

UJI ANTITUBERKULOSIS EKSTRAK BIJI BELIGO

M.Rusdi¹, Hasyim Bariun², Irmayani Ibrahim²

¹Jurusan Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar

²Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Islam Makassar

Email : muhammad.rusdi@uin-alauddin.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas anti tuberkulosis ekstrak etanol biji beligo (*Benincasa hispida* (Thunb) Cogn) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* strain H37RV dengan metode *Microscopically Observed Drug Susceptibility*. Metode penelitian meliputi ekstraksi biji beligo dengan cara maserasi menggunakan cairan penyari etanol 96%, kemudian dibuat menjadi larutan uji dengan konsentrasi 250 ppm, 500 ppm dan 750 ppm. Aktivitas antituberkulosis menggunakan metode *Microscopically Observed Drug Susceptibility* dan diidentifikasi dengan presentase pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* strain H37RV pada mikroskop fluoresence. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak biji beligo (*Benincasa hispida* (Thunb) Cogn) dapat menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* paling baik pada konsentrasi 750 ppm.

Kata kunci: *Benincasa hispida* Thunb. Cogn, antituberkulosis, *Mycobacterium tuberculosis*, MODS

PENDAHULUAN

Tuberkulosis merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh bakteri basil *Mycobacterium tuberculosis*. Mikobakterium ini ditransmisikan melalui droplet di udara, sehingga seorang penderita tuberkulosis merupakan sumber penyebab penularan tuberkulosis pada populasi di sekitarnya, misalnya dengan batuk. Sampai saat ini penyakit tuberkulosis masih menjadi masalah kesehatan yang utama, baik di dunia maupun di Indonesia. (Mariyati S, 2000).

Insiden tuberkulosis di Indonesia juga cukup besar, walaupun semakin ke sini semakin kecil nilainya. Indonesia berada diposisi kedua setelah India, dengan persentase 10% dari seluruh total penderita tuberkulosis di dunia. WHO mengestimasi pada tahun 2016

terdapat 1.020.000 kasus tuberkulosis (rata-rata 391 penderita dari 100.000 penduduk atau 0,4% dari seluruh penduduk Indonesia). Sebanyak 45.000 orang termasuk dalam penderita tuberkulosis komplikasi dengan HIV (rata-rata 17 pasien dari 100.000 penduduk atau 4,4% dari total seluruh pasien tuberkulosis). Diperkirakan sebanyak 32.000 termasuk pasien yang mengalami resistensi obat (rata-rata 12 pasien dari 100.000 penduduk atau 3,1% dari total seluruh pasien tuberkulosis). Jumlah kematian akibat tuberkulosis pada tahun 2016 adalah 110.000 pasien (rata-rata 42 pasien dari 100.000 penduduk atau 10,8% dari total seluruh pasien tuberkulosis). Sedangkan jumlah kematian akibat tuberkulosis yang komplikasi dengan HIV pada tahun 2016 adalah 13.000 pasien

(rata-rata 5.1 pasien dari 100.000 penduduk atau 11,8% dari total seluruh pasien tuberkulosis yang meninggal) (World Health Organization, 2017).

Prevalensi TB Paru di Sulawesi Selatan (Sulsel) mengalami peningkatan kasus pada tahun 2007 dan 2013 dengan persentase 0,3%. Walaupun masih berada di bawah persentase nasional (0,4%), namun masih dianggap perlu adanya penanggulangan terhadap penambahan kasus setiap tahun (Balitbangkes, 2013). Hal ini dapat ditunjukkan dengan jumlah penderita TB Paru BTA Positif di Sulawesi Selatan pada tahun 2014 masih tinggi yaitu 8.859 kasus. Berdasarkan seluruh Kabupaten/Kota se-Sulawesi Selatan, Kota Makassar menduduki peringkat pertama dengan jumlah penderita TB Paru BTA Positif sebanyak 1.866 kasus, menyusul Kabupaten Gowa sebanyak 722 kasus dan Kabupaten Bone sebanyak 587 kasus (Dinkes Provinsi Sulsel, 2014).

Salah satu tumbuhan yang sering digunakan sebagai obat adalah beligo. Beligo merupakan tanaman menjalar, batang berkayu, lunak, berbulu dan berwarna hijau. Daun tunggal, berbentuk bulat, tepian rata, ujung tumpul, pangkal membulat, panjang 10-17 cm, lebar 9-15 cm, dan berwarna hijau. Secara tradisional, masyarakat kita menggunakan labu beligo untuk mencegah dan mengobati penyakit lever, hepatitis, sirosis, diabetes, beri-beri, TBC dan kanker. Penyakit-penyakit lain seperti radang ginjal, radang lambung,

asma, bronchitis, obesitas, diare, wasir, mulut kering dan demam juga dapat diobati dengan sayuran ini. Kulit buah beligo juga dapat digunakan untuk pengeluaran kemih dan menyembuhkan radang ginjal. Serta bijinya berkhasiat sebagai obat batuk (Utami, P., 2008; Harmanto, N., 2013).

Ekstrak etanol biji beligo mengandung senyawa golongan alkaloid, flavanoid dan terpenoid. Flavonoid mampu menghambat sintesis asam mikolat dengan menghambat aktivitas enzim β -hydroxyacyl-ACP dehidratase dan proteasom *Mycobacterium tuberculosis* (Sismasari, N., 2016; Dong dkk. 2015).

Penelitian yang dilakukan rajni sign dkk tahun 2014 menyatakan, Biji beligo (*benincasa hispida thumb cogn*) digunakan sebagai obat, untuk pengobatan luar, ampas buah digunakan pada luka dan luka bakar untuk mengurangi sensasi rasa terbakar. Untuk sakit kepala minyak biji beligo digunakan untuk bantuan pijat. Untuk pengobatan internal beligo digunakan dalam berbagai macam penyakit. Beligo memiliki sifat pencahar yang ringan. Bubur buah beligo yang digunakan bersama obat pencahar efektif untuk infeksi cacing pita. Jus buah yang dicampur dengan gula dapat memperbaiki sekresi asam lambung. Beligo sangat dianjurkan untuk tuberkulosis dengan kultivasi dan hemoptysis karena memberikan efek pemeliharaan, penahan darah dan tonik.

Penelitian yang dilakukan PK Saxena dkk tahun 2016 menyatakan, di Indo-Cina, daun dan biji digunakan sebagai pencahar. Kulit buah sebagai diuretik, abu beligo dioleskan pada luka. Buah digunakan untuk mengobati insomnia dan memperbaiki ingatan. Buah beligo juga efektif dalam tuberkulosis paru-paru.

Berdasarkan uraian diatas, maka perlu dilakukan penelitian aktivitas antituberkulosis ekstrak biji beligo (*Benincasa hispida* Thunb. Cogn) terhadap *Mycobacterium tuberculosis*

METODE PENELITIAN

1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah, Aquades, Aqua Bidestillata, Biji Beligo (*Benincasa hispida* Thunb. Cogn), Casitone, Gliserol, Isolat Bakteri *Mycobakterium tuberculosis* strain H37RV, Etanol 96% dan Middlebrook7h9..

2. Pengambilan dan pengolahan sampel

Sampel biji beligo diambil dari Sulawesi Selatan. Sampel biji beligo dicuci bersih, ditiriskan lalu ditimbang dan diangin-anginkan di udara terbuka, dikeringkan dalam oven pada suhu 45 °C selama 24 jam, lalu ditimbang kemudian simplisia diserbukkan.

3. Ekstraksi

Sebanyak 590 gram simplisia Biji Beligo dimasukkan dalam wadah maserasi kemudian dibasahi simplisia menggunakan etanol 96% selama 15 menit, selanjutnya simplisia dimaserasi menggunakan pelarut

JF FIK UINAM Vol.7 No.1

yang sama hingga simplisia terendam. Dibiarkan selama 2x24 jam pada temperatur kamar terlindung dari cahaya sambil sekali-kali diaduk, lalu disaring. Perlakuan maserasi diulang menggunakan pelarut yang sama. Ekstrak yang diperoleh dikumpulkan lalu diuapkan sampai diperoleh ekstrak kental, selanjutnya diuapkan sampai kental. Ekstrak kental etanol 96% yang diperoleh tersebut kemudian ditimbang untuk mengetahui rendamennya.

4. Uji Aktivitas antituberkulosis

a. Pembuatan stok larutan ekstrak uji

Ekstrak uji ditimbang seksama sebanyak 15 mg dan dimasukkan kedalam wadah vial. Ekstrak dilarutkan menggunakan aqua bidestillata sebanyak 1 ml kedalam vial, kemudian dihomogenkan. Sampel disimpan sebagai larutan stok ekstrak konsentrasi 15.000 ppm. Setelah itu dibuat deret konsentrasi 250 ppm dengan memipet 0,16 mL larutan stock kemudian ad kan dengan aquabidestillata hingga 10 mL, 500 ppm dengan memipet 0,33 mL larutan stock kemudian ad kan dengan aquabidestillata hingga 10 mL dan 750 ppm dengan memipet 0,5 mL larutan stock kemudian ad kan dengan aquabidestillata hingga 10 mL. deret konensentrasi digunakan untuk uji aktivitas inhibisi terhadap pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* strain H37RV.

b. Suspensi bakteri *Mycobacterium Tuberculosis*

Diambil larutan media cair middlebrook7H9 sebanyak 25 ml, dan ditambahkan OADC 2,5 ml, PANTA + 4 OADC 0,5 ml, dan dihomogenkan. Kemudian ditambahkan bakteri Mycobacterium tuberculosis strain H37RV sebanyak 1 ml, dan disuspensikan ke dalam tabung steril yang berisi 25 ml media middlebrook7H9 dan dihomogenkan.

c. Pengujian aktivitas metode Microscopically Observed Drug Susceptibility (MODS)

Plat sumuran 24 untuk strain H37RV disiapkan dalam kondisi steril, Pengerjaan dilakukan secara aseptik dalam Laminar air flow. Sebanyak 50 µl media middlebrook 7H9 ditambahkan ke plat H37 RV (masing-masing duplo) sebagai kontrol negatif. Sebanyak 50 µl media middlebrook 7H9 dengan penambahan bakteri ke plate H37RV (masing-masing duplo) sebagai kontrol positif. Selanjutnya dipipet 50 µl ekstrak/partisi/fraksi uji ke dalam well H37RV (masing- masing duplo). Setelah itu, ditambahkan 950 µl suspensi bakteri ke dalam seluruh sumuran pada plat lalu dihomogenkan. Kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 7 hari pada suhu 37° C. Pengamatan koloni menggunakan mikroskop fluoresensi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Simplisia biji beligo seberat 590 g diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak kental yang diperoleh sebesar 4,32 g. hasil randemen ekstrak sebesar 0,73 %,

Pengujian antituberkulosis dilakukan dengan menggunakan metode Microscopically Observed Drug Susceptibility (MODS) terhadap Mycobacterium tuberculosis H37RV setelah inkubasi selama 7x24 jam diperoleh hasil di tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengujian antituberkulosis metode Microscopically Observed Drug Susceptibility (MODS) ekstrak biji beligo (*Benincasa hispida* (Thunb). Cogn)

Perlakuan	replikasi	
	1	2
Kontrol -	++	++
kontrol +	-	-
Konsentrasi 750 ppm	+	+
Konsentrasi 500 ppm	++	++
Konsentrasi 250 ppm	++	++

Keterangan :

Kontrol + = Media yang ditambahkan biakan bakteri

Kontrol - = Media tanpa biakan bakteri

(-) = Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) = Ada pertumbuhan (sedikit) <10 cord

(++) = Ada pertumbuhan (banyak) >10 cord

Pembahasan

Proses pengolahan simplisia biji beligo dicuci bersih terlebih dahulu kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 450C untuk mengurangi kadar air dan untuk memudahkan proses penyerbukan simplisia. Simplisia yang sudah kering kemudian dihaluskan agar luas permukaan simplisia terhadap pelarut pada proses maserasi menjadi lebih besar, semua sampel dapat kontak dengan larutan penyari sehingga penarikan metabolit-metabolit dapat lebih maksimal. Sampel yang telah dihaluskan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% karena memiliki kandungan air yang sedikit sehingga menghindari rusaknya ekstrak karena tumbuhnya mikroba. Metode maserasi digunakan karena pengerjaan dan peralatan yang digunakan mudah diperoleh. Biji beligo mengandung senyawa flavonoid yang tidak tahan terhadap pemanasan dan mudah teroksidasi pada suhu tinggi sehingga menggunakan metode maserasi yang tidak menggunakan pemanasan pada prosesnya (Direktorat Jendral POM,1986).

Perlu dilakukan pengadukan sesekali pada proses maserasi yang bertujuan untuk meratakan konsentrasi larutan diluar butir serbuk simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil kecilnya antara larutan didalam sel dan larutan diluar sel (Direktorat Jendral POM,1986).

JF FIK UINAM Vol.7 No.1

Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji aktivitas antituberkulosis. Metode yang digunakan dalam uji antituberkulosis adalah metode Microscopically Observed Drug Susceptibility, disingkat MODS, karena pada metode ini memiliki beberapa kelebihan yaitu penggunaan media cair (middlebrook 7H9) sehingga bakteri lebih cepat tumbuh, terdapat kandungan nutrisi pada media cair yaitu OADC (oxalid acid, albumin, destrosa, dan katalase) sebagai nutrisi pertumbuhan bakteri dan PANTA (polymyxin, amphotericin B, nalidixic acid, trimethoprim and azlocillin) sebagai antibiotik agar tidak terjadi pertumbuhan bakteri lain, waktu pengerjaan berlangsung cepat, sekitar 7-14 hari. Mycobacterium tuberculosis yang digunakan adalah strain H37RV adalah strain tuberkulosis yang paling banyak digunakan dalam penelitian. Pada metode ini pengamatan dilakukan secara langsung menggunakan mikroskop fluoresensi. Pada pengamatan mikroskopis, cord tanpa warna (bening) dan ekstrak akan berwarna coklat kehitaman.

Sampel dengan konsentrasi 250 ppm, 500 ppm dan 750 ppm diujikan dengan metode MODS pada plat sumuran 24 dengan Mycobacterium tuberculosis strain H37RV. Kontrol positif (+) menggunakan media tanpa penambahan biakan bakteri dan kontrol negatif (-) menggunakan media dengan penambahan biakan bakteri.

Adapun hasil dari pengujian antituberkulosis, dengan mycobacterium tuberculosis diperoleh hasil untuk kontrol (-) dengan menggunakan media dengan penambahan biakan bakteri terdapat pertumbuhan mikobakterium, untuk kontrol (+) dengan perlakuan penambahan media tanpa penambahan bakteri tidak terdapat pertumbuhan mikobakterium. Sampel dengan konsentrasi 250 ppm dan 500 ppm terdapat pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan adanya cord yang terbentuk pada plat sumuran. Sampel dengan konsentrasi 750 ppm terdapat lebih sedikit pertumbuhan bakteri dibandingkan sampel dengan konsentrasi 250 ppm dan 500 ppm.

Berdasarkan penelitian sismasari tahun 2016, menunjukkan ekstrak etanol biji beligo mengandung senyawa golongan alkaloid, flavanoid dan terpenoid. Flavonoid yang terdapat pada ekstrak biji beligo (*Benincassa hispida* (Thunb) Cogn.) diduga dapat berperan dalam proses penghambatan pertumbuhan koloni dari *Mycobacterium tuberculosis*. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antituberkulosis diakibatkan adanya penghambat enzim fatty acid synthase II (FAS II) yang berperan dalam pembentukan asam mikolat (Brown et al., 2007).

Asam mikolat merupakan unsur utama dinding sel *Mycobacterium tuberculosis* sehingga jalur biosintesis asam mikolat merupakan target yang menjanjikan untuk pengembangan

antibiotik yang efisien (Cantaloube dkk. 2011, Dong dkk. 2015). Sintesis asam mikolat melibatkan dua tipe fatty acid-synthase system (FAS) yaitu FAS-I dan FAS-II. FAS-II terdiri dari serangkaian enzim yang berfungsi untuk elongasi rantai asam lemak yang disintesis oleh FAS-I. Inaktivasi atau defisiensi salah satu enzim akan menghambat biosintesis asam mikolat, sehingga merupakan salah satu target potensial dalam pengembangan OAT (Dong dkk. 2015)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, analisis data dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji beligo (*Benincassa hispida* (Thunb) Cogn) dapat menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* strain H37RV pada konsentrasi 750 ppm

KEPUSTAKAAN

- Dinas Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan. (2014). *Profil Kesehatan Provinsi Sulawesi Selatan Tahun 2014*: Makassar
- Harmanto, N., Utami, P., (2013). *Jamu Ajaib Penakluk Diabetes*. PT Agromedia Pustaka. Jakarta
- Katzung, B.G., (2001). *Basic and Clinical Pharmacology*. 8th Edition. San Fransisco: Mc Graw Hill Co.
- Kementrian Kesehatan RI. (2011). *Penguatan laboratorium Tuberculosis Rencana Aksi Nasional Stop TB*.

- Mariyati S, (2000). *Kesehatan Keluarga dan Lingkungan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sismasari, N., (2016). *Skrinning Fitokimia dan Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Biji Beligo (Benincasa hispida Thumb. Cogn) terhadap Larva Udang (Artemia salina Leach) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Universitas Islam Makassar.
- Utami, P., (2008). *Buku Pintar Tanaman Obat*. PT Agromedia Pustaka. Jakarta
- World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2017. Switzerland: WHO, 2017. IPB