

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN UJI ANTIBAKTERI *Fusobacterium nucleatum* DARI EKSTRAK ETANOL DAUN *Ruta angustifolia*

Shafa Noer*, Rosa Dewi Pratiwi dan Efri Gresinta

Program Studi Pendidikan Biologi, FTMIPA Universitas Indraprasta PGRI
Kampus A: Jl. Nangka No. 58 C (TB. Simatupang), Kel. Tanjung Barat, Kec. Jagakarsa,
Jakarta Selatan 12530

Kampus B: Jl. Raya Tengah No. 80, Kel. Gedong, Kec. Pasar Rebo, Jakarta Timur
13760

*E-mail: shafa_noer@yahoo.co.id

Diterima: 30/10/2017

Direvisi: 21/11/2017

Disetujui: 31/12/2017

ABSTRAK

Ruta angustifolia atau yang biasa disebut dengan tanaman Inggau telah lama dipercaya dan digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat untuk berbagai macam penyakit. Salah satu organ utama yang paling banyak digunakan sebagai obat tradisional adalah daunnya. Inggau telah digunakan secara luas sebagai obat tradisional, namun penelitian ilmiah tentang kandungan bioaktifnya masih jarang dilakukan. Dalam penelitian ini aktivitas antioksidan dan antibakteri daun Inggau diuji terhadap penyakit gigi yang disebabkan oleh *Fusobacterium nucleatum*. *F. nucleatum* adalah jenis yang paling umum ditemui pada penyakit gigi dan memproduksi bahan iritan pada jaringan seperti asam butirat, protease dan *cytokines*. Tujuan penelitian ini adalah menguji kandungan antioksidan dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun *R. angustifolia* terhadap *F. nucleatum*. Metode yang digunakan untuk pengujian antioksidan adalah metode 2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Uji antibakteri mencakup Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan metode serial dilusi-spektrofotometri dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan metode *streak* agar. Dari hasil pengujian kadar antioksidan pada sampel ekstrak etanol daun *R. angustifolia* menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 100,99 ppm. Hasil ini menandakan bahwa kadar antioksidan pada daun Inggau memiliki aktivitas yang sedang, dengan KHM 40% dan KBM 80%.

Kata kunci: Antioksidan, KBM, KHM, *Ruta angustifolia*

**TEST OF ANTIOXIDANT ACTIVITY AND TEST OF ANTIBACTERY
Fusobacterium nucleatum FROM EXTRACT ETHANOL LEAF *Ruta angustifolia***

ABSTRACT

Ruta angustifolia or commonly called the Inggau plant have been trusted for a long time and used by the people of Indonesia as a medicine for various diseases. One of the main organs most widely used as a traditional medicine, is the leaves. Inggau has been widely used as a traditional medicine, however its scientific research on bioactive compound still rare. In this research antioxidant and antibacterial activities of Inggau leaves were tested for dental diseases caused by *F. nucleatum*. *F. nucleatum* is the most common type of dental disease and produces irritant substances in tissues such as butyric acid, proteases and *cytokines*. The purpose of this study is to test the antioxidant and antibacterial activity of *R. angustifolia* leaf ethanol extract against *F. nucleatum* in. The method used for antioxidant testing is the 2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH)

*method. Antibacterial tests include Minimum Inhibitory Concentration (MIC) with serial-dilution spectrophotometric method and Minimum Bacteriocidal Concentration (MBC) with streak agar method. The results showed that the levels of antioxidants in ethanol extract of leaves *Ruta angustifolia* showed IC50 value of 100.99 ppm. These results indicate that the antioxidant levels possessed by these plants have moderate activity, with Minimum Inhibitory Concentration of 40% extract and Minimum Bacteriocidal Concentration at 80%.*

Keywords: *Antioxidant, MIC, MBC, Ruta angustifolia*

PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia sudah sejak ratusan tahun yang lalu memiliki tradisi memanfaatkan tumbuhan dari lingkungan sekitarnya sebagai obat tradisional. Sejak lebih dari dua puluh tahun yang lalu masyarakat dunia, tidak saja di negara-negara Timur melainkan juga di negara-negara Barat, mulai menoleh kembali dan tertarik untuk menggunakan obat-obat alam, yang kita kenal sebagai gerakan “Kembali ke Alam” atau “*Back to Nature*”.

Adanya kecenderungan pola hidup “*Back to Nature*” ini dipicu oleh keyakinan bahwa mengkonsumsi obat alami relatif lebih aman dibanding dengan obat sintetik yang memiliki banyak efek samping negatif. Itu sebabnya industri obat tradisional, baik di luar negeri maupun di Indonesia makin meningkat jumlah dan pasarnya. Sayangnya industrialisasi obat-obat alam menyebabkan harga obat alam semakin meningkat, sehingga saat ini banyak obat tradisional alami yang harganya tidak kurang mahal dibandingkan dengan obat-obat konvensional sintesis.

Salah satu kekurangan dalam mengkonsumsi obat tradisional atau yang lebih populer disebut dengan sebutan herbal adalah seringkali obat herbal ini dikonsumsi tanpa pengetahuan yang cukup mengenai tanaman yang digunakan. Padahal, seperti yang kita ketahui, tidak sedikit tanaman yang justru mengandung racun atau zat berbahaya bila dikonsumsi manusia, terlebih bila dosis yang digunakan tidak tepat. Atau bisa jadi,

walaupun telah dipercaya menjadi obat bagi penyakit tertentu, namun penelitian ilmiah tentang kandungan tanaman tersebut masih belum banyak ditelaah lebih dalam.

Tanaman *Ruta angustifolia* atau yang biasa disebut dengan tanaman Inggau telah lama dipercaya dan digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat untuk berbagai macam penyakit. Organ utama yang paling banyak digunakan sebagai obat tradisional adalah daunnya. Cara pengolahan daun sebelum menjadi ramuan obat berbagai macam, namun yang paling sederhana adalah menggunakan daun langsung dengan menghancurkannya dan menempelkan pada tempat yang sakit. Atau cara lain adalah dengan merebus beberapa helai daun inggau sampai air menjadi setengahnya lalu diminum secara rutin. Penyakit yang dipercaya dapat diatasi dengan ramuan daun inggau meliputi penyakit gigi, semam, kejang pada anak, nyeri ulu hati, merangsang haid, kecekukan, sakit kepala dan bisul. Walaupun telah digunakan secara luas sebagai obat tradisional, namun penelitian ilmiah tentang kandungan tanaman ini masih jarang dilakukan.

Radikal bebas adalah molekul atau bagian molekul yang tidak utuh lagi karena sebagian telah pecah atau melepaskan diri. Bagian yang pecah atau melepaskan diri ini melekat pada molekul lain dan mengubah struktur atau fungsi molekul yang bersangkutan. Oksigen bersifat sangat reaktif, dan oksidatif dari protein, lemak, dan hidrat arang, dan unsur lain dalam tubuh, akan

menghasilkan radikal bebas. Dalam proses menua, kecepatan unsur radikal bebas ini bertambah, melebihi kecepatan perbaikan atau pemulihannya (Tambayong, 1999).

Tumbuh-tumbuhan yang terdapat di alam telah lama diakui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Pada sistem biologis tumbuhan, oksigen dapat mengandung radikal bebas yang merupakan salah satu agen penyebab gangguan kronis. Kandungan biokimia dari tumbuhan digunakan untuk melindungi antioksidan alami yang terdapat didalam sel-sel organisme (Mensor *et al.*, 2001). Antioksidan adalah molekul yang dapat dengan aman berinteraksi dengan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai sebelum molekul penting rusak. Ada beberapa sistem enzim endogen dan zat dalam sel yang mengikat radikal bebas. Sel juga dapat mencapai antioksidan melalui sirkulasi setelah mengkonsumsi minuman dan makanan kaya antioksidan (Panglossi, 2006).

Fusobacterium adalah bakteri anaerob obligat, mempunyai bentuk batang, gram negatif. Bakteri ini masuk ke dalam family *Bacteroidaceae*. Nama *Fusobacterium* berasal dari bahasa Latin "fus" yang berarti kumaran. Keterlibatan *fusobacterium* dalam penyakit infeksi pada manusia dan hewan telah lama diketahui. *Fusobacterium nucleatum* adalah jenis yang paling umum ditemui pada penyakit gigi dan memproduksi bahan iritan pada jaringan seperti asam butirat, protease dan *cytokines*. Ia memiliki sifat perekat yang kuat karena keberadaan lektin yang memperantarai penempelan pada epitel dan permukaan gigi serta penggumpalan dengan bakteri pathogen lainnya. Jenis lainnya yaitu *F.necrophorum* radang tonsil dan keracunan darah (*septicaemia*) (Roberts,2000).

Dalam penelitian ini diuji kandungan antioksidan dan aktivitas antibakteri *Fusobacterium nucleatum* dalam ekstrak

etanol daun *Ruta angustifolia*. Dengan demikian, hasil penelitian diharapkan dapat menjelaskan secara ilmiah manfaat alami dari daun *Ruta angustifolia* beserta hubungannya dengan pengobatan penyakit.

METODE

Penelitian ini dilakukan dari bulan Mei sampai dengan Agustus 2017 di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro) Bogor dan Laboratorium Oral Biologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.

Ekstrak etanol yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari penelitian sebelumnya yang dengan menggunakan metode maserasi. Metode yang digunakan untuk pengujian antioksidan adalah metode 2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH). Uji antibakteri mencakup Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan metode serial dilusi-spektrofotometri dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan metode *streak* agar.

Prosedur KHM dilakukan dengan menyiapkan ekstrak etanol daun *Ruta angustifolia* dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, 80% dan 100%, disiapkan medium *Brain Heart Infusion* (BHI) broth steril 8.8 mL per tabung per konsentrasi ekstrak, ditambahkan ekstrak pada konsentrasi tertentu sebanyak 1 mL secara aseptis, ditambahkan kultur bakteri *Fusobacterium nucleatum* dalam BHI Broth (setara standar McFarland) sebanyak 200 μ L, divortex agar homogen, diambil 2 mL untuk diukur absorbansi awal $\lambda=630$ nm, diinkubasi *overnight* suhu 37 °C dalam keadaan anaerob, divortex, diukur absorbansi akhir $\lambda=630$ nm, jika selisih absorbansi akhir dan awal negatif maka dinyatakan sebagai tabung positif. KHM merupakan konsentrasi terendah dari tabung positif (Dewi dalam Magdalena dan Kusnadi, 2015).

Prosedur uji KBM dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada hasil uji positif KHM dengan metode *streak* (gores) 3 kuadran pada medium BHI agar steril suhu 37 °C, diinkubasi overnight suhu 37°C dalam keadaan anaerob dan dilakukan pengamatan ada atau tidaknya pertumbuhan koloni pada agar cawan. Tidak adanya pertumbuhan koloni dinyatakan sebagai KBM (Sari dalam Magdalena dan Kusnadi, 2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dapat ditentukan dengan metode DPPH. DPPH merupakan radikal bebas yang diperdagangkan, stabil pada suhu kamar dengan bentuk serbuk ungu tua, dan cepat teroksidasi oleh temperatur dan udara. Metode DPPH merupakan salah satu metode pengujian aktivitas antioksidan yang menggunakan reaksi kimia (Molyneux, 2004). Metode ini dipilih karena merupakan metode pengujian aktivitas antioksidan yang menggunakan sampel dalam jumlah sedikit dan waktu yang singkat (Keinanen & Ritta, 1996). Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menimbulkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Tingkat perubahan warna yang mengindikasikan potensi senyawa antioksidan dalam kemampuannya mendonorkan atom hidrogen (Mosquera *et al.*, 2007).

Pada sampel yang mengandung senyawa antioksidan, semakin tinggi konsentrasi berarti semakin banyak pula senyawa yang akan menyumbangkan elektron atau atom hidrogennya kepada radikal bebas DPPH, yang turut menyebabkan pemudaran warna pada DPPH. DPPH yang awalnya berwarna ungu tua, jika direaksikan dengan senyawa antioksidan dalam jumlah besar akan berubah menjadi warna kuning. Perubahan warna DPPH ini terkait pula

dengan energi yang dimiliki radikal bebas DPPH. Saat berada dalam bentuk radikal, DPPH cenderung tidak stabil (reaktif) dan memiliki energi yang besar karena selalu bereaksi mencari pasangan elektronnya, namun setelah mendapat pasangan elektronnya, DPPH menjadi lebih stabil (energinya rendah) (Martiningsih dkk, 2016).

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui nilai IC_{50} dari sampel. Pengujian dilakukan terhadap ekstrak etanol sampel dan dilakukan dengan sistem duplo. Dari hasil pengujian kadar antioksidan ekstrak etanol daun *Ruta angustifolia* yang dilakukan di Laboratorium Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, menunjukkan bahwa sampel memiliki nilai IC_{50} sebesar 100,99 ppm.

Menurut Jun dkk (2003), nilai $IC_{50} < 50$ ppm menunjukkan kekuatan antioksidan sangat aktif, nilai $IC_{50} 50 - 100$ ppm menunjukkan kekuatan antioksidan aktif, nilai $IC_{50} 101 - 250$ ppm menunjukkan kekuatan antioksidan sedang, nilai $IC_{50} 250 - 500$ ppm menunjukkan kekuatan antioksidan lemah, dan nilai $IC_{50} > 500$ ppm menunjukkan kekuatan antioksidan tidak aktif. Sedangkan Molyneux (2004) mengategorikan untuk nilai IC_{50} dibawah 50 ppm berarti antioksidan sangat kuat, nilai $IC_{50} 50 - 100$ ppm berarti antioksidan kuat, nilai $IC_{50} 100 - 150$ ppm berarti antioksidan sedang dan nilai $IC_{50} 150 - 200$ ppm berarti antioksidan lemah.

Dari hasil pengujian kadar antioksidan pada sampel ekstrak etanol daun *R. angustifolia* menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 100,99 ppm yang menandakan bahwa kadar antioksidan yang dimiliki oleh tanaman ini memiliki aktivitas yang sedang. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman ini memiliki potensi antioksidan yang tidak terlalu besar, namun dapat

dimanfaatkan sebagai salah satu nilai tambah dari manfaat lainnya.

Antibakteri *F. nucleatum*

Konsentrasi Hambat Minimum ekstrak terhadap *F. nucleatum* dilakukan dengan metode spektrofotometri. Tabel 1 menunjukkan hasil absorbansi sebelum dan sesudah inkubasi.

Tabel 1. Hasil Absorbansi (λ 630 nm)

Konsentrasi Ekstrak	Absorbansi Sebelum Inkubasi	Absorbansi Setelah Inkubasi	Hasil
10 %	2,242	2,442	Negatif KHM
20 %	3,316	3,392	Negatif KHM
40 %	3,747	3,697	Positif KHM
80 %	3,864	3,709	Positif KHM
100 %	3,638	3,488	Positif KHM

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi terkecil dimana suatu bahan (zat) dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Terhambatnya pertumbuhan ditandai dengan nilai absorbansi yang lebih kecil setelah inkubasi dibandingkan dengan sebelum inkubasi (selisih absorbansi sebelum dan sesudah inkubasi bernilai negatif). Pada hasil diatas, dapat dilihat bahwa pertumbuhan mulai terhambat pada konsentrasi 40%. Sehingga dapat dikatakan bahwa nilai KHM dalam penelitian ini adalah pada konsentrasi 40%.

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak terhadap *Fusobacterium nucleatum* dilakukan dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada agar. Tabel 2 menunjukkan hasil pengamatan bakteri pada agar dengan berbagai konsentrasi ekstrak.

Pada hasil di atas dapat dilihat bahwa *F. nucleatum* sudah mati pada konsentrasi ekstrak 80% dan 100%. KBM adalah konsentrasi terkecil suatu bahan (zat) dimana bakteri sudah tidak dapat hidup.

Dengan demikian dapat dikatakan bahwa nilai KBM pada penelitian ini adalah pada konsentrasi 80%.

Tabel 2. Pertumbuhan *F. nucleatum*

Konsentrasi Ekstrak	Pertumbuhan Bakteri
10 %	Tumbuh
20 %	Tumbuh
40 %	Tumbuh
80 %	Tidak Tumbuh
100 %	Tidak Tumbuh

SIMPULAN

Kadar antioksidan ekstrak etanol daun *Ruta angustifolia* menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 100,99 ppm, dengan aktivitas sedang yaitu Konsentrasi Hambat Minimum pada konsentrasi ekstrak 40% dan Konsentrasi Bunuh Minimum pada konsentrasi 80%.

DAFTAR PUSTAKA

- Dewi, F.K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, Linnaeus) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. Skripsi. Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Jun, M.H.Y., Yu. J., Fong, X., Wan, C.S., Yang, C.T., and Ho. (2003). *Comparison of Antioxidant activities of isoflavonoids from kudzu root (puereria labata Ohwl)*. J. Food. Sci. Institute of technologist. Vol 68; p. 2117- 2122.
- Keinanen, M. & Ritta, J. T (1996) Effect of Sample Preparation Method on Birch (Betula pendula Roth) Leaf Phenolics. *J. Agric. Food Chem*, 44 (9), 2724-2727.
- Magdalena N.V dan Kusnadi J. (2015). Antibakteri Dari Ekstrak Kasar Daun Gambir (*Uncaria Gambir* Var Cubadak) Metode *Microwave-Assisted Extraction* Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 3 No 1 p.124-135*.
- Martiningsih N.W ; Widana G A B; Kristiyanti P L M. Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak

- Etanol Daun Matoa (*Pometia Pinnata*) Dengan Metode DPPH. *Prosiding Seminar Nasional MIPA 2016*, Undiksha.
- Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitao, G. G., Reis, A. S., dos Santos, T. C., Coube, C. S. & Leitao, S. G. (2001). Screening of Brazilian Plant Extracts for Antioxidant Activity by the Use of DPPH Free Radical Method. *Phytother. Res.* 15. 127-130.
- Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 26 (2), 211–219.
- Mosquera, O. M., Corea, Y. M. & Buitrago, D. C., Nino J. (2007). Antioxidan Activity of Twenty Five Plants from Colombian Biodiversity, *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Vol 102 (5), 631-634.
- Panglossi, H. T (2006) . Antioxidants: New research. New york: Nova science Publishers, Inc.
- Roberts, GL. 2000. Fusobacterial Infection : an underestimated threat. *British Journal of Biomedical Science* 57:156-162.
- Sari, N. 2010. Daya Antibakteri Ekstrak Tumbuhan Majapahit (*Crescentia cujete* L.) terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila*. Skripsi. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya
- Tambayong, J. (1999). *Patofisiologi untuk keperawatan*. Jakarta: Penerbit buku Kedokteran: EGC.