

AKTIVITAS ANTITUBERKULOSIS KOMBINASI EKSTRAK n-HEKSANA DAUN KEDONDONG HUTAN DENGAN RIFAMPISIN TERHADAP ISOLAT Mycobacterium tuberculosis STRAIN MDR

Ramayati, N.P.A¹, Ariantari, N.P¹, Dwija, I.B.N.P²

¹ Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

²Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Umum Universitas Udayana

Korespondensi: Ramayati, N.P.A

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia 80364 Telp/Fax: 0361-703837

Email : asriramayati99@gmail.com

ABSTRAK

Penanganan masalah tuberkulosis dapat diatasi dengan melaksanakan prinsip pengobatan standar tuberkulosis, akan tetapi penanganan tuberkulosis dipersulit dengan munculnya masalah resistensi ganda (Multidrug Resistant) terhadap obat-obatan antituberkulosis. Hal ini memicu eksplorasi obat baru dari bahan alam. Salah satu tanaman yang biasa digunakan secara tradisional dan sudah teruji memiliki aktivitas antituberkulosis adalah kedondong hutan (*Spondias pinnata* (L.f) Kurz.). Ekstrak metanol daun kedondong hutan dilaporkan aktif sebagai antituberkulosis terhadap *Mycobacterium tuberculosis* strain MDR. Penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas kombinasi ekstrak n-heksana daun kedondong hutan dengan rifampisin terhadap isolat *M. tuberculosis* strain MDR.

Penelitian ini diawali dengan ekstraksi daun kedondong hutan menggunakan metode maserasi dengan pelarut n-heksana. Kemudian dilanjutkan dengan pemeriksaan profil kromatografi dan pengujian aktivitas antituberkulosis. Pengujian aktivitas antituberkulosis dilakukan menggunakan metode proporsi pada media Lowenstein-Jensen (L-J). Bahan uji yang digunakan adalah kombinasi ekstrak pada konsentrasi 10 dan 50 mg/mL dengan rifampisin 40 µg/mL. Pengamatan koloni dilakukan mulai minggu ke-III hingga minggu ke-VI. Aktivitas antituberkulosis dievaluasi berdasarkan persentase hambatan yang dihasilkan.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana daun kedondong hutan pada konsentrasi 10 dan 50 mg/mL yang dikombinasikan dengan rifampisin aktif sebagai antituberkulosis terhadap isolat *M. tuberculosis* strain MDR dengan persentase hambatan berturut-turut sebesar 93,18 dan 96,97%. Persentase hambatan ekstrak tersebut jauh lebih besar jika dibandingkan rifampisin. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana daun kedondong hutan prospektif untuk dikembangkan sebagai alternatif terapi tuberkulosis terhadap *M. tuberculosis* strain MDR.

Keywords: daun kedondong hutan, ekstrak n-heksana, aktivitas antituberkulosis, *Mycobacterium tuberculosis*.

1. PENDAHULUAN

Infeksi oleh bakteri *M. tuberculosis* mengakibatkan timbulnya penyakit menular tuberkulosis yang berdampak secara global. Dilaporkan sekitar 1,4 juta orang meninggal dan terdapat sekitar 8,7 juta kasus baru tuberkulosis di seluruh dunia pada tahun 2011. Indonesia menduduki urutan ke-4 kasus tuberkulosis terbanyak di dunia dengan angka kematian akibat tuberkulosis sebesar 64.000 serta jumlah kasus sekitar 450.000 per tahun (WHO, 2012). Pada dasarnya, tuberkulosis dapat diatasi dengan melaksanakan prinsip pengobatan standar

tuberkulosis. Namun, pelaksanaan terapi standar yang relatif panjang sering mengakibatkan ketidakpatuhan pasien dalam melaksanakan terapi dan memunculkan masalah lain yaitu resistensi bakteri *M. tuberculosis* terhadap obat-obatan antituberkulosis (MDR-TB). Menurut WHO, secara global di tahun 2011 terdapat sekitar 630.000 kasus MDR-TB (WHO, 2012). Hal ini memicu upaya-upaya pengembangan obat baru untuk menanggulangi masalah tuberkulosis, baik untuk melengkapi terapi saat ini ataupun penemuan senyawa obat baru.

Salah satu upaya yang dilakukan adalah melalui eksplorasi penggunaan tanaman obat

secara tradisional (etnomedisin). Kedondong hutan (*Anacardiaceae*) secara tradisional biasa digunakan untuk mengatasi batuk kronis. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak metanol dari daun kedondong hutan telah teruji memiliki aktivitas antituberkulosis. Dwija (2013) menyatakan bahwa ekstrak tersebut mengandung steroid, flavonoid, dan triterpenoid. Pemberian kombinasi ekstrak konsentrasi 10 mg/mL dengan rifampisin memberikan persentase hambatan sebesar 85-89,5%, sedangkan pemberian ekstrak secara tunggal menghasilkan persentase hambatan lebih rendah yaitu sebesar 52-73%. Pada pemberian kombinasi ekstrak metanol konsentrasi 50 dan 250 mg/mL dengan rifampisin ke dalam media memberikan persentase hambatan terhadap isolat *M. tuberculosis* strain MDR sebesar 100%.

Mangifera indica (Balestieri et al., 2001) dan *Spondias mombin* L (Olugbuyiro et al., 2009) yang tergolong ke dalam suku *Anacardiaceae* juga dilaporkan telah teruji memiliki aktivitas antituberkulosis. Berdasarkan latar belakang di atas penelitian ini dilakukan untuk menguji aktivitas antituberkulosis kombinasi ekstrak n-heksana daun kedondong hutan dengan rifampisin.

2. BAHAN DAN METODE

2.1 Bahan

Bahan tanaman

Bahan tanaman diperoleh di daerah Bukit Jimbaran, Badung-Bali. Daun tersebut dikumpulkan kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan.

Isolat bakteri

Bakteri uji diperoleh dari Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar. Isolat bakteri yang digunakan pada penelitian ini tergolong strain resisten terhadap rifampisin dan isoniazid (Multidrug Resistant).

2.2 Metode

Ekstraksi daun kedondong hutan

Serbuk daun kedondong hutan (500 g) dimaserasi dengan menggunakan 2,5 L n-heksana pada suhu kamar selama satu hari, kemudian disaring. Ampas yang tersisa diremaserasi sebanyak 2 kali. Selanjutnya, untuk menguapkan pelarut yang terkandung di dalam maserat dilakukan dengan menggunakan vacuum rotary evaporator dan

dilanjutkan dengan oven pada suhu 40°C. Dari hasil ekstraksi tersebut diperoleh ekstrak sebanyak 6,25 g dengan rendemen sebesar 1,27%.

Pemeriksaan profil kromatografi

Pemeriksaan profil kromatografi dilakukan dengan menggunakan fase gerak kloroform:methanol (92,5:7,5 v/v) dan fase diam silika gel GF₂₅₄. Pemeriksaan dilakukan secara visual, UV₂₅₄, dan UV₃₆₆ baik setelah disemprot H₂SO₄ dan diuapi amonia.

Uji aktivitas antituberkulosis

Mengacu pada Gupta, et al. (2010) dan Dwija et al. (2013), metode proporsi menggunakan media Lowenstein-Jensen (L-J) digunakan untuk uji aktivitas antituberkulosis. Pengujian dilakukan dengan menggunakan 2 seri konsentrasi ekstrak yaitu 10 dan 50 mg/mL.

Analisis data

Analisis data dilakukan dengan menghitung persentase hambatan pertumbuhan *M. tuberculosis* dari masing-masing kelompok perlakuan. Ekstrak memiliki aktivitas antituberkulosis jika mampu menghasilkan hambatan $\geq 90\%$ terhadap kontrol negatif (Gupta et al., 2010).

3. HASIL

Dari hasil pemeriksaan profil kromatografi diketahui bahwa ekstrak mengandung terpenoid dan flavonoid. Dari hasil uji aktivitas antituberkulosis teramati pertumbuhan koloni bakteri *M. tuberculosis* terjadi dari pengamatan ke-2. Pertumbuhan koloni bakteri paling tinggi tampak pada kelompok perlakuan kontrol negatif. Pada kelompok kontrol obat yang diberikan rifampisin ke dalam media pertumbuhan koloni terus mengalami peningkatan seiring bertambahnya waktu pengamatan. Dari hasil pengamatan tersebut menunjukkan bahwa benar isolat yang digunakan memang benar isolat *M. tuberculosis* strain MDR yang sudah resisten terhadap rifampisin. Pada kelompok yang diberikan perlakuan kombinasi ekstrak dengan rifampisin, pertumbuhan jumlah koloni tampak lebih banyak pada kelompok yang diberikan ekstrak dengan konsentrasi 10 mg/mL.

Tabel 1. Persentase Hambatan Pertumbuhan Isolat *M. tuberculosis* strain MDR pada Uji Aktivitas Antituberkulosis Kombinasi Ekstrak n-Heksana Daun Kedondong Hutan dengan Rifampisin

Minggu ke-	Pengamatan ke-	Persentase hambatan (%)		
		Rifampisin	Ekstrak tanaman + Rifampisin	
		40 µg/mL	10 mg/mL + 40 µg/mL	50 mg/mL + 40 µg/mL
III	1	0	0	0
	2	14,55	100	100
	3	8,54	97,56	100
IV	4	15,18	97,32	99,11
	5	10,08	95,80	98,32
	6	5,51	95,28	97,64
V	7	7,58	93,94	96,97
	8	7,58	93,18	96,97
	9	7,58	93,18	96,97
VI	10	7,58	93,18	96,97

Persentase hambatan pertumbuhan *M. tuberculosis* dari masing-masing kelompok perlakuan ditampilkan pada tabel 1. Kelompok kontrol obat menunjukkan perkembangan persentase hambatan yang fluktuatif. Sedangkan, kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak dengan dikombinasi rifampisin persentase hambatan yang ditunjukkan mengalami penurunan seiring dengan lamanya waktu pengamatan. Persentase hambatan yang dihasilkan dari kedua kelompok perlakuan jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan kontrol obat rifampisin.

4. PEMBAHASAN

Dari penelitian yang telah dilakukan persentase hambatan yang dihasilkan dari kedua kelompok perlakuan tersebut jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan kontrol obat rifampisin. Hal ini disebabkan karena bakteri *M. tuberculosis* yang digunakan pada penelitian ini tergolong pada strain MDR yaitu strain bakteri yang tergolong resisten terhadap rifampisin. Sehingga seiring dengan bertambahnya waktu pengamatan hambatan yang dihasilkan cenderung menurun. Hal ini sesuai dengan hasil yang ditunjukkan pada kelompok kontrol obat rifampisin dimana pada awal pengamatan persentase hambatan yang dihasilkan sebesar 14,55% dan menurun di akhir

pengamatan menjadi 7,58%. Sedangkan, kelompok kombinasi ekstrak n-heksana daun kedondong hutan pada konsentrasi 10 dan 50 mg/mL dengan rifampisin mampu menghambat pertumbuhan *M. tuberculosis* dengan persentase berturut-turut sebesar 93,18 dan 96,97%. Ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas antituberkulosis apabila persentase hambatan yang diberikan $\geq 90\%$ (Gupta et al., 2010). Berdasarkan kriteria di atas dapat dinyatakan bahwa kombinasi ekstrak n-heksana daun kedondong hutan pada konsentrasi 10 dan 50 mg/mL dengan rifampisin memiliki aktivitas antituberkulosis terhadap isolat *M. tuberculosis* strain MDR.

Dari penelitian yang dilakukan oleh Dwija (2013) melaporkan bahwa ekstrak metanol daun kedondong hutan telah teruji aktivitas antituberkulosisnya terhadap isolat *M. tuberculosis* strain MDR dengan persentase hambatan pada konsentrasi ekstrak 10 mg/mL yang dikombinasi dengan rifampisin sebesar 73,26%. Sedangkan, aktivitas ekstrak n-heksana daun kedondong hutan pada konsentrasi yang sama memberikan persentase hambatan sebesar 93,18%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana daun kedondong hutan menghasilkan nilai persentase hambatan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak metanol pada konsentrasi yang sama.

Kandungan kimia yang terkandung di dalam ekstrak n-heksana daun kedondong hutan berupa terpenoid dan flavonoid kemungkinan berkontribusi terhadap aktivitas antituberkulosis tersebut. Senyawa terpenoid asam bonianat A dan asam bonianat B yang berasal dari ranting dan daun *Radermachera bonianathe* dinyatakan memiliki aktivitas antituberkulosis terhadap *M. tuberculosis* H37Rv dengan MIC berturut-turut sebesar 34,8 μ M dan 9,9 μ M (Truong et al., 2011). Mekanisme kerja golongan senyawa terpenoid sebagai antibakteri diduga disebabkan karena adanya gangguan pada bagian lipid pada membran plasma bakteri, sehingga mengakibatkan kebocoran pada bagian intraseluler dan terjadinya perubahan permeabilitas membran (Bueno-Sánchez et al., 2009).

Dari hasil penelitian yang dilakukan Pavan et al. (2009) dilaporkan bahwa kombinasi flavonoid dari ekstrak etil asetat buah *Campomanesia adamantium* (Myrtaceae), yaitu 5,7-dihidroksi-6,8-di-C-metilflavanon dan 2',4'-dihidroksi-3',5'-dimetil-6'-metoksikalkon dengan perbandingan 2:8 menghasilkan MIC sebesar 7,8 μ g/mL terhadap *M. tuberculosis* H37Rv. 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).

5. KESIMPULAN

Kombinasi ekstrak n-heksana daun kedondong hutan dengan rifampisin memiliki aktivitas antituberkulosis terhadap *M. tuberculosis* strain MDR sehingga ekstrak tersebut prospektif untuk dikembangkan sebagai alternatif terapi tuberkulosis.

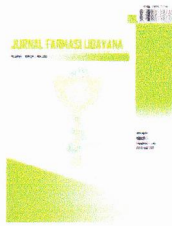
UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Anggi Heru Pradipta yang membantu segala pengerjaan penelitian di Laboratorium Fitokimia Jurusan Farmasi, FMIPA, Unud. Dan Mardiyah Hayati yang membantu pengerjaan teknis di Laboratorium Mikrobiologi Klinik RSUP Sanglah.

DAFTAR PUSTAKA

Balestieri, F. M. P., Romao, P. R. T., De soute, J. T., and Torres, M. A. L. 2001. *Mangifera indica* L. (Anacardiaceae) Stem Bark Extract

- Inhibits Mice Humoral Immune Response, *Acta Farm. Bonaerense*, Vol. 4 (4): 252-253.
- Bueno-Sanchez, J. G., Martinez-Morales, J. R., Stashenko, E. E., and Ribon. W. 2009. Antitubercular activity of eleven aromatic and medicinal plants occurring in Colombia. *Biomédica*, Vol. 29:51-60.
- Brown, A. K., Papaemmanouil, A., Bhowruth, V., Bhatt, A., Dover, L. G. and Besra, G. S. 2007. Flavonoid inhibitors as novel antimycobacterial agents targeting Rv0636, a putative dehydratase enzyme involved in *Mycobacterium tuberculosis* fatty acid synthase II. *Microbiology*, Vol. 153: 3314-3322.
- Dwija, I. B. N. P., Juniarta, I. K., Yowani, S. C., dan Ariantari, N. P. 2013. Aktivitas Antituberkulosis Ekstrak Metanol Daun Kedondong Hutan (*Spondias Pinnata* (L.f.) Kurz.). *Jurnal Kimia*, Vol. 7 (1): 25-30.
- Gupta, R., Thakur, B., Singh, P., Singh, H. B., Sharma, V. D., Katoch, V. M., and Chauhan, S. V. S. 2010. Anti-tuberculosis Activity of Selected Medicinal Plants Against Multi-drug Resistant *Mycobacterium tuberculosis* Isolates. *International Journal Medicine Research*, Vol. 131: 809-813.
- Olugbuyiro, J. A. O., Mody, J. O., and Hamann, M. T. 2009. AntiMtb Activity Of Triterpenoid-Rich Fractions From *Spondias mombin* L. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 8 (9): 1807-1809.
- Pavan, F. R., Leite, C. Q. F., Coelho, R. G., Coutinho, I. D., Honda, N. K., Cardoso, C. A. L., Vilegas, W. 2009. Evaluation Of Anti-*Mycobacterium tuberculosis* Activity of *Campomanesia adamantium*. *Química Nova*, Vol. 32 (5): 1222-1226.
- Truong, N. B., Pham, C. V., Doan, H. T. M., Nguyen, H. V., Nguyen, H. T., Zhang, H., Fong, H. H. S. 2011. Antituberculosis Cycloartene Triterpenoids from *Radermachera boniana*. *Journal of Natural Products*, Vol. 74: 1318-1322.
- WHO. 2012. WHO Report 2012 Global Tuberculosis Control. Geneva: World Health Organization.



JURNAL FARMASI UDAYANA

JURUSAN FARMASI-FAKULTAS MIPA-UNIVERSITAS UDAYANA

BUKIT JIMBARAN - BALI
• (0361) 703837

• Email: jurnalfarmasiudayana@gmail.com

SURAT PERNYATAAN PERSETUJUAN PEMBIMBING

Yang bertandatangan di bawah ini, menyatakan bahwa :

Artikel dengan judul : Aktivitas Antituberkulosis Kombinasi Ekstrak n-Heksana Daun Kedondong Hutan dengan Rifampisin Terhadap Isolat Mycobacterium tuberculosis Strain MDR

Disusun oleh : Ni Putu Asri Ramayati

NIM : 0908505031

Email mahasiswa : asriramayati99@gmail.com

Telah kami setuju untuk dipublikasi pada "Jurnal Farmasi Udayana".

Demikian surat pernyataan ini kami buat, agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Bukit Jimbaran, ..27... September..... 20..
Pembimbing Tugas Akhir

Ni Putu Ariantari, S.Farm., M.Farm., Apt
NIP. 19811207200502206