

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Enterococcus faecalis***

Zaki Mubarak, Santi Chismirina, Cut Aisa Qamari

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala

ABSTRAK

Enterococcus faecalis adalah salah satu flora normal rongga mulut yang sering ditemukan pada kasus kegagalan perawatan endodontik. Kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) merupakan tanaman herbal yang sering digunakan sebagai rempah-rempah, namun juga memiliki sifat antibakteri karena kandungan kimia yang dimilikinya berupa alkaloid, saponin, tanin, polifenol, flavonoid, kuinon dan triterpenoid. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap pertumbuhan *E. faecalis*. *Enterococcus faecalis* yang telah dikultur pada media *CHROMagar VRE Base* diinkubasi pada suhu 37°C dalam suasana anaerob. *E. faecalis* yang telah dikultur dan diidentifikasi, dipaparkan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) untuk uji aktivitas antibakteri dengan metode *Standart Plate Count* menggunakan media MHA. Dari hasil analisis data menggunakan uji statistik *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai $p=0,003$ ($p<0,05$). Hasil uji menunjukkan bahwa pertumbuhan koloni pada setiap konsentrasi kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol negatif mengalami penurunan, pertumbuhan koloni *E. faecalis* pada konsentrasi 1,5% adalah $299,3 \times 10^4$ CFU/ml dan pada konsentrasi 7,5% adalah 6×10^4 CFU/ml. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis* dengan Kadar Hambat Minimum (KHM) berada pada konsentrasi ekstrak 1,5%.

Kata kunci: *Enterococcus faecalis*, perawatan endodontik, *Cinnamomum burmannii*

ABSTRACT

Enterococcus faecalis is one of the normal flora in oral cavity that often found in cases of endodontic treatment failure. Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) is a herb that is often used as a spice, but also has antibacterial properties due to its chemical constituents such as alkaloid, saponin, tannin, polyphenol, flavonoid, quinon and triterpenoid. The purpose of this study was to determine the antibacterial activity of cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) extract on *E. faecalis* growth. *Enterococcus faecalis* that has been cultured on *CHROMagar VRE Base* media were incubated at 37°C in an anaerobic atmosphere. *Enterococcus faecalis* that has been cultured and identified, described by cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) extract for antibacterial activity testing using Standard Plate Count method in MHA media. The results of *Kruskal-Wallis* analysis showed the value of $p=0.003$ ($p<0.05$). The results showed that *E. faecalis* growth in every concentrations of treatment group compared to negative control group was decreased, *E. faecalis* growth at 1.5% extract was 299.3×10^4 CFU/ml and at 7.5% extract was 6×10^4 CFU/ml. Based on this study it can concluded that cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) extract has antibacterial activity against *E. faecalis* growth with Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was at 1.5% extract.

Key words: *Enterococcus faecalis*, endodontic treatment, *Cinnamomum burmannii*

PENDAHULUAN

Endodontologi adalah ilmu yang berkaitan dengan bentuk, fungsi dan penyakit dari pulpa gigi dan jaringan periradikular yang disebabkan oleh suatu infeksi.^{1,2} Perawatan endodontik merupakan suatu prosedur untuk menjaga kesehatan sebagian atau seluruh jaringan pulpa gigi yang terinfeksi.¹ Tujuan utama dari perawatan endodontik yaitu untuk membersihkan mikroorganisme dari sistem saluran akar dan mencegah terjadinya infeksi ulang.^{3,4,5,6} Kunci dari keberhasilan perawatan endodontik dipengaruhi oleh *triad endodontic* yaitu preparasi akses (*endo access*), preparasi saluran akar (*cleaning and shaping*), serta pengisian saluran akar (*obturation*).⁷

Penyebab dari infeksi saluran akar adalah invasi mikroorganisme ke dalam pulpa melalui tubulus dentin yang terbuka dan kegagalan perawatan endodontik.^{2,8} Mikroorganisme yang paling sering ditemukan pada kasus endodontik yaitu *Enterococcus faecalis*.^{9,10} *Enterococcus faecalis* merupakan flora normal rongga mulut berupa bakteri anaerob fakultatif Gram-positif yang mempunyai kemampuan untuk bertahan hidup hingga pH 11.1–11.5 (basa) dengan keterbatasan nutrisi dalam saluran akar.^{11,12,13,14}

Bahan terapi yang sering digunakan sebagai antibakteri pada perawatan saluran akar adalah kalsium hidroksida dan klorheksidin.¹⁵ Kalsium hidroksida memiliki kelemahan dimana *E. faecalis* resisten terhadap efek antibakteri dari kalsium hidroksida. Ketika bahan ini diletakkan ke dalam saluran akar, terjadi penurunan tingkat pH diakibatkan oleh efek buffer pada dentin radikular sehingga pH awal kalsium hidroksida yang bernilai 12.3 (basa) akan turun menjadi 10.3 (basa), sedangkan *E. faecalis* masih bisa bertahan hingga pH 11.1–11.5.^{12,13} Klorheksidin digunakan untuk mengurangi jumlah bakteri dalam saluran akar, namun bahan ini memiliki efek toksik.¹⁶

Hal ini mendorong untuk ditemukannya bahan baku obat alternatif baru yang berasal dari bahan alam. Salah satu bahan alam yang dapat digunakan sebagai antibakteri adalah kayu manis (*Cinnamomum burmannii*). Dari hasil penelitian *Cinnamomum burmannii* diketahui dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, antijamur, antiinflamasi, analgetika, antidiabetik, antioksidan, antitumor, antitrombotik, menghambat pembentukan plak

gigi dan penyakit periodontal, serta aktivitas lainnya.¹⁷ Senyawa kimia yang diduga berperan sebagai antibakteri pada *C. burmannii* yaitu minyak atsiri sekitar 0,5–2% (seperti *eugenol*, safrol, *cinnamaldehyde* dan *linalool*), polisakarida sekitar 10% (seperti diterpen serta *coumarin*), komponen fenol 4–10% (seperti tanin) dan flavonoid.^{17,18,19,20}

Penelitian yang dilakukan oleh Shandkk (2007) tentang sifat antibakteri dan komponen bioaktif utama *C. burmannii* terhadap bakteri patogen dalam makanan menunjukkan bahwa *C. burmannii* memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella anatum*.²¹ Penelitian yang dilakukan oleh Rajsekhar dkk (2012) tentang peninjauan terhadap rempah-rempah sebagai agen mikrobial menunjukkan bahwa KHM ekstrak kayu manis terhadap pertumbuhan *S. mutans* berada pada konsentrasi 3,12%.²² Penelitian yang dilakukan oleh Magetsari (2013) tentang efektivitas pelapisan minyak kayu manis di K-wire sebagai agen antimikroba terhadap *Staphylococcus epidermidis* menunjukkan bahwa *C. burmannii* memiliki sifat antimikrobial terhadap *S. epidermidis*.²³

BAHAN DAN METODE

Beberapa alat dan bahan yang akan digunakan seperti cawan petri, gelas ukur, labu erlenmeyer, tabung reaksi, batang L, pipet ukur dan kulit batang kayu manis harus dicuci bersih terlebih dahulu sebelum digunakan dalam penelitian. Selanjutnya, alat tersebut dikeringkan dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Setelah itu, disimpan dalam sterilisator agar alat tersebut tetap steril.^{24,25}

Kulit batang kayu manis (*C. burmannii*) dirajang dalam keadaan masih basah dan lunak untuk mempercepat proses pengeringan dan penggilingan. Selanjutnya, rajangan dijemur di bawah paparan sinar matahari dan ditutup dengan kain hitam.

Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan mengambil serbuk simplisia ditimbang sebanyak 0,5 gr kemudian ditambahkan 1 ml HCl 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh diambil 3 tetes, dimasukkan ke tabung reaksi dan dicampurkan dengan 2 tetes pereaksi *Burchad*

(hasil positif jika terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam), *Dragendorf* (hasil positif jika terbentuk endapan berwarna merah atau jingga), *Mayer* (hasil positif jika terbentuk gumpalan berwarna putih atau kuning) dan *Wagner* (hasil positif jika terbentuk endapan berwarna coklat).^{20,26}

Saponin diuji dengan menimbang serbuk simplisia sebanyak 0,5 gr dan dimasukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml air panas, didinginkan, kemudian dikocok kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1–10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 0,1 menunjukkan adanya saponin.

Tanin diuji dengan menambahkan gelatin 10%, jika terbentuk endapan putih maka sampel positif mengandung tanin. Sementara itu, penambahan larutan FeCl₃ 1% menunjukkan warna hijau kehitaman membuktikan adanya kandungan polifenol pada ekstrak kayu manis.²⁷

Keberadaan flavonoid dibuktikan dengan menambahkan Mg dan 1 ml HCl, warna coklat yang terbentuk menunjukkan sampel mengandung flavonoid.²⁸ Kuinon ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah akibat penambahan NaOH 1% dan terbentuknya warna merah setelah penambahan pereaksi *Carr Price* menunjukkan sampel mengandung triterpenoid, sedangkan warna hijau yang terbentuk setelah penambahan pereaksi *Carr Price* menunjukkan sampel mengandung steroid.²⁷

Hasil ekstrak murni dari *C. burmanii* dilakukan pengenceran dengan akuades agar didapatkan konsentrasi yang diperlukan. Rumus pengenceran yang digunakan adalah²⁹

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

Keterangan:

C₁: Konsentrasi Awal C₂: Konsentrasi Akhir
V₁: Volume Awal V₂: Volume Akhir

Enterococcus faecalis dikultur pada media *CHROMagar VRE Base* dengan teknik goresan T (*streak T*). Cawan petri dibagi menjadi 3 bagian dengan menggunakan spidol. Jarum ose dipanaskan kemudian ditunggu hingga dingin, lalu 1 ose dari biakan murni diinokulasikan pada bagian 1 dengan goresan zig-zag. Selanjutnya, dilakukan goresan zig-zag pada bagian 2, tegak lurus dengan

bagian 1. Setelah itu, digoreskan zig-zag pada bagian 3, tegak lurus dengan bagian 2. Cawan petri yang telah diinokulasikan bakteri, ditutup rapat, kemudian diinkubasi selama 24–72 jam pada suhu 37°C.²⁵

Selanjutnya uji konfirmasi *E. faecalis* dilakukan dengan pewarnaan Gram. Preparat ulas yang telah difiksasi *E. faecalis* ditetaskan kristal violet pada seluruh bagian preparat dan ditunggu ± 1 menit, lalu preparat dicuci dengan akuades mengalir. Teteskan Mordant (*lugol's iodine*), ditunggu ± 1 menit, lalu preparat dicuci dengan akuades mengalir. Setelah itu, preparat ditetaskan etanol 96% setetes demi setetes hingga etanol yang jatuh berwarna jernih, kemudian preparat dicuci dengan akuades mengalir. Selanjutnya, ditetaskan *counterstain* (safranin), ditunggu ± 45 detik, kemudian preparat dicuci dengan akuades mengalir. Selanjutnya, preparat dikeringkan menggunakan *tissue* pada sisi ulasan, lalu preparat dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, kemudian diamati di bawah mikroskop cahaya untuk mengonfirmasi bakteri. Bakteri Gram-positif akan tampak berwarna ungu.²⁵

Enterococcus faecalis yang telah dibiakkan di media *CHROMagar VRE Base*, diambil 1 ose lalu disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 5 ml larutan NaCl 0,9%, kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex*. Kekeruhan suspensi bakteri disetarakan dengan larutan *Mc. Farland* (3 x 10⁸ CFU/ml).

Pertama sekali, disiapkan 8 tabung reaksi, masing-masing tabung diisi dengan 9 ml NaCl, diambil 1 ml suspensi *E. faecalis* lalu dicampurkan dengan tabung pengenceran 1 (10⁻¹), lalu dihomogenkan. Diambil 1 ml dari tabung 1 dengan pipet *ependorf* kemudian dipindahkan ke tabung pengenceran 2 (10⁻²), lalu dihomogenkan. Diambil 1 ml dari tabung pengenceran 2 dengan pipet *ependorf* kemudian dipindahkan ke tabung pengenceran 3 (10⁻³), lalu dihomogenkan. Begitu seterusnya hingga tabung pengenceran terakhir dari seri pengenceran.²⁵

Setelah itu, diambil 0,1 ml suspensi *E. faecalis* menggunakan pipet *ependorf* pada tabung pengenceran 2 (10⁻²) sampai tabung pengenceran 7 (10⁻⁷), ditetaskan ke cawan petri untuk ditanam pada media MHA dengan metode *spread plate*, lalu diratakan menggunakan batang L, kemudian diinkubasi selama 24–72 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan setelah 24–72 jam

dengan cara menghitung koloni *E. faecalis* yang tumbuh pada media menggunakan *colony counter*. Tabung pengenceran yang dipilih adalah tabung yang berjumlah 30–300 koloni bakteri.⁴

Pengujian Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) pada penelitian ini terdiri dari 7 kelompok, yaitu 5 kelompok perlakuan, 1 kelompok kontrol negatif dan 1 kelompok kontrol positif.

Setiap tabung diisi 3,5 ml dengan aturan sebagai berikut: pada tabung 1 (kontrol positif/K+) diisi larutan *Chlorhexidine* 2%, tabung 2 (kontrol negatif/K-) diisi dengan akuades steril, tabung 3 (perlakuan 1/P1) diisi dengan ekstrak *C. burmannii* dengan konsentrasi 1,5%, tabung 4 (P2) 3%, tabung 5 (P3) 4,5%, tabung 6 (P4) 6% dan tabung 7 (P5) 7,5%. Selanjutnya, setiap tabung ditambahkan 0,5 ml suspensi *E. faecalis* dan dihomogenkan menggunakan *vortex*.

Selanjutnya, dari setiap tabung diambil 0,1 ml suspensi menggunakan pipet *ependorf*, ditanam dengan metode *spread plate* pada media MHA dan diratakan menggunakan batang L, lalu diinkubasi selama 24–72 jam dengan suhu 37°C. Setelah 24–72 jam, dihitung jumlah koloni yang tumbuh menggunakan *colony counter*. Kadar Hambat Minimum dari ekstrak *C. burmannii* adalah konsentrasi terkecil dari ekstrak *C. burmannii* yang tumbuh koloni *E. faecalis* lebih sedikit daripada koloni yang terbentuk pada kontrol negatif pada media MHA dan Kadar Bunuh Minimum dari ekstrak *C. burmannii* adalah konsentrasi terkecil dari ekstrak *C. burmannii* yang tidak terdapat pertumbuhan *E. faecalis* pada media MHA.²⁵

HASIL PENELITIAN

Ekstraksi Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) dengan Pelarut Etanol

Pada penelitian ini, proses ekstraksi kayu manis dilakukan dengan metode

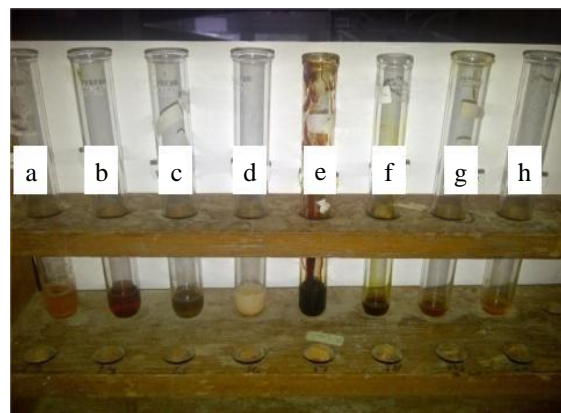


Gambar 1. Ekstrak Etanol Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

maserasi. Sebanyak 800 gr bubuk kayu manis dilarutkan dalam 2,5 L etanol 96% selama 3 hari, sehingga didapatkan ekstrak kental berwarna coklat kehitaman sebanyak 111,3 gr (Gambar 1).

Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

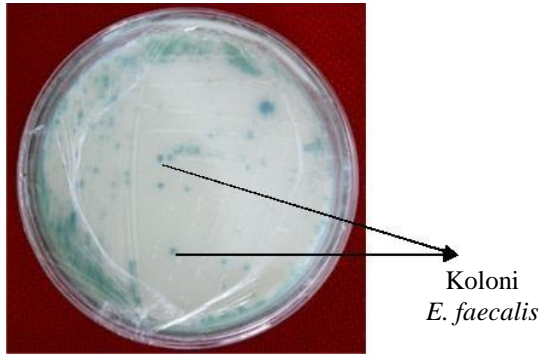
Setelah dilakukan uji fitokimia, diperoleh hasil bahwa ekstrak kayu manis mengandung senyawa kimia berupa alkaloid, saponin, tanin, polifenol, flavonoid, kuinon dan triterpenoid. Hal tersebut dibuktikan dengan terbentuknya endapan putih setelah penambahan 2 tetes pereaksi *Mayer*, terbentuk endapan jingga akibat penambahan 2 tetes pereaksi *Dragendrof* dan terbentuk endapan coklat setelah penambahan 2 tetes pereaksi *Burchad* untuk uji alkaloid. Terbentuknya gelembung setelah penambahan satu tetes HCl 0,1 menunjukkan sampel mengandung saponin. Terbentuknya endapan putih setelah penambahan gelatin 10% membuktikan bahwa sampel mengandung tanin. Warna hijau kehitaman yang terbentuk setelah penambahan larutan FeCl₃ 1% menunjukkan adanya kandungan polifenol pada ekstrak kayu manis. Sementara itu, warna coklat yang terbentuk setelah Mg dan 1 ml HCl ditambahkan, menunjukkan sampel mengandung flavonoid. Kuinon terdeteksi keberadaannya di dalam ekstrak kayu manis karena terbentuknya warna merah akibat penambahan NaOH 1%. Terbentuknya warna merah setelah penambahan pereaksi *Carr Price* menunjukkan sampel mengandung triterpenoid (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kayu Manis; (a) Saponin, (b) Kuinon, (c) Polifenol, (d) Tanin, (e) Flavonoid, (f) Alkaloid (*Dragendrof*), (g) Alkaloid (*Burchad*), (h) Alkaloid (*Mayer*)

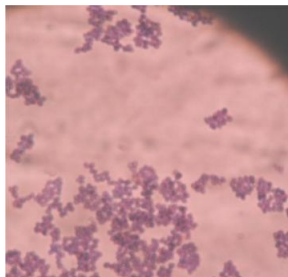
Hasil Kultur dan Uji Konfirmasi *Enterococcus faecalis*

Hasil kultur *E. faecalis* pada media *CHROMAgar VRE Base* yang telah diinkubasi secara anaerob selama 48 jam pada suhu 37°C menunjukkan warna koloni biru kehijauan (Gambar 3).



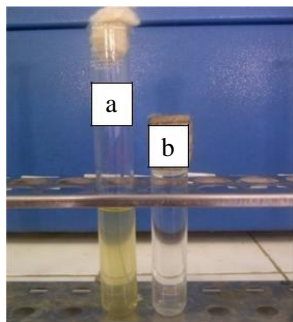
Gambar 3. Hasil Kultur *Enterococcus faecalis* pada Media *CHROMAgar VRE Base*

Selanjutnya, hasil pewarnaan Gram pada penelitian ini menunjukkan bahwa koloni *E. faecalis* yang terbentuk berwarna ungu (Gambar 4).



Gambar 4. Hasil Pewarnaan Gram *Enterococcus faecalis*

Hasil Pembuatan Suspensi dan Pengenceran Bertingkat *Enterococcus faecalis*



Gambar 5. Hasil Penyetaraan Kekeruhan Suspensi dengan Larutan *Mc. Farland*;

(a) Suspensi Bakteri, (b) Larutan *Mc. Farland*

Suspensi *E. faecalis* dibuat dengan cara menyetarakan kekeruhan suspensi dengan larutan *Mc. Farland* (3×10^8 CFU/ml) (Gambar 5).

Setelah itu, dilakukan pengenceran bertingkat dari suspensi *E. faecalis* tersebut dan diperoleh hasil seperti yang tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Jumlah Koloni *E. faecalis* Hasil Pengenceran Bertingkat

Tingkat Pengenceran	Jumlah Pertumbuhan Koloni (koloni/cawan)
10^{-2}	1040
10^{-3}	630
10^{-4}	70
10^{-5}	7
10^{-6}	1
10^{-7}	1
10^{-8}	1

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pengenceran 10^{-4} merupakan tingkat pengenceran yang memenuhi syarat dari metode *Standart Plate Count* (SPC) karena memiliki pertumbuhan bakteri sebanyak 70 koloni/cawan.

Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*

Pada penelitian ini, pengujian pengaruh ekstrak kayu manis terhadap pertumbuhan koloni *E. faecalis* dilakukan pada media MHA dan setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Hasil dari pengujian ini, pertumbuhan koloni bakteri *E. faecalis* setelah dibagi dengan tingkat pengencerannya (10^{-4}) maka diperoleh jumlah rata-rata pertumbuhan koloni terbanyak pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi 1,5% yaitu $299,3 \times 10^4$ CFU/ml dan pertumbuhan koloni yang paling sedikit berada pada konsentrasi 7,5% yaitu 6×10^4 CFU/ml, sedangkan pada kelompok kontrol positif (CHX 2%) tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri dan pada kelompok kontrol negatif (akuades) terdapat pertumbuhan bakteri sebanyak 5470×10^4 CFU/ml. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Pada penelitian ini, jumlah kelompok perlakuan adalah tujuh kelompok, namun Tabel 2. Jumlah Koloni *E. faecalis* setelah Diuji dengan Ekstrak Kayu Manis

Konsentrasi Bahan Uji	Jumlah Koloni (CFU/ml)			Rata-Rata Jumlah Koloni <i>E. faecalis</i> (CFU/ml)
	P1	P2	P3	
Akuades	5776 x 10 ⁴	5218 x 10 ⁴	5416 x 10 ⁴	5470 x 10 ⁴
CHX 2%	0	0	0	0
1,5%	302 x 10 ⁴	294 x 10 ⁴	302 x 10 ⁴	299,3 x 10 ⁴
3%	216 x 10 ⁴	204 x 10 ⁴	214 x 10 ⁴	211,3 x 10 ⁴
4,5%	46 x 10 ⁴	34 x 10 ⁴	44 x 10 ⁴	41,3 x 10 ⁴
6%	22 x 10 ⁴	34 x 10 ⁴	26 x 10 ⁴	27,3 x 10 ⁴
7,5%	6 x 10 ⁴	8 x 10 ⁴	4 x 10 ⁴	6 x 10 ⁴

Tabel 2. Hasil Uji *Mann-Whitney* Pengaruh Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap Pertumbuhan *E. faecalis*

Kelompok Perlakuan	1,5%	3%	4,5%	6%	7,5%	Akuades	CHX 2%
1,5%	-	0,046*	0,046*	0,046*	0,046*	0,046*	0,034*
3%	0,046*	-	0,050	0,050	0,050	0,050	0,037*
4,5%	0,046*	0,050	-	0,077	0,050	0,050	0,037*
6%	0,046*	0,050	0,077	-	0,050	0,050	0,037*
7,5%	0,046*	0,050	0,050	0,050	-	0,050	0,037*
Akuades	0,046*	0,050	0,050	0,050	0,050	-	0,037*
CHX 2%	0,034*	0,037*	0,037*	0,037*	0,037*	0,037*	-

Keterangan : * = p<0,05 ; terdapat perbedaan bermakna

distribusi data tidak normal dan *varians* data tidak homogen, dengan nilai $p=0,002$ ($p<0,05$), sehingga tidak memenuhi syarat untuk dilakukan uji *one way* ANOVA. Oleh karena itu, digunakan uji non-parametrik yaitu uji *Kruskal-Wallis* sebagai uji alternatif dari *one way* ANOVA dengan *post hoc* yaitu uji *Mann-Whitney*.

Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai $p<0,05$ yaitu $p=0,003$, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan terhadap pertumbuhan koloni *E. faecalis*. Oleh karena itu, hipotesis dari penelitian ini yaitu ekstrak kayu manis memiliki aktivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *E. faecalis* dapat diterima. Sementara itu, hipotesis untuk Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari penelitian ini ditolak.

Sementara itu, hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa jumlah koloni *E. faecalis* memiliki perbedaan bermakna yaitu pada

konsentrasi 1,5% dan kelompok kontrol positif terhadap semua konsentrasi dan kelompok kontrol, konsentrasi 3%, 4,5%, 6%, 7,5% dan kelompok kontrol negatif terhadap konsentrasi 1,5% dan kelompok kontrol positif (Tabel 3).

PEMBAHASAN

Penelitian ini dimulai dengan pembuatan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) menggunakan metode maserasi. Teknik maserasi dilakukan dengan cara melarutkan simplisia dalam suatu pelarut, kemudian pelarut diuapkan menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi karena metode ini cukup sederhana, selain itu pengerjaannya pada suhu kamar menyebabkan zat aktif yang terkandung dalam ekstrak tidak rusak akibat pemanasan tinggi.²⁰ Pelarut yang dipilih untuk proses ekstraksi pada penelitian ini adalah etanol 96% karena etanol bersifat *inert* sehingga tidak bereaksi dengan komponen lainnya. Etanol juga mudah

dipisahkan dengan minyak dalam proses destilasi karena memiliki titik didih yang rendah (78,37°C).³⁰

Ekstrak kental hasil ekstraksi diuji kandungan kimianya terlebih dahulu sebelum dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *E. faecalis* untuk memastikan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) tersebut. Metode pengujian kandungan kimia kayu manis yang digunakan pada penelitian ini adalah uji fitokimia. Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak kayu manis mengandung senyawa kimia berupa alkaloid, saponin, tanin, polifenol, flavonoid, kuinon dan triterpenoid.

Hasil kultur bakteri setelah diinkubasi dalam keadaan anaerob selama 48 jam pada suhu 37°C menunjukkan bahwa bakteri yang tumbuh pada media selektif *CHROMAgar VRE Base* adalah *E. faecalis*. Hal ini terlihat dari warna yang terbentuk yaitu biru kehijauan yang disebabkan karena *CHROMAgar VRE Base* memiliki komponen *chromogenic mix* yang mengandung *x-glucoside* sebagai *chromogen*. *Chromogen x-glucoside* ini digunakan untuk mengidentifikasi *E. faecalis* dengan cara memecah *chromogen x-glucoside* yang ada pada media oleh enzim β -glukosidase yang dimiliki *E. faecalis*, sehingga menghasilkan warna biru kehijauan.³¹

Tahap selanjutnya adalah pengonfirmasian *E. faecalis* dengan pewarnaan Gram. Hasil pewarnaan Gram *E. faecalis* yang telah dikultur pada media *CHROMAgar VRE Base* menunjukkan warna ungu dengan bentuk kokus berantai pendek. Warna ungu yang terbentuk menunjukkan bahwa *E. faecalis* merupakan bakteri Gram-positif, hal ini disebabkan karena bakteri Gram-positif memiliki struktur dinding sel yang tebal, mengandung sedikit lapisan lipid dan selapis membran sel, sedangkan Gram-negatif memiliki struktur dinding sel yang tipis yang berada di antara dua lapis membran sel dan mengandung banyak lapisan lipid. Pemberian kristal violet menyebabkan seluruh permukaan bakteri terwarnai, baik bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif. Penambahan *lugol's iodine* akan menghasilkan ikatan kristal violet dengan *iodine* yang akan meningkatkan kemampuan pengikatan zat warna oleh bakteri. Penetesan etanol 96% menyebabkan terbentuknya pori-pori karena

lapisan lipid larut dalam etanol sehingga kompleks kristal violet-*iodine* akan lepas dari permukaan sel. Pada bakteri Gram-positif hanya terbentuk pori-pori kecil sehingga kompleks kristal violet-*iodine* yang berwarna ungu dapat dipertahankan, sedangkan bakteri Gram-negatif, memiliki banyak lapisan lipid yang terlarut sehingga membentuk pori-pori yang besar dan sel bakteri menjadi tidak berwarna. Pemberian safranin yang berwarna merah tidak akan berpengaruh pada bakteri Gram-positif dan akan menjadi zat pewarna utama bagi bakteri Gram-negatif.³⁰

Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kayu manis terhadap *E. faecalis*. Metode yang digunakan untuk menentukan aktivitas antibakteri ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap pertumbuhan *E. faecalis* pada penelitian ini adalah metode dilusi. Metode *serial dilution* adalah proses pengenceran bertingkat yang bertujuan untuk memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba dalam suatu cairan.³⁰ Setelah pengenceran bertingkat selesai dan diperoleh tingkat pengenceran yang sesuai dengan syarat metode *Standart Plate Count (SPC)*, dimana cawan yang dipilih adalah cawan yang memiliki pertumbuhan bakteri berkisar 30–300 koloni/cawan, suspensi pada tingkat pengenceran tersebut dicampurkan dengan ekstrak yang telah disiapkan sesuai dengan konsentrasi pengenceran yang diharapkan untuk dilihat aktivitas antibakteri dari ekstrak.³⁰

Pada penelitian ini, hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap pertumbuhan *E. faecalis* menunjukkan bahwa ekstrak kayu manis mampu menghambat pertumbuhan *E. faecalis* pada setiap konsentrasi. Hal ini dibuktikan dengan menurunnya jumlah koloni *E. faecalis* yang tumbuh di setiap konsentrasi perlakuan jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Hasil perhitungan rata-rata jumlah koloni *E. faecalis* yang tumbuh secara berurutan pada konsentrasi 1,5%, 3%, 4,5%, 6%, 7,5%, kontrol negatif dan kontrol positif yaitu 299,3 x 10⁴ CFU/ml, 211,3 x 10⁴ CFU/ml, 41,3 x 10⁴ CFU/ml, 27,3 x 10⁴ CFU/ml, 6 x 10⁴ CFU/ml, 5470 x 10⁴ CFU/ml dan 0 CFU/ml.

Hasil uji statistik *Mann-Whitney* pada penelitian ini menunjukkan bahwa jumlah koloni *E. faecalis* memiliki perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan dengan kontrol positif yaitu konsentrasi 1,5% – CHX

2% ($p=0,034$), konsentrasi 3% – CHX 2% ($p=0,037$), konsentrasi 4,5% – CHX 2% ($p=0,037$), konsentrasi 6% – CHX 2% ($p=0,037$) dan konsentrasi 7,5% – CHX 2% ($p=0,037$). Dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan dari semua konsentrasi memiliki perbedaan bermakna terhadap CHX 2%.

Hasil uji statistik *Kruskal-Wallis* pada penelitian ini memperoleh nilai $p=0,003$ ($p<0,05$), menunjukkan ekstrak kayu manis memiliki perbedaan bermakna terhadap pertumbuhan *E. faecalis*. Hal ini sesuai dengan salah satu hipotesis penelitian ini bahwa ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *E. faecalis*, akan tetapi hipotesis untuk Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari penelitian ini ditolak karena pada penelitian ini KHM ditemukan pada konsentrasi 1,5% dan tidak ditemukan adanya KBM. Hal ini diduga karena interval perbedaan konsentrasi terlalu kecil.

Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan adanya hasil positif pada uji fitokimia terhadap senyawa alkaloid, saponin, tanin, polifenol, flavonoid, kuinon dan triterpenoid. Penelitian yang dilakukan oleh Shan dkk (2007) menunjukkan bahwa *C. burmannii* memiliki efek antibakteri terhadap pertumbuhan *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Salmonella anatum* yang merupakan bakteri Gram-positif dan Gram-negatif.²¹ Penelitian yang dilakukan oleh Magetsari (2013) menunjukkan bahwa *C. burmannii* memiliki sifat antimikrobal terhadap *S. epidermidis*.²³ Hasil penelitian ini dan beberapa penelitian sebelumnya juga telah membuktikan bahwa kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) memiliki aktivitas antibakteri karena memiliki senyawa aktif berupa alkaloid, saponin, tanin, polifenol, flavonoid, kuinon dan triterpenoid. Sifat basa alkaloid akan mempengaruhi tekanan osmotik antara bakteri dengan lingkungan hidupnya.³² Saponin memiliki kemampuan dalam membentuk busa dan menghemolisis darah.³³ Tanin berperan sebagai antibakteri dengan cara bereaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik bakteri.³⁴ Polifenol merupakan senyawa golongan dari fenol yang berperan merusak membran sitoplasma bakteri,

sehingga menyebabkan ketidakstabilan fungsi pengendalian susunan protein dari sel bakteri.^{35,36} Flavonoid berfungsi sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri. Kuinon mampu membentuk kompleks dengan asam amino sehingga protein bakteri kehilangan fungsi. Triterpenoid akan berikatan dengan lemak dan karbohidrat menyebabkan permeabilitas membran sel bakteri terganggu.³⁷ Akuades digunakan sebagai kontrol negatif tidak memiliki zat antibakteri sehingga tidak mempunyai daya hambat yang menyebabkan *E. faecalis* dapat tumbuh bebas dengan jumlah koloni yang tumbuh lebih banyak dibandingkan dengan jumlah koloni pada kelompok perlakuan. CHX 2% digunakan sebagai kontrol positif karena diketahui memiliki aktivitas antibakteri spektrum luas terhadap pertumbuhan bakteri aerob dan anaerob, baik Gram-positif maupun Gram-negatif serta *Candida albicans*.³⁰

Dari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa *C. burmannii* memiliki aktivitas antibakteri berupa kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *E. faecalis*.

KESIMPULAN

Ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) memiliki aktivitas antibakteri berupa kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *E. faecalis* dengan jumlah koloni terbanyak ditemukan pada konsentrasi 1,5% yaitu $299,3 \times 10^4$ CFU/ml dan jumlah koloni paling sedikit ditemukan pada konsentrasi 7,5% yaitu 6×10^4 CFU/ml. Kadar Hambat Minimum (KHM) dari penelitian ini untuk pertumbuhan *E. faecalis* berada pada konsentrasi 1,5% dan tidak ditemukan adanya Kadar Bunuh Minimum (KBM).

DAFTAR PUSTAKA

1. European Society of Endodontology. Quality guidelines for endodontic treatment: consensus report of the European Society of Endodontology. *Intl Endo J* 2006; **39**:921-930.
2. Walton RE, Torabinejad M. *Prinsip & Praktik Ilmu Endodonsia*, edisi 3. Jakarta: EGC. 2008: hal 1, 258.
3. Pizzo G, Giammanco GM, Cumbo E, Nicolosi G, Gallina G. In vitro antibacterial activity of endodontic

- sealers. *Journal of Dentistry* 2006; **34**: 35-40.
4. Estrela C, Sydney GB, Figueiredo JAP, Estrela CRDA. Antibacterial efficacy of intracanal medicaments on bacterial biofilm: a critical review. *J Appl Oral Sci* 2009; **17**(1):1-7.
 5. Dumani A, Yoldas O, Yilmaz S, Akcimen B, Seydaoglu G, Kipalev A, et.al. In vitro susceptibility of *E. faecalis* and *C. albicans* isolates from apical periodontitis to common antimicrobial agents, antibiotics and antifungal medicaments. *J Clin Exp Dent* 2012; **4**(1):1-7.
 6. Gomes BPF, Souza SFC, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Valdrighi L, Souza-Filho FJ. Effectiveness of 2% chlorhexidine gel and calcium hydroxide against *E. faecalis* in bovine root dentine *in vitro*. *Int Endo J* 2003; **36**:267-275.
 7. Daulay HH. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Propolis Alami dari Sarang Lebah terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*. Banda Aceh: Universitas Syiah Kuala. *Skripsi* 2013; hal 4.
 8. Suchitra U, Kundabala. M. *Enterococcus faecalis*: an endodontic pathogen. *Ind End Soc* 2006; **18**(2):11-13.
 9. Patidar RK, Gupta MK, Singh V. Phenotypic detection of virulence traits and antibiotic susceptibility of endodontic *Enterococcus faecalis* isolated. *American Journal of Microbiological Research* 2013; **1**(1):4-9.
 10. Halkai R, Hegde MN, Halkai K. *Enterococcus faecalis* can survive extreme challenges – overview. *Nitte University Journal of Health Science* 2012; **2**(3):49-53.
 11. Kim SH, Chang SW, Baek SH, Han SH, Lee Y, et al. Antimicrobial effect of alexidine and chlorhexidine against *E. faecalis* Infection. *International Journal of Oral Science* 2013; **5**: 26-31.
 12. Chai WL, Hamimah H, Cheng SC, Sallam AA, Abdullah M. Susceptibility of *E. faecalis* biofilm to antibiotics and calcium hydroxide. *Journal of Oral Science* 2007; **49**(2):161-166.
 13. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *E. faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J* 2002; **35**(3):221-228.
 14. Kayaoglu G, Ørstavik D. Virulence factors of *E. faecalis*: relationship to endodontic disease. *Crit Rev Oral Bio Med* 2004; **15**(5):308-320.
 15. Mulyawati E. Peran bahan disinfeksi pada perawatan saluran akar. *Maj Ked Gi* 2011; **18**(2): 205-209.
 16. Oktaviani W. Perbedaan Efektivitas Daya Antibakteri antara Klorheksidin Diglukonat 2% dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleriamacrocarpa* [Scheff.] Boerl) (tinjauan terhadap *E. faecalis*). Yogyakarta: Universitas Muhammadiyah. 2012.
 17. Dhubiab BEA. Pharmaceutical applications and phytochemical profile of *Cinnamomum burmannii*. *Pubmed* 2012; **6**(12):125-131.
 18. 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.
 19. Rachma LN. Daya anti fungal dekok kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap *C. albicans* secara *in vitro*. *El-Hayah* 2012; **3**(1):29-34.
 20. Apriani R. Uji Penghambatan Aktivitas α -Glukosidase dan Identifikasi Golongan Senyawa dari Fraksi yang Aktif pada Ekstrak Kulit Batang *Cinnamomum burmannii* (Nees & T.Ness) blume. Depok: Universitas Indonesia. *Skripsi* 2012.
 21. Shan B, Cai YZ, Brooks JD, Corke H. Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007; **55**(14):5484-5490.
 22. Rajsekhar S, Kuldeep B, Chandaker A, Upmanyu N. Spices as antimicrobial agents: a review. *International Research Journal of Pharmacy* 2012; **3**(2).
 23. Magetsari R. Effectiveness of cinnamon oil coating on K-wire as an antimicrobial agent against *Staphylococcus epidermidis*. *Malaysian Orthopaedic Journal* 2013; **7**(4).
 24. Tim Mikrobiologi FKH UNSYIAH. *Buku Ajar Mikrobiologi*. Banda Aceh: Universitas Syiah Kuala. 2012: hal 58.
 25. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar*. Purwokerto: Laboratorium Mikrobiologi Universitas Jendral Sudirman, 2008.

26. Tarigan JB, Zuhra CF, Sihotang H. Skrinning fitokimia tumbuhan yang digunakan oleh pedagang jamu gendong untuk merawat kulit wajah di kecamatan Medan Baru. *Jurnal Biologi Sumatera* 2008; **3(1)**:1-6.
27. Mustikasari K, Ariyani D. Skrinning fitokimia ekstrak methanol biji kalangkala (*Litsea angulata*). *Sains dan Terapan Kimia* 2010; **4(2)**:131-136.
28. Tim Asisten Kimia Organik. *Penuntun Praktikum Kimia Bahan Alam Laut*. Laboratorium Pendidikan Kimia FKIP Unsyiah. 2013: 3-9.
29. Kudom AA, Mensah BA, Botchey MA. Aqueous neem extract versus neem powder on *Culex quinque fasciatus* implications for control in anthropogenic habitats. *J Insect Sci* 2011; **11(142)**:1-9.
30. Hegde MN, Niaz F. Case reports on the clinical use of calcium hidroxide points as intracanal medicament. *Endodontology*. p. 23-27.
31. Fava LRG, Saunders WP. Calcium hydroxide pastes : classification and clinical indications. *International Endodontic Journal* 1999; **32**: 257-282
32. Radeva E, Indjov B, Vacheva R. Antibacterial activity of intracanal medicaments against bacterial isolates in cases of acute periapical periodontitis (nonexudatiive form). *Journal of IMAB*. 2005; 34-37.
33. Anonymous. *Enterococcus faecalis*. Available at: http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Enterococcus_faecalis, Accessed on August 21st, 2013.
34. Silva FB, Almeida JM, Sousa SMG. Natural medicaments in endodontics – a comparative study of the inflamatory action. *Braz Oral Res*. 2004; **18(2)**: 174-179.
35. Wang Q, Zhang CF, Chu CH, Zhu XF. Prevalence of *E. faecalis* in saliva and filled root canal of teeth associated with apical periodontitis. *Int J Oral Sci* 2012; **4**:19-23.
36. Mathew S, Boopathy. *Enterococcus faecalis* – an endodontic challenge. *J Ind Aca Dent Spec* 2010; **1(4)**:46-48.
37. Bergenholtz G, Horsted-Bindslev P, Relt C. *Textbook of Endodontology*. 2nd ed. United Kingdom: Wiley-Blackwell. 2010: p. 175, 193, 301.