

ORIGINAL ARTICLE

Aktivitas fraksi dari ekstrak etanol daun saga (*Abrus precatorius*) terhadap degradasi biofilm bakteri *Fusobacterium nucleatum*.Satya Maharani br. Simatupang¹, Fanni Kusuma Djati², Meylida Ichsyani², Eka Prasasti Nur Rachmani³, Maulina Triani²¹ Mahasiswa, Program Studi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Jawa Tengah-Indonesia² Program Studi Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Jawa Tengah-Indonesia³ Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Jawa Tengah-Indonesia

e-mail korespondensi: fanni.djati@unsoed.ac.id

ABSTRAK

Latar belakang: Periodontitis merupakan peradangan jaringan periodontal yang bersifat destruktif dan salah satunya dipicu oleh biofilm bakteri *Fusobacterium nucleatum*. Degradasi biofilm menjadi salah satu pendekatan dalam terapi periodontitis. Daun saga (*Abrus precatorius*) dikenal dapat menjadi obat herbal penyakit gigi dan mulut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas fraksi ekstrak etanol daun saga terhadap degradasi biofilm *F. nucleatum*. **Metode:** Penelitian eksperimental laboratoris *in vitro* dengan rancangan *post-test only control group design* menggunakan tiga fraksi (n-heksan, etil asetat, dan residu) pada konsentrasi 3,125; 6,25; dan 12,5 mg/mL. Kontrol negatif berupa DMSO 1%, sedangkan kontrol positif berupa klorheksidin glukonat 0,2% dan metronidazol. Uji degradasi biofilm dilakukan dengan *microtiter plate assay*, pewarnaan kristal violet 1%, dan pembacaan absorbansi menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 600 nm. Data dianalisis menggunakan uji One-way dan Two-way ANOVA yang dilanjutkan uji post-hoc LSD dan Tukey HSD. **Hasil:** Seluruh fraksi pada semua konsentrasi mendegradasi biofilm secara bermakna dibandingkan kontrol negatif ($p \leq 0,05$), kecuali fraksi residu konsentrasi 3,125 mg/mL ($p > 0,05$). Terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi 3,125 mg/mL dan 12,5 mg/mL serta antar jenis fraksi. Fraksi n-heksan menunjukkan efektivitas setara klorheksidin glukonat 0,2%. **Simpulan:** Fraksi ekstrak etanol daun saga memiliki aktivitas mendegradasi biofilm *F. nucleatum*, dengan fraksi n-heksan sebagai fraksi paling efektif.

Kata kunci: Biofilm, Degradasi, Daun Saga, *Fusobacterium nucleatum*.**The activity of saga leaf (*Abrus precatorius*) ethanol extract fractions on biofilm degradation of *Fusobacterium nucleatum***Satya Maharani br. Simatupang¹, Fanni Kusuma Djati², Meylida Ichsyani², Eka Prasasti Nur Rachmani³, Maulina Triani²¹ Undergraduate Student, School of Dentistry, Medical Faculty, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Central Java-Indonesia² School of Dentistry, Medical Faculty, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Central Java-Indonesia³ Department of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Central Java-Indonesia

Correspondence e-mail to: fanni.djati@unsoed.ac.id

ABSTRACT

Background: Periodontitis is a destructive inflammation of periodontal tissues, partly induced by *Fusobacterium nucleatum* biofilm. Biofilm degradation is one therapeutic approach for periodontitis. Saga leaves (*Abrus precatorius*) are

traditionally used for oral diseases. This study aimed to determine the biofilm-degrading activity of ethanol extract fractions of saga leaves against *F. nucleatum*. **Methods:** This *in vitro* laboratory experimental study used a post-test only control group design. Three fractions (n-hexane, ethyl acetate, residue) were tested at 3.125, 6.25, and 12.5 mg/mL. Controls were 1% DMSO (negative), 0.2% chlorhexidine gluconate and metronidazole (positive). Biofilm degradation was assessed by microtiter plate assay with 1% crystal violet staining, and absorbance measured at 600 nm using a microplate reader. Data were analyzed using one-way and two-way ANOVA followed by LSD and Tukey HSD post-hoc tests. **Results:** All fractions at all concentrations degraded biofilm significantly better than the negative control ($p \leq 0.05$), except the residue fraction at 3.125 mg/mL ($p > 0.05$). Significant differences were found between concentrations and among fractions. The n-hexane fraction was most effective, showing efficacy comparable to 0.2% chlorhexidine gluconate. **Conclusion:** Ethanol extract fractions of saga leaves degrade *F. nucleatum* biofilm, with the n-hexane fraction demonstrating the greatest activity.

Keywords: Biofilm, Degradation, *Fusobacterium nucleatum*, Saga leaf.

PENDAHULUAN

Periodontitis merupakan peradangan pada jaringan periodontal yang menyebabkan destruksi jaringan periodontal permanen dengan karakter seperti inflamasi kronis, migrasi epitelium yang mengarah ke apikal, kehilangan jaringan ikat, dan kehilangan tulang alveolar. Penyakit ini menjadi urutan ke-11 penyakit yang paling banyak terjadi di dunia, dengan prevalensi sekitar 19% pada populasi dewasa. Periodontitis memiliki prevalensi kasus di Indonesia yang cukup tinggi yakni sebesar 74,1%. Periodontitis yang tidak segera ditangani akan menjadi berkelanjutan sehingga dapat mengakibatkan penghancuran yang progresif pada ligamen periodontal serta tulang alveolar yang ditandai dengan terbentuknya poket yang dalam, resesi gingiva, ataupun keduanya [1]. Periodontitis dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti deposit bakteri, faktor genetik, dan faktor sistemik. Salah satu penyebab utama dari periodontitis adalah biofilm bakteri pada plak yang tidak terkendali.

Fusobacterium nucleatum merupakan salah satu bakteri anaerob fakultatif Gram negatif. Bakteri ini dapat ditemukan pada plak subgingiva dan dalam jumlah yang rendah pada plak supragingiva dan saliva. *F. nucleatum* dapat mengikat asam amino ke-21 dan ke-26 dari molekul staterin yang bersumber dari saliva, sehingga bakteri ini dapat tetap hidup di lingkungan kaya oksigen [2]. Bakteri *F. nucleatum* mengekspresikan berbagai faktor virulensi, seperti lipopolisakarida (LPS) dan beberapa protein seperti FadA, Fap2, serta RadD yang berfungsi untuk menginvasi sel *host* [3]. Faktor-faktor virulensi tersebut dapat memicu respon inflamasi yang kuat pada gingiva, memicu aktivasi osteoklas, dan degradasi jaringan ikat gingiva [4]. Ketika jaringan periodontal telah rusak, maka perlu dilakukan perawatan periodontal untuk menghilangkan etiologinya, yaitu bakteri *F. nucleatum*.

Perawatan periodontitis dapat dilakukan dengan cara melakukan tindakan *Scaling and Root Planing* (SRP) sehingga terdapat penurunan perdarahan saat *probing*, penurunan kedalaman poket, dan penurunan peradangan pada dasar poket [5]. Terapi tambahan yang masih menjadi *gold standard* hingga saat ini untuk pasien periodontitis adalah medikasi antibiotik dan pemberian obat kumur *chlorhexidine gluconate* 0,2% untuk mencegah terjadinya infeksi berulang dan terbentuknya plak pada gigi. Terapi menggunakan *chlorhexidine gluconate* 0,2% tentu saja memiliki efek samping jika digunakan dalam jangka panjang. Penggunaan klorin sebagai bahan dasar *chlorhexidine gluconate* memiliki efek samping berupa perubahan rasa pengecap, iritasi mukosa, *staining*, ketidakseimbangan flora normal rongga mulut, hingga *xerostomia* [6]. Efek samping ini menjadi alasan pentingnya pengembangan pengobatan alternatif dengan bahan dasar herbal, karena obat herbal dibuat dari bahan alam sehingga diyakini memiliki efek samping yang relatif lebih minimal jika dibandingkan dengan obat modern.

Tanaman saga (*Abrus precatorius*) merupakan salah satu tanaman yang dapat ditemukan dengan mudah dimanapun, karena tanaman ini tumbuh liar di hutan, perkebunan, hingga pekarangan rumah. Hal ini menjadi salah satu faktor mengapa tanaman saga terutama daunnya banyak digunakan secara tradisional sebagai obat di berbagai negara, di antaranya untuk mengobati epilepsi, batuk, dan sariawan [7]. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Rumanti dan Saragih (2023), kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol daun saga memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Kandungan ini menjadikan daun saga memiliki kemampuan untuk menghambat peroksidasi lipid pada dinding sel bakteri, sehingga daun saga dapat digunakan sebagai obat alternatif untuk penyakit gigi dan mulut yang disebabkan oleh bakteri [8]. Banyaknya senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun saga merupakan alasan utama untuk dilakukannya fraksinasi, agar dapat terfokus pada senyawa yang berperan besar dalam mendegradasi biofilm. Fraksinasi merupakan suatu metode pemisahan senyawa kimia dari ekstrak berdasarkan kepolarannya. Pelarut yang digunakan untuk fraksinasi cair-cair umumnya adalah n-heksan, etil asetat, etanol, dan air [9]. Etil asetat memiliki titik didih mendekati 80°C, sehingga mampu menarik senyawa polar maupun nonpolar [10], seperti flavonoid dan polifenol. Pelarut lain seperti n-heksan efektif dalam mengikat senyawa non-polar seperti steroid dan triterpenoid, sedangkan pelarut air bersifat efektif dalam mengikat senyawa polar seperti flavonoid, alkaloid, dan saponin [11].

Penelitian mengenai pengaruh fraksi aktif ekstrak etanol daun saga (*Abrus precatorius*) terhadap degradasi biofilm bakteri *F. nucleatum* belum pernah dilakukan. Berdasarkan latar belakang tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan pengujian fraksi aktif ekstrak etanol daun saga (*Abrus precatorius* L.) terhadap degradasi biofilm *F. nucleatum*, dengan konsentrasi fraksi dari ekstrak etanol daun saga yang digunakan sebesar 3,125 mg/mL, 6,25 mg/mL, dan 12,5 mg/mL, *microtiter plate biofilm assay*.

METODE

Jenis penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan jenis eksperimental murni yang dilakukan secara *in vitro* dalam lingkungan yang terkendali dengan meneliti perubahan yang terjadi pada variabel setiap dilakukannya intervensi. Rancangan penelitian ini menggunakan pendekatan *post-test only control group design* atau rancangan penelitian dengan melakukan pengukuran setelah dilakukan intervensi pada tiap kelompok yang diberi perlakuan dan membandingkan perbedaannya dengan kelompok kontrol tanpa dilakukan *pretest* terlebih dahulu. Populasi dari penelitian ini adalah bakteri penyebab penyakit mulut berupa periodontitis yaitu *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953 yang diperoleh dari PT Indilab. Sampel penelitian yang digunakan adalah bakteri *F. nucleatum* yang dikultur selama 48 jam hingga membentuk biofilm dengan kategori sedang (10–200 µm) [12]. Penelitian ini terbagi dalam 12 kelompok perlakuan yang terdiri dari 3 kelompok perlakuan fraksi ekstrak etanol daun saga (fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi residu) dengan 3 konsentrasi, 3 kelompok kontrol yaitu 2 kontrol positif menggunakan *chlorhexidine gluconate* 0,2% dan metronidazol, serta 1 kontrol negatif DMSO 1%. Penelitian ini juga menggunakan kontrol pertumbuhan untuk memastikan bahwa biofilm akan terbentuk dan sebagai dasar dalam menentukan persentase degradasi. Pengulangan perlakuan pada tiap-tiap kelompok sampel dilakukan sebanyak 5 kali sehingga terdapat 60 unit perlakuan.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Saga

Simplisia dalam bentuk serbuk sebanyak 500 gram dimasukkan ke dalam wadah maserasi, kemudian direndam menggunakan 2 liter larutan etanol 70% hingga simplisia terendam sekitar 1 cm di bawah larutan etanol, lalu ditutup menggunakan *aluminium foil*. Simplisia dibiarkan terendam selama 4 hari pada tempat yang terhindar dari paparan sinar matahari langsung, sambil sesekali diaduk. Pengadukan dilakukan setiap 8 jam sekali. Selanjutnya, saring ekstrak menggunakan kertas saring sehingga ampasnya dapat terpisah. Ampas yang telah dikumpulkan, selanjutnya direndam kembali menggunakan larutan etanol 70% sebanyak 1 liter, lalu ampas dibiarkan terendam kembali selama 4 hari. Filtrat pada perendaman pertama dan kedua dicampur, lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu sebesar 40°C sehingga diperoleh ekstrak dengan konsistensi yang kental [13].

Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Saga

Sebanyak 2 gram ekstrak etanol daun saga dimasukkan ke dalam gelas piala dan dilarutkan dengan menambahkan 5 ml etanol, lalu ditambahkan dengan *aquades* sebanyak 25 ml. Setelah larutan homogen, masukan ke dalam corong pisah dan tambahkan dengan pelarut n-heksan sebanyak 30 ml dan diaduk hingga homogen dengan sesekali membuka keran corong pisah. Diamkan larutan hingga terbentuk pemisahan antara fase residu dengan fase n-heksan, lalu tampung kedua larutan tersebut dalam wadah yang terpisah. Fase residu difraksinasi kembali menggunakan pelarut n-heksan sebanyak 30 ml dan dilakukan hingga tidak berwarna, sampai akhirnya diperoleh ekstrak kental. Larutan kental fraksi n-heksan yang terbentuk dilakukan pengenceran menggunakan DMSO 1% hingga didapatkan konsentrasi yang diinginkan. Selanjutnya, fase residu dari hasil fraksinasi n-heksan dimasukan ke dalam corong pisah, lalu ditambahkan dengan etil asetat sebanyak 30 ml dan diaduk hingga homogen dengan sesekali membuka keran corong pisah. Diamkan larutan hingga terjadi pemisahan antara fase air dengan fase etil asetat. Tampung kedua larutan tersebut dalam wadah yang terpisah. Fase air yang telah ditampung difraksinasi kembali menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 30 ml sampai akhirnya diperoleh ekstrak kental. Setelah itu, ekstrak kental etil asetat diencerkan menggunakan DMSO 1% hingga didapatkan sesuai konsentrasi yang diinginkan [14].

Uji Fitokimia Fraksi Dari Ekstrak Etanol Daun Saga

Uji senyawa flavonoid dilakukan dengan cara fraksi dari ekstrak etanol daun saga sebanyak sebanyak 0,1 gram ditambahkan larutan metanol sebanyak 2-3 ml, lalu dipanaskan, setelah itu ditambahkan sedikit serbuk Mg dan 2 ml HCl pekat. Hasil uji flavonoid positif jika terjadi perubahan warna larutan menjadi merah, kuning, atau jingga [15]. Uji senyawa saponin dilakukan dengan cara fraksi dari ekstrak etanol daun saga sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dicampurkan dengan 10 ml air panas. Selanjutnya larutan didinginkan dan dikocok dengan kuat selama 10 detik. Hasil uji saponin positif jika terbentuk busa yang banyak hingga setinggi 1-3 cm selama tidak kurang dari 10 menit [15]. Uji senyawa alkaloid dilakukan menggunakan tiga metode, yaitu metode Mayer, Dragendorf, dan Wagner. Fraksi dari ekstrak etanol daun saga sebanyak 0,5 gram dicampurkan dengan 2 ml HCl pekat, yang kemudian disaring. Filtrat yang telah disaring dibagi dalam tiga wadah, yang masing-masing akan diberikan pereaksi Mayer, Dragendorf, dan Wagner. Uji alkaloid positif jika pada ekstrak dengan pereaksi Mayer terdapat endapan berwarna putih atau krem, ekstrak dengan pereaksi Dragendorf terdapat endapan berwarna jingga, dan ekstrak dengan pereaksi Wagner terdapat endapan berwarna coklat kemerahan sampai kekuningan [15]. Uji senyawa tanin dilakukan dengan cara fraksi dari ekstrak etanol daun saga

sebanyak 0,1 gram dicampurkan 5 ml air panas. Setelah itu, larutan ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl_3 5%. Uji tanin positif apabila warna fraksi berubah menjadi warna biru atau hijau kehitaman [15]. Uji senyawa triterpenoid dilakukan dengan cara fraksi dari ekstrak etanol daun saga dilakukan dengan mencampur fraksi dengan 2 ml kloroform di dalam tabung reaksi, kemudian dikocok. Lapisan kloroform yang terbentuk diambil, kemudian diteteskan ke plat tetes, lalu dibiarkan sampai kering. Tambahkan 5 tetes asam asetat anhidrat dan 3 tetes H_2SO_4 pekat. Larutan akan terbentuk warna hijau kebiruan jika mengandung triterpenoid [16].

Uji Degradasi Biofilm *Fusobacterium nucleatum*

Uji aktivitas degradasi biofilm *Fusobacterium nucleatum* dalam penelitian ini dilakukan dengan pewarnaan kristal violet. Setelah *well-plate* diinkubasi selama 48 jam, suspensi pada *well-plates* dibuang menggunakan *micropipete* dan dibilas menggunakan 200 μL larutan *phosphate buffer saline* (PBS) sebanyak tiga kali untuk menghilangkan sel planktonik, selanjutnya diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang. Pada beberapa sumuran *well-plates* diberikan fraksi n-heksan, etil asetat, dan residu dari ekstrak etanol daun saga dengan konsentrasi yang berbeda (3,125 mg/mL, 6,25 mg/mL, dan 12,5 mg/mL) sebanyak 100 μL . Sumuran untuk kontrol positif A diberikan 100 μL *chlorhexidine gluconate* 0,2%, sedangkan sumuran untuk kontrol positif B diberikan 100 μL antibiotik metronidazol. Sumuran untuk kontrol negatif cukup diberikan 100 μL larutan DMSO 1%. Efek dari ekstrak etanol daun saga dapat diobservasi setelah dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam. Cairan ekstrak etanol daun saga dibuang menggunakan *micropipete* dan dibilas menggunakan 200 μL larutan PBS sebanyak empat kali untuk membuang sel planktonik. Selanjutnya sampel dikeringkan dan dilakukan pewarnaan kristal violet (0,1%) sebanyak 200 μL yang ditambahkan kepada tiap *well* dan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang. Buang cairan pewarnaan kristal violet dan bilas dengan 200 μL PBS dan biarkan hingga mengering, setelah itu setiap *well* ditambahkan dengan 200 μL etanol 90%. Pembacaan *optical density* (OD) dapat dilakukan dengan menggunakan *Microplate reader* dengan panjang gelombang sebesar 600 nm [17].

Data persentase degradasi biofilm dianalisis menggunakan uji *One-Way* ANOVA untuk membandingkan aktivitas seluruh fraksi pada berbagai konsentrasi terhadap kontrol positif dan negatif, setelah memenuhi asumsi normalitas (uji Shapiro-Wilk) dan homogenitas (uji Levene) pada total 48 sampel. Hasil menunjukkan data terdistribusi normal dan terdapat perbedaan yang signifikan antarkelompok ($p \leq 0,05$), sehingga dilanjutkan dengan uji post-hoc LSD. Sementara itu, perbandingan aktivitas antarfraksi dan antarkonsentrasi dianalisis menggunakan *Two-Way* ANOVA pada 36 sampel, dengan uji normalitas Shapiro-Wilk dan uji homogenitas Levene yang menunjukkan data normal dan homogen. Hasil *Two-Way* ANOVA menunjukkan adanya perbedaan signifikan berdasarkan jenis fraksi, konsentrasi, serta interaksi antara keduanya dalam mendegradasi biofilm *Fusobacterium nucleatum* pada tingkat kepercayaan 95%, sehingga dilakukan uji post-hoc Tukey HSD untuk mengidentifikasi kelompok dengan perbedaan dan efektivitas perlakuan yang paling signifikan.

HASIL

Pengujian fitokimia dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan senyawa-senyawa dalam fraksi n-heksan, etil asetat, dan residu dari ekstrak etanol daun saga. Uji fitokimia pada penelitian ini dilaksanakan dengan metode tabung. Hasil uji fitokimia fraksi n-heksan, etil asetat, dan residu dari ekstrak etanol daun saga disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia fraksi dari ekstrak etanol daun saga

No.	Senyawa Fitokimia	Hasil Uji			Keterangan
		N-heksan	Etil Asetat	Residu	
1.	Flavonoid	-	+	+	Adanya perubahan warna larutan menjadi merah, kuning, atau jingga.
2.	Saponin	-	+	+	Terbentuk busa yang banyak hingga setinggi 1-3 cm selama tidak kurang dari 10 menit
3.	Alkaloid	-	+	+	Terdapat endapan berwarna coklat kemerahan sampai kekuningan
4.	Tanin	+	+	-	Perubahan warna larutan menjadi warna biru atau hijau kehitaman
5.	Triterpenoid	+	-	-	Perubahan warna larutan menjadi warna merah kehitaman

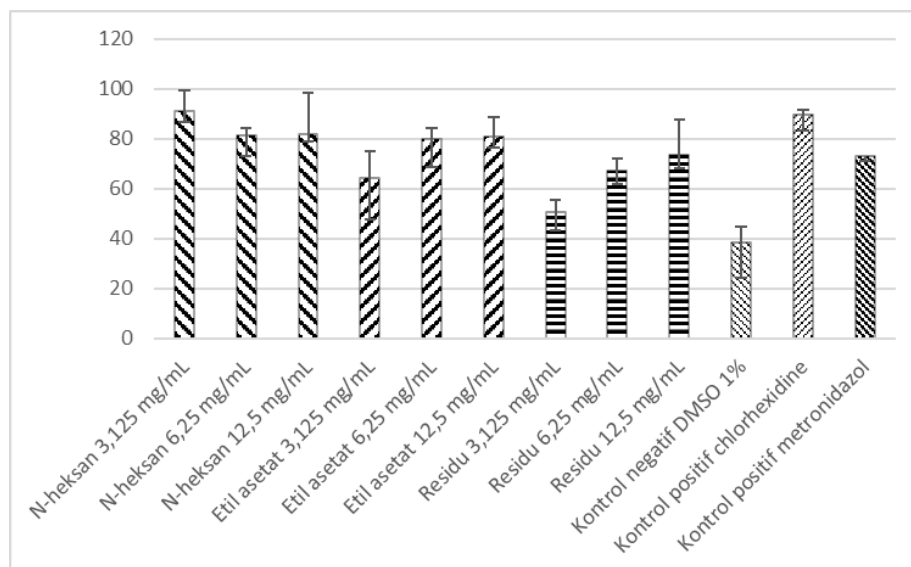
Keterangan:

+: teridentifikasi

-: tidak teridentifikasi

Tabel 1 menunjukkan bahwa fraksi n-heksan mengandung senyawa non-polar yaitu tanin dan triterpenoid, fraksi etil asetat mengandung senyawa polar dan non-polar yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin, serta fraksi residu mengandung senyawa polar yaitu flavonoid, saponin, dan alkaloid.

Gambar 1 menunjukkan hasil berupa nilai persentase degradasi biofilm bakteri *Fusobacterium nucleatum* oleh fraksi dari ekstrak etanol daun saga. Persentase degradasi biofilm meningkat seiring meningkatnya konsentrasi pada fraksi etil asetat dan residu, sedangkan persentase degradasi justru menurun seiring meningkatnya konsentrasi pada fraksi n-heksan. Nilai rerata persentase degradasi biofilm terendah terdapat pada kelompok perlakuan fraksi residu dengan konsentrasi 3,125 mg/mL sebesar $50,43\% \pm 7,38\%$, sedangkan nilai rerata persentase degradasi biofilm tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan fraksi n-heksan dengan konsentrasi 3,125 mg/mL sebesar $91,25\% \pm 4,30\%$.



Gambar 1. Perbandingan persentase degradasi biofilm bakteri *Fusobacterium nucleatum* antar kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dengan nilai $p \leq 0,05$ (tingkat kepercayaan 95%).

Tabel 2 merupakan hasil analisis statistik *post-hoc* LSD yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan fraksi dengan kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol negatif.

Tabel 2. Hasil uji *post-hoc* LSD uji degradasi biofilm *Fusobacterium nucleatum*

Kelompok	N1	N2	N3	E1	E2	E3	R1	R2	R3	KN	KP CHX	KP Metro
N1												
N2	0,276											
N3	0,323	0,919										
E1	0,000*	0,007*	0,005*									
E2	0,176	0,784	0,707	0,014*								
E3	0,263	0,975	0,894	0,008*	0,808							
R1	0,000*	0,000*	0,000*	0,026*	0,000*	0,000*						
R2	0,000*	0,005*	0,004*	0,876	0,009*	0,005*	0,038*					
R3	0,021*	0,202	0,169	0,127	0,313	0,213	0,000*	0,094				
KN	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,051	0,000*	0,000*			
KP CHX	0,792	0,179	0,213	0,000*	0,108	0,169	0,000*	0,000*	0,011*	0,000*		
KP Metro	0,023*	0,211	0,177	0,121	0,325	0,222	0,000*	0,089	0,979	0,000*	0,012*	

* : perbedaan signifikan

Keterangan:

N1: Fraksi n-heksan 3,125 mg/mL

N2: Fraksi n-heksan 6,25 mg/mL

N3: Fraksi n-heksan 12,5 mg/mL

E1: Fraksi etil asetat 3,125 mg/mL

E2: Fraksi etil asetat 6,25 mg/mL

E3: Fraksi etil asetat 12,5 mg/mL

R1 : Fraksi residu 3,125 mg/mL

R2 : Fraksi residu 6,25 mg/mL

R3 : Fraksi residu 12,5 mg/mL

KN : Kontrol negatif DMSO 1%

KP CHX : Kontrol positif *chlorhexidine* 0,2%

KP Metro : Kontrol positif metronidazol 20 µg/mL

Uji *post-hoc* LSD menunjukkan bahwa kelompok perlakuan seluruh fraksi memiliki perbedaan nilai persentase degradasi biofilm yang signifikan dengan kontrol negatif DMSO 1%, kecuali pada kelompok perlakuan fraksi residu dengan konsentrasi 3,125 mg/mL. Kelompok perlakuan fraksi etil asetat 3,125% dan fraksi residu pada seluruh konsentrasi memiliki perbedaan yang signifikan yang lebih rendah dengan kontrol positif *chlorhexidine* 0,2% ($p \leq 0,05$). Kelompok perlakuan fraksi n-heksan 3,125 mg/mL memiliki perbedaan yang signifikan yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol positif metronidazol sehingga menunjukkan bahwa fraksi n-heksan 3,125

mg/mL memiliki kemampuan degradasi biofilm yang lebih tinggi daripada metronidazol, sedangkan kelompok perlakuan fraksi residu 3,125 mg/mL memiliki perbedaan yang signifikan yang lebih rendah dengan kelompok kontrol positif metronidazol sehingga menunjukkan bahwa fraksi residu 3,125 mg/mL memiliki kemampuan degradasi biofilm yang lebih rendah daripada metronidazol.

Tabel 3. Hasil uji *post-hoc* HSD uji degradasi biofilm *F. nucleatum* antar fraksi

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Selisih Rerata	Standard Error	Signifikansi
N-heksan	Etil asetat	8,704	3,360	0,039
	Residu	21,278	3,360	0,000
Etil asetat	N-heksan	-8,704	3,360	0,039
	Residu	12,574	3,360	0,002
Residu	N-heksan	-21,278	3,360	0,000
	Etil asetat	-12,574	3,360	0,002

Hasil uji *Two-way* ANOVA menunjukkan bahwa nilai p dari masing-masing faktor adalah $p \leq 0,05$, yang berarti terdapat perbedaan bermakna pada perlakuan tiap jenis fraksi, perlakuan tiap konsentrasi, dan terdapat interaksi antara jenis fraksi dan konsentrasi, sehingga perlu dilakukan uji *post-hoc* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan paling signifikan dan membandingkan efektivitas dari tiap perlakuan. Hasil uji *post-hoc* Tukey HSD menunjukkan bahwa pada antar kelompok perlakuan fraksi terdapat perbedaan yang signifikan dalam mendegradasi biofilm karena nilai signifikansi pada semua perbandingan antara kelompok perlakuan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi residu adalah $p \leq 0,05$.

Tabel 4. Hasil *post-hoc* Tukey HSD uji degradasi biofilm *F. nucleatum* antar konsentrasi

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Selisih Rerata	Standard Error	Signifikansi
3,125 mg/mL	6,25 mg/mL	-7,3942	3,385	0,092
	12,5 mg/mL	-10,2067	3,385	0,015
6,25 mg/mL	3,125 mg/mL	7,3942	3,385	0,092
	12,5 mg/mL	-2,8125	3,385	0,688
12,5 mg/mL	3,125 mg/mL	10,2067	3,385	0,015
	6,25 mg/mL	2,8125	3,385	0,688

Hasil uji *post-hoc* Tukey HSD menunjukkan bahwa antar kelompok perlakuan konsentrasi, terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan dengan konsentrasi 3,125 mg/mL dan 12,5 mg/mL karena nilai signifikansinya $p \leq 0,05$, sedangkan pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi 6,25 mg/mL tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok perlakuan dengan konsentrasi 3,125 mg/mL maupun 12,5 mg/mL

DISKUSI

Peran daun saga telah cukup diakui dalam dunia kesehatan karena sifatnya yang dikenal sebagai antibakteri dan antibiofilm. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi residu dari ekstrak etanol daun saga dapat mendegradasi biofilm bakteri *Fusobacterium nucleatum* dengan baik. Seluruh kelompok perlakuan pemberian fraksi terkecuali fraksi residu dengan konsentrasi 3,125 mg/mL, memiliki nilai persentase degradasi biofilm yang berbeda signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dengan pemberian DMSO 1% (nilai $p \leq 0,05$).

Kontrol negatif pada penelitian ini menggunakan pelarut DMSO 1% karena pelarut ini dapat melarutkan hampir semua senyawa polar dan non-polar secara efektif dan bersifat netral. Pelarut ini memiliki sifat sebagai surfaktan yang dapat berperan sebagai pemersatu antara air dan minyak, sehingga pelarut ini digunakan dalam berbagai penelitian terkait uji aktivitas antimikrobal pada ekstrak tanaman [18]. DMSO juga memiliki kemampuan untuk menembus membran sel, namun hal ini tidak akan terjadi jika penggunaan konsentrasi di bawah 10%. Hal ini dibuktikan dalam penelitian yang dilakukan oleh Weni *et al.* (2024) yang menunjukkan tidak adanya zona hambat pada empat kali pengulangan perlakuan DMSO 1%, sehingga dapat disimpulkan bahwa DMSO dengan konsentrasi di bawah 10% tidak memiliki sifat antibakteri dan tidak akan mempengaruhi hasil perlakuan [19].

Hasil uji fitokimia fraksi dari ekstrak etanol daun saga menunjukkan bahwa fraksi n-heksan mengandung senyawa non-polar yaitu tanin dan triterpenoid, fraksi etil asetat mengandung senyawa polar dan non-polar yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin, serta fraksi residu mengandung senyawa polar yaitu flavonoid, saponin, dan alkaloid. Senyawa-senyawa tersebut memiliki mekanisme yang berbeda-beda dalam mendegradasi biofilm. Senyawa flavonoid mendegradasi biofilm dengan cara mengikat protein adhesif bakteri yang memiliki fungsi sebagai reseptor pada permukaan bakteri. Hal ini menyebabkan menurunnya kemampuan bakteri untuk melekat dan menghambat sintesis protein yang diperlukan untuk pembentukan dinding sel [20]. Senyawa saponin dapat mendegradasi biofilm dengan cara mengikis matriks ekstraseluler yang berperan

dalam menyusun biofilm, seperti *polysaccharide intercellular adhesion* (PIA). Hal ini dapat merusak struktur biofilm, sehingga dapat membantu aktivitas senyawa lainnya dalam menembus dan membunuh sel bakteri yang ada dalam biofilm [21] dan dapat mengganggu *quorum sensing* antar mikroba yang seharusnya membentuk biofilm menjadi lisis atau mati karena kehilangan nutrisi [22]. Senyawa alkaloid dapat mendegradasi biofilm dengan cara menginaktivasi enzim esensial yang terdapat dalam sel bakteri dan merusak ikatan hidrofobik komponen membran sel, sehingga dapat menyebabkan kebocoran pada sel bakteri [23]. Senyawa tanin dapat mendegradasi biofilm dengan cara berinteraksi dengan komponen matriks ekstraseluler biofilm, seperti polisakarida dan protein, yang berfungsi untuk menjaga stabilitas dan integritas biofilm. Interaksi ini dapat menyebabkan pengendapan dan penggumpalan komponen-komponen tersebut, sehingga mengurangi kekuatan struktural biofilm [24]. Senyawa triterpenoid memiliki kemampuan untuk mendegradasi biofilm dengan cara berinteraksi dengan *lipophilic tails* atau porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri dengan membentuk ikatan polimer yang sangat kuat sehingga dapat merusak porin dan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri [25].

Perbandingan hasil uji degradasi biofilm *F. nucleatum* antar jenis fraksi menunjukkan bahwa terdapat perbedaan persentase degradasi yang signifikan antara fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi residu. Persentase degradasi tertinggi pada tiap konsentrasi terdapat pada kelompok perlakuan fraksi n-heksan. Hasil uji degradasi biofilm bakteri *Fusobacterium nucleatum* dengan perlakuan pemberian fraksi etil asetat dan fraksi residu dimulai dari konsentrasi terkecil yaitu 3,125 mg/mL hingga konsentrasi terbesar yaitu 12,5 mg/mL menunjukkan peningkatan nilai persentase degradasi biofilm seiring dengan peningkatan konsentrasi. Hal ini dapat terjadi karena semakin tinggi konsentrasi, maka semakin tinggi juga senyawa fitokimia yang terkandung di dalamnya sehingga terjadi aktivitas degradasi yang semakin tinggi juga [26]. Hal yang berbeda terjadi pada uji degradasi biofilm dengan perlakuan fraksi n-heksan, nilai persentase degradasi biofilm tertinggi justru terdapat pada konsentrasi paling rendah, yaitu 3,125 mg/mL. Fraksi n-heksan dapat mencapai titik jenuh, sehingga tidak ada lagi senyawa aktif yang dapat terlarut atau berinteraksi dengan komponen biofilm. Hal ini mungkin saja mengakibatkan tidak adanya peningkatan persentase degradasi biofilm meskipun konsentrasi telah ditingkatkan [27]. Hal ini juga dapat terjadi karena fraksinasi menggunakan pelarut yang polar seperti etil asetat dapat menyebabkan senyawa fenol yang terkandung lebih rendah daripada pelarut non-polar.

Chlorhexidine terbukti memiliki sifat antibakteri dengan spektrum luas sehingga dapat mencegah akumulasi plak dengan mengurangi jumlah bakteri pembentuk plak [28]. *Chlorhexidine* dapat mendegradasi biofilm dengan berikatan dengan EPS. Ikatan ini dapat menyebabkan perubahan sifat fisiko-kimia EPS. Perubahan tersebut akan mempengaruhi ikatan molekul yang berdekatan, sehingga *chlorhexidine* dapat menembus pertahanan bakteri yang berada dalam biofilm [28]. Metronidazol sendiri dapat mendegradasi biofilm dengan mengganggu sintesis DNA bakteri. Setelah diaktifkan di dalam sel bakteri, metronidazol akan menghasilkan radikal bebas yang merusak DNA, sehingga menghambat pembelahan dan pertumbuhan sel bakteri dalam biofilm [30]. Alasan mengapa *chlorhexidine* lebih efektif dalam mendegradasi biofilm dibandingkan dengan metronidazol, salah satunya karena perbedaan dalam mekanisme kerja dan sifat kimianya. *Chlorhexidine* memiliki struktur molekul kationik yang memungkinkan interaksi kuat dengan matriks EPS dari biofilm. Molekul kationik ini dapat berikatan dengan komponen negatif pada matriks EPS, sehingga mengubah sifat fisiko-kimia dari matriks tersebut dan menyebabkan penyusutan biofilm. Ini berbeda dengan metronidazol, yang lebih fokus pada penghambatan sintesis DNA bakteri tanpa interaksi langsung dengan matriks biofilm.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa persentase degradasi biofilm tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan fraksi n-heksan dengan konsentrasi 3,125 mg/mL. Persentase degradasi biofilm kelompok ini ($91,25\% \pm 4,30\%$) tidak memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% ($89,48\% \pm 6,33\%$), namun memiliki perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol positif antibiotik metronidazol ($73,71\% \pm 2,10\%$). Hal ini menandakan bahwa fraksi n-heksan dengan konsentrasi 3,125 mg/mL sudah mampu menyamai *chlorhexidine gluconate* 0,2% dan memiliki efektivitas yang lebih baik daripada metronidazol dalam mendegradasi biofilm bakteri *F. nucleatum*, sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi n-heksan dengan konsentrasi 3,125 mg/mL memiliki potensi untuk menjadi bahan alternatif menggantikan *chlorhexidine gluconate* 0,2% dan metronidazol.

Hasil yang diperoleh memberikan dasar ilmiah yang kuat bagi pemanfaatan fraksi n-heksan sebagai agen antibiofilm, meskipun penelitian ini masih memiliki beberapa keterbatasan yang perlu dikaji pada penelitian selanjutnya. Keterbatasan penelitian ini ialah eksperimen yang dilakukan secara *in vitro* menggunakan biofilm monospesies *Fusobacterium nucleatum* ATCC 10953 sehingga belum sepenuhnya menggambarkan kondisi periodontitis di rongga mulut yang melibatkan interaksi kompleks berbagai mikroorganisme dan faktor *host*. Selain itu, identifikasi kandungan senyawa pada fraksi ekstrak etanol daun saga masih terbatas pada uji fitokimia kualitatif, sehingga senyawa aktif yang berperan dominan dalam degradasi biofilm belum dapat ditentukan. Rentang konsentrasi yang digunakan juga masih terbatas, sehingga konsentrasi optimum dan batas toksisitas belum diketahui. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjutan menggunakan biofilm multispesies, analisis senyawa aktif secara kuantitatif, pengujian toksisitas, serta model *in vivo* untuk mengkonfirmasi potensi klinis fraksi ekstrak etanol daun saga sebagai agen terapi periodontitis.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan bahwa terdapat perbedaan aktivitas yang signifikan antara perlakuan fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi residu dari ekstrak etanol daun saga (*Abrus precatorius*) pada konsentrasi 3,125 mg/mL, 6,25 mg/mL, dan 12,5 mg/mL dibandingkan dengan kontrol negatif terhadap degradasi biofilm bakteri *Fusobacterium nucleatum*, kecuali pada kelompok perlakuan fraksi residu dengan konsentrasi 3,125 mg/mL. Berdasarkan uji fitokimia, fraksi n-heksan mengandung senyawa non-polar yaitu tanin dan triterpenoid, fraksi etil asetat mengandung senyawa polar dan non-polar yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin, serta fraksi residu mengandung senyawa polar yaitu flavonoid, saponin, dan alkaloid. Fraksi n-heksan konsentrasi 3,125 mg/mL merupakan fraksi yang paling efektif dalam mendegradasi biofilm *F. nucleatum* jika dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan fraksi residu. Peneliti menyarankan untuk perlunya dilakukan uji degradasi biofilm menggunakan fraksi dari ekstrak etanol daun saga terhadap bakteri penyebab periodontitis lainnya.

REFERENSI

- [1] Kasuma, N. (2016). *Plak Gigi*. Andalas University Press. Padang. pp. 15-19
- [2] Lindawati, Y., Primasari, A., & Suryanto, D. (2018). *Fusobacterium Nucleatum*: Bakteri Anaerob pada Lingkungan Kaya Oksigen (Dihubungkan dengan Staterin Saliva). *Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM)*. 1(1): 181–188
- [3] Wu, Y., Guo, S., Chen, F., Li, Y., Huang, Y., Liu, W., & Zhang, G. (2023). Fn-Dps, a novel virulence factor of *Fusobacterium nucleatum*, disrupts erythrocytes and promotes metastasis in colorectal cancer. *PLoS Pathogens*. 19(1): 1–27
- [4] Putri, F., & Bachtiar, W. (2020). *Porphyromonas gingivalis* Dan Patogenesis Disfungsi Kognitif: Analisis Peran Sitokin Neuroinflamasi. *Cakradonya Dental Journal*. 12(1): 15–23
- [5] Octavia, M., Soeroso, Y., & Kemal, Y. (2015). Efek Klinis Setelah Skeling Dan Penghalusan Akar Kasus Periodontitis Kronis Poket 4-6mm. *Dentika Denta Journal*. 18(3): 211–217
- [6] Pratiwi, R., Ratnawati, I. D., Nursyaputri, F., & Indraswary, R. (2022). The Effectiveness Of Phaleria Macrocarpa's Leaf Nanoemulsion Gel On *Staphylococcus aureus* Biofilm Thickness (In Vitro). *ODONTO Dental Journal*. 9(1): 69–79
- [7] Indrayati, F., Agus Wibowo, M., Idiawati, N., & Hadari Nawawi, J. H. (2016). Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Saga Pohon (*Adenanthera pavonina* L.) Terhadap Jamur *Candida albicans*. *JKK*. 5(2): 20–26
- [8] Rumanti, A., & Saragih, H. (2023). Ekstraksi dan Identifikasi Kandungan Senyawa Bioaktif Daun Saga Rambat (*Abrus precatorius*). *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 8(2): 59–68
- [9] Ichسانی, A., Febiola Lubis, C., Mahardika Urbaningrum, L., Dwi Rahmawati, N., & Anggraini, S. (2021). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Tanaman. *Jurnal Health Sains*. 2(6): 751–757
- [10] Pranata, A., & Marcellia, S. (2021). Perbandingan Efektivitas Ekstrak Etil Asetat Dan N-Heksana Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Sebagai Larvasida *Aedes aegypti*. *Jurnal Ilmu Kedokteran Dan Kesehatan*. 8(4): 325–333
- [11] Manalu, T. R., Farmasi, J., & Danya, F. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Gedi hijau (*Abelmoschus manihot*) Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Pharmaceutical Journal Of Indonesia*. 8(1), 17–23
- [12] Flemming, H.-C., Tamachkiorowa, A., Klahre, J. & Schmitt, J. Monitoring of fouling and biofouling in technical systems. *Water Sci. Technol*. 38, 291–298 (1998).
- [13] Untung, J., Mapiliandari, I., Lilasari Djanis, R., Kusumawati Hindarto, C., Amalia, A., Rachmy, S., Baru, T., Studi Pengolahan Limbah Industri, P., & AKA Bogor, P. (2022). Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Daun Saga (*Abrus precatorius*) terhadap *Candida albicans*. *Warta Akab*. 46(2): 1–4.
- [14] Manalu, T. R., Farmasi, J., & Danya, F. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Gedi hijau (*Abelmoschus manihot*) Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Pharmaceutical Journal Of Indonesia*. 8(1), 17–23.
- [15] Nisak, S. K., Bagus Pambudi, D., Waznah, U., & Slamet, S. (2021). Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Saga (*Abrus Precatorius* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 31987 dan *Staphylococcus aureus*. *Seminar Nasional Kesehatan*, November 2021.
- [16] Kurnianto, E., Ristia Rahman, I., & Hairunnisa. (2021). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Matoa yang Berasal dari Pontianak Timur dengan Variasi Konsentrasi Pelarut. *Jurnal Komunitas Farmasi Nasional*. 1(2): 131-138
- [17] Pargaputri, A. F., Munadzirroh, E., & Indrawati, R. (2017). The Effect of *Pluchea indica* Less Leaves Extract Againts Biofilm of *Enterococcus faecalis* and *Fusobacterium nucleatum* In Vitro. *Jurnal Kedokteran Gigi Denta*. 11(1): 51–61.
- [18] Rizki, S.A., Latief, M., Fitrianiingsih, & Rahman, H. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-heksan, Etil Asetat, dan Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* Linn.) terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis*. *Jambi Medical Journal*. 6(1): 442-457.
- [19] Weni, M., Marfuati, S., Fauzah, S.N., & Affandi, T.T., (2024). Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Tunas Medika*. 10(3): 10-17

- [20] Pamudi, B. F., Munira, & Nasir, M. (2024). Uji Aktivitas Antibiofilm Ekstrak Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) dari Kawasan Geotermal le Seum terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal SAGO: Gizi dan Kesehatan*. 5(3): 788-794
- [21] Hamzah, H., Hertiani, T., Pratiwi, S. U. T., & Nuryastuti, T. (2020). Efek Saponin Terhadap Penghambatan Planktonik Dan Mono-Spesies Biofilm *Candida albicans* ATCC 10231 Pada Fase Pertengahan, Pematangan dan Degradasi. *Jurnal Farmaseutik*. 17(2): 198-205
- [22] Fradine, C. Rahmawati, I. & Saptarini, O. (2024). Aktivitas Antibiofilm dan Antibakteri Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 8(3): 171-182
- [23] Pamudi, B. F., Munira, & Nasir, M. (2024). Uji Aktivitas Antibiofilm Ekstrak Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata L.*) dari Kawasan Geotermal le Seum terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal SAGO: Gizi dan Kesehatan*. 5(3): 788-794.
- [24] Besan, E. J., Rahmawati, I., & Saptarini, O. (2023). Aktivitas Antibiofilm Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) terhadap *Staphylococcus aureus*.
- [25] Wulansari, E. D., Lestari, D., & Khoirunissa, M. A. (2020). Kandungan Terpenoid Dalam Daun Ara (*Ficus carica L.*) Sebagai Agen Antibakteri Terhadap Bakteri Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon*. 9(2): 219
- [26] Wardani, Y. K., Kristiani, E. B. E., & Sucahyo. (2020). Korelasi Antara Aktivitas Antioksidan dengan Kandungan Senyawa Fenolik dan Lokasi Tumbuh Tanaman *Celosia argentea Linn*. *Bioma*. 22(2): 136-142
- [27] Larasati, A. A., Rosyunita, & Djannah, F. (2024). Antibacterial Activity of Centella asiatica N-Hexane Fraction against *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates. *Jurnal Biologi Tropis*. 24(4): 604-611
- [28] Aini, N., Mandalas, H. Y., & Edinata, K. (2021). Perbandingan Efektivitas Berkumur Dengan *Chlorhexidine* dan Obat Kumur yang Mengandung Daun Sirih (*Piper betle*) Terhadap Penurunan Indeks Plak Pasien Pengguna Alat Ortodontik Cekat. *SONDE (Sound of Dentistry)*. 6(2): 45-57
- [29] Hope, C. K., Wilson, M. (2010). An Analysis of The Effects of Chlorhexidine on Oral Biofilm Vitality and Structure Based on Viability Profiling and An Indicator of Membrane Integrity. *Oral Health Care Sciences*. 48(5): 1461-1468
- [30] Hidayati, A. N. & Liuwan, C. C. (2019). Peran Biofilm terhadap Infeksi Saluran Genital yang disebabkan oleh Vaginosis Bakterial. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*. 31(2): 150-158