



ARTIKEL RISET

URL artikel: <http://jurnal.fkmumi.ac.id/index.php/woh/article/view/woh2206>**Isolasi Dan Uji Aktivitas Anti Bakteri Fungi Endofit Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Dalam Menghambat Bakteri Penyebab Karies Gigi**Nabila Adelina¹, Fitriana¹, Tadjuddin Naid¹, ^KSeniwati²¹Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia²Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas HasanuddinEmail Penulis Korespondensi (^K): seniwatid@gmail.comNo Telepon Penulis Korespondensi (^K): 08124266134

ABSTRAK

Cengkeh merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Cengkeh, selain dikenal sebagai penyedap makanan, juga memiliki khasiat sebagai analgesik, bakteriostatik, dan mengobati kejang perut. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan memperoleh profil kromatogram dari bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap bakteri penyebab infeksi karies gigi. Pencarian senyawa bioaktif dalam penelitian ini adalah mengisolasi fungi endofit pada bunga cengkeh lalu dimurnikan dan diuji secara makroskopik. Kemudian dilakukan uji skrining lalu dilanjutkan fermentasi selama 21 hari menggunakan medium Potato Dextrose Broth untuk dipisahkan supernatan dan miselia, kemudian diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat untuk mendapatkan ekstrak etil asetat. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode KLT-Bioutografi menggunakan eluen etil asetat : n-heksan (4 : 1). Hasil dari penelitian ini diperoleh lima isolat fungi endofit yang aktif terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*. Isolat yang memiliki aktivitas terbesar, yaitu isolat dengan kode IFBC-01. Hasil dari KLT-Bioautografi diperoleh satu bercak dengan nilai rf : 0.67 yang berarti memiliki aktivitas antibakteri.

Kata kunci : Bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.), KLT-Bioutografi, *streptococcus mutans*, *porphyromonas gingivalis*

PUBLISHED BY :Public Health Faculty
Universitas Muslim Indonesia**Address :**Jl. Urip Sumoharjo Km. 5 (Kampus II UMI)
Makassar, Sulawesi Selatan.**Email :**jurnal.woh@gmail.com, jurnalwoh.fkm@umi.ac.id**Phone :**

+62 85255997212

Article history :

Received 22 February 2019

Received in revised form 13 March 2019

Accepted 18 March 2019

Available online 25 April 2019

licensed by [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

ABSTRACT

*Clove is one of the plants that has the potential as an antibacterial. Clove, besides being known as a food flavoring, also has properties as an analgesic, bacteriostatic, and treat stomach cramps. This study aims to isolate and obtain a chromatogram profile of clove flowers (*Syzygium aromaticum* L.) against bacteria that cause dental caries infection. The search for bioactive compounds in this study was to isolate endophytic fungi in clove flowers and then purified and tested macroscopically. Then a screening test was carried out and then continued for 21 days fermentation using Potato Dextrose Broth medium to separate the supernatant and mycelia, then extracted using ethyl acetate solvents to obtain ethyl acetate extract. Antibacterial activity testing was carried out by TLC-Bioutography method using ethyl acetate: n-hexane (4: 1) eluent. The results of this study obtained five endophytic fungi isolates that were active against the bacteria *Streptococcus mutans* and *Porphyromonas gingivalis*. Isolates that have the greatest activity, namely isolates with the code IFBC-01. The results of TLC-Bioautography obtained one speck with a value of *r_f*: 0.67 which means it has antibacterial activity.*

*Keywords : Clove flowers (*Syzygium aromaticum* L.), TLC-Bioutography, *streptococcus mutans*, *porphyromonas gingivalis**

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan masalah terbesar di dunia dan merupakan penyakit yang frekuensi kejadiannya masih lebih besar daripada jenis penyakit yang lain. Infeksi terjadi karena adanya interaksi antara mikroorganisme dengan hospes. Menurut Laporan Riset Kesehatan Dasar 2007, sebanyak 72.1% penduduk Indonesia mengalami karies. Karies merupakan suatu penyakit infeksi pada jaringan keras gigi. Bakteri berperan penting pada proses terjadinya karies yang menyebabkan terjadinya kerusakan pada jaringan keras gigi.¹

Streptococcus mutans sebagai bakteri penyebab utama terjadinya karies gigi, yang sebelumnya diketahui sebagai bagian dari flora normal dalam rongga mulut yang berperan dalam proses fermentasi karbohidrat sehingga menghasilkan asam menyebabkan terjadinya demineralisasi email gigi. Bakteri ini merupakan bakteri patogen pada mulut yang berkoloni pada permukaan gigi, merupakan agen penyebab utama karies gigi, gingivitis, dan stomatitis.²

Setiap tanaman dapat mengandung satu atau lebih mikroorganisme endofit yang terdiri dari fungi atau bakteri. Fungi endofit hidup intraseluler di dalam jaringan tanaman sehat yang menginduksi inang untuk menghasilkan senyawa sekunder. Huang (2007) menyebutkan bahwa terdapat kolerasi antara keberadaan fungi endofit dengan kemampuan tanaman inang dalam memproduksi metabolit sekunder.³

Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai penghasil senyawa antibakteri adalah cengkeh. Cengkeh memiliki beragam manfaat, tidak hanya sebagai penyedap makanan, tetapi juga untuk mengobati berbagai macam penyakit.⁴ Cengkeh berkhasiat menghilangkan rasa sakit (analgesik) terutama sakit gigi, memberi aroma, menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik), dan mengobati kejang perut. Dalam pengobatan sakit gigi, biasanya cengkeh digunakan sebagai pereda sakit secara topikal.⁵

Minyak cengkeh juga digunakan sebagai bahan aktif dalam pembuatan obat kumur karena sifatnya sebagai antibakteri. Hasil penelitian para ahli kesehatan menunjukkan bahwa formula obat

kumur yang dibuat dari minyak cengkeh dapat menghambat tumbuhnya bakteri *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus viridians* yang terdapat pada plak gigi. Ekstraksi bunga cengkeh dengan pelarut n-heksana menghasilkan rendemen minyak 17.61% dan kadar eugenol 65.02%.⁶ Senyawa eugenol sebagai hasil isolasi dari minyak cengkeh biasa digunakan sebagai obat sakit gigi baik dalam bentuk cairan maupun sebagai bahan campuran untuk menambal sementara gigi berlubang.⁴

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas isolasi antibakteri fungi endofit bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dalam menghambat bakteri penyebab karies gigi.

METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu Alat-alat gelas, Otoklaf (SMIC Model YX-280 B), cawan Petri (Normax), gelas Erlenmeyer 250 dan 500 mL (Iwaki Pyrex), gelas kimia 250 dan 500 mL (Iwaki Pyrex), inkubator (Mettler), lampu spiritus, lampu UV 254 dan 366 nm (Philips), oven (Mettler), shaker, timbangan analitik (Chyo).

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu aqua destilata, bakteri uji *Streptococcus mutans*, bakteri uji *Porphyromonas gingivalis*, etanol 70%, etil asetat, kloramfenikol, medium NA (*Nutrient Agar*), medium PDA (*Potato Dextrose Agar*), medium PDB (*Potato Dextrose Broth*), n-heksan, dan sampel bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.).

Penyiapan Sampel

Sampel penelitian yang digunakan berupa bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) segar, dicuci dengan air mengalir guna menghilangkan tanah dan kotoran yang menempel. Selanjutnya desinfeksi permukaan bunga cengkeh menggunakan etanol 70% selama 2 menit, kemudian dibilas dengan aquadest steril sebanyak 3 kali masing-masing selama 1 menit.

Isolat Fungi Endofit

Bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dipotong berbentuk persegi panjang \pm 1 cm. Potongan tersebut ditanam pada media agar yang dibuat dari PDA (*Potato Dextrose Agar*) sebelumnya ditambahkan kloramfenikol 100 mg/L ke dalam media agar untuk mencegah pertumbuhan bakteri lainnya. Cawan petri yang berisi bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) tersebut ditutup, lalu disimpan pada suhu kamar (25°C) selama 3-5 hari. Setelah 3-5 hari akan terlihat pertumbuhan dari jamur disekitar bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) pada media agar.⁷

Pemurnian dan Uji Makroskopis

Isolat fungi yang diperoleh dimurnikan dengan menggunakan medium PDA (*Potato Dextrose Agar*), yaitu masing-masing isolat ditanam ke dalam medium PDA (*Potato Dextrose Agar*) dengan metode tusuk menggunakan jarum ose. Kemudian di inkubasi selama 5-7 hari pada suhu kamar. Pemurnian isolat fungi dilakukan hingga diperoleh isolat tunggal atau koloni tunggal.⁸ Karakterisasi morfologi fungi dilakukan dengan mengamati beberapa karakter secara makroskopis. Pengamatan

makroskopis meliputi warna dan permukaan koloni (granular, seperti tepung, menggunung, licin), tekstur, zonasi, daerah tumbuh, garis-garis radial dan konsentris, dan warna balik koloni.⁸

Uji Skrining Aktivitas Antibakteri

Isolat fungi endofit dipotong kecil ± 1 cm, ditempatkan dipermukaan medium NA (*Nutrient Agar*) yang telah berisi bakteri uji. Selanjutnya diinkubasi 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Masing-masing isolat diamati kemampuannya dalam menghambat bakteri uji yang ditandai dengan terbentuknya zona jernih dan dievaluasi berdasarkan diameter zona hambatannya. Menurut Davis & Stout 1971, menyatakan bahwa ketentuan antibakteri adalah sebagai berikut: daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10 – 20 mm berarti kuat, 5 – 10 mm berarti sedang, dan daerah hambatan 5 mm atau kurang berarti lemah.⁹ Isolat yang memberikan aktivitas yang paling baik, kemudian di produksi dalam jumlah yang besar dan dilanjutkan pada pengujian aktivitas secara KLT-Bioautografi.

Fermentasi Isolat

Fungi endofit yang memberikan aktivitas terbesar sebagai isolat terpilih selanjutnya ditumbuhkan pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Jamur yang tumbuh dipotong 1,5 cm x 1,5 cm dengan ose bulat, dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 mL media PDB (*Potato Dextrose Broth*) untuk fermentasi. Fermentasi secara dinamis menggunakan shaker dengan kecepatan 200 rpm selama 3 minggu. Setelah 3 minggu hasil fermentasi disaring untuk memisahkan supernatan dan miselia. Supernatan di ekstraksi 2 kali dengan pelarut etil asetat. Pelarut diuapkan sampai diperoleh ekstrak kering.⁸

Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Lempeng KLT sebelum digunakan diaktifkan terlebih dahulu dengan pemanasan dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit. Fermentat dilarutkan dengan pelarut etil asetat ditotolkan pada lempeng KLT ukuran 7x1 cm menggunakan pipa kapiler. Kemudian dielusikan dengan cairan pengelusi n-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 4 : 1. Lempeng di masukkan ke dalam chamber. Lempeng dikeluarkan dari *chamber* dan diangin-anginkan sehingga cairan pengelusnya menguap. Kemudian kromatogram yang dihasilkan diamati nodanya dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.¹⁰

Pengujian Secara KLT-Bioautografi

Hasil identifikasi KLT menggunakan eluen n-heksan dan etil asetat (4 : 1) dilanjutkan dengan uji KLT-Bioautografi kontak dengan cara dituang NA (*Nutrient Agar*) sebanyak 10 mL ke dalam cawan petri dan ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 1 ose, kemudian dihomogenkan. Lempeng KLT yang telah dielusikan diletakkan diatas permukaan medium agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji, dibiarkan selama 60 menit. Setelah itu lempeng diangkat dan dikeluarkan, lalu diinkubasi

selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu diamati bercak yang memberikan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri uji.¹⁰

HASIL

Uji Skrining Aktivitas Antibakteri

Tabel 1. Hasil uji skrining isolat fungi pada bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L)

No.	Kode Isolat	Diameter Zona Hambatan (mm)	
		SM	PG
1	IFBC-01	17.81	22.89
2	IFBC-02	16.47	21.67
3	IFBC-03	17.21	19.11
4	IFBC-04	17.69	18.93
5	IFBC-05	17.26	22.74

Keterangan: SM = (*Streptococcus mutans*)

PG = (*Porphyromonas gingivalis*)

Berdasarkan tabel 1, diperoleh isolat fungi endofit dengan kode IFBC-01 memberikan aktivitas tertinggi terhadap bakteri uji *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* dengan daerah hambatan 17.81 mm dan 22.89 mm. Menurut Davis & Stout (1971), apabila daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10 – 20 mm berarti kuat. Dari hasil penelitian diperoleh klasifikasi respon hambat pertumbuhan terhadap bakteri uji *Streptococcus mutans* adalah kuat dan *Porphyromonas gingivalis* sangat kuat.

Pengujian KLT-Bioautografi

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Bunga Cengkeh Isolat IFBC-01 secara KLT Bioautografi

No.	Bercak	Rf	Warna pada penampak bercak		Bakteri
			UV 254 nm	UV 366 nm	
1.	1	0.67	Hijau	Ungu	SM
2.	1	0.67	Hijau	Ungu	PG

Identifikasi profil KLT ini menggunakan eluen n-heksan dan etil asetat (4 : 1), hal ini disebabkan karena masing-masing pelarut memiliki kepolaran yang berbeda dapat terpisahkan dengan eluen tersebut dan diperoleh bercak dan zona hambat dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Hasil pengujian secara KLT-Bioautografi untuk ekstrak etil asetat isolat IFBC-01 pada UV 254 nm dan 366 nm diperoleh 1 bercak aktif dengan nilai rf : 0.67 untuk bakteri uji *Streptococcus mutans* dan bakteri uji *Porphyromonas gingivalis*.

PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat fungi endofit dari bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.). Bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) didesinfeksi menggunakan etanol 70% , karena etanol lebih efektif pada konsentrasi 70% daripada konsentrasi yang lebih tinggi. Campuran etanol 70% dapat menembus lebih dalam untuk desinfeksi karena memiliki 30% kandungan air. Molekul air harus ada agar etanol dapat bekerja untuk mengkoagulasi protein. Oleh sebab itu air penting untuk koagulasi.

Isolasi fungi endofit pada bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dengan menggunakan medium Potato Dextrosa Agar Chloramfenikol (PDAC), dimana PDA (Potato Dextrosa Agar) memiliki sumber karbohidrat dan dextrosa sebagai sumber karbon untuk menunjang pertumbuhan fungi endofit. Tujuan penambahan kloramfenikol adalah untuk mencegah pertumbuhan bakteri pada medium sehingga hanya didapatkan jamur yang akan tumbuh.

Isolat yang diperoleh selanjutnya dimurnikan dengan tujuan untuk mendapatkan kultur murni dari masing masing isolate. Pemurnian ini menggunakan metode tusuk dengan cara ujung ose yang di ujungnya terdapat isolat, sampai ditemukan kultur murni. Perolehan isolat jamur endofit hasil isolasi selanjutnya dilakukan pengamatan secara makroskopis. Masing-masing isolat memiliki ciri khas morfologi yang berbeda.

Hasil pengujian skrining isolat fungi endofit dari bunga cengkeh terhadap bakteri uji dapat dilihat pada tabel 1. Berdasarkan tabel tersebut, diperoleh isolat fungi endofit dengan kode IFBC-01 memberikan aktivitas tertinggi terhadap bakteri uji *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* dengan daerah hambatan 17.81 mm dan 22.89 mm. Menurut Davis & Stout (1971), apabila daerah hambatan 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, daerah hambatan 10 – 20 mm berarti kuat. Dari hasil penelitian diperoleh klasifikasi respon hambat pertumbuhan terhadap bakteri uji *Streptococcus mutans* adalah kuat dan *Porphyromonas gingivalis* sangat kuat.

Isolat murni dengan kode IFBC-01 kemudian dilanjutkan dengan proses fermentasi dalam medium Potato Dekstrose Broth (PDB) selama 21 minggu, sambil diputar dengan kecepatan 200 rpm, dimana pada kecepatan ini diharapkan proses fermentasi jamur dapat mencapai fase stationer dan menghasilkan metabolit sekunder

Hasil fermentasi kemudian diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dengan metode ekstraksi cair- cair pada supernatan dan diperoleh ekstrak supernatant. Tujuan pemilihan metode tersebut karena supernatan bersifat cair dan senyawa kimia yang akan ditarik pada supernatan berada pada larutannya. Hasil fermentasi kemudian dilanjutkan untuk pengujian aktivitas antibakteri terhadap beberapa mikroba uji yang bertujuan untuk melihat isolat IFBC-01 yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Isolat IFBC-01 dilarutkan menggunakan pelarut etil asetat karena etil asetat merupakan salah satu pelarut semi polar yang dapat menarik senyawa nonpolar hingga polar.

Hasil identifikasi dengan profil KLT dapat dilihat pada tabel 2. Identifikasi profil KLT ini menggunakan eluen n-heksan dan etil asetat (4 : 1), hal ini disebabkan karena masing-masing pelarut memiliki kepolaran yang berbeda dapat terpisahkan dengan eluen tersebut dan diperoleh bercak dan zona hambat dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Hasil pengujian secara KLT-Bioautografi untuk ekstrak etil asetat isolat IFBC-01 pada UV 254 nm dan 366 nm diperoleh 1 bercak aktif dengan nilai rf : 0.67 untuk bakteri uji *Streptococcus mutans* dan bakteri uji *Porphyromonas gingivalis*.

Profil kromatogram aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat secara KLT-Bioautografi diperoleh 1 bercak dengan nilai rf : 0.67, yang berarti bahwa ada satu senyawa yang berperan sebagai anti bakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri penyebab karies gigi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa isolat fungi endofit dari bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dengan kode isolat IFBC-01 memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri uji *Streptococcus mutans* kuat dan *Porphyromonas gingivalis* yang merupakan bakteri penyebab karies gigi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Fitriani, Dewi N, Budiarti YL. Efek antibakteri sediaan tunggal dan kombinasi air perasan jeruk nipis dan madu terhadap *Streptococcus mutans*. Jurnal Kedokteran Gigi, 2016; 1(2): 146-150.
2. Andries JR, Gunawan PN, Supit A. Uji Efek Bakteri Bunga Cengkeh terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* Secara In Vitro'. Jurnal e-GIGI (eG), 2014; Vol.14, no.2.
3. Huang H, She Z, Lin Y, Vrijmoed, LLP, Lin W. Cyclic Peptides from an Endophytic Fungus Obtained from a Mangrove Leaf (*Kandelia candel*). Journal of Natural Products, 2007; 70(11): 1696-1699.
4. Rukmana H, Rahmat. Untung Selangit dari Agribisnis Cengkeh. Yogyakarta: Lily Publisher; 2016.
5. Maryani H, Suharmiati. Tanaman Obat Untuk Mengatasi Penyakit Pada Usia Lanjut. Jakarta: AgroMedia Pustaka; 2006.
6. Hadi S. Pengambilan minyak atsiri Bunga cengkeh (clove oil) menggunakan pelarut n-heksan dan benzene. Jurnal Bahan Alam Terbarukan, 2012: Vol. 1 No. 2: 25-30.
7. Kasi A, Yolanda. Uji Efek Antibakteri Jamur Endofit Daun Mangrove (*Avicenna marina*) Terhadap Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* dan *Shigella dysenteriae*. Jurnal e-Biomedik (eBn), 2016; vol.3, no.1: 112-117.
8. Widowati T, Bustanussalam, Sukiman H, Simanjuntak P. Isolasi Dan Identifikasi Kapang Endofit Dari Tanaman Kunyit (*Curcuma longa* L.) Sebagai Penghasil Antioksidasi. Biopropal Industri, 2016; vol. 7 no.1: 9-16.
9. Davis WW, Stout TR. Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. Microbiology, 1971; 22: 659-665.
10. Kjer JA, Debbab HA, Aly, Proksch P. Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products. Nature Protocols, 2010; vol.5, no.3: 479-490.