

Potensi kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) dalam penghambatan pembentukan biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan pertumbuhan *Candida albicans*

Yoifah Rizka Wedarti^{1*}, Laurencia Isabella Loekito¹, Fani Pangabdian², Dwi Andriani³

¹Departemen Periodonsia, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Indonesia

²Departemen Konservasi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah, Indonesia

³Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara, Indonesia

*Korespondensi: e-mail: yoifah.rizka@hangtuah.ac.id

Submisi: 25 April 2020; Penerimaan: 31 Agustus 2020; Publikasi Online: 31 Oktober 2020

DOI: [10.24198/pjdrs.v4i2.26636](https://doi.org/10.24198/pjdrs.v4i2.26636)

ABSTRAK

Pendahuluan: Pembentukan biofilm sangat penting dalam patogenesis periodontitis. *Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri yang banyak ditemukan pada plak gigi dan memiliki kemampuan membentuk biofilm demikian juga *Candida albicans* memiliki faktor virulensi yang dapat membantu kolonisasi dan proliferasi bakteri di dalam poket periodontal. Ekstrak kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) mempunyai potensi antimikrobal yang dapat digunakan sebagai alternatif terapi. Tujuan penelitian untuk menganalisis potensi kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) dalam penghambatan biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan *Candida albicans*. **Metode:** Jenis penelitian adalah eksperimental murni. Penelitian ini menggunakan ekstrak kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) terhadap biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan biofilm *Candida albicans*. Dibagi menjadi 4 kelompok, di mana tiap kelompok terdiri dari 4 sampel. Kelompok K+ (kelompok kontrol positif), P1 (kitosan 0,25%), P2 (kitosan 0,5%), P3 (kitosan 1%). Penghambatan biofilm ditentukan dengan menggunakan metode *microtiter plate* yang menghasilkan nilai *optical density* kemudian dihitung dengan menggunakan rumus persen penghambatan. Analisis data menggunakan *one-way ANOVA* diikuti dengan uji LSD. **Hasil:** Terdapat perbedaan yang signifikan penghambatan biofilm dari kitosan *Portunus pelagicus* terhadap *Porphyromonas gingivalis* ($p < 0,05$) antara kelompok, kecuali K+ dengan P3. Sedangkan untuk penghambatan *Candida albicans* menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan dalam persentase penghambatan biofilm ($p < 0,05$), antara kelompok K+ dengan P2 dan P3; kelompok P1 dengan P2 dan P3; kelompok P2 dengan P3. **Simpulan:** Kitosan *Portunus pelagicus* memiliki potensi dalam menghambat pembentukan biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan pertumbuhan *Candida albicans*. Kitosan *Portunus pelagicus* 1% memiliki efek antimikrobal terbesar pada biofilm.

Kata kunci: Biofilm, *Porphyromonas gingivalis*, *Candida albicans*, kitosan, *Portunus pelagicus*, periodontitis.

*Potential of flower crab (*Portunus pelagicus*) chitosan in the inhibition of *Porphyromonas gingivalis* and *Candida albicans* biofilm*

ABSTRACT

Introduction: Biofilm formation is important in periodontitis pathogenesis. *Porphyromonas gingivalis* and *Candida albicans*, which are found in dental plaque and can form a biofilm, have virulence factor that facilitates the bacterial colonisation and proliferation in periodontal pockets. Chitosan extract of flower crab (*Portunus pelagicus*) has antimicrobial potential which can be used as an alternative therapy. The objective of this research was to analyse the potential of flower crab (*Portunus pelagicus*) chitosan in the inhibition of *Porphyromonas gingivalis* and *Candida albicans* biofilms. **Methods:** This research was a pure experimental laboratory. This study used flower crab (*Portunus pelagicus*) chitosan to inhibit the biofilm formation of *Porphyromonas gingivalis* and *Candida albicans*. The subjects were divided into four groups, where each group consisted of 4 samples. The K+ (positive control group), P1 (0.25% chitosan), P2 (0.5% chitosan), and P3 (1% chitosan). The biofilm inhibition was determined using the microtiter plate methods, which results in the value of optical density, then calculated using the inhibition formula percentage. Data analysis was conducted using the one-way ANOVA followed by the LSD test. **Results:** There were significant differences in the *Porphyromonas gingivalis* biofilm inhibition between groups ($p < 0.05$), except in group K+ with P3. Whereas for *Candida albicans* biofilm inhibition showed no significant difference ($p < 0.05$) between group K+ with P2 and P3; group P1 with P2 and P3; and group P2 with P3. **Conclusion:** The chitosan of flower crab (*Portunus pelagicus*) has the potential in inhibiting the biofilm formation of *Porphyromonas gingivalis* and *Candida albicans*. The highest antibacterial effect on the biofilm formation is shown in the concentration of 1%.

Keywords: Biofilm, *Porphyromonas gingivalis*, *Candida albicans*, chitosan, *Portunus pelagicus*, periodontitis.

PENDAHULUAN

Periodontitis adalah masalah kesehatan mulut yang banyak dialami oleh masyarakat Indonesia dengan prevalensi 74,1 persen pada semua kelompok umur.¹ Penyebab utama dari kelainan ini adalah faktor lokal, yang disebut bakteri plak, dan kondisi ini dapat diperburuk oleh kondisi sistemik.² Periodontitis disebabkan oleh interaksi antara mikroorganisme, produk bakteri, dan penurunan respons imun inang, yang mengakibatkan kerusakan pada jaringan pendukung gigi. Proses ini dikaitkan dengan mikrobiota subgingiva yang sangat beragam dan kompleks, termasuk bakteri gram positif dan gram negatif yang merupakan organisme fakultatif atau anaerob, termasuk *Porphyromonas gingivalis* dan *Candida albicans*.^{3,4,5,6} *Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri gram negatif anaerob yang dalam jumlah normal merupakan mikroflora normal yang dapat ditemukan di rongga mulut dan dikenal sebagai patogen penyebab utama periodontitis kronis.⁷

Porphyromonas gingivalis yang ditemukan dalam plak gigi atau biofilm, menyebabkan perubahan patologis pada jaringan periodontal dengan mengaktifkan respon imun dan inflamasi inang, dan secara langsung mempengaruhi sel-sel periodonsium.⁸ Biofilm yang terbentuk pada permukaan mukosa rongga rongga mulut dapat menjadi sumber utama infeksi.⁹ Biofilm umumnya memiliki struktur terorganisir yang terdiri dari mikrokoloni sel bakteri yang didistribusikan secara acak dalam bentuk matriks atau glikokaliks.²

Porphyromonas gingivalis dan *Candida albicans* dilaporkan saling berinteraksi sebagai agen penyebab terjadinya periodontitis kronis.¹⁰ Spesies *Candida* memiliki faktor virulensi yang memfasilitasi kolonisasi dan proliferasi bakteri pada mukosa mulut termasuk dalam poket periodontal. *Candida albicans* lebih banyak ditemukan pada sel epitel mukosa dari pasien periodontitis kronis dibandingkan dengan subjek sehat.¹¹ Selain itu ditemukan pula adanya hubungan peningkatan kolonisasi ragi terutama jenis *Candida albicans* pada pasien periodontitis dengan poket yang dalam.¹²

Kontak antara *Porphyromonas gingivalis* dan *Candida albicans* diinisiasi melalui modulasi ekspresi gen dari adhesin utama permukaan jamur *Als3* dan *aspartic proteasi Sap 6* dan *Sap 9*.¹³ Spesies *Candida albicans* dapat bergabung dengan bakteri biofilm pada gigi dan menempel pada sel epitel. Interaksi

ini, terkait dengan kemampuan biofilm ini dalam kerusakan jaringan ikat gingiva yang berkontribusi pada perkembangan penyakit periodontal.³ *Candida albicans* dapat mengeluarkan proteinase yang mampu menurunkan matriks ekstraseluler utama dan komponen membran basal yang menyebabkan peradangan destruktif dari jaringan periodontal yang mendasarinya.¹⁴

Kitosan, dikenal sebagai kitin yang mengalami deasetilasi, terdiri dari D-glukosamin β - (1-4) dan N-asetil-D-glukosamin yang didistribusikan secara acak dalam polimer.¹⁵ Kitosan merupakan polimer yang baik untuk aplikasi biomedis dan farmasetik dikarenakan memiliki sifat antaralain kemampuannya terbiodegradasi, biokompatibel, memiliki daya antimikroba, dan tidak toksik.¹⁶ *Polycationic* kitosan dapat berinteraksi dengan membran bermuatan negatif dan mengubah morfologi permukaan bakteri, yang dapat meningkatkan permeabilitas membran, menyebabkan kebocoran zat intraseluler (mengurangi fungsi membran), mencegah transportasi nutrisi.¹⁷ Mekanisme ini menjadi dasar aktivitas antimikroba kitosan.

Butarbutar¹⁸ melaporkan bahwa kitosan kepiting *Portunus pelagicus* dengan konsentrasi 0,5, 1, 1,5, dan 2% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang merupakan golongan bakteri gram negatif.¹⁸ Kitosan kepiting *Portunus pelagicus* dengan konsentrasi 0,25, 0,5, dan 1% memiliki efek antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis*.¹⁹ Sudjarwo dkk.²⁰ melaporkan adanya aktivitas antijamur nanopartikel kitosan dalam menghambat jamur *Candida albicans* maksimal pada konsentrasi 40000 ppm.²⁰ Berdasarkan data di atas, belum ada penelitian tentang penghambatan kitosan kepiting terhadap biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan *Candida albicans*, oleh karena itu penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui potensi kitosan kepiting *Portunus pelagicus* dengan konsentrasi 0,25, 0,5, dan 1% terhadap biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan biofilm *Candida albicans* yang merupakan etiologi utama periodontitis.

METODE

Jenis penelitian eksperimental murni dengan rancangan *posttest control only group design*. Teknik pengambilan sampel adalah *simple random sampling* dan penentuan jumlah sampel dihitung dengan

rumus sampel minimal menurut Dahlan.²¹ Unit eksperimental adalah *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 dan *Candida albicans* ATCC 10231 yang berasal dari Laboratorium Biologi Oral Universitas Hang Tuah Surabaya. Kelompok penelitian dibagi menjadi 4 kelompok dengan replikasi masing-masing 4 kali untuk perlakuan terhadap biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan biofilm *Candida albicans*. Kelompok tersebut masing-masing terdiri dari kelompok kontrol positif (tetrasiklin 0,7% pada biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan nistatin pada biofilm *Candida albicans*), serta masing-masing kelompok perlakuan 1 (P1): Kitosan *Portunus pelagicus* konsentrasi 0,25%, perlakuan 2 (P2): Kitosan *Portunus pelagicus* konsentrasi 0,5%, dan perlakuan 3 (P3): Kitosan *Portunus pelagicus* konsentrasi 1%. Setiap kelompok terdiri dari 4 sampel. Persiapan kitosan²² dilakukan dengan cangkang kepiting yang didapatkan dari kepiting rajungan segar dari Surabaya yang sebelumnya telah diidentifikasi di Fakultas Biologi Institut Teknologi Sepuluh November Surabaya, kemudian dicuci dan dikeringkan di bawah sinar matahari langsung selama ± 7 hari.

Cangkang kering kemudian dihaluskan dengan mortar dan disaring dengan saringan 50 mesh. Sampel cangkang ini kemudian diproses sesuai dengan prosedur, termasuk demineralisasi, deproteinasi, depigmentasi, dan deasetilasi. Kitosan *Portunus pelagicus* dilarutkan menggunakan asam asetat 1% dan kemudian dibuat konsentrasi 0,25, 0,5, dan 1%. Pembuatan kitosan ini dilakukan di laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Widya Mandala Surabaya. Uji penghambatan biofilm dilakukan dengan menggunakan metode plat mikrotiter (MTP).^{23,24} Hasil *optical density* (OD) dibaca menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 509 nm. Kekuatan penghambat pembentukan biofilm dari larutan uji dihitung dengan menggunakan

$$\% \text{ Inhibition} = \left(1 - \frac{(xOD_s - xOD_b)}{xOD_p} \right) 100\%$$

rumus berikut²⁵:

Informasi:

ODs: Optical Density (509 nm) samples tested;

ODbs: Optical Density sample blank;

ODp: (OD test solvent - OD solvent blank)

Penelitian telah lulus memperoleh izin etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hang Tuah Surabaya, nomor No.109/KEPK/X/2018.

HASIL

Aktivitas penghambatan terhadap biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan biofilm *Candida albicans* dari kitosan *Portunus pelagicus* sebelumnya ditentukan oleh Metode Plat Mikrotiter (MTP) dan memperoleh hasil rata-rata yang disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Persentase rata-rata penghambatan biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan biofilm *Candida albicans*

Grup	Replikasi	<i>P. gingivalis</i>	<i>C. albicans</i>
K ⁺	4	75,9 ± 1,41	50,59 ± 0,37
P1	4	35,3 ± 1,40	48,42 ± 1,12
P2	4	52,6 ± 1,18	61,03 ± 2,07
P3	4	73,8 ± 0,65	69,57 ± 3,09

P1:Kitosan *Portunus pelagicus* 0,25%; P2: Kitosan *Portunus pelagicus* 0,5%; P3: Kitosan *Portunus pelagicus* 1%; K+: Kontrol positif *Porphyromonas gingivalis* (tetrasiklin 0,7%) dan *Candida albicans* (Nystatin)

Data menunjukkan persentase penghambatan tertinggi biofilm *P. gingivalis* terjadi pada kelompok K+ dan tingkat persentase penghambatan terendah terjadi pada kelompok P1. Sedangkan persentase penghambatan tertinggi biofilm *C. albicans* terjadi pada kelompok P3 dan terendah pada kelompok P1. Data kemudian diuji normalitas dengan uji Shapiro-Wilk dan uji Levene untuk homogenitas yang menunjukkan bahwa data terdistribusi normal ($p>0,05$) dan homogen ($p>0,05$) (Tabel 2). Hasil uji homogenitas varians dengan Levene daya hambat chitosan terhadap *Porphyromonas gingivalis* ($p=0,053$) dan *Candida albicans* ($p=0,539$). Dari data tersebut kemudian data diuji dengan one-way ANOVA dengan post-hoc LSD untuk mengetahui perbedaan antar kelompok (Tabel 3 dan 4). Berikut merupakan hasil uji normalitas dengan Shapiro-Wilk daya hambat chitosan terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan *Candida albicans*.

Tabel 2. Hasil uji normalitas dan homogenitas biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan biofilm *Candida albicans*

Kelompok	Shapiro-Wilk		Uji Levene	
	Sig. (<i>P.gingivalis</i>)	Sig. (<i>C.albicans</i>)	Sig. (<i>P.gingivalis</i>)	Sig. (<i>C.albicans</i>)
K(+)	0,61	0,69		
P1	0,10	0,36		
P2	0,055	0,64	0,053	0,539
P3	0,44	0,20		

P1:Kitosan *Portunus pelagicus* 0,25%; P2: Kitosan *Portunus pelagicus* 0,5%; P3: Kitosan *Portunus pelagicus* 1%; K+: Kontrol positif *Porphyromonas gingivalis* (tetrasiklin 0,7%) dan *Candida albicans* (Nystatin)

Tabel 3. Hasil uji LSD biofilm *Porphyromonas gingivalis*

<i>P.gingivalis</i>	P1	P2	P3
K(+)	0,001*	0,001*	0,001*
P1		0,240972222	0,333333333
P2			0,078472222

Tabel 4. Hasil uji LSD biofilm *Candida albicans*

<i>C. albicans</i>	P1	P2	P3
K(+)	0,113194444	0,029*	0,001*
P1		0,002*	0,020*
P2			0,001*

Hasil uji LSD menunjukkan perbedaan yang signifikan dalam nilai persentase penghambatan biofilm kitosan *Portunus pelagicus* terhadap *Porphyromonas gingivalis* ($p<0,05$) antar kelompok, kecuali K+ dengan P3. Hasil uji LSD untuk penghambatan *Candida albicans* menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan dalam persentase penghambatan biofilm ($p<0,05$), antara kelompok K+ dengan P2 dan P3; kelompok P1 dengan P2 dan P3; dan kelompok P2 dengan P3.

PEMBAHASAN

Kitosan *Portunus pelagicus* dengan konsentrasi 0,25, 0,5, dan 1% menunjukkan peningkatan persentase penghambatan biofilm *Porphyromonas gingivalis* diikuti oleh peningkatan konsentrasi kitosan kepiting (*Portunus pelagicus*). Ini menunjukkan bahwa kitosan *Portunus pelagicus* memiliki kemampuan menghambat pembentukan biofilm *Porphyromonas gingivalis*. Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa kitosan kepiting (*Portunus pelagicus*) 1% memiliki persentase penghambatan biofilm tertinggi dibandingkan dengan konsentrasi lain.

Penelitian oleh Loekito dkk.¹⁹ menunjukkan hasil yang sama di mana daya antibakteri terbesar kitosan kepiting (*Portunus pelagicus*) pada konsentrasi 1%. Kitosan kepiting (*Portunus pelagicus*) pada konsentrasi 0,25 dan 0,5% memiliki kandungan kitosan lebih sedikit sehingga mekanisme antibakteri dalam kitosan dengan konsentrasi ini tidak bekerja secara optimal. Hal ini memberikan dampak persentase penghambatan yang dihasilkan lebih rendah jika dibandingkan dengan konsentrasi kitosan 1%. Sebelumnya, Costa et al.²⁶ melaporkan bahwa kitosan menunjukkan efek yang kuat terhadap patogen periodontal melalui

penghambatan pembentukan biofilm. Kitosan dengan berat molekul rendah dan tinggi terhadap biofilm *Porphyromonas gingivalis* memberikan persentase hambatan sekitar 82-88%.²⁶ Hasil penelitian ini menggambarkan kelompok kontrol positif tetrakisiklin memiliki persentase tertinggi dalam penghambatan pembentukan biofilm *P. gingivalis* dibandingkan dengan kelompok lain (Tabel 1), tapi tidak terdapat perbedaan signifikan dengan kitosan *Portunus pelagicus* 1% (Tabel 3).

Hal ini menunjukkan bahwa tetrakisiklin dan kitosan *Portunus pelagicus* 1% memiliki efek yang sama dalam menghambat pembentukan biofilm *Porphyromonas gingivalis*. Hasil penelitian Susanto dkk.²⁷ menunjukkan tetrakisiklin gel tanpa basis kitosan efektif menghambat bakteri *Porphyromonas gingivalis*, namun tetrakisiklin gel yang ditambahkan basis kitosan memiliki efek antibakteri terbaik dibandingkan dengan tanpa basis kitosan. Hal ini menunjukkan bahwa kitosan memiliki efek antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis*. Mekanisme antibakteri kitosan melibatkan interaksi muatan positif dari kitosan dengan konstituen bermuatan negatif dinding sel mikroba sehingga menyebabkan terganggunya metabolisme sel normal mikroorganisme.²⁸

Mekanisme pada bakteri gram negatif dan gram positif berbeda dikarenakan komposisi fosfolipid dan asam karboksilat dari dinding sel bakteri. Mekanisme pada bakteri gram positif, kitosan bermassa molekul tinggi dapat membentuk lapisan tipis di sekitar sel sehingga menghambat penyerapan nutrisi. Kitosan bermassa molekul rendah sebaliknya lebih mudah melakukan penetrasi dalam bakteri gram negatif yang mengakibatkan terganggunya metabolisme mikroorganisme tersebut.²⁹

Penelitian ini menggunakan *Porphyromonas gingivalis* yang merupakan bakteri anaerob gram negatif, sehingga mengkonfirmasi bahwa kitosan sensitif terhadap biofilm *Porphyromonas gingivalis*. Hasil penelitian ini (Tabel 1), efek penghambatan kitosan *Portunus pelagicus* dengan konsentrasi 0,25, 0,5 dan 1%, terhadap *Candida albicans* menunjukkan peningkatan persentase penghambatan biofilm diikuti oleh peningkatan konsentrasi kitosan *Portunus pelagicus*.

Hal ini sesuai dengan penelitian oleh Costa et al.³⁰ yang menunjukkan kitosan merupakan agen anti-*Candida* efektif yang mampu bekerja pada infeksi *Candida albicans*, baik dengan berat

molekul tinggi ($MIC=1\text{mg/ml}$) dan berat molekul rendah ($MIC=3\text{mg/ml}$). Dalam penelitian ini kitosan kepiting *Portunus pelagicus* 1% memiliki persentase penghambatan tertinggi dibandingkan dengan konsentrasi 0,25%, 0,5%, dan nistatin (Tabel 4). Kitosan *Portunus pelagicus* dengan konsentrasi 1% memiliki kemampuan penghambatan biofilm terbesar terhadap *Candida albicans* dibandingkan dengan konsentrasi lainnya.

Penelitian oleh Martinez *et al.*³¹ melaporkan bahwa biofilm dari *Candida albicans* dan *Candida parapsilosis* diterapi dengan kitosan menunjukkan terjadinya penurunan signifikan secara statistik pada aktivitas metabolismik, dibandingkan dengan biofilm yang tidak diterapi. Costa *et al.*³⁰ menemukan bahwa kitosan menghambat pembentukannya biofilm (persentase di atas 90%) dan menguranginya biofilm dewasa sebanyak 65% dan biofilm spesies ganda (*Candida albicans* dan *Streptococcus mutans*) yaitu sebesar 70%.

Hasil ini menggambarkan potensi molekul kitosan yang akan digunakan sebagai agen *anti-candida* efektif mampu untuk bertindak pada infeksi *Candida albicans*.³¹ Pena *et al.*³² melaporkan bahwa konsentrasi kitosan yang rendah tidak memberikan efek antifungal oleh kitosan dan mengusulkan menggunakan konsentrasi lebih dari 1 mg/ml atau setara dengan 0,1%. Konsentrasi pada penelitian ini yang digunakan melebihi dari konsentrasi tersebut dan mengkonfirmasi bahwa kitosan sensitif terhadap biofilm *Candida albicans* dan memiliki aktivitas penghambatan yang lebih efektif daripada nistatin. Penelitian lebih lanjut mengenai aktifitas antibiofilm bahan ini dengan bakteri patogen rongga mulut lainnya diperlukan karena efek antimikrobal dari bahan ini.

Penelitian ini menunjukkan kitosan *Portunus pelagicus* menghambat biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan *Candida albicans* dan menunjukkan peningkatan persentase penghambatan biofilm diikuti oleh peningkatan konsentrasi kitosan *Portunus pelagicus* (Tabel 1). Hal ini memungkinkan terjadi oleh karena perbedaan jumlah gugus amina (-NH₂) pada kitosan. Gugus amina (-NH₂) yang bermuatan positif pada kitosan yang akan mengikat permukaan benda kerja sel bakteri bermuatan negatif dimana semakin besar konsentrasi kitosan semakin banyak jumlahnya gugus amina (-NH₂) yang dapat berikatan dengan permukaan sel bakteri, membuatnya akan lebih efektif dalam menghambat

pembentukannya biofilm dan membunuh bakteri.³³

SIMPULAN

Kitosan *Portunus pelagicus* memiliki potensi dalam menghambat pembentukan biofilm *Porphyromonas gingivalis* dan pertumbuhan *Candida albicans*. Kitosan *Portunus pelagicus* 1% memiliki efek antimikrobal terbesar pada biofilm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Balitbangkes). RISKESDAS 2017-2018. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2018. h. 100.
2. Newman M, Takei H, Klokkevold P, Carranza F. Newman and Carranza's Clinical Periodontology. 13th ed. Philadelphia: Saunders-Elsevier; 2011: pp. 103, 106, 138, 161.
3. Sardi JCO, Duque C, Mariano FS, Peixoto ITA, Höfling JF, Gonçalves RB. *Candida* spp. in periodontal disease: A brief review. *J Oral Sci.* 2010; 52(2): 177-85. DOI: [10.2334/josnusd.52.177](https://doi.org/10.2334/josnusd.52.177)
4. Sardi JCO, Duque C, Camargo GACG, Hofling JF, Gonçalves RB. Periodontal conditions and prevalence of putative periodontopathogens and *Candida* spp. in insulin-dependent type 2 diabetic and non-diabetic patients with chronic periodontitis—A pilot study. *Arch Oral Biol.* 2011; 56(10): 1098-105. DOI: [10.1016/j.archoralbio.2011.03.017](https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2011.03.017)
5. Venkatesan G, Uppoor A, Naik D, Kadkampally D, Maddi A. Oral *Candida* carriage and morphotype differentiation in chronic periodontitis patients with and without diabetes in the Indian sub-continent. *Dent J (Basel).* 2015; 3(4): 123-31. DOI: [10.3390/dj3040123](https://doi.org/10.3390/dj3040123)
6. Xu X, Tong T, Yang X, Pan Y, Lin L, Li C. Differences in survival, virulence and biofilm formation between sialidase-deficient and W83 wild-type *Porphyromonas gingivalis* strains under stressful environmental conditions. *BMC Microbiol.* 2017; 17(1): 178. DOI: [10.1186/s12866-017-1087-2](https://doi.org/10.1186/s12866-017-1087-2)
7. Paliling A, Posangi J, Anindita PS. Uji daya hambat ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *J eGiGi.* 2016; 4(2): 229-34. DOI: [10.35790/eg.4.2.2016.14159](https://doi.org/10.35790/eg.4.2.2016.14159)

8. Kusumawardani B, Pujiastuti P, Sari DS. Uji biokimiawi sistem API 20 A mendeteksi *Porphyromonas gingivalis* isolat klinik dari plak subgingiva pasien periodontitis kronis. J PDGI. 2010; 59(3): 110–14.
9. Alibasyah ZM, Andayani R Farhana A. Potensi antibakteri ekstrak jahe (*Zingiber officinale Roscoe*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* secara in vitro. J Syiah Kuala Dent Soc. 2016; 1(2): 147–52.
10. How KY, Song KP, Chan KG. *Porphyromonas gingivalis*: An overview of periodontopathic pathogen below the gum line. Front microbiol. 2016; 7: 53. DOI: [10.3389/fmicb.2016.00053](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00053)
11. Machado AG, Komiyama EY, Dos Santos SSF, Jorge AOC, Brighenti FL, Koga-Ito CY. In vitro adherence of *Candida albicans* isolated from patients with chronic periodontitis. J Appl Oral Sci. 2011; 19(4): 384-7. DOI: [10.1590/S1678-77572011005000014](https://doi.org/10.1590/S1678-77572011005000014)
12. Canabarro A, Valle C, Farias MR, Santos FB, Lazera M, Wanke B. Association of subgingival colonization of *Candida albicans* and other yeasts with severity of chronic periodontitis. J Periodontal Res. 2013; 48(4): 428-32. DOI: [10.1111/jre.12022](https://doi.org/10.1111/jre.12022)
13. Bartnicka D, Karkowska-Kuleta J, Zawrotniak M, Satała D, Michalik K, Zielinska G, et al. Adhesive protein-mediated cross-talk between *Candida albicans* and *Porphyromonas gingivalis* in dual species biofilm protects the anaerobic bacterium in unfavorable toxic environment. Sci Rep. 2019; 9(1): 1-3. DOI: [10.1038/s41598-019-40771-8](https://doi.org/10.1038/s41598-019-40771-8)
14. Sasikumar PI, Srihari J, Chitresan K, Maradi A, Krishna P. Prevalence of *Candida albicans* in chronic periodontitis patients. J Evolut Med Dent Sci. 2017; 6(87): 6056-60. DOI: [10.14260/jemds/2017/1315](https://doi.org/10.14260/jemds/2017/1315)
15. Cheung RCF, Ng TB, Wong JH, Chan WY. Chitosan: An update on potential biomedical and pharmaceutical applications. Mar Drugs. 2015; 13(8): 5156-86. DOI: [10.3390/md13085156](https://doi.org/10.3390/md13085156)
16. Sartika ID. Isolasi dan karakterisasi kitosan dari cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*). J Biosains Pasca. 2016; 18(2): 98-112. DOI: [10.20473/jbp.v18i2.2016.98-111](https://doi.org/10.20473/jbp.v18i2.2016.98-111)
17. Meng X, Xing R, Liu S, Yu H, Li K, Qin Y, et al. Molecular weight and pH effects of aminoethyl modified chitosan on antibacterial activity in vitro. Int J Biol Macromol. 2012; 50(4): 918-24. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2012.01.018](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.01.018)
18. Butarbutar E. Uji Aktivitas Antibakteri Kitosan Berbahan Baku Cangkang Rajungan (*Portunus pelagicus*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* [skripsi]. Medan: Universitas Sumatera Utara; 2018.
19. Loekito LI, Wedarti YR, Pangabdian F. Daya antibakteri kitosan kepiting rajungan (*Portunus pelagicus*) terhadap biofilm *Porphyromonas Gingivalis*. DENTA J Ked Gi. 2018; 12(2): 82-88.
20. Sudjarwo GW, Rosalia MS, Mahmiah M. Uji Aktivitas Anti Jamur Nanopartikel Kitosan Terhadap Jamur *Candida albicans* secara In Vitro. In: Taufiqurrahman M, ed. Prosiding SEMINAKEL UHT. Proceedings of “Implementasi Hasil Riset Sumber Daya Laut dan Pesisir Dalam Peningkatan Daya Saing Indonesia” Seminar Nasional Kelautan Fakultas Teknik dan Ilmu Kelautan Universitas Hang Tuah; 2019 Jul 11; Surabaya, Indonesia. Surabaya: Fakultas Teknik dan Ilmu Kelautan Universitas Hang Tuah; 2019.
21. Dahlan MS. Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan: Deskriptif, Bivariat, dan Multivariat. 6th ed. Jakarta: Epidemiologi Indonesia; 2011.
22. Sukma S, Lusiana SE, Masruri M, Suratmo S. Kitosan dari rajungan lokal *Portunus pelagicus* asal Probolinggo, Indonesia. J Ilm Kim Univ Brawijaya. 2014; 2(2): 506-12.
23. Dhanasekaran D, Vinothini K, Latha S, Thajuddin N, Pannearselvam A. Human dental biofilm: Screening, characterization, in vitro biofilm formation and antifungal resistance of *Candida* spp. Saudi J Dent Res. 2014; 5(1): 55-70. DOI: [10.1016/j.sjdr.2013.10.001](https://doi.org/10.1016/j.sjdr.2013.10.001)
24. Arjuna A, Pratama WS, Natsir S, Mufidah M. Uji pendahuluan anti-biofilm esktrak teh hijau dan teh hitam pada *Streptococcus mutans* melalui metode microtiter plate. J Farm Galenika. 2014; 4(1): 44-9. DOI: [10.22487/j24428744.2018.v4.i1.9965](https://doi.org/10.22487/j24428744.2018.v4.i1.9965)
25. Pratiwi SUT, Lagendijk EL, Hertiani T, de Weert S, Van Den Hondel CAMJJ. Antimicrobial effects of Indonesian medicinal plants extracts on planktonic and biofilm growth of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. J Horticult. 2015; 2(1): 1-14. DOI: [10.4172/2376-0354.1000119](https://doi.org/10.4172/2376-0354.1000119)
26. Costa EM, Silva S, Pina C, Tavaria FK, Pintado ME. Antimicrobial effect of chitosan against periodontal pathogens biofilms. SOJ Microbiol

- Infect Dis. 2014; 2(1): 1-6. DOI: [10.15226/sojmid.2013.00114](https://doi.org/10.15226/sojmid.2013.00114)
27. Susanto C, Ervina I, Agusnar H. In vitro evaluation of antimicrobial effectiveness chitosan based tetracycline gel on some pathogenic periodontal bacteria. *Int J Appl Dent Sci.* 2017; 3(2): 71-6.
28. Islam MM, Masum SM, Mahbub KR. In vitro antibacterial activity of shrimp chitosan against *Salmonella paratyphi* and *Staphylococcus aureus*. *J Bangladesh Chem Soc.* 2011; 24(2): 185-90. DOI: [10.3329/jbcs.v24i2.9707](https://doi.org/10.3329/jbcs.v24i2.9707)
29. de Carvalho MMSG, Stamford TCM, dos Santos EP, Tenorio P, Sampaio F. Chitosan as an Oral Antimicrobial Agent. In: Mendez-Vilas A, ed. *Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances - Microbiology Book Series.* Badajoz: Formatec Research Center; 2011. p. 13.
30. Costa E, Silva S, Tavarria F, Pintado M. Antimicrobial and antibiofilm activity of chitosan on the oral pathogen *Candida albicans*. *Pathogens.* 2014; 3(4): 908-19. DOI: [10.3390/pathogens3040908](https://doi.org/10.3390/pathogens3040908)
31. Martinez LR, Mihu MR, Tar M, Cordero RJB, Han G, Friedman AJ, et al. Demonstration of antibiofilm and antifungal efficacy of chitosan against candidal biofilms, using an in vivo central venous catheter model. *J Infect Dis.* 2010; 201(9): 1436-40. DOI: [10.1086/651558](https://doi.org/10.1086/651558)
32. Peña A, Sánchez NS, Calahorra M. Effects of chitosan on *Candida albicans*: Conditions for its antifungal activity. *Biomed Res Int.* 2013; 2013: 527549. DOI: [10.1155/2020/1487259](https://doi.org/10.1155/2020/1487259)
33. Dania R, Kania D, Taufiqurrahman I. Antibacterial activity of chitosan from haruan (*Channa striata*) fish scales against the growth of *Porphyromonas gingivalis*. *Dentino.* 2020; 5(1): 53-7. DOI: [10.20527/dentino.v5i1.8122](https://doi.org/10.20527/dentino.v5i1.8122)