

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SECARA IN VIVO FRAKSI NON-POLAR  
EKSTRAK ETANOL BATANG INGGU (*Ruta angustifolia* [L.] Pers) PADA MENCIT  
YANG DIINFEKSI *Staphylococcus aureus* DAN *Streptococcus mutans***

**Frida Rosenova, Haryoto, Andi Suhendi**

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Jl. Achmad Yani, Tromol Pos 1 Pabelan, Kartasura, Surakarta 57102  
e-mail: [fridarosenova@ymail.com](mailto:fridarosenova@ymail.com)

**Abstrak**

Uji aktivitas antibakteri fraksi non polar ekstrak etanol batang inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) telah dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutans* secara in vivo. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian fraksi non polar ekstrak etanol batang inggu pada hewan uji yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutans*. Serbuk batang inggu dimaserasi dengan etanol 96% dan difraksinasi dengan kromatografi cair vakum menggunakan eluen bertingkat heksana : kloroform 6:4, 5:5, 4:6, 3:7. Uji aktivitas antibakteri secara in vivo terhadap fraksi pekat batang inggu pada hewan uji mencit dengan variasi dosis 0,3; 1,2 dan 2,14 g/kg. Cairan *intraperitoneal* dari mencit yang telah diberi perlakuan di kultur pada media agar dan di hitung koloni bakteri yang terbentuk. Aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki rata-rata persen penghambatan koloni berturut-turut sebesar 73, 94 dan 99%, sedangkan pada bakteri *Streptococcus mutans* sebesar 41, 81 dan 97%. Identifikasi kromatografi lapis tipis senyawa dalam fraksi non polar ekstrak etanol batang inggu menunjukkan adanya senyawa flavonoid, terpenoid, dan alkaloid.

Kata kunci: antibakteri, *Ruta angustifolia* L., *S. aureus*, *S. mutans*

**Abstract**

*Antibacterial activity in vivo study of ethanol extract nonpolar fraction of inggu stem (Ruta angustifolia [L.] Pers) was conducted on Staphylococcus aureus and Streptococcus mutans. It had a purpose to determine the effect of non polar fraction of ethanol extract of inggu stem on animals that had been infected by bacteria Staphylococcus aureus and Streptococcus mutans. Inggu stem powder was macerated with ethanol 96% and fractionated by vacuum liquid chromatography using hexane : chloroform 6:4, 5:5, 4:6, 3:7. Inggu stem was tested with in vivo antibacterial activity on mice with various doses of 0.3, 1.2 and 2.14 g/kg. Intraperitoneal fluid of mice had been treated was cultured on agar media and colonies of formed bacteria were counted. Antibacterial activity on Staphylococcus aureus bacteria has an average percentage of inhibition for colony are respectively 73, 81 and 97 %, whereas that of the Streptococcus mutans bacteria are 41, 81 and 97% respectively. Identification of thin layer chromatography fraction in non-polar compounds of ethanol extract of inggu stem is indicated by flavonoids, terpenoids, and alkaloids.*

*Keywords: antibacterial, Ruta angustifolia L., S. aureus, S. mutans*

**PENDAHULUAN**

Resistensi antibakteri menjadi ancaman kesehatan masyarakat global yang terus

meningkat. Resistensi terhadap beberapa obat pertama kali ditemukan pada *Escherichia coli* di awal tahun 1960 (Levy dan

Marshall, 2004). Selain itu ditemukan juga kasus resistensi *Escherichia coli* terhadap sefalosporin generasi ketiga dan resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap vankomisin (Tenover, 2006).

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri yang kebal terhadap pemanasan dan dapat memproduksi racun enterotoksin yang dapat mencemari makanan. Racun tersebut dapat merusak dinding usus halus dan menimbulkan sekresi jaringan usus. Salah satu anggota tubuh yang memiliki banyak koloni mikroorganisme adalah rongga mulut. Penyakit umum yang sering terjadi pada rongga mulut adalah karies gigi yang disebabkan oleh *Streptococcus mutans* (Pratiwi, 2011).

Inggu merupakan salah satu tanaman herbal yang sering digunakan untuk pengobatan. Tanaman inggu (*Ruta angustifolia* L.) diketahui banyak memiliki khasiat dalam mengobati berbagai penyakit. Kandungan kimia yang terdapat dalam tanaman inggu antara lain metil-noniketon, keton pinena, I-limonena, ceneol, asam rutinat, kokusaginin, edulinin, rhamno glikosid, kuersetin, xantotoksin, serta sedikit tannin (Agoes, 2010). Dalam ekstrak etanol tanaman inggu mengandung psoralen, bergapten dan isopimpinellin (Gunaydin dan Savci, 2005). Selain itu inggu juga mengandung kumarin (rutamarin), furanokuinolin alkaloid (koku-

sagin, fagarin) dan glikosida flavonol rutin (Wagner dan Bladt, 1995).

*Ruta graveolens* (Pandey, *et al.*, 2011) dan *Ruta chalapensis* diketahui dapat menghambat beberapa strain bakteri (Priya, *et al.*, 2009). Kandungan rutin dan kuersetin pada *Ruta graveolens* telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri (Asgarpanah dan Khoskham, 2012). Menurut Sabir (2005) flavonoid mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Berdasarkan uraian tersebut, kandungan senyawa yang terdapat dalam tanaman inggu diduga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutans*. Kuersetin flavonol merupakan aglikon yang kurang polar. Maka penelitian ini memfokuskan untuk mendapatkan senyawa yang mempunyai aktivitas antibakteri secara *in vivo* pada fraksi non polar dari ekstrak etanol batang inggu (*Ruta angustifolia* L.).

## **METODE PENELITIAN**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan, pompa vakum, corong *buchner*, *rotary evaporator*, *waterbath*, kertas saring, seperangkat alat KVC, *laminar air flow*, *incubator*, *shaker incubator*, tabung reaksi, erlenmeyer, cawan petri, *coloni counter*, *yellow tip* dan *blue tip*, *ependorf*, spuit injeksi dan alat bedah.

Bahan yang dibutuhkan adalah batang inggu yang diperoleh dari Balai Besar Pengembangan dan Penelitian Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BBPPTOOT) Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah; mencit putih jantan dari galur BALB/c yang didapat dari Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta; bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutans*, media *Mueller hinton* (MH) dan *Brain heart infusion* (BHI), akuades, alkohol 96 %, alkohol 70 %, n-heksana, kloroform, silika impreg, silika gel GF<sub>254</sub>, ammonia sitroborat, dragendorf, anisaldehyd, standar kuersetin, NaCl dan gentamisin.

Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Ekstrak etanol batang inggu dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Bagian batang tumbuhan tersebut dibersihkan dari kotoran, dicacah dan dikeringkan, selanjutnya digiling lalu dihaluskan dengan blender dan ditimbang. Serbuk kering sebanyak 730 g kemudian direndam dengan 7,5 bagian etanol selama 24 jam. Maserat selanjutnya disaring menggunakan corong *buchner*. Hal ini diulang sampai filtrat yang tertampung menjadi jernih. Filtrat dipekatkan dengan *rotary evaporator* menjadi ekstrak.

Fraksinasi dilakukan untuk mendapatkan fraksi non polar dari ekstrak etanol batang inggu. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan kromatografi vakum cair. Sebanyak 25 g ekstrak ditambahkan dengan 50 g silika impreg kemudian di campur hingga homogen. Sebelum digunakan, terlebih dahulu kolom dijenuhkan dengan memasukkan serbuk silika kolom sebanyak 190 g ke dalam kolom dan dipadatkan. Kemudian dimasukkan 150 mL n-heksana, ditunggu sampai elusi bergerak ke bawah. Selanjutnya dimasukkan silika yang sudah diimpreg dengan sampel. Fraksinasi dilakukan sebanyak tiga kali. Pada fraksinasi pertama dan kedua elusi dilakukan dengan heksana : kloroform dengan perbandingan 6:4, 5:5, 4:6, 3:7 dan pada fraksinasi kedua dengan perbandingan 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8 dan 1:9 lalu dengan etanol sebanyak 2 kali. Uji KLT dilakukan untuk melihat spot pemisahannya. Kemudian fraksi yang mempunyai bercak kromatogram yang sama digabungkan dan dievaporasi sehingga didapat fraksi kental heksan.

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan 30 mencit yang terdiri dari 10 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 3 mencit. Setiap kelompok mencit diinfeksi dengan 0,1 mL ( $10^6$  cfu/mL) suspensi *S. aureus* atau *S. mutans* secara *intraperitoneal*. 24 jam kemudian, masing-

masing kelompok menerima perlakuan berbeda.

Kontrol negatif : kelompok 1 mendapatkan 0,4 mL normal salin terhadap *S. aureus* dan kelompok 2 mendapatkan 0,4 mL normal salin terhadap *S. mutans*. Kontrol positif : kelompok 3 mendapatkan 33 mg/kg gentamisin terhadap *S. aureus* dan kelompok 4 mendapatkan 33 mg/kg gentamisin terhadap *S. mutans*.

Fraksi non polar : kelompok 5-7 mendapatkan 0,3; 1,2 dan 2,14 g/kg fraksi non polar terhadap *S. aureus* dan kelompok 8-10 mendapatkan 0,3; 1,2 dan 2,14 g/kg fraksi non polar terhadap *S. mutans*.

Setelah 24 jam, 0,1 mL spesimen diambil dari cairan *intraperitoneal* (Hosseinzadeh, 2007). Selanjutnya cairan dikultur pada media *Mueller hinton* menggunakan metode pour plate dan diinkubasi pada 37° C selama 24 jam. Koloni yang terbentuk dihitung dengan alat coloni counter.

Persen penghambatan koloni pada sampel dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan diuji dengan uji T-test, P-value kurang dari 0,05 dianggap signifikan secara statistik.

Uji kromatografi lapis tipis bertujuan untuk mengidentifikasi jenis senyawa kimia yang terkandung dalam fraksi non polar ekstrak etanol batang inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers). Fase gerak yang digunakan

adalah heksana dan kloroform 5 mL dengan perbandingan 2:8; 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, dan 7:3. Hasil optimasi menunjukkan bahwa pada perbandingan 3:7 didapatkan hasil pemisahan yang paling baik. Selanjutnya dilakukan elusi pada masing-masing plat KLT lalu dideteksi dengan UV<sub>254</sub>, UV<sub>366</sub>, dan pereaksi semprot. Pereaksi semprot yang digunakan adalah sitroborat, Dragendorff dan anisal-dehid.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Identifikasi Tanaman dan Ekstraksi**

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta. Identifikasi tanaman dilakukan untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan benar. Dari hasil maserasi didapat ekstrak etanol batang inggu sebanyak 185,23 g dengan rendemen sebesar 25,37%.

### **Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji ini menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutans*. Kelompok perlakuan menggunakan fraksi non polar ekstrak etanol batang inggu dengan dosis 0,3; 1,2 dan 2,14 g/kg, sedangkan untuk kontrol positif menggunakan gentamisin dan kontrol negatif menggunakan NaCl. Hasil uji aktivitas terdapat pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Pengaruh Perlakuan Fraksi Non Polar Ekstrak Etanol Batang Inggu (*Ruta Angustifolia* L.) dengan Variasi beberapa Kelompok Perlakuan terhadap Persen Penghambatan Koloni Bakteri *Streptococcus Mutans*

Kelompok perlakuan	Persen penghambatan koloni			$\bar{X}$
	I	II	III	
Dosis 0,3 g/kg	39,15	43,40	41,28	41,27
Dosis 1,2 g/kg	75,32	89,36	80,85	81,84
Dosis 2,14 g/kg	97,44	97,44	96,17	97,02
Kontrol positif (Gentamisin)	100	100	100	100
Kontrol negatif (NaCl)	8,5	0	0	2,83

Tabel 2. Pengaruh Perlakuan Fraksi Non Polar Ekstrak Etanol Batang Inggu (*Ruta Angustifolia* L.) dengan Variasi beberapa Kelompok Perlakuan terhadap Persen Penghambatan Koloni Bakteri *Staphylococcus Aureus*

Kelompok perlakuan	Persen penghambatan koloni			$\bar{X}$
	I	II	III	
Dosis 0,3 g/kg	75,45	72,20	72,92	73,52
Dosis 1,2 g/kg	94,58	94,22	94,22	94,34
Dosis 2,14 g/kg	99,64	98,92	99,64	99,4
Kontrol positif (Gentamisin)	100	100	100	100
Kontrol negatif (NaCl)	0	0	7,2	2,4

Persen penghambatan dari kelompok perlakuan fraksi non polar ekstrak etanol batang inggu pada bakteri *Streptococcus mutans* dengan dosis 0,3; 1,2 dan 2,14 g/kg berturut-turut adalah 41,27; 81,84 dan 97,02 % (Tabel 1).

Persen penghambatan bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap kelompok perlakuan fraksi non polar ekstrak etanol batang inggu dengan dosis 0,3; 1,2 dan 2,14 g/kg adalah 73,52; 94,34 dan 99,4 % (Tabel 2).

Data persen penghambatan selanjutnya dianalisis menggunakan uji T-test. Hasil analisis bakteri *Streptococcus mutans* antara kontrol negatif dan perlakuan pertama

adalah 0,01 ( $P < 0,05$ ), sedangkan antara kontrol negatif dengan perlakuan kedua dan ketiga adalah 0,00 ( $P < 0,05$ ). Demikian juga dengan bakteri *Staphylococcus aureus* juga dianalisis dengan metode T-test. Hasil analisis antara kontrol negatif dengan perlakuan pertama sampai ketiga adalah 0,00 ( $P < 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa pemberian fraksi non polar ekstrak etanol batang inggu dengan berbagai dosis mempengaruhi penghambatan pada mencit yang diinfeksi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutans* secara signifikan.

Hasil penelitian menunjukkan adanya penghambatan bakteri pada mencit yang

diberi fraksi non polar ekstrak etanol batang inggu. Kandungan alkaloid yang terdapat pada *Ruta angustifolia* terbukti memiliki aktifitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Nurhaya, et al., 2009). Ekstrak etanol dari *Ruta graveolens* terbukti poten dalam menghambat *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 22 mm (Pandey et al., 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Sabir (2005) dan Artika, et al., (2011) menunjukkan bahwa flavonoid mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*.

**Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa pada Fraksi Non Polar Ekstrak Etanol Batang Ingu**

Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat dalam fraksi non polar ekstrak etanol batang inggu. Hasil identifikasi menunjukkan adanya bercak dengan warna yang berbeda.

Plat yang telah disemprot dengan sitoborat terlihat adanya bercak berwarna kuning pada Rf 0,3, hasil tersebut menunjukkan fraksi non polar ekstrak etanol batang inggu mengandung flavonoid, tetapi

plat yang menggunakan pembanding kuersetin tidak terlihat adanya warna kuning. Plat yang disemprot dengan anisaldehyd pada Rf 0,24 menunjukkan adanya warna biru berarti fraksi positif mengandung terpenoid. Plat KLT pada Rf 0,34 yang telah disemprot dengan dragendorf terlihat adanya warna jingga yang menunjukkan fraksi tersebut juga mengandung alkaloid (Wagner dan Bladt, 1995).

Hasil tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya, yaitu *Ruta graveolens* salah satu famili Ruta mengandung alkaloid dan flavonoid (Benazir, 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Mancebo et al., (2000) menyatakan bahwa ekstrak *Ruta chalapensis* mengandung alkaloid dan terpenoid. Kandungan flavonoid utama yang terdapat pada *Ruta graveolens* adalah rutin dan kuersetin (Pirouzpanah et al., 2005). Kandungan terpenoid pada tanaman inggu adalah seskuiiterpen geijeren (Kuzovkina et al., 2009). Kandungan alkaloid pada tanaman ini antara lain akridon dan furokuinolon (Baumert et al., 1992).

Tabel 3. Hasil Analisis KLT Fraksi Non Polar Ekstrak Etanol Batang Ingu

Identifikasi	Rf	Warna pada KLT			Ket.
		UV 254	UV 366	Visibel	
Flavonoid	0,3	-	Kuning	-	+
Terpenoid	0,24	-	Biru	-	+
Alkaloid	0,34	-	-	Jingga	+

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa fraksi non polar ekstrak etanol batang inggu (*Ruta angustifolia* [L]. Pers) memiliki aktivitas antibakteri yang poten dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutans* dengan nilai rata-rata persen penghambatan berturut-turut sebesar 99,4 dan 97,02 %. Analisis secara kromatografi menunjukkan fraksi ini mengandung senyawa flavonoid, terpenoid, dan alkaloid.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, A. 2010 *Tanaman obat Indonesia*, Buku 3, 25-26. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Artika, I.M., Susilo, H., Setyo, A.V.D., Hasan, A.E.Z. 2011. Antibacterial activity of propolis supplemented-chewing candy against streptococcus mutans. *Microbiology Indonesia*, Vol 5, No 3.
- Asgarpanah, J. and Khoshkam, R. 2012. Phytochemistry and pharmacological properties of *Ruta graveolens* L., *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol 6(23), 3942-3949.
- Baumert, A., Groger, D., Kuzofkina, I.N., Reisch, J. 1992. Secondary metabolites produced by callus cultures of various *ruta* species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, Vol 28, 159-162.
- Benazir, J.F, Suganthi, R., Renjini, D.M.R., Suganya, K., Monisha, K., Nilzar, A., et al. 2011. Phytochemical profiling, Antimicrobial and Cytotoxicity Studies of Methanolic Extracts from *Ruta graveolens*, *Journal of Pharmacy Research*, 4(5), 1407-1409.
- Gunaydin, K. and Savchi, S. 2005. Phytochemical Studies on *Ruta Chalapensis* (Lam.) Lamarck, *Natural Product Research*, Vol 19, No 3, 203-210.
- Hosseinzadeh, H., Bazzar, B.S.F., Haghi, M.M. 2007. Antibacterial activity of total extracts and essential and essential oil of *Nigella Sativa* L. Seeds in Mice, *Pharmacolgyonline*, 2, 429-435.
- Kuzovkina, I.N., Szarka, S.Z., Hethelyi, E., Lemberkovics, E., Szoke, E. 2009. Composition of essential oil in genetically transformed roots of *Ruta Graveolens*, *Russian Journal of Plant Physiology*, vol 56, 846-851.
- Levy, S.B., Marshall, B. 2004. Antibacterial resistance worldwide: Causes, challenges and responses, *Nature Medicine*, 10, 12.
- Mancebo, F., Hilje, L., Mora, G.A., Castro, V.H., Salazar, R. 2000. Biological
- Nurhaya, M.T., Laina, Z.M.K., Norazian, M.H., May, K.S., Khairul, A.K. 2009. *Bioautographic screening for natural quinolone antimicrobial agents from Glycosmic pentaphylla (Retz) DC., Ruta angustifolia (L) Pers. And Lunasia amara Blanco*, International Islamic University Malaysia, Kuantan.
- Pandey, P., Mehta, A., Hajra, S. 2011. Evaluation of antimicrobial activity of *ruta graveolens* stem extracts by disc diffusion method, *Journal of Phytology*, 3(3), 92-95.
- Pirouzpanah, S., Rashidi, M.R., Delazar, A., Razavich, S., Hamidi, A. 2006. Inhibitory effect of *ruta graveolens* l. Extract on Guinea Pig liver aldehyde oxidase,

*Pharmaceutical Society of Japan*, 54(1), 9-13.

bakteri *Streptococcus mutans*, *Majalah Kedokteran Gigi*, Vol.36, No.3.

Pratiwi, S.T. 2011. *Mikrobiologi farmasi*, 117. Jakarta: Penerbit Erlangga.

Tenover, F.C. 2006. Mechanism of antimicrobial resistance in bacteria, *The American Journal of Medicine*, 119 (6A), S3-S10.

Priya, P.S., Sasikumar, J.M., Gowsigan, G. 2009. Antibacterial activity of methanol extract of *ruta chalapensis* (L), *quercus infectoria* (Oliver) and *canthium parviflorum* (Lam), *Ancient Science of Life*, 29(2), 28-31.

Wagner, H. & Bladt, S. 1955. *Plant drug analysis, a thin layer chromatography Atlas*, Second Edition, 126,129,144, Springer, Munich.

Sabir, A. 2005. Aktivitas antibakteri flavonoid propolis trigona sp terhadap