

Evaluasi Aktivitas Anti Mikroba Tanaman Obat terhadap *Mycobacterium tuberculosis* Galur Sensitif dan Resisten

Evaluation of Anti-Microbial Activity of Medicinal Plants against *Mycobacterium tuberculosis* Strain Sensitive and Resistant

Gaby Maulida Nurdin¹, Irnayanti Bahar²

STKIP Pembangunan Indonesia

email: gabymaulida@gmail.com

Abstract: The exploration of antimicrobial bioactive compounds continues to be advanced, especially for the treatment of tuberculosis. Given their lower level of toxicity so that can replace the usual drugs that have been resisted. Therefore, it is necessary to find anti-tuberculosis drugs with optimal safety and effectiveness. One of them is to use of plant biochemical compounds. The antimicrobial activity of some medicinal plant samples will be tested on *M.tb* sensitive and resistant strains. The aim of this study is to evaluate the antituberculosis activity of some medicinal plant samples to inhibit the growth of *M.tb* sensitive and resistant strains. The samples used in this study are medicinal plants that are suspected to have potential as antituberculosis property, such as noni (local name: mengkudu, *Morinda citrifolia*), Malayan Mistletoe (local name: benalu jeruk, *Dendrophthoe pentandra*), pomegranate (local name: delima, *Punica granatum*), and Indian ash tree (local name: kayu jawa, *Lannea coromandelica*) obtained from South Sulawesi region. Crushed leaves and wood from medicinal plant samples are extracted using ethanol maceration. The extracts then were tested on clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis*, i.e. sensitive strain H37Rv and resistant strain HE (resistant to isoniazid and ethambutol) using Microscopically Observed Drug Susceptibility (MODS) method. Of the four extracts tested, only noni (*M. citrifolia*) ethanol extract can inhibit the growth of *M. tuberculosis* H37Rv and HE strains at concentration 1500 ppm and optimum at concentration 2000 ppm. Thus, noni (*M. citrifolia*) ethanol extract has the potential as antituberculosis.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, antituberculosis, medicinal plants, MODS

1. Pendahuluan

Tuberkulosis (TB) merupakan salah satu penyakit infeksi menular yang menjadi masalah di dunia. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang dapat menular melalui percikan dahak. Secara keseluruhan diperkirakan 5% dari 1.7 Miliar orang yang terinfeksi *M. tb* akan mengembangkan penyakit TB nya selama hidup. Namun, probabilitasnya, pengembangan TB jauh lebih tinggi terhadap orang-orang yang terkena dari faktor resiko misalnya kurang gizi, diabetes, perokok, dan konsumsi alkohol. Menurut WHO (2017) sebagian besar jumlah kasus TB pada tahun 2016 terjadi di wilayah Asia Tenggara yaitu 45%.

Indonesia termasuk salah satu Negara "megadiversity" yang kaya akan keanekaragaman hayati. Salah satunya adalah tumbuhan yang memiliki senyawa aktif dan sangat berpotensi sebagai obat herbal. Pengembangan senyawa aktif yang berperan sebagai antimikroba terus digalakkan, khususnya untuk pengobatan tuberculosis. Mengingat sedikitnya toksisitas yang dapat terjadi untuk menggantikan obat yang telah terjadi resistensi. Maka dari itu diperlukan pencarian dan penemuan obat anti tuberculosis dengan tingkat keamanan dan keefektifan optimal. Salah satunya dengan pemanfaatan bahan kimiawi tumbuhan.

Beberapa tanaman obat yang dapat diterapkan untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba terhadap *Mycobacterium tuberculosis* yaitu mengkudu (*Morinda citrifolia*), benalu jeruk (*Dendrophthoe pentandra*), delima (*Punica granatum*), dan kayujawa (*Lannea coromandelica*). Daun mengkudu memiliki kandungan bahan aktif *skopoletin* yang berfungsi melancarkan pembuluh darah

dan terbukti sebagai antibakteri (Fatmawati, 2013). Sedangkan benalu yang dianggap sebagai gulma terkenal sebagai antikanker, obat batuk, diuretik, dan perawatan pasca melahirkan (Fajriah, dkk., 2007).

Aktivitas antimikroba dari beberapa tanaman obat tersebut telah banyak diteliti oleh ilmuwan dari berbagai Negara (Finnie, 2015; Fitri, 2017). Namun, aktivitas penghambatan terhadap bakteri patogen *Mycobacterium tuberculosis* khususnya pada galur sensitif dan resisten belum banyak dikaji. Dengan adanya senyawa aktif yang terkandung pada beberapa tanaman obat diharapkan dapat berfungsi sebagai antituberkulosis. Harapan inilah tentunya yang melatarbelakangi perlunya dilakukan penelitian ini untuk mengevaluasi adanya aktivitas antituberkulosis dari beberapa tanaman obat terhadap pertumbuhan *M. tb* galur sensitif dan resisten.

2. Metode Penelitian

• Alat

Perangkat alat gelas, perangkat ekstraksi, MGIT Bactec 960 Reader, mikroskop, inkubator, timbangan analitik, dan *biological safety cabinet* (BSC class 2)

• Bahan

Tanaman obat mengkudu (*Morinda citrifolia*), benalu jeruk (*Dendrophthoe pentandra*), delima (*Punica granatum*), kayu jawa (*Lannea coromandelica*), pelarut etanol, kuman *Mycobacterium tuberculosis* galur H37Rv dan HE, media cair Middlebrook 7H9, dan MGIT (*Mycobacterium Growth Indicator Tube*)

• Prosedur Kerja

Meliputi ekstraksi sampel tanaman obat dan pengujian antituberkulosis yang meliputi pembuatan media cair middlebrook 7H9, pembuatan stok larutan ekstrak berbagai konsentrasi (500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm dan 2000 ppm), dan uji MODS (*Microscopically Observed Drug Susceptibility*).

• Preparasi Sampel

Masing-masing kontrol dan ekstrak dari berbagai konsentrasi dipipet sebanyak 50 µl ke dalam well yang semuanya dilakukan secara duplo. Selanjutnya, ditambahkan 950 µl suspensi bakteri ke seluruh well pada plate. Plate dimasukkan ke dalam plastik klip dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu 37 °C. Setelah inkubasi semua well diamati menggunakan mikroskop. Reaksi penghambatan dapat dilihat dengan berkurangnya atau tidak terlihatnya *cord* dibandingkan kontrol negatif. Ekstrak tanaman obat yang berpotensi sebagai antituberkulosis selanjutnya diuji golongan senyawanya menggunakan pereaksi untuk masing-masing senyawa. Diantaranya steroid, flavanoid, tannin, saponin, dan kuinon.

3. Hasil Penelitian

Pengujian skrining aktivitas antituberkulosis ekstrak etanol tanaman obat diantaranya daun mengkudu (*Morinda citrifolia*), daun benalu jeruk (*Dendrophthoe pentandra*), daun delima (*Punica granatum*), dan kayu jawa (*Lannea coromandelica*) terhadap bakteri uji bakteri *Mycobacterium tuberculosis* galur sensitif (H37Rv) dan resisten (HE) sebagaimana yang tercantum pada tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Hasil skrining aktivitas antituberkulosis ekstrak etanol berbagai tanaman obat dengan metode MODS terhadap bakteri uji bakteri *M.tb* galur sensitif (H37Rv)

Perlakuan	Jenis Ekstrak							
	Mengkudu		Delima		Benalu		Kayu jawa	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Kontrol -	++	++	++	++	++	++	++	++
Kontrol +	-	-	-	-	-	-	-	-
Kons. 2000 ppm	-	-	+	+	++	++	+	+
Kons. 1500 ppm	-	-	+	+	++	++	+	+
Kons. 1000 ppm	-	-	+	+	++	++	++	++
Kons. 500 ppm	+	+	++	++	++	++	++	++

Keterangan :

- : Tidak ada pertumbuhan

- + : ada pertumbuhan (sedikit) < 10 cord
 ++ : ada pertumbuhan (banyak) > 10 cord

Tabel 2 Hasil skrining aktivitas antituberkulosis ekstrak etanol berbagai tanaman obat dengan metode MODS terhadap bakteri uji bakteri *M.tb* galur resisten (HE)

Perlakuan	Jenis Ekstrak							
	Mengkudu		Delima		Benalu		Kayu jawa	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Kontrol -	++	++	++	++	++	++	++	++
Kontrol +	-	-	-	-	-	-	-	-
Kons. 2000 ppm	+	+	++	++	++	++	++	++
Kons. 1500 ppm	+	+	++	++	++	++	++	++
Kons. 1000 ppm	++	++	++	++	++	++	++	++
Kons. 500 ppm	++	++	++	++	++	++	++	++

Keterangan :

- : Tidak ada pertumbuhan
 + : ada pertumbuhan (sedikit) < 10 cord
 ++ : ada pertumbuhan (banyak) > 10 cord

Berdasarkan hasil skrining beberapa tanaman obat diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol daun mengkudu (*M. citrifolia*) telah terbukti dapat menghambat pertumbuhan *Mtb* galur sensitif (H37Rv) dan resisten (HE) dengan metode MODS. Aktivitas tuberkulosis terendah pada ekstrak etanol daun delima (*P. granatum*) dan kayu jawa (*L. coromandelica*) pada galur sensitif (H37Rv), namun tidak efektif pada galur resisten (HE). Sedangkan ekstrak daun delima (*P. granatum*) tidak memiliki aktivitas penghambatan pada kedua galur *Mtb*. Keempat tanaman obat yang telah dievaluasi aktivitas antituberkulosis dengan metode MODS, selanjutnya dipilih 1 (satu) tanaman yaitu daun mengkudu (*M. citrifolia*) untuk diuji golongan senyawa aktifnya.

Tabel 3. Hasil uji golongan senyawa aktif ekstrak etanol daun mengkudu (*M. citrifolia*)

Senyawa Aktif	Hasil Identifikasi		
	Warna Ekstrak	Warna yang terbentuk	Hasil
Flavanoid	Hijau Kehitaman	Orange	Positif
Kuinon	Hijau Kehitaman	Merah	Positif
Steroid	Hijau Kehitaman	Hijau Kebiruan	Positif
Tanin	Hijau Kehitaman	Hijau Kehitaman	Positif
Saponin	Hijau Kehitaman	Terbentuk busa	Positif

Hasil identifikasi dengan metode skrining fitokimia pada tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu (*M. citrifolia*) mengandung senyawa flavonoid, kuinon, steroid, tannin, dan saponin setelah ditambahkan beberapa pereaksi sesuai dengan jenis senyawa yang akan diuji. Senyawa aktif inilah yang menyebabkan ekstrak etanol daun mengkudu (*M. citrifolia*) bersifat antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis* galur sensitif (H37Rv) dan galur resisten (HE).

4. Pembahasan

Tuberkulosis merupakan penyakit infeksi berbahaya yang dapat menyebabkan kematian jutaan manusia yang disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Penelitian ini menggunakan bakteri uji dari dua galur *Mtb* yaitu galur sensitif (H37Rv) dan galur resisten (HE). Galur H37Rv masih peka dan dapat dibunuh oleh obat antituberkulosis (OAT) pilihan pertama yaitu rifampisin dan isoniazid. Sedangkan galur HE merupakan *Mtb* yang sudah resisten terhadap OAT isoniazid dan etambutol. Adanya efek samping yang ditimbulkan dari mengkonsumsi OAT menyebabkan banyaknya penderita yang putus pengobatan. Sehingga perlu dicari alternatif pengobatan lain dengan memanfaatkan tanaman herbal untuk pencegahan maupun pelengkap saat pengobatan TB.

Tanaman obat yang diuji sebagai antituberkulosis pada penelitian ini yaitu mengkudu (*Morinda citrifolia*), benalu jeruk (*Dendrophthoe pentandra*), delima (*Punica granatum*), dan kayu

jawa (*Lannea coromandelica*). Ekstrak etanol masing-masing tanaman obat diuji aktifitas antituberkulosis secara *in vitro* pada kedua galur *Mtb*. Hasil skrining menunjukkan bahwa dari keempat tanaman obat yang diuji hanya daun mengkudu (*M. citrifolia*) yang memiliki aktivitas antituberkulosis. Kedua galur *Mtb* yaitu galur sensitif (H37Rv) dan resisten (HE) dapat dihambat pertumbuhannya oleh ekstrak mengkudu (*M. citrifolia*) pada konsentrasi tertinggi 2000 ppm.

Metode pengujian antituberkulosis menggunakan metode MODS (*Microscopically Observed Drug Susceptibility*). Metode MODS memiliki beberapa keunggulan diantaranya pengerjaan yang cepat, sederhana, dan pengamatannya langsung di bawah mikroskop. Ciri khas dari metode ini yaitu terbentuknya *cord factor* pada kuman *Mtb* aktif yang terlihat di bawah mikroskop. *Cord factor* ini terbentuk dari agregasi dinding sel bakteri *Mtb* yang saling lengket dan membentuk formasi yang menyerupai “ekor kuda”. Semakin banyak koloni *Mtb* yang tumbuh pada media MODS maka akan semakin banyak *cord factor* yang terlihat di bawah mikroskop.

Daun mengkudu (*M. citrifolia*) memiliki aktivitas antituberkulosis dibandingkan dengan tanaman obat lain yang diuji pada penelitian ini. Namun penghambatannya dapat bekerja efektif pada konsentrasi tertinggi. Hal ini dapat disebabkan karena *Mtb* memiliki gen target yang sangat kompleks dibandingkan dengan bakteri lain. Senyawa aktif dalam ekstrak mengkudu (*M. citrifolia*) belum mampu menembus gen target *Mtb* secara efektif seperti mekanisme kerja OAT (Lakshmanan, 2011). Daun mengkudu memiliki kandungan senyawa antibakteri seperti flavonoid, kuinon, steroid, tannin, dan saponin. Kandungan kimia yang memberikan pengaruh penghambatan *Mtb* adalah senyawa flavonoid yang merupakan salah satu golongan fenol yang menyebabkan kerusakan struktur protein pada bakteri (Kameswari, 2013; Aryadi, 2014). Kandungan kimia flavonoid daun kedondong hutan (*Spondias pinnata*) dengan konsentrasi 50 mg/mL memiliki potensi sebagai antituberkulosis (Savitri, 2013). Sedangkan flavonoid pada ekstrak kencur dilaporkan oleh Garmana dkk (2011) juga dapat menghambat pertumbuhan *Mtb* galur resisten SR dan HE pada konsentrasi 100 µg/mL. Efektifitas ekstrak daun mengkudu (*M. citrifolia*) terhadap pertumbuhan *Mtb* hanya bersifat bakteriostatik yaitu kemampuan antibiotik yang hanya menghambat pertumbuhan bakteri dan bersifat sementara. Sedangkan untuk OAT bersifat bakteriosidal yang dapat membunuh pertumbuhan *Mtb*, namun dibutuhkan waktu yang rutin dan lama.

5. Kesimpulan

Mycobacterium tuberculosis galur sensitif (H37Rv) dan galur resisten (HE) hanya dapat dihambat oleh ekstrak etanol daun mengkudu (*M. citrifolia*) pada konsentrasi 2000 ppm dan berpotensi sebagai antituberkulosis.

Referensi

- Aryadi, I.G.A.I.P. 2014. “Pengaruh ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sebagai penyebab abses periodontal secara *in vitro*.” *Skripsi*. Universitas Mahasaraswati Denpasar. Denpasar.
- Fatmawati, Y. 2013. “Efektifitas ekstrak buah mengkudu (*Moringa citrifolia* L.) sebagai insektisida nabati terhadap mortalitas hama jagung.” Universitas Muhammadiyah Malang.
- Fajriah, dkk. 2007. “Isolasi senyawa antioksidan dari ekstrak etil asetat daun benalu *Dendrophthoe pentandra* L. Miq yang tumbuh pada inang Lobi-Lobi.” Pusat Penelitian Kimia. Serpong.
- Finnie, Aitebiremen G, Omokhua, Lyndy J. McGaw, Jeffrey F. 2015. “*Chromolaena odorata* (L.) R.M.King&H.Rob.(Asteraceae) in sub-Saharan Africa : A synthesis and review of its medicinal potential.” *Journal of Ethnopharmacology*.
- Garmana A.N., Sukandar, E.Y., Fidrianny I. 2011. “Uji aktivitas ekstrak beberapa tumbuhan terhadap *Mycobacterium tuberculosis* galur sensitif dan resisten.” *Acta Pharmaceutica Indonesia* 36(3) 2011-2035.

- Kameswari, M. S., I. N. K. Besung, dan H. Mahatmi. 2013. "Perasan daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro." *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus* 2(3): 322-330.
- Lakshmanan, D. et al., 2011, "Ethyl pMethoxycinnamate isolated from a traditional antituberculosis medicinal herb inhibits drug resistant strains of *Mycobacterium tuberculosis* in vitro." *Fitoterapia* 82: 757-761.
- Savitri, L.P.V.A., Ariantari, N.P., Dwija, I.B.N.P. 2013. "Potensi antituberkulosis ekstrak n-heksana daun kedondong hutan (*Spondias pinnata* (L.f) Kurz.)." *Jurnal Farmasi Udayana* 105-108.
- World Health Organization. 2017. "Drug-resistant Tuberculosis." Geneva.