

Laporan Penelitian

Aktivitas antibakteri fraksi etanol *Capsicum annum* L. (cabai merah rawit domba) terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175: studi eksperimental

Yasmine Aliyah Garinanda¹,
Winny Yohana²,
Hening Tjaturina Pramesti²

*Korespondensi:
yasmine20003@mail.unpad.ac.id

¹Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia

²Departemen Oral Biologi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran, Bandung, Indonesia

Submisi: 02 Mei 2024
Revisi: 02 Juni 2024
Penerimaan: 27 Juni 2024
Publikasi Online: 30 Juni 2024
DOI: [10.24198/pjdrs.v8i2.55925](https://doi.org/10.24198/pjdrs.v8i2.55925)

ABSTRAK

Pendahuluan: *Streptococcus mutans* merupakan bakteri utama penyebab karies gigi. Bakteri ini memiliki keistimewaan, yaitu mampu melekat erat pada permukaan gigi dan menghasilkan asam organik yang menyebabkan demineralisasi struktur gigi. Pengontrolan pertumbuhan bakteri ini diduga menurunkan risiko karies. *Capsicum annum* L. (cabai merah rawit domba) diyakini memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antibakteri fraksi etanol *C. annum* terhadap *S. mutans* ATCC 25175 secara *in vitro*. **Metode:** Jenis penelitian eksperimental laboratoris. Ekstraksi cabai merah rawit dilakukan dengan teknik maserasi dan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode pengenceran seri dengan konsentrasi 900; 800; 400; 200; 100; 50; 40; 25; 20; 12,5; 10; 6,25; 5; 2,5; 1,25; dan 0,625 mg/ml. *Chlorhexidine Gluconate* 0,2% digunakan sebagai kontrol positif. Kontrol negatif adalah media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) yang ditambahkan suspensi bakteri tanpa bahan uji. Data dianalisis dengan uji statistik Mann-Whitney untuk membandingkan rerata absorbansi setiap kelompok uji. **Hasil:** Fraksi etanol *C. annum* pada konsentrasi 0,625-900 mg/ml tidak menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Tidak terdapat perbedaan aktivitas bakteri yang signifikan antara fraksi etanol *C. annum* pada konsentrasi 0,625-900 mg/ml dan kontrol negatif berdasarkan uji Mann-Whitney. Terdapat pertumbuhan koloni *S. mutans* pada subkultur fraksi etanol *C. annum* pada konsentrasi 50-900 mg/ml di media *Brain Heart Infusion Agar*. **Simpulan:** Fraksi etanol *C. annum* varietas cabai merah rawit domba tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* ATCC 25175.

KATA KUNCI: *Capsicum annum* L, fraksi etanol, aktivitas antibakteri, *Streptococcus mutans*

Antibacterial Activity of Ethanol Fraction of *Capsicum annum* L. against *Streptococcus mutans* ATCC 25175: Experimental study

ABSTRACT

Introduction: *Streptococcus mutans* is the main bacteria that causes dental caries. This bacteria has the features of being tightly adhered to the tooth surface and produce organic acid that cause tooth demineralization. Therefore, controlling its growth is necessary to decrease the risk of caries. *Capsicum annum* L. (cayenne red pepper) is believed to possess antibacterial activity. This study aims to determine the antibacterial activity of the fraction ethanol of *C. annum* (FECA) against *S. mutans* ATCC 25175 *in vitro*. **Methods:** This was a experimental laboratory research. The extraction of cayenne red pepper used the maceration technique and the testing method used the serial microdilution with concentrations of 900; 800; 400; 200; 100; 50; 40; 25; 20; 12,5; 10; 6,25; 5; 2,5; 1,25; and 0,625 mg/ml. *Chlorhexidine Gluconate* 0,2% was used as the positive control, whereas *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) media was used as the negative control. *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) media was added with a suspension of *S. mutans* without the test material. **Results:** FECA at a 0.625-900 mg/ml concentration did not show *S. mutans* ATCC 25175 growth inhibition. There was no significant difference in mean absorbance between FECA at concentrations of 0,625-900 mg/ml and negative control based on the Mann-Whitney test. There were colony growth of *S. mutans* in subcultures of FECA at concentrations of 0.625-900 mg/ml. **Conclusion:** The ethanol fraction of *Capsicum annum* L. (cayenne red pepper) has no antibacterial activity against *S. mutans* ATCC 25175.

KEY WORDS: *Capsicum annum* L, ethanol fraction, antibacterial activity, *Streptococcus mutans*

PENDAHULUAN

Streptococcus mutans merupakan bakteri penyebab karies gigi, bakteri ini mempunyai keistimewaan yaitu melekat erat pada permukaan gigi. *Streptococcus mutans* pertama kali diisolasi dari plak gigi oleh Lemos JA *et al.*,¹ sebagai penyebab utama karies. Bakteri ini merupakan jenis gram positif, bersifat non-motil, dan anaerob fakultatif yang dapat memetabolisme karbohidrat.² *S. mutans* memiliki tiga karakteristik utama yang mendukung potensi kariogeniknya di antaranya yaitu, kemampuan untuk mensintesis polimer ekstraseluler glukosa dalam jumlah banyak dari sukrosa yang memfasilitasi kolonisasi dan perkembangan matriks polisakarida ekstraseluler biofilm; kemampuan memetabolisme berbagai karbohidrat menjadi asam organik (asidogenik); dan kemampuan untuk bertahan hidup dan berkembang dalam kondisi lingkungan dengan tingkat keasaman yang tinggi (asidurik).¹ Bakteri ini dapat menurunkan pH biofilm gigi dari pH 7 ke pH 5.5 dan menyebabkan demineralisasi gigi.^{2,3}

Kemampuan tersebut dimiliki *S. mutans* karena bakteri ini mensintesis enzim glukosil transferase (Gtf) dan fruktosil transferase (Ftf). Enzim glikosiltransferase dapat memetabolisme sukrosa menjadi glukosa yang berperan dalam pembentukan matriks EPS. Glukosa yang dihasilkan diikat oleh *S. mutans* melalui *glucan binding proteins* (GBP). Glukosa selain sebagai sumber makanan untuk *S. mutans* juga memfasilitasi bakteri lain untuk ikut menempel, berkoloni, dan membentuk biofilm.^{1,2,4} Enzim Ftf berperan dalam mengubah sukrosa atau fruktosa menjadi fruktosil-oligosakarida (FOS). FOS juga memberikan keuntungan bagi *S. mutans* karena FOS dapat digunakan sebagai sumber makanan oleh bakteri ini.¹ Peran *S. mutans* yang signifikan dalam pembentukan biofilm dapat menjadi potensi penghambatan pertumbuhan bakteri ini untuk menurunkan risiko karies.

Agen preventif untuk mengontrol pertumbuhan bakteri dan pembentukan biofilm oral secara kimiawi yang umum digunakan adalah obat kumur *chlorhexidine gluconate* 0,2% (CHX 0,2%). Penggunaan CHX dalam jangka panjang memiliki efek samping negatif terhadap rongga mulut seperti gangguan pengecapan, diskolorasi pada jaringan rongga mulut, dan mulut kering.⁵ Masyarakat mencari alternatif lain bahan penghambat pertumbuhan bakteri penyebab karies berupa bahan alam sebagai sumber utama metabolit sekunder alami seperti flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, steroid, terpenoid, fenol, dan glikosida yang memiliki kemampuan untuk merusak polisakarida bakteri.^{5,6} Obat yang berasal dari bahan alam juga memiliki efek samping relatif sedikit, mudah didapat, dan *biodegradable*.^{5,6} Satu bahan alam yang telah banyak diteliti sebagai agen antibakteri adalah cabai merah atau *Capsicum annuum* L.^{7,8}

Cabai adalah buah dari genus *Capsicum* dan famili *Solanaceae*.⁹ *C. annuum* L. atau cabai merah merupakan spesies cabai yang paling dikenal dan berperan signifikan dalam ekonomi karena terdistribusi di seluruh dunia dan dapat digunakan sebagai bahan penyedap rasa dalam bidang kuliner.¹⁰ Capsinoid merupakan metabolit sekunder golongan alkaloid yang hanya ditemukan pada genus *Capsicum* dan berperan untuk menghasilkan rasa pedas yang menjadi ciri khas dari tanaman ini.¹⁰ Capsaicin dan dihydrocapsaicin adalah dua macam capsinoid yang paling banyak ditemukan pada *Capsicum*. Kadar capsaicin dan dihydrocapsaicin yang terkandung dalam *Capsicum* memengaruhi tingkat kepedasannya.^{11,12} Hubungan antara tingkat kepedasan dengan kadar senyawa capsaicin dalam cabai dibuktikan oleh Mercy *et al.*,¹¹ yang meneliti tiga varietas *C. annum*, yaitu cabai rawit, cabai besar, dan paprika. Berdasarkan penelitian tersebut, cabai rawit mengandung kadar capsaicin tertinggi (4,12 mg/g) dan memiliki tingkat kepedasan yang paling tinggi dibandingkan cabai besar dan paprika dengan masing-masing kadar capsaicin 1,32 mg/g dan <0,02 mg/g. Kedua jenis capsinoid tersebut dilaporkan memiliki efek antibakteri. Santos *et al.*,¹³ melaporkan bahwa senyawa *capsaicin* dan *dihydrocapsaicin* yang diisolasi dari ekstrak etil asetat *C. annum* L. mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. mutans* pada konsentrasi 1,25 µg/mL.

Penelitian tentang efektivitas ekstrak *C. annum* sebagai agen antibakteri telah banyak dilakukan, tetapi efek antibakteri dari fraksi etanol cabai rawit merah domba belum banyak diteliti. Pada penelitian ini, dipilih buah cabai rawit merah domba karena memiliki tingkat kepedasan yang tinggi dibandingkan varietas lain sehingga diduga menunjukkan kandungan capsaicin yang tinggi sebagai agen antibakteri.¹¹

Pelarut etanol dipilih karena senyawa capsaicinoid umumnya lebih mudah larut dalam pelarut polar moderat/sedang seperti metanol, etanol, maupun asetonitril.¹⁴ Etanol adalah pelarut polar yang dapat melarutkan berbagai senyawa organik dengan titik didih yang rendah dan tidak beracun.¹⁵ Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antibakteri fraksi etanol *C. annuum* (cabai merah rawit domba) terhadap *Streptococcus mutans* ATCC 25175 secara *in vitro*.

METODE

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratoris secara *in vitro* dengan metode pengenceran seri (*broth microdilution*) untuk menguji aktivitas antibakteri. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari hingga Juni 2024 di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran serta Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran.

Ekstrak diperoleh dari sampel cabai rawit merah domba yang dipanen pada bulan Februari di daerah Kecamatan Pangalengan, Kabupaten Bandung dan telah diidentifikasi sebagai *Capsicum annum* L. atau *Capsicum annum* var *annum* oleh Laboratorium Biosistemika dan Molekuler Departemen Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran pada Desember 2023 dengan nomor surat No.275/LBM/IT/XII/2023. Ekstraksi pertama dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Maserat difraksinasi dengan *n*-heksana, kloroform, dan etanol. Fraksi etanol *C. annum* yang diperoleh selanjutnya diuji fitokimia untuk mengonfirmasi kandungan metabolit sekundernya. Fraksi etanol *C. annum* selanjutnya dilarutkan dengan Dimethylsulphoxide (DMSO) 1% untuk mendapat stok larutan dengan konsentrasi 900 dan 800 mg/ml.

Penelitian ini menggunakan Fraksi etanol *C. annum* dengan konsentrasi 900; 800; 400; 200; 100; 50; 40; 25; 20; 12,5; 10; 6,25; 5; 2,5; 1,25; dan 0,625 mg/ml berdasarkan penelitian Santos *et al.*,¹⁶ Brain Heart Infusion Broth (BHIB) digunakan sebagai kontrol media tanpa penambahan bahan uji dan obat. Kontrol positif adalah obat kumur Chlorhexidine (CHX) 0,2% dalam media BHIB ditambah suspensi bakteri *S. mutans* ATCC 25175. Kontrol negatif adalah media BHIB yang ditambahkan suspensi bakteri *S. mutans* ATCC 25175 tanpa penambahan bahan uji. Kontrol pelarut adalah DMSO 1% dalam media BHIB ditambah suspensi bakteri *S. mutans* ATCC 25175.

Suspensi bakteri diperoleh dengan kultur *S. mutans* ATCC 25175 yang telah diremajakan dalam media BHIB selama 24 jam pada suhu 37°C hingga memperoleh kekeruhan yang setara dengan standar McFarland 0,5 atau kerapatan bakteri 1×10^7 CFU/ml. Suspensi bakteri lalu diencerkan dengan perbandingan 1:20 sehingga didapat kekeruhan dengan kerapatan bakteri sekitar 5×10^5 CFU/ml.¹⁷

Uji pengenceran seri dilakukan sesuai dengan pedoman CLSI dan EUCAST dengan modifikasi.^{17,18} Uji pengenceran seri dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Setiap sumur pada *microplate 96-well* diisi dengan 100 µl media BHIB dan 100 µl sampel kelompok uji (kontrol positif, kontrol media, dan sampel uji fraksi etanol *C. annum* pada konsentrasi 0,625-900 mg/ml). Sebanyak 10 µl suspensi bakteri dimasukkan pada setiap sumur lalu *microplate* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Kekeruhan setiap larutan kelompok uji pada *microplate* diukur dengan spektrofotometer *multimode plate reader* (Tecan® *Infinite M200 PRO NanoQuant*) pada panjang gelombang 600 nm dalam bentuk nilai absorbansi atau *optical density*. Data absorbansi setiap kelompok uji yang diperoleh dirata-ratakan dan rerata dibandingkan dengan analisis statistik Kruskal Wallis dan Mann-Whitney. Sebelum uji perbandingan rerata, data diuji normalitas Shapiro Wilk dan diuji varians Levene. Hasil analisis disajikan dalam bentuk tabel.

HASIL

Ekstraksi dilakukan dengan metode ekstraksi padat-cair atau maserasi dengan pelarut etanol 70%. Hasil dari ekstraksi cabai merah rawit domba didapatkan ekstrak etanol kental sebanyak 75,5 gram dengan rendamen 4,17%. Hasil fraksinasi dapat dilihat pada Tabel 1. Fraksi etanol ini selanjutnya digunakan untuk uji antibakteri (Gambar 1).

Tabel 1. Hasil fraksinasi ekstrak etanol *C. annuum*

No.	Fraksi	Berat fraksi (gr)	Rendemen (%)
1	<i>n</i> -heksana	1,55 gr	2,05
2	Kloroform	1,21 gr	1,6
3	Etanol	54,2 gr	71,79

**Gambar 1. Hasil fraksi etanol dari ekstrak etanol *C. annuum* (cabai merah rawit domba)**

Hasil pemeriksaan uji fitokimia menunjukkan bahwa fraksi etanol *C. annuum* (cabai merah rawit domba) mengandung metabolit sekunder flavonoid, saponin, steroid, dan alkaloid, dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia fraksi etanol *C. annuum* (cabai merah rawit domba)

No.	Metabolit sekunder	Metode uji	Hasil uji
1	Fenolik	Pereaksi FeCl ₃ 5%	-
2	Tanin	Pereaksi FeCl ₃ 1%	-
3	Flavonoid	a. Pereaksi H ₂ SO ₄ 2N b. Pereaksi NaOH 10%	- +
4	Saponin	Pereaksi HCl 2 N	+
5	Triterpenoid	Pereaksi H ₂ SO ₄ pekat + Asam Asetat	-
6	Steroid	Anhidrat	+
7	Alkaloid	a. Pereaksi Dragendorf b. Pereaksi Wegner	+

Pengukuran absorbansi pada sampel uji fraksi etanol *C. annuum*, kontrol positif, kontrol negatif, kontrol media, dan kontrol pelarut diolah dengan analisis statistik. Berdasarkan uji normalitas Shapiro-Wilk dan uji varians, data tidak berdistribusi normal ($p\text{-value} < 0,05$) dan tidak homogen ($p\text{-value based on mean} < 0,05$). Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan perbedaan rerata setiap kelompok uji signifikan dengan diperolehnya nilai $p\text{-value} < 0,05$, yaitu 0,000. Rerata absorbansi setiap kelompok uji dibandingkan dengan kontrol negatif untuk membandingkan pertumbuhan *S. mutans*.

Tabel 3 menyajikan $p\text{-value}$ perbandingan rata-rata absorbansi setiap kelompok uji dengan kontrol negatif yang diperoleh dari uji Mann-Whitney. Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan fraksi etanol *C. annuum* konsentrasi 0,625-900 mg/ml memiliki $p\text{-value} > 0,05$ sehingga dapat disimpulkan tidak adanya perbedaan rerata yang signifikan antara fraksi etanol *C. annuum* 0,625-900 mg/ml dengan kontrol negatif.

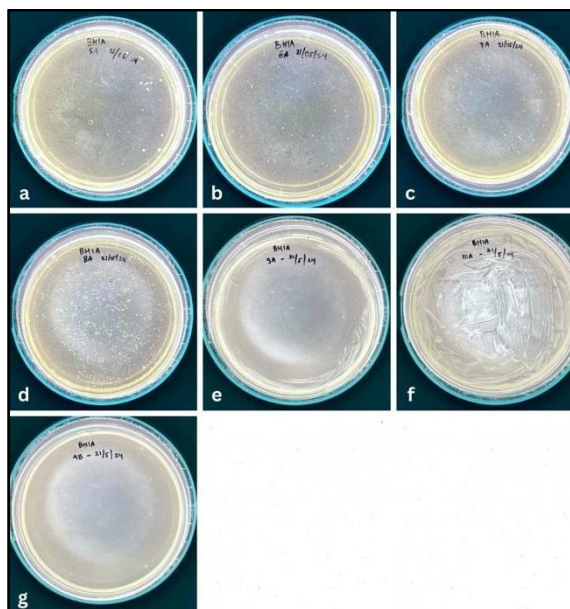
Tabel 3. Hasil analisis Mann-Whitney perbandingan rerata absorbansi setiap kelompok uji terhadap kontrol negatif

Kelompok uji	$\bar{A}$	JK	$p\text{-value}$	Deskripsi
FECA 900 mg/ml	1,5591	51	0,050	Tidak signifikan
FECA 800 mg/ml	1,3673	45	0,050	Tidak signifikan
FECA 400 mg/ml	0,8129	69	0,121	Tidak signifikan
FECA 200 mg/ml	0,8884	TNTC	0,796	Tidak signifikan
FECA 100 mg/ml	0,7294	TNTC	1,000	Tidak signifikan
FECA 50 mg/ml	0,7837	TNTC	0,121	Tidak signifikan
FECA 40 mg/ml	0,5110		0,050	Tidak signifikan
FECA 25 mg/ml	0,6907		0,606	Tidak signifikan
FECA 20 mg/ml	0,5959		0,050	Tidak signifikan
FECA 12,5 mg/ml	0,7195		1,000	Tidak signifikan
FECA 10 mg/ml	0,6200		0,127	Tidak signifikan
FECA 6,25 mg/ml	0,7775		0,127	Tidak signifikan

FECA 5 mg/ml	0,6081	0,050	Tidak signifikan
FECA 2,5 mg/ml	0,5962	0,127	Tidak signifikan
FECA 1,25 mg/ml	0,5935	0,050	Tidak signifikan
FECA 0,625 mg/ml	0,6039	0,127	Tidak signifikan
CHX 0,2 %	0,2923	0,020	Signifikan
Kontrol media	0,0551	0,020	Signifikan
Kontrol pelarut	0,4395	0,337	Tidak signifikan
Kontrol negatif	0,6796		

Keterangan: FECA = Fraksi etanol *C. annuum*; A = Rerata absorbansi; JK: Jumlah koloni; TNTC = *Too numerous to count* (lebih dari 300 koloni)

Fraksi pada etanol *C. annuum* dengan konsentrasi 50-900 mg/ml dilakukan penanaman pada media BHIA dengan metode *spread* dan diinkubasi selama 24 jam, dapat dilihat pada Gambar 2. Jumlah koloni *S. mutans* ATCC 25175 yang tumbuh dari penanaman setiap sampel uji fraksi etanol *C. annuum* dengan konsentrasi 50-900 mg/ml dan kontrol positif (CHX 0,2%) pada media BHIA disajikan pada Tabel 3. Penanaman kelompok kontrol positif pada media BHIA tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni pada pengujian dengan *colony counter*. Hasil penanaman sampel uji fraksi etanol *C. annuum* dengan konsentrasi 50-900 mg/ml dari *microplate* pada media BHIA terdapat pertumbuhan koloni *S. mutans* ATCC 25175. Perbandingan rata-rata nilai absorbansi dan hasil penanaman sampel uji fraksi etanol *C. annuum* pada media BHIA membuktikan bahwa fraksi etanol *C. annuum* pada konsentrasi 0,625-900 mg/ml tidak dapat menghambat pertumbuhan *S. mutans* ATCC 25175.



Gambar 2. Hasil penanaman sampel uji pada BHI agar: a) Fraksi etanol *C. annuum* (FECA) 900 mg/ml. b) FECA 800 mg/ml. c) FECA 400 mg/ml. d) FECA 200 mg/ml. e) FECA 100 mg/ml. f) FECA 50 mg/ml. g) CHX 0,2%

PEMBAHASAN

Metabolit sekunder alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid diidentifikasi terkandung dalam fraksi etanol *C. annuum* melalui uji fitokimia pada penelitian ini. Beberapa metabolit sekunder tersebut ditemukan juga di dalam ekstrak metanol *C. annuum*, antara lain yaitu alkaloid, polifenol, flavonoid, antosianin, antrakuinon, tanin, tritepenoid, dan saponin.¹⁹ Metabolit-metabolit sekunder dalam ekstrak metanol *C. annuum* tersebut dilaporkan memiliki potensi antimikroba.¹⁹ Alkaloid adalah senyawa dengan berat molekul rendah yang menyumbang sekitar 20% dari metabolit sekunder tumbuhan dan tersusun sebagian besar oleh nitrogen. Pada tanaman, alkaloid berfungsi untuk melindungi dari predator dan mengatur pertumbuhannya.²⁰ Senyawa isoquinole alkaloid, yaitu spathullin A and B menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram negatif dan gram positif di antaranya *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumonia*, and *Staphylococcus aureus*.²¹

Flavonoid adalah metabolit sekunder dengan struktur fenolik yang banyak ditemukan pada tumbuhan dan bertanggung jawab atas warna dan aroma tumbuhan. Flavonoid *caffeine*, *quercetine*, dan *kaempferol* yang ditemukan pada ekstrak *C. annuum* menunjukkan aktivitas antibakteri dan interaksi sinergisme terhadap *S. aureus* ATCC 6538 dan *P. aeruginosa* ATCC 27853.²² Flavonoid dan alkaloid dilaporkan bekerja sinergis dalam meningkatkan aktivitas antibakteri. Flavonoid yang ditemukan pada *Hydrastis canadensis* L. (Ranunculaceae), yaitu 6-desmethyl-sideroxylin, 8-desmethyl-syderoxylin and sideroxylin meningkatkan aktivitas antibakteri alkaloid berberine terhadap *S. aureus* melalui interaksi sinergisme dengan berperan sebagai *bacterial efflux pump inhibitors* (EPIs).²³

Selain alkaloid dan flavonoid, Kemungkinan penyebab tidak terbuktinya aktivitas anti bakteri karena faktor lain, mungkin fraksi etanol yang digunakan adalah fraksi kasar (*crude extract*) yang memungkinkan terjadinya antagonisme antara berbagai metabolit sekunder (Thongkao dkk, referensi no 30). Steroid adalah metabolit sekunder yang berasal dari tumbuhan dan memiliki struktur dasar empat cincin karbon yang disebut *steroid nucleus*.²⁴ Sterol dan hormon brassinosteroid berperan dalam pertumbuhan, reproduksi, dan respons tumbuhan terhadap berbagai tekanan abiotik dan biotik.²⁵

Steroid (sitost-5-en-3 β -ol formiate dan 5 α ,6 β -dihydroxysitosterol) yang diisolasi dari ekstrak etil asetat *Ludwigia abyssinica* dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* S2, and *Shigella flexneri* SDINT.²⁶ Saponin adalah senyawa steroid dan triterpenoid glikosida yang memiliki sifat surfaktan. Saponin membentuk busa seperti sabun saat dikocok dalam larutan *aqueous*.²⁷ Pada tumbuhan, saponin berperan melindungi dari serangan dan menurunkan pertumbuhan tanaman lain untuk mencegah persaingan sumber makanan. Saponin yang diisolasi dari ekstrak *Chenopodium quinoa* menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*, *S. epidermidis*, dan *Bacillus cereus*.²⁸

Hasil pada penelitian ini, fraksi etanol *C. annuum* pada konsentrasi 0,625-900 mg/ml tidak memiliki perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif sehingga dapat diketahui bahwa fraksi etanol *C. annuum* tidak menghambat pertumbuhan *S. mutans* ATCC 25175. Pengukuran *cell counts* melalui *optical density* memiliki keterbatasan. Pengukuran OD digunakan sebagai representatif dan bukan sebagai korelasi konkret karena kuantifikasi sel yang sebenarnya terbatas oleh transmisi, hitungan harus diverifikasi dengan metode lain, dan endapan dalam larutan yang diuji dapat mengganggu pengukuran.²⁹ Subkultur sampel fraksi etanol *C. annuum* 50-900 mg/ml pada media BHIA menunjukkan adanya pertumbuhan koloni *S. mutans*. Berdasarkan perbandingan rerata nilai absorbansi dan subkultur fraksi etanol *C. annuum* pada media BHIA, fraksi etanol *C. annuum* dengan konsentrasi 0,625-900 mg/ml tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* ATCC 25175.

Terdapat beberapa kemungkinan yang menjadi penyebab tidak didapatnya aktivitas antibakteri *C. annuum* terhadap *S. mutans* pada penelitian ini, yaitu penggunaan ekstrak atau fraksi kasar (*crude extract*); pilihan fraksi; varietas *C. annuum* yang digunakan; pilihan pelarut dan bagian buah yang diekstraksi; serta kesalahan prosedur uji. Penggunaan ekstrak kasar memungkinkan terjadinya interaksi sinergisme atau antagonisme antara berbagai metabolit sekunder dalam ekstrak untuk menghasilkan atau mencegah aktivitas biologis yang mungkin tidak terlihat jelas dengan senyawa murni.³⁰ Alkaloid dan saponin dalam ekstrak pohon Quinine (*Rauvolfia caffra*) menunjukkan interaksi antagonisme terkait aktivitas antioksidan. Hal ini dapat menurunkan kemampuan antioksidan ekstrak.³¹

Tidak adanya aktivitas antibakteri fraksi etanol *C. annuum* yang digunakan pada penelitian ini kemungkinan terjadi karena terdapat interaksi antagonisme antara senyawa-senyawa tertentu yang terkandung dalam fraksi etanol untuk menghambat pertumbuhan *S. mutans*. penelitian ini hampir sama hasilnya dengan penelitian Vaou *et. al.*, dimana ekstrak yang difraksinasi biasanya menunjukkan aktivitas antimikroba yang lebih lemah secara *in vitro* dibandingkan ekstrak yang tidak difraksinasi.²³

Fraksi etanol yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil fraksinasi terakhir setelah *n-heksana* dan kloroform sehingga diduga metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antibakteri sudah terlarut pada fraksi sebelumnya dan tidak tersisa pada fraksi yang digunakan.

Fraksi etanol *C. annuum* pada penelitian ini tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* seperti ekstrak etil asetat *C. annuum* karena perbedaan varietas *C. annuum* yang diekstraksi menyebabkan kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak

berbeda. Hal ini didukung oleh penelitian Salman *et. al.* yang menyatakan bahwa ekstrak asetonitril *Capsicum annuum* L. var. baydagi dabba tidak menghasilkan aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* dan *S. sobrinus*.¹³ Ekstrak etanol *C. annuum* var. *acuminatum* (Bang Chang *chili pepper*) yang memiliki tingkat kepedasan rendah juga dilaporkan tidak menunjukkan inhibisi pertumbuhan *S. aureus*, *S. epidermidis*, *C. acnes*, *E. coli*, dan *Cutibacterium albicans* karena kandungan fenolik dan capsaicin rendah.³⁰

Capsaicin yang diisolasi dari ekstrak etil asetat dilaporkan menghambat pertumbuhan *S. mutans* dengan nilai KHM 1.25 mg/ml.¹³ Capsaicin merupakan senyawa capsinoid golongan alkaloid yang menghasilkan rasa panas dan terbakar saat berikatan dengan reseptor TPRV1 dan hanya ditemukan pada genus *Capsicum*.³² Capsaicin diduga menjadi satu komponen utama dalam *Capsicum* yang menghasilkan aktivitas antibakteri dengan menciptakan tekanan osmotik, merusak struktur membran sel, dan menginhibisi ekspresi gen yang bertanggung jawab untuk pertumbuhan sel.³³ Varietas *C. annuum* yang diekstraksi diduga dapat memengaruhi kandungan capsaicin dan kemampuan *C. annuum* untuk menghasilkan aktivitas antibakteri.

Efisiensi ekstraksi capsaicin sebagai antibakteri dalam ekstrak dipengaruhi pelarut yang digunakan. Ekstraksi *C. annuum* dengan pelarut aseton menghasilkan kandungan capsaicin terbesar dalam ekstrak dibandingkan dengan air dan etanol 95%.³⁴ Faktor lain yang memengaruhi ekstraksi capsinoid adalah bagian buah *C. annuum* yang diekstraksi. Ekstrak *C. annuum* dari bagian plasenta, jaringan tempat capsinoid diproduksi, menghasilkan kandungan capsaicin yang lebih tinggi dibanding ekstrak dari biji dan pericarp.³⁵ Hal ini menunjukkan bahwa mungkin fraksi etanol *C. annuum* tidak mengandung kadar capsaicin yang cukup untuk menghasilkan aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* karena pilihan varietas *C. annuum*, pelarut ekstraksi, dan bagian buah *C. annuum* yang diekstraksi berbeda dari penelitian sebelumnya.

Penyebab lain tidak terdapat aktivitas antibakteri *C. annuum* terhadap *S. mutans* dapat juga terjadi akibat kesalahan dalam pengujian. Kesalahan pemilihan metode dapat terjadi karena metode tertentu seperti metode difusi cakram hanya cocok untuk patogen bakteri yang tumbuh cepat dengan tingkat pertumbuhan konsisten. Penggunaan media yang tidak sesuai standar komposisi, pH, dan kadar kation serta komponen pengujian seperti *disk* dan cawan agar yang kadaluarsa dapat memengaruhi pengujian.¹⁸

Kesalahan dalam prosedur pengujian banyak ditemukan saat persiapan inokulum, kondisi inkubasi, dan interpretasi titik akhir.^{17,18} Metode pengenceran seri mikro, jumlah *well* dan reagen yang relatif tinggi dan persiapan larutan antibakteri secara manual untuk setiap pengujian menyebabkan adanya potensi kesalahan pada larutan antibakteri.³⁶ Metode pengujian ini juga memiliki beberapa keterbatasan yang dapat memengaruhi hasil uji, yaitu sulit untuk mendeteksi adanya kontaminasi, viabilitas inokulum, dan kemungkinan adanya efek inhibisi terhadap agen antimikroba dari pelarut yang digunakan seperti DMSO.³⁷

Keterbatasan dari penelitian ini adalah stok kultur *S. mutans* ATCC 25175 yang digunakan pada laboratorium telah dipakai berkali-kali sehingga dapat terkontaminasi atau adanya perubahan karakteristik bakteri. Penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri *Capsicum annuum* L. disarankan untuk menggunakan metode ekstraksi, pelarut, metode fraksinasi, fraksi, atau varietas *C. annuum* yang lain.

SIMPULAN

Fraksi etanol dari ekstrak etanol *C. annuum* (cabai merah rawit domba) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* ATCC 25175. Implikasi dari penelitian ini Fraksi etanol dari ekstrak etanol *C. annuum* (cabai rawit domba) tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. mutans* ATCC 25175, dengan fraksinasi halus akan lebih baik hasilnya

Kontribusi Penulis: Konseptualisasi, G.Y.A; Y.W.; dan T.H.P.; metodologi, G.Y.A; Y.W.; dan T.H.P.; perangkat lunak, G.Y.A; Y.W.; dan T.H.P.; validasi, G.Y.A; Y.W.; dan T.H.P.; analisis formal, G.Y.A; Y.W.; dan T.H.P.; investigasi, G.Y.A; Y.W.; dan T.H.P.; sumber daya, G.Y.A; Y.W.; dan T.H.P.; kurasi data, G.Y.A; Y.W.; dan T.H.P.; penulisan—penyusunan draft awal, G.Y.A; Y.W.; dan T.H.P.; penulisan—tinjauan dan penyuntingan, G.Y.A; Y.W.; dan T.H.P.; visualisasi, G.Y.A; Y.W.; dan T.H.P.; supervisi, G.Y.A; Y.W.; dan T.H.P.; administrasi proyek, G.Y.A; Y.W.; dan T.H.P.; perolehan pendanaan, G.Y.A. Semua penulis telah membaca dan menyetujui versi naskah yang diterbitkan.

Pendanaan: Tidak ada dukungan pendanaan dari instansi tertentu pada penelitian ini.

Persetujuan Etik: Tidak disertakan untuk penelitian ini karena tidak melibatkan manusia atau hewan.

Pernyataan Persetujuan Data: Semua penulis menyetujui artikelnya diterbitkan di Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students (PJDRS) Universitas Padjadjaran, dan diberikan akses data melalui email Korespondensi penulis.

Pernyataan Ketersediaan Data: Ketersediaan data penelitian akan diberikan seijin semua peneliti melalui email korespondensi dengan memperhatikan etika dalam penelitian

Konflik Kepentingan: Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan.

DAFTAR PUSTAKA

- Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, Abranches J, Brady LJ. The Biology of *Streptococcus mutans*. Microbiol Spectr. 2019 Jan;7(1):10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018. DOI: [10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018](https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0051-2018).
- Samaranayake L. Essential microbiology for dentistry. 5th Ed. Vol. 15, American Speech. Elsevier Ltd; 2018. 402 p.
- Guo L, Hu W, He X, Lux R, McLean J, Shi W. Investigating acid production by *Streptococcus mutans* with a surface-displayed pH-sensitive green fluorescent protein. PLoS One. 2013; 8(2): e57182. DOI: [10.1371/journal.pone.0057182](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057182).
- Krzyściak W, Jurczak A, Kościelniak D, Bystrowska B, Skalniak A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2014; 33(4): 499-515. DOI: [10.1007/s10096-013-1993-7](https://doi.org/10.1007/s10096-013-1993-7).
- Rosyada AG. Aktivitas antibiofilm ekstrak etanol kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dalam menghambat pembentukan biofilm *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 : penelitian eksperimental laboratoris Anti-biofilm activity of shallot peel ethanol extract (*Allium cepa* L.). 2023; 35(April): 33–40.
- Ariefqi MN, Syamsunarno MRAA, Rosdianto AM. Utilization of Efficacious Herbs As Supplements in Disease Control in Aquaculture: a Literature Review. Indones Med Veterinus. 2020;9(6):1000–9. DOI: [10.19087/imv.2020.9.6.1000](https://doi.org/10.19087/imv.2020.9.6.1000)
- Marini E, Magi G, Mingoa I, Pugnali A, Facinelli B. Antimicrobial and anti-virulence activity of capsaicin against erythromycin-resistant, cell-invasive group A streptococci. Front Microbiol. 2015;6(NOV):1–7. DOI: [10.3389/fmicb.2015.01281](https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01281)
- Oyedemi BO, Kotsia EM, Stapleton PD, Gibbons S. Capsaicin and gingerol analogues inhibit the growth of efflux-multidrug resistant bacteria and R-plasmids conjugal transfer. J Ethnopharmacol. 2019; 24 (5 September 2018): 111871. Available from: DOI: [10.1016/j.jep.2019.111871](https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111871)
- Khan FA, Mahmood T, Ali M, Saeed A, Maalik A. Pharmacological importance of an ethnobotanical plant: *Capsicum annuum* L. Nat Prod Res. 2014;28(16):1267–74. DOI: [10.1080/14786419.2014.895723](https://doi.org/10.1080/14786419.2014.895723)
- González-Zamora A, Sierra-Campos E, Luna-Ortega JG, Pérez-Morales R, Ortiz JCR, García-Hernández JL. Characterization of Different *Capsicum* Varieties by Evaluation of Their Capsaicinoids Content by High Performance Liquid Chromatography, Determination of Pungency and Effect of High Temperature. Molecules. 2013;18(11):13471–86. DOI: [10.3390/molecules181113471](https://doi.org/10.3390/molecules181113471)
- Hasanah N, Fatmawati S. Metabolit Sekuder, Metode Ekstraksi, Dan Bioaktivitas Cabai (*Capsicum*). Akta Kim Indones. 2022;7(1):14. DOI: [10.12962/j25493736.v7i1.11239](https://doi.org/10.12962/j25493736.v7i1.11239)
- Lozada DN, Coon DL, Guzmán I, Bosland PW. Heat profiles of 'superhot' and New Mexican type chile peppers (*Capsicum* spp.). Sci Hortic (Amsterdam). 2021; 283: 110088. DOI: [10.1016/j.scienta.2021.110088](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110088)
- Abdulrahman Salman H, R S, M V. Lack of Antibacterial Activity of *Capsicum Annuum* and *Simarouba Glauca* Against *Streptococcus Mutans* and *Streptococcus Sobrinus*. Biosci Biotechnol Res Asia. 2018;15(2):311–5. DOI: [10.13005/bbra/2634](https://doi.org/10.13005/bbra/2634)
- Antonio AS, Wiedemann LSM, Veiga Junior VF. The genus: *Capsicum*: a phytochemical review of bioactive secondary metabolites. RSC Adv. 2018; 8(45): 25767–84. DOI: [10.1039/C8RA02067A](https://doi.org/10.1039/C8RA02067A)
- Rais Khasanah H, Eka Nugraheni D. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Biji Keblul (*Caesalpinia Bondu* (L.) Roxb) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. J Ilm Avicenna Univ Muhammadiyah Bengkulu. 2021; 3(2):6. DOI: [10.36085/avicenna.v16i1.1507](https://doi.org/10.36085/avicenna.v16i1.1507)
- Santos MMP, Vieira-Da-Motta O, Vieira IJC, Braz-Filho R, Gonçalves PS, Maria EJ, et al. Antibacterial activity of *Capsicum annuum* extract and synthetic capsaicinoid derivatives against *Streptococcus mutans*. J Nat Med. 2012;66(2):354–6. DOI: [10.1007/s11418-011-0579-x](https://doi.org/10.1007/s11418-011-0579-x)
- Kowalska-Krochmal B, Dudek-Wicher R. The minimum inhibitory concentration of antibiotics: Methods, interpretation, clinical relevance. Pathogens. 2021; 10(2): 1–21. DOI: [10.3390/pathogens10020165](https://doi.org/10.3390/pathogens10020165)
- Jorgensen JH, Carroll KH, Funke G. Manual of Clinical Microbiology [Internet]. 11th Ed. Vol. 1, Manual of Clinical Microbiology. Wiley; 2015. DOI: [10.1128/9781555816728.ch23](https://doi.org/10.1128/9781555816728.ch23)
- Ekom SE, Tamokou J-D-D, Kuete V. Antibacterial and Therapeutic Potentials of the *Capsicum annuum* Extract against Infected Wound in a Rat Model with Its Mechanisms of Antibacterial Action. Formanowicz D, editor. Biomed Res Int [Internet]. 2021; 2021: 4303902. DOI: [10.1155/2021/4303902](https://doi.org/10.1155/2021/4303902)
- Heinrich M, Mah J, Amirkia V. Alkaloids used as medicines: Structural phytochemistry meets biodiversity—An update and forward look. Molecules. 2021;26(7):1–18. DOI: [10.3390/molecules26071836](https://doi.org/10.3390/molecules26071836)
- Nord C, Levenfors JJ, Bjerketorp J, Sahlberg C, Guss B, Öberg B, et al. Antibacterial Isoquinoline Alkaloids from the Fungus *Penicillium Spathulatum* Em19. Molecules. 2019 Dec;24(24). DOI: [10.3390/molecules24244616](https://doi.org/10.3390/molecules24244616)
- Mokhtar M, Ginestra G, Youcefi F, Filocamo A, Bisignano C, Riazi A. Antimicrobial Activity of Selected Polyphenols and Capsaicinoids Identified in Pepper (*Capsicum annuum* L.) and Their Possible Mode of Interaction. Curr Microbiol. 2017; 74(11): 1253–60. DOI: [10.1007/s00284-017-1310-2](https://doi.org/10.1007/s00284-017-1310-2)
- Vaou N, Stavropoulou E, Voidarou CC, Tsakris Z, Rozos G, Tsigalou C, et al. Interactions between Medical Plant-Derived Bioactive Compounds: Focus on Antimicrobial Combination Effects. Antibiot (Basel, Switzerland). 2022 Jul;11(8).
- Patel SS, Savjani JK. Systematic review of plant steroids as potential antiinflammatory agents: Current status and future perspectives. J Phytopharm. 2015; 4(2): 121–5. DOI: [10.3390/antibiotics11081014](https://doi.org/10.3390/antibiotics11081014)
- Vriet C, Russinova E, Reuzeau C. Boosting crop yields with plant steroids. Plant Cell. 2013; 24(3): 842–57. DOI: [10.31254/phyto.2015.4212](https://doi.org/10.31254/phyto.2015.4212)
- Meli Sonkoue A, Kengne IC, Tamekou Lacmata S, Jouogo Ngnokam CD, Djamalladine Djamalladine M, Voutquenne-Nazabadioko L, et al. Triterpene and Steroids from *Ludwigia abyssinica* A. Rich (Onagraceae) Displayed Antimicrobial Activities and Synergistic Effects with Conventional Antibiotics. Evidence-based Complement Altern Med. 2023;2023. DOI: [10.1155/2023/2975909](https://doi.org/10.1155/2023/2975909)
- Faizal A, Geelen D. Saponins and their role in biological processes in plants. Phytochem Rev. 2013; 12(4): 877–93. DOI: [10.1007/s11101-013-9322-4](https://doi.org/10.1007/s11101-013-9322-4)
- Dong S, Yang X, Zhao L, Zhang F, Hou Z, Xue P. Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa*

- Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. Ind Crops Prod [Internet]. 2020; 149: 112350. DOI: [10.1016/j.indcrop.2020.112350](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112350)
29. Brown DC, Turner RJ. Assessing Microbial Monitoring Methods for Challenging Environmental Strains and Cultures. Microbiol Res (Pavia). 2022; 13(2): 235–57. DOI: [10.3390/microbiolres13020020](https://doi.org/10.3390/microbiolres13020020)
 30. Thongkao K, Thongmuang P, Sudjaroen Y. Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of “Bang Chang” Thai Cultivar Chili Pepper (*Capsicum annuum* Var. *acuminatum*). Int J Pharm Qual Assur. 2023;14(3): 601–4. DOI: [10.25258/ijpqa.14.3.24](https://doi.org/10.25258/ijpqa.14.3.24)
 31. Milugo TK, Omosa LK, Ochanda JO, Owuor BO, Wamunyokoli FA, Oyugi JO, et al. Antagonistic effect of alkaloids and saponins on bioactivity in the quinine tree (*Rauvolfia caffra* sond.): Further evidence to support biotechnology in traditional medicinal plants. BMC Complement Altern Med [Internet]. 2013;13(1):1. DOI: [10.1186/1472-6882-13-285](https://doi.org/10.1186/1472-6882-13-285)
 32. DOĞAN K, TUNÇER S. Capsaicin Shows Species and Strain-specific Activity: Investigation of the Antibacterial Effects on the Oral Pathogen *Streptococcus mutans* and the Oral Probiotics *Streptococcus salivarius* M18 and K12. Hacettepe J Biol Chem. 2024;52(1):11–9. DOI: [10.15671/hjbc.1337284](https://doi.org/10.15671/hjbc.1337284)
 33. Adaszek Ł, Gadomska D, Mazurek Ł, Łyp P, Madany J, Winiarczyk S. Properties of capsaicin and its utility in veterinary and human medicine. Res Vet Sci [Internet]. 2019;123:14–9. DOI: [10.1016/j.rvsc.2018.12.002](https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.12.002)
 34. Kruawan S, Hanchaiyaphum P, Sodawichit S, Janthakhat P, Konglamjeak S, Khiewbanyang N, et al. Effect of Extraction Solvent on Capsaicin Content of Chinda Peppers. Suan Sunandha Sci Technol J. 2022;9(2):48–52. DOI: [10.53848/ssstj.v9i2.233](https://doi.org/10.53848/ssstj.v9i2.233)
 35. Mansalai P, Intanon N, Payaka A, Wattanalaorsomboon S, Chinvongamorn C, Sansenya S. Inhibition potential against acetylcholinesterase of commercial and extracts of capsaicin and dihydrocapsaicin by in vitro and in silico studies. Process Biochem [Internet]. 2024;136:341–50. DOI: [10.1016/j.procbio.2023.12.012](https://doi.org/10.1016/j.procbio.2023.12.012)
 36. Alizade H, Fallah F, Ghanbarpour R, Goudarzi H, Sharifi H, Aflatoonian MR. Comparison of Disc Diffusion, Broth Microdilution and Modified Hodge Test Susceptibility Testing Of *Escherichia coli* Isolates to Beta-Lactam Antibiotics. Med Lab J. 2016;10(2):19–24. DOI: [10.18869/acadpub.mlj.10.2.19](https://doi.org/10.18869/acadpub.mlj.10.2.19)
 37. Benkova M, Soukup O, Marek J. Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. J Appl Microbiol. 2020;129(4):806–22. DOI: [10.1111/jam.14704](https://doi.org/10.1111/jam.14704)