

Online: <https://jurnal.fk.uisu.ac.id/index.php/ibnusina>

Ibnu Sina: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan-Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sumatera Utara

ISSN 1411-9986 (Print) | ISSN 2614-2996 (Online)



Artikel Penelitian

EFEKTIVITAS FRAKSI ETIL ASETAT DAUN CENGKIH (*Syzygium aromaticum*) TERHADAP PENURUNAN MASSA BIOFILM *Streptococcus mutans***THE EFFECTIVENESS OF CLOVE LEAF ETHYL ACETATE FRACTION (*Syzygium aromaticum*) IN REDUCING *Streptococcus mutans* BIOFILM MASS****Ghina Nisrina Wibowo^{a*}, Listiana Masyita Dewi^a**^aFakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl. A. Yani Trombol Pos 1, Sukoharjo, 57169, Indonesia**Histori Artikel**Diterima:
31 Januari 2026Revisi:
5 Maret 2026Terbit:
1 Juli 2026**Kata Kunci**antibiofilm, daun cengkih, fraksi etil asetat, *Streptococcus mutans***Keywords**antibiofilm, clove leaves, ethyl acetate fraction, *Streptococcus mutans*.***Korespondensi**Email:
ghina.nisrina.wibowo@gmail.com**ABSTRAK**

Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif pembentuk biofilm resisten yang dapat memicu komplikasi serius seperti endokarditis infeksi. Penelitian ini mengevaluasi efektivitas fraksi etil asetat daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) dalam menurunkan massa biofilm *S. mutans* serta menentukan konsentrasi optimalnya. Fraksi ini dipilih karena sifat semipolarnya efektif menarik senyawa aktif seperti eugenol dan flavonoid. Metode penelitian eksperimental kuasi ini menggunakan desain *posttest-only control group* dengan pengujian *microtiter biofilm assay* dan pewarnaan crystal violet. Kelompok perlakuan terdiri dari lima konsentrasi (20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%), kontrol positif klorheksidin 0,1%, dan kontrol negatif DMSO 1%. Data dianalisis menggunakan uji *One-Way ANOVA* dan *Bonferroni*. Hasil menunjukkan seluruh konsentrasi signifikan menurunkan massa biofilm dibandingkan kontrol negatif. Kontrol positif (klorheksidin 0,1%) menunjukkan penurunan massa tertinggi sebesar 90,21% (rata-rata Optical Density (OD) 0,248). Konsentrasi 5% merupakan kadar paling optimal dengan rata-rata OD 0,452 dan penurunan massa mencapai 82,16%. Efektivitas menurun pada konsentrasi 10% akibat titik jenuh dan interferensi teknis. Kesimpulannya, fraksi etil asetat daun cengkih efektif menurunkan massa biofilm *S. mutans*, dengan konsentrasi 5% sebagai kadar paling optimal.

ABSTRACT

Streptococcus mutans is a gram-positive bacterium that forms resistant biofilms, potentially triggering serious complications like infective endocarditis. This study evaluated the effectiveness of clove leaf (*Syzygium aromaticum*) ethyl acetate fraction in reducing *S. mutans* biofilm mass and determined the optimal concentration. The fraction was selected for its semi-polar nature, which effectively extracts active compounds like eugenol and flavonoids. This quasi-experimental research used a *posttest-only control group* design with a *microtiter biofilm assay* and crystal violet staining. Treatment groups included five concentrations (20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%), with 0,1% Chlorhexidine as a positive control and 1% DMSO as a negative control. Data were analyzed using *One-Way ANOVA* and *Bonferroni* tests. All concentrations significantly reduced biofilm mass compared to the negative control. The positive control (0,1% chlorhexidine) resulted in the greatest reduction in biofilm mass at 90,21%, with a mean Optical Density (OD) value of 0,248. The 5% concentration was most optimal, achieving an 82,16% reduction (OD 0,452). Effectiveness decreased at 10% due to saturation and technical interference. In conclusion, the ethyl acetate fraction of clove leaves effectively reduces *S. mutans* biofilm mass, with 5% as the optimal concentration.

DOI: <http://doi.org/10.30743/ibnusina.v25i2.1143>

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

PENDAHULUAN

Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif yang dapat menjadi patogen berbahaya saat populasinya meningkat¹. Bakteri ini memiliki risiko tinggi menyebabkan Endokarditis Infektif (EI) dengan membentuk biofilm pada katup jantung yang memicu komplikasi serius seperti gagal jantung hingga kematian²⁻⁴. Selain itu, keterlibatannya meluas pada organ lain, termasuk memicu *IgA nephropathy*, memperparah NASH, IBD, serta mendukung metastasis tumor⁵.

Patogenitas *S. mutans* didukung oleh kemampuan membentuk biofilm, yaitu lapisan koloni mikroorganisme yang melekat kuat pada permukaan dan diselimuti matriks ekstraseluler sebagai mekanisme pertahanan^{6,7}. Struktur biofilm ini diperkuat oleh *Extracellular Polymeric Substances* (EPS) yang memberikan perlindungan terhadap agen antimikroba dan respons imun inang⁸.

Resistensi biofilm *S. mutans* terhadap antibiotik mencapai 10–1000 kali lebih tinggi dibanding fase planktonik, sehingga menjadikannya target yang sulit dalam intervensi terapeutik^{8,9}. Mengingat tingginya angka kematian akibat resistensi antimikroba¹⁰, pengembangan antibakteri alternatif seperti daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) sangat diperlukan. Daun cengkih mengandung senyawa aktif seperti eugenol, flavonoid, dan tanin yang bekerja sinergis sebagai agen antibakteri^{11,12}.

Daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) menawarkan potensi besar sebagai agen antibakteri alami melalui kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, eugenol, alkaloid, dan tanin¹³. Eugenol, sebagai komponen utama,

bekerja secara spesifik merusak membran sel bakteri dan menghambat aktivitas enzim yang berperan dalam produksi energi^{14,15}. Flavonoid berkontribusi dengan mendenaturasi protein biofilm, sementara tanin berperan memperkuat aktivitas antibiofilm melalui pengikatan ion besi yang diperlukan untuk menjaga stabilitas matriks EPS^{15,16}.

Efektivitas senyawa tersebut sangat bergantung pada pemilihan pelarut. Etil asetat, sebagai pelarut semipolar, dikenal efisien dalam menarik metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, dan alkaloid karena kesamaan tingkat kepolaran¹⁷⁻¹⁹. Fraksi etil asetat daun cengkih dilaporkan memiliki potensi antibakteri yang kuat dengan kadar eugenol signifikan, serta menunjukkan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) yang sensitif dibandingkan pelarut lainnya^{11,15}. Meskipun ekstrak etanol daun cengkih terbukti efektif terhadap biofilm *Candida albicans*²⁰, studi mengenai efek fraksi etil asetat terhadap biofilm *S. mutans* masih sangat terbatas, sehingga penelitian ini penting untuk memperdalam potensi klinisnya.

METODE

Penelitian ini menerapkan desain penelitian eksperimental semu (*quasi-experimental design*) secara *in vitro* dengan pendekatan *posttest-only control group design*. Surat *Ethical Clearance* (EC) dikeluarkan oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta (FK UMS) dengan nomor 5915/B.1/KEPK-FKUMS/X/2025.

Daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) yang digunakan dalam penelitian ini merupakan

produk lokal asal Boyolali. Identifikasi spesies dilakukan di Laboratorium Pengujian UPF Pelayanan Kesehatan Tradisional RSUP Dr. Sardjito Tawangmangu dengan nomor TL.02.04/D.XI.6/30138.874/2025. Hasil determinasi mengonfirmasi bahwa sampel tersebut adalah *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry dengan sinonim *Eugenia aromatica* (L.) Baill.

Fraksinasi dilakukan dengan melarutkan 10 gram ekstrak kental dalam 100 ml akuades, kemudian dipisahkan menggunakan corong pisah dengan penambahan 100 ml n-heksan untuk mengambil fraksi non-polar. Lapisan air selanjutnya ditambahkan 100 ml etil asetat untuk memperoleh fraksi semipolar pada lapisan atas. Seluruh fraksi diuapkan dengan *waterbath* hingga didapatkan fraksi kental yang siap uji²¹. Kemudian fraksi kental dilarutkan dengan DMSO 1%. Pengenceran dilakukan menggunakan rumus¹⁵ :

$$V_s \times C_s = V_n \times C_n$$

Keterangan :

V_s : volume awal

C_s : konsentrasi awal

V_n : volume yang diharapkan

C_n : konsentrasi yang diharapkan (20%, 10%, 5%, 2,5%, dan 1,25%) dalam satuan b/v

Jika larutan awal 20% dan volume yang diharapkan untuk masing-masing konsentrasi 5 ml maka:

a. Konsentrasi 20%

$$\frac{20 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} = \frac{1 \text{ gram}}{5 \text{ ml}}$$

Ambil 1 gram fraksi dan tambahkan DMSO 1% hingga total volume 5 ml.

b. Konsentrasi 10%

$$V_s = \frac{V_{10\%} \times c_{10\%}}{C_s} = \frac{5 \text{ ml} \times 10\%}{20\%} = 2,5 \text{ ml}$$

Ambil 2,5 ml dari konsentrasi 20% dan tambahkan 2,5 ml DMSO 1%.

c. Konsentrasi 5%

$$V_s = \frac{V_{5\%} \times c_{5\%}}{C_s} = \frac{5 \text{ ml} \times 5\%}{10\%} = 2,5 \text{ ml}$$

Ambil 2,5 ml dari konsentrasi 10% dan tambahkan 2,5 ml DMSO 1%.

d. Konsentrasi 2,5%

$$V_s = \frac{V_{2,5\%} \times c_{2,5\%}}{C_s} = \frac{5 \text{ ml} \times 2,5\%}{5\%} = 2,5 \text{ ml}$$

Ambil 2,5 ml dari konsentrasi 5% dan tambahkan 2,5 ml DMSO 1%.

e. Konsentrasi 1,25%

$$V_s = \frac{V_{1,25\%} \times c_{1,25\%}}{C_s} = \frac{5 \text{ ml} \times 1,25\%}{2,5\%} = 2,5 \text{ ml}$$

Ambil 2,5 ml dari konsentrasi 2,5% dan tambahkan 2,5 ml DMSO 1%.

Isolat *Streptococcus mutans* tipe 1 ATCC 10556 PK/5 diperoleh dari Laboratorium Riset Terpadu Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada menggunakan teknik *purposive sampling*. Keaslian isolat dikonfirmasi melalui hasil determinasi dengan nomor produk R4607023 memastikan bahwa isolat yang digunakan adalah bakteri *S. mutans* tipe 1 ATCC 10556 PK/5.

Sebanyak 3–4 koloni tunggal *S. mutans* diinokulasikan ke dalam 5 mL media TSB dengan tambahan 2,5% sukrosa, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama semalam. Densitas optik kultur disesuaikan hingga setara standar 0,5 McFarland, kemudian diencerkan dengan perbandingan 1:100 menggunakan media yang sama²². Bakteri terbagi menjadi 7 kelompok dengan 5 variasi konsentrasi perlakuan (20%, 10%, 5%, 2,5%, dan 1,25%), kontrol positif (Klorheksidin 0,1%) dan kontrol negatif (DMSO

1%). Jumlah minimal pengulangan tiap kelompok dihitung dengan rumus Federer:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

n: Jumlah replikasi/ pengulangan

t: Banyaknya perlakuan

Dari rumus Federer, didapatkan jumlah minimal pengulangan tiap kelompok adalah 4 kali. Dengan demikian, total jumlah sampel dalam penelitian ini adalah 28 sumur (7 kelompok perlakuan $\times$ 4 replikasi). Seluruh prosedur eksperimen dilakukan dalam satu *batch* pada waktu yang sama untuk meminimalkan variasi antar perlakuan.

Suspensi bakteri sebanyak 100 μ L dimasukkan ke dalam sumuran *microplate* dan diinkubasi selama 18–20 jam pada suhu 37 °C hingga terbentuk biofilm matang. Setelah pembilasan dengan PBS, ke dalam sumur ditambahkan 100 μ L kelompok perlakuan dan kontrol, lalu diinkubasi kembali selama 18–20 jam pada suhu 37 °C. Biofilm kemudian dibilas dan diwarnai dengan 125 μ L *crystal violet* 0,1% selama 15 menit. Sisa pewarna dibilas tiga kali, lalu warna yang terikat pada matriks dilarutkan kembali menggunakan 125 μ L etanol. Intensitas warna diukur menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 600 nm untuk menentukan biomassa biofilm²⁰.

Analisis data diawali dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas *Levene's test*. Data yang memenuhi asumsi statistik selanjutnya dianalisis menggunakan uji parametrik *One-Way ANOVA* untuk melihat pengaruh perlakuan. Perbedaan signifikan antar kelompok ditentukan melalui uji *Post Hoc Bonferroni*. Selanjutnya penurunan massa biofilm suatu senyawa dapat diketahui dengan melalui persen penurunan massa biofilm melalui rumus¹⁶:

Penurunan massa biofilm (%): $(OD_{kontrol} - OD_{sampel}) / OD_{kontrol} \times 100\%$

Keterangan:

OD_{kontrol} = *Optical Density* kontrol negatif

OD_{sampel} = *Optical Density* sampel uji

HASIL

Besarnya nilai rata-rata *optical density* (OD) *Streptococcus mutans* pada kelompok kontrol (-) sebesar $2,534 \pm 0,389$. Sedangkan pada kontrol (+) didapatkan $0,248 \pm 0,044$. Kemudian pada kelompok konsentrasi fraksi etil asetat daun cengkih, besarnya nilai rata-rata paling kecil terletak pada konsentrasi 5% dengan rata-rata OD yang didapatkan $0,452 \pm 0,079$ dan rata-rata paling besar terdapat pada konsentrasi 20% yaitu $1,786 \pm 0,155$.

Tabel 1. Hasil *Optical Density* (OD)

Replikasi	Kelompok						
	K (-)	K (+)	20%	10%	5%	2,5%	1,25%
1	1,992	0,239	1,886	0,639	0,455	0,524	1,53
2	2,632	0,192	1,888	0,506	0,476	0,409	0,984
3	2,918	0,3	1,81	0,612	0,534	0,479	0,936
4	2,594	0,259	1,559	1,107	0,343	0,451	0,652
Rata-rata	2,534	0,248	1,786	0,716	0,452	0,4658	1,0255
$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
SD	0,389	0,044	0,155	0,266	0,079	0,048	0,366

Tabel 2. Uji Parametrik One-Way Anova dan Persentase Penurunan Massa Biofilm

Kelompok Perlakuan	Rerata OD $\pm$ SD	Nilai (ANOVA)	Persentase Penurunan (%)
Kontrol (-)	2,534 $\pm$ 0,389	p < 0,001 F = 49,931	-
Kontrol (+)	0,248 $\pm$ 0,044		90,21%
Fraksi 20%	1,786 $\pm$ 0,155		29,52%
Fraksi 10%	0,716 $\pm$ 0,266		71,74%
Fraksi 5%	0,452 $\pm$ 0,079		82,16%
Fraksi 2,5%	0,466 $\pm$ 0,048		81,61%
Fraksi 1,25%	1,026 $\pm$ 0,366		59,51%

Tabel 3. Hasil Uji *Post Hoc* Bonferroni

Perbandingan Kelompok (I vs J)	Mean Difference (I-J)	95% Confidence Interval	p	Keterangan
K(+) vs K(-)	-2,2865	-2,864 s/d -1,708	0,000*	Signifikan
K(+) vs 20%	-1,5382	-2,116 s/d -0,960	0,000*	Signifikan
K(+) vs 10%	-0,4685	-1,046 s/d 0,109	0,226	Tidak Signifikan
K(+) vs 5%	-0,2045	-0,782 s/d 0,373	1,000	Tidak Signifikan
K(+) vs 2,5%	-0,2182	-0,796 s/d 0,359	1,000	Tidak Signifikan
K(+) vs 1,25%	-0,778	-1,355 s/d -0,200	0,003*	Signifikan
K(-) vs 20%	0,7482	0,170 s/d 1,326	0,004*	Signifikan
K(-) vs 10%	1,818	1,240 s/d 2,395	0,000*	Signifikan
K(-) vs 5%	2,082	1,504 s/d 2,659	0,000*	Signifikan
K(-) vs 2,5%	2,0682	1,490 s/d 2,646	0,000*	Signifikan
K(-) vs 1,25%	1,5085	0,930 s/d 2,086	0,000*	Signifikan
20% vs 10%	1,0697	0,491 s/d 1,647	0,000*	Signifikan
20% vs 5%	1,3337	0,755 s/d 1,911	0,000*	Signifikan
20% vs 2,5%	1,32	0,742 s/d 1,897	0,000*	Signifikan
20% vs 1,25%	0,7602	0,182 s/d 1,338	0,004*	Signifikan
10% vs 5%	0,264	-0,313 s/d 0,841	1,000	Tidak Signifikan
10% vs 2,5%	0,2502	-0,327 s/d 0,828	1,000	Tidak Signifikan
10% vs 1,25%	-0,3095	-0,887 s/d 0,268	1,000	Tidak Signifikan
5% vs 2,5%	0,0137	-0,564 s/d 0,591	1,000	Tidak Signifikan
5% vs 1,25%	-0,5735	-1,151 s/d 0,004	0,053	Tidak Signifikan
2,5% vs 1,25%	-0,5597	-1,137 s/d 0,018	0,065	Tidak Signifikan

Data *optical density* kemudian dilakukan analisis data dengan menggunakan SPSS. Uji normalitas data dilakukan dengan uji Saphiro-Wilk memberikan hasil data normal dan uji homogenitas dengan *Levene's test* memberikan hasil data homogen. Selanjutnya dilakukan uji statistik parametrik One-Way Anova untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antar kelompok. Hasil analisis *One-Way ANOVA* pada tabel 2 menunjukkan nilai F hitung sebesar 49,931 dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antar kelompok.

Uji *Post Hoc* digunakan untuk menentukan kelompok yang memiliki perbedaan pengaruh. Hasil uji *Post Hoc Bonferroni* pada tabel 3 menunjukkan bahwa seluruh rentang konsentrasi fraksi etil asetat daun cengkih (1,25% hingga 20%) secara signifikan menghambat biofilm *S. mutans* dibandingkan

kontrol negatif ($p < 0,05$). Konsentrasi 2,5%, 5%, dan 10% terbukti memiliki efektivitas yang setara dengan kontrol positif klorheksidin ($p > 0,05$), didukung oleh rentang interval kepercayaan yang melewati angka nol. Sebaliknya, terdapat perbedaan signifikan pada konsentrasi 1,25% ($p = 0,003$) dan 20% ($p < 0,001$) terhadap kontrol positif, yang mengindikasikan penurunan efektivitas pada kedua titik konsentrasi tersebut.

Persentase penurunan massa biofilm pada tabel 2 menjelaskan bahwa konsentrasi 1,25% menunjukkan penurunan massa biofilm yang signifikan sebesar 59,51% dibandingkan kontrol negatif ($p = 0,003$). Meskipun belum setara klorheksidin, hasil ini membuktikan bahwa kadar rendah sudah mampu mengintervensi matriks ekstraseluler *S. mutans*, sejalan dengan temuan Nuzula dan Masfufatun²⁰ mengenai nilai MBEC₅₀ pada konsentrasi yang hanya sebesar 0,45%, yang berarti pada kadar tersebut ekstrak

sudah mampu meluruhkan 50% massa biofilm. Aktivitas pada konsentrasi rendah ini didorong oleh kandungan senyawa-senyawa aktif.

Efektivitas meningkat pada rentang 2,5% hingga 5%, di mana konsentrasi 5% mencapai aktivitas puncak (OD 0,452) yang setara dengan kontrol positif ($p > 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut, senyawa aktif dalam daun cengkih mampu menghambat pembentukan matriks biofilm secara efektif. Hal ini sejalan dengan penelitian Hepziba²³ yang melaporkan bahwa ekstrak tanaman tertentu pada konsentrasi optimal memiliki aktivitas antibiofilm yang efektif pada masa inkubasi.

Pada penelitian ini ditemukan efektivitas tidak berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi di atas 5%. Pada konsentrasi 10%, nilai OD meningkat (0,716) dan mencapai penurunan efektivitas drastis pada 20% (OD 1,786). Fenomena kejenuhan ini, menurut Rosyada²⁴ dipicu oleh kompetisi antarmolekul senyawa aktif untuk berikatan dengan reseptor matriks biofilm yang terbatas. Penurunan kelarutan pada dosis pekat juga menghambat interaksi senyawa aktif. Serupa dengan temuan Nugrahani²⁵ yang menyatakan konsentrasi maksimal tidak selalu memberikan hasil terbaik. Selain itu, peningkatan OD pada konsentrasi lebih tinggi seperti 10% dan 20%, juga diduga dipengaruhi oleh faktor teknis berupa presipitasi zat warna crystal violet akibat endapan fraksi yang pekat atau akumulasi debris sel bakteri yang lisis. Hal ini memberikan pembacaan absorbansi yang lebih tinggi secara semu, mengingat metode *crystal violet* bersifat non-spesifik dalam mewarnai seluruh komponen biomassa biofilm²⁶.

DISKUSI

Penelitian eksperimental laboratorium ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas fraksi etil asetat daun cengkih dalam menurunkan massa biofilm *Streptococcus mutans*. Berdasarkan hasil ekstraksi, diperoleh rendemen ekstrak sebesar 19% dan rendemen fraksi etil asetat sebesar 11,2%. Nilai ini telah memenuhi kriteria rendemen yang baik (di atas 10%) sesuai laporan Ramadhani dan Novema²⁷ yang mengindikasikan kelimpahan senyawa bioaktif dalam sampel.

Analisis statistik menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan, yang menegaskan bahwa fraksi etil asetat daun cengkih memiliki aktivitas nyata dalam menghambat biofilm *S. mutans* dibandingkan kontrol negatif ($p < 0,05$). Aktivitas antibiofilm yang signifikan ditemukan mulai dari konsentrasi terendah (1,25%). Meskipun belum setara dengan klorheksidin, hasil ini membuktikan bahwa pada kadar rendah, senyawa aktif telah mampu mengintervensi matriks ekstraseluler *S. mutans*. Temuan ini sejalan dengan penelitian Nuzula dan Masfufatun²⁸ yang melaporkan MBEC₅₀ pada konsentrasi hanya 0,45%. Efektivitas tersebut didorong oleh peran sinergis eugenol, flavonoid, tanin, dan alkaloid yang ditarik secara optimal oleh pelarut semipolar etil asetat.

Puncak efektivitas ditemukan pada konsentrasi 5% dengan nilai rata-rata OD terendah dan persentase penurunan tertinggi. Berdasarkan uji *Post Hoc Bonferroni*, konsentrasi 5% bersama dengan 2,5% dan 10% memiliki efektivitas yang setara dengan klorheksidin. Hasil ini memperkuat penelitian

Hepziba²³ bahwa ekstrak tanaman pada konsentrasi optimal menunjukkan performa antibiofilm maksimal pada masa inkubasi 24 jam.

Menariknya, efektivitas tidak berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi zat uji di atas 5%. Pada konsentrasi 10% dan 20%, nilai OD meningkat yang mengindikasikan penurunan efektivitas. Fenomena ini dapat disebabkan oleh kejenuhan interaksi antara senyawa aktif dan matriks biofilm, penurunan kelarutan pada konsentrasi pekat, serta kemungkinan interferensi teknis metode crystal violet yang bersifat non-spesifik. Temuan ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa konsentrasi maksimal tidak selalu memberikan efektivitas terbaik.²⁴⁻²⁶

Sebagai pengembangan selanjutnya, disarankan melakukan uji *Particle Size Analyzer* (PSA) untuk mendeteksi agregasi molekul pada konsentrasi tinggi serta mengombinasikan metode *crystal violet* dengan uji viabilitas sel seperti *MTT assay* guna membedakan biomassa hidup dan mati secara akurat. Hal ini penting untuk memvalidasi potensi klinis fraksi etil asetat daun cengkih sebagai bahan aktif antibiofilm alternatif di masa depan.

KESIMPULAN

Fraksi etil asetat daun cengkih efektif menurunkan massa biofilm *Streptococcus mutans* pada seluruh rentang konsentrasi uji (1,25% hingga 20%), dengan konsentrasi 5% sebagai kadar paling optimal yang menghasilkan persentase penurunan sebesar 82,16%. Efektivitas pada konsentrasi 5% ini secara statistik setara dengan klorheksidin 0,1%

sebagai kontrol positif, namun efektivitas tersebut cenderung menurun pada konsentrasi yang lebih tinggi (20%) akibat fenomena titik jenuh dan interferensi teknis pada metode pengukuran

DAFTAR REFERENSI

1. Sugiaman VK, Viando EJ, Pranata N. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Mangga Gedong Terhadap *Streptococcus mutans*: Studi eksperimental. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*. 2023;35(2):134. doi:10.24198/jkg.v35i2.46933
2. Chamat-Hedemand S, Dahl A, Østergaard L, et al. Prevalence Of Infective Endocarditis In Streptococcal Bloodstream Infections Is Dependent On Streptococcal Species. *Circulation*. 2020;142(8):720-730. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046723
3. Willim HA. *Endokarditis Infektif: Diagnosis, Tatalaksana, Dan Pencegahan*. CDK-287. 2020.
4. Nomura R, Matayoshi S, Otsugu M, Kitamura T, Teramoto N, Nakano K. Contribution of Severe Dental Caries Induced by *Streptococcus mutans* to the Pathogenicity of Infective Endocarditis. Published online 2020. doi:10.1128/IAI
5. Fang Y, Chen X, Chu CH, Yu OY, He J, Li M. Roles Of *Streptococcus mutans* In Human Health: Beyond Dental Caries. *Front Microbiol. Frontiers Media SA*. 2024;15. doi:10.3389/fmicb.2024.1503657
6. Kriswandini IL, Diyatri I, Tantiana, et al. The Forming Of Bacteria Biofilm From *Streptococcus mutans* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* As A Marker For Early Detection In Dental Caries And Periodontitis. *Infect Dis Rep*. 2020;12. doi:10.4081/idr.2020.8722
7. Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The Virulence Of *Streptococcus mutans* And The Ability To Form Biofilms. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious*

- Diseases. Springer Verlag.* 2014;33(4):499-515.
doi:10.1007/s10096-013-1993-7
8. Fitri DK, Tuygunov N, Wan Harun WHA, Purwasena IA, Cahyanto A, Zakaria MN. Key Virulence Genes Associated With *Streptococcus mutans* Biofilm Formation: A Systematic Review. *Frontiers in Oral Health. Frontiers Media SA.* 2025;6. doi:10.3389/froh.2025.1654428
 9. Wang Y, Hoffmann JP, Baker SM, et al. Inhibition Of *Streptococcus mutans* Biofilms With Bacterial-Derived Outer Membrane Vesicles. *BMC Microbiol.* 2021;21(1). doi:10.1186/s12866-021-02296-x
 10. Ahmed SK, Hussein S, Qurbani K, et al. Antimicrobial Resistance: Impacts, Challenges, And Future Prospects. *Journal of Medicine, Surgery, and Public Health.* 2024;2:100081. doi:10.1016/j.glmedi.2024.100081
 11. Ramadhani A, Saadah S, Sogandi S. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBi).* 2020;7(2):203-214. doi:10.29122/jbbi.v7i2.4146
 12. Ayu Surya Ciptha Dewi G, Made Widi Astuti N. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Sebagai Sediaan Pasta Gigi. Vol 2. 2023.
 13. Marco Agung Mawira A, Kristanti Sambuaga M, Feronika Derry M, Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi B. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Cengkih (*Syzygium aromaticum*) Terhadap Gambaran Histopatologik Lambung Tikus Wistar Yang Diinduksi Minuman Beralkohol Cap Tikus. 2025;6(1).
 14. Tulungen FR. Cengkeh Dan Manfaatnya Bagi Kesehatan Manusia Melalui Pendekatan Competitive Intelligence. *The Tropical Journal of Biopharmaceutical.* 2019;2(2):158-169.
 15. Iftikhonsa HZ, Sutrisna EM, Jatmiko SW, Sintowati R. Uji Efektivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis* Dan *Salmonella Typhi*. 2021.
 16. Herman H, Sunarni T, Saptarini O. Uji Aktivitas Antibakteri dan Antibiofilm Fraksi Ekstrak Daun Gamal (*Gliricidia Sepium* (Jacq Walp)) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia.* 2024;10(1):314-327. doi:10.35311/jmpi.v10i1.484
 17. Sugara TH, Farmasi A, Banjarmasin I, Irawadi T, Suprpto IH, Hanafi M. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Tanaman Bandotan (*Ageratum conyzoides* L) Anti Bacteria Activity of Ethyl Acetate Fraction Bandotan Leaf (*Ageratum conyzoides* L). Vol 1. 2016.
 18. Rudiana T, Fitriyanti F, Adawiah A. Aktivitas Antioksidan dari Batang Gandaria (*Bouea macrophylla* Griff). *EduChemia (Jurnal Kimia dan Pendidikan).* 2018;3(2):195. doi:10.30870/educhemia.v3i2.3328
 19. Pratiwi Utami Y, Arruansaratu E, Jumaetri F. *Metabolomics in Pharmacy: Peluang Dan Tantangan Kefarmasian Dalam Penemuan, Pengembangan, Dan Evaluasi Mutu Obat Bahan Alam.* 2022.
 20. Nuzula F, Masfufatun M. Effectiveness of Ethanol Extract Clove Leaves (*Syzygium aromaticum*) In Inhibiting Biofilm of *Candida albicans* ATCC 14053. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry.* 2024;13(2):407-413. doi:10.14421/biomedich.2024.132.407-413
 21. Noviyanty Y, Febrianti R, Hepiyansori. Fraksinasi Dan Skrining Fraksi Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis) Dengan Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis. Vol 9. 2022.
 22. Hamman N, Ramburrun P, Dube A. Selenium Nanoparticle Activity Against *S. mutans* Biofilms As A Potential Treatment Alternative For Periodontitis. *Pharmaceutics.* 2024;16(4). doi:10.3390/pharmaceutics16040450
 23. Hepziba ER, Soesanto S, Widyarman AS. Antibiofilm of Arumanis Mango Leaves (*Mangifera indica* L.) Ethanol Extract

- Against *Staphylococcus aureus* in vitro. *Journal of Indonesian Dental Association*. 2023;5(2):99. doi:10.32793/jida.v5i2.846
24. Rosyada AG, Prihastuti CC, Sari DNI, et al. Aktivitas Antibiofilm Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Dalam Menghambat Pembentukan Biofilm *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran*. 2023;35(1):34. doi:10.24198/jkg.v35i1.42451
25. Nugrahani N, Kunarti S, Setyowati A. Konsentrasi Efektif Daya Antibiofilm Kitosan Cangkang Udang Terhadap *Streptococcus viridans* (The Effective Concentration of Antibiofilms Capacity from Shrimp Shells Chitosan towards *Streptococcus viridans*). Vol 6. 2016.
26. Azeredo J, Azevedo NF, Briandet R, et al. Critical Review On Biofilm Methods. *Crit Rev Microbiol. Taylor and Francis Ltd*. 2017;43(3):313-351. doi:10.1080/1040841X.2016.1208146
27. Ramadhani MA, Novema AP. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Dan Terpurifikasi Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Borobudur Pharmacy Review*. 2022;2(1):8-14. doi:10.31603/bphr.v2i1.6934