



**PENAPISAN SENYAWA BIOAKTIF ANTIMIKROBA DARI EKSTRAK  
CAMPURAN DAUN INGGU (*Ruta angustifolia* L.) DAN BAKTERI  
ENDOFIT *Pseudomonas azotoformans* UICC B-91 SEBAGAI  
SEDIAAN ORAL NUTRACEUTICAL**

**Mohammad Ananda Reza Kurniawan<sup>1</sup>, Rina Hidayati Pratiwi<sup>2\*</sup>,  
dan Fika Arie Susanti<sup>3</sup>**

<sup>1&3</sup>Program Studi Pendidikan Biologi, FMIPA, Universitas Indraprasta PGRI,  
Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Pendidikan MIPA, Program Pascasarjana, Universitas Indraprasta  
PGRI, Indonesia

\*E-Mail : [rina.hp2012@gmail.com](mailto:rina.hp2012@gmail.com)

DOI : <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v10i2.5875>

Submit: 25-08-2022; Revised: 28-09-2022; Accepted: 06-10-2022; Published: 30-12-2022

**ABSTRAK:** Rongga mulut sebagai jalan masuknya berbagai jenis zat bisa menjadi tempat bersarangnya berbagai jenis mikroba yang mampu menyebabkan infeksi mikroba antara lain kandidiasis. Ekstrak daun inggu dan ekstrak bakteri endofit *Pseudomonas azotoformans* pada penelitian sebelumnya telah menunjukkan adanya aktivitas antimikroba yang dihasilkan. Tujuan penelitian untuk melakukan penapisan senyawa bioaktif antimikroba dari ekstrak daun inggu dan bakteri endofit sebagai sediaan *oral nutraceutical*. Dibuat formulasi obat kumur dengan ditambah ekstrak kasar daun inggu dan ekstrak murni bakteri endofit *Pseudomonas azotoformans* sebagai zat antimikroba. Metode yang digunakan adalah eksperimental laboratorium. Formulasi dibuat dengan menambahkan ekstrak kasar daun inggu dan ekstrak murni bakteri endofit *Pseudomonas azotoformans* dan dibedakan menjadi 3 formulasi A, B, dan C dengan masing-masing perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1. Hasil penelitian menunjukkan setiap sediaan obat kumur memiliki zona hambat pada sediaan A, B, dan C adalah 8,55 mm; 8,55 mm; dan 9,53 mm. Hasil uji normalitas masing-masing sediaan adalah 0,05. Hasil uji homogenitas didapatkan nilai signifikansi 0,074 ( $p > 0,05$ ). Hasil uji *one way ANOVA* didapati nilai signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ), terdapat perbedaan bermakna pada variasi konsentrasi formula obat kumur dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Zona hambat yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas antimikroba dari sediaan obat kumur dan seluruh formula masuk dalam kriteria sedang sesuai dengan metode Davis & Stout. Seluruh sediaan homogen karena tidak ada endapan, memiliki bau dan warna yang dominan kepada daun inggu, serta memiliki rasa manis yang sedikit bercampur pahit dan pedas dari daun inggu.

**Kata Kunci:** Antimikroba, Bakteri Endofit, *Candida albicans*, Daun Inggu.

**ABSTRACT:** The oral cavity as a passageway for various types of substances can be a nesting place for various types of microbes that can cause microbial infections, including candidiasis. Inggu leaf extract and extract of the endophytic bacteria *Pseudomonas azotoformans* in previous studies have shown the resulting antimicrobial activity. The aim of the study was to screen for antimicrobial bioactive compounds from inggu leaf extract and endophytic bacteria as nutraceutical oral preparations. A mouthwash formulation was made with the addition of crude extract of inggu leaves and pure extract of the endophytic bacteria *Pseudomonas azotoformans* as antimicrobial agents. The method used is laboratory experimental. The formulation was made by adding the crude extract of inggu leaves and pure extract of the endophytic bacteria *Pseudomonas azotoformans* and divided into 3 formulations A, B, and C with a ratio of 1:1, 1:2, and 2:1 respectively. The results showed that each mouthwash preparation had an inhibition zone on preparations A, B and C, which were 8.55 mm; 8.55mm; and 9.53mm. The normality test result for each preparation was 0.05. The homogeneity test results obtained a significance value of 0.074 ( $p > 0.05$ ). The results of the one way ANOVA test found a significance value of 0.000 ( $p < 0.05$ ),





there was a significant difference in the variation in the concentration of the mouthwash formula in inhibiting the growth of the *Candida albicans* fungus. The inhibition zone formed indicated the presence of antimicrobial activity from the mouthwash and all formulas were included in the moderate criteria according to the Davis & Stout method. All preparations are homogeneous because there is no precipitate, have the dominant smell and color of inggu leaves, and have a sweet taste that is slightly mixed with bitter and spicy from inggu leaves.

**Keywords:** Antimicrobial, Endophytic Bacteria, *Candida albicans*, Inggu Leaves.



**Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi** is Licensed Under a CC BY-SA [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

## PENDAHULUAN

Kesehatan gigi dan mulut merupakan hal yang penting. Salah satu indikator kesehatan gigi dan mulut adalah tingkat kebersihan rongga mulut. Berbagai penyakit di dalam mulut, seperti: kandidiasis, periodontitis, dan karies gigi (gigi berlubang) merupakan faktor utama penyebab bau mulut (Handayani *et al.*, 2016). Secara normal, rongga mulut merupakan tempat yang baik bagi banyak spesies, baik bakteri, jamur, maupun virus.

Flora normal yang terdapat pada rongga mulut kita terdiri atas: *Streptococcus viridans*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus* sp., *Lactobacillus* sp., dan *Candida albicans*. Meskipun terdapat di dalam rongga mulut sebagai flora normal, tetapi dalam kondisi tertentu, mikroba tersebut dapat menjadi patogen karena faktor predisposisi yaitu kebersihan rongga mulut (Putri *et al.*, 2018).

*Candida albicans* merupakan agen penyebab primer pada oral kandidiasis. *Candida* spp. merupakan mikroorganisme komensal atau flora normal dalam mulut dengan tanpa menimbulkan gejala. Belum ada data nasional mengenai epidemiologi kandidiasis oral di Indonesia. Studi di Rumah Sakit dr. Hasan Sadikin (RSHS) Bandung tahun 2010-2014 menunjukkan bahwa selama periode tersebut terdapat 49 orang pasien kandidiasis oral. Prevalensi terbanyak adalah pria 34 orang (69,3%) (Nur'aeny *et al.*, 2017).

Perlu bagi seorang individu untuk menjaga dan merawat kebersihan rongga mulutnya. Cara lain menjaga kebersihan dan kesehatan rongga mulut adalah dengan oral nutraceutical. Oral nutraceutical yakni sebuah sediaan farmasi yang mengandung senyawa bioaktif dari bahan alam untuk membersihkan dan menyegarkan mulut. Produk nutraceutical tersedia dalam berbagai bentuk, termasuk tablet, kapsul, bubuk, cairan, pasta, larutan oral, dan kit (Anonim, 2021).

Obat kumur adalah cairan atau larutan yang dibuat untuk membersihkan dan menyegarkan mulut yang mengandung zat atau senyawa aktif, yang dapat menghilangkan bau mulut, mencegah plak, karies gigi, dan gingivitis (Widiyarti *et al.*, 2014). Obat kumur sebagai kosmetik ditujukan untuk mengurangi bau mulut dengan menambahkan bahan antimikrobia atau penambahan rasa ke dalam formulanya (Justicia *et al.*, 2017).





Berdasarkan hal tersebut dilakukan kajian untuk menentukan formulasi yang tepat dari obat kumur dengan tambahan zat antimikroba dari ekstrak daun inggu dan ekstrak bakteri endofit, serta perlu dikembangkan mengenai potensi ekstrak daun inggu dan ekstrak bakteri endofit pada formulasi obat kumur terhadap aktivitas antimikroba pada jamur *Candida albicans*, dengan uji antibakteri secara *in vitro* menggunakan metode difusi.

## METODE

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorium. Rancangan penelitian yang digunakan ialah Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan menggunakan tiga perlakuan dan tiga kali pengulangan. Tempat dilaksanakannya penelitian ini di Laboratorium Biologi, Universitas Indraprasta PGRI. Alat yang digunakan dalam proses penelitian ini diantaranya: set gelas laboratorium, set penelitian mikrobiologi, *cotton swab*, dan kertas cakram 6 mm.

Bahan yang digunakan dalam proses penelitian ini diantaranya: ekstrak kasar daun inggu koleksi Shafa Noer dan ekstrak hasil fraksinasi dari bakteri endofit *Pseudomonas azotoformans* UICC B-91 koleksi Rina Hidayati Pratiwi, isolat uji khamir *Candida albicans* ATCC 10231, aquades, gliserol, alkohol 70%, PEG-hydrogenated castor oil, *natrium benzoate*, *natrium saccharine*, asam sitrat, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media *Potato Dextrose Broth* (PDB), fluconazole, dan DMSO. Formulasi obat kumur (Tabel 1) dalam penelitian ini terdiri dari sediaan obat kumur yang mengandung perbedaan dari zat penghasil antimikroba dan telah dimodifikasi dari acuan sebelumnya (Hidayanto *et al.*, 2017).

**Tabel 1. Komposisi yang Digunakan dalam Pembuatan Obat Kumur dengan Penambahan Ekstrak Daun Inggu dan Bakteri Endofit.**

No.	Bahan	Kadar % (b/v)		
		F1	F2	F3
1	Ekstrak Daun Inggu	15	10	20
2	Ekstrak Bakteri Endofit	15	20	10
3	PEG 40 <i>Hydrogenated Castor Oil</i>	2	2	2
4	<i>Natrium Saccharine</i>	0.1	0.1	0.1
5	<i>Natrium Benzoate</i>	0.3	0.3	0.3
6	Asam Sitrat	0.5	0.5	0.5
7	Gliserin	20	20	20
8	Aquades	Ad	Ad	Ad
		100	100	100

Proses pembiakan pada media PDB dilakukan terlebih dahulu sebelum masuk tahap penentuan zona hambat dengan mengambil satu koloni jamur menggunakan kawat ose steril dan dipindahkan ke dalam media PDB, setelah itu diinkubasi selama 24 jam. Suspensi jamur yang sudah diinkubasi dipindahkan ke media PDA pada cawan petri dengan cara di-*swab* menggunakan *cotton swab* pada seluruh permukaan hingga dipastikan tertutup dengan rata dan diamkan selama 5-10 menit. Rendam kertas cakram pada setiap sampel (formula A, formula B, formula C, kontrol positif, dan kontrol negatif) selama 30 detik,

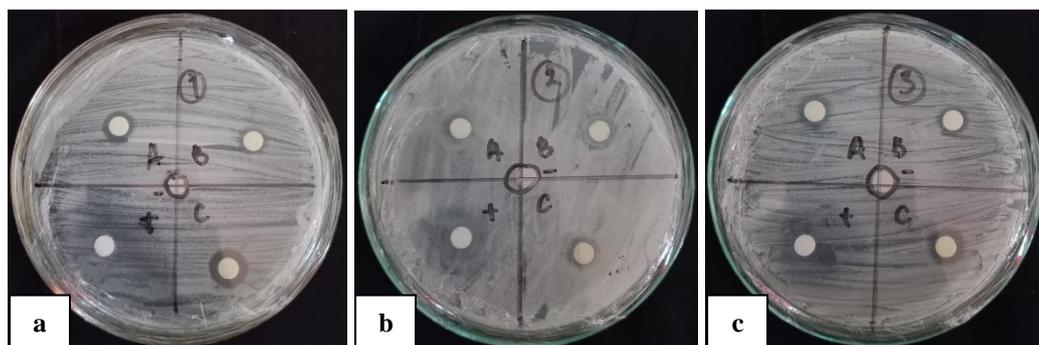


kemudian diinkubasi dan dilakukan pengamatan untuk melihat zona hambat yang terbentuk setelah 24-48 jam. Pada bagian evaluasi sediaan obat kumur dilakukan uji organoleptik yang berdasarkan pada warna, bau, rasa, dan tingkat homogenitas pada masing-masing sampel obat kumur (Hidayanto *et al.*, 2017).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Uji Aktivitas Antimikroba

Efek antimikroba dari masing-masing formulasi obat kumur terhadap pertumbuhan *Candida albicans* pada media *Potato Dextrose Agar*, dilakukan dengan metode difusi. Metode ini digunakan untuk mengukur zona hambat dari setiap perlakuan, menggunakan kertas cakram 6 mm dengan cara direndam pada setiap obat kumur selama 30 detik, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam. Masing-masing bahan dilakukan pengulangan 3 kali dan diamati. Hasil penelitian menunjukkan masing-masing obat kumur terbukti mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* yang ditandai dengan adanya zona bening pada daerah kertas cakram.



**Gambar 1. Zona Hambat yang Terbentuk pada Masing-masing Formulasi Obat Kumur, Kontrol Positif, dan Kontrol Negatif. a) Ulangan ke-1; b) Ulangan ke-2; dan c) Ulangan ke-3.**

Hasil penelitian yang menunjukkan adanya aktivitas antimikroba pada obat kumur yang mengandung ekstrak kasar daun inggu dan ekstrak halus bakteri endofit *Pseudomonas azotoformans* ini bersesuaian dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun inggu, antara lain: flavonoid sebagai kuersetin, tanin, dan saponin. Saponin dan tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang bersifat fenol, mempunyai rasa sepat dan memiliki aktivitas antibakteri (Noer *et al.*, 2014), serta senyawa antimikroba dari *Pseudomonas azotoformans* UICC B-91 sebagai alkaloid pada susunan CHON dengan berat molekul sekitar 100-450 Da. Gugus alkaloid yang teridentifikasi adalah alkaloid isobutil amida, alkaloid monoterpenoid, alkaloid likopodium, dan alkaloid siklo-dipeptida (Pratiwi *et al.*, 2022). Penghitungan hasil pengukuran diameter zona hambat dari berbagai formula obat kumur, kontrol positif, dan kontrol negatif terhadap pertumbuhan *Candida albicans* disajikan pada Tabel 2.



**Tabel 2. Hasil Pengukuran Zona Hambat.**

Konsentrasi	I	II	III	Mean
A (1:1)	9.10	7.85	8.70	8.55 ± 0.638
B (1:2)	8.15	10.00	7.50	8.55 ± 1.297
C (2:1)	10.90	8.50	9.20	9.53 ± 1.234
Fluconazole	20.70	16.05	11.00	15.92 ± 4.851
DMSO	0.00	0.00	0.00	0.00 ± 0.000

Berikutnya, digunakan *One Way* ANOVA untuk menguji apakah terdapat perbedaan diameter hambat dan jumlah koloni *Candida albicans* yang signifikan diantara masing-masing formula obat kumur, kontrol positif (fluconazole), dan kontrol negatif (DMSO). Hasil uji normalitas didapati setiap variabel memiliki signifikansi di atas 0,05, yang mana data berdistribusi normal. Setelahnya, hasil uji homogenitas didapati nilai signifikansi 0,074, yang mana di atas 0,05 dan menunjukkan bahwa data tersebut homogen. Hasil uji *One Way* ANOVA didapati nilai signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ), artinya terdapat perbedaan bermakna pada variasi konsentrasi formula obat kumur dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

Pengukuran zona hambat dilakukan dengan metode difusi dan menggunakan cakram, sesuai dengan penelitian Noval *et al.* (2020). Pemilihan metode difusi ini karena lebih praktis, namun tetap dapat memberikan hasil yang diharapkan. Zona hambat yang diperoleh dari masing-masing formulasi 1:1, 1:2, dan 2:1 memiliki diameter rata-rata 8,55 mm; 8,55 mm; dan 9,53 mm. Hasil ini menunjukkan bahwa seluruh formulasi masuk dalam kategori kekuatan daya hambat sedang, ini bersesuaian dengan metode Susanto dan Ruga (Susanto & Ruga, 2012).

### Uji Organoleptik

Sebagai salah satu langkah untuk memastikan obat kumur dengan formulasi ini dapat diterima dengan baik ketika dilepas ke pasar, maka perlu adanya pengujian organoleptik yang mencakup tingkat homogenitas, warna, aroma, dan rasa.

**Tabel 3. Uji Organoleptik.**

Konsentrasi	Warna	Homogen	Bau	Rasa Manis
A (1:1)	Hijau Coklat	+	Bau Daun Ingg	++
B (1:2)	Hijau Coklat	+	Bau Daun Ingg dan Bakteri Endofit	++
C (2:1)	Hijau Pekat	+	Bau Daun Ingg Tajam	+

Pada uji organoleptik (Tabel 3) didapatkan bahwa seluruh formula homogen karena tidak menyimpan endapan di bawah permukaan dan seluruhnya bercampur. Selain itu, warna hijau mendominasi dari setiap formula obat kumur dikarenakan warna ekstrak daun inggu yang sangat pekat. Bau yang muncul juga mendominasi formulasi 1:1 dan 2:1. Sesuai dengan penjelasan Richardson *et al.* (2016) yang menerangkan bahwa daun inggu memiliki bau yang tajam. Formulasi 1:2 memiliki bau yang bercampur antara ekstrak daun inggu dengan ekstrak bakteri endofit. Rasa manis yang ada pada obat kumur dihasilkan dari penggunaan





sakarini di dalamnya, namun untuk formulasi 2:1 rasa manis agak menghilang, karena tertutupi rasa daun inggu yang memiliki rasa agak pahit dan menimbulkan sensasi sedikit pedas, sesuai dengan penjelasan dari Richardson *et al.* (2016).

## SIMPULAN

Zona hambat yang terbentuk dari masing-masing formula 1:1, 1:2, dan 2:1 secara berturut-turut yaitu 8,55 mm; 8,55 mm; dan 9,53 mm, serta seluruh formula masuk dalam kriteria sedang sesuai dengan metode Susanto dan Ruga. Hasil evaluasi sediaan menunjukkan seluruh sediaan homogen karena tidak meninggalkan endapan. Sediaan formula 2:1 memiliki bau daun inggu yang cukup tajam dan memiliki rasa manis yang tidak terlalu terasa. Warna pada setiap sediaan dominan hijau, untuk formula 1:2 warna cenderung hijau kecoklatan. Hal tersebut disebabkan oleh lebih dominannya larutan ekstrak bakteri endofit.

## SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas anti candida dari ekstrak murni bakteri endofit dengan menggunakan formulasi ekstrak lainnya, yang juga berpotensi sebagai anti candida untuk memperoleh komposisi sediaan *oral nutraceutical* yang tepat.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada Dr. Shafa Noer, M.Si., atas pemberian ekstrak kasar daun inggu, dan kepada Kepala Laboratorium Biologi UNINDRA yang sudah mengizinkan penggunaan Laboratorium Biologi UNINDRA untuk penelitian. Penelitian ini juga bagian dari Penelitian Kompetitif (Riset Dasar) hibah dari KemendikbudRistek Nomor: 018/E5/PG.02.00/2022 tanggal 15 Maret 2022 kepada Dr. Rina Hidayati Pratiwi, M.Si.

## DAFTAR RUJUKAN

- Arlene, M. (2021). Retrieved August 23, 2022, from Produk *Nutraceutical* : Manfaat-Cara Kerja, dan Efek Samping. Interactwebsite: [https://idnmedis.com/produk-nutraceutical#idnmedis\\_ref](https://idnmedis.com/produk-nutraceutical#idnmedis_ref).
- Handayani, F., Warnida, H., dan Nur, S.J. (2016). Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri *Streptococcus mutans* dari Sediaan *Mouthwash* Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). *Media Sains*, 9(1), 74-84.
- Hidayanto, A., Manikam, A.S., Pertiwi, W.S., dan Harismah, K. (2017). Formulasi Obat Kumur Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan Pemanis Alami Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni). In *the 6<sup>th</sup> University Research Colloquium 2017* (pp. 189-194). Magelang, Indonesia: Universitas Muhammadiyah Magelang.
- Justicia, A.K., Ferdinan, A., dan Maya, M. (2017). Formulasi *Mouthwash* Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) dan Kayu Manis (*Cinnamomum zeylanicum*) dengan Menggunakan *Tween* 80 sebagai Surfaktan. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2(1), 134-146.
- Noer, S., Pratiwi, R.D., dan Gresinta, E. (2014). Penetapan Kadar Senyawa





- Fitokimia (Tanin, Saponin dan Flavonoid sebagai Kuersetin) pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.). *Jurnal Ilmu-ilmu MIPA*, 18(1), 19-29.
- Noval, N., Melviani, M., Novia, N., dan Syahrina, D. (2020). Formulasi dan Evaluasi Sediaan Obat Kumur (*Mouthwash*) dari Ekstrak Etanol Tanaman Bundung (*Actinoscirpus grossus*) sebagai Antiseptik Mulut. *Jurnal Surya Medika*, 6(1), 112-120.
- Nur'aeny, N., Hidayat, W., Dewi, T.S., Herawati, E., dan Wahyuni, I.S. (2017). Profil *Oral Candidiasis* di Bagian Ilmu Penyakit Mulut RSHS Bandung Periode 2010-2014. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 3(1), 23-28.
- Pratiwi, R.H., Oktarina, E., Mangunwardoyo, W., Hidayat, I., dan Saepudin, E. (2022). Antimicrobial Compound from Endophytic *Pseudomonas azotoformans* UICC B-91 of *Neesia altissima* (Malvaceae). *Pharmacognosy Journal*, 14(1), 172-181.
- Putri, N.R., Afrianti, R., dan Desinta, Z. (2018). Formulasi Obat Kumur Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb) dan Uji Efektivitas Anti Jamur terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal Akademi Farmasi Prayoga*, 3(1), 20-32.
- Richardson, J.S.M., Sethi, G., Lee, G.S., dan Malek, S.N.A. (2016). Chalepin: Isolated from *Ruta angustifolia* L. Pers Induces Mitochondrial Mediated Apoptosis in Lung Carcinoma Cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 1-27.
- Susanto, D.S., dan Ruga, R. (2012). Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq) sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Mulawarman Scientific*, 11(2), 181-190.
- Widiyarti, G., Sundowo, A., dan Angelina, M. (2014). Pembuatan Sediaan *Oral Nutraceutical* dari Ekstrak Gambir. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 12(2), 145-153.

