

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*) SEBAGAI ANTI BIOFILM DARI *Staphylococcus aureus*

Yuda Perdana, Noer Aini, Rio Risandiansyah*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang dapat membentuk biofilm dengan melakukan adesi pada permukaan, kemudian *S.aureus* akan melakukan kolonisasi sehingga terbentuklah biofilm. *Cinnamomum burmannii* merupakan tanaman yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas penghambatan biofilm ekstrak etanol *Cinnamomum burmannii* melalui pendekatan *in vitro*.

Metode: Ekstraksi *Cinnamomum burmannii* (ECB) pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Hasil ekstraksi dilakukan uji aktivitas antibiofilm menggunakan metode *direct microscopic observation* dengan cara mengukur jumlah mikrokoloni dan presentase area pada biofilm. Uji statistik menggunakan *One-Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* dengan nilai signifikansi $p < 0,05$. Penelitian ini menggunakan 3 kali ulangan biologis, dengan 10 lapang pandang untuk pengamatan mikroskopis.

Hasil: ECB dapat menurunkan jumlah mikrokoloni yang dibandingkan dengan kontrol tanpa perlakuan pada konsentrasi 100.000 ppm; 200.000 ppm; dan 400.000 ppm berturut-turut dengan jumlah mikrokoloni adalah $2398,67 \pm 315,92$; $1520,67 \pm 169,91$; dan $874,00 \pm 45,13$ dan kontrol tanpa perlakuan $2383,67 \pm 242,59$. Kontrol positif (KP) lysorine dapat menurunkan jumlah mikrokoloni sejumlah $473,67 \pm 30,28$ yang berbeda signifikan terhadap ECB dan kontrol tanpa perlakuan ($p < 0,05$). Persentase area biofilm yang diamati mengalami penurunan pada paparan ECB dengan konsentrasi 100.000 ppm; 200.000 ppm; dan 400.000 ppm berturut-turut sebesar $52,43 \pm 3,25\%$; $44,34 \pm 1,92\%$; dan $30,50 \pm 4,19\%$. Persentase area biofilm pada kontrol tanpa perlakuan sebesar $35,86 \pm 3,38\%$. KP menurunkan persentase area biofilm hingga $27,78 \pm 1,76\%$ yang berbeda signifikan terhadap ECB dan kontrol tanpa perlakuan ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Ekstrak etanol *Cinnamomum burmannii* mempunyai kemampuan untuk menurunkan jumlah mikrokoloni dan persentase luas area biofilm *S.aureus* pada dosis optimum 400.000 ppm di bandingkan kontrol lysorine

Kata Kunci : *Staphylococcus aureus*, biofilm, *Cinnamomum burmannii*

*Korespondensi :

Rio Risandiansyah

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

e-mail : riorisandiansyah@unisma.ac.id

ACTIVITY OF ETANOL EXTRACT CINNAMON (*Cinnamomum burmannii*) AS A MATURE ANTIBIOFILM ON *Staphylococcus aureus*

Yuda Perdana, Noer Aini, Rio Risandiansyah*
Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: *Staphylococcus aureus* is a bacterium that can form biofilms by adhesion to the surface, then *S.aureus* will colonize so that biofilms are formed. *Cinnamomum burmannii* is a plant that has potential as an antibacterial. The purpose of this study was to determine the inhibitory activity of biofilms by ethanol extract of *Cinnamomum burmannii* through an *in vitro* approach.

Method: The extraction of *Cinnamomum burmannii* (ECB) in this study used maceration method with 70% ethanol solvent. The extraction results were tested for antibiofilm activity using the *direct microscopic observation* method by measuring the number of microcolonies and the percentage of area in the biofilm. Statistical test using *One-Way ANOVA*. and continued with *Post Hoc* test with significance value $p < 0.05$. This study used 3 biological repeats, with 10 fields of view for microscopic observation.

Result: ECB can decrease the number of microcolonies compared to untreated controls at concentrations of 100.000 ppm; 200.000 ppm; and 400.000 ppm respectively with the number of microcolonies is $2398,67 \pm 315,92$; $1520,67 \pm 169,91$; and $874,00 \pm 45,13$ and untreated controls $2383,67 \pm 242,59$. Positive control (KP) of lysorine can decrease the number of microcolonies by $473,67 \pm 30,28$ which differs significantly from ECB and untreated control ($p < 0.05$). The percentage of observed biofilm areas decreased at ECB exposure to concentrations of 100.000 ppm; 200.000 ppm; and 400.000 ppm at $52,43 \pm 3,25\%$ respectively; $44,34 \pm 1,92\%$; and $30,50 \pm 4,19\%$. KP lowered the percentage of biofilm area by $27,78 \pm 1,76\%$ which was significantly different from ECB and untreated control ($p < 0.05$).

Conclusion: *Cinnamomum burmannii* ethanol extract has the ability to reduce the number of microcolonies and the percentage of *S.aureus* biofilm area at an optimum dose of 400.000 ppm.

Keyword: *Staphylococcus aureus*, biofilm, *Cinnamomum burmannii*

*Corresponding author:

Rio Risandiansyah

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

e-mail : riorisandiansyah@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang paling sering menjadi dasar penyebab penyakit infeksi. *Staphylococcus aureus* sering dikaitkan dengan beberapa penyakit pada kulit, infeksi saluran kemih, dan jantung.¹ Patomekanisme infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* diawali dengan bakteri melakukan adesi yang kemudian berlanjut pada infeksi jaringan epitel, selanjutnya bakteri akan melakukan kolonisasi sehingga terbentuklah biofilm sebagai salah satu faktor utama virulensi bakteri *Staphylococcus aureus*.²

Biofilm merupakan koloni bakteri yang menempel pada permukaan atau satu sama lain dan tertanam dalam matriks yang diproduksi sendiri. Matriks biofilm terdiri dari zat seperti protein (fibrin), polisakarida (alginat), serta DNA. Selain perlindungan oleh matriks, bakteri dalam biofilm dapat menggunakan berbagai cara untuk menghindari sistem pertahanan inang. Dengan tetap tidak aktif dan tersembunyi dari sistem kekebalan, biofilm dapat menyebabkan kerusakan jaringan lokal dan kemudian menyebabkan infeksi akut.³ Penyakit yang ditimbulkan oleh pembentukan biofilm terbagi menjadi tiga jenis utama yaitu penyakit biofilm terkait perangkat, penyakit biofilm kronis yang tidak berhubungan dengan perangkat, dan kerusakan perangkat terkait biofilm. Sebagian besar infeksi terkait biofilm banyak disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus*.⁴

Menurut beberapa sumber penelitian menyebutkan bahwa kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dapat menjadi salah satu tanaman yang dapat digunakan menjadi obat infeksi yang memiliki potensi menjadi obat antibiotik alami pada bagian kulit kayu manis memiliki senyawa aktif seperti flavanoid, saponin, tannin, dan alkanoid yang dalam beberapa penelitian dikatakan dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian terdahulu ekstrak etanol yang terdapat pada kayu manis diketahui dapat menghambat bakteri *Escherichia coli*. Minyak atsiri dari tumbuhan kayu manis yang mengandung sinamil aldehida, eugenol, linalool, kariofilena, dan asam sinamat juga memiliki daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.⁵ Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Safratilofa, 2016), salah satu herbal yang akan digunakan sebagai antibakteri adalah kayu manis (*Cinnamomum burmannii*). Penelitian terdahulu kayu manis diketahui mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, antibiofilm, antijamur, antiinflamasi. Dan juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.⁶

Penelitian ini adalah studi *in vitro* yang dilakukan untuk mencari agen antibiofilm melalui ekstrak etanol 70% kayu manis untuk menghambat pembentukan biofilm dari *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini menggunakan pelarut etanol. Pelarut etanol merupakan pelarut organik yang sering digunakan dalam proses ekstraksi karena relatif

tidak beracun dibandingkan dengan aseton dan metanol.⁷ Alasan lainnya adalah etanol merupakan pelarut polar dan memiliki sifat menembus bahan dinding sel, sehingga dapat menginduksi proliferasi sel dan menarik senyawa aktif biologis, kadar senyawa flavonoid dan senyawa fenolik lebih cepat.⁷ Konsentrasi pelarut juga dapat mempengaruhi kualitas dan kualitas.⁸ Penelitian sebelumnya menemukan bahwa ekstrak etanol 70% herbal *Cinnamomum Burmanii* diketahui mempunyai efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* memiliki fungsi sebagai antibakteri.

METODOLOGI PENELITIAN

Desain, Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *in vitro* dengan menghambat terbentuknya biofilm dari bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan senyawa antibakteri aktif ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmannii*). Sampel bakteri yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari LPRK Fakultas kedokteran Universitas Islam Malang. Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2023 – April 2023.

Ekstraksi Kayu Manis

Pada tahap Simplisia kayu manis didapatkan dari UPT Materia Medica Batu dengan No Determinasi: 067/1373/102.20/2023. Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang Simplisia ditimbang hingga seberat 100 gram kemudian dengan ekstraksi 3 kali *batch*. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% pada herbal kayu manis selama dengan perbandingan 1:3 selama 24 jam dengan menggunakan *shaker*. Selanjutnya ekstrak disaring dengan kertas saring dan sisa ampas herbal dibuang. Kemudian di evaporasi dengan kecepatan 50 rpm selama 60 menit untuk mendapatkan ekstrak kental.

Peremajaan Bakteri

Stok bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasikan di media NA dan diinkubasi selama 18–20 jam. Kemudian disimpan di kulkas pada suhu 4 sampai 8°C dan diperbaharui tiap 2 minggu.

Biofilm Direct Microscopic Observation

Analisa presentase luas area menggunakan *software ImageJ*, pertama dengan membuka aplikasi kemudian masukkan

gambar preparat yang akan diuji dengan memilih menu “file” kemudian pilih “open” dan “OK”. Selanjutnya, pilih menu “image” kemudian tekan “8 bit”, lalu pilih menu “image” kemudian “adjust” dan tekan “threshold” setelah itu, tekan “dark background”. Amati hasil presentase luas area yang terlihat

Perhitungan Jumlah Mikrokoloni

Perhitungan jumlah mikrokoloni *S. aureus* yaitu dengan metode *direct microscopic observation*. Dilakukan langsung dengan menghitung jumlah mikrokoloni pada *software ImageJ*, mikrokoloni dapat dihitung jika diameter dari mikrokoloni $>20\ \mu\text{m}$.

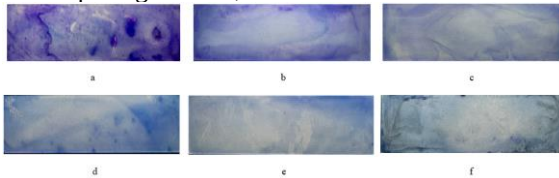
Analisis Data Statistik

Uji statistik dilakukan dengan menguji normalitas dan homogenitas dari data. Apabila data normal dan homogen maka dilakukan uji ANOVA. Jika distribusi data tidak normal dan tidak homogen ($p < 0.05$) maka akan dilakukan uji non parametris.

HASIL DAN ANALISIS DATA

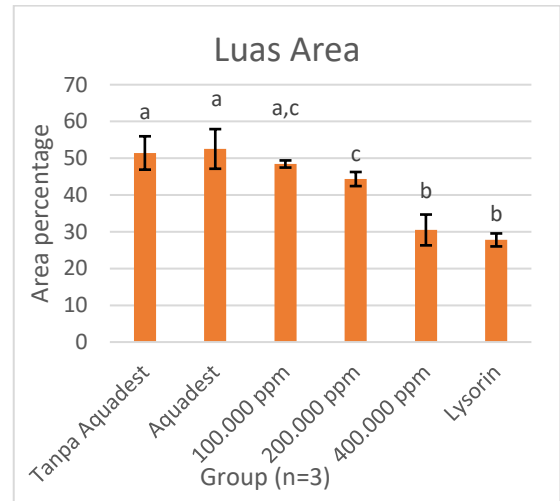
Pengukuran Presentase Area Biofilm

Hasil pengukuran presentase luas area uji antibiofilm ekstrak etanol 70% kayu manis dapat dilihat pada gambar 1, 2 dan table.



Gambar 1. Hasil Pengukuran Presentase Luas Area Antibiofilm Ekstrak Etanol 70% *Cinnamomum burmannii*

Keterangan: Hasil pengukuran presentase luas area menggunakan ImageJ (a): Tanpa perlakuan $51.43 \pm 4.54\%$; (b): Aquadest $52.53 \pm 5.39\%$; (c): Lysorin $27.78 \pm 1.76\%$; (d): Ekstrak *Cinnamomum burmannii* 100.000 ppm $48.43 \pm 0.97\%$; (e): Ekstrak *Cinnamomum burmannii* 200.000 ppm $44.34 \pm 1.92\%$; (f): Ekstrak *Cinnamomum burmannii* 400.000 ppm $30.5 \pm 4.19\%$.



Gambar 2. Histogram Pengukuran Presentase Luas Area Antibiofilm Ekstrak Etanol 70% *Cinnamomum burmannii*

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan (Uji LSD, $p < 0,005$)

Tabel 1. Hasil Pengukuran Presentase Luas Area Antibiofilm Ekstrak Etanol 70% *Cinnamomum burmannii*

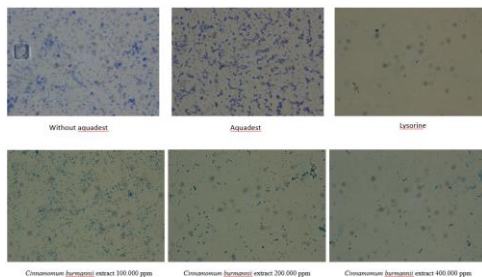
Sampel Uji	Mean $\pm$ SD
Tanpa Aquadest	$51.43 \pm 4.54\%^a$
Aquadest	$52.53 \pm 5.39\%^a$
100.000 ppm	$48.43 \pm 0.97\%^{a,c}$
200.000 ppm	$44.34 \pm 1.92\%^c$
400.000 ppm	$30.5 \pm 4.19\%^b$
Lysorin	$27.78 \pm 1.76\%^b$

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan (Uji LSD, $p < 0,005$)

Ekstrak etanol 70% kayu manis konsentrasi 400.000 ppm mempunyai presentase luas area biofilm yang tidak berbeda signifikan terhadap lysorin ($p < 0,05$), namun, berbeda pada perlakuan lainnya. Pada konsentrasi 200.000 ppm, hasil berbeda signifikan dengan semua perlakuan terkecuali pada konsentrasi 100.000 ppm, namun konsentrasi 100.000 ppm tidak berbeda dengan kontrol negatif (aquadest maupun tanpa aquadest) ($p > 0,05$). Sehingga, ECB dapat menurunkan presentase luas area biofilm adalah pada konsentrasi 200.000 dan 400.000 ppm.

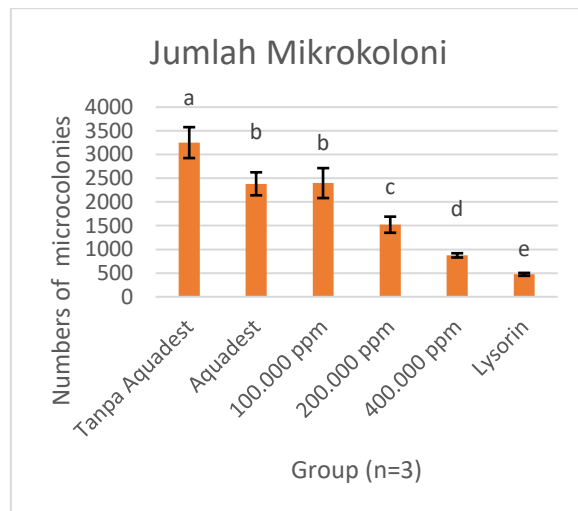
Perhitungan Jumlah Mikrokoloni

Hasil perhitungan jumlah mikrokoloni bakteri *S. aureus* pada uji antibiofilm ekstrak etanol 70% kayu manis dapat dilihat pada gambar 3, 4 dan tabel.



Gambar 3 Hasil Uji Antibiofilm Ekstrak Etanol 70% *Cinnamomum burmannii* Berdasarkan Jumlah Mikrokoloni

Keterangan: Hasil jumlah mikrokoloni (without aquadest): 3252.00±325.94 kluster sel; (aquadest): 2383.67±242.59 kluster sel; (Lysorine): 473.67±30.28 kluster sel; Ekstrak *Cinnamomum burmannii* dapat menurunkan jumlah mikrokoloni (konsentrasi 100.000 ppm): 2398.67±315.92 kluster sel; (konsentrasi 200.000 ppm): 1520.67±169.91 kluster sel; (konsentrasi 400.000 ppm): 874.00±45.13 kluster sel. Kontrol positif lysorin berbeda signifikan dengan seluruh konsentrasi



Gambar 4 Histogram Perhitungan Jumlah Mikrokoloni Antibiofilm Ekstrak Etanol 70% *Cinnamomum burmannii*

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan (Uji LSD, $p < 0,005$)

Tabel 2. Hasil Perhitungan Jumlah Mikrokoloni Antibiofilm Ekstrak Etanol 70% *Cinnamomum burmannii*

Sampel Uji	Mean±SD
Tanpa Aquadest	3252.00±325.94 ^a
Aquadest	2383.67±242.59 ^b
100.000 ppm	2398.67±315.92 ^b
200.000 ppm	1520.67±169.91 ^c
400.000 ppm	874.00±45.13 ^d
Lysorin	473.67±30.28 ^e

Keterangan: Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan (Uji LSD, $p < 0,005$)

2. Ekstrak etanol 70% kayu manis konsentrasi 100.000 ppm dapat menurunkan jumlah mikrokoloni sebesar 29%, konsentrasi 200.000 ppm sebesar 53% dan konsentrasi 400.000 ppm menurunkan jumlah mikrokoloni 73%. Sedangkan Lysorin sebagai pembanding mampu menurunkan

jumlah mikrokoloni sebesar 86% yang berbeda signifikan terhadap seluruh konsentrasi ekstrak etanol 70% kayu manis ($p < 0,005$).

PEMBAHASAN

Uji Antibiofilm Ekstrak Etanol 70% *Cinnamomum burmannii* Pada Pengukuran Presentase Luas Area Bakteri *S. aureus*

Hasil uji antibiofilm pada metode pengukuran presentase luas area *S. aureus* menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi ekstrak etanol 70% memiliki kemampuan dalam menghambat pembentukan biofilm. Hal tersebut dilihat dengan adanya penurunan presentase luas area biofilm *S. aureus*. Pada konsentrasi 100.000 ppm kemampuan ECB dalam menurunkan presentase luas area tidak berbeda signifikan dengan kontrol tanpa perlakuan dan aquadest. Sedangkan pada konsentrasi 200.000 dan 400.000 ppm memiliki kemampuan yang berbeda signifikan dibandingkan dengan kontrol tanpa perlakuan dan aquadest. Sehingga membuktikan bahwa terdapat zat aktif dalam ECB yang berperan dalam menghambat pembentukan biofilm *S. aureus*.

Pada hasil uji antibiofilm presentase luas area terdapat perbedaan signifikan antar konsentrasi 100.000, 200.000, dan 400.000 ppm. Kemampuan paling tinggi dalam menghambat presentase luas area biofilm *S. aureus* yaitu ECB konsentrasi 400.000 ppm dikarenakan semakin meningkat konsentrasi sampel uji maka akan semakin tinggi aktivitasnya. Sesuai dengan dengan teori *concentration dependent* semakin tinggi dosis maka semakin kuat daya kerjanya.⁹ Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin besar kandungan senyawa yang berperan sebagai antibiofilm pada ECB.

ECB konsentrasi 400.000 ppm memiliki nilai presentase luas area yang hamper sama dengan lysorin sebagai pembanding. Hal ini menunjukkan bahwa ECB 400.000 ppm memiliki kemampuan untuk menghambat pembentukan biofilm, namun lysorin masih lebih baik dibandingkan dengan ECB. Hal ini dikarenakan, nilai presentase luas area lysorin lebih rendah dibandingkan dengan ECB 400.000 ppm. Berdasarkan penelitian sebelumnya ECB adalah herbal yang mempunyai aktivitas antibakteri dengan kandungan metabolit sekunder alkaloid, triterpenoid, dan fenol.¹⁰ Hal tersebut menunjukkan bahwa ECB memiliki kemampuan dalam menghambat pembentukan biofilm yang dikendalikan oleh senyawa metabolit sekunder. Sedangkan, lysorin adalah desinfektan dengan kandungan lysol (klorofenol dan kresol), karbol (fenol) dan kreolin yang mempunyai kemampuan untuk menghambat atau menghancurkan pertumbuhan mikroorganisme yang terdapat pada suatu benda.

Uji Antibiofilm Ekstrak Etanol 70% *Cinnamomum burmannii* Pada Perhitungan Jumlah Mikrokoloni Bakteri *S. aureus*

Pada hasil uji perhitungan jumlah mikrokoloni *S. aureus* terdapat perbedaan signifikan antar konsentrasi ECB 100.000, 200.000 dan 400.000 ppm ($p < 0,05$). ECB yang mempunyai kemampuan paling kuat dalam menurunkan jumlah mikrokoloni *S. aureus* yaitu ECB pada konsentrasi 400.000 ppm. Sesuai dengan penjelasan sebelumnya bahwa semakin banyak kandungan senyawa kimia dalam ekstrak (konsentrasi tinggi pada batas tertentu) maka semakin tinggi juga efek antibiofilm yang diberikannya.¹¹

ECB konsentrasi 400.000 ppm mempunyai kemampuan menurunkan jumlah mikrokoloni *S. aureus* sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan lysorin lysorin sebagai pembanding. Selisih jumlah mikrokoloni antara ECB 400.000 ppm dan lysorin adalah sekitar 473,67 mikrokoloni. Hal ini menunjukkan bahwa ECB 400.000 ppm berpotensi untuk menghambat pembentukan biofilm yaitu dilihat dengan adanya penurunan presentase luas area biofilm. Mekanisme ECB menghambat pembentukan biofilm adalah dipengaruhi oleh senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya seperti alkaloid, triterpenoid, dan fenol.¹⁰ Alkaloid menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan menghambat sintesis dinding sel, sedangkan triterpenoid dengan menghambat pembentukan protein pada bakteri.¹² Potensi lysorine tidak menghambat pembentukan biofilm lebih kuat dibanding ekstrak etanol lysorine memiliki kemampuan sebagai desinfektan dimana dapat menghambat atau menghancurkan pertumbuhan mikroorganisme sehingga lysorin jauh lebih baik dalam mengurangi pembentukan biofilm.

Selain itu, zat fitokimia berperan dalam pengembangan biofilm dengan mengikat reseptor pada dinding sel bakteri. *Quorum-sensing* adalah metode komunikasi yang digunakan oleh bakteri untuk berkelompok dan membuat biofilm. *accessory gene regulator* (Agr) yang diaktifkan oleh glukosa untuk menghasilkan peptida *autoinducing peptide* (AIP) yang merupakan Langkah pertama dalam mekanisme penginderaan kuorum pada bakteri *S. aureus*.¹¹ Agar senyawa fitokimia dapat menembus secara optimal ke pusat aktif reseptor dan memiliki efek penghambatan yang kuat pada biofilm, jumlah senyawa fitokimia yang terlarut dalam ekstrak harus tidak kurang dari jumlah reseptor. Oleh karena itu, untuk melakukan penelitian selanjutnya, diperlukan identifikasi komponen fitokimia.

SIMPULAN

1. Ekstrak etanol 70% dari kayu manis mempunyai kemampuan dalam menurunkan presentase luas area biofilm oleh *S. aureus* dengan konsentrasi terbaik 400.000 ppm.
2. Ekstrak etanol 70% dari kayu manis mempunyai kemampuan dalam menurunkan jumlah mikrokoloni

biofilm oleh *S. aureus* dengan konsentrasi terbaik 400.000 ppm.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan fraksinasi sebagai antibiofilm Ekstrak etanol 70% dari kayu manis.
2. Melakukan penelitian lebih lanjut analisa aktivitas antibiofilm ekstrak etanol 70% dari kayu manis pada bakteri gram negatif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih disampaikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang dan Ikatan Orang tua Mahasiswa yang telah mendanai penelitian ini, serta Tn. Rio Risandiansyah, S.Ked., MP., PhD sebagai reviewer.

DAFTAR PUSTAKA

1. Singh, A. et al. 2017. Standardization and classification of in vitro biofilm formation by clinical isolates of staphylococcus aureus, *Jornal of Global Infections Diseases*, 9(3), pp. 2017;93-101.
2. Pellegrini, Marco & Senni, Carlotta & Bernabei, Federico & Cicero, Arrigo & Vagge, Aldo & Maestri, Antonio & Scordia, Vincenzo & Giannaccare, Giuseppe. 2020. *The Role of Nutrition and Nutritional Supplements in Ocular Surface Diseases*. *Nutrients*. 12. 952. 10.3390/nu12040952.
3. Donlan R.M., Costerton J.W. *Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms*. *Clin.Microbiol. Rev.* 2002;15:167-193.
4. Del Pozo, J. L., Tylor and Francis Ltd. Biofilm-related disease. In *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 2018;(Vol. 16, Issue 1, pp. 51–65).
5. Angelica N. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii* (Nees & Th. Nees)) terhadap *Escherchia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. 2(2):1-8
6. Safratilofa. 2016. Uji daya hambat ekstrak daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Ilmiah Universitas Batanghari Jambi*. 16(1): 98-103
7. Rosyada, A. G., Prihastuti, C. C., Sari, D. N. I., Setiawati, S., Ichsyani, M., Laksitasari, A., Andini, R. F., &

- Kurniawan, A. A. (2023). Aktivitas antibiofilm ekstrak etanol kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dalam menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*, 35(1), 34. <https://doi.org/10.24198/jkg.v35i1.42451>
8. Kurniasari, D. dan Atun, S. 2017. Pembuatan dan Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) pada Berbagai Variasi Komposisi Kitosan. *Jurnal Sains Dasar*, 6(1), pp. 31–35.
 9. Katzung, B.G. (2018) *Basic & Clinical Pharmacology*. 14th edn. Edited by B. G. Katzung. United States of America: McGraw-Hill Education.
 10. Wahida, A., Martino, Y. A., Risandiansyah, R., Wahida, A., Martino, Y. A., & Risandiansyah, R. (n.d.). Potensi antibakteri pada kulit batang kayu manis (*cinnamomum burmannii*) berdasarkan pada fraksi yang digunakan : studi ZOI terhadap *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* the potential antibacterial activity cinnamon bark (*Cinnamomum burmannii*) depends on the fraction used : a study on ZOI *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. 1–8.
 11. Rosyada, A. G., Prihastuti, C. C., Sari, D. N. I., Setiawati, S., Ichsyani, M., Laksitasari, A., Andini, R. F., & Kurniawan, A. A. (2023). Aktivitas antibiofilm ekstrak etanol kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dalam menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*, 35(1), 34. <https://doi.org/10.24198/jkg.v35i1.42451>
 12. Fatimah, S., Prasetyaningsih, Y., & Amelia, R. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kubis (*Brassica oleracea* var.capitata f.alba) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Journal of Health* 3 2016;(2), 62.