

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 N-HEKSANA DAUN CENGKIH (*Syzygium aromaticum*) TERHADAP PENURUNAN MASSA BIOFILM *Streptococcus mutans*

EFFECTIVENESS OF THE N-HEXANE FRACTION OF CLOVE LEAVES (*Syzygium aromaticum*) IN REDUCING THE BIOFILM MASS OF *Streptococcus mutans*

Putri Amelia Azzahra^{a*}, Listiana Masyita Dewi^a^aUniversitas Muhammadiyah Surakarta, Jl. A. Yani Tromol Pos 1, Sukoharjo, 57169, Indonesia

Histori Artikel

Diterima:
1 Februari 2026Revisi:
8 Maret 2026Terbit:
1 Juli 2026

Kata Kunci

Fraksi n-heksana,
daun cengkih,
antibiofilm,
Streptococcus mutans

Keywords

N-hexane fraction,
clove leaves,
antibiofilm,
Streptococcus mutans

*Korespondensi

Email:
putriameliaazz29
@gmail.com

ABSTRAK

Streptococcus mutans merupakan bakteri gram positif anaerob fakultatif yang berperan dalam berbagai infeksi sistemik, termasuk endokarditis infeksi, serta memiliki kemampuan membentuk biofilm. Pembentukan biofilm menyebabkan peningkatan resistensi bakteri terhadap respons imun dan agen antimikroba, sehingga diperlukan alternatif terapi yang efektif untuk menurunkan massa biofilm. Daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) mengandung senyawa aktif seperti eugenol, flavonoid, saponin, dan alkaloid sebagai agen antibakteri dan antibiofilm. Penelitian ini bertujuan membuktikan efek fraksi n-heksana daun cengkih serta menentukan konsentrasi paling efektif dalam menurunkan massa biofilm *Streptococcus mutans*. Penelitian ini merupakan eksperimen murni dengan desain *post-test only control group*. Uji antibiofilm dilakukan menggunakan fraksi n-heksana daun cengkih pada konsentrasi 20%, 10%, 5%, 2,5%, dan 1,25%, dengan klorheksidin sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif. Biofilm diwarnai menggunakan kristal violet 0,1% dan diukur menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 600 nm. Analisis data dilakukan dengan uji *Kruskal-Wallis* dan uji lanjut *Dunn*. Hasil menunjukkan bahwa fraksi n-heksana daun cengkih memiliki aktivitas antibiofilm signifikan terhadap *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 20% dan 10% ($p < 0,05$). Konsentrasi 10% menunjukkan efektivitas terbaik dengan nilai OD terendah dan persentase degradasi biofilm tertinggi (3,33%), setara dengan kontrol positif. Disimpulkan bahwa fraksi n-heksana daun cengkih efektif menurunkan massa biofilm *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

Streptococcus mutans is a facultative anaerobic Gram-positive bacterium involved in various systemic infections, including infective endocarditis, and is capable of forming biofilms that increase resistance to immune responses and antimicrobial agents. Therefore, effective alternative therapies are required to reduce biofilm mass. Clove leaves (*Syzygium aromaticum*) contain bioactive compounds such as eugenol, flavonoids, saponins, and alkaloids with antibacterial and antibiofilm properties. This study aimed to evaluate the antibiofilm effect of the n-hexane fraction of clove leaves and to determine the most effective concentration against *Streptococcus mutans* biofilms. This study employed a true experimental design with a post-test only control group. Antibiofilm activity was assessed using n-hexane fractions at concentrations of 20%, 10%, 5%, 2.5%, and 1.25%, with chlorhexidine as the positive control and DMSO as the negative control. Biofilms were stained with 0.1% crystal violet and quantified using a microplate reader at 600 nm. Data were analyzed using the *Kruskal-Wallis* test followed by *Dunn's post hoc* test. The results showed significant antibiofilm activity at concentrations of 20% and 10% ($p < 0.05$). The 10% concentration demonstrated the highest effectiveness (3.33%), comparable to chlorhexidine. It can be concluded that the n-hexane fraction of clove leaves effectively reduces *Streptococcus mutans* biofilm mass.

DOI: <http://doi.org/10.30743/ibnusina.v25i2.1145>

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 merupakan bakteri anaerob fakultatif Gram-positif yang mampu hidup dan beradaptasi pada lingkungan asam, dengan morfologi sferis atau ovoid yang tersusun berpasangan atau membentuk rantai.¹ Beberapa spesies *Streptococcus* berperan sebagai flora normal, namun *Streptococcus mutans* diketahui memiliki potensi patogenik dan dapat menjadi sumber berbagai penyakit.² *Streptococcus mutans* sering dikaitkan dengan infeksi kronis yang resisten terhadap terapi konvensional serta berperan dalam infeksi sistemik, seperti endokarditis infektif, terutama pada pasien dengan kondisi imunokompromais atau kelainan katup jantung.³ Selain itu, bakteri ini juga dikenal sebagai agen utama penyebab karies gigi.⁴ Deteksi molekuler menunjukkan keberadaan *Streptococcus mutans* pada sekitar 20% spesimen katup jantung pasien endokarditis, dengan serotipe k yang memiliki protein pengikat kolagen lebih sering diisolasi dibandingkan pada populasi sehat, di mana prevalensinya hanya sekitar 2-5%.³ Temuan ini menunjukkan bahwa *Streptococcus mutans* tidak hanya berperan dalam infeksi lokal rongga mulut, tetapi juga memiliki potensi invasif dan sistemik yang bermakna secara klinis.

Salah satu faktor utama yang menyebabkan *Streptococcus mutans* sulit dieliminasi adalah kemampuannya membentuk biofilm. Biofilm merupakan komunitas mikroba kompleks yang terikat oleh matriks makromolekul ekstraseluler atau *extracellular polymeric substances* (EPS) yang diproduksi oleh mikroorganisme itu sendiri.⁵ Proses pembentukan biofilm dipengaruhi oleh berbagai

faktor lingkungan dan genetik, termasuk respons terhadap stres, pH, suhu, ketersediaan nutrisi, serta tekanan lingkungan lainnya, yang mendorong perubahan bentuk bakteri dari fase planktonik menjadi melekat.⁶ Struktur biofilm ini meningkatkan persistensi bakteri serta ketahanannya terhadap sistem imun dan agen antimikroba.

Berbagai pendekatan terapi telah digunakan untuk mengatasi infeksi terkait biofilm, seperti penggunaan antibiotik dosis tinggi, termasuk β -laktam (amoksisilin), gentamisin, dan klorheksidin. Namun, efektivitas terapi tersebut sering kali terbatas akibat rendahnya penetrasi obat ke dalam matriks biofilm serta meningkatnya resistensi antimikroba, sehingga pengobatan infeksi berbasis biofilm menjadi kurang optimal.⁷ Kondisi ini menegaskan perlunya pengembangan alternatif terapi yang lebih aman, efektif, dan bersumber dari bahan alami.

Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai agen antibakteri dan antibiofilm adalah daun cengkih (*Syzygium aromaticum*).⁸ Daun cengkih mengandung berbagai senyawa bioaktif, antara lain eugenol, saponin, flavonoid, tanin, dan alkaloid.^{8,9} Eugenol merupakan senyawa dominan yang berperan utama dalam aktivitas antimikroba daun cengkih, dengan mekanisme kerja berupa perusakan pada membran sel bakteri, peningkatan permeabilitas membran, serta penghambatan enzim *glucosyltransferase* (GTF) yang berperan penting dalam sintesis glukosa sebagai komponen utama EPS pada biofilm *Streptococcus mutans*.¹⁰ Penghambatan enzim GTF berkontribusi langsung terhadap penurunan pembentukan

biofilm dan melemahnya struktur matriks biofilm. Selain eugenol, senyawa flavonoid, saponin, dan alkaloid juga dilaporkan memiliki efek sinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri serta proses pembentukan biofilm.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun cengkih mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*, namun masih bersifat kompleks karena mengandung campuran senyawa polar dan non-polar.¹¹ Hingga saat ini penelitian mengenai aktivitas fraksi daun cengkih terhadap biofilm *Streptococcus mutans* masih terbatas, sehingga menjadi celah riset yang perlu dikaji lebih lanjut. Proses fraksinasi merupakan pendekatan yang efektif untuk memisahkan senyawa aktif berdasarkan tingkat kepolarannya, sehingga memungkinkan peningkatan konsentrasi senyawa dengan aktivitas biologis tertentu. Fraksi n-heksana dipilih dalam penelitian ini karena bersifat non-polar dan mampu mengekstraksi senyawa lipofilik seperti eugenol yang memiliki aktivitas antibakteri dan antibiofilm yang kuat.¹² Dengan terkonsentrasinya senyawa aktif non-polar, fraksi n-heksana daun cengkih diharapkan memiliki efektivitas yang lebih tinggi dalam menurunkan massa biofilm dibandingkan ekstrak kasar.

Berdasarkan uraian tersebut, fraksi n-heksana daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) berpotensi sebagai agen alternatif dalam menurunkan massa biofilm *Streptococcus mutans*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas fraksi n-heksana daun cengkih dalam menurunkan massa biofilm *Streptococcus mutans* dan menentukan

konsentrasi paling efektif dalam menurunkan massa biofilm *Streptococcus mutans*.

METODE

Penelitian ini adalah true experimental study dengan desain *posttest-only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui efektivitas fraksi n-heksana daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) terhadap penurunan massa biofilm *Streptococcus mutans*. Pengujian antibiofilm dilakukan menggunakan metode *microtiter biofilm assay* pada *microplate* 96-well dengan pewarnaan *crystal violet*. Proses ekstraksi dan fraksinasi daun cengkih dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta dan pengujian penurunan massa biofilm dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada selama periode Oktober-Januari 2026.

Sampel penelitian menggunakan isolat *Streptococcus mutans* yang diperoleh dari Laboratorium Riset Terpadu, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada, dengan pemilihan sampel dilakukan secara *purposive sampling* berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Koloni *Streptococcus mutans* murni digunakan sebagai sampel, sedangkan koloni yang terkontaminasi bakteri lain dikeluarkan dari penelitian. Penelitian ini terdiri atas tujuh kelompok, yaitu lima kelompok perlakuan fraksi n-heksana daun cengkih dengan konsentrasi 20%, 10%, 5%, 2,5%, dan 1,25%, kontrol positif menggunakan Klorheksidin 0,1%, serta kontrol negatif menggunakan DMSO 1%.

Sampel diambil dari populasi tersebut dan besarnya ditentukan berdasarkan rumus Federer¹³ sebagai berikut:

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

Keterangan:

n = Jumlah sampel tiap kelompok

t = Jumlah kelompok

Jumlah kelompok (t) = 7 kelompok

Sampel tiap kelompok:

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

$$(n-1) \times (7-1) \geq 15$$

$$(n-1) \times 6 \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 15 + 6$$

$$n \geq (15 + 6) / 6$$

$$n \geq 3,5$$

Berdasarkan perhitungan yang dilakukan dengan rumus Federer, ditetapkan bahwa setiap kelompok perlakuan akan diulang sebanyak 4 kali. Dengan demikian, jumlah total sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 28 sampel.

1. Kelompok Perlakuan : 20 sumuran (Media TSB + Bakteri *Streptococcus mutans* + Fraksi n-heksana konsentrasi 20%, 10%, 5%, 2,5%, dan 1,25%).
2. Kelompok Kontrol (+) : 8 sumuran (Media TSB + Bakteri *Streptococcus mutans* + Klorheksidin 0,1%).
3. Kelompok Kontrol (-) : 8 sumuran (Media TSB + Bakteri *Streptococcus mutans* + DMSO 1%).
4. Kelompok Kontrol Media : 16 sumuran (Media TSB).
5. Kelompok Kontrol Bakteri : 8 sumuran (Media TSB + Bakteri *Streptococcus mutans*).

6. Kelompok Kontrol Fraksi : 20 sumuran (Kontrol Fraksi Daun Cengkih 20%, 10%, 5%, 2,5%, dan 1,25%).

Daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) yang digunakan diperoleh dalam bentuk simplisia dan dilakukan determinasi untuk memastikan keaslian tanaman. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1:10 (b/v) selama 3×24 jam dengan pengadukan berkala, kemudian disaring dan diuapkan menggunakan *water bath* hingga diperoleh ekstrak kental.¹⁴ Fraksinasi dilakukan dengan melarutkan ekstrak etanol dalam aquades, lalu ditambahkan dengan pelarut n-heksana menggunakan corong pisah hingga terbentuk dua fase. Fraksi n-heksana yang diperoleh diuapkan hingga kental dan diencerkan menggunakan DMSO 1% untuk memperoleh konsentrasi uji 20%, 10%, 5%, 2,5%, dan 1,25%.¹³ Pemilihan konsentrasi fraksi n-heksana daun cengkih didasarkan pada pendekatan *serial dilution* untuk mengevaluasi hubungan konsentrasi dengan aktivitas antibiofilm serta untuk mengidentifikasi konsentrasi optimum yang memberikan efek penghambatan biofilm paling efektif. Rentang konsentrasi ini juga digunakan untuk memastikan bahwa aktivitas antibiofilm dapat diamati baik pada konsentrasi tinggi maupun rendah.¹⁵

Sebanyak 3-4 koloni *Streptococcus mutans* diinokulasikan ke dalam media *Tryptic Soy Broth* (TSB) yang mengandung 2,5% sukrosa dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Suspensi bakteri kemudian disesuaikan dengan standar 0,5 McFarland dan diencerkan 1:100 menggunakan TSB + 2,5% sukrosa sebelum digunakan dalam uji

pembentukan biofilm.¹⁶ Sebanyak 100 µL suspensi bakteri dimasukkan ke dalam setiap sumuran microplate dan diinkubasi selama 18-20 jam pada suhu 37°C hingga terbentuk biofilm matang. Setelah biofilm terbentuk, media dibuang dan sumuran dibilas dengan PBS steril. Selanjutnya, ditambahkan 100 µL fraksi n-heksana daun cengkih sesuai konsentrasi perlakuan, Klorheksidin 0,1% sebagai kontrol positif, dan DMSO 1% sebagai kontrol negatif, kemudian diinkubasi kembali selama 18-20 jam pada suhu 37°C. Biofilm selanjutnya difiksasi dan diwarnai dengan *crystal violet* 0,1% selama ± 15 menit. Pewarna yang tidak berikatan dibersihkan, sedangkan *crystal violet* terikat dilarutkan menggunakan etanol. Nilai *optical density* (OD) diukur pada panjang gelombang 600 nm sebagai indikator massa biofilm. Setiap kelompok perlakuan dilakukan empat kali pengulangan dalam satu rangkaian eksperimen yang sama untuk meminimalkan variasi antar batch. Pengukuran *optical density* dilakukan menggunakan *microplate reader* dengan pembacaan tunggal (*single-read*) pada panjang gelombang 600 nm. Selain itu digunakan kontrol media (blanko) yang berisi media tanpa bakteri untuk memastikan tidak terdapat interferensi absorbansi dari media atau pelarut. Hitung persentase degradasi biofilm menggunakan rumus berikut^{17,18}:

Degradasi biofilm (%) =

$$\frac{OD_{\text{Kontrol negatif}} - OD_{\text{Sampel}}}{OD_{\text{Kontrol negatif}}} \times 100\%$$

Keterangan:

- OD kontrol negatif: Densitas optik sumuran yang hanya berisi bakteri (*Streptococcus*

mutans) dan media (tanpa penambahan fraksi n-heksana daun cengkih).

- OD sampel: Densitas optik sumuran yang berisi bakteri (*Streptococcus mutans*), media, dan fraksi n-heksana daun cengkih.

Analisis data diawali dengan uji Shapiro–Wilk untuk menilai distribusi data dan uji Levene untuk menguji homogenitas, kemudian dilanjutkan dengan uji Kruskal–Wallis dan uji lanjut *Post Hoc* Dunn untuk mengetahui perbedaan signifikan antar kelompok.¹⁹ Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta (No. 5905/C.1/KEPK- FKUMS/XI/2025).

HASIL

Hasil Determinasi

Determinasi sampel tanaman pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Pengujian - UPF Pelayanan Kesehatan Tradisional RSUP Dr. Sardjito Tawangmangu dengan nomor determinasi TL.02.04/D.XI.6/30138.875/2025. Determinasi bakteri dilakukan di Laboratorium Riset Terpadu, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada dengan regulasi nomor produk R4607001. Hasil determinasi mengkonfirmasi kebenaran bakteri yang digunakan adalah *Streptococcus mutans* ATCC 25175 PK/5.

Hasil Rendemen

Perhitungan rendemen dilakukan untuk mengetahui perbandingan antara berat fraksi kental yang dihasilkan dengan berat ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*).

Tabel 1. Hasil Rendemen

Sampel	Berat Simplisia (g)	Volume Pelarut (mL)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen Ekstrak (%)	Berat Fraksi (g)	Rendemen Fraksi (%)
Daun Cengkih	375	3750	71,615	19,097	12,848	17,94

Dari tabel 1 didapatkan bahwa rendemen dari ekstrak menghasilkan rendemen sebesar 19,097%, kemudian yang memenuhi kriteria rendemen ekstrak yang baik dan menunjukkan kandungan senyawa bioaktif yang optimal.²⁰ Kemudian dari hasil rendemen fraksi n-heksana daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) sebesar 17,94% dimana lebih dari 10% yang dapat dikatakan rendemen yang baik.²¹

Hasil Uji Antibiofilm

Hasil uji efektivitas antibiofilm fraksi daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) dilakukan sebanyak empat pengulangan sesuai perhitungan estimasi besar sampel. Berikut hasil *optical density* (OD) antibiofilm fraksi daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) terhadap *Streptococcus mutans*:

Tabel 2. Hasil Optical Density

Replikasi	Kelompok						
	K (+)	K (-)	20%	10%	5%	2,5%	1,25%
1	0,342	3,581	0,711	0,593	0,697	3,535	1,89
2	0,303	3,688	0,742	0,629	2,423	4	3,42
3	0,531	3,768	0,737	0,534	1,998	3,583	1,625
4	0,68	3,989	0,755	0,616	2,398	3,404	2,531
Rata-Rata	0,464	3,756	0,736	0,593	1,879	3,630	2,367
±	±	±	±	±	±	±	±
SD	0,175	0,172	0,018	0,042	0,811	0,257	0,798

Sumber : Data Primer Diolah 2026

Dari tabel 2 didapatkan besarnya nilai rata-rata *optical density* (OD) pada kelompok kontrol (+) sebesar $0,464 \pm 0,175$. Sedangkan pada kontrol (-) didapatkan $3,756 \pm 0,172$. Kemudian pada kelompok konsentrasi fraksi n-heksana daun cengkih (*Syzygium aromaticum*), besarnya nilai rata-rata paling kecil terletak pada konsentrasi 10% dengan rata-rata OD yang didapatkan $0,593 \pm 0,042$ dan rata-rata paling besar terdapat pada konsentrasi 2,5% yaitu $3,630 \pm 0,257$.

Hasil Uji Normalitas Data

Uji normalitas menggunakan uji Shapiro–Wilk karena jumlah sampel < 50 , yaitu 28 yang didapat dari 7 kelompok uji dengan masing-

masing 4 kali pengulangan. Berikut hasil uji normalitas data berbasis uji Shapiro–Wilk:

Tabel 3. Hasil Uji Normalitas Shapiro–Wilk

Kelompok Uji	Sig.
K (+) Klorheksidin	0,526
K (-) DMSO	0,791
20%	0,679
10%	0,433
5%	0,092
2,5%	0,319
1,25%	0,646

Hasil uji normalitas data pada tabel 3 diketahui besarnya nilai signifikansi (sig.) pada kelompok kontrol (+) sebesar 0,526 sehingga dapat dikatakan bahwa data berdistribusi normal karena nilai $p > 0,05$.

Uji Homogenitas Data

Uji homogenitas dengan Levene's test digunakan untuk menilai apakah ada perbedaan data dalam pengujian ini. Hasil dari homogenitas dengan Levene's test menunjukkan nilai sig 0,003 sehingga dapat disimpulkan bahwa data tidak homogen karena nilai $p < 0,05$.

Uji Statistik Non-Parametrik

Uji statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji Kruskal–Wallis, yang digunakan untuk membandingkan lebih dari dua kelompok independen pada data yang tidak memenuhi asumsi homogenitas. Hasil uji

Kruskal–Wallis menunjukkan nilai statistik $H = 24,554$ dengan nilai Asymp sig. 0,001, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji lanjut *Post Hoc* Dunn untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan signifikan.

Uji Post Hoc

Uji *Post Hoc* digunakan untuk menentukan kelompok yang memiliki perbedaan pengaruh. Dalam penelitian ini digunakan uji Dunn dengan hasil seperti tabel berikut:

Tabel 4. Hasil Uji Dunn

Kelompok (n=7)	P-Value Uji <i>Post Hoc</i> Dunn						
	K (+)	K (-)	20%	10%	5%	2,5%	1,25%
K (+)		0,001*	0,169	0,731	0,048*	0,001*	0,018*
K (-)	0,001*		0,018*	0,001*	0,078	0,764	0,169
20%	0,169	0,018*		0,302	0,547	0,039*	0,323
10%	0,731	0,001*	0,302		0,102	0,002*	0,043*
5%	0,048*	0,078	0,547	0,102		0,144	0,699
2,5%	0,001*	0,764	0,039*	0,002*	0,144		0,283
1,25%	0,018*	0,169	0,323	0,043*	0,699	0,283	

Sumber : Data Primer Diolah 2026

Keterangan: * = Signifikan (ada perbedaan/ $p < 0,05$)

Hasil Persentase Degradasi Biofilm

Hitung persentase degradasi biofilm menggunakan rumus berikut^{17,18}:

Degradasi biofilm (%) =

$$\frac{OD_{Kontrol\ negatif} - OD_{Sampel}}{OD_{Kontrol\ negatif}} \times 100\%$$

Keterangan:

- OD kontrol negatif: Densitas optik sumuran yang hanya berisi bakteri (*Streptococcus mutans*) dan media (tanpa penambahan fraksi n-heksana daun cengkih).
- OD sampel: Densitas optik sumuran yang berisi bakteri (*Streptococcus mutans*), media, dan fraksi n-heksana daun cengkih.

Tabel 5. Hasil Persentase Degradasi Biofilm

Kelompok	Mean OD	Degradasi Biofilm %
20%	0,736	80,40%
10%	0,593	84,21%
5%	1,879	49,97%
2,5%	3,630	3,33%
1,25%	2,367	36,98%
Kontrol (+)	0,464	87,65%

Sumber : Data Primer Diolah 2026

DISKUSI

Penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi n-heksana daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) memiliki aktivitas antibiofilm terhadap *Streptococcus mutans* berdasarkan desain eksperimental *post-test only control group* dengan lima konsentrasi uji, kontrol positif Klorheksidin, dan kontrol negatif DMSO. Proses

ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 96% menghasilkan rendemen sebesar 19,097%, kemudian yang memenuhi kriteria rendemen ekstrak yang baik dan menunjukkan kandungan senyawa bioaktif yang optimal.²⁰ Kemudian dilakukan fraksinasi, dari tabel 1 didapatkan bahwa rendemen dari fraksi n-heksana daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) sebesar 17,94% dimana lebih dari 10% yang dapat dikatakan rendemen yang baik.²¹ Fraksinasi menggunakan n-heksana bertujuan untuk memperoleh senyawa non-polar yang berpotensi memiliki aktivitas antibakteri dan antibiofilm yang lebih spesifik, terutama senyawa lipofilik seperti eugenol.^{12,13}

Hasil uji antibiofilm menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif memiliki nilai *optical density* (OD) tertinggi, yang menandakan pembentukan biofilm maksimal tanpa adanya agen penghambat, sedangkan kontrol positif menunjukkan nilai OD terendah sebagai standar antibiofilm. Di antara kelompok perlakuan, fraksi daun cengkih konsentrasi 10% menunjukkan nilai OD terendah dan mendekati kontrol positif, menandakan efek penghambatan biofilm yang kuat. Analisis statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$), yang diperkuat dengan uji *Post Hoc* Dunn.

Hasil uji *Post Hoc* Dunn menunjukkan bahwa sebagian besar perbandingan antar konsentrasi fraksi daun cengkih tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$), kecuali pada beberapa pasangan tertentu. Konsentrasi 20% berbeda bermakna dengan 2,5%, konsentrasi 10%

berbeda bermakna dengan 2,5% dan 1,25%, serta konsentrasi 2,5% berbeda bermakna dengan 20% dan 10% ($p < 0,05$). Temuan ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi fraksi daun cengkih tidak selalu diikuti oleh peningkatan efektivitas antibiofilm secara linear, karena beberapa konsentrasi menunjukkan efektivitas yang relatif setara. Berdasarkan persentase degradasi biofilm, konsentrasi 10% mampu menurunkan biofilm *Streptococcus mutans* sebesar 84,21%, mendekati efektivitas kontrol positif sebesar 87,65%, sehingga menunjukkan bahwa fraksi daun cengkih konsentrasi 10% memiliki potensi antibiofilm yang hampir sebanding dengan kontrol positif.

Efektivitas antibiofilm yang tidak selalu meningkat seiring kenaikan konsentrasi ekstrak dapat dipengaruhi oleh keterbatasan metode *crystal violet* (CV) yang bersifat non-spesifik, karena mewarnai seluruh biomassa biofilm tanpa membedakan sel hidup, sel mati, dan matriks ekstraseluler, sehingga berpotensi menimbulkan peningkatan absorbansi semu akibat presipitasi senyawa (agregasi) atau debris sel²². Selain itu, pada konsentrasi fraksi yang relatif rendah, jumlah senyawa aktif yang tersedia dalam fase terlarut mungkin belum mencukupi untuk menembus dan merusak struktur matriks biofilm secara optimal, sehingga menghasilkan persentase degradasi yang rendah meskipun senyawa telah terlarut.²³ Sebaliknya pada konsentrasi tinggi, interaksi non-spesifik antara ekstrak dan *crystal violet* dapat semakin meningkat dan menghasilkan nilai absorbansi yang tidak merefleksikan biomassa biofilm secara nyata. Temuan ini

sejalan dengan penelitian Rosyada *et al.* (2023) yang menunjukkan adanya konsentrasi optimum dengan efek antibiofilm maksimal. Dalam penelitian ini, konsentrasi 10% dapat dianggap sebagai konsentrasi paling efektif karena menunjukkan nilai *optical density* yang rendah serta persentase degradasi biofilm yang tinggi dan paling mendekati kontrol positif. Efektivitas yang lebih tinggi pada konsentrasi 10% dibandingkan 20% menunjukkan bahwa hubungan *dose-response* pada aktivitas antibiofilm tidak selalu bersifat linear. Kondisi ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor, di antaranya pada konsentrasi yang lebih tinggi senyawa non-polar dalam fraksi n-heksana berpotensi mengalami agregasi atau presipitasi sehingga menurunkan kemampuan difusi senyawa aktif ke dalam matriks biofilm. Selain itu, konsentrasi fraksi yang tinggi juga dapat menimbulkan interferensi warna terhadap pembacaan *optical density* pada metode *crystal violet*, yang dapat meningkatkan nilai absorbansi secara artifisial pada pengukuran spektrofotometri.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yaitu pengukuran biofilm hanya menggunakan metode *crystal violet assay*, sehingga tidak dapat membedakan antara sel hidup, sel mati, dan matriks biofilm. Kemudian, penelitian ini belum melakukan uji viabilitas sel seperti MTT/XTT *assay* untuk memastikan aktivitas antibiofilm terhadap sel bakteri yang masih hidup dan belum melakukan analisis kandungan senyawa aktif menggunakan metode kromatografi seperti HPLC/GC-MS untuk mengidentifikasi komponen bioaktif dalam fraksi n-heksana.

Selain itu, penelitian ini juga belum mengevaluasi nilai MIC dan MBC terhadap *Streptococcus mutans* karena fokus dalam penelitian adalah mengevaluasi nilai MBEC.

KESIMPULAN

Penelitian ini membuktikan bahwa fraksi n-heksana daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) memiliki aktivitas antibiofilm terhadap *Streptococcus mutans* yang ditunjukkan oleh penurunan massa biofilm pada seluruh konsentrasi uji, dengan perbedaan efektivitas antar konsentrasi. Konsentrasi 10% menunjukkan efektivitas paling tinggi dan memberikan efek penurunan biofilm yang mendekati kontrol positif, sehingga mengindikasikan adanya konsentrasi optimum dalam aktivitas antibiofilm fraksi daun cengkih. Berdasarkan temuan tersebut, diperlukan penelitian lanjutan tentang uji validitas menggunakan metode selain *crystal violet*, seperti XTT/MTT *assay*, guna memastikan hasil pengukuran mencerminkan penghambatan biofilm yang sesungguhnya dan tidak dipengaruhi oleh presipitasi senyawa, pewarnaan non-spesifik, maupun interferensi warna fraksi n-heksana. Selain itu, analisis profil kromatografi menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) diperlukan untuk mengidentifikasi komposisi dan ketersediaan senyawa aktif dalam fraksi n-heksana daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) yang berperan dalam penurunan massa biofilm *Streptococcus mutans*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dosen pembimbing atas arahan dan bimbingan

selama penelitian, kepada tenaga laboratorium atas dukungan teknis dan fasilitas, serta kepada seluruh pihak yang telah memberikan dukungan sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

DAFTAR REFERENSI

1. Mu R, Momeni S, Krieger M, et al. Plasmalogen, a Glycerophospholipid Crucial for *Streptococcus mutans* Acid Tolerance and Colonization. *Appl Environ Microbiol.* 2024;90(4). doi:10.1128/aem.01500-23
2. Hasanuddin Arp, Subakir Salnus. Uji Bioaktivitas Minyak Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* Penyebab Karier Gigi. *BIOMA: Jurnal Biologi Makassar.* Vol 5. 2020. http://journal.unhas.ac.id/index.php/biom_a
3. 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
4. Zayed SM, Aboulwafa MM, Hashem AM, Saleh SE. Biofilm Formation by *Streptococcus mutans* and Its Inhibition by Green Tea Extracts. *AMB Express.* 2021;11(1). doi:10.1186/s13568-021-01232-6
5. Zheng T, Jing M, Gong T, et al. Regulatory Mechanisms Of Exopolysaccharide Synthesis and Biofilm Formation in *Streptococcus mutans*. *J Oral Microbiol. Taylor and Francis Ltd.* 2023;15(1). doi:10.1080/20002297.2023.2225257
6. Grooters KE, Ku JC, Richter DM, et al. Strategies for Combating Antibiotic Resistance in Bacterial Biofilms. *Front Cell Infect Microbiol. Frontiers Media SA.* 2024;14. doi:10.3389/fcimb.2024.1352273
7. Rapti V, Giannitsioti E, Spernovasilis N, Magiorakos AP, Poulakou G. The Evolving Landscape of Infective Endocarditis: Difficult-to-Treat Resistance Bacteria and Novel Diagnostics at the Foreground. *J Clin Med. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).* 2025;14(6). doi:10.3390/jcm14062087
8. Ayu SCDG, Made WAN. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Sebagai Sediaan Pasta Gigi. Vol 2. 2023. *Prosiding Workshop dan Seminar Nasional Farmasi.* <https://doi.org/10.24843/WSNF.2022.v02.p32>
9. Dharmadewi AAIM, Suryatini KY, Rai IGA, Suanda IW, Wiadnyana GAG, Jayantika IGAT. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur *Apergillus Niger*. *JST (Jurnal Sains dan Teknologi).* 2025;14(2):211-217. doi:10.23887/jst-undiksha.v14i2.96348
10. Kashi M, Varseh M, Hariri Y, Chegini Z, Shariati A. Natural Compounds: New Therapeutic Approach for Inhibition of *Streptococcus mutans* and Dental Caries. *Front Pharmacol. Frontiers Media SA.* 2025;16. doi:10.3389/fphar.2025.1548117
11. Suhendar U, Sogandi S. Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Sebagai Inhibitor *Streptococcus mutans*. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi.* 2019;12(2):229-239. doi:10.15408/kauniyah.v12i2.12251
12. Armay Gustari R, Putra Pratama N, Rahayu Purnomo Sari K. Daya Hambat Fraksi N-Heksan, Etil Asetat, dan Air dari Ekstrak Etanol Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* (L.) Merrill & Perry) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Bowl of Hygeia Journal.* 2023. Vol 1. , E-ISSN 2987-7466. <http://journal.unjaya.ac.id/index.php/jop>
13. Iftikhonsa, H.Z, Sutrisna, E.M., Jatmiko, S.W., Sintowati, R., 2021. Uji Efektivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis* dan *Salmonella Typhi*. *Proceeding of the 13th University Research Colloquium*, E-ISSN: 2621-0584

14. Istri Dyah Yustika Dewi C, Ketut Ernawati D, Ayu Alit Widhiartini I. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Terhadap Pertumbuhan Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. 10(2):2021. doi:10.24843.MU.2021.V10.i2.P15
15. 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
16. 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
17. Adeyemo RO, Famuyide IM, Dzoyem JP, Lyndy Joy M. Anti-Biofilm, Antibacterial, and Anti-Quorum Sensing Activities of Selected South African Plants Traditionally Used to Treat Diarrhoea. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2022;2022. doi:10.1155/2022/1307801
18. 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
19. Nursalim Malay M. Belajar Mudah dan Praktis Analisis Data dengan SPSS dan JASP. Bandar Lampung: CV. Madani Jaya; 2022. Available through: https://repository.radenintan.ac.id/25436/1/Buku%20ISBN%20Belajar%20Mudah_Praktis%20SPSS-JASP.pdf [Accessed 23 September 2025]
20. 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
21. Disi MZA, Rajih Hi Yusuf MF, Rahman I. Aktivitas Antioksidan dan Penentuan Kadar Total Flavonoid Fraksi Daging Buah Pala (*Myristica fragrans houtt*). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*. 2024;6(3). doi:10.37311/jsscr.v6i3.28740
22. 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
23. Bartels N, Argyropoulou A, Al-Ahmad A, et al. Antibiofilm Potential of Plant Extracts: Inhibiting Oral Microorganisms and *Streptococcus mutans*. *Frontiers in Dental Medicine*. 2025;6. doi:10.3389/fdmed.2025.1535753
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