

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI-FRAKSI
DARI EKSTRAK ETANOL BUNGA CENGKEH (*Syzygium aromaticum*)
TERHADAP *Streptococcus mutans***

Dyah Aji Sofyaningtyas¹, Maulita Cut Nuria^{2*}

¹Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim

²Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim

Jl. Raya Manyaran-Gunungpati, Nongkosawit, Semarang, Jawa Tengah 50224.

*Email: maulita@unwahas.ac.id

Abstrak

Ekstrak etanol bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) mengandung senyawa triterpenoid, kumarin, aglikon flavon, flavonoid, tanin dan saponin yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya. Penelitian ini bertujuan mengetahui golongan senyawa serta aktivitas antibakteri fraksi-fraksi ekstrak bunga cengkeh terhadap *Streptococcus mutans*. Ekstrak bunga cengkeh difraksinasi secara bertingkat menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan air dengan partisi cair-cair. Ekstrak dan fraksi yang diperoleh dilakukan skrining fitokimia. Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap fraksi-fraksi konsentrasi 20;25;30;35%, kontrol positif ciprofloxacin 5 µg/disk dan kontrol negatif pelarut Dimetil Sulfoksida (DMSO) menggunakan metode difusi cakram. Hasil uji aktivitas antibakteri berupa nilai DDH (Diameter Daerah Hambat) yang dianalisis secara statistik untuk fraksi n-heksan sedangkan analisis deskriptif ditujukan untuk fraksi etil asetat dan air. Hasil skrining fitokimia menunjukkan semua fraksi mengandung senyawa golongan kumarin, aglikon flavon, dan flavonoid sedangkan senyawa triterpenoid, fenolik dan saponin ditemukan berturut-turut hanya pada fraksi n-heksan, fraksi etilasetat dan fraksi air. Fraksi n-heksan konsentrasi 35% memiliki aktivitas antibakteri dengan rata-rata DDH 15,63±0,38 mm dan tipe zona hambat radikal. Fraksi etil asetat dan air menghasilkan zona hambat irradikal. Analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan nilai DDH antar konsentrasi fraksi n-heksan terhadap *S.mutans* kecuali konsentrasi 20 dan 25% serta 30 dan 35%.

Kata kunci: Antibakteri, Bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.), Fraksi-fraksi, *Streptococcus mutans*

Abstract

Ethanol extract of clove (*Syzygium aromaticum*) flower contains triterpenoid compounds, coumarins, flavone aglycones, flavonoids, tannins and saponins which have antibacterial activity against *Streptococcus mutans*. Fractionation was carried out to separate compounds based on their polarity. This study aims to determine the chemical compound groups and antibacterial activity of fractions of clove flower extract against *S. mutans*. Ethanol extract of clove flower was partitioned successively with n-hexane, ethyl acetate and water. The extracts and fractions obtained were subjected to phytochemical screening. Antibacterial activity tests were carried out on fractions of concentration 20; 25; 30; 35%, using positive control ciprofloxacin 5µg/disk and negative control Dimethyl Sulfoxide (DMSO) solvent with disc diffusion method. The result of the antibacterial activity test characterized by the formation of zone of inhibition which were then analyzed statistically for the n-hexane fraction, meanwhile descriptive analysis for the ethyl acetate and water fractions. The results show that the phytochemical compounds from all fractions contained coumarin group, flavone aglycones, and flavonoids while triterpenoid, phenolic and saponin compounds were found respectively only in the n-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction. The n-hexane fraction has antibacterial activity with an average zone of inhibition of 15.63±0.38 mm at 35% concentration, with a radical zone type. The ethyl acetate and water fractions produce an irradical zone type. Statistical analysis showed differences in zone of inhibition between concentration of n-hexane fraction against *S. mutans*, except for concentrations of 20 and 25% and 30 and 35%.

Keywords: Antibacterial, Clove (*Syzygium aromaticum* L.) flowers, Fractions, *Streptococcus mutans*

1. PENDAHULUAN

Karies gigi merupakan gangguan kesehatan gigi yang diderita lebih dari 80% penduduk Indonesia dan bersifat progresif (Kemenkes RI., 2018). Karies gigi dapat disebabkan berbagai faktor, yaitu faktor inang (gigi dan saliva), makanan dan mikroorganisme, seperti bakteri dari jenis *Streptococcus* dan *Lactobacillus*. *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) merupakan flora normal dalam rongga mulut yang menghasilkan asam pada proses metabolisme karbohidrat sehingga dapat menyebabkan demineralisasi gigi sebagai penyebab utama terbentuknya karies gigi (Kidd dan Bechal, 1991). Karies gigi pada tahap awal biasanya tidak menimbulkan keluhan namun apabila tidak segera mendapatkan penanganan maka infeksi akan meluas dan menyebabkan terjadinya rasa sakit dan kematian jaringan pada gigi (Listriana dkk., 2018). Karies gigi akibat infeksi bakteri dapat dibantu pengobatannya menggunakan bahan alam, salah satunya dengan bunga cengkeh.

Cengkeh merupakan tanaman rempah yang sejak lama digunakan dalam berbagai industri, salah satunya obat-obatan. Bagian tanaman yang dapat dimanfaatkan adalah bunga, tangkai bunga, dan daun. Menurut Nurdjannah (2004) cengkeh mengandung minyak atsiri dalam jumlah besar, baik dalam bunga (10-20%), tangkai (5-10%) dan daun (1-4%). Minyak bunga cengkeh lebih efektif dibandingkan dengan *Pulperyl* dalam menghambat akumulasi bakteri *Streptococcus mutans* secara *in vitro*. Salah satu kandungan cengkeh yang berperan penting dalam menghambat akumulasi bakteri *Streptococcus mutans* adalah eugenol (Poernomo dkk., 2018). Hasil uji aktivitas antibakteri yang dilakukan oleh Andries dkk. (2014) menyebutkan ekstrak etanol bunga cengkeh memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat bening pada konsentrasi 40%, 60% dan 80% dengan nilai diameter daerah hambat (DDH) secara berturut-turut 18,83 mm, 19,70 mm dan 29,02 mm. Ekstrak metanol bunga cengkeh pada konsentrasi 25% memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* ditandai dengan adanya zona hambat bening sebesar 37 mm (Suhendar dan Fathurrahman, 2019). Ekstrak etanol bunga cengkeh mempunyai efek antimikroba terhadap Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) secara *in vitro*. Nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak tersebut adalah 0,39% (Azizah dkk., 2019).

Ekstrak etanol bunga cengkeh mengandung senyawa triterpenoid, kumarin, aglikon flavon, flavonoid, fenolik, tanin galat dan saponin (Faqer dkk., 2022). Berdasarkan penelitian Mostafa dkk. (2022) minyak atsiri yang terkandung dalam ekstrak etanol bunga cengkeh adalah Eugenol (54,71%), Eugenyl acetate (17,40%), Caryophyllene (11,22%), Humulene (5,20%), Caryophyllene oxide (4,77%), Copaene (3,80%) dan β -cadinene (2,89%). Ekstrak etanol bunga cengkeh memiliki kandungan senyawa kimia dengan polaritas yang berbeda. Teknik fraksinasi dapat digunakan untuk memisahkan kandungan kimia dalam suatu ekstrak berdasarkan kepolarannya. Menurut polaritasnya, senyawa minyak atsiri, triterpenoid dan kumarin akan tersari ke dalam pelarut non polar (n-heksan), suatu aglikon flavon akan tersari ke dalam pelarut semi polar (etil asetat), sedangkan senyawa golongan flavonoid dan fenolik akan tersari ke dalam pelarut semi polar hingga polar (etil asetat dan air). Senyawa tanin galat dan saponin merupakan senyawa polar yang dapat tersari ke dalam pelarut air. Tujuan penelitian ini adalah melakukan skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa kimia dalam fraksi-fraksi ekstrak etanol bunga cengkeh serta aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

2. METODE

2.1 Bahan dan Alat

Bahan tanaman adalah bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) yang diperoleh dari budidaya cengkeh di Desa Ngesrebalong, Kabupaten Kendal, Jawa Tengah. Bunga cengkeh dipanen ketika bunga masih berwarna hijau atau kemerah-merahan dan belum membuka atau masih kuncup. Bahan lainnya adalah pelarut seperti etanol 96%, n-heksan, kloroform, etil asetat, amil alkohol, aquades dan pereaksi seperti H_2SO_4 , asam asetat glasial, $AlCl_3$ 1%, NaOH 10%, Mayer, Dragendorff, Wagner, serbuk magnesium, HCl, $FeCl_3$, dan larutan gelatin 10%. Biakan murni bakteri *Streptococcus mutans* didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang. Uji aktivitas antibakteri menggunakan media agar darah (*Blood Agar Plate/BAP*), Brain Heart Infusion (BHI), larutan standar Mc Farland 0,5 (kerapatan suspensi bakteri $1,5 \times 10^8$ CFU/mL), cakram kertas, larutan dimethyl sulfoxide (DMSO) dan ciprofloxacin 5 μ g/disk.

Alat yang digunakan adalah lemari pengering, timbangan analitik, *moisture balance* (OHAUS), seperangkat alat ekstraksi maserasi, penguap vakum putar (Heidolph), corong pisah, pengering beku, autoklaf, mikropipet, *Laminar Air Flow* (LAF) (Air Tech), inkubator (Binder) dan jangka sorong.

2.2 Pembuatan Ekstrak Bunga Cengkeh

Bunga cengkeh dipanen, disortasi basah hingga diperoleh sebanyak 3132 gram, dicuci dengan air mengalir kemudian diangin-anginkan. Proses pengeringan di almari pengering pada suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$ hingga simplisia kering yang ditandai dengan bunga cengkeh mudah hancur bila dipatahkan. Simplisia kering kemudian disortasi kembali untuk memastikan tidak ada pengotor atau memisahkan bagian simplisia yang rusak akibat pengeringan. Simplisia bunga cengkeh kemudian dijadikan bentuk serbuk dan diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% (komposisi bahan:pelarut = 1:10). Serbuk direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 24 jam. Campuran ini kemudian disaring dan filtrat diambil. Proses penyarian diulangi sebanyak 2 kali menggunakan jumlah pelarut dan waktu perendaman yang sama. Filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan penguap vakum putar pada suhu 55°C hingga diperoleh ekstrak kental bunga cengkeh sebanyak 158,9 gram, yang kemudian disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat.

2.3 Pembuatan Fraksi-fraksi dari Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh

Ekstrak etanol bunga cengkeh difraksinasi bertingkat secara partisi cair-cair menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air. Fraksinasi dilakukan dengan cara mensuspensikan ekstrak menggunakan air dengan perbandingan 1:10. Setelah ekstrak bercampur dengan air, kemudian dimasukkan kedalam corong pisah dan ditambahkan pelarut *n*-heksan sebanyak volume airnya. Penggojokan dilakukan hingga kedua pelarut berinteraksi. Fase *n*-heksan berada pada lapisan atas dan fase air berada pada lapisan bawah corong pisah. Setelah itu corong pisah didiamkan hingga terbentuk dua fase yang tidak saling bercampur. Fase air dan fase *n*-heksan masing-masing dipisahkan. Fraksi air dilakukan fraksinasi ulang menggunakan pelarut *n*-heksan yang baru hingga pelarut *n*-heksan tidak berwarna lagi yang menandakan pelarut sudah tidak dapat menarik senyawa non polar yang terkandung dalam ekstrak etanol bunga cengkeh. Fraksi *n*-heksan yang diperoleh ditampung. Fraksi air dilakukan fraksinasi lanjutan menggunakan pelarut etil asetat dengan cara yang sama seperti perlakuan fraksi *n*-heksan sebelumnya. Fraksi air dan etil asetat dipisahkan, lalu fraksi air dan seluruh fraksi etil asetat dikumpulkan. Fraksi *n*-heksan dan etil asetat dipekatkan menggunakan penguap vakum putar sedangkan fraksi air menggunakan metode pengeringan beku.

2.4 Skrining Fitokimia Fraksi-fraksi

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa secara kualitatif. Uji ini dilakukan pada ekstrak dan fraksi-fraksi yang telah diperoleh (4 sampel). Golongan senyawa yang diidentifikasi adalah triterpenoid, kumarin, aglikon flavon, flavonoid, alkaloid, fenolik, tanin dan saponin. Uji-uji skrining fitokimia mengacu pada Sarker dkk. (2012) dan Faqer dkk. (2022).

2.4.1 Uji Triterpenoid

Identifikasi triterpenoid dilakukan pada sampel ekstrak etanol bunga cengkeh dan fraksi *n*-heksan. Pengujian dilakukan menggunakan uji Liebermann-Burchard (LB), masing-masing sampel ditambahkan 2 mL kloroform, kemudian ditambahkan pereaksi LB. Reaksi dikatakan positif jika terjadi perubahan warna merah jingga atau merah kecoklatan.

2.4.2 Uji Kumarin

Uji kumarin dilakukan pada keempat sampel dengan cara masing-masing sampel dilarutkan etanol kemudian ditambahkan dengan pereaksi NaOH 10%. Reaksi positif jika terjadi perubahan warna menjadi kuning hingga coklat.

2.4.3 Uji Aglikon Flavon

Uji aglikon flavon dilakukan pada keempat sampel dengan cara masing-masing sampel ditambahkan etanol, kemudian dipanaskan selama 5 menit, lalu disaring. Filtrat ditambahkan serbuk

magnesium dan 3 mL amil alkohol. Setelah itu ditambahkan HCl pekat sebanyak 1 mL. Reaksi positif ditunjukkan oleh warna merah, kuning atau jingga.

2.4.4 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan pada keempat sampel dengan cara masing-masing sampel dilarutkan etanol kemudian ditambahkan 2 mL pereaksi $AlCl_3$ 1%. Reaksi positif jika terjadi perubahan warna menjadi kuning.

2.4.5 Uji Alkaloid

Identifikasi alkaloid menggunakan pereaksi Mayer, Dragendorf dan Wagner. Ekstrak dilarutkan dalam 15 mL HCl 2N kemudian disaring dan larutan dibagi kedalam 4 tabung reaksi. Tabung 1 digunakan sebagai kontrol tanpa pereaksi, tabung 2 ditambahkan pereaksi Mayer, tabung 3 ditambah pereaksi Dragendorf dan tabung 4 ditambah pereaksi Wagner. Hasil positif ditunjukkan adanya endapan dalam larutan asam pada tabung 2, 3 dan 4. Endapan putih terbentuk setelah penambahan pereaksi Mayer, endapan oranye kecoklatan terbentuk setelah penambahan pereaksi Dragendorf dan endapan kecoklatan terbentuk setelah penambahan pereaksi Wagner.

2.4.6 Uji Fenolik

Uji ini dilakukan pada sampel ekstrak etanol bunga cengkeh dan fraksi etil asetatnya dengan cara masing-masing sampel dilarutkan dengan etanol, lalu ditambahkan pereaksi $FeCl_3$ sebanyak 3 tetes. Reaksi positif jika terbentuk warna hijau, merah, atau biru kehitaman.

2.4.7 Uji Tanin

Uji tanin dilakukan pada sampel ekstrak etanol bunga cengkeh dan fraksi airnya dengan cara masing-masing sampel dilarutkan aquades kemudian ditambahkan larutan gelatin 10% dalam NaCl. Reaksi positif jika terdapat endapan berwarna putih.

2.4.8 Uji Saponin

Uji saponin dilakukan pada sampel ekstrak etanol bunga cengkeh dan fraksi airnya dengan cara masing-masing sampel ditambahkan air panas sebanyak 10 mL, dikocok kuat-kuat selama 15 menit. Reaksi positif jika terbentuk busa tetap setinggi 1 cm yang bertahan selama 10 menit.

2.5 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi-fraksi

Konsentrasi larutan uji penelitian ini adalah 20, 25, 30 dan 35 (%) dengan pelarut DMSO. Larutan konsentrasi 35% dibuat sebagai larutan stok yang kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 20%, 25% dan 30%. Kontrol positif yang digunakan adalah *disk* ciprofloxacin 5 μ g/disk. Penentuan aktivitas antibakteri dilakukan secara difusi cakram. Kertas cakram kosong berdiameter 6 mm masing-masing ditambahkan 10 μ L larutan uji dengan berbagai konsentrasi dan juga larutan DMSO murni dengan volume yang sama sebagai kontrol negatif, proses ini dibiarkan selama 10 menit hingga meresap. Suspensi bakteri sebanyak 350 μ L dimasukkan kedalam erlenmeyer yang berisi 25 mL media BAP dalam keadaan hangat yang kemudian dihomogenkan dan dituang pada cawan petri steril, media ditunggu hingga memadat. Media BAP dipilih karena *Streptococcus mutans* memerlukan faktor pertumbuhan dari darah untuk pertumbuhan optimal sesuai rekomendasi CLSI. Piring petri dibagi kedalam beberapa sektor dan setiap sektor ditempel kertas cakram yang telah jenuh oleh sampel. Cakram antibiotik langsung diaplikasikan pada media uji tersebut dan diletakkan di tengah petri, didiamkan beberapa waktu hingga *disk* menempel dengan baik pada media uji. Media uji diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Andries dkk., 2014). Pengujian dilakukan replikasi sebanyak 3x. Pengukuran DDH dilakukan menggunakan jangka sorong.

2.6 Analisis Data

Data DDH (Diameter Daerah Hambat) dianalisis secara statistik menggunakan uji pendahuluan yaitu uji normalitas dengan *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas dengan *Lavene Test*. Nilai signifikansi pada kedua uji tersebut adalah $>0,05$, maka data DDH dikatakan terdistribusi normal dan memiliki varian yang homogen. Uji dilanjutkan dengan statistik parametrik *One Way Anova* dan dilanjutkan uji *Post Hoc Tukey*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berat bunga cengkeh setelah dikeringkan sebanyak 1705 gram sehingga diperoleh rendemen simplisia sebesar 54,44%. Serbuk simplisia bunga cengkeh yang digunakan untuk ekstraksi sebanyak 500 gram dan diperoleh ekstrak kental sebanyak 158,9 gram sehingga rendemen ekstrak adalah 31,78%. Hasil organoleptis ekstrak etanol bunga cengkeh dan fraksi-fraksi meliputi bentuk, warna dan bau. Karakteristik bau ekstrak dan fraksi adalah khas cengkeh. Ekstrak bunga cengkeh dilakukan fraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air. Hasil organoleptis ekstrak dan fraksi serta rendemen yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil organoleptis ekstrak dan fraksi serta rendemen yang diperoleh

Sampel	Bentuk	Warna	Bobot (gram)	Rendemen (%)
Ekstrak Bunga Cengkeh (EBC)	Cair hingga kental	Hijau kecoklatan	90	
Fraksi <i>n</i> -Heksan EBC	Cair	Hijau kecoklatan	52,2	58,0
Fraksi Etil Asetat EBC	Padat	Hijau kecoklatan	24,3	27,0
Fraksi Air EBC	Padat	Coklat	9,6	10,67

Fraksi *n*-heksan menunjukkan nilai rendemen paling besar yaitu 58,0%, hal ini dikarenakan kandungan senyawa dari bunga cengkeh didominasi oleh senyawa non polar (minyak atsiri) seperti eugenol, eugenil asetat dan kariofilen (Faqer dkk., 2022). Adanya minyak atsiri pada fraksi *n*-heksan menyebabkan teksturnya berbentuk cair. Fraksi etil asetat memiliki rendemen yang lebih besar dibandingkan fraksi air dikarenakan ekstrak bunga cengkeh mengandung lebih banyak senyawa yang relatif bersifat semi polar dibandingkan senyawa polar. Fraksi-fraksi dari ekstrak etanol bunga cengkeh memiliki bentuk yang berbeda dikarenakan perbedaan kandungan senyawa yang terdapat dalam fraksi.

3.1 Skrining Fitokimia

Ekstrak etanol bunga cengkeh mengandung senyawa golongan sterol, kumarin, aglikon flavon, flavonoid, fenolik dan saponin (Faqer dkk., 2022). Skrining fitokimia terhadap masing-masing fraksi dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang tersari ke dalam fraksi sesuai dengan polaritasnya. Hasil skrining fitokimia fraksi-fraksi dari ekstrak etanol bunga cengkeh dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia fraksi-fraksi dari ekstrak etanol bunga cengkeh

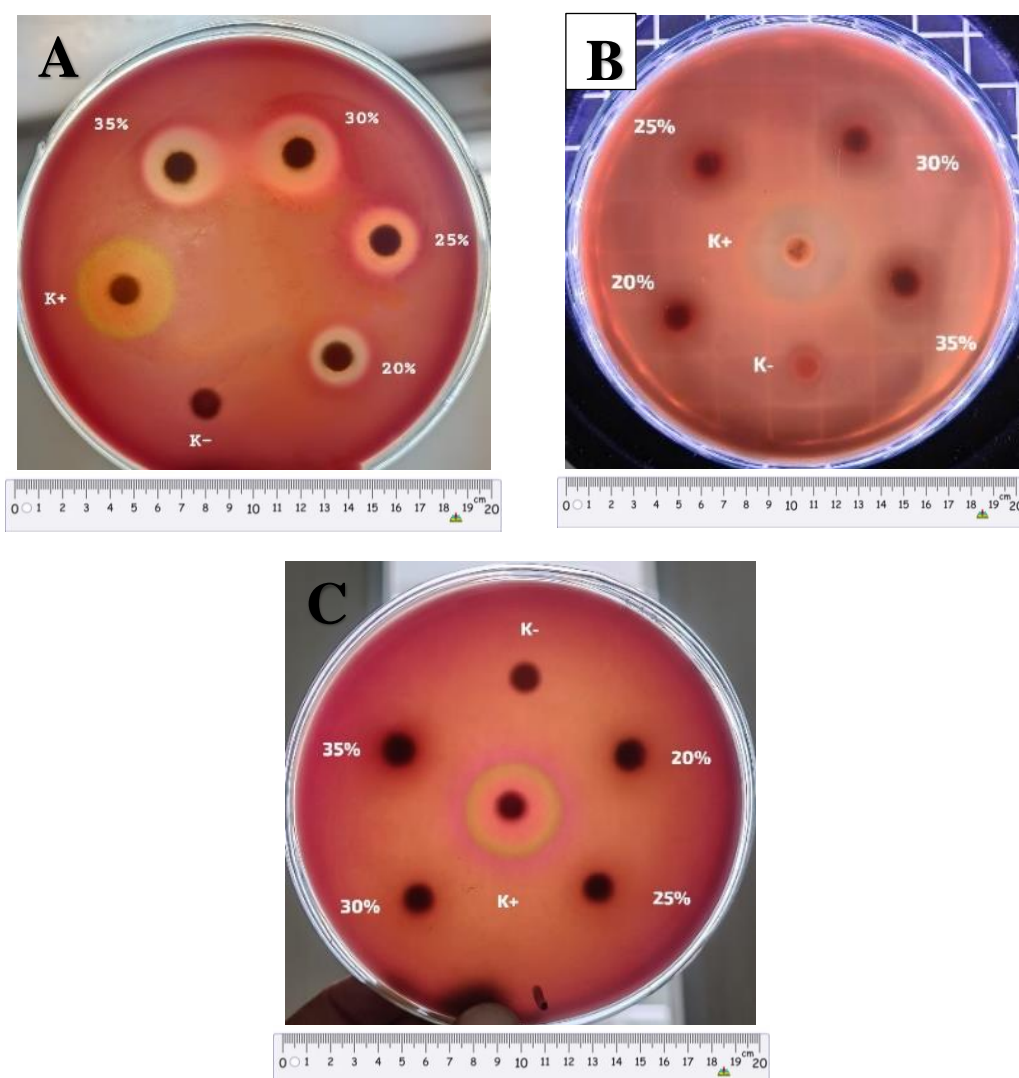
Kandungan Kimia	Fraksi <i>n</i> -heksan		Fraksi etil asetat		Fraksi air	
	Pengamatan	Hasil	Pengamatan	Hasil	Pengamatan	Hasil
Triterpenoid	Merah	(+)	(X)		(X)	
Kumarin	Kuning	(+)	Coklat	(+)	Kuning oranye	(+)
Aglikon Flavon	Kuning	(+)	Kuning cerah	(+)	Kuning oranye	(+)
Flavonoid	Kuning	(+)	Kuning cerah	(+)	Kuning oranye	(+)
Alkaloid	Tidak ada endapan	(-)	Tidak ada endapan	(-)	Tidak ada endapan	(-)
Fenolik	(X)		Biru kehitaman	(+)	Biru kehitaman	(+)
Tanin	(X)		(X)		Tidak mengendap	(-)
Saponin	(X)		(X)		Terbentuk busa	(+)

Ket: (+) = hasil positif; (-) = hasil negatif; (X) = uji tidak dilakukan

Hasil skrining fitokimia menunjukkan ketiga fraksi mengandung senyawa kumarin, aglikon flavon dan flavonoid yang menunjukkan bahwa golongan senyawa tersebut dapat tersari ke dalam pelarut non polar hingga polar. Kandungan ketiga golongan senyawa tersebut yang terdapat dalam fraksi-fraksi mirip dengan kandungan senyawa dalam ekstrak air dan etanol bunga cengkeh yang dilaporkan oleh Faqer dkk. (2022). Senyawa triterpenoid merupakan senyawa yang bersifat non polar sehingga hanya terdapat pada fraksi *n*-heksan, senyawa fenolik terdapat pada fraksi etil asetat dan air, sedangkan senyawa saponin yang bersifat polar hanya ditemukan pada fraksi air saja.

3.2 Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi-fraksi dari ekstrak etanol bunga cengkeh terhadap bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan terbentuknya 2 jenis zona hambat yaitu zona radikal pada larutan uji fraksi *n*-heksan dan zona irradikal pada fraksi etil asetat dan air (Gambar 1). Zona radikal adalah zona disekitar kertas cakram yang sama sekali tidak terlihat adanya pertumbuhan bakteri. Zona irradikal adalah zona disekitar kertas cakram yang pertumbuhan bakterinya dihambat oleh larutan uji, tetapi tidak dimatikan. Pada zona ini akan terlihat adanya pertumbuhan yang kurang subur atau lebih jarang dibandingkan dengan daerah di luar pengaruh larutan uji tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan tergantung pada jenis dan kekuatan senyawa antibakteri dari masing-masing komponen aktif yang tersari oleh pelarut yang digunakan. Menurut Jawetz dkk. (1996) aktivitas antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya konsentrasi ekstrak, kandungan senyawa metabolit, daya difusi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat.



Gambar 1. Tampilan hasil uji aktivitas antibakteri fraksi *n*-heksan (A); fraksi etil asetat (B); dan fraksi air (C) ekstrak etanol bunga cengkeh terhadap *S.mutans*

Fraksi *n*-heksan ekstrak bunga cengkeh menunjukkan adanya aktivitas antibakteri terhadap *S.mutans*. Berdasarkan hasil uji statistik Anova satu jalan terdapat perbedaan nilai DDH antar konsentrasi dari fraksi *n*-heksan. Semua konsentrasi memiliki perbedaan nilai DDH yang bermakna dalam menghambat *S.mutans*, kecuali konsentrasi 20 dan 25% serta 30 dan 35%. Perbedaan konsentrasi fraksi *n*-heksan menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi maka DDH yang dihasilkan cenderung meningkat pula. Ciprofloksasin sebagai kontrol positif menghasilkan rata-rata nilai DDH paling besar daripada fraksi-fraksi, sedangkan pelarut DMSO tidak membentuk zona

jernih disekitar cakram yang menandakan tidak adanya aktivitas antibakteri. Nilai DDH dari beberapa bahan uji terhadap *S.mutans* tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai DDH dari berbagai bahan uji terhadap *S.mutans*

Bahan Uji	Konsentrasi	Rata-rata Nilai DDH \pm SD	Tipe Zona
Fraksi <i>n</i> -heksan	20%	10,93 \pm 0,74 mm	Radikal
Fraksi <i>n</i> -heksan	25%	11,70 \pm 0,26 mm	Radikal
Fraksi <i>n</i> -heksan	30%	14,80 \pm 0,50 mm	Radikal
Fraksi <i>n</i> -heksan	35%	15,63 \pm 0,38 mm	Radikal
Ciprofloksasin	5 μ g	18,37 \pm 0,67 mm	Radikal
Pelarut DMSO	-	-	-
Fraksi etil asetat	20%	14,00 \pm 0,56 mm	Iradikal
Fraksi etil asetat	25%	15,33 \pm 0,21 mm	Iradikal
Fraksi etil asetat	30%	16,70 \pm 0,23 mm	Iradikal
Fraksi etil asetat	35%	16,90 \pm 0,40 mm	Iradikal
Ciprofloksasin	5 μ g	20,37 \pm 0,46 mm	Radikal
Pelarut DMSO	-	-	-
Fraksi air	20%	9,53 \pm 0,06 mm	Iradikal
Fraksi air	25%	10,17 \pm 0,06 mm	Iradikal
Fraksi air	30%	10,87 \pm 0,06 mm	Iradikal
Fraksi air	35%	11,73 \pm 0,35 mm	Iradikal
Ciprofloksasin	5 μ g	18,40 \pm 0,26 mm	Radikal
Pelarut DMSO	-	-	-

Ket: (-) artinya tidak menghasilkan zona hambat

Kemampuan fraksi *n*-heksan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.mutans* diduga disebabkan karena adanya kandungan senyawa golongan triterpenoid (eugenol, β -Caryophyllene), kumarin, aglikon flavon dan flavonoid. Eugenol dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai KHM berkisar antara 0,01% hingga 0,04% (Yadav, dkk., 2015). Eugenol pada konsentrasi 8% efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan membentuk zona hambat sebesar 22,27 mm (Firyanto dkk., 2019). Berdasarkan literatur, mekanisme eugenol sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi* yaitu dengan cara merusak membran sitoplasma sehingga mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri. Hiperpermeabilitas ini diikuti oleh kebocoran ion dan hilangnya sebagian besar isi sel lainnya termasuk protein intraseluler, pada akhirnya mengakibatkan kematian sel (Devi, dkk., 2010). Senyawa β -Caryophyllene menunjukkan aktivitas antibakteri kuat terhadap *Streptococcus mutans* pada konsentrasi diatas 0,078% (Yoo dan Jwa, 2018). Widodo dkk. (2012) melaporkan mekanisme kerja kumarin terhadap *Candida albicans* yaitu merusak sel dengan membentuk pori-pori dinding sel sehingga merubah struktur dan fungsi membran plasma yang menyebabkan peningkatan transmembran dan kebocoran asam amino serta isi sitoplasma lainnya sehingga sel akan menyusut dan hancur.

Fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol bunga cengkeh (Tabel 3) menunjukkan nilai DDH yang berbeda antar konsentrasi. Analisis data DDH pada kedua fraksi tersebut dilakukan secara deskriptif karena zona hambat yang terbentuk bersifat irradikal sehingga tidak dilakukan uji secara statistik. Zona hambat irradikal menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri dari kedua fraksi hanya bersifat bakteriostatik dengan ditandai zona keruh disekitar kertas cakram yang menandakan masih ada pertumbuhan bakteri *S.mutans*. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan kandungan senyawa pada fraksi dan konsentrasi yang tidak cukup untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan hasil skrining fitokimia fraksi etil asetat dan fraksi air mengandung senyawa golongan kumarin, aglikon flavon, flavonoid dan fenolik. Penelitian Gustari dkk. (2023) melaporkan fraksi etil asetat dan fraksi air dari ekstrak etanol bunga cengkeh konsentrasi 100% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan DDH sebesar 12,94 \pm 1,74 mm dan 11,01 \pm 0,70 mm. Penelitian ini menggunakan konsentrasi sampel yang berbeda (20-35%) dan jenis bakteri yang berbeda (*S.mutans*), maka terdapat hasil penelitian yang berbeda pula.

Senyawa fenolik juga diduga berkontribusi dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Shao dkk. (2015) melaporkan senyawa fenolik (asam galat) memiliki kemampuan menghambat pembentukan lapisan biofilm pada bakteri *Streptococcus mutans* dengan nilai KHM 8 mg/mL. Penelitian Jyothi dan Seshagiri (2012) menyebutkan isolat saponin dari Mahua (*Madhuca longifolia*) memiliki kemampuan menghambat bakteri *S.mutans* dengan membentuk DDH sebesar 19 mm dengan nilai KHM 18,3 µg/mL dan KBM 34,4 µg/mL.

Penelitian ini memiliki keterbatasan yang butuh eksplorasi lebih lanjut. Proses identifikasi senyawa dalam fraksi-fraksi bunga cengkeh hanya bersifat kualitatif saja, belum dilakukan uji kuantitatif menggunakan instrumen seperti HPLC atau GC-MS. Mekanisme antibakteri fraksi uji (terutama *n*-heksan) terhadap bakteri *S.mutans* belum dibuktikan secara eksperimental sehingga dapat dilanjutkan untuk penelitian berikutnya.

4. KESIMPULAN

Fraksi *n*-heksan ekstrak bunga cengkeh mengandung senyawa golongan triterpenoid, kumarin, aglikon flavon, dan flavonoid. Fraksi etil asetatnya mengandung kumarin, aglikon flavon, flavonoid dan fenolik, sedangkan fraksi air mengandung senyawa kumarin, aglikon flavon, flavonoid, fenolik dan saponin. Ketiga fraksi tersebut memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dengan tipe zona hambat radikal untuk fraksi *n*-heksan dan tipe iradikal untuk fraksi etil asetat dan air. Analisis statistik nilai DDH fraksi *n*-heksan terhadap *S.mutans* menunjukkan perbedaan bermakna antar konsentrasi kecuali konsentrasi 20% dan 25% serta 30% dan 35%.

DAFTAR PUSTAKA

- Andries, J.R., Gunawan, P.N., and Supit, A., (2014), Uji Efek Antibakteri Ekstrak Bunga Cengkeh terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* secara In Vitro, *e-Gigi*, 2(2), pp. 1 – 8.
- Azizah, A., Suswati, I., and Agustin, S.M., (2017), Efek Antimikroba Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) Secara In Vitro, *Saintika Medika*, 13(1), pp. 31-35.
- Devi, K.P., Nisha, S.A., Sakthivel, R., and Pandian, S.K., (2010), Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane, *Journal of Ethnopharmacology*, 130(1), 107-115.
- Faqer, O.E., Bendiar, S., Rais, S., Elkoraichi, I., Dakir, M., Elouaddari, A., Amrani, A. E., Oudghiri, M., and Mtairag, E. M., (2022), Phytochemical Characterization and Immunomodulatory Effect of Aqueous, Ethanolic Extracts and Essential Oil of *Syzygium aromaticum* L. on Human Neutrophils, *Scientific African*, 18, e01395.
- Firyanto, R., Fatarina, E.P., and Azizah, N., (2019), Effectiveness of Eugenol as An Antibacterial Toward *Staphylococcus epidermidis*, *Journal of Physics: Conference Series*, 1295, 012034.
- Gustari, R.A., Pratama, N.P., and Sari, K.R.P., (2023), Daya Hambat Fraksi *n*-Heksan, Etil asetat, dan Air dari Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*, *Journal of Pharmaceutical*, 1(1), pp. 1-8.
- Jawetz, Melnick, and Adelberg's, (1996), *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi 20, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Jyothi, K.S., and Seshagiri, M., (2012), In-vitro Activity of Saponins of *Bauhinia purpurea*, *Madhuca longifolia*, *Celastrus paniculatus* and *Semecarpus anacardium* on Selected Oral Pathogens, *Journal of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences*, 9(4), pp. 216-223.
- Kemenkes R.I., (2019), *Laporan Nasional Risdas 2018*, Lembaga Penerbit Balitbangkes, Jakarta, pp. 204.
- Kidd, E.A.M., and Bechal, S. J., (1991), *Dasar-dasar Karies: Penyakit dan Penanggulangannya*, terjemahan N. Sumawinata dan S. Faruk, EGC, Jakarta, pp. 3-4.
- Listrianah, Zainur, R.A., and Hisata, L.S., (2018), Gambaran Karies Gigi Molar Pertama Permanen Pada Siswa-Siswi Sekolah Dasar Negeri 13 Palembang Tahun 2018, *Jurnal Kesehatan Poltekkes Palembang*, 13(2), pp. 136 – 149.
- Mostafa, A.A.F., Yassin, M.T., Al-Askar, A.A., and Al-Otibi, F.O., (2022), Phytochemical Analysis, Antiproliferative, and Antifungal Activities of Different *Syzygium aromaticum* Solvent Extracts, *Journal of King Saud University-Science*, 35(1), 102362.
- Nurdjannah, N., (2004), Diversifikasi Penggunaan Cengkeh, *Perspektif*, 3(2), pp. 61 – 70.

- Poernomo, H., Ma'aruf, M.T., Setiawan, S., and Wati, P.A.N.W., (2018), Efektivitas Minyak Cengkeh dan Purperyl dalam Menghambat Akumulasi Bakteri *Streptococcus mutans* Secara In Vitro, *Interdental Jurnal Kedokteran Gigi*, 14(2), pp. 32-34.
- Sarker, S.D., and Nahar, L., (2012), An Introduction to Natural Products Isolation, in Sarker, S.D., and Nahar, L., *Natural Product Isolation: Methods and Protocols*, Humana Press, New York, pp. 2-11.
- Shao, D., Li, J., Li, J., Tang, R., Liu, L., Shi, J., Huang, Q., and Yang, H., (2015), Inhibition of Gallic Acid on the Growth and Biofilm Formation of *Escherichia coli* and *Streptococcus mutans*, *Journal of Food Science*, 80(6), pp. 1299-1305.
- Suhendar, U. and Fathurrahman, M., (2019), Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*, *Fitofarmaka*, 9(1), pp. 26-33.
- Widodo, G.P., Sukandar, E.Y., Adnyana, I.K., and Sukrasno, (2012), Mechanism of Action of Coumarin against *Candida albicans* by SEM/TEM Analysis, *ITB J. Sci*, 44A(2), pp. 145-151.
- Yadav, M.K., Chae, S.W., Im, G.J., Chung J.W., and Song, J.J., (2015), Eugenol: A Phyto-Compound Effective against Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive *Staphylococcus aureus* Clinical Strain Biofilms, *PLoS ONE*, 10(3), e0119564.
- Yoo, H.J., and Jwa, S.K., (2018), Inhibitory Effects of β -caryophyllene on *Streptococcus mutans* biofilm, *Archives of Oral Biology*, 88, pp. 42 – 46.