



**Identifikasi Flavonoid Ekstrak Fraksi Etil Asetat Daun Asam
Jawa terhadap *Streptococcus mutans***

**Identification of Flavonoids in the Ethyl Acetate Fraction Extract
of Tamarind Leaves Against *Streptococcus mutans***

Intan Harlesi¹, Devi Novia², Tri Yanuarto³, Luky Dharmayanti⁴

^{1,2,3,4}Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu

e-mail: *¹intanharlesiii@gmail.com, ²devinoviaakfar@gmail.com, ³yanuartiga@gmail.com,
⁴lukydharmayanti@gmail.com

ABSTRACT

Streptococcus mutans is known to play a role in the development of dental caries, highlighting the need for alternative antibacterial agents derived from natural sources. This study aimed to determine the presence of flavonoid compounds in the ethyl acetate fraction extract of tamarind leaves (*Tamarindus indica* L.), quantify the total flavonoid content, and evaluate its antibacterial activity against *Streptococcus mutans*. The tamarind leaves were extracted by maceration using 96% ethanol, followed by fractionation with ethyl acetate. The presence of flavonoids was confirmed through phytochemical screening and Thin-Layer Chromatography (TLC), while the total flavonoid content was determined using UV-Vis spectrophotometry with quercetin as the standard at a wavelength of 432 nm. Antibacterial activity was evaluated using the disc diffusion method at concentrations of 25%, 50%, and 75%, with 0.2% chlorhexidine gluconate as the positive control and 10% DMSO as the negative control. The results showed that the ethyl acetate fraction extract was positive for flavonoids, with a total flavonoid content of 4.091%. The sample showed an R_f value of 0.94, while quercetin had an R_f value of 0.88, resulting in an R_f difference of 0.06. The mean inhibition zone diameters at concentrations of 25%, 50%, and 75% were 11.74, 16.53, and 21.48 mm, respectively, whereas the positive control produced an inhibition diameter of 11.27 mm and the negative control showed no inhibition zone. One-Way ANOVA revealed a significant difference among treatments ($p < 0.05$), with the 75% concentration producing the highest antibacterial activity. Therefore, the ethyl acetate fraction extract of tamarind leaves was confirmed to contain flavonoids and exhibited antibacterial activity against *Streptococcus mutans*, with the 75% concentration providing the most effective treatment.

Keywords: Flavonoids; tamarind leaves; *Streptococcus mutans*; antibacterial.

PUBLISHED BY :

Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Parepare

Address :

Jl. Jend. Ahmad Yani Km. 6, Lembah Harapan
Kota Parepare, Sulawesi Selatan.

Email :

jurnalmakes@gmail.com

Article history :

Submitted 6 Agustus 2026

Accepted 21 Agustus 2026

Available online 11 September 2026



ABSTRAK

Bakteri *Streptococcus mutans* diketahui memiliki peranan dalam proses terjadinya karies gigi, sehingga diperlukan alternatif antibakteri yang berasal dari bahan alam. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak fraksi etil asetat daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.), menganalisis kandungan flavonoid total, serta menguji aktivitas antibakterinya terhadap *Streptococcus mutans*. Daun asam jawa diekstraksi melalui proses maserasi dengan etanol 96%, kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan etil asetat. Keberadaan flavonoid dikonfirmasi melalui skrining fitokimia dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), sedangkan kandungan flavonoid total dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan kuarsetin sebagai standar pada panjang gelombang 432 nm. Aktivitas antibakteri diuji menggunakan teknik difusi cakram dengan konsentrasi 25%, 50%, dan 75%, menggunakan *chlorhexidine gluconate* 0,2% sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak fraksi etil asetat positif mengandung flavonoid dengan kadar flavonoid total sebesar 4,091%. Nilai Rf sampel sebesar 0,94 dan Rf kuarsetin sebesar 0,88 menunjukkan selisih nilai Rf sebesar 0,06. Rerata diameter zona hambat yang diperoleh pada konsentrasi 25%, 50%, dan 75% masing-masing sebesar 11,74; 16,53; dan 21,48 mm, sedangkan kontrol positif menghasilkan diameter hambat sebesar 11,27 mm dan kontrol negatif tidak membentuk zona hambat. Analisis One-Way ANOVA memperlihatkan adanya perbedaan yang signifikan antarperlakuan ($p < 0,05$), dengan konsentrasi 75% menghasilkan daya hambat paling tinggi. Dengan demikian, ekstrak fraksi etil asetat daun asam jawa positif mengandung flavonoid dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*, dengan konsentrasi 75% sebagai perlakuan yang memberikan efektivitas terbaik.

Kata kunci : Flavonoid; daun asam jawa; *Streptococcus mutans*; antibakteri

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang berpotensi sebagai sumber bahan obat dan senyawa bioaktif. Pemanfaatan tanaman obat terus dikembangkan, termasuk untuk memperoleh senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri.¹ Salah satu tanaman yang telah dimanfaatkan secara tradisional adalah asam jawa (*Tamarindus indica* L.). Bagian daun tanaman ini diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder, seperti flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid. Di antara senyawa tersebut, flavonoid termasuk kelompok senyawa fenolik yang memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri melalui beberapa mekanisme, antara lain dengan memengaruhi permeabilitas membran, mengganggu aktivitas enzim, serta menghambat proses metabolisme bakteri.²

Fraksinasi merupakan suatu metode untuk memisahkan ekstrak berdasarkan perbedaan tingkat kepolaran senyawanya.³ Fraksinasi menggunakan pelarut seperti etil asetat merupakan salah satu metode yang efektif dalam memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Fraksi etil asetat banyak digunakan untuk mengekstraksi flavonoid karena sifat kepolarannya yang sesuai untuk menarik senyawa polifenol tersebut. Dengan demikian, identifikasi senyawa pada ekstrak fraksi etil asetat daun asam jawa menjadi langkah penting untuk memastikan keberadaan flavonoid yang berpotensi berperan dalam aktivitas antibakteri.⁴

Bakteri *Streptococcus mutans* diketahui memiliki peranan utama dalam pembentukan plak dan kerusakan jaringan keras gigi pada area tertentu.⁵ Bakteri ini mampu memfermentasi sukrosa dan menghasilkan asam laktat, sehingga kondisi lingkungan rongga mulut menjadi lebih asam dan memicu kerusakan jaringan gigi. Pengendalian *S. mutans* umumnya dilakukan menggunakan obat kumur atau antibiotik, tetapi penggunaan dalam jangka panjang dapat menimbulkan dampak yang tidak diinginkan

serta meningkatkan ketahanan bakteri terhadap agen antibakteri. Hal ini menjadi dasar untuk mencari alternatif bahan antibakteri alami dengan efektivitas serta keamanan yang baik sebagai upaya mengendalikan *S. mutans*.⁶

Berdasarkan uraian tersebut menjadi dasar dilakukannya penelitian untuk mengetahui kandungan senyawa flavonoid dalam ekstrak fraksi etil asetat daun asam jawa sekaligus menguji aktivitas antibakterinya terhadap *Streptococcus mutans*. Hasil penelitian diharapkan dapat mendukung pemanfaatan daun asam jawa sebagai sumber bahan antibakteri alami dalam upaya pencegahan karies gigi.

METODE

Jenis dan Tempat Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia, Kimia, dan Mikrobiologi Sekolah Tinggi Kesehatan Al-Fatah Bengkulu

Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan meliputi botol kaca gelap, timbangan analitik, tabung dan rak tabung reaksi, erlenmeyer, *waterbath*, corong pisah, aluminium foil, autoklaf, cawan petri, jarum ose, Bunsen, pinset, pipet tetes, gelas ukur, kapas steril, hot plate, rotary evaporator, laminar air flow (LAF), spektrofotometer UV-Vis, inkubator, jangka sorong digital, serta peralatan gelas standar laboratorium.

Bahan penelitian terdiri atas daun asam jawa, *Streptococcus mutans*, *Nutrient Agar* (NA), etanol 96%, n-heksan, etil asetat, aquadest, n-butanol, asam asetat, $AlCl_3$, natrium asetat, $BaCl_2$ 1%, H_2SO_4 1%, kertas cakram, DMSO 10%, kuarsetin, *chlorhexidine* (Minosep), HCl pekat, dan serbuk magnesium (Mg).

Prosedur Kerja Penelitian

Verifikasi Tanaman

Verifikasi terhadap sampel daun asam jawa dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu. Proses tersebut dilakukan untuk memastikan keaslian dan ketepatan identitas bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian.

Pembuatan Simplisia dan Ekstrak

Daun asam jawa segar dengan bobot 2 kg diawali dengan proses pemilahan bahan yang memenuhi kriteria, dilanjutkan dengan pembersihan, pengecilan ukuran bahan, dan pengeringan hingga diperoleh simplisia. Hasil pengeringan diperoleh simplisia kering dengan bobot 1 kg. Simplisia kemudian diekstraksi melalui metode maserasi menggunakan etanol 96%. Maserat yang dihasilkan selanjutnya dipisahkan dari residu, kemudian dilakukan pemekatan dengan bantuan *Rotary Evaporator* sampai terbentuk ekstrak dengan konsistensi kental.⁷

Fraksinasi Ekstrak Daun Asam Jawa Berdasarkan Kepolaran

Proses fraksinasi diawali dengan melarutkan 10 gram ekstrak kental daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) ke dalam 100 mL aquadest. Larutan tersebut kemudian dipindahkan ke corong pisah dan ditambahkan 100 mL n-heksan sebagai pelarut nonpolar. Campuran dikocok selama 30 menit hingga

terbentuk dua lapisan. Setelah pemisahan, lapisan bawah berupa fase aquadest, sedangkan fase n-heksan berada pada lapisan atas. Fase aquadest kemudian dipisahkan dan dilanjutkan dengan penambahan 100 mL etil asetat sebagai pelarut semipolar. Campuran kembali dikocok hingga menghasilkan dua lapisan, dengan fase akuades berada di bagian bawah dan fase etil asetat pada bagian atas. Fase etil asetat selanjutnya dipisahkan, kemudian dilakukan penguapan menggunakan *waterbath* sampai diperoleh ekstrak hasil fraksinasi etil asetat daun asam jawa.⁸

Identifikasi Flavonoid

Pengujian kualitatif flavonoid dilakukan melalui reaksi Shinoda menggunakan serbuk magnesium dan HCl pekat.⁹ Indikasi positif ditentukan dari perubahan warna yaitu merah, kuning atau jingga. Selanjutnya, keberadaan flavonoid dikonfirmasi melalui analisis kromatografi lapis tipis (KLT). Lempong silika gel GF254 digunakan sebagai media pemisahan, sedangkan pengembangan dilakukan menggunakan campuran n-butanol, asam asetat, dan aquadest dengan perbandingan 4:1:5. Kuarsetin digunakan sebagai pembanding dan AlCl_3 sebagai pereaksi untuk membantu visualisasi bercak. Hasil pemisahan kemudian dievaluasi berdasarkan nilai R_f dengan membandingkan perpindahan bercak senyawa terhadap pergerakan front pelarut.¹⁰

Analisis Flavonoid dengan Spektrofotometri UV-Vis

Pembuatan Kuarsetin

Larutan kuarsetin disiapkan dengan menimbang 10 mg kuarsetin, kemudian melarutkannya menggunakan etanol dalam labu ukur 100 mL. Penambahan etanol dilakukan hingga mencapai tanda batas sehingga diperoleh larutan kuarsetin dengan konsentrasi 100 ppm.¹¹

Penetapan Nilai Panjang Gelombang Maksimum

Penetapan nilai panjang gelombang maksimum dilakukan dengan mengambil 1 mL larutan kuarsetin 100 ppm dan memasukkannya ke dalam labu ukur 50 mL. Ke dalam larutan tersebut ditambahkan etanol, 30 mL aquadest, 1 mL AlCl_3 10%, serta 1 mL natrium asetat 1 M. Volume larutan kemudian dicukupkan menggunakan aquadest hingga tanda batas dan dihomogenkan. Larutan didiamkan selama 30 menit sebelum dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 380–780 nm. Panjang gelombang dengan absorbansi tertinggi ditetapkan sebagai panjang gelombang maksimum.¹¹

Pembuatan Kurva Standar Kuarsetin

Larutan stok kuarsetin dibuat dengan menimbang 25 mg kuarsetin dan melarutkannya menggunakan etanol hingga volume 25 mL. Larutan tersebut kemudian diencerkan dengan mengambil 5 mL larutan stok dan mencukupkan volumenya menggunakan etanol hingga 50 mL sehingga diperoleh larutan kuarsetin 100 ppm. Larutan standar dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm selanjutnya disiapkan dengan mengambil masing-masing 1, 2, 3, 4, dan 5 mL larutan kuarsetin 100 ppm ke dalam labu ukur 50 mL. Masing-masing larutan ditambahkan 30 mL akuades, 1 mL AlCl_3 10%, 1 mL AlCl_3 2%, dan 1 mL $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ 1 M, kemudian volumenya dicukupkan dengan aquadest hingga tanda batas.

Larutan dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit. Setelah masa inkubasi selesai, absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 380–780 nm.¹¹

Analisis Kadar Flavonoid pada Ekstrak Fraksi Etil Asetat Daun Asam Jawa

Ekstrak fraksi etil asetat daun asam jawa sebanyak 0,05 gram dilarutkan menggunakan etanol 96% hingga diperoleh volume akhir 50 mL. Larutan kemudian dipipet 10 mL dan dimasukkan ke labu takar berkapasitas 50 mL. Selanjutnya, campuran diberi 20 mL aquadest, 1 mL $AlCl_3$ 10%, serta 1 mL natrium asetat, lalu volume dibuat hingga mencapai batas volume yang ditetapkan dengan aquadest. Setelah homogen, larutan didiamkan selama 30 menit. Absorbansi selanjutnya ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} 432 nm. Hasil pembacaan absorbansi selanjutnya dimasukkan ke dalam persamaan regresi yang diperoleh dari kurva baku kuarsetin, sehingga kadar flavonoid total dapat dihitung.¹¹

Sterilisasi Alat

Tahap sterilisasi dilakukan sebagai upaya menjaga kondisi alat tetap bebas dari kontaminasi mikroba selama proses penelitian berlangsung. Sebelum disterilkan, seluruh peralatan terlebih dahulu dibersihkan dan dikeringkan. Peralatan berbahan gelas, termasuk cawan petri, gelas kimia, serta tabung reaksi, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf dengan kondisi 121°C selama 15 menit. Sementara itu, jarum ose disterilkan melalui pemanasan langsung pada nyala api bunsen hingga memijar.¹²

Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Media *Nutrient Agar* dibuat dengan melarutkan 4 gram *Nutrient Agar* dengan 200 mL aquadest, lalu dipanaskan sampai mendidih sambil terus diaduk agar seluruh komponen tercampur secara merata. Setelah larutan homogen, proses sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf pada 121°C selama 15 menit. Media yang telah melalui proses sterilisasi selanjutnya dituangkan ke dalam cawan petri yang telah steril dan dibiarkan sampai media mengeras sebelum digunakan dalam pengujian.¹³

Peremajaan Kultur Bakteri

Peremajaan kultur *Streptococcus mutans* diawali dengan inokulasi satu ose kultur murni menggunakan kawat ose yang telah disterilkan. Kultur tersebut kemudian diinokulasikan secara gores pada permukaan media miring. Selanjutnya, media yang telah diinokulasi ditempatkan pada suhu 37°C selama 24 jam hingga diperoleh pertumbuhan koloni baru.¹⁴

Pembuatan Standar Kekeruhan Mc. Farland

Standar *McFarland* disiapkan dengan mencampurkan 9 mL H_2SO_4 1% dan 1 mL $BaCl_2$ 1% menggunakan tabung reaksi, kemudian dihomogenkan hingga terbentuk kekeruhan yang digunakan sebagai acuan suspensi bakteri uji.¹⁵

Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi diawali dengan memasukkan biakan *Streptococcus mutans* ke dalam 10 mL NaCl fisiologis 0,9% menggunakan kawat ose steril. Campuran kemudian dihomogenisasi sampai mencapai kekeruhan sesuai standar *McFarland*.¹⁵

Pembuatan Konsentrasi Ekstrak

Ekstrak fraksi etil asetat daun asam jawa dipreparasi pada tiga variasi konsentrasi, yaitu 25%, 50%, dan 75%. Untuk masing-masing konsentrasi digunakan ekstrak dengan bobot 0,25 g, 0,50 g, dan 0,75 g, kemudian ditambahkan DMSO 10% hingga volume akhir mencapai 1 mL.¹⁶

Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Larutan DMSO dibuat dengan memipet 10 mL dimetil sulfoksida, selanjutnya dipindahkan ke dalam gelas ukur kemudian ditambahkan aquadest dengan volume 90 mL, lalu campurkan kedua komponen tersebut secara perlahan hingga diperoleh larutan DMSO 10%.¹⁷

Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Minosep yang mengandung *chlorhexidine gluconate* 0,2% digunakan sebagai kontrol positif. Sebanyak 1 mL Minosep dimasukkan ke dalam tabung steril tanpa pengenceran.¹⁸

Uji Aktivitas Antibakteri

Metode difusi cakram digunakan untuk mengevaluasi kemampuan antibakteri ekstrak fraksi etil asetat daun asam jawa terhadap *Streptococcus mutans*. Suspensi bakteri terlebih dahulu disebarkan secara merata pada media agar, kemudian dibiarkan selama 10 menit. Cakram kertas berdiameter 6 mm yang telah direndam dalam ekstrak konsentrasi 25%, 50%, dan 75% ditempatkan pada media menggunakan pinset steril. Sebagai pembanding, *Chlorhexidine* digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Masing-masing perlakuan dilakukan dalam tiga kali pengulangan dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi berakhir, diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram diukur menggunakan jangka sorong digital.¹⁹

Analisis Data

Pengolahan hasil pengamatan zona hambat selanjutnya dianalisis dengan SPSS versi 25. Normalitas data diperiksa menggunakan *Shapiro-Wilk*, sedangkan homogenitas varians diuji melalui *Levene Test*. Selanjutnya, perbedaan rerata antarperlakuan diuji menggunakan *One-Way ANOVA* pada taraf signifikansi dengan *One-Way ANOVA* pada $\alpha=5\%$. Apabila hasil ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan, analisis diteruskan menggunakan *Tukey HSD*.

HASIL

Hasil Verifikasi Tanaman

Verifikasi sampel dilaksanakan di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu dengan tujuan untuk memastikan identitas sampel. Berdasarkan hasil verifikasi, sampel yang digunakan teridentifikasi sebagai daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) yang termasuk dalam famili *Fabaceae* dan ordo *Fabales*. Hasil tersebut didukung oleh surat keterangan verifikasi dengan nomor 046/B.30.12/LT-FMIPA/LHU/2026.

Hasil Ekstraksi dan Skrining Flavonoid

Tabel 1. Hasil Perolehan Ekstrak Daun Asam Jawa

Sampel	Simplisia Kering	Berat Ekstrak	Rendemen
Daun Asam Jawa	1000 gram	110 gram	11%

Hasil Uji Skrining Fitokimia Senyawa Flavonoid

Skrining fitokimia menggunakan pereaksi HCl pekat dan serbuk Mg menghasilkan perubahan warna jingga sehingga ekstrak fraksi etil asetat daun asam jawa dinyatakan positif flavonoid.



Gambar 1. Skrining Fitokimia Senyawa Flavonoid

Hasil Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Tabel 2. Hasil KLT Ekstrak fraksi etil asetat daun asam jawa

Senyawa	Fase Gerak	Baku Pembanding	Jarak Yang Ditempuh Pelarut	Jarak Yang Ditempuh Noda	Rf Sampel	Rf Baku Pembanding
Flavonoid	n-Butanol:					
	Asam	Kuarsetin	7,5	7,1	0,94	0,88
	Asetat:					
	Air					

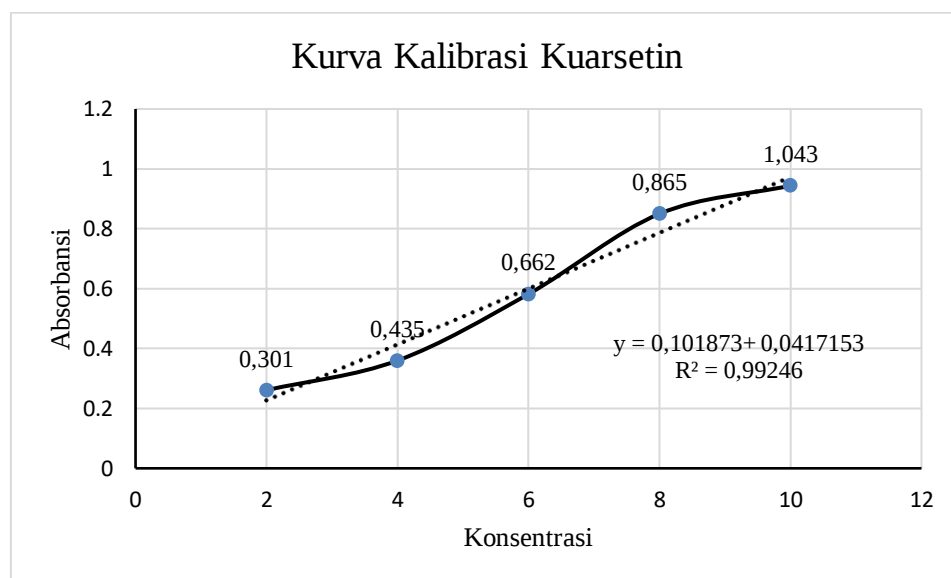


Gambar 2. Hasil Identifikasi KLT

Hasil Analisis Flavonoid dengan Spektrofotometri UV-Vis

Tabel 3. Data Absorban Deret Konsentrasi Kuarsetin

Konsentrasi kuarsetin (ppm)	Absorbansi
2	0,301
4	0,435
6	0,662
8	0,865
10	1,043



Gambar 3. Kurva Baku Kuarsetin

Tabel 4. Hasil Penetapan Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Daun Asam Jawa

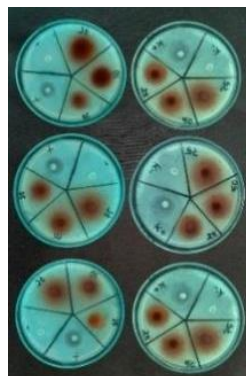
Sampel	Replikasi	Absorbansi	Kadar Flavonoid (µg/ml)	% Pada Flavonoid total	Rata-rata kandungan flavonoid (%)
Ekstrak fraksi etil asetat	1	0,863	8,061	4,0305	4,091%
daun asam jawa	2	0,874	8,169	4,0845	
(<i>Tamarindus indica</i> L.)	3	0,889	8,317	4,1585	

Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Tabel 5. Hasil Diameter Zona Hambat

Kelompok	Diameter Hambatan Rerata (mm)	Kategori
DMSO 10%	0,00	Tidak terbentuk
Chlorhexidine 0,2%	11,27	Kuat

Konsentrasi 25%	11,74	Kuat
Konsentrasi 50%	16,53	Kuat
Konsentrasi 75%	21,48	Sangat kuat



Gambar 4. Hasil Pengujian Antibakteri

PEMBAHASAN

Ekstraksi Dan Fraksinasi

Penggunaan metode maserasi pada penelitian ini disesuaikan dengan karakteristik bahan yang mengandung metabolit sekunder yang berpotensi sensitif terhadap pemanasan. Proses ekstraksi secara dingin dapat mengurangi risiko perubahan atau kerusakan senyawa akibat paparan suhu tinggi. Etanol 96% digunakan sebagai pelarut karena mampu menarik metabolit sekunder dengan rentang kepolaran yang cukup luas. Proses remaserasi juga dilakukan untuk mengoptimalkan penyarian senyawa yang masih tertahan dalam matriks simplisia, sehingga proses penarikan senyawa tidak hanya bergantung pada satu kali kontak dengan pelarut. Rendemen yang diperoleh menunjukkan bahwa proses penyarian menghasilkan ekstrak yang memadai untuk dilanjutkan ke tahap fraksinasi. Pengulangan proses ekstraksi dapat membantu mengoptimalkan penyarian senyawa yang masih tertahan dalam bahan tanaman.²⁰

Ekstrak yang diperoleh selanjutnya difraksinasi untuk memisahkan senyawa berdasarkan perbedaan kepolarannya. Penggunaan n-heksan, etil asetat, dan aquadest memungkinkan senyawa terdistribusi ke dalam fase yang sesuai dengan karakteristik kimianya. Fraksi etil asetat dipilih untuk tahap penelitian selanjutnya karena memiliki sifat semipolar yang mendukung penarikan senyawa flavonoid dan fenolik. Pemilihan fraksi tersebut juga didukung oleh penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun asam jawa mengandung flavonoid dalam jumlah lebih besar dibandingkan fraksi lainnya.²¹ Dengan demikian, penggunaan fraksi etil asetat sesuai dengan tujuan penelitian untuk memperoleh fraksi yang lebih kaya akan senyawa bioaktif.

Identifikasi Senyawa Flavonoid

Keberadaan senyawa flavonoid pada fraksi etil asetat daun asam jawa diawali dengan uji Shinoda sebagai skrining kualitatif. Hasil positif pada pengujian ini menunjukkan adanya indikasi flavonoid

melalui perubahan warna yang terjadi akibat reaksi magnesium dalam suasana asam dengan struktur flavonoid. Karena bersifat kualitatif, uji Shinoda hanya memberikan gambaran awal mengenai keberadaan golongan flavonoid dan belum dapat digunakan untuk menentukan jenis senyawa secara spesifik. Penggunaan reaksi magnesium dan asam sebagai metode skrining flavonoid pada bahan alam juga telah dilaporkan dalam penelitian terdahulu. Oleh karena itu, hasil skrining tersebut perlu diperkuat melalui metode lain yang memiliki karakteristik pemisahan lebih spesifik.²²

KLT memberikan penguatan terhadap hasil skrining melalui pengamatan pola migrasi senyawa terhadap pembanding. Kedekatan nilai R_f sampel dengan kuarsetin menunjukkan adanya senyawa dengan sifat kromatografi serupa, sedangkan respons bercak setelah pemberian $AlCl_3$ semakin mendukung keberadaan flavonoid karena ion aluminium dapat membentuk kompleks dengan gugus tertentu pada struktur flavonoid. Hal tersebut sesuai dengan penggunaan nilai R_f kuarsetin sebagai pendukung identifikasi flavonoid serta respons flavonoid terhadap $AlCl_3$.²³

Analisis Kandungan Flavonoid Total

Metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan standar kuarsetin dapat memberikan gambaran kuantitatif mengenai kandungan flavonoid total pada ekstrak fraksi. Dasar analisisnya adalah interaksi senyawa flavonoid dengan $AlCl_3$ membentuk kompleks yang memberikan respons serapan sehingga konsentrasi analit dapat diperkirakan melalui hubungan dengan larutan standar. Penetapan panjang gelombang maksimum sebelum pengukuran sampel diperlukan agar pembacaan dilakukan pada kondisi serapan yang paling sesuai. Pembentukan kompleks flavonoid dengan ion aluminium dapat memengaruhi karakter serapan²⁴, sehingga kompleksasi $AlCl_3$ sebagai dasar penetapan flavonoid total secara UV-Vis.²⁵

Kurva kalibrasi menunjukkan hubungan yang kuat antara konsentrasi kuarsetin dan nilai absorbansi. Hubungan tersebut menjadi dasar dalam penetapan kadar flavonoid total karena konsentrasi sampel ditentukan berdasarkan persamaan regresi dari kurva kalibrasi. Nilai koefisien determinasi yang tinggi menunjukkan bahwa hubungan antara konsentrasi dan absorbansi memiliki tingkat linearitas yang baik, sehingga persamaan regresi dapat digunakan dalam perhitungan kadar sampel.²⁶

Kandungan flavonoid total yang diperoleh memperkuat hasil identifikasi bahwa ekstrak fraksi etil asetat daun asam jawa mengandung senyawa golongan flavonoid. Kadar yang terukur dapat dipengaruhi oleh proses ekstraksi, fraksinasi berdasarkan kepolaran, kondisi reaksi dengan $AlCl_3$, dan preparasi larutan. Sifat semipolar etil asetat turut mendukung penyarian flavonoid ke dalam fraksi. Perbedaan sifat pelarut juga dapat memengaruhi distribusi metabolit sekunder pada masing-masing fraksi..²⁷

Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri ekstrak fraksi etil asetat daun asam jawa terhadap *Streptococcus mutans* ditunjukkan melalui terbentuknya zona hambat di sekitar cakram. Senyawa aktif berdifusi dari cakram menuju media dan berinteraksi dengan sel bakteri. Tidak terbentuknya zona hambat pada kontrol negatif menunjukkan bahwa pelarut tidak memberikan efek penghambatan, sedangkan *chlorhexidine* digunakan

sebagai pembanding. Kemampuan bahan tanaman dalam menghambat *Streptococcus mutans* melalui metode difusi juga mendukung hasil pengujian ini.²⁸

Peningkatan konsentrasi ekstrak fraksi etil asetat daun asam jawa diikuti peningkatan diameter zona hambat. Konsentrasi yang lebih tinggi menyediakan jumlah senyawa aktif lebih besar untuk berdifusi dan berinteraksi dengan sel bakteri. Flavonoid dapat memberikan aktivitas antibakteri melalui gangguan integritas dan permeabilitas membran, penghambatan enzim, serta gangguan metabolisme sel. Mekanisme tersebut mendukung keterkaitan kandungan flavonoid dengan aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. Aktivitas antibakteri bahan alam juga dapat berkaitan dengan kandungan senyawa bioaktif di dalamnya.²⁹

Konsentrasi ekstrak fraksi tertinggi menunjukkan zona hambat lebih besar dibandingkan kontrol positif. Namun, hasil tersebut tidak dapat langsung diartikan sebagai keunggulan efektivitas klinis karena terdapat perbedaan konsentrasi bahan uji dan ekstrak fraksi masih berupa campuran berbagai metabolit, sedangkan *chlorhexidine* merupakan bahan pembanding dengan konsentrasi tertentu. Oleh karena itu, hasil penelitian ini lebih tepat diinterpretasikan sebagai bukti aktivitas antibakteri ekstrak fraksi etil asetat daun asam jawa secara in vitro terhadap *Streptococcus mutans*, bukan sebagai pengganti atau bukti efektivitas klinis yang lebih baik dibandingkan *chlorhexidine*.

Analisis Statistik

Berdasarkan uji prasyarat, data dinyatakan memenuhi asumsi yang diperlukan dalam penerapan analisis parametrik. Hal ini memberikan dasar metodologis untuk menggunakan One-Way ANOVA dalam menilai apakah perbedaan aktivitas antar kelompok berkaitan dengan perlakuan yang diberikan. Hasil ANOVA menunjukkan adanya perbedaan bermakna secara keseluruhan, sehingga variasi konsentrasi ekstrak fraksi dapat dipandang sebagai faktor yang berkaitan dengan perubahan aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*.

Analisis lanjutan memperlihatkan bahwa kelompok konsentrasi rendah memiliki respons yang secara statistik tidak berbeda dengan kontrol positif, sedangkan konsentrasi yang lebih tinggi membentuk kelompok yang berbeda. Pola tersebut memperkuat interpretasi bahwa peningkatan kadar bahan uji bukan hanya menghasilkan perubahan yang terlihat secara deskriptif, tetapi juga berkaitan dengan perbedaan aktivitas yang bermakna secara statistik. Dengan demikian, hubungan konsentrasi dan daya hambat pada penelitian ini memiliki dukungan statistik sekaligus dasar mekanistik dari kandungan flavonoid yang telah teridentifikasi. Penelitian terdahulu yang mendukung bahwa peningkatan konsentrasi bahan alam dapat meningkatkan kemampuan penghambatan bakteri, meskipun besar respons dapat berbeda bergantung pada jenis tanaman, pelarut, senyawa aktif, dan kondisi pengujian.

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian memperlihatkan keberadaan senyawa flavonoid pada ekstrak fraksi etil asetat yang diperoleh dari daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.), berdasarkan skrining fitokimia dan identifikasi melalui Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Kadar flavonoid total yang diperoleh mencapai

4,091%. Pengujian terhadap *Streptococcus mutans* menunjukkan adanya daya antibakteri pada sediaan ekstrak fraksi yang diuji, dengan kecenderungan peningkatan daya hambat seiring bertambahnya konsentrasi. Konsentrasi 75% memberikan diameter hambatan terbesar dibandingkan konsentrasi lainnya. Secara keseluruhan, hasil tersebut mengindikasikan potensi ekstrak fraksi etil asetat daun asam jawa dalam menghasilkan efek antibakteri serta mengandung senyawa flavonoid. Penelitian berikutnya disarankan melakukan karakterisasi senyawa flavonoid secara lebih mendalam menggunakan metode instrumental, serta mengembangkan pengujian antibakteri melalui rentang konsentrasi dan pendekatan metode yang lebih bervariasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis memanjatkan syukur kepada Allah SWT atas rahmat dan kemudahan-Nya selama pelaksanaan penelitian hingga artikel ilmiah ini dapat diselesaikan. Penghargaan dan terima kasih disampaikan kepada kedua orang tua serta keluarga atas doa, dukungan, dan motivasi yang senantiasa diberikan. Terima kasih juga disampaikan kepada STIKES Al-Fatah Bengkulu, dosen pembimbing, dosen penguji, seluruh dosen, serta berbagai pihak yang telah memberikan bantuan dan arahan selama penelitian dan penyusunan artikel. Semoga seluruh kebaikan dan dukungan yang diberikan memperoleh balasan terbaik dari Allah SWT.

DAFTAR PUSTAKA

1. Darmin, Ma'arij Aman, Noris M, Fathurrahman, Yunus. M, Azis Abdul, Nu'tiha Soalihan, Nasrullah, Gufran, A. (2024). Upaya Pemberdayaan Masyarakat Melalui Apotek Hidup : Pemanfaatan Tanaman Obat Untuk Kesehatan dan Konservasi Keanekaragaman Hayati. *Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat Nusantara (JPkMN)*, 5(4), 5151–5158.
2. Husain, P., Risfianty, D. K., & Ihwan, K. (2022). Identifikasi Kandungan Senyawa Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa (*Tamarindus Indica* L.). *Jurnal Inovasi Pendidikan Dan Sains*, 3(2), 78–82.
3. Wisnianti, D., Nasir, N., Ode, W., Farmasi, P. S., Sains, F., & Waluya, U. M. (2024). Uji Aktivitas Antijamur Fraksi N - Heksan , Etil Asetat dan Air Daun Rambutan Aceh (*Nephelium Lappaceum* L .) Terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans*. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*, 3(6), 352–363.
4. Podhi Meli Felisitas, Kawuri Retno, S. K. sang. (2024). Efektifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Biji Asam Jawa (*Tamarindus indica*) dari Pulau Timor NTT dalam Menghambat Bakteri *Salmonella typhi*. *Journal of Biological Sciences*, 132(Maret), 122–132. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2024.v11.i01.p12>.
5. Arum YP, Maritasari DY, Antoro B. Faktor-faktor yang berhubungan dengan kejadian karies gigi pada remaja di Klinik Gigi Cheese Bandar Lampung tahun 2022. *Jurnal Kesehatan Gigi*. 2023;10(1):22–30.
6. Harahap NI, Sari RP, Harnis ZE. Uji aktivitas antibakteri sediaan obat kumur kombinasi ekstrak etanol bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dan kulit jeruk lemon (*Citrus limon*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus viridans* penyebab karies gigi dan bau mulut. *Jurnal Penelitian Farmasi & Herbal*. 2023;6(1):39–46. doi:10.36656/jpfh.v6i1.1557.
7. Rahayu, R. S., & Junaedi Candra, M. (2022). Formulasi Dan Uji Aktivitas Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Kesehatan Dan Kedokteran*, 1(3), 12–18.

8. Novia, D., Dharmayanti, L., & Illahi, Y. N. (2023). Skrining Dan Aktivitas Antibakteri Fraksi Flavonoid Tunas Bambu Kuning (*Bambusa vulgaris* Var . *Striata*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Sinta Journal (Science, Technology and Agriculture Journal)*, 4(2), 281–290.
9. Razoki, Ruth Gaby Syahanaya Butar-Butar, Elfia Neswita, Novitaria Br Sembiring, Erida Novriani, Nerly Juli Pranita Simanjuntak, E. H. P. (2023). Uji skrining fitokimia dan pengukuran kadar total flavonoid pada ekstrak paku (*Nephrolepis biserrata*) dengan fraksi n-heksana, etil asetat, dan air. *Journal Of Pharmaceutical And Sciences*, 6(3), 1142–1160.
10. Hasan H, Suryadi AMA, Bahri S, Widiastuti NL. Penentuan kadar flavonoid daun rumput knop (*Hyptis capitata* Jacq.) menggunakan spektrofotometri UV-Vis. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*. 2023;5(2):200–211. doi:10.37311/jsscr.v5i2.19371.
11. Novia D, Herlina, Yanuarto T. Penetapan kadar flavonoid dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol anggur laut (*Caulerpa racemosa*) dari Pantai Air Lengkap Kabupaten Kaur. *PUCUK: Jurnal Ilmu Tanaman*. 2024;4(2):161–168.
12. Muh Chezar R, Hasanuddin S, Dewi C. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kelengkeng (*Dimocarpus longan* L.) terhadap bakteri *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*. 2025;4(1). doi:10.54883/jpmw.v4i1.147.
13. Rizki, S. A., Latief, M., & Rahman, H. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat, Dan Etanol Daun Durian (*Durio zibethinus* Linn.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *JMJ*, 442–457.
14. Rahmida, Y. P., & Darsono, P. V. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bunga Pinang (*Areca cetechu* L.) Terhadap *Streptococcus mutans* Penyebab Karies Gigi. *Sains Media*, 1(4), 221–226.
15. Azlin, S. Z., Sidoretno, W. M., & Dewi, A. P. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Matoa (*Pometia Pinnata* J. R & G. Forst) terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal JFARM (Jurnal Farmasi)*, 1(1).
16. Hayati. (2022). Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun *Theobroma cacao* L. Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Pendidikan Biologi Dan Sains Volume*, 5(1), 31–40.
17. Irawan, A., Ulfah, M., & Mansor, K. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) Terhadap Bakteri *Bacillus Subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 7(3), 195–205. <https://doi.org/10.36387/jifi.v7i3.2183>
18. Ainan, T., Yuliasri, W. O., & Isrul, M. (2025). Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Mouthwash Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca Catechu* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*, 4(1), 17–31. <https://doi.org/10.54883/jpmw.v4i1.197>
19. Irawan, A., Ulfah, M., & Mansor, K. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) Terhadap Bakteri *Bacillus Subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 7(3), 195–205. <https://doi.org/10.36387/jifi.v7i3.2183>
20. Tridesianti, S., Kusumorini, A., & Putri, A. M. (2025). Kandungan Senyawa Ekstrak Daun Jarak Merah (*Jatropha gossypifolia* L.) dan Potensinya sebagai Antibakteri. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 10(2), 46–53. <https://doi.org/10.33474/ejbst.v10i2.614>
21. Nainggolan, R. M., Rahayu, M. P., Rejeki, E. S., Total, F., & Daun, F. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan , Kadar Flavonoid , dan Fenolik Total Ekstrak dan Fraksi Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 10(2), 397–410.
22. Razoki, Ruth Gaby Syahanaya Butar-Butar, Elfia Neswita, Novitaria Br Sembiring, Erida Novriani, Nerly Juli Pranita Simanjuntak, E. H. P. (2023). Uji skrining fitokimia dan pengukuran kadar total flavonoid pada ekstrak paku (*Nephrolepis biserrata*) dengan fraksi n-heksana, etil asetat, dan air. *Journal Of Pharmaceutical And Sciences*, 6(3), 1142–1160.
23. Mulyani, E., & Fauziah, D. W. (2026). Identifikasi Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Jambu Jamaika (*Syzygium Malaccense*) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. 9(1), 78–90.
24. Suwartini, L., Yanti, N., & Efrinalia, W. (2021). Optimasi Kondisi Pengujian Senyawa Flavonoid Total di dalam Ekstrak Tanaman. *Jurnal Penelitian Sains*, 23(1), 28.
25. Widayasari, R., & Yuspita Sari, D. (2021). Penetapan Kadar Flavonoid total Ekstrak Etanol Kulit

- Batang Sawo (*Manilkara zapota* (L.) Secara Spektrofotometri Uv-Visibel. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 4(2), 237–244. <https://doi.org/10.36387/jifi.v4i1.828>
26. Muthia R, Fatmawati, Hidayatullah M, Sayakti PI, Rakhmatullah AN. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak etil asetat buah okra hijau (*Abelmoschus esculentus* L.). *Jurnal Kesehatan Islam: Islamic Health Journal*. 2023;12(2):55–62.
27. Pelealu, T., Suryanto, E., & Sangi, M. S. (2023). Aktivitas Antifotooksidasi Dan Tabir Surya Ekstrak Dan Fraksi Pelarut Dari Daun Gamal (*Gliricidia sepium*). *Chemistry Progress*, 16(1), 71–78. <https://doi.org/10.35799/cp.16.1.2023.47202>
28. Yauri, L., Ellis Mirawati Hamid, K., & Arif, H. (2022). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Serai Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Media Kesehatan Gigi*, 21(1), 41–45.
29. Ainan, T., Yuliasri, W. O., & Isrul, M. (2025). Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Mouthwash Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca Cateu* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*, 4(1), 17–31. <https://doi.org/10.54883/jpmw.v4i1.197>