



Hambatan Pertumbuhan Koloni *M.tuberculosis* H37RV dan MDR-TB oleh Ekstrak Daun *Hibiscus similis* (Waru) di Laboratorium

Misnadiarly , Yun Astuti. N

Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Farmasi,
Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, Indonesia

ABSTRAK

Pendahuluan: Masalah resistensi kuman TB maupun yang *Multi Drugs Resistance (MDR)* makin besar dan menimbulkan masalah penanganan di masa depan. Salah satu usaha untuk mengatasinya adalah mengembangkan obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan/ herbal. Untuk itu dilakukan penelitian potensi ekstrak daun Waru (*H.similis*) untuk menghambat pertumbuhan koloni bakteri *M.tuberculosis strain H37RV* dan *strain MDR-TB* di laboratorium. .

Metoda : Dilakukan test potensi ekstrak *H.similis* terhadap *strain* kuman *M. tuberculosis H37RV* dan *strain MDR-TB* dengan metoda uji konsentrasi kuman dengan media Lowenstein-Jensen (L-J) dan media 7H10 Agar Plate selama 5 minggu masa inkubasi kuman.

Hasil : Pada konsentrasi 36 mg/ ml. ada hambatan pertumbuhan kuman pada media L-J sebesar 85 % sampai 40 % untuk *strain H37RV*; tak ada hambatan untuk *strain MDR-TB*. Pada percobaan dengan media 7H10 Agar Plate, hambatan terjadi pada 2 konsentrasi, namun untuk *strain MDR-TB* tetap tidak ada hambatan pertumbuhan. Pola resistensi berkisar antara 15 % dan 100 % dan sensitifitas 40 % dan 85%.

Simpulan: Ekstrak daun Waru pada konsentrasi 36 mg/ ml dapat menghambat pertumbuhan koloni kuman TB *H37RV* sebesar 85 %, Sedangkan untuk *strain MDR-TB* tidak ada hambatan.

Kata Kunci : *M.tuberculosis*, MDR-TB, *H.similis*, Waru

PENDAHULUAN

Sekitar sepertiga populasi penduduk dunia telah terinfeksi tuberkulosis(TB), dan kejadian ini terus meningkat; dilaporkan lebih dari 90% kasus kematian akibat TB terjadi di negara berkembang^(1,3). Indonesia termasuk penyumbang kasus TB terbesar ke tiga di dunia⁽²⁾.

Resistensi kuman Tb atau *Multi Drug Resistance (MDR)* –TB makin meluas akibat penanganan yang belum baik. MDR-TB (TB yang resisten terhadap minimal INH dan Rifampisin) telah menimbulkan kekhawatiran terhadap penanganan TB di masa depan⁽³⁾.

M.tuberculosis seperti halnya pada umumnya Basil Tahan Asam (BTA) me-

iliki komponen dinding khusus terdiri dari lapisan lipid, peptidoglikan dan arabinomanan⁽⁴⁾ sehingga menurunkan permeabilitas obat dan bisa mengalami mutasi gen kunci yang dapat mengubah sasaran obat; mekanisme terakhir ini yang paling utama menimbulkan MDR (3).

Berbagai upaya telah dilakukan untuk menangani masalah MDR-TB, seperti strategi DOTS (*Direct Observed Treatment Strategy*) yaitu pengawasan langsung pasien menelan obat, vaksin *M.vaccae* untuk imunoterapi penderita TB, penerapan surveilans global MDR-TB dll.

Salah satu upaya lain yang juga merupakan kegiatan WHO adalah me-

ngembangkan obat berasal dari tumbuh-tumbuhan yang teruji klinis⁽⁵⁾. Banyak peneliti yang berminat antara lain: Genty dkk dengan tulisan "Anti tuberculosis natural products from the roots of commercial *Hydrostis canadensis* powder" (1998); Folb P dkk dalam "The in vitro efficacy test of plants used in the traditional treatment of Tb in Southern Africa against Mycobacteria⁽⁶⁾". Sedangkan WHO telah mempublikasikan Traditional Medicine Development (2000).

Di Indonesia, daun Waru (*Hibiscus similis*) telah sejak lama dikenal sebagai obat batuk dan batuk darah⁽⁷⁾; studi pendahuluan di laboratorium menunjukkan bahwa ekstrak daun Waru dapat menghambat pertumbuhan



kuman *M.tuberculosis strain H37RV*⁽⁸⁾. Daun jenis tumbuhan ini terbukti mengeluarkan zat allelopat bersifat antibiotik yang tahan suhu tinggi⁽⁹⁾. Waru lengis yang dicampur dengan daun Pegagan, Kencur, Widoro upas, biji Propuri dan Legundi, berkhasiat sebagai obat penyakit TB⁽¹⁰⁾.

Komposisi kandungan daun Waru di antaranya telah diteliti yaitu: butir pati, lignin, tannin dan gula. Gula cairan nectar daun Waru terdiri dari: fruktosa, sukrosa, glukosa dan gula tidak dikenal (tabel 3). Zat-zat ini disekresikan melalui "nectarium extrafloral" atau kelenjar nectar daun yang terdapat di tulang daun bagian permukaan bawah helai daun. Sekresinya dua kali lebih banyak di sore hari daripada di pagi hari⁽¹¹⁾. Nectar merupakan karbohidrat berlebihan berupa cairan phloem; ada pendapat bahwa nectar disuplai oleh phloem⁽¹²⁾.

Tulisan ini melaporkan potensi ekstrak daun Waru (*H.similis*) untuk menghambat pertumbuhan kuman *M.tuberculosis H37RV* dan *strain M.tuberculosis MDR* melalui penelitian bakteriologis di laboratorium.

BAHAN PENELITIAN

Bahan penelitian berupa ekstrak daun Waru yang dibuat oleh laboratorium POM (Pengawasan Obat dan Makanan) menurut standar kualitas dan ste-

rilisasi. Bahan kuman *M. tuberculosis/ TB* berasal dari laboratorium Mikrobiologi RS. Persahabatan, Jakarta terdiri dari *strain TB* standar H37RV dan *strain MDR-TB*.

Bahan-bahan lain terdiri dari media Lowenstein-Jensen, dibuat di Lab TB Puslitbang Pemberantasan Penyakit Badan Litbang Kesehatan /P5 dan penelitian dikerjakan di lab P5 tersebut.

Dilakukan test ulang resistensi *strain MDR-TB*.

METODA

Pengenceran ekstrak daun Waru dilakukan oleh peneliti dan staf Puslitbang Farmasi dan Obat Tradisional. Penelitian, pemeriksaan bakteriologis dilakukan oleh peneliti dan staf Puslitbang Pemberantasan Penyakit.

Pengujian dilakukan dengan cara mencampur cairan ekstrak dari masing-masing konsentrasi (ada 6 konsentrasi, yaitu WR1 36 mg/ ml; WR2 24 mg/ ml ; WR3 16 mg/ ml; WR4 10,6 mg/ ml; WR5 7,2 mg/ ml dan WR6 4,8 mg/ ml). Masing-masing 2 ml dosis ekstrak waru tersebut dipipet dan dituang ke dalam 50 ml media Lowenstein-Jensen (L-J) cair. Setelah merata / homogen, dituang ke dalam masing-masing tabung 6 ml, lalu diinfisasikan (disterilkan) pada infisator (alat infisasi

untuk pembekuan media L-J) dan sterilisasi dengan suhu 60°C selama 1 jam, pada kondisi tabung miring untuk memperoleh media L-J sloof) sampai media membeku, setelah dingin infisasi diulang 2 kali lagi.

Pada media mengandung ekstrak diinokulasi/ ditanam suspensi bakteri TB H37RV dan suspensi bakteri TB MDR; kontrol positif menggunakan media L-J tanpa campuran ekstrak dan ditanami suspensi kedua *strain*, diinkubasi bersama pada suhu 37°C selama 5 minggu. Dilakukan pengamatan setiap minggu dan pencatatan akhir setelah minggu ke 4 .

Sebagai kontrol, dilakukan test ulang resistensi terhadap *strain MDR-TB* dan test resistensi terhadap *strain H37RV* sesuai tes yang digunakan di Lab RSP pada tes awal, yaitu: INH 0,2 mcg/ml, Rifampicin 40 mcg/ml, Streptomycin 4 mcg/ml dan Ethambutol 3 mcg/ml.

Percobaan lain menggunakan petridisk yang sebelumnya diinokulasi dengan suspensi kuman secara merata ke seluruh permukaan media 7 H10 Agar, lalu pada disc ditempatkan kertas saring berdiameter 2 cm, ditetesi cairan ekstrak konsentrasi tertentu dan kontrol tanpa ditetesi ekstrak, dinkubasi 5 minggu dan dilakukan pembacaan hasil.

Tabel 1. Hasil Uji Daya hambat pertumbuhan koloni strain H37RV dan strain MDR-TB menurut konsentrasi ekstrak daun waru

Strain WR6	C		WR1		WR2		WR3		WR4		WR5		WR6	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
1. H37RV														
Jml koloni	>100	>100 tambah merata	15	100	100	100	100	100	60	100	100	100	100	100
Tingkatan	9	9	6	8	8	8	8	8	7	8	8	8	8	8
Batasan	N	N	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
2. MDR-TB														
Jml koloni	>100	>100 tambah merata	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Tingkatan	9	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Batasan	N	N	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

Keterangan :
 C : Kontrol, WR : Ekstrak Waru konsentrasi I... dst
 Batasan: N : Tumbuh Normal, S : Sensitif, R : Resisten, Y : Kontaminasi



Tingkatan:

- 0 koloni negatif (tak ada pertumbuhan koloni sama sekali) sensitif
- 1-5 ditulis jumlahnya sensitif
- 6 (6-24 koloni) hampir sensitif atau resisten agak rendah
- 7 (25-100 koloni) resisten
- 8 100 koloni sangat resisten
- 9 >100, tumbuh merata kontrol

Tabel 2. Hambatan pertumbuhan kuman dengan percobaan dengan media 7H11 Agar petridisk / plate

Strain	WR1	WR2	WR3	WR4	WR5	WR6
H37RV	-	-	+	+	+	+
MDR-TB	+	+	+	+	+	+

Keterangan :

- sensitif
- + resisten

Table 3. Nilai migrasi karbohidrat standar dari Sampel Nectar daun *H.similis* (hasil pemeriksaan kromatografi nectar daun Waru.)

Carbohidrat	Rf	Nectar	
		Pagi	Sore
Tak dikenal	9,67	+	++
Lactosa	81,72	-	-
Galactosa	81,79	-	-
Froktosa	91.31	+	++
Manitol	96,77	-	-
Sukrosa	100.00	+	++
Xylosa	102.15	-	-
Arabinosa	103,40	-	-
Sarbosa	104,54	-	-
Sorbitol	111,82	-	-
Glukosa	104.30	+	++

HASIL

Pada konsentrasi WR1 36 mg/ml (2 ml Ekstrak 36 mg/ml + 50 ml Media L-J) ada hambatan tumbuh koloni strain *M. Tuberculosis* standar H37RV pada sediaan 1 sebesar 100% - (15 / 100 x 100%) = 85%, masih dianggap sensitif/ mendekati sensitif, atau resisten agak rendah; sedangkan pada sediaan no. 2 tidak ada hambatan atau 0%.; hal ini perlu diteliti lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih banyak (3-5 ulangan).

Pada WR 4, ada pertumbuhan sejumlah 60 koloni, hambatan pada WR 4 adalah

$$100\% - (60/100 \times 100\%) = 40 \%$$

Hambatan pada WR 2, WR 3, WR5 dan WR 6, adalah 100% - (100/100x100%) = 0 (tak ada hambatan), jumlah koloni sama dengan kontrol. Artinya sangat resisten.

Pertumbuhan koloni (1-5) dikategorikan sensitif⁽¹³⁾, karena bakteri masih bisa terbunuh dengan anti-mikobakterial umum dalam masa pengobatan Tb 6 bulan. Kondisi tumbuh di atas 5 koloni dianggap resisten untuk anti-mikobakterial Tb umum; dan memerlukan anti-mikobakterial khusus yang

lebih poten (diperlukan test resistensi untuk penentuan obat yang paling sensitif).

Pada studi ini konsentrasi Waru 1 dianggap cukup sensitif untuk pengobatan TB non-MDR karena nilai hambatannya cukup besar (85%). Konsentrasi yang lebih tinggi mungkin lebih efektif, tetapi masih perlu diteliti lebih lanjut.

Terdapat perbedaan hambatan strain H37RV dan strain MDR-TB pada metoda yang berbeda (Tabel 2).

Tampaknya ekstrak Waru lebih efektif untuk strain H37RV dibandingkan strain MDR-TB (tabel 1 dan 2). Pada percobaan media 7H10 Agar petridisk, cairan ekstrak Waru diteteskan langsung pada kertas saring dalam media tanpa pengenceran, tampak efek hambatannya lebih tinggi.

Ekstrak daun Waru tidak dapat menghambat pertumbuhan kuman *Mycobacterium tuberculosis* multi resisten (MDR-TB). Namun terhadap strain kuman H37RV, ekstrak daun Waru secara kualitatif menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan pada dosis 36 mg/ ml (WR1) dan 24 mg/ ml (WR2).

DISKUSI

Daya hambat pertumbuhan kuman tuberkulosis daun *H.similis* (Waru) mungkin disebabkan gula / karbohidrat (fruktosa, sukrosa, glukosa dan karbohidrat tak dikenal) yang diekskresikan oleh kelenjar nectar (nectarium extrafloral) yang terdapat pada tulang daun permukaan bawah helaian daun Waru (Tabel 3), Selain itu pemeriksaan **histokimia** daun Waru, menunjukkan adanya tannin di sel korteks, epidermis, sekitar phloem dll, lignin di sel xylem dan butir pati di sel-sel parenkim phloem (11).

Penelitian pendahuluan di laboratorium (8) menunjukkan bahwa ekstrak Waru dapat merusak dinding sel bakteri TB H37RV; zat allelopat pada ekstrak Waru melarutkan karetenoid yang terdapat di dinding sel bakteri



oleh dan menyebabkan basil tahan asam kelihatan sebagai batang yang terputus-putus; membuktikan bahwa ekstrak Waru merusak dan menghambat pertumbuhan kuman TB-H37RV. Pada penelitian ini, didapatkan konsentrasi minimal yang menghambat 85% dan 40% pertumbuhan strain H37RV.

Dengan konsentrasi ekstrak Waru yang lebih tinggi, daya hambat pertumbuhan kuman baik untuk strain H37RV maupun strain MDR-TB, diharapkan lebih tinggi dan dapat digunakan untuk obat alternatif penderita TB.

Penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi tertentu ekstrak Waru dapat menghambat pertumbuhan koloni TB-H37RV, dengan demikian dapat merupakan pengobatan TB alternatif masa depan; hal ini tentu memerlukan penelitian lanjut dengan konsentrasi Waru yang lebih tinggi, sampel yang lebih banyak, uji pada hewan coba dan terapan pada manusia.

SIMPULAN DAN SARAN

Ekstrak daun Waru (*H.similis*) pada konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan koloni kuman TB strain H37RV; masih diperlukan penelitian lanjutan untuk menentukan manfaatnya dalam klinik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aditama TjY. Tuberkulosa masa datang. Seminar sehari di RSUD Tangerang
2. Aditama TjY. Paru kita, Masalah kita. Warta TB. 0.01/1.2002, 02/ 111/2002, hal 4-5
3. Jalan kebal, Biang Batuk darah. Farmacia, April 2004
4. Aryanto Suwondo. Bagaimana Mendiagnosa Tuberkulosis secara cepat dan akurat. The 2nd Symposium on Cardiovascular, Respiratory Immunology. From Pathogenesis to Clinical Application 2003, hal 1-4
5. WHO. Traditional Medicine. Better Science, Policy and Service for Health Development, WHO Kobe Centre,2000. hal 45-52
6. Fold P, Smith P, Steyn L et.al The in vitro efficacy test of plants used in the traditional treatment of tuberculosis in Southern Africa. 2001.
7. Sastroamidjoyo. Obat Asli Indonesia. Pustaka Rakyat
8. Misnadiarly, Nunik Siti Aminah. Studi pendahuluan Pengaruh Ekstrak Daun Waru (*H.similis*) terhadap kuman M.tuberculosis H37RV di laboratorium, CDK 1993; 39-40
9. Rice EL. Allelopathy. New York: Academic Press 1974. p. 315
10. Fachmi ZE. Pustaka Ramuan Tradisionil Madura, Arab, Java. Jakarta: penerbit Dino.
11. Misnadiarly. Morfologi dan Anatomi pertumbuhan Nectarium Extrafloral *H.similis*. Thesis Sarjana Biologi ITB
12. Frey Wysling, A. The Phloem supply to the Nectarium. Acta Bota C Neerlandicus. 1955; 4.
13. Diklat pemeriksaan TB dan Test Resistensi RSP

Kami Tunggu Tulisan Anda Mengenai :



KARDIO

KESEHATAN ANAK

GASTROENTEROLOGI