

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii blume*) TERHADAP
PERTUMBUHAN BAKTERI *Porphyromonas gingivalis*
DENGAN METODE *DISC DIFFUSION***



RINA NABILA

1710025027

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS MULAWARMAN

SAMARINDA

2021

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN
KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii blume*) TERHADAP
PERTUMBUHAN BAKTERI *Porphyromonas gingivalis*
DENGAN METODE *DISC DIFFUSION***

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Gigi
(S.K.G.)**

RINA NABILA

1710025027

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MULAWARMAN
SAMARINDA
2021**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : **RINA NABILA**
NIM : 1710025027
Program Studi : Kedokteran Gigi
Fakultas : Kedokteran
Judul Skripsi : UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL
DAUN KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii blume*)
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Porphyromonas*
gingivalis DENGAN METODE *DISC DIFFUSION*

Dengan ini menyatakan bahwa hasil penulisan Skripsi yang telah saya buat ini merupakan hasil karya sendiri dan benar keasliannya. Apabila ternyata di kemudian hari penulisan Skripsi ini merupakan hasil plagiat atau panjiplakan terhadap karya orang lain, maka saya bersedia mempertanggungjawabkan sekaligus bersedia menerima sangksi berdasarkan tata tertib di Universitas Mulawarman.

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tidak dipaksakan.

Penulis,



(Rina Nabila)

LEMBAR PERSETUJUAN

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii blume*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Porphyromonas gingivalis* DENGAN METODE *DISC* *DIFFUSION*

TUGAS AKHIR

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat guna meraih gelar Sarjana Kedokteran Gigi
(S.K.G.)*

Oleh:

RINA NABILA

1710025027

KOMISI PEMBIMBING

Pembimbing I



drg. Cicih Bhakti P., M.Med.Ed

NIP. 19800527 200801 2 015

Pembimbing II



Alhawaris, S.Si., M. Kes

NIP. 19871225 201803 1 001

Fakultas kedokteran
Universitas Mulawarman
Dekan,



dr. Ika Fikriah, M. Kes

NIP. 19691018 200212 2 001

LEMBAR PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii blume*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Porphyromonas gingivalis* DENGAN METODE *DISC* *DIFFUSION*

Oleh :

RINA NABILA

1710025027

Telah dipertahankan di depan penguji

Pada tanggal 12 Juli 2021

dinyatakan telah memenuhi syarat

KOMISI PENGUJI

Penguji I

Dr. drg. Lilies Anggarwati Astuti, Sp. Perio

NIP. 19900304 201003 2 015

Penguji II

drg. Masyhudi, M.Si

NIP. 19710623 200501 1 002

Fakultas kedokteran
Universitas Mulawarman
Dekan,



dr. Ika Ekriah, M. Kes
NIP.19691018 200212 2 001

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rina Nabila
NIM : 1710025027
Program Studi : Kedokteran Gigi
Fakultas : Kedokteran
Jenis Karya : Skripsi

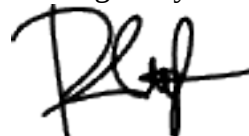
demikian pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman **Hak Bebas Royalti** atas karya ilmiah saya yang berjudul **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii blume*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Porphyromonas gingivalis* DENGAN METODE *DISC DIFFUSION* beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti ini Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.**

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Samarinda

Pada tanggal : Maret 2021

Yang menyatakan



(Rina Nabila)

RIWAYAT HIDUP

Nama : Rina Nabila
Jenis kelamin : Perempuan
Tempat / tanggal lahir : Sangatta / 11 Mei 1999
Agama : Islam
Alamat rumah : GPL Munthe Jl. Murai H. 200, Sangatta.
Alamat email : rinanabila06@gmail.com



Pendidikan formal :

Sekolah Dasar (2005-2011) : SD YPPSB 3 Sangatta Utara
SMP (2011-2014) : SMP YPPSB Sangatta Utara
SMA (2014-2017) : SMA Negeri 1 Sangatta Utara
Perguruan Tinggi (2017-2021) : Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas
Kedokteran Universitas Mulawarman.

Pendidikan Non Formal :

- Anggota HIMA KG Universitas Mulawarman (2017-2019)
- Kepanitiaan World Oral Health Day bekerja sama dengan Program Studi Kedokteran Gigi Universitas Mulawarman (2017)
- Kepanitiaan World Oral Health Day bekerja sama dengan Program Studi Kedokteran Gigi Universitas Mulawarman (2018)
- Kepanitiaan Charity National Health Day bekerja sama dengan Program Studi Kedokteran Gigi Universitas Mulawarman (2018)
- Kepanitiaan World No Tobacco Day Bersama HIMA KG Universitas Mulawarman (2018)

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan sebesar-besarnya kepada Allah SWT atas izin dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul " UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii blume*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Porphyromonas gingivalis* DENGAN METODE DISC DIFFUSION ". Shalawat serta salam senantiasa tercurah untuk teladan sepanjang masa yaitu Nabi Muhammad SAW yang begitu menginspirasi bagi penulis. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada program SI Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman.

Banyak pihak yang telah membantu serta membimbing penulis dalam penyelesaian skripsi ini. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya dan rasa terima kasih yang tulus kepada :

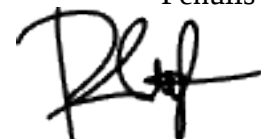
1. Prof. Dr. H. Masjaya, M.Si. selaku Rektor Universitas Mulawarman.
2. dr. Ika Fikriah, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman Samarinda.
3. drg. Cicih Bhakti P., M.Med.Ed selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman Samarinda serta sebagai pembimbing I yang telah memberikan banyak arahan, kritik, dan saran yang
4. Bapak Alhawaris, S.Si, M.Kes selaku Pembimbing II yang telah memberikan banyak ilmu dan bimbingan selama proses penyusunan skripsi.
5. Dr. drg. Lilies Anggarwati Astuti, Sp. Perio selaku Penguji I telah memberikan banyak arahan, kritik, dan saran yang telah membangun dalam penyusunan skripsi.
6. drg. Masyhudi, M.Si selaku Penguji II yang telah memberikan banyak arahan, kritik, dan saran yang telah membangun dalam penyusunan skripsi.
7. drg. Sinar Yani, M.Kes, selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan nasihat, arahan, ilmu, bimbingan, saran, dan kritik selama pembelajaran di Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman Samarinda.
8. Seluruh dosen pengajar dan staf Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman atas waktu dan ilmu yang telah diberikan.
9. Mba Yunie Safitri, S.Si atas bantuannya selama melakukan penelitian di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman.

10. Ibu Ratnawati, Mba Rika serta seluruh staf Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Timur yang telah banyak membantu dan membimbing selama proses penelitian.
11. Kedua orangtua penulis tercinta, Bapak Abdul Haris dan Ibu Sadariah, terima kasih atas doa, kasih sayang, dan dukungan yang telah diberikan dalam menyelesaikan pendidikan dan skripsi penulis.
12. Ranya Olivia yang telah menjadi partner sejak awal hingga akhir dari proses penelitian skripsi ini.
13. Sahabat-sahabat yang selalu memberikan dukungan, dan bantuan selama proses belajar dan pengerjaan skripsi.
14. Kim Seokjin dan Bangtan Seonyeondan yang selalu memberikan semangat untuk menyelesaikan penulisan skripsi.
15. Teman-teman seperjuangan angkatan 2017 "Maxilla" yang telah berjuang bersama dan mewarnai hari-hari kuliah penulis.
16. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah banyak membantu dalam penelitian sampai penyusunan skripsi ini berakhir.

Penulis menyadari masih terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Namun penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dan perkembangan dan kemajuan ilmu kedokteran.

Samarinda, Juni 2021

Penulis



Rina Nabila

ABSTRAK

Nama : Rina Nabila

Program Studi : Kedokteran Gigi

Judul : Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan Metode *Disc Diffusion*

Periodontitis merupakan penyakit tertinggi keenam di seluruh dunia dengan *Porphyromonas gingivalis* sebagai salah satu bakteri penyebabnya. Daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) menunjukkan beberapa aktivitas antimikroba, seperti antibakteri dan anti-jamur. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak *Cinnamomum burmannii blume* terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. Desain penelitian yang digunakan adalah *the post test only control group design*. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang ditumbuhkan pada media MHA diberi perlakuan menggunakan ekstrak etanol *Cinnamomum burmannii blume* dengan konsentrasi sebesar 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Cinnamomum burmannii blume* membentuk zona hambat di sekitar *paper disc* terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* pada media MHA. Sehingga dapat disimpulkan pada penelitian ini ekstrak etanol *Cinnamomum burmannii blume* menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*.

Kata Kunci : Antibakteri, Daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*), *Porphyromonas gingivalis*

ABSTRACT

Name : Rina Nabila

Study Program: Dentistry

Title : *Antibacterial Activity Test of Ethanol Extract of Cinnamon Leaves (Cinnamomum burmannii blume) on the Growth of Porphyromonas gingivalis Bacteria using the Disc Diffusion Method*

Periodontitis is the sixth highest disease worldwide with Porphyromonas gingivalis as one of the causative bacteria. Cinnamon (Cinnamomum burmannii) leaves exhibit several antimicrobial activities, such as antibacterial and anti-fungal. This study was conducted to determine the antibacterial activity of Cinnamomum burmannii blume extract on the growth of Porphyromonas gingivalis. The research design used was the post test only control group design. Porphyromonas gingivalis bacteria grown on MHA media were treated using ethanol extract of Cinnamomum burmannii blume with concentrations of 5%, 10%, 15%, 20% and 25%. The results showed that the ethanolic extract of Cinnamomum burmannii blume formed an inhibitory zone around the paper disc on the growth of Porphyromonas gingivalis on MHA media. So it can be concluded that in this study the ethanolic extract of Cinnamomum burmannii blume showed antibacterial activity against the growth of Porphyromonas gingivalis.

Keywords: *Antibacterial, Cinnamon leaves (Cinnamomum burmannii blume), Porphyromonas gingivalis*

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KAYU
MANIS (*Cinnamomum burmannii blume*) TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI *Porphyromonas gingivalis* DENGAN METODE *DISC
DIFFUSION***

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Gigi
(S.K.G.)**

RINA NABILA

1710025027

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MULAWARMAN
SAMARINDA
MARET 2021**

DAFTAR ISI

	Hal
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
LEMBAR PERSETUJUAN	iv
LEMBAR PENGESAHAN	v
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
KATA PENGANTAR	viii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR SINGKATAN	vi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.3.1 Tujuan Umum	2
1.3.2 Tujuan Khusus	2
1.4 Manfaat	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>)	3
2.1.1 Klasifikasi Daun Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>)	4
2.1.2 Nama Lokal	4
2.1.3 Morfologi Tanaman	4
2.1.4 Kegunaan Tanaman	4
2.1.5 Kandungan Kimia	5

2.1.6	Kandungan Metabolit Sekunder yang Memiliki Efek Antibakteri	5
2.1.6.1	Eugenol	5
2.1.6.2	Sinamaldehida	5
2.2	Ekstraksi Maserasi	6
2.3	Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	6
2.3.1	Patogenesis.....	7
2.4	Antibakteri	7
2.5	Pengujian Antibakteri Metode Difusi	8
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS		
PENELITIAN		9
3.1	Kerangka Teori.....	9
3.2	Kerangka Konsep	10
BAB IV METODE PENELITIAN		12
4.1	Desain Penelitian.....	12
4.1.1	Jumlah Perlakuan	12
4.2	Lokasi dan Waktu Penelitian	12
4.3	Subjek Penelitian dan Pemilihan Sampel.....	12
4.3.1	Subjek Bakteri Uji.....	12
4.3.2	Subjek Tumbuhan Uji	12
4.4	Bahan dan Alat Penelitian.....	13
4.4.1	Bahan Penelitian	13
4.4.2	Alat Penelitian.....	13
4.5	Variabel Penelitian.....	13
4.5.1	Variabel Bebas/Independent	13
4.5.2	Variabel Terikat/Dependent	13
4.6	Definisi Operasional	13
4.6.1	Zona Hambat Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	13

4.6.2 Konsentrasi Ekstra Daun Kayu Manis (<i>Cinnamomum Burmannii</i>).....	13
4.6.3 Kontrol Positif.....	14
4.6.4 Kontrol negatif.....	14
4.6.5 Lama Inkubasi.....	14
4.6.6 Suhu Inkubasi.....	14
4.6.7 Suasana anaerob.....	14
4.6.8 Media Pertumbuhan Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	14
4.7 Prosedur Penelitian.....	14
4.7.1 Sterilisasi Alat.....	14
4.7.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kayu Manis.....	15
4.7.3 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak.....	15
4.7.4 Pembuatan Media.....	15
4.7.5 Persiapan Disc.....	16
4.7.6 Pembuatan Suspensi Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	16
4.7.7 Uji Antibakteri.....	16
4.7.8 Pengukuran Zona Hambat.....	17
4.8 Analisis Data.....	17
BAB V HASIL PENELITIAN.....	18
5.1 Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Daun Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii blume</i>) terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	18
BAB VI PEMBAHASAN.....	20
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN.....	25
7.1 Kesimpulan.....	25
7.2 Saran.....	25
DAFTAR PUSTAKA.....	26
LAMPIRAN 1.....	30
LAMPIRAN 2.....	31
LAMPIRAN 3.....	32

LAMPIRAN 4.....	33
LAMPIRAN 5.....	34
LAMPIRAN 6.....	35
LAMPIRAN 7.....	36
LAMPIRAN 8.....	37
LAMPIRAN 9.....	38
LAMPIRAN 10.....	40
LAMPIRAN 11.....	47

DAFTAR GAMBAR

	Hal
Gambar 2.1 Tanaman Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii blume</i>).....	3
Gambar 5.1 Hasil Uji Pendahuluan Pemberian Ekstra Daun Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii blume</i>) terhadap Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> pada media Mueller Hinton Agar (MHA).....	18
Gambar 5.2 Hasil Penelitian Pemberian Ekstra Daun Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii blume</i>) terhadap Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i>	19

DAFTAR SINGKATAN

<i>P. Gingivalis</i>	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>
°C	: derajat celcius
g	: gram
kg	: kilogram
cm	: centimeter
mm	: milimeter
µg/ml	: mikrogram/mililiter
ATCC	: The American Type Culture Collection
LPS	: Lipopolisakarida
dpl	: diatas permukaan laut
APD	:Alat Perlindungan Diri
BAP	: Blood Agar Plate

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit periodontal merupakan salah satu penyakit yang paling luas di masyarakat, dengan jenis yang paling sering terjadi adalah gingivitis dan periodontitis (Dharmawati, *et al.*, 2019). Periodontitis didefinisikan sebagai penyakit radang pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh mikroorganisme. Penyakit ini mengakibatkan kerusakan ligamen periodontal dan tulang alveolar disertai meningkatnya kedalaman probing, resesi, atau keduanya (Carranza, *et al.*, 2018). Penelitian Kassebaum (2010), penyakit periodontitis kronis adalah kondisi keenam yang paling umum dan mempengaruhi 10,8% atau 743 juta orang berusia 15-99 di seluruh dunia. Demikian pula insidensi periodontitis kronis berdasarkan usia tidak berubah secara signifikan selama dua dekade sebelumnya antara tahun 1990 dan 2010, yaitu 696 kasus per 100.000 orang pada tahun 1990 dan 701 kasus per 100.000 orang per tahun pada tahun 2010 (Frencken, *et al.*, 2017).

Periodontitis terjadi karena meningkatnya pembentukan biofilm plak dan virulensi bakteri yang disebabkan oleh ketidakseimbangan antara host dan bakteri (Dharmawati, *et al.*, 2019). Salah satu yang terlibat pada patogenesis periodontitis adalah *Porphyromonas gingivalis*, yang merupakan bakteri gram-negatif anaerob (Mysak, *et al.*, 2014). Bakteri ini dapat dideteksi pada pasien dengan jaringan periodontal sehat di daerah sulkus subgingiva dan merupakan bagian dari flora normal, tetapi apabila populasi bakteri meningkat akan berubah menjadi pathogen dan dapat menyebabkan akumulasi plak (Dharmawati, *et al.*, 2019).

Belakangan ini minat masyarakat untuk menggunakan bahan-bahan alami semakin meningkat. Hal ini dibuktikan dengan semakin banyaknya industri-industri yang menggunakan tumbuh-tumbuhan sebagai bahan dasar. Kenyataan ini mendorong dilakukannya penelitian-penelitian tentang tumbuhan-tumbuhan yang secara tradisional sering digunakan untuk mencegah atau mengobati berbagai penyakit (Miksusanti, 2010). Indonesia sendiri dipenuhi dengan banyak jenis tanaman yang memiliki banyak khasiat. Salah satu tanaman yang berkhasiat yaitu tanaman kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*). *Cinnamomum burmannii* telah menunjukkan aktivitas analgesik, antibakteri, anti-diabetes, anti-jamur, antioksidan, antirematik, anti-trombotik, dan anti-tumor (Al-Dhubiab, 2012). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Jailani (2015) menunjukkan bahwa daun kayu manis mengandung sekitar 0,5-0,7% sinamaldehida, dengan kandungan utamanya adalah eugenol sekitar 70-95% dan

sinamilasetat 3-4 %. Terdapat 30 studi yang berbeda mengevaluasi bahwa tanaman kayu manis memiliki potensi sebagai anti-mikroba. Bakteri yang sudah diteliti antara lain *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus Influenza*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus albus*, dan *Yersinia enterocolitica*. Hal ini membuktikan bahwa tanaman kayu manis telah menunjukkan potensi aksi anti-mikroba terhadap berbagai bakteri (Ranasinghe, *et al.*, 2013). Sedangkan data yang menunjukkan aktivitas antibakteri dari kayu manis terhadap *Porphyromonas gingivalis* belum ditemukan. Berdasarkan latar belakang tersebut, perlu dilakukan penelitian ini yang bertujuan untuk menguji aktivitas ekstrak daun kayu manis terhadap pembentukan zona hambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat aktivitas antibakteri daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* dengan metode *disc diffusion*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui diameter zona hambat yang terbentuk dari ekstrak daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* dengan metode *disc diffusion* pada media MHA.

1.4 Manfaat

1. Memperkaya ilmu pengetahuan dalam bidang Farmakologi Kedokteran Gigi mengenai tanaman obat yang dapat digunakan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.
2. Sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan aktivitas antibakteri ekstrak daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab gangguan gigi dan mulut.
3. Menambah informasi baru mengenai manfaat ekstrak daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) sebagai agen antibakteri.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

Kayu manis merupakan komoditas ekspor yang penting di Indonesia. Produk ini diekspor ke Amerika Serikat (46%), Belanda (11%), Jerman (4%), dan Singapura (4%). Produksi kayu manis Indonesia mencapai 45% dari total produksi dunia, dan volume ekspor kayu manis Indonesia adalah yang terbesar di dunia (26%). Produk utama kayu manis adalah kulit kayu manis. Produk sampingan dari kayu manis adalah cabang dan daun. Namun, semua bagian pohon kayu manis mengandung minyak atsiri dan oleoresin yang terutama ditemukan di kulit kayu, batang, dan daun, dan hanya sebagian kecil ditemukan di bagian kayu (Khasanah, *et al.*, 2017).



Gambar 2.1 Tanaman Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*)
(Sumber: pribadi)

2.1.1 Klasifikasi Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Superdivisi	: Embryophyta
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Laurales
Famili	: Lauraceae
Marga	: Cinnamomum
Jenis	: Cinnamomum burmannii (PLANTS, 2011)

2.1.2 Nama Lokal

Cinnamomum burmannii merupakan jenis kayu manis yang berasal dari Indonesia. Dalam perdagangan *Cinnamomum burmannii* diberi nama Padang Kaneel atau cassiavera eks. Padang (Emilda, 2018). Kayu manis asal Indonesia ini juga dikenal sebagai *Indonesian cinnamon*, Padang cassia atau Korintje (Inna, *et al.*, 2010).

2.1.3 Morfologi Tanaman

Cinnamomum burmannii merupakan anggota keluarga Lauraceae (Al-Dhubiab, 2012). Ciri-ciri tanaman kayu manis ini memiliki tinggi 1-12 m. Tanaman ini memiliki daun berbentuk lonjong atau bulat telur, daun tuanya berwarna hijau tua, sedangkan daun mudanya berwarna merah sehingga warna pucuknya kemerahan. Kulitnya berwarna kelabu dan dijual dalam bentuk kering. Bagian luar kulitnya dibersihkan, dijemur dan digolongkan menurut panjang asal kulit sebelum dikeringkan. Kulit dapat berasal dari dahan atau ranting. Tanaman ini memiliki bunga berkeping dua atau bunga sempurna dengan warna kuning, ukurannya kecil. Buahnya berbiji satu dan berdaging (Inna, *et al.*, 2010).

2.1.4 Kegunaan Tanaman

Tanaman kayu manis memiliki banyak manfaat dan sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Kulit kering bagian dalam dari tanaman digunakan sebagai zat penyedap pada makanan ataupun minuman. Minyak kulit kayu sulingan dan oleoresin dari kulit tanaman ini digunakan sebagai bahan dalam pembuatan sabun dan parfum. Kayu manis juga digunakan

untuk menyeduh cokelat dan rasa gula-gula di Meksiko. Kulit bubuknya digunakan untuk mengobati mual, dispepsia kembung, batuk, keluhan dada, diare, dan malaria. Minyak dari tanaman diketahui memiliki sifat anti-bakteri, karminatif, dan anti-jamur (Al-Dhubiab, 2012). Kayu manis juga dapat digunakan sebagai pembasmi serangga. Kandungan sinamaldehyda, sinamalasetat, eugenol, dan anetol yang tersimpan dalam minyak daun kayu manis sangat ampuh membunuh larva nyamuk (Inna, *et al.*, 2010).

2.1.5 Kandungan Kimia

Berdasarkan hasil penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya, umumnya minyak kayu manis yang berasal dari bagian kulit batang memiliki kandungan utama yaitu sinamaldehyd dan pada bagian daun memiliki kandungan eugenol sebagai senyawa utama. Hasil penelitian terdahulu mengungkapkan minyak kulit batang terdiri atas sinamaldehyd (65-80%) dan eugenol (5-10%), sedangkan minyak daun terdiri atas eugenol (70-95%) dan sinamaldehyd (1-5%) (Budiarti, Jokopriambodo, & Isnawati, 2018). Baik eugenol dan sinamaldehyda menarik untuk dikembangkan sebagai agen antimikroba karena aktivitas mereka yang menunjukkan dapat melawan bakteri gram positif dan gram negatif (Gill & Holley, 2004).

2.1.6 Kandungan Metabolit Sekunder yang Memiliki Efek Antibakteri

2.1.6.1 Eugenol

Sebagai salah satu fenol, eugenol adalah cairan yang tidak berwarna sampai agak kuning. Secara umum juga diakui sebagai bahan yang aman oleh FDA. Eugenol bertindak sebagai AM. Eugenol menunjukkan efek penghambatan pada pertumbuhan *B. cereus*, *Campylobacter jejuni*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *P. digitatum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella enterica*, *S. enteritidis*, dan *S. aureus*. Dorman dan Dekan (2000) melaporkan bahwa eugenol menunjukkan spektrum aktivitas terluas terhadap 24 dari 25 bakteri, kecuali untuk *Leuconostoc cremoris*. Konsentrasi eugenol sublethal telah ditemukan menghambat produksi amilase dan protease oleh *B. cereus*. Kerusakan dinding sel dan tingkat lisis sel yang tinggi juga dicatat (Suppakul, 2016).

2.1.6.2 Sinamaldehyda

Sinamaldehyda merupakan inhibitor yang efektif pada pertumbuhan bakteri, jamur serta toksin yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Sinamaldehyda dapat menghambat pertumbuhan

sejumlah bakteri seperti *Bacillus* spp., *Enterobacter sakazaki*, *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *E. coli*, *Listeria innocua*, *Micrococcus* spp., dan *Staphylococcus* spp (Suppakul, 2016). Utcharyakiat (2016) melaporkan bahwa Sinamaldehida memiliki aktivitas bakterisida tinggi terhadap isolat MDR-PA. Selain itu, Sinamaldehida menunjukkan kombinasi yang menjanjikan dengan colistin, obat yang saat ini digunakan untuk pengobatan infeksi bakteri gram negatif. Oleh karena itu, ini bisa menjadi senyawa yang digunakan untuk kesehatan manusia yang bermanfaat, mempertimbangkan sebagai agen terapi alternatif untuk aplikasi medis dan suplemen anti-bakteri dalam produk kesehatan, terutama senyawa aktif alami yang dapat mengurangi biaya dan bisa aman (Utcharyakiat, *et al.*, 2016).

2.2 Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi merupakan cara pengambilan zat aktif menggunakan pelarut yang sesuai yang terdapat dalam simplisia. Teknik ekstraksi ada dua cara yaitu cara tanpa pemanasan dan cara dengan pemanasan. Cara dingin meliputi maserasi dan perkolasi, sedangkan cara panas diantaranya refluks, Soxhletasi, digesti, dekokta dan infusa. (Isnawati & Retnaningsih, 2018)

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014).

2.3 Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Menurut Pratiwi (2012) *P. gingivalis* diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Subkingdom : Negibacteria
Phylum : Bacteroidetes
Class : Bacteroidia
Ordo : Bacteriodales
Family : Porphyromonadaceae
Genus : *Porphyromonas*
Species : *Porphyromonas gingivalis* (Coykendall, *et al.*, 1980)

Porphyromonas gingivalis merupakan bakteri melanogenik, nonsakarolitik, dan bagian dari koloni bakteri *Black-pigmented Gram-negative anaerobes* (Kusumawandari, 2010). Sebelumnya bakteri ini bernama *Bacteroides gingivalis*, kemudian direklasifikasi sebagai genus baru, *Porphyromonas*. Nama *Porphyromonas* berasal dari kata sifat Yunani *porphyreos* yang berarti ungu dan *monas* yang berarti unit. Oleh karena itu, kata *Porphyromonas* berarti sel porfirin sebagai koloni di agar plate yang berubah menjadi hitam setelah 6 sampai 10 hari karena akumulasi heme (Kah Yan How, 2016).

2.3.1 Patogenesis

Porphyromonas gingivalis menyerang sel dan jaringan sebagai upaya untuk bertahan hidup menjadi inang dengan cara menghindari pengawasan imun. *Porphyromonas gingivalis* dapat secara aktif menyerang sel-sel epitel gingiva, di mana ia dapat mempertahankan viabilitas dan mereplikasi. *Porphyromonas gingivalis* juga dapat menyerang makrofag, tetapi dalam sel-sel ini replikasinya kurang aktif. Ini merupakan strategi untuk membatasi paparan terhadap lingkungan luar dan menghindari sistem imun. Menariknya, begitu *P. gingivalis* menginvasi intraseluler, tidak ada tanda-tanda apoptosis atau nekrosis. Kemudian dapat secara aktif mengeluarkan enzim penghidrolisis ATP, sehingga menekan apoptosis yang bergantung pada ATP dan memungkinkan ketahanannya dalam sel inang. Selanjutnya, ia dapat menyebar dari sel ke sel, melalui jembatan sitoskeleton aktin tanpa menyebabkan kematian sel, dan menyebar sambil menghindari pengawasan sistem imun. Setelah *P. gingivalis* terbentuk dalam sel, ia mempengaruhi jalur siklus sel dan dengan demikian mempercepat proliferasi sel epitel gingiva, tergantung pada cara fimbriae (Bostanci, 2012).

2.4 Antibakteri

Antibakteri merupakan zat yang berfungsi membunuh atau menekan pertumbuhan dan reproduksi bakterinya. Berdasarkan aktivitas zat antibakteri dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri), bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri) atau menghambat germinasi spora bakteri. Aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan melakukan proses ekstraksi dan menguji zona hambat yang dihasilkan (Sartika, *et al.*, 2013). Pada tanaman kayu manis terdapat zat yang memiliki kemampuan sebagai antibakteri yaitu sinamaldehida dan eugenol. Sinamaldehida berperan dalam penghambatan pertumbuhan bakteri dengan cara mengubah sifat membran dengan menurunkan polaritas dan meningkatkan permeabilitas

dalam waktu dan konsentrasi tertentu (Shen, et al., 2015). Sedangkan eugenol merupakan zat yang mempunyai efek toksik terhadap bakteri. Eugenol bekerja dengan cara menembus bagian inner membran dan mengganggu kemampuan permeabilitas dinding sel bakteri. Hal ini dapat merusak aktivitas sel dari bakteri (Paliling, Posangi, & Anindita, 2016). Ranasinghe (2013) menyatakan bahwa telah dilakukan 30 studi berbeda yang mengevaluasi bahwa tanaman kayu manis memiliki potensi sebagai antibakteri. Bakteri yang telah dilakukan penelitian antara lain *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Haemophilus Influenza*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus albus*, dan *Yersinia enterocolitica* (Ranasinghe, et al., 2013).

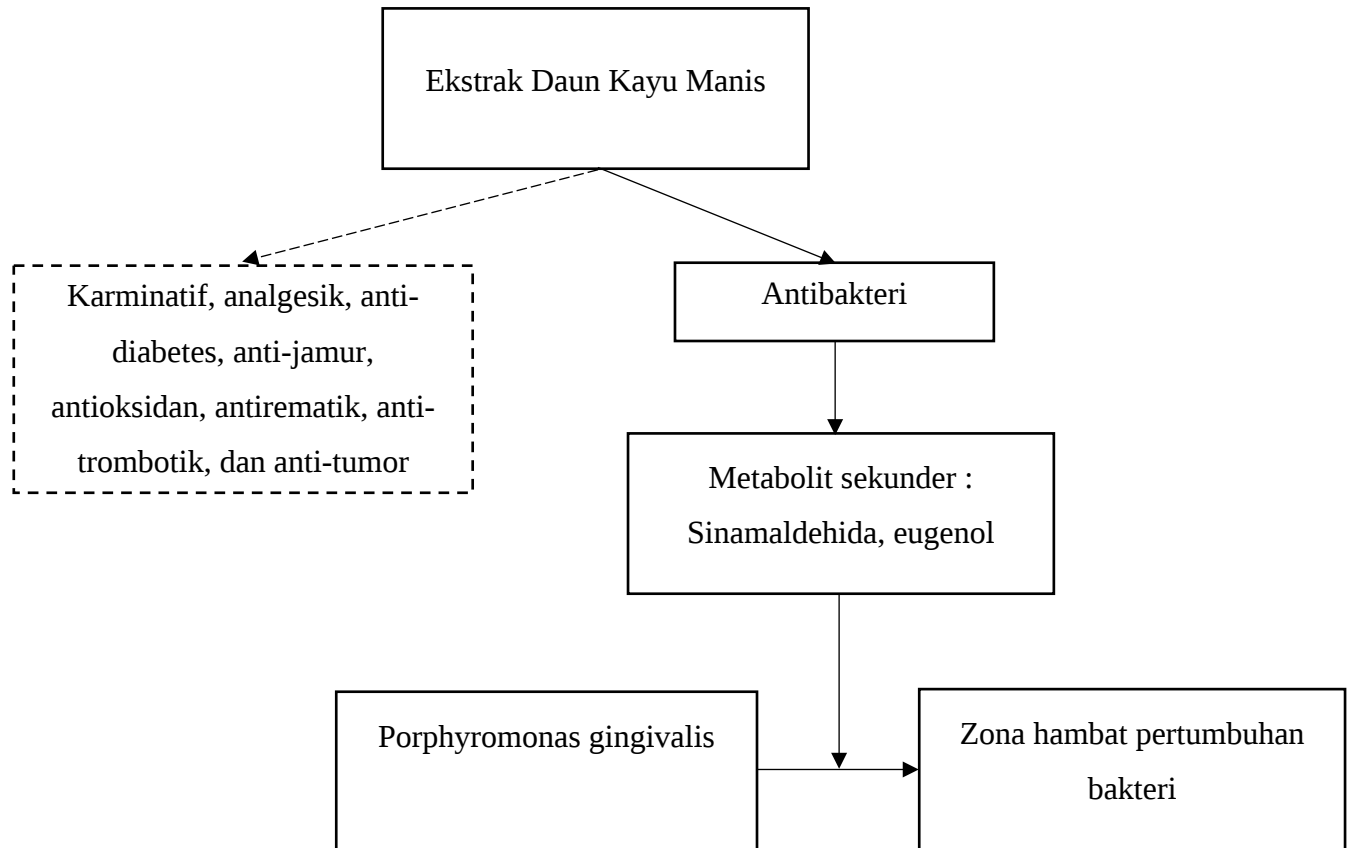
2.5 Pengujian Antibakteri Metode Difusi

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi. Metode disc diffusion merupakan salah satu metode difusi yang dapat dilakukan. Dalam prosedur ini, cakram kertas saring berisi senyawa uji yang telah lebih dahulu ditempatkan pada permukaan agar-agar diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Agen antimikroba berdifusi ke dalam agar dan menghambat perkecambahan dan pertumbuhan mikroorganisme yang diuji. Petridish diinkubasi dan zona pertumbuhan penghambatan diukur (Choma & Grzelak, 2010). Metode *disc diffusion* sendiri memiliki beberapa kelebihan. Kelebihannya antara lain cukup mudah untuk dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah sehingga metode ini dipilih untuk digunakan pada penelitian ini (Pelczar, 1988; Bonang, 1992).

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS PENELITIAN

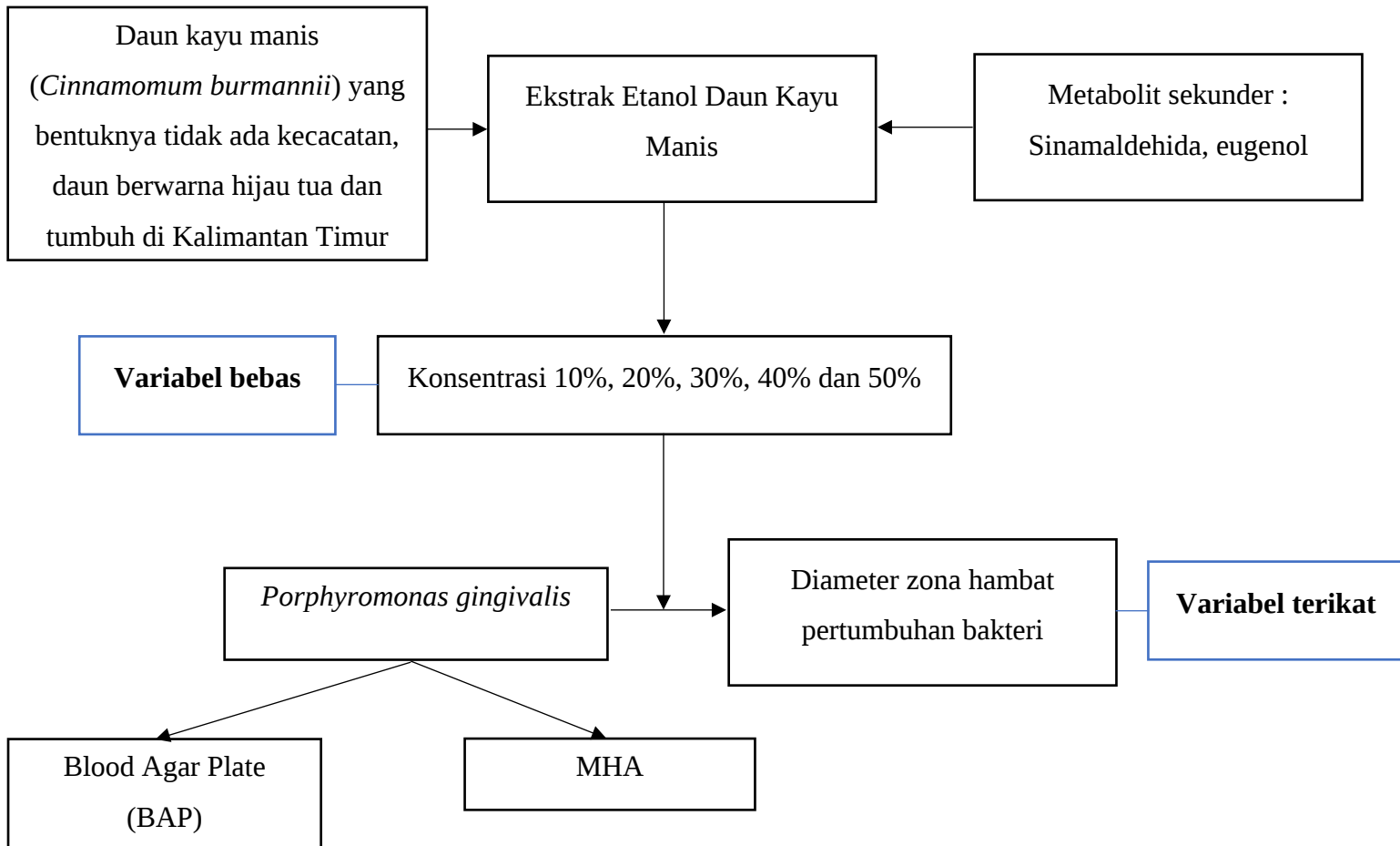
3.1 Kerangka Teori



----- Variabel yang tidak diteliti

———— Variabel yang diteliti

3.2 Kerangka Konsep



3.3 Hipotesis Penelitian

- H_0 Tidak terbentuk zona hambat ekstrak daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii* blume) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*
- H_1 Terbentuk zona hambat ekstrak daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii* blume) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *True eksperimental* yang menggunakan desain penelitian *the post test only control group design*. Digunakan uji *Disc Diffusion* untuk melihat respon pertumbuhan bakteri terhadap agen antibakteri.

4.1.1 Jumlah Perlakuan

Penelitian ini menggunakan konsentrasi ekstrak etanol daun kayu manis 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% pada media MHA dan 10%, 20%, 30%, 40% dan 50% pada media *blood agar*. Kelompok kontrol positif adalah kelompok yang terdiri dari 1 perlakuan biakan bakteri *P. gingivalis* dalam media *blood agar* yang diberi disc mengandung *chlorhexidine gluconate* 0,2%. Kelompok kontrol negatif adalah kelompok yang terdiri dari 1 perlakuan biakan bakteri *P. gingivalis* dalam media *blood agar* yang diberi *paper disc* mengandung *aquadest* steril.

4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman dan UPTD. Laboratorium Kesehatan Pemerintah Provinsi Kalimantan Timur. Penelitian ini berlangsung pada bulan Februari-April tahun 2021.

4.3 Subjek Penelitian dan Pemilihan Sampel

4.3.1 Subjek Bakteri Uji

Subjek bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Porphyromonas gingivalis* standar ATCC 33277 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Penelitian ini telah mendapat persetujuan *ethical clearance* dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman dengan nomor surat NO. 22/KEPK-FK/III/2021.

4.3.2 Subjek Tumbuhan Uji

Subjek tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) yang bentuknya bagus tidak ada kecacatan, daun berwarna hijau tua yang diperoleh dari Bontang, Kalimantan Timur.

4.4 Bahan dan Alat Penelitian

4.4.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) dan etanol 96%, kertas label, blank disc, sediaan bakteri *Porphyromonas gingivalis*, *chlorhexidine gluconate* 0,2%, *aquadest sterile*, GasPak Generator envelope CO₂, NaCl, *blood agar*, *sheep blood*, APD, MHA (*Mueller Hinton Agar*) dan kertas saring Whatman no. 42.

4.4.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan adalah alat tulis, timbangan, peniris, lemari pengering, blender, corong *buchner*, *laboratory bottle*, *rotary vacuum evaporator*, toples kaca, timbangan analitik, oven, ose, pinset, bunsen, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *micropipet*, jangka sorong/penggaris, spidol, *incubator*, gelas laboratorium/*breaker glass*, *autoclave*, *vortex*, *petridish*, *anaerob jar*, dan *spektofotometer*.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas/Independent

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daun kayu manis.

4.5.2 Variabel Terikat/Dependent

Variabel terikat pada penelitian ini adalah diameter zona hambat bakteri *P. gingivalis* konsentrasi ekstrak etanol daun kayu manis.

4.6 Definisi Operasional

4.6.1 Zona Hambat Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Zona Hambat Bakteri *P. gingivalis* adalah daerah jernih disekitar disc pada biakan media bakteri setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam, yang kemudian diukur diameternya menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm). Skala ukur zona hambat adalah skala rasio.

4.6.2 Konsentrasi Ekstra Daun Kayu Manis (*Cinnamomum Burmannii*)

Konsentrasi ekstrak daun kayu manis (*C. Burmannii*) telah ditentukan yang dibagi menjadi beberapa konsentrasi. Pengukuran konsentrasi ekstrak daun kayu manis (*C. Burmannii*) menggunakan mikropipet sehingga mendapatkan konsentrasi yang diinginkan pada setiap tabung. Skala ukur yang digunakan untuk konsentrasi ekstrak daun kayu manis (*C. Burmannii*) adalah skala kategorikal.

4.6.3 Kontrol Positif

Kontrol positif adalah *disc* yang telah ditetesi *chlorhexidine gluconate* 0,2% menggunakan mikropipet. Skala ukur kontrol positif adalah skala rasio.

4.6.4 Kontrol negatif

Kontrol negatif adalah *disc* yang telah ditetesi *aquadest* steril menggunakan mikropipet. Skala ukur kontrol negatif adalah skala rasio.

4.6.5 Lama Inkubasi

Lama inkubasi adalah satuan waktu yang dibutuhkan untuk inkubasi media pertumbuhan *P. gingivalis* dalam inkubator dihitung mulai dari masuknya media, selama proses inkubasi, sampai dikeluarkannya media dihitung dengan satuan jam yaitu selama 24 jam menggunakan timer.

4.6.6 Suhu Inkubasi

Suhu inkubasi adalah satuan yang menyatakan derajat panas yang diperlukan untuk pertumbuhan optimum bakteri *P. gingivalis* yang diukur menggunakan thermometer dalam skala derajat celcius yaitu 35° C.

4.6.7 Suasana anaerob

Suasana anaerob adalah suatu kondisi dimana CO₂ terdapat di dalam lingkungan untuk pertumbuhan bakteri *P. gingivalis* didapatkan dengan menggunakan anaerob jar yang di dalamnya terdapat *GasPak Generator envelope* CO₂.

4.6.8 Media Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Media pertumbuhan *P. gingivalis* adalah media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri *P. gingivalis* yaitu media *blood agar* dan MHA pada petridish dengan diameter 17 cm serta ketebalan 4 mm.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu sebelum digunakan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15-30 menit. Alat yang tidak dapat digunakan disterilkan menggunakan *autoclave* disterilkan dengan etanol 96%.

4.7.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kayu Manis

Daun kayu manis (*C. burmannii*) dicuci bersih dan dikeringkan dalam lemari pengering selama 5 hari pada suhu 40°C. Daun yang sudah kering dihaluskan dengan cara diremas dan diblender. Daun yang sudah halus dimaserasi dengan pelarut etanol sebanyak 2 L dan dikocok

selama 5 menit. Setelah 4 hari proses maserasi dihentikan, dilanjutkan dengan melakukan penyaringan menggunakan kertas saring Whatman no. 42. Ekstrak yang disaring kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dan akan didapatkan ekstrak daun kayu manis yang kental.

4.7.3 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak

Konsentrasi ekstrak daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) yang digunakan adalah 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%. Pembuatan variasi konsentrasi ekstrak daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) dihitung menggunakan rumus berikut :

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

Keterangan :

N1 = Konsentrasi awal

V1 = Volume awal

N2 = Konsentrasi akhir

V2 = Volume akhir

4.7.4 Pembuatan Media

Pada penelitian ini menggunakan media *Blood Agar Plate* (BAP) yang dibuat dengan cara menimbang *blood agar base* (BAB) sebanyak 40 gram. Untuk 40 gram *blood agar base* membutuhkan 1 liter *aquadest*. Tetapi dikarenakan adanya penambahan *sheep blood* sebanyak 50 ml, *aquadest* yang ditambahkan sebanyak 950 ml, lalu aduk hingga merata. Sterilkan media dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Tuangkan *blood agar base* dan hangatkan pada suhu ruangan terlebih dahulu. Tambahkan 5-7% atau 50 ml *sheep blood* dan homogenkan. Kemudian dituang ke dalam petridish dengan diameter 10 cm yang telah disterilisasi terlebih dahulu.

Pembuatan Media Padat MHA (Mueller Hinton Agar) dilakukan dengan menimbang 3,8 gram MHA, kemudian campurkan 3,8 gram MHA tersebut dengan 100 ml *aquadest* steril menggunakan tabung Erlenmeyer. Selanjutnya disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu dituang ke dalam petridish dengan diameter 10 cm yang telah disterilisasi setebal 4 mm hingga memadat.

4.7.5 Persiapan Disc

Persiapkan 7 *paper disc* yang memiliki diameter 6 mm dan letakkan di atas *plate steril*. Ambil *paper disc* dengan menggunakan pinset, kemudian rendam ke dalam larutan ekstrak daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) masing-masing dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40% dan 50%. Kemudian 1 buah *paper disc* direndam ke dalam

larutan *Clorhexidine gluconate* 0,2% sebagai kontrol positif dan 1 buah *paper disc* direndam ke dalam *aquadest steril* sebagai kontrol negatif.

4.7.6 Pembuatan Suspensi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Prosedur pembuatan dilakukan pada *biosafety cabinet*. Pembuatan suspensi bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan absorbansi 0,132 pada panjang gelombang 625 nm yang diukur menggunakan spektrofometer. Siapkan tabung reaksi yang telah berisi 5 ml NaCl steril lalu inokulasikan 1-2 ose bakteri hasil peremajaan biakan murni *Porphyromonas gingivalis* kedalam tabung reaksi. Homogenkan dengan menggunakan *Vortex mixer*. Tingkat kekeruhannya diukur menggunakan spektrofometer dengan absorbansi 0,132 pada panjang gelombang 625 nm hingga didapatkan tingkat kekeruhan 0,5 McFarland. Jika terlalu keruh tambahkan NaCl dan jika kurang keruh tambahkan bakteri *Porphyromonas gingivalis* NaCl. Kemudian dihomogenkan kembali menggunakan *Vortex mixer* hingga didapatkan tingkat kekeruhan 0,5 McFarland.

4.7.7 Uji Antibakteri

Untuk uji antibakteri digunakan media *Blood Agar Plate* (BAP) dan MHA yang sudah disiapkan dan sudah dalam suasana anaerob. Media yang telah disiapkan kemudian dibuat menjadi 7 bagian menggunakan spidol dibagian bawah petridish untuk menandakan masing-masing ekstrak etanol daun kayu manis (*C. burmannii*) dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40% dan 50%, *clorhexidine gluconate* 0,2% dan *aquadest steril*.

Pertama-tama, buka tutup tabung yang berisi suspensi biakan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dan lewatkan tepi pintu masuk tabung pada api dari lampu spiritus. Celupkan kapas lidi steril (*cutton buds*) ke dalam tabung tersebut, lalu dioleskan perlahan dan secara merata ke seluruh bagian permukaan media *Blood Agar Plate* dan MHA. Pencelupan dan pengolesan ini dilakukan beberapa kali untuk memastikan seluruh permukaan terkena olesan dari suspensi bakteri tersebut secara merata.

Kemudian, tempelkan *paper disc* yang telah direndam dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40% dan 50%, *Clorhexidine gluconate* 0,2% dan *aquadest steril* menggunakan pinset steril sambil dilakukan penekanan ringan pada media yang telah ditandai dengan spidol. Lakukan pengulangan sebanyak lima kali pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40% dan 50%, *Clorhexidine gluconate* 0,2% dan *aquadest steril*. Setelah itu, *petridish* diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 35°C selama 24 jam.

Aktivitas antibakteri diamati setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam. Hasilnya dinyatakan positif jika terdapat zona bening yang terbentuk di sekeliling *paper disc*. Pengulangan dilakukan sebanyak lima kali pada bakteri.

4.7.8 Pengukuran Zona Hambat

Setelah dilakukan inkubasi 24 jam dilakukan pengukuran zona hambat atau zona inhibisi. Dilakukan pengukuran setiap zona bening di sekitar disc, pengukuran zona hambat dilakukan menggunakan jangka sorong. Kategori kekuatan daya antibakteri menurut Davis and Stout (1971) dibagi menjadi empat kategori yaitu sangat kuat apabila diameter zona hambat > 20 mm, kuat apabila diameter zona hambat 11 - 20 mm, sedang apabila diameter zona hambat 5 - 10 mm, lemah apabila diameter zona hambat 1-4 mm.

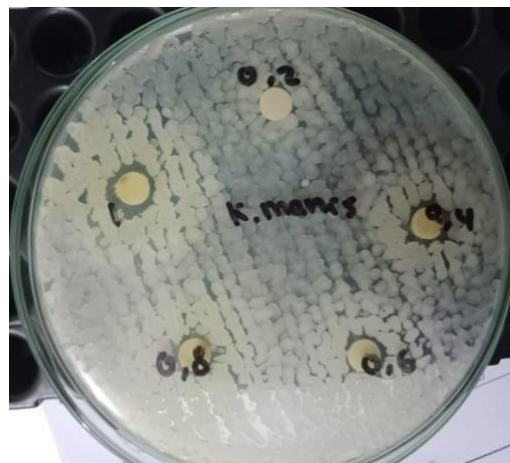
4.8 Analisis Data

Data hasil penelitian akan diproses dan diolah menggunakan Excel 2013 dan SPSS for Mac Version 23.0.

BAB V HASIL PENELITIAN

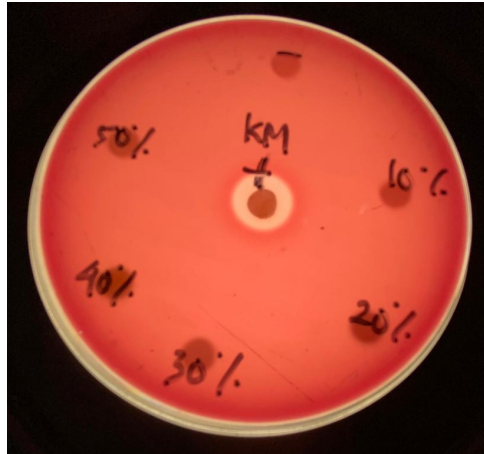
5.1 Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan media Mueller Hinton Agar (MHA) yang diberi paper disc dengan kandungan ekstrak daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) pada konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Gambar 5.1 menunjukkan hasil dari uji pendahuluan ini. Gambar menunjukkan terbentuknya zona hambat terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Zona bening terlihat di sekitar paper disc pada konsentrasi 10%, 15%, 20%, dan 25%.



Gambar 5.1 Hasil Uji Pendahuluan Pemberian Ekstra Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*) terhadap Bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada media Mueller Hinton Agar (MHA)

Penelitian selanjutnya dilakukan menggunakan lima konsentrasi ekstrak daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%, clorhexidine gluconate 0,2% sebagai kontrol positif dan aquadest sebagai kontrol negatif dengan pengulangan sebanyak lima kali. Hasil penelitian dilihat dengan mengukur zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya daerah bening di sekitar paper disc pada masing-masing kelompok konsentrasi uji yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50% dan kelompok kontrol positif serta kontrol negatif setelah 24 jam diberikan perlakuan.



Gambar 5.2 Hasil Penelitian Pemberian Ekstra Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*) terhadap Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Gambar 5.2 menunjukkan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Zona bening tidak terlihat di sekitar paper disc yang telah diberikan ekstrak daun kayu manis dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50% serta kontrol negatif. Hanya pada kontrol positif yang berada di bagian tengah petridish yang menunjukkan adanya zona bening di sekitar paper disc tersebut.

BAB VI PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Penelitian ini menggunakan metode disc diffusion pada masing-masing ekstrak daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) yang diuji menggunakan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40% dan 50%, lalu diujikan pada kelompok kontrol positif yaitu clorhexidine gluconate 0,2% dan kontrol negatif menggunakan aquadest steril.

Diameter zona hambat ekstrak etanol daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) yang terbentuk pada media MHA menunjukkan peningkatan yang tidak sesuai dengan peningkatan ekstrak yang digunakan pada uji. Diameter zona hambat terbesar terbentuk pada konsentrasi 25%, lalu turun pada konsentrasi 20% dan 15%, kemudian naik lagi pada 10%. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh waktu pengeringan *blank disc* yang tidak sama dan perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar. *Blank disc* yang dilakukan pengeringan dengan waktu yang cukup lama dapat membentuk zona hambat yang kecil. Sedangkan pada *blank disc* dengan waktu pengeringan sebentar dapat membentuk zona hambat yang besar. Hal ini dapat disebabkan oleh ekstrak yang masih menempel menyebar secara langsung pada sekeliling *disc* dan berdifusi dengan cepat ke dalam media agar (Djuramang, Retnowati, & Bialangi, 2017).

Data hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) tidak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada media *Blood Agar Plate* (BAP). Hal ini ditunjukkan dengan tidak terlihat adanya zona bening yang terbentuk pada setiap konsentrasi uji ekstrak yang digunakan yaitu 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%. Aktivitas antibakteri bisa dikatakan positif apabila terbentuk zona hambat berupa zona bening yang berada di sekeliling paper disc (Kaseng, Muhliah, & Irawan, 2016). Sedangkan pada kontrol positif yaitu *Clorhexidine gluconate* 0,2% menunjukkan terbentuknya zona hambat terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

Peningkatan diameter zona hambat yang tidak sesuai pada media MHA dan tidak terbentuknya zona hambat pada media BAP dapat dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak. Tumbuhan kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) memiliki kandungan sinamaldehyd, sinamat, asam sinamat dan beberapa jenis senyawa minyak atsiri seperti trans sinamaldehyd, sinamil asetat, eugenol, Lborneol, kariofilen oksida, β - kariofilen, Lbornil asetat, α -cubebene, α -terpineol, terpinolen, dan α -thujene sebagai komponen utamanya. Metabolit sekunder sendiri dipengaruhi oleh kualitas tumbuhan seperti

usia dan lokasi dari tumbuhan kayu manis (Felicia, Widarta, & Yusasrini, 2017). Tumbuhan kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) yang digunakan pada penelitian ini diambil dari Bontang, sehingga terdapat faktor yang tidak terkontrol seperti usia dan lokasi dari tumbuhan. Usia panen dari tumbuhan kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) adalah 6-9 tahun. Semakin tua umur dari daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) akan memiliki kandungan yang lebih bagus (Jailani, Sulaeman, & Sribudiani, 2015). Usia tumbuhan daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) yang digunakan pada penelitian ini kurang lebih 10 tahun, dengan daun berwarna hijau tua dan tidak ada kecacatan pada daun. Selain itu, lokasi dari tempat tumbuh juga memegang peranan sangat penting. Kandungan metabolit sekunder pada suatu tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor baik internal maupun eksternal. Faktor internal seperti gen dan faktor eksternal diantaranya seperti cahaya, suhu, kelembaban, pH, kandungan unsur hara didalam tanah dan ketinggian tempat. Suhu udara dipermukaan bumi adalah relatif, suhu merupakan besaran yang menyatakan derajat panas dan dingin suatu daerah. Setiap daerah yang ketinggian tempatnya berbeda akan menghasilkan suhu yang berbeda. Ketinggian tempat merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan suatu tanaman. Serangkaian proses metabolisme pada tanaman akan terganggu sehingga senyawa yang dihasilkan dari proses tersebut akan berbeda pada setiap ketinggian tempat (Katuuk, Wanget, & Tumewu, 2019). Kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) dapat tumbuh pada ketinggian 2000 meter diatas permukaan laut, akan tetapi produksi dapat optimal pada ketinggian 500-900 dpl (Idris & Mayura, 2019). Lokasi dari tumbuhan yang digunakan sebagai sampel sendiri diperkirakan berada pada ketinggian sekitar 1000-1500 meter diatas permukaan laut. Pada penelitian yang dilakukan oleh Angelica (2017), sampel daun kayu manis diambil dari dataran tinggi yaitu Batu, Malang. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Faktor-faktor tersebut dapat mempengaruhi jumlah zat antibakteri yang terdapat pada sampel. Jika jumlah zat antibakteri rendah maka konsentrasi zat aktif tersebut juga akan rendah. Hal ini dapat menyebabkan tidak terbentuknya zona hambat dikarenakan ketidak mampuan dalam merusak membrane sel dan mengganggu proses fisiologis sel (Suryati, Bahar, & Ilmiawati, 2017).

Faktor lain yang mempengaruhi peningkatan diameter zona hambat yang tidak sesuai pada media MHA dan tidak terbentuknya zona hambat pada media BAP juga dapat disebabkan oleh struktur dari bakteri. *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri anaerob gram-negatif yang berada di subgingiva biofilm (Enersen, 2013). Bakteri gram negatif memiliki cara untuk melindungi membran selnya dari penetrasi bahan antibakteri. Dinding sel bakteri gram negatif

mempunyai struktur yang lebih kompleks tetapi lebih tipis dibandingkan dinding sel bakteri gram positif. Perbedaannya yaitu pada bakteri gram negatif memiliki 2 membran, yaitu membran sitoplasma dan membran luar (outer membrane) dan adanya ruang periplasmic (Murwani, Santosaningsih, & Ramadhona, 2002). Struktur membran luar ini mengandung lipopolisakarida (LPS) yaitu suatu struktur kompleks yang terdiri dari lipid A, rantai pendek gula dan rantai panjang karbohidrat yang disebut sebagai antigen O. Antigen O dan polisakarida yang terdapat pada membran luar bakteri berperan dalam mencegah penetrasi senyawa hidrofobik ke dalam membran sel. Pada membran luar bakteri juga terdapat saluran porin yang memungkinkan penetrasi senyawa berukuran molekul kecil dan hidrofilik seperti gula, asam amino dan ion-ion tertentu. Adanya struktur membran luar yang kompleks inilah yang membatasi akses senyawa aktif antibakteri ke dalam membran sel. Hal ini menjadikan bakteri gram negatif lebih resisten terhadap bahan antibakteri (Yuhui, Praharani, & W., 2016). Namun pada penelitian yang dilakukan oleh Zhang (2017) menyatakan bahwa eugenol memiliki efek antibakteri yang kuat terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* dimana terjadinya kebocoran asam nukleat dan protein dari sel dengan jelas menunjukkan bahwa eugenol merusak membran sitoplasma *P. gingivalis*, membran sel permeabilisasi yang pada akhirnya dapat menyebabkan kematian sel (Zhang, et al., 2017). Sedangkan Sinamaldehida berperan dalam penghambatan pertumbuhan bakteri dengan cara mengubah sifat membran dengan menurunkan polaritas dan meningkatkan permeabilitas dalam waktu dan konsentrasi tertentu (Shen, et al., 2015). Sinamaldehida berperan dengan cara menghambat biosintesis enzim pada bakteri, mengikat protein membran bakteri dan menghambat sintesis peptidoglikan yang merupakan komponen penting penyusun dinding sel (Aqmarina, Priani, & Gadri, 2016)

Selain itu, kemungkinan tidak terbentuknya zona hambat bisa juga disebabkan karena *P. gingivalis* yang bersifat resisten terhadap bahan uji. Bakteri *P. gingivalis* merupakan bakteri anaerob obligat yang berpigmen hitam. Pada penelitian yang dilakukan pada hewan coba menunjukkan bahwa pigmen hitam ini dapat membantu *P. gingivalis* dalam mekanisme pertahanan sel dari efek toksik oksigen sehingga sangat virulen dalam infeksi. *P. gingivalis* diduga memiliki faktor virulensi yang kuat terhadap destruksi jaringan dan subversi pertahanan host. Dibuktikan oleh aktivitas protease yang sangat aktif dengan adanya arginine-x bonds dan lysine-x bonds (arg- dan lys-gingipain) yang khusus, yang dapat menurunkan mekanisme pertahanan host seperti imunoglobulin, induksi zat besi dan haeme-protein, glikoprotein, dan molekul yang dihasilkan host untuk mengatur respon radang. *P. gingivalis* juga menghasilkan suatu hemolisin, enzim untuk menurunkan jumlah kolagen, metabolit sititoksik dan kapsul.

Selain itu, *P.gingivalis* memiliki fimbria di atas permukaan sel yang menjadi perantara dengan sel epitel mulut dan ke saliva yang melapisi permukaan gigi. Studi terkini membuktikan bahwa *P. gingivalis* dapat memicu apoptosis setelah 24 jam paparan pada sel epitel manusia (M. & Mattulada, 2015).

Selain disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder dari daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii blume*) dan struktur bakteri yang digunakan, tidak terbentuknya zona hambat bisa juga disebabkan oleh faktor lain seperti konsentrasi ekstrak uji yang digunakan. Presscott (2005) menyatakan bahwa ukuran dari zona hambat dipengaruhi oleh perbedaan besar kecilnya konsentrasi ekstrak. Penelitian ini dilakukan dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% tetapi tidak menunjukkan adanya zona hambat. Kemudian konsentrasi ditingkatkan menjadi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%. Namun, pada konsentrasi tersebut tetap tidak menunjukkan adanya zona hambat. Hal ini dapat disebabkan karena pada konsentrasi tersebut belum mencapai konsentrasi hambat minimum. Berbeda dengan penelitian Qomar (2018) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun kayu manis pada konsentrasi 20% dapat membentuk zona hambat pada bakteri anaerob (Qomar, et al., 2018). Tidak terbentuknya zona hambat ini dapat disebabkan karena senyawa aktif tersebut tidak terdeteksi di dalam konsentrasi yang sudah ditentukan. Sehingga jika konsentrasi uji yang dipilih semakin tinggi maka dapat menghasilkan konsentrasi uji yang memiliki jumlah senyawa aktif yang lebih banyak (Clarissa, et al., 2020).

Pada penelitian ini, metode yang digunakan adalah *disc diffusion*. Metode uji antibakteri sendiri terbagi menjadi dua, yaitu difusi dan dilusi. Metode difusi terdiri dari disc diffusion, sumuran dan parit. Peneliti memilih metode disc diffusion dikarenakan metode ini memiliki beberapa kelebihan dan kekurangan. Kelebihannya adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Sedangkan kekurangannya yaitu zona hambat yang terbentuk sangat bergantung pada kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan ketebalan media (Pelczar, 1988; Bonang, 1992). Pada penelitian ini menggunakan suhu inkubasi 35°C dan inkubasi dilakukan selama 24 jam. Penelitian yang dilakukan Ohara-Nemoto (2014) menunjukkan bahwa bakteri *Porphyromonas gingivalis* tumbuh pada suhu 35°C. Namun berbeda dengan penelitian Pujiastuti (2015), ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) menunjukkan zona hambat pada bakteri *Porphyromonas gingivalis* di suhu inkubasi 37°C. Kemudian, ketebalan media pada penelitian ini tidak dilakukan pengukuran sehingga ketebalan media *Blood Agar Plate* (BAP) tidak dapat diketahui. Selain itu, ada juga metode sumuran. Metode sumuran dilakukan dengan membuat lubang yang dibuat tegak lurus pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Kemudian lubang diisi dengan sampel yang akan

diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Pelzcar, 1988). Metode ini memiliki beberapa kelebihan yaitu lebih mudah dalam mengukur zona hambat yang terbentuk karena bakteri beraktivitas di permukaan atas nutrisi agar sampai ke bawah. Metode ini juga memiliki beberapa kesulitan seperti terdapatnya sisa-sisa agar pada suatu media yang digunakan untuk membuat sumuran, selain itu juga besar kemungkinan media agar retak atau pecah disekitar lokasi sumuran sehingga dapat mengganggu proses peresapan zat antibakteri ke dalam media yang akan memengaruhi terbentuknya diameter zona bening (Nurhayati,2020).

Media pertumbuhan bakteri merupakan nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan secara *in vitro* (Harti, 2014). Media pertumbuhan harus memenuhi persyaratan nutrisi yang dibutuhkan agar bakteri dapat tumbuh (Atlas, 2004). Mueller Hinton Agar (MHA) merupakan media yang direkomendasikan untuk metode disc diffusion dalam pengujian kerentanan antibiotik. Media Mueller Hinton direkomendasikan oleh FDA, WHO dan NCCLS untuk pengujian bakteri aerob dan anaerob fakultatif (Atsbaha et al., 2017). Blood Agar Plate (BAP) merupakan media yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengisolasi mikroorganisme patogen (Djannatun *et al.*, 2008) Pada media BAP kebutuhan akan protein tercukupi dengan adanya sheep blood (Krihariyani, 2016). Perkembangan bakteri pada blood agar yang mengandung 5% sheep blood berperan meningkatkan pigmentasi dari koloni jenis *Porphyromonas spp.*. *Porphyromonas gingivalis* merupakan organisme asaccharolytic yang bergantung pada substrat nitrogenous untuk energi. Selain itu bakteri ini juga memanfaatkan peptida untuk tumbuh secara efisien, serta hemin yang berisi senyawa seperti albumin, transferrin dan laktoferin untuk mendukung pertumbuhannya (Widodo, Kusumawardani, & Fatmawati, 2014). Selain itu, *P. gingivalis* juga membutuhkan ketersediaan vitamin K di lingkungannya (Septiwidyati & Bachtiar, 2020).

Terdapat beberapa keterbatasan saat penelitian ini dilakukan seperti keterbatasan pada metode yang dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak. Selain itu, terdapat keterbatasan untuk melakukan penelitian di UPTD. Laboratorium Kesehatan Pemerintah Provinsi Kalimantan Timur saat pandemi COVID-19 sehingga beberapa pengamatan penelitian diserahkan kepada laboran.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pengolahan data yang sudah dilakukan peneliti, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* pada media MHA.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek antibakteri ekstrak etanol Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* dengan konsentrasi uji diatas 50%.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui target kerja ekstrak etanol Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*) pada bakteri *Porphyromonas gingivalis* dalam menghambat penyakit periodontitis.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Dhubiab, B. E., 2012. *Pharmaceutical applications and phytochemical profile of Cinnamomum burmannii*. Saudi Arabia: PHCOG REV.
- Angelica, N., 2013. AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN DAN KULIT BATANG KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii* (Nees & Th. Nees)) TERHADAP *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*.
- Aqmarina, M. B., Priani, S. E., & Gadri, A. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex Bl.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Penyebab Jerawat. *Prosiding Farmasi*, 2.
- Atlas, Ronald M. (2004). *Handbook of Microbiological Media fourth Edition Volume 1*. United States Of America: CRC Press.
- Atsbaha, A. H., Tedla, D. G., & Shfare, M. T. (2017). Phenotypic Tests of Bacterial Antimicrobial Susceptibility Testing: A Systematic Review. *SM Journal of Clinical Medicine*.
- Bonang G. 1992 *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan Edisi 16*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Budiarti, M., Jokopriambodo, W. & Isnawati, A., 2018. Characterization of Essential Oil from Fresh Twigs and Leaves *Simplicia* as an Alternative Substitution of *Cinnamomum burmannii* Blume's Bark. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*.
- Carranza, F. A., Newman, M. G., Takei, H. H. & Klokkevold, P. R., 2018. *Clinical Periodontology*. 13th Edition ed. Los Angeles, California: Elsevier.
- Choma, Irena M., Grzelak, Edyta M., 2010. Bioautography detection in thin-layer chromatography. Poland: Elsevier.
- Clarissa, C., Amir, M., & Asfirizal, V. (2020). Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tahongai (*Kleinhovia hospita* linn) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* In-vitro. *J. Ked. Mulawarman*, 7.
- Coykendall, Shah & Collins, 1980. *Itis report*. (Online) https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=964978#null
- Dharmawati, I. G. A., Mahadewa, T. G. B. & Widyadharma, I. P. E., 2019. Antibacterial Activity of *Lumbricus Rubellus* Earthworm Extract Against *Porphyromonas Gingivalis* as the Bacterial Cause of Periodontitis. *Macedonian Journal of Medical Sciences*.


- Djannatun, T., Rochani, J., Wikaningrum, R., Widiyanti, D., & Pane, A. (2008). The use of expired human blood as substitution of the sheep blood in preparation of Blood Agar Media (BAM). *Jurnal Kedokteran Yarsi*.
- Djuramang, R., Retnowati, Y., & Bialangi, N. (2017). The Effect of Noni Fruit Extracts (Morinda Citrifolia) on Staphylococcus aureus Growth. *Jurnal Pendidikan Glasser*, 62-68.
- Emilda, 2018. Efek Senyawa Bioaktif Kayu Manis Cinnamomum burmanii NEES EX.BL.) Terhadap Diabetes Melitus. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, Volume 5.
- Eneresen, M. (2013). Porphyromonas gingivalis fimbriae. *Journal of Oral Microbiology*.
- Felicia , N., Widarta, I., & Yusasrini, N. (2017). Pengaruh Ketuaan Daun dan Metode Pengolahan terhadap Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Sensoris Teh Herbal Bubuk Daun Alpukat (Persea americana Mill.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 85-94.
- Frencken, J. E. et al., 2017. *Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis – a comprehensive review*. Birmingham, UK: Journal of Clinical Periodontology.
- Gill, A. O., & Holley, R. (2004). Mechanisms of Bactericidal Action of Cinnamaldehyde against Listeria monocytogenes and of Eugenol against L. monocytogenes and Lactobacillus sakei. *Applied and Environmental Microbiology*, 70.
- Harti, A.S. 2014. Mikrobiologi Kesehatan. Yogyakarta: CV. Andi offset
- Idris, H., & Mayura, E. (2019). *Informasi Teknologi Tanaman Rempah dan Obat*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
- Inna, M., Atmania, N. & Priskasari, S., 2010. Potential Use of Cinnamomum burmanii Essential Oil-based Chewing Gum as Oral Antibiofilm Agent. *Journal of Dentistry Indonesia*, Volume 17, pp. 80-86.
- Isnawati, A. P. & Retnaningsih, A., 2018. Perbandingan Teknik Ekstraksi Maserasi dengan Infusa pada Pengujian Aktivitas Daya Hambat Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) terhadap Escherichia coli. *Jurnal Farmasi Malahayati*, Volume 1.
- Jailani, A., Sulaeman, R. & Sribudiani, E., 2015. Atrisi Oil of Cinnamon's Leaves Characteristic. *Jom Faperta UR*, Volume 2.
- Kaseng, E., Muhliah, N., & Irawan, S. (2016). Uji Daya Hambat Terhadap Pertumbuhan Bakteri Uji Staphylococcus aureus dan Escherichia coli Ekstrak Etanol Daun Mangrove Rhizophora mucronata dan Efek Antidiabetiknya pada Mencit yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Bionature*.

- Katuuk, R., Wanget, S., & Tumewu, P. (2019). Pengaruh Perbedaan Ketinggian Tempat Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Pada Gulma Babadotan (*Ageratum conyzoides* L). *COCOS*.
- Khasanah, L., Kawiji, P. P. & W. Atmaka, R. U., 2017. Optimization and Characterization of Cinnamon Leaves (*Cinnamomum burmannii*) Oleoresin. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* .
- Krihariyani., D., Woelansari., E. D., & Kurniawan, E. (2016). Pola Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Pada Media Agar Darah Manusia Golongan O, AB, dan Darah Domba Sebagai Kontrol. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kesehatan*, 3(2), 191–200.
- M., Y., & Mattulada, I. (2015). Efek antibakteri ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl) terhadap *Porphyromonas gingivalis* sebagai alternatif bahan medikamen saluran akar. *Makassar Dent J*.
- Mukhriani, 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, Volume VII.
- Murwani, S., Santosaningsih, D., & Ramadhona, A. (2002). Protein Pattern of Outer Membrane Protein *Salmonella Typhi* That Isolated Using N-Octyl Glucoseide and Sarcosyl. *Maj. Kedok. Unibraw*.
- Mysak, J. et al., 2014. *Porphyromonas gingivalis*: Major Periodontopathic Pathogen Overview. *Journal of Immunology Research*.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal teknologi Hasil Peternakan*, 1(2):41-46
- Ohara-Nemoto, Y., Rouf, S., Naito, M., Yanase, A., Tetsuo, F., & Ono, T. (2014). Identification and Characterization of Prokaryotic Dipeptidyl-peptidase 5 from *Porphyromonas gingivalis*. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*.
- Paliling, A., Posangi, J., & Anindita, P. (2016). Uji daya hambat ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *Jurnal e-GiGi (eG)*.
- Pelczar, M.J., E.S.Chan. (1988) *Dasar-dasar Mikrobiologi Edisi ke-2*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- PLANTS, U., 2011. *Integrated Taxonomic Information System on-line database*,. (Online) Available at: <http://www.itis.gov>.
- Pujiastuti, P., & Lestari, S. (2015). Perbedaan Efektifitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) pada *Porphyromonas gingivalis* dan *Streptococcus viridans*. *JKG Unej*, 12(1), 1–4.

- Qomar, M. S., Budiyo, M. A., Sukarsono, Wahyuni, S., & Husamah. (2018). Efektivitas berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* [Ness.] Bl) terhadap Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Biota*.
- Ranasinghe, P. et al., 2013. Medicinal properties of 'true' cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review. *BMC Complementary and Alternative Medicine*.
- Sartika, R., Melki & Purwiyanto, A. I., 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut Suppakul, P., 2016. *Cinnamaldehyde and Eugenol: Use in Antimicrobial Packaging*. Bangkok, Thailand: Elsevier.
- Septiwidyati, T. R., & Bachtiar, E. W. (2020). The Role of *Porphyromonas gingivalis* Virulence Factors in Periodontitis Immunopathogenesis. *dentika Dental Journal*.
- Shen, S., Zhang, T., Yuan, Y., Lin, S., Xu, J., & Ye, H. (2015). Effects of cinnamaldehyde on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* membrane.
- Suryati, N., Bahar, E., & Ilmiawati. (2017). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Aloe vera Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 518-521.
- Utcharykiat, I. et al., 2016. Efficacy of cinnamon bark oil and cinnamaldehyde on antimultidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* and the synergistic effects in combination with other antimicrobial agents. *BMC Complementary and Alternative Medicine*.
- Widodo, S. A., Kusumawardani, B., & Fatmawati, D. W. (2014). Identification of Anaerobic Bacteria Cell Shape Based on Colony Color in Gingival Crevicular Fluid of Chronic Gingivitis and Chronic Periodontitis. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa.
- Yuhyi, A. N., Praharani, D., & W., M. (2016). The Inhibition Effect of Manalagi Apple (*Malus sylvestris* Mill.) Extract to The Growth of *Porphyromonas gingivalis*. *PROSIDING THE 3th DENTISTRY SCIENTIFIC MEETING OF JEMBER*.
- Zhang, Y., Wang, Y., Zhu, X., Cao, P., Wei, S., & Lu, Y. (2017). Antibacterial and antibiofilm activities of eugenol from essential oil of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry (clove) leaf against periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*.

LAMPIRAN 1

Surat Identifikasi Tanaman

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN**
UNIVERSITAS MULAWARMAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LABORATORIUM ANATOMI DAN SISTEMATIKA TUMBUHAN
ALAMAT: Jl. Barong Tongkok Kampus Gn. Kelua Samarinda 75123 Telepon./Fax : (0541) 747974 E-mail: fmipa@unmul.ac.id

SURAT KETERANGAN HASIL IDENTIFIKASI TUMBUHAN
Nomor:087/UN.17.8.5.7.16/HA/XII/2020

Bersama ini menerangkan bahwa bahan yang dibawa oleh:

Nama : Rina Nabila
Nim : 1710025027
Institusi : Jurusan Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran UNMUL
Tanggal Kirim Bahan/Sampel : 3November 2020
Bentuk Bahan/Sampel : Daun Basah
Kode Sampel : U.3

Adalah memiliki klasifikasi sebagai berikut:

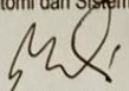
Kingdom: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi: Spermatophyta (Tumbuhan berbiji)
Divisi: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas: Magnoliidae
Ordo: Laurales
Famili: Lauraceae
Genus: *Cinnamomum*
Spesies: *Cinnamomum burmanii* (Ness & Th. Ness)

Nama Indonesia : kayu manis, keningar

Demikian surat ini dibuat, agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Samarinda, 17 November 2020

Kepala Laboratorium
Anatomi dan Sistematiika Tumbuhan


Dr. Medi Hendra, M.Si
NIP. 19710516 199903 1 003

LAMPIRAN 2

Surat Komisi Etik Penelitian Kesehatan



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MULAWARMAN
Jl. Krayan Kampus Gunung Kelua Samarinda-KALTIM 75119
Telp: 0541 – 748581 / 748449 ; email : ppd@unmul.ac.id



**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS MULAWARMAN
Samarinda**

SURAT PERSETUJUAN KELAYAKAN ETIK
NO. 22/KEPK-FK/III/2021

DIBERIKAN PADA PENELITIAN :

Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* Dengan Metode Disc Diffusion.

Peneliti Utama : Rina Nabila / NIM.1710025027
Prodi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Mulawarman

Samarinda, 15 Maret 2021

Mengetahui,

Ketua



Dr. dr. Nataniel Tandirogang, M.Si

Anggota :

Dr. dr. Nurul Hasanah, M.Kes, Dr. dr. Eva Rachmi, M.Kes, M.Pd.,Ked,
Dr. dr. Danial, M.Kes, Dr. drg. Sinaryani, M.Kes
Dr. Hadi Kuncoro, M.Farm. Apt, Prof. Dr. Drh. Gina Saptiani, M.Si

LAMPIRAN 3

Surat Keterangan Isolat Bakteri

Microbiologics
Laboratory Report

bioMérieux Customer: 65671
System #: C21105
Printed Mar 2, 2016 15:55 CST
Report Version: 1 of 1
Printed by: tab
Report Version: 1 of 1
Isolate Group: 912 60-1
Card Type: ANC Testing Instrument: 00000A606208 (1116)
Bench: TB

Bionumber: 44400100110
Organism Quantity:

Card: ANC	Lot Number: 244379420	Expires: May 4, 2017 12:00 CDT
Completed: Mar 1, 2016 16:30 CST	Status: Final	Analysis Time: 6.00 hours

Selected Organism
95% Probability
Bionumber: 44400100110
Porphyromonas gingivalis
Confidence: Very good identification

SRF
Organism

Analysis Organisms and Tests to Separate:

Analysis Messages:

Contraindicating Typical Biopattern(s)
Porphyromonas gingivalis BHAG999.

4	IGAL	-	5	LeuA	-	6	ELLM	+	7	PheA	-	8	ProA	-	9	PyrA	+
11	ACEL	-	13	TypA	-	15	APPA	+	18	BGLU	-	20	OMNE	-	22	AMAL	-
28	SAC	-	30	ARB	-	33	NAG	-	34	BGLU	-	36	URE	-	37	BGLRI	-
39	BGALI	(+)	41	AARA	-	42	AGAL	-	43	EMAN	-	44	APG	-	45	PHATE	-
51	MITE	-	53	ESC	-	54	BofUC	-	55	BNAG	-	56	AMANE	-	57	AFUC	-
59	PHOS	+	60	ARA	-	61	IRB2	-	62	OPS	+	63	AARAF	-	64	ERYL	-
	GRAM	-		MORPH	-		AERO	-									

Installed VITEK 2 Systems Version: 07.01
MIC Interpretation Guideline:
AES Parameter Set Name:

Therapeutic Interpretation Guideline:
AES Parameter Last Modified:
Page 1 of 1

Microbiologics
Certificate of Analysis (Lysophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release)

Expiration Date: 2017/12/31
Release Information:
Quality Control Technologist: Tracy A. Elmer
Release Date: 2016/3/9

Specifications
Microorganism Name: Porphyromonas gingivalis
Catalog Number: 9612
Lot Number: 912-60
Reference Number: ATCC® 33277™
Purity: < 0.1% Total Pellet CFU
Recovery: > 1000 CFUs per Pellet
Passage from Reference: 4

Performance
Medium: AR SBAP
Method: Gram Stain (1)

Macroscopic Features:
Small, circular, transparent colonies that become brown with age.

Microscopic Features:
Gram negative rod, pleomorphic bacillary to coccoid forms.

ID System: Vitek ANC (1)
See attached ID System results document.

Brad Coskiewicz, President
AUTHORIZED SIGNATURE

Disclaimer: The lot alpha-1 of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.
Note for Vitek2: Although the Vitek2 panel uses many standardized tests, the unique environment of the card, combined with the strict incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.
Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and troubleshooting information.
Individual products are responsible to a recognized culture collection.
The ATCC Licensed Derivative System, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC labeling marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. A license to use these trademarks and to test products derived from ATCC cultures.
These only are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

ATCC Licensed
Certificate

ACCREDITED
TESTING CERT #2655.01

© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303 Page 1 of 1 DOC

LAMPIRAN 4

Surat Ijin Penelitian di UPTD. Laboratorium Kesehatan Samarinda



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS MULAWARMAN
FAKULTAS KEDOKTERAN**

Alamat : Jl. Kerayan, Kampus Gn. Kelua Telp. (0541) 748581, 748449 Fax. 748449 Samarinda 75119

E-mail : fakultaskedokteranunmul@gmail.com

Nomor : 2693/UN17.10/AK/2020 Samarinda, 17 Desember 2020
Lampiran : -
Perihal : **Permohonan Izin Penelitian Mahasiswa**

Kepada Yth : **Kepala UPTD. Laboratorium Kesehatan Provinsi Kaltim**

di -
Tempat

Dengan hormat,

Sehubungan dengan akan dilaksanakannya kegiatan penelitian mahasiswa, maka kami mohon ijin untuk dapat melakukan penelitian pada Instansi yang Bapak pimpin. Adapun data mahasiswa yang bersangkutan adalah sebagai berikut :

Nama : Rina Nabila
Nim : 1710025027
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kayu Manis (Cinnamomum burmannii blume) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Porphyromonas gingivalis dengan Metode Disc Diffusion
Pembimbing I : drg. Cicih Bhakti Purnamasari, M.Med.Ed
Pembimbing II : Alhawaris, S.Si.,M.Kes

Demikian surat ini kami sampaikan, atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Dekan,

Dr. dr. Fikriah, M.Kes
NIP. 19691018 200212 2 001

- Arsip

LAMPIRAN 5

Pembuatan Ekstrak Daun Kayu Manis

Sampel tanaman Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*) yang digunakan pada penelitian ini didapatkan dari Bontang sebanyak 4 kg. Metode ekstraksi yang digunakan dalam proses ekstraksi penelitian ini adalah maserasi, dengan tahapan sebagai berikut :

1. Lakukan sortasi tanaman Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*) kemudian cuci tanaman Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*) dengan air mengalir hingga bersih lalu daun ditiriskan.
2. Masukkan tanaman Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*) ke dalam lemari pengering dengan suhu 40°C selama 7 hari hingga kering. Kemudian Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*) dihaluskan dengan cara diremas atau diblender hingga berbentuk potongan kecil atau serbuk.
3. Sebanyak 100 g tanaman Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*) dimasukkan ke dalam toples kemudian diekstraksi dengan 2 L etanol 96% lalu dikocok selama 5 menit kemudian direndam selama 4 hari. Setelah 4 hari proses maserasi dihentikan.
4. Hasil rendaman setelah 4 hari kemudian diambil filtratnya dengan cara disaring menggunakan kertas saring Whatman no. 42 dengan bantuan corong *Buchner*. Masukkan filtrat jernih yang telah disaring dalam botol dan pekatkan dengan alat *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C.
5. Setelah itu didapatkan filtrat pekat hasil evaporasi dan dimasukkan dalam toples kaca steril, dikeringkan dalam oven selama 5 hari hingga kering. Setelah itu, didapatkan ekstrak kental Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*), timbang, catat dan beri label di bagian toples kaca tersebut lalu masukkan dalam lemari pendingin sampai waktu akan digunakan.

LAMPIRAN 6

Pembuatan Media MHA

Pembuatan Media Padat MHA (Mueller Hinton Agar) dilakukan dengan cara :

1. Timbang 3,8 gram MHA, kemudian campurkan 3,8 gram MHA tersebut dengan 100 ml aquadest steril menggunakan tabung Erlenmeyer.
2. Sterilkan media dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
3. Setelah itu dituang ke dalam petridish dengan diameter 10 cm yang telah disterilisasi hingga memadat.

Pembuatan Media *Blood Agar Plate* (BAP)

Cara membuat media *Blood Agar Plate* (BAP) adalah sebagai berikut:

1. Timbang *blood agar base* (BAB) sebanyak 40 gram. Untuk 40 gram *blood agar base* membutuhkan 1 liter aquadest. Tetapi dikarenakan adanya penambahan *sheep blood* sebanyak 50 ml, aquadest yang ditambahkan sebanyak 950 ml, lalu aduk hingga merata.
2. Sterilkan media dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
3. Tuangkan *blood agar base* dan hangatkan pada suhu ruangan terlebih dahulu.
4. Tambahkan 5-7% atau 50 ml *sheep blood* dan homogenkan.
5. Kemudian dituang ke dalam petridish dengan diameter 10 cm yang telah disterilisasi terlebih dahulu.

LAMPIRAN 7

Pembuatan Suspensi Bakteri

Cara membuat suspensi bakteri adalah sebagai berikut:

1. Siapkan tabung reaksi yang telah berisi 5 ml NaCl steril.
2. Inokulasikan 1-2 ose bakteri hasil peremajaan biakan murni *Porphyromonas gingivalis* kedalam tabung reaksi.
3. Homogenkan dengan menggunakan Vortex mixer.
4. Diukur tingkat kekeruhannya menggunakan spektrofometer dengan absorbansi 0,132 pada panjang gelombang 625 nm hingga didapatkan tingkat kekeruhan 0,5 McFarland.
5. Jika terlalu keruh tambahkan NaCl dan dihomogenkan kembali menggunakan Vortex mixer hingga didapatkan tingkat kekeruhan 0,5 McFarland.
6. Jika kurang keruh tambahkan bakteri *Porphyromonas gingivalis* NaCl dan dihomogenkan kembali menggunakan Vortex hingga didapatkan tingkat kekeruhan 0,5 McFarland.

LAMPIRAN 8

Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji

Konsentrasi larutan uji dari ekstrak Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii blume*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%, dihitung menggunakan rumus persamaan:

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

Keterangan :

N1= Konsentrasi awal

V1 = Volume awal

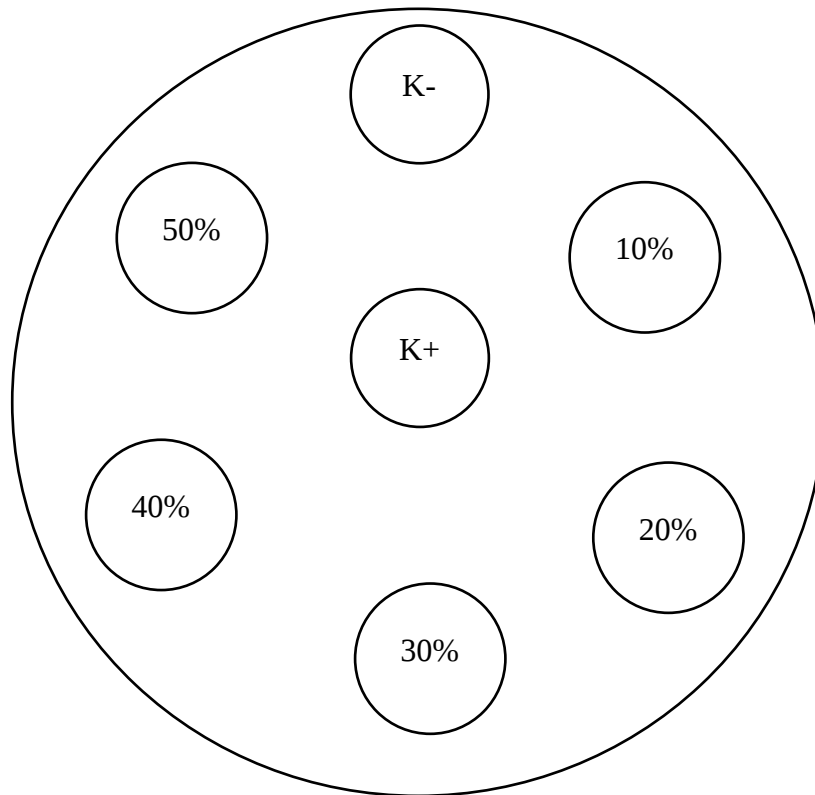
N2 = Konsentrasi akhir

V2 = Volume akhir

1. Konsentrasi ekstrak 10% dibuat dengan memasukkan 0,2 gram ekstrak dan dicampurkan dengan 4 ml pelarut ekstrak.
2. Konsentrasi ekstrak 20% dibuat dengan memasukkan 0,4 gram ekstrak dan dicampurkan 4 ml pelarut ekstrak.
3. Konsentrasi ekstrak 30% dibuat dengan memasukkan 0,6 gram ekstrak dan dicampurkan 4 ml pelarut ekstrak.
4. Konsentrasi ekstrak 40% dibuat dengan memasukkan 0,8 gram ekstrak dan dicampurkan 4 ml pelarut ekstrak.
5. Konsentrasi ekstrak 50% dibuat dengan memasukkan 1 gram ekstrak dan dicampurkan 4 ml pelarut ekstrak.

LAMPIRAN 9

Uji *Disc Diffusion*



Gambar *Plate* dan *Disc*

Adapun Langkah-langkah yang dilakukan adalah sebagai berikut :

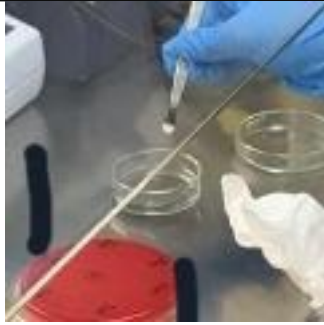
1. Menyiapkan 5 *petridish* dimana dalam 1 *petridish* terdapat 5 perlakuan yakni terdiri dari konsentrasi ekstrak 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, kontrol positif dan kontrol negatif. Beri tanda perlakuan tersebut dengan menggunakan spidol.
2. Selanjutnya melakukan inokulasi pada media *Blood Agar Plate* (BAP) dengan kapas lidi steril (*cotton buds*) dan ratakan dengan menggunakan *cotton buds* steril.
3. Siapkan 7 buah *paper disc* (berdiameter 6 mm) taruh di atas plate steril. Rendam *paper disc* ke dalam larutan ekstrak (10%, 20%, 30%, 40%, 50%), larutan kontrol positif yang berisi *Clorhexidine gluconate* 0,2% dan larutan kontrol negative yang menggunakan Aquades steril menggunakan pinset. Keringkan dengan cara dianginkan beberapa saat kemudian letakkan masing-masing *paper disc* pada *petridish* yang telah ditandai.

4. Lakukan Kembali step 1-3 sebanyak 5 kali pengulangan.
5. Inkubasi selama 24 jam dengan suhu 35°C di dalam inkubator.
6. Setelah inkubasi selama 24 jam, dilakukan pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong. Pengukuran dilakukan dengan cara mengukur sisi horizontal dari zona bening yang terbentuk di sekitar *paper disc*.

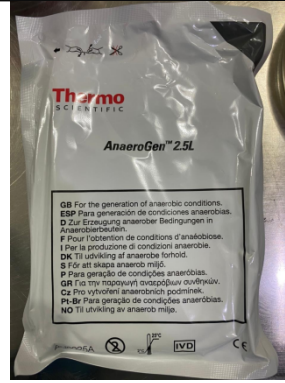
LAMPIRAN 10

Bahan :

 <p>daun kayu manis (<i>Cinnamomum burmannii</i> <i>blume</i>)</p>	 <p>etanol 96%</p>
 <p>kertas label</p>	 <p>blank disc</p>
 <p>sediaan bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i></p>	 <p>chlorhexidine gluconate 0,2%</p>



aquadest sterile



GasPak Generator envelope CO_2



NaCl



blood agar



sheep blood



APD

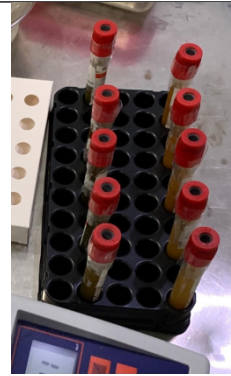


kertas saring Whatman no. 42

Alat :



Peniris



Tabung reaksi dan rak tabung reaksi



Lemari pengering



Micropipet



Blender



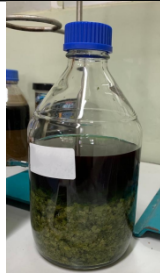
Jangka sorong/penggaris



Corong *buchner*



Spidol



Laboratory bottle



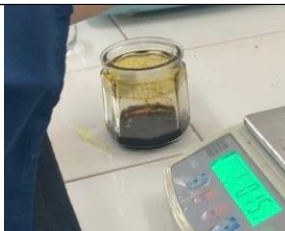
Incubator (tempat diletakkannya anaerob jar)



Rotary vacuum evaporator



Vortex



Toples kaca



Petridish



Timbangan analitik



Anaerob jar



Pinset



Spektofotometer



Bunsen



Biosafety cabinet

Prosedur :



Daun kayu manis yang telah dilakukan pencucian dan sedang ditiriskan



Daun kayu manis dikeringkan di lemari pengering



Daun kayu manis yang telah dihaluskan



Penyaringan hasil ekstraksi maserasi



Hasil filtrat



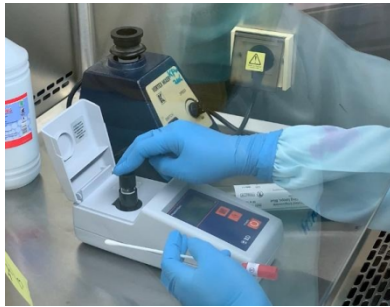
Proses evaporasi dengan *rotary vacuum evaporator*



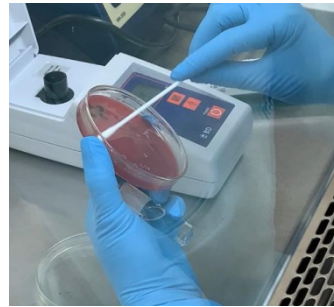
Pembuatan suspensi bakteri *P. gingivalis*



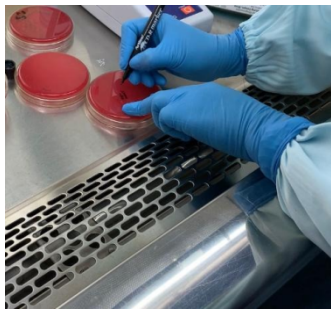
Pengadukan menggunakan vortex mixer



Mengukur kekeruhan suspensi bakteri



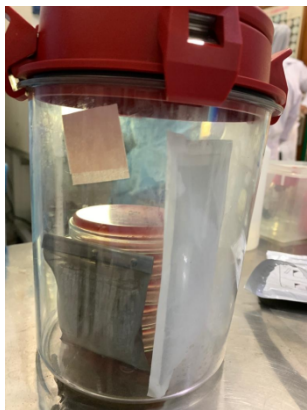
Proses inokulasi bakteri



Pemberian tanda pada *petridish*



Proses diletakkannya *disc*



Petridish diletakkan di *anaerobic jar*



Anaerobic jar diletakkan di *incubator*

LAMPIRAN 11

Kerangka Alur Penelitian

