

Analisis Daya Hambat Minyak Atsiri Getah Pinus Merkusi (*Pinus merkusii* Jungh. et de Vriese) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* Menggunakan Metode Difusi Sumuran

Merli Puja Lestari¹, Hasriyani², Istianatus Sunnah³

^{1,2,3} Program Studi Farmasi, Universitas Muhammadiyah Kudus

Email Korespondensi: asriyani@umkudus.ac.id

ABSTRAK

Karies gigi merupakan penyakit infeksi dengan prevalensi tinggi yang berkaitan erat dengan aktivitas bakteri *Streptococcus mutans*. Upaya pencegahan umumnya dilakukan melalui penggunaan agen antibakteri sintetis seperti chlorhexidine dan antibiotik topikal, namun penggunaan jangka panjang dapat menimbulkan efek samping serta resistensi bakteri. Kondisi ini mendorong pengembangan alternatif antibakteri berbasis bahan alam, salah satunya minyak atsiri getah pinus merkusi (*Pinus merkusii* Jungh. et de Vriese). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antibakteri minyak atsiri getah pinus merkusi terhadap *S. mutans* secara *in vitro*. Uji antibakteri menggunakan metode difusi sumuran dengan variasi konsentrasi minyak atsiri sebesar 10%, 15%, dan 20%. Ampicilin digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Diameter zona hambat diukur setelah inkubasi 24 jam pada suhu 37°C dan dianalisis menggunakan *One Way ANOVA* dilanjutkan uji *Tukey HSD*. Skrining fitokimia menunjukkan adanya kandungan terpenoid (α -pinene dan δ -3-carene), alkaloid dan flavonoid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter zona hambat terhadap *S. mutans* pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20% masing-masing sebesar $13,65 \pm 2,15$ mm; $15,92 \pm 1,75$ mm; dan $20,37 \pm 3,46$ mm. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa terjadi peningkatan signifikan daya hambat bakteri seiring kenaikan konsentrasi ($p < 0,05$).

Kata Kunci: Minyak Atsiri, Getah Pinus Merkusi, *Streptococcus Mutans*, Antibakteri

ABSTRACT

Inhibitory Activity Analysis of Merkusi Pine Resin Essential Oil (*Pinus merkusii* Jungh. et de Vriese) Against *Streptococcus mutans* Using the Well Diffusion Method

*Dental caries is a highly prevalent infectious disease closely associated with the activity of *Streptococcus mutans*. The use of synthetic antibacterial agents such as chlorhexidine and topical antibiotics is common; however, prolonged use may lead to adverse effects and bacterial resistance. This has prompted the development of natural-based antibacterial alternatives, including pine resin essential oil (*Pinus merkusii* Jungh. et de Vriese). This study aimed to evaluate the *in vitro* antibacterial activity of pine resin essential oil against *S. mutans*. Antibacterial activity was assessed using the well diffusion method at concentrations of 10%, 15%, and 20%. Ampicillin and 10% DMSO served as positive and negative controls, respectively. Inhibition zone diameters were measured after 24 hours of incubation at 37°C and analyzed using one-way ANOVA followed by Tukey's HSD test. Phytochemical screening revealed the presence of terpenoids (α -pinene and δ -3-carene), alkaloids,*

and flavonoids. The results demonstrated that the inhibition zone diameters against *S. mutans* at concentrations of 10%, 15%, and 20% were $13,65 \pm 2,15$ mm; $15,92 \pm 1,75$ mm; and $20,37 \pm 3,46$ mm, respectively. These findings indicate that antibacterial activity increased significantly with increasing concentration ($p < 0.05$).

Kata Kunci: Essential Oil, Resin Of Pinus Merkusii, Streptococcus Mutans, Antibacterial Activity,

PENDAHULUAN

Karies gigi merupakan penyakit infeksi kronis dengan prevalensi tinggi yang masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di Indonesia. Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) yang dilaporkan oleh Kementerian Kesehatan Republik Indonesia menunjukkan bahwa proporsi penduduk yang mengalami masalah kesehatan gigi dan mulut masih cukup tinggi sehingga memerlukan upaya promotif dan preventif yang berkelanjutan (Kementerian Kesehatan RI, 2023). Karies berkaitan erat dengan aktivitas bakteri *Streptococcus mutans* yang berperan dalam pembentukan biofilm plak serta produksi asam hasil fermentasi karbohidrat yang menyebabkan demineralisasi enamel (Shi et al., 2025).

Upaya pencegahan karies umumnya dilakukan melalui penggunaan agen antibakteri sintetis seperti chlorhexidine dan antibiotik topikal. Meskipun efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri, penggunaan jangka panjang dilaporkan dapat menimbulkan efek samping berupa iritasi mukosa, perubahan rasa, pewarnaan gigi, serta berpotensi memicu resistensi bakteri (Gloria-Garza et al., 2025). Kondisi ini menunjukkan adanya kesenjangan antara kebutuhan agen antikaries yang efektif dan aman untuk penggunaan jangka panjang dengan kenyataan bahwa terapi sintetis belum sepenuhnya memenuhi aspek keamanan dan keberlanjutan (Askari et al., 2025).

Pemanfaatan bahan alam menjadi alternatif yang banyak dikembangkan karena dinilai lebih aman dan mudah diperoleh. Minyak atsiri merupakan senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian Fadana et al., (2023) melaporkan bahwa ekstrak pinus merkusi mengandung senyawa aktif yang berpotensi sebagai agen antibakteri. Getah Pinus merkusii sebagai sumber minyak atsiri berpotensi dikembangkan lebih lanjut sebagai bahan antimikroba alami. Namun demikian, kajian mengenai aktivitas minyak atsiri getah pinus merkusi terhadap *S. mutans* sebagai bakteri penyebab utama karies masih terbatas.

Penelitian menunjukkan bahwa bahan alam yang mengandung metabolit sekunder memiliki potensi sebagai agen antibakteri. Penelitian yang dilakukan Hasriyani et al., (2020) melaporkan bahwa ekstrak tanaman yang mengandung senyawa seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen melalui mekanisme kerusakan membran sel dan gangguan metabolisme mikroba. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa senyawa bioaktif dari bahan alam berpotensi dikembangkan sebagai sumber antibakteri alternatif.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antibakteri minyak atsiri getah pinus merkusi terhadap *S. mutans* secara in vitro menggunakan metode difusi sumuran. Nilai kebaruan penelitian ini terletak pada evaluasi potensi minyak atsiri getah pinus merkusi sebagai kandidat agen antibakteri alami terhadap bakteri

penyebab karies, sehingga dapat menjadi dasar pengembangan sediaan antikaries berbasis bahan alam yang lebih aman dan berkelanjutan.

METODE

Bahan dan Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang pengaduk, sendok tanduk, pipet tetes, bunsen, jarum ose, *Cork borer*, jangka sorong, cawan petri (Pyrex), erlenmeyer (Pyrex), gelas ukur (Iwaki), pipet ukur (Iwaki), gelas beker (Iwaki), mikropipet (Dragon lab), timbangan analitik (Ohaus), LAF (*Laminar Air Flow*) (Batavialab), autoklaf (Hirayama), *Hot Plate* (*Thermo Scientific*), stirer (*Thermo Scientific*), tabung reaksi (Iwaki), inkubator (Mummert), sarung tangan (One med), *cotton swab* (One med), *blue tip* (One med) dan spuit 10mL (Onemed).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak atsiri getah pinus merkusi merkusi (*Pinus merkusii Jungh. et. de Vriese*) diperoleh secara komersial dari PT Syailendra Bumi Investama yang berlokasi di Gondangrejo, Karanganyar, Jawa Tengah dan dilengkapi dengan CoA (*Certificat of Analysis*), pelarut *dimethyl sulfoxide* (DMSO) 10% (teknis), kultur bakteri *Streptococcus mutans*, nutrisi agar (teknis), H₂SO₄ 1% (teknis), BaCl₂ 1% (teknis), asam asetat glasial (teknis), NaCl 0,9 % (Otsuka), kasa (Bunda) dan antibiotik ampisilin (Kimia farma).

Tahapan penelitian

Uji skrining fitokimia

Alkaloid

Minyak atsiri getah pinus merkusi sebanyak 0,1 mL ke dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,2 mL HCl 0,1 N dan 1 mL reagen Mayer. Campuran dihomogenkan menggunakan vortex. Terbentuknya warna kuning atau endapan menunjukkan adanya senyawa alkaloid (Mohideen et al., 2025).

Flavonoid

Minyak atsiri getah pinus merkusi sebanyak 3–7 tetes dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan beberapa tetes asam sulfat pekat (H₂SO₄). Campuran diamati terhadap perubahan warna. Munculnya warna merah tua atau kuning menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Ropiqa et al., 2023).

Saponin

Minyak atsiri getah pinus merkusi sebanyak 3–7 tetes dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan menambahkan 5 mL akuades. Campuran dikocok selama ±30 detik hingga terbentuk busa, kemudian didiamkan selama beberapa menit. Terbentuknya busa stabil dengan tinggi sekitar 1–10 cm mengindikasikan adanya senyawa saponin (Ropiqa et al., 2023).

Terpenoid dan Steroid

Minyak atsiri getah pinus merkusi sebanyak 3–7 tetes ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan masing-masing 1–2 tetes asam asetat glasial dan asam sulfat pekat (H₂SO₄). Perubahan warna biru atau ungu menunjukkan adanya senyawa steroid, sedangkan perubahan warna merah atau jingga menunjukkan adanya senyawa terpenoid (Ropiqa et al., 2023).

Tanin

Minyak atsiri getah pinus merkusi sebanyak 0,1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan 1 mL air suling, kemudian ditambahkan tiga tetes larutan

FeCl₃ 1%. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tua menunjukkan adanya senyawa tanin atau fenol (Mohideen et al., 2025).

Pembuatan kelompok perlakuan

Penelitian ini digunakan lima kelompok perlakuan yang terdiri dari kelompok kontrol positif yang diberikan ampisilin konsentrasi 10%, kelompok kontrol negatif yang diberikan *dimetil sulfoksida* (DMSO) 10%, kelompok perlakuan pertama larutan minyak atsiri konsentrasi 10%, kelompok perlakuan kedua larutan minyak atsiri konsentrasi 15%, dan kelompok perlakuan ketiga larutan minyak atsiri konsentrasi 20%.

Pengujian aktivitas antibakteri

Alat disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Rahmah et al., 2024). Media Nutrient Agar (NA) dibuat, disterilisasi, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan memadat (Sangkoy et al., 2023). Suspensi *Streptococcus mutans* dibuat dalam larutan NaCl 0,9% dan distandarisasi setara 0,5 Mc Farland $\approx 10^8$ CFU/mL (Nurhamidin et al., 2021).

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran. Suspensi bakteri diinokulasikan secara merata pada permukaan media NA menggunakan *cotton swab* steril. Sumuran dibuat menggunakan *cork borer* steril, kemudian masing-masing diisi 100 μ L larutan uji minyak atsiri getah pinus merkusi dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20%, kontrol positif (ampisilin 100 μ L) sesuai pedoman CLSI (Alhasani et al., 2021). serta kontrol negatif (DMSO 10%). Setiap perlakuan dilakukan dalam tiga kali replikasi.

Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dan diklasifikasikan berdasarkan kategori daya hambat untuk menilai aktivitas antibakteri (Ramadhanty et al., 2023).

Analisis Data

Data diameter zona hambat minyak atsiri getah *Pinus merkusii* terhadap *Streptococcus mutans* dianalisis menggunakan perangkat lunak SPSS. Uji normalitas dilakukan dengan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas varians menggunakan *Levene's Test*. Data yang berdistribusi normal dan homogen dianalisis dengan *One Way ANOVA*, dilanjutkan uji *Tukey HSD* apabila terdapat perbedaan bermakna antar kelompok (Faizin et al., 2025). Apabila data tidak memenuhi asumsi normalitas atau homogenitas, digunakan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* (Rizki Hayu et al., 2023). Seluruh pengujian dilakukan pada taraf signifikansi $\alpha = 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini tahap pertama yaitu uji skrining fitokimia, dilanjut membuat larutan kelompok perlakuan konsentrasi 10%, 15%, 20%, kontrol negatif (DMSO 10%) dan kontrol positif ampisilin. Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi sumuran dan analisis data uji normalitas *Shapiro-Wilk*. Uji homogenitas menggunakan *Varians Levene's Test* dilanjutkan uji *One Way ANOVA* kemudian *Tukey HSD* dengan standarisasi p signifikan $\alpha = 0,05$

Hasil

EC (Ethical Clearance)

Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Universitas Muhammadiyah Purwokerto dengan nomor

KEPK/UMP/207/XII/2025, yang menyatakan bahwa seluruh prosedur penelitian telah memenuhi prinsip etika penelitian kesehatan.

CoA (*Certificat of Analysis*)

Hasil CoA (*Certificat of Analysis*) minyak atsiri getah pinus merkusi dapat dilihat pada Tabel 1.



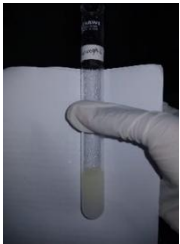



Tabel 1. Hasil CoA (*Certificat of Analysis*) minyak atsiri getah pinus merkusi

Parameter	Hasil	Spesifikasi	Keterangan
Specific gravity (20°C)	0,848	0,848 – 0,865	Sesuai
Refractive index (20°C)	1,467	1,464 – 1,478	Sesuai
Optical rotation	+37,35°	≥ +32°	Sesuai
α-Pinene	80,64%	≥ 40%	Sesuai
δ-3-Carene	11,44%	≤ 30%	Sesuai
Fatty oil	Negatif	Negatif	Sesuai
DEP	0%	0%	Sesuai
DOP	0%	0%	Sesuai

Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia dari minyak atsiri getah pinus merkusi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji skrining fitokimia

Alkaloid	Flavonoid	Saponin	Terpenoid	Steroid	Tanin
					
Kuning pucat (+)	Merah tua (+)	Putih tidak berbusa (-)	Merah (+)	Merah (-)	Kuning (-)

Keterangan

(-): tidak mengandung senyawa

(+): mengandung senyawa

Zona hambat

Hasil rata-rata zona hambat dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata zona hambat

Konsetrasi	Replikasi (mm)			Rata-Rata Zona Hambat (mm)	Ket.
	I	II	III		
Kontrol Positif Ampiclin	6,02	10,92	7,87	8,27± 2, 54	S
Kontrol Negatif (DMSO 10%)	0	0	0	0 ± 0	L
I (10%)	11,52	13,62	15,82	13,65 ± 2,15	K
II (15%)	14,175	15,92	17,67	15,92 ± 1,75	K
III (20%)	24,27	18,92	17,92	20,37±3,46	SK

Keterangan

L: Lemah: < 5 mm

S: Sedang: 5 – 10 mm

K: Kuat: 10- 20 mm

SK: Sangat Kuat: > 20 mm

Hasil analisis data

Hasil uji normalitas dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji normalitas

Variabel	N	Statistik (W)	Sig.	Keterangan
Zona hambat (mm)	15	0,911	0,140	Normal

Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Uji homogenitas

Variabel	Levene Statistic	df1	df2	Sig.	Keterangan
Diameter Zona Hambat (mm)	2,450	4	10	0,114	Homogen

Hasil uji *One way ANOVA* dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. One Way ANOVA

Sumber Variasi	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Keterangan
Between Groups	735,945	4	183,986	36,235	<0,000	Signifikan
Within Groups	50,776	10	5,078			
Total	786,721	14				

Hasil uji lanjut *Tukey HSD* dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil uji lanjut *Tukey HSD*

		Mean Difference (I- J)	Sig.	Keterangan
K10%	K15%	-2,26667	0,735	TB
	K20%	-6,71000	0,029	B
	K+	5,38333	0,088	TB
	K-	13,65333	<0,001	B
K15%	K10%	2,26667	0,735	TB

		Mean Difference (I–J)	Sig.	Keterangan
	K20%	-4,44333	0,188	TB
	K+	7,65000	0,013	B
	K-	15,92000	<0,001	B
K20%	K10%	6,71000	0,029	B
	K15%	4,44333	0,188	TB
	K+	12,09333	<0,001	B
	K-	20,36333	<0,001	B
K+	K10%	-5,38333	0,088	TB
	K15%	-7,65000	0,013	B
	K20%	-12,09333	<0,001	B
	K-	8,27000	0,008	B
K-	K10%	-13,65333	<0,001	B
	K15%	-15,92000	<0,001	B
	K20%	-20,36333	<0,001	B
	K+	-8,27000	0,008	B

Keterangan

B: Bermakna

TB: Tidak Bermakna

PEMBAHASAN

Minyak atsiri pinus merkusi dapat diproduksi dengan menggunakan metode *steam distillation*. Metode *steam distillation* merupakan teknik ekstraksi yang memanfaatkan uap air untuk mengisolasi senyawa volatil dari bahan alam. Proses dilakukan dengan memanaskan air hingga mencapai titik didih sekitar 100°C pada tekanan atmosfer (1 atm), kemudian uap yang terbentuk dialirkan melalui bahan yang mengandung minyak atsiri sehingga komponen volatil ikut menguap bersama uap air. Uap yang membawa minyak selanjutnya dikondensasikan hingga membentuk dua lapisan, yaitu lapisan minyak atsiri dan hidrosol, yang kemudian dipisahkan berdasarkan perbedaan densitasnya. Dalam metode ini, air berperan sebagai pelarut dalam bentuk uap tanpa penambahan pelarut organik. Waktu ekstraksi pada penelitian tersebut dilakukan selama 6 jam pada suhu 100°C. Penggunaan metode *steam distillation* dipilih karena efektif untuk mengekstraksi senyawa volatil tanpa menyebabkan degradasi termal yang signifikan, mengingat senyawa dengan titik didih tinggi tetap dapat menguap pada suhu titik didih air ketika berada dalam sistem uap. Metode ini relatif sederhana, ekonomis, dan lebih ramah lingkungan karena tidak meninggalkan residu pelarut kimia pada produk akhir, sehingga banyak digunakan dalam penelitian dan produksi minyak atsiri (Haykal et al., 2024).

Minyak atsiri pinus merkusi yang digunakan dalam penelitian merupakan minyak atsiri yang murni. Hal ini terlihat dari hasil mutu fisik yang terlampir dalam *Certificate of Analysis (CoA)* minyak atsiri getah pinus merkusi menunjukkan nilai *specific gravity* (0,848), *refractive index* (1,467). Analisis CG (*Gas Chromatography*) menunjukkan adanya α -pinene 80,64% dan δ -3-carene 11,44%. Tidak ditemukan adanya kandungan *fatty oil* serta DEP (*diethyl phthalate*) dan DOP (*dioctyl phthalate*) 0%, yang menegaskan minyak bebas kontaminan. Hal ini menunjukkan bahwa minyak atsiri tersebut memiliki tingkat kemurnian yang baik tidak mengandung *diethyl phthalate* (DEP) dan *dioctyl phthalate* (DOP). Penelitian oleh Dubnicka Mara et al., (2020) berdasarkan hasil analisis GC-MS (*Gas*

Chromatography –Mass Spectrometry) terhadap beberapa minyak atsiri komersial menunjukkan adanya kontaminan *diethyl phthalate* (DEP) dalam kisaran konsentrasi sekitar 0,33–16% dari total komponen yang terdeteksi. Senyawa tersebut tidak termasuk ke dalam komponen volatil alami minyak atsiri dan umumnya berasal dari bahan sintetis atau kontaminasi selama proses produksi maupun penyimpanan, sehingga keberadaannya dianggap sebagai indikator adulterasi atau pencemaran minyak atsiri (Dubnicka Mara et al., 2020).

Penelitian oleh Assyera et al., (2023) analisis GC-MS (*Gas Chromatography –Mass Spectrometry*) terhadap beberapa minyak atsiri komersial menunjukkan adanya kontaminan *diethyl phthalate* (DEP) dalam kisaran konsentrasi sekitar 0,33–16% dari total komponen yang terdeteksi. Senyawa tersebut tidak termasuk ke dalam komponen volatil alami minyak atsiri dan umumnya berasal dari bahan sintetis atau kontaminasi selama proses produksi maupun penyimpanan, sehingga keberadaannya dianggap sebagai indikator adulterasi atau pencemaran minyak atsiri analisis GC-MS terhadap minyak atsiri kulit lemon menunjukkan komposisi senyawa volatil utama seperti *D-limonene* (sekitar 71,71%) yang mencerminkan karakteristik kimia dari minyak atsiri sesuai dengan standar mutu internasional ISO 855:2003. Nilai parameter fisik seperti indeks bias $1,4735 \pm 0,0006$ dan *specific gravity* $0,854 \pm 0,002$ g/mL juga berada dalam rentang yang ditetapkan, sehingga menunjukkan bahwa sampel minyak atsiri tersebut memenuhi kriteria kemurnian yang ditetapkan secara internasional. Keberadaan *diethyl phthalate* (DEP) dalam jumlah tertentu dapat menjadi tanda bahwa minyak atsiri telah dicampur atau terkontaminasi, sedangkan kesesuaian profil senyawa volatil utama dan parameter fisik dengan standar internasional mencerminkan kemurnian minyak atsiri. Minyak atsiri yang digunakan dalam penelitian ini layak dijadikan bahan uji karena memenuhi aspek mutu dan kemurnian komposisi (Assyera et al., 2023).

Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya kandungan senyawa terpenoid, flavonoid dan alkaloid. Berdasarkan hasil CoA (*Certificate of Analysis*) terdapat *α-pinene* 80,64% dan *δ-3-carene* 11,44%. Kedua senyawa tersebut termasuk golongan terpenoid, terutama monoterpen yang biasanya dominan pada tanaman konifer dengan tingkat kepolaran nonpolar yang mudah menguap sesuai dengan penelitian Fadana et al., (2023). Flavonoid dan alkaloid umumnya bersifat polar hingga semi-polar, sehingga lebih mudah terekstraksi menggunakan pelarut polar seperti etanol atau metanol dibandingkan pelarut non-polar (Palupi et al., 2025). Secara teoritis, minyak atsiri tersusun atas senyawa volatil, terutama terpenoid, sedangkan flavonoid dan alkaloid merupakan senyawa non-volatil yang bukan komponen utama minyak atsiri. indikasi keberadaan senyawa tersebut diduga berkaitan dengan terbawanya komponen non-volatil selama proses isolasi atau keterbatasan metode skrining yang bersifat kualitatif. Senyawa lain seperti saponin, steroid, dan tanin juga tidak termasuk komponen utama minyak atsiri karena bersifat non-volatil dan bukan senyawa aromatis, sehingga kemunculannya dalam hasil skrining kemungkinan dipengaruhi oleh faktor yang sama (Hulankova, 2024).

Pengukuran zona hambat dilakukan menggunakan metode difusi sumuran karena minyak atsiri yang umumnya tersusun dari senyawa terpenoid bersifat nonpolar dan volatil sehingga kelarutannya dalam air terbatas. Metode ini memungkinkan sampel cair berdifusi ke media agar dan membentuk zona hambat

bila terdapat aktivitas antibakteri (Hulankova, 2024). Dalam penelitian ini, digunakan kontrol positif berupa ampicilin dan kontrol negatif berupa DMSO 10%. Ampicilin dipilih karena merupakan antibiotik β -laktam yang efektif terhadap bakteri Gram positif termasuk *Streptococcus mutans*, bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel melalui pengikatan pada *penicillin-binding proteins* (PBPs) sehingga menyebabkan lisis sel. Kontrol positif menghasilkan zona hambat kategori sedang, menegaskan bahwa bakteri uji sensitif terhadap antibiotik dan prosedur pengujian berjalan baik (Türkyılmaz et al., 2026). DMSO 10% sebagai kontrol negatif tidak membentuk zona hambat, menunjukkan pelarut tidak memengaruhi pertumbuhan bakteri sehingga zona hambat pada kelompok perlakuan benar-benar berasal dari senyawa aktif dalam minyak atsiri.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa minyak atsiri getah pinus merkusi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans*, ditandai dengan terbentuknya zona hambat pada semua konsentrasi yang diuji. Diameter zona hambat meningkat seiring bertambahnya konsentrasi, dengan konsentrasi 10% dan 15% kategori kuat, sedangkan konsentrasi 20% kategori sangat kuat. Pola ini menunjukkan adanya hubungan *dose-dependent*, di mana semakin tinggi konsentrasi, semakin besar kemampuan penghambatan terhadap bakteri. Aktivitas antibakteri minyak atsiri diduga terkait kandungan metabolit sekunder, terutama terpenoid seperti α -pinene dan δ -3-carene, yang teridentifikasi melalui *Certificate of Analysis* (COA). Senyawa monoterpen ini dapat merusak integritas membran sel sehingga meningkatkan permeabilitas dan menyebabkan kebocoran komponen intraseluler, akhirnya menghambat metabolisme dan pertumbuhan bakteri. Alkaloid dan flavonoid yang terdeteksi juga berpotensi memperkuat efek antibakteri melalui gangguan dinding sel, membran, dan protein mikroba. Diameter zona hambat minyak atsiri pada konsentrasi tertinggi bahkan lebih besar dibandingkan kontrol positif, namun hal ini tidak berarti minyak atsiri lebih efektif daripada antibiotik karena faktor difusi senyawa volatil dalam media turut mempengaruhi ukuran zona hambat.

Analisis statistik diawali dengan pengujian asumsi normalitas menggunakan Shapiro–Wilk ($p = 0,140$), dan homogenitas varians dengan *Levene's Test* ($p = 0,114$). Data memenuhi prasyarat untuk analisis parametrik, sehingga dilakukan *One Way ANOVA*, yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok ($F = 36,235$; $p < 0,05$). Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara nyata, dilakukan uji lanjut *Tukey HSD*. Uji ini membandingkan setiap pasangan kelompok karena ANOVA hanya memberi tahu ada perbedaan secara umum. Hasil *Tukey HSD* menunjukkan bahwa konsentrasi 10%, 15%, dan 20% berbeda signifikan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$), menegaskan bahwa minyak atsiri memang memiliki aktivitas antibakteri. Beberapa pasangan lain, seperti kontrol positif dengan konsentrasi 10% atau konsentrasi 15% dengan 10%, tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$), menunjukkan efeknya relatif sama pada konsentrasi tersebut. Hasil ini menegaskan bahwa zona hambat yang terbentuk benar-benar berasal dari senyawa aktif dalam minyak atsiri, bukan faktor lain. Temuan ini menunjukkan bahwa minyak atsiri getah pinus merkusi berpotensi sebagai agen antibakteri alami terhadap *S. mutans*.

SIMPULAN

Skrining fitokimia menunjukkan adanya kandungan terpenoid (α -pinene

dan δ -3-carene), alkaloid dan flavonoid Hasil penelitian menunjukkan bahwa diameter zona hambat terhadap *S. mutans* pada konsentrasi 10%, 15%, dan 20% masing-masing sebesar $13,65 \pm 2,15$ mm; $15,92 \pm 1,75$ mm; dan $20,37 \pm 3,46$ mm. Kenaikan konsentrasi pinus merkusi sebanding dengan penghambatan bakteri *S. mutans* dengan konsentrasi paling optimal adalah 20%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Hasriyani, M.Farm. selaku dosen pembimbing I dan Ibu apt. Istianatus Sunnah, M.Sc. selaku dosen pembimbing II, serta teman-teman yang telah memberikan dukungan, bantuan, serta semangat selama proses penelitian dan penulisan, sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Alhasani, A. H., Ishag, R. A., Al-Akwa, A. A. Y., Al-Shamahy, H. A., & Al-labani, M. A. A. (2021). Association Between The *Streptococcus mutans* Biofilm Formation And Dental Caries Experience And Antibiotics Resistance In Adult Females. *Universal Journal of Pharmaceutical Research*. <https://doi.org/10.22270/ujpr.v5i6.507>
- Askari, M. Z., Fadel, M. N., & Sukoharjanti, B. T. (2025). Formulasi Dan Uji Antibakteri Ekstrak Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) Pada Sediaan Spray Gel Antijerawat Dengan Variasi Carbopol 940. *Nusantara Hasana Journal*, 5(2), 156–173.
- Assyera, R. A., Nurjanah, S., Widyasanti, A., Ainina, N., Raya, J., Km, B.-S., Sumedang, K., Barat, J., & Korespondensi, P. (2023). Quality Profile of Lemon Peels Essential Oil (*Citrus limon* L.) Burm.f. var. Eureka) Based on Differences in Maturity Colors and Moisture Contents. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 24(3), 201. <https://jtp.ub.ac.id/index.php/jtp/article/view/1291/1141>
- Dubnicka Mara, Cromwell Benjamin, & Levine Mindy. (2020). Investigation of the Adulteration of Essential Oils by GC-MS. *Bentham Science Publishers*, 16(8), 965–969. <http://dx.doi.org/10.2174/1573411015666191127093710>
- Fadana, Y., Dinana, I. A., Srihardyastutie, A., Rollando, R., & Masruri, M. (2023). Screening Indonesian Pine (*Pinus merkusii* Jungh at de Vriese) Compound as an Antibacterial Agent: In Vitro and In Silico Study. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 7(3), 2586–2595. <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v7i3.19>
- Faizin, F. A., Putri, R., & Khudzaifi, M. (2025). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelengkeng (*Dimocarpus longan* L.) dalam Sediaan Mouthwash Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Journal Of Social Science Research*, 5(1), 1054–1072. <https://j-innovative.org/index.php/Innovative>
- Gloria-Garza, M. A., Reyna-Martínez, G. R., Jiménez-Salas, Z., Campos-Góngora, E., Kačániová, M., Aguirre-Cavazos, D. E., Bautista-Villarreal, M., Leos-Rivas, C., & Elizondo-Luevano, J. H. (2025). Medicinal Plants Against Dental Caries: Research and Application of Their Antibacterial Properties. In *Plants* (Vol. 14, Number 9). *Multidisciplinary Digital Publishing Institute* (MDPI). <https://doi.org/10.3390/plants14091390>

- Hasriyani, Zulfa, A., Anggun, L., & Murhayati, R. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Lada Hitam (*Piper nigrum* L) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. / *Indonesia Jurnal Farmasi*, 5(2).
- Haykal, M. H., Trisnawan, N. N., Wiguno, A., & Kuswandi, K. (2024). Extraction of Essential Oil from *Moringa Oleifera* Leaves Using Steam Distillation and Soxhlet Extraction Method. *Jurnal Teknik Kimia Dan Lingkungan*, 8(1), 56–62. <https://doi.org/10.33795/jtkl.v8i1.4995>
- Hulankova, R. (2024). Methods for Determination of Antimicrobial Activity of Essential Oils In Vitro—A Review. In *Plants* (Vol. 13, Number 19). *Multidisciplinary Digital Publishing Institute* (MDPI). <https://doi.org/10.3390/plants13192784>
- Kementrian Kesehatan R1. (2023). *Survei Kesehatan Indonesia*. Kementrian Kesehatan Republik Inodnesia.
- Mohideen, M., Farzana Ibrahim, I., Azzalia Kamaruzaman, N., & Author, C. (2025). Phytochemical Screening and Antioxidant Properties of Essential Oil from Grapefruit (*Citrus paradisi*) Peel. *Asian Journal of Medicine and Health Sciences*, 8(1), 237–246. <https://doi.org/10.3390/app14072776>
- Nurhamidin, A., & Antasionasti, I. (2021). uji aktivitas antibakteri ekstrak N-heksan biji buah langsung (*Lansium domesticum* Corr) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Klebsiella pneumoniae*. *PHARMACON*, 10(1).
- Palupi, D. H. S., Haryanti, S., Prahasiwi, M. S., & Utomo, R. S. (2025). Aktivitas Penghambatan Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) dan Skrining Fitokimia Ekstrak Buah Api-api (*Avicennia marina*). *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 10(1), 100. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v10i1.98721>
- Rahmah, W. N., Ramdhani, F. H., & Hidayani, A. (2024). Gambaran Hasil Uji Sensitivitas Antibiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dengan Metode DISC dan Sumuran. *Jurnal Surya Medika*, 10(2), 344–348. <https://doi.org/10.33084/jsm.v10i2.7495>
- Ramadhanty, D. A., Lestari, Y. P. I., & Nashihah, S. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Karamuntin (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *JFIONline | Print ISSN 1412-1107 / e-ISSN 2355-696X*, 15(1), 29–42. <https://doi.org/10.35617/jfionline.v15i1.112>
- Rizki Hayu, T., Murrukmihadi, M., Tinggi Ilmu Farmasi, S., & Pharmasi, Y. (2023). Pengaruh Konsentrasi Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix* Dc.) Dalam Pasta Gigi Terhadap Karakteristik Fisik Dan Daya Antibakteri *Streptococcus mutans*. *Majalah Farmasuetik*, 9(1), 243.
- Ropiqa, M., Ristia Rahman, I., Kurniawan, H., & Kurnianto, E. (2023). Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Jeruk Pontianak (*Citrus nobilis* Lour. var. microcarpa) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus mutans*. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 5(1), 63–70. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v5i1.18170>
- Sangkoy, W. J., I Simbala, H. E., & Rumondor, E. M. (2023). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. *PHARMACON*, 12(1).

- Shi, Q., Li, F., Peng, Y., Sun, Q., Zhao, H., Lu, F., & Zhao, H. (2025). Asiatic Acid Disrupts the Biofilm Virulence of *Streptococcus mutans* by Transcriptional Reprogramming of Quorum Sensing System. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(19), 9510. <https://doi.org/10.3390/ijms26199510>
- Türkyılmaz, O., & Darcan, C. (2026). Molecular basis of ampicillin resistance: combinatorial mechanisms and future strategies. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 42(2), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s11274-026-04826-z>