.00 0	- .1363 99	- .0561 01
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.02175 00	.0197 339	.27 8	- .0183 99	.0618 99
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	- .01675 00	.0197 339	.40 2	- .0568 99	.0233 99
	Ekstrak Cinnamon 10%	- .03675 00	.0197 339	.07 1	- .0768 99	.0033 99
	Ekstrak Cinnamon 15%	- .04850 00*	.0197 339	.01 9	- .0886 49	- .0083 51
	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.03550 00	.0197 339	.08 1	- .0046 49	.0756 49
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	kontrol negatif	- .07950 00*	.0197 339	.00 0	- .1196 49
Ekstrak Cinnamon 2.5%		.03850 00	.0197 339	.06 0	- .0016 49	.0786 49
	Ekstrak Cinnamon 5%	.01675 00	.0197 339	.40 2	- .0233 99	.0568 99
	Ekstrak Cinnamon 10%	- .02000 00	.0197 339	.31 8	- .0601 49	.0201 49
	Ekstrak Cinnamon 15%	- .03175 00	.0197 339	.11 7	- .0718 99	.0083 99

	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.07225 00*	.0197 339	.00 1	.0321 01	.1123 99
Ekstrak Cinnamon 15%	kontrol negatif	- .04775 00*	.0197 339	.02 1	- .0878 99	- .0076 01
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.07025 00*	.0197 339	.00 1	.0301 01	.1103 99
	Ekstrak Cinnamon 5%	.04850 00*	.0197 339	.01 9	.0083 51	.0886 49
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	.03175 00	.0197 339	.11 7	- .0083 99	.0718 99
	Ekstrak Cinnamon 10%	.01175 00	.0197 339	.55 6	- .0283 99	.0518 99
	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.05225 00*	.0197 339	.01 2	.0121 01	.0923 99
	kontrol negatif	- .05950 00*	.0197 339	.00 5	- .0996 49	- .0193 51
Ekstrak Cinnamon 10%	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.05850 00*	.0197 339	.00 6	.0183 51	.0986 49
	Ekstrak Cinnamon 5%	.03675 00	.0197 339	.07 1	- .0033 99	.0768 99
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	.02000 00	.0197 339	.31 8	- .0201 49	.0601 49
	Ekstrak Cinnamon 15%	- .01175 00	.0197 339	.55 6	- .0518 99	.0283 99

	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.07225 00*	.0197 339	.00 1	.0321 01	.1123 99
Ekstrak Cinnamon 15%	kontrol negatif	- .04775 00*	.0197 339	.02 1	- .0878 99	- .0076 01
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	.07025 00*	.0197 339	.00 1	.0301 01	.1103 99
	Ekstrak Cinnamon 5%	.04850 00*	.0197 339	.01 9	.0083 51	.0886 49
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	.03175 00	.0197 339	.11 7	- .0083 99	.0718 99
	Ekstrak Cinnamon 10%	.01175 00	.0197 339	.55 6	- .0283 99	.0518 99
	Kontrol Positif (CHX 0.2%)	.08400 00*	.0197 339	.00 0	.0438 51	.1241 49
			00			49
Kontrol Positif (CHX 0.2%)	kontrol negatif	- .13175 00*	.0197 339	.00 0	- .1718 99	- .0916 01
	Ekstrak Cinnamon 2.5%	- .01375 00	.0197 339	.49 1	- .0538 99	.0263 99
	Ekstrak Cinnamon 5%	- .03550 00	.0197 339	.08 1	- .0756 49	.0046 49
	Ekstrak Cinnamon 7.5%	- .05225 00*	.0197 339	.01 2	- .0923 99	- .0121 01
	Ekstrak Cinnamon 10%	- .07225 00*	.0197 339	.00 1	- .1123 99	- .0321 01
	Ekstrak Cinnamon 15%	- .08400 00*	.0197 339	.00 0	- .1241 49	- .0438 51