

Uji Aktivitas Ekstrak beberapa Tumbuhan terhadap *Mycobacterium tuberculosis* Galur Sensitif dan Resisten

Afrillia Nuryanti Garmana¹, *Elin Yulinah Sukandar¹, Irda Fidrianny²

¹ Kelompok Keilmuan Farmakologi dan Farmasi Klinik, Sekolah Farmasi

² Kelompok Keilmuan Biologi Farmasi, Sekolah Farmasi

Institut Teknologi Bandung, Jl. Ganessa 10 Bandung 40151

Abstrak

Telah diteliti aktivitas ekstrak etanol batang bratawali (*Tinospora tuberculata* Beumee), ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), ekstrak etanol rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.), dan ekstrak etanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.)) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* galur sensitif (H37Rv) dan resisten (HE dan SR). Ekstrak diuji pada konsentrasi 10, 20, 50, dan 100 µg/mL media dengan metode pengenceran agar. Bakteri diinokulasikan pada media yang mengandung larutan ekstrak atau obat pembeding kemudian diinkubasi pada 37°C lalu diamati setiap minggu mulai minggu keempat sampai minggu kedelapan. Dari keempat ekstrak yang diuji, hanya ekstrak etanol rimpang kencur yang dapat menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis* galur HE dan SR pada konsentrasi 100 µg/mL media.

Kata kunci : aktivitas antituberkulosis, *Mycobacterium tuberculosis*, *Tinospora tuberculata* Beumee, *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, *Kaempferia galanga* L., *Curcuma zedoaria* (Berg.)

Abstract

The activity of ethanolic extract of bratawali (*Tinospora tuberculata* Beumee) stem, ethanolic extract of binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaves, ethanolic extract of kencur (*Kaempferia galanga* L.) rhizomes, and ethanolic extract of temu putih (*Curcuma zedoaria* (Berg.) rhizomes) had been studied on drug-sensitive (H37Rv strain) and drug-resistant (HE and SR strain) *M. tuberculosis*. The extracts were tested by agar dilution method at concentration 10, 20, 50, and 100 µg/mL. *Mycobacterium tuberculosis* was inoculated in medium which contained extract or reference drug, incubated at 37°C, and observed every weeks from the forth week until the eighth week. From all the tested extracts, only ethanolic extract of kencur rhizome exhibited inhibitory activities against drug-resistant *M. tuberculosis* at 100 µg/mL.

Keywords: antituberculosis activity, *Mycobacterium tuberculosis*, *Tinospora tuberculata* Beumee, *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis, *Kaempferia galanga* L., *Curcuma zedoaria* (Berg.)

Pendahuluan

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit menular langsung yang disebabkan oleh kuman TB (*M. tuberculosis*). Diperkirakan sekitar sepertiga penduduk dunia telah terinfeksi oleh *M. tuberculosis* (Depkes RI, 2007). Di Indonesia, TB merupakan masalah utama kesehatan masyarakat. Jumlah pasien TB di Indonesia tahun 2009 merupakan ke-5 terbanyak di dunia setelah India, Cina, Afrika Selatan, dan Nigeria. Hasil Survey Prevalensi TB di Indonesia tahun 2009 menunjukkan bahwa angka prevalensi TB basil tahan asam (BTA) positif secara Nasional 244 per 100.000 penduduk (WHO, 2009). Pengobatan TB terbagi menjadi dua tahap yaitu tahap intensif (2-3 bulan) dan tahap lanjutan (4-7 bulan). Obat yang digunakan adalah kombinasi dari beberapa obat antituberkulosis (OAT). Pengobatan dalam jangka waktu lama memungkinkan timbulnya efek samping dan ketidakpatuhan pasien dalam mengkonsumsi obat sehingga dapat menimbulkan resistensi dan kekambuhan (Gilman, *et. al.*, 2006). Pada kondisi tersebut, pengobatan menjadi

lebih lama dan mahal. Oleh karena itu, perlu dikembangkan penelitian untuk menemukan kandidat baru dalam pengobatan TB yang aman dan efektif. Beberapa tanaman yang sudah diuji aktivitas antituberkulosisnya adalah bawang putih, rimpang jahe merah, biji selasih, buah mengkudu, bunga kembang sepatu, rimpang temu putih, rimpang kunyit, antanan, dan rimpang lempuyang wangi (Sugihartina, 2004; Kurniati, 2006). Pada penelitian ini, diuji aktivitas antituberkulosis dari batang bratawali, daun binahong, rimpang kencur, dan rimpang temu putih.

Percobaan

Bahan

Batang bratawali, daun binahong, rimpang kencur, rimpang temu putih, etanol, aquades, TB medium Löwenstein-Jensen (LJ), gliserol, telur bebek, rifampisin, isoniazid, etambutol, streptomisin, dimetilsulfoksida.

Alat

*Penulis yang dapat dihubungi untuk korespondensi
elin@fa.itb.ac.id

Seperangkat alat refluks, alat penguap hampa udara berputar, neraca analitik, pipa kapiler, krus silikat, cawan penguap, gelas piala, labu Erlenmeyer, batang pengaduk, pipet tetes, pipet ukur, pipet volume, pipet otomatis, cawan petri, jarum ose, bunsen, tabung reaksi, tip, eppendorf, spatel, oven, vortex, dan inkubator.

Mikroba Uji

Mycobacterium tuberculosis galur H37Rv yang sensitif, serta galur HE dan SR yang resisten, diperoleh dari Balai Pengembangan Laboratorium Kesehatan, Bandung.

Pengumpulan, Determinasi, dan Pengolahan Tumbuhan Uji

Batang bratawali diperoleh dari daerah Dago, Bandung. Daun binahong dan rimpang temu putih diperoleh dari Perkebunan Manoko, Lembang. Rimpang kencur diperoleh dari Desa Bunihayu, Subang. Determinasi tumbuhan uji dilakukan di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, ITB.

Pengolahan tumbuhan meliputi sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, dan penggilingan menjadi serbuk simplisia. Masing-masing serbuk simplisia ditimbang sebanyak 200 mg, diekstraksi dengan 1000 mL etanol 96 % menggunakan alat reluks selama 2 jam kemudian disaring. Residu diekstraksi kembali dua kali dengan etanol 96 %. Filtrat yang diperoleh disatukan kemudian dipekatkan dengan alat penguap hampa udara berputar. Ekstrak dipekatkan di atas tangas air bersuhu 50°C sampai diperoleh ekstrak kental.

Uji Aktivitas Antituberkulosis

a. Pembuatan Media Perbenihan

Ekstrak diuji pada konsentrasi 10, 20, 50, dan 100 µg/mL media LJ. Obat pembanding yang digunakan adalah rifampisin (40 µg/mL), isoniazid (0,2 µg/mL), etambutol (2,0 µg/mL), dan streptomisin (4,0 µg/mL). Media LJ ditambahkan ke dalam tabung yang berisi larutan ekstrak atau obat pembanding sehingga volume total 5 mL kemudian diaduk sampai homogen. Tabung dimiringkan kemudian dimasukkan ke dalam oven 85°C selama 1 jam agar media menjadi padat (*Tuberculosis Cluster Bureau of AIDS, TB, and SITs*, 2007).

b. Inokulasi dan Pengamatan

Inokulasi dilakukan terhadap tiga galur *M. tuberculosis* yaitu galur yang sensitif H37Rv dan dua galur yang resisten, galur HE (resisten terhadap isoniazid dan etambutol) dan SR (resisten terhadap streptomisin dan rifampisin). Masing-masing galur bakteri disuspensikan ke dalam NaCl 0,9 % sehingga

diperoleh kekeruhan 10^{-3} dan 10^{-5} McF. Masing-masing suspensi bakteri sebanyak 0,1 mL diinokulasikan pada permukaan media yang mengandung ekstrak, obat pembanding, atau pelarut. Semua tabung diinkubasi pada suhu 37°C. Pertumbuhan koloni bakteri diamati setiap minggu mulai minggu ke-4 sampai minggu ke-8 (*Tuberculosis Cluster Bureau of AIDS, TB, and SITs*, 2007).

Hasil dan pembahasan

Pada awal penelitian, tumbuhan yang digunakan dideterminasi untuk mengetahui kebenaran identitas botani tumbuhan tersebut. Hasil determinasi tumbuhan menunjukkan bahwa jenis tumbuhan adalah *Tinospora tuberculata* Beumee, *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), *Kaempferia galanga* L., dan *Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe. Dari hasil ekstraksi, diperoleh rendemen ekstrak batang bratawali 12,67 %; ekstrak daun binahong 17,64 %; ekstrak rimpang kencur 7,96 %; dan ekstrak rimpang temu putih 6,10 %.

Uji aktivitas antituberkulosis secara *in vitro* dilakukan terhadap tiga galur bakteri yang terdiri dari satu galur sensitif (H37Rv) dan dua galur resisten (HE dan SR). Galur H37Rv masih peka dan dapat dibunuh oleh OAT pilihan pertama yaitu rifampisin dan isoniazid. Galur HE sudah resisten terhadap isoniazid dan etambutol sedangkan galur SR resisten terhadap streptomisin dan rifampisin.

Pengujian aktivitas antituberkulosis dilakukan dengan menggunakan metode proporsional. Pada metode ini, digunakan dua konsentrasi inokulum bakteri yaitu 10^{-5} dan 10^{-3} McF yang mengandung sekitar 10^2 dan 10^4 sel/mL. Hal ini bertujuan agar diperoleh jumlah koloni yang dapat dihitung (50-100 koloni) pada salah satu konsentrasi sehingga jumlah total koloni yang teramati dapat ditentukan. Jumlah bakteri yang resisten dapat ditentukan dari perbandingan koloni mutan terhadap total populasi bakteri yang diuji (kelompok kontrol) atau biasa disebut persentase resistensi. Suatu bakteri dikatakan resisten terhadap antibakteri bila nilai persentase resistensinya $\geq 1\%$ (*Tuberculosis Cluster Bureau of AIDS, TB, and SITs*, 2007).

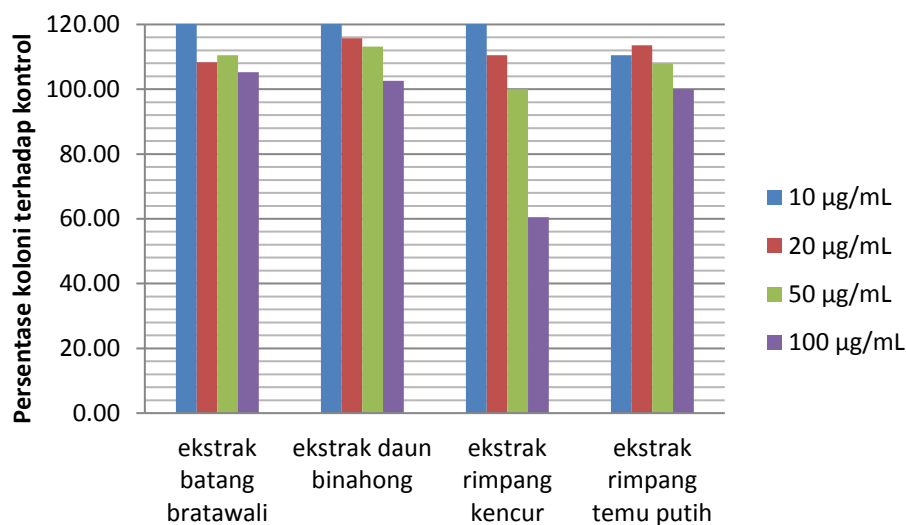
Dari hasil pengujian aktivitas anti-TB, tidak diperoleh ekstrak yang dapat menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis* galur H37Rv bahkan pada konsentrasi tertinggi yang diujikan (100 µg/mL). Galur HE dan SR masih sensitif terhadap ekstrak kencur. Kedua galur tersebut dapat dihambat pertumbuhannya oleh ekstrak kencur. Hal ini terlihat dari nilai persentase resistensi yang $< 1\%$ yaitu 0,59 % (ekstrak kencur 100 µg/mL) untuk galur HE dan 0,11 % (ekstrak

kencur 100 µg/mL) untuk galur SR. Persentase resistensi keempat ekstrak pada setiap galur *M. tuberculosis* dapat dilihat pada Gambar 1, 2, dan 3.

Persentase resistensi obat pembanding dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Persentase Resistensi *Mycobacterium Tuberculosis* Setelah 8 Minggu Kontak Dengan Obat Pembanding

Obat pembanding	Persentase resistensi <i>Mycobacterium tuberculosis</i>		
	Galur H37Rv	Galur HE	Galur SR
Isoniazid 0,2 µg/mL	0	59,1	0
Rifampisin 40 µg/mL	0	0	62,5
Etambutol 2,0 µg/mL	0	31,8	0
Streptomisin 4 µg/mL	0	0	121,25



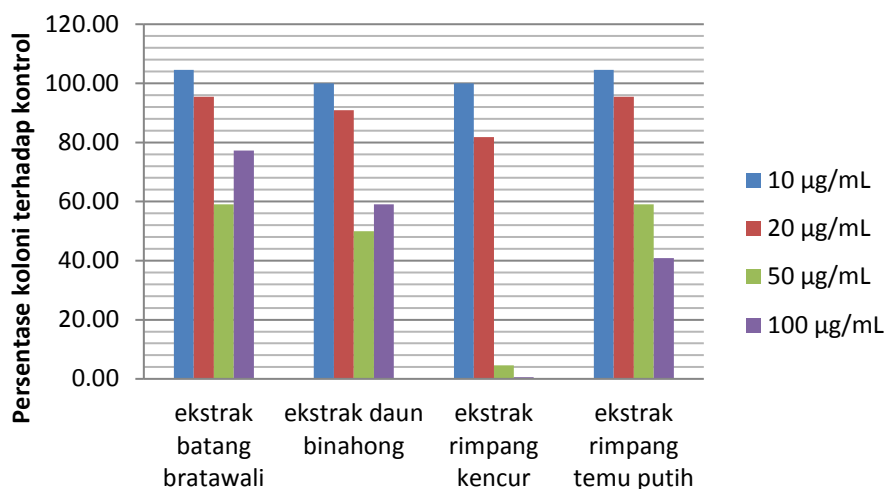
Gambar 1. Perbandingan persentase resistensi *Mycobacterium tuberculosis* galur H37Rv setelah 8 minggu kontak, dengan ekstrak etanol batang bratawali, ekstrak etanol daun binahong, ekstrak etanol rimpang kencur, dan ekstrak etanol rimpang temu putih pada konsentrasi 10, 20, 50, dan 100 µg/mL.

Ekstrak etanol rimpang kencur telah terbukti memiliki efek antimikroba diantaranya dapat menghambat pertumbuhan *B. cereus*, *B. subtilis*, MRCNS (*Methicillin-Resistant Coagulase-Negative Staphylo-coccus*), *E. coli*, *P. aeruginosa* (Garmana, 2010), dan *S. aureus* (Tewtrakul, 2005). Minyak terbang (*volatile oil*) telah berhasil diisolasi dari simplisia rimpang kencur dan terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif, gram negatif, dan jamur. Komponen yang paling banyak dari minyak terbang tersebut adalah *ethyl-p-methoxycinnamate* (Tewtrakul, 2005).

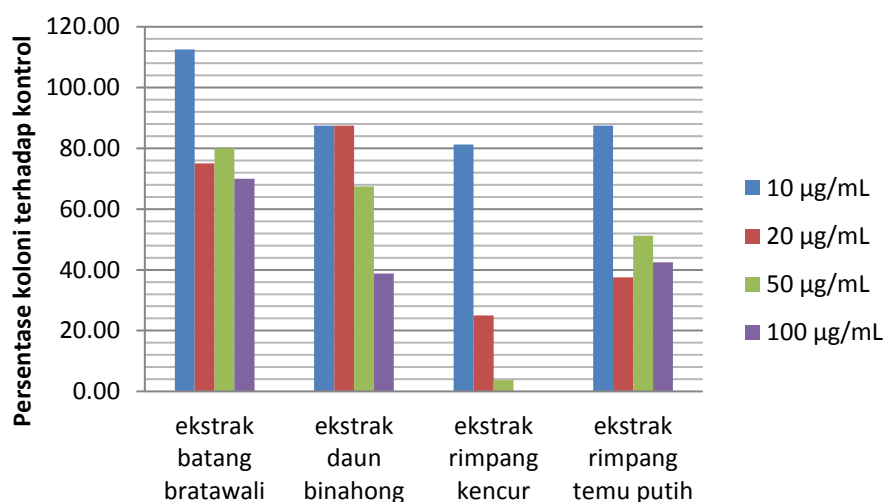
Efek antimikobakteria dari *ethyl-p-methoxycinnamate* sudah dilakukan terhadap *Mycobacterium tuberculosis* galur sensitif (H37Ra dan H37Rv) dan resisten (diisolasi dari pasien). Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi

yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* galur sensitif lebih besar atau sama dengan konsentrasi yang menghambat galur resisten (Lakshmanan, 2011).

Pada penelitian ini, ekstrak etanol rimpang kencur dengan konsentrasi 100 µg/mL tidak dapat menghambat *Mycobacterium tuberculosis* galur sensitif (H37Rv) tetapi dapat menghambat galur HE dan SR yang resisten. Diperlukan konsentrasi yang lebih tinggi untuk menghambat *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Fenomena seperti ini mungkin disebabkan karena senyawa aktif dalam ekstrak etanol rimpang kencur (*ethyl-p-methoxycinnamate*) memiliki mekanisme / target kerja yang berbeda dengan anti-TB yang ada saat ini (Lakshmanan, 2011).



Gambar 2. Perbandingan persentase resistensi *Mycobacterium tuberculosis* galur HE setelah 8 minggu kontak, dengan ekstrak etanol batang bratawali, ekstrak etanol daun binahong, ekstrak etanol rimpang kencur, dan ekstrak etanol rimpang temu putih pada konsentrasi 10, 20, 50, dan 100 µg/mL.



Gambar 3. Perbandingan persentase resistensi *Mycobacterium tuberculosis* galur SR setelah 8 minggu kontak, dengan ekstrak etanol batang bratawali, ekstrak etanol daun binahong, ekstrak etanol rimpang kencur, dan ekstrak etanol rimpang temu putih pada konsentrasi 10, 20, 50, dan 100 µg/mL.

Kesimpulan

Mycobacterium tuberculosis galur HE (resisten isoniazid dan etambutol) dan SR (resisten streptomisin dan rifampisin) dapat dihambat hanya oleh ekstrak etanol rimpang kencur pada konsentrasi 100 µg/mL. Hal ini terlihat dari nilai persentase resistensi yang < 1 % yaitu 0,59 % untuk galur HE dan 0,11 % untuk galur SR.

Pustaka

Depkes RI, 2007, *Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulosis*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 3-35.

Gilman, A. G., et al., 2006, *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th Ed.*, The McGraw-Hill Companies, USA,

Kurniati, N. F., 2006, *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol dan Fraksi Rimpang Jahe Merah (Zingiber officinale Rosc. var sunti Val.) terhadap M. Tuberculosis Galur H37Rv, Galur Lab-Kes 232, Galur Lab-Kes 450, beberapa Bakteri Lain, dan Jamur*, Tesis Magister, Institut Teknologi Bandung.

Lakshmanan, D. *et al.*, 2011, Ethyl *p*-Methoxycinnamate Isolated from a Traditional Anti-Tuberculosis Medicinal Herb Inhibits Drug Resistant Strains of Mycobacterium Tuberculosis In Vitro, *Fitoterapia*, 82: 757–761.

Sugihartina, G., 2004, *Uji Aktivitas Ekstrak Beberapa Tumbuhan terhadap M. Tuberculosis yang Sensitif dan Resisten terhadap Obat Antituberkulosis*, Tesis Magister, Institut Teknologi Bandung

Tewtrakul, S., Yuenyongsawad, S., Kummee, S., and Atsawajaruwan, L., 2005, Chemical Components and Biological Activities of Volatile Oil of *Kaempferia galanga* Linn., *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 27 (Suppl. 2) : 503-507.

Tuberculosis Cluster Bureau of AIDS, TB, and SITs, 2007, Standard Operating Procedure for Drug Susceptibility Testing in Tuberculosis Laboratory, *International Training Workshop on "Laboratory Methods for Drug Susceptibility Testing in Tuberculosis"*, Bangkok.

WHO, 2009, *Global Tuberculosis Control: A Short Update to the 2009 Report*, World Health Organization, Geneva, 4.