25

KESEHATAN

LAPORAN AKHIR HIBAH PENELITIAN STRATEGI NASIONAL
TAHUN ANGGARAN 2010

Uji Daya Hambat *Mycobacterium tuberculosis* dari Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* Hall)

Dr. Mangestuti Agil, Apt., MS
Dr. Noor Erma Sugianto, Apt., MS
Rr. Retno Widyowati, S.Si., Apt., M.Pharm
Neny Purwitasari, S.Farm., Apt.

Dibiayai oleh DIPA Universita Airlangga, sesuai dengan Surat Keputusan Rektor Tentang Kegiatan Penelitian Strategis Nasional dan Penelitian Multi Tahun Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2010 Nomor: 5553/H3/KR/2010, Tanggal 11 Maret 2010

Universitas Airlangga
Oktober 2010

LAPORAN AKHIR HIBAH PENELITIAN STRATEGI NASIONAL
TAHUN ANGGARAN 2010

Uji Daya Hambat *Mycobacterium tuberculosis* dari Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* Hall)

Dr. Mangestuti Agil, Apt., MS
Dr. Noor Erma Sugianto, Apt., MS
Rr. Retno Widyowati, S.Si., Apt., M.Pharm
Neny Purwitasari, S.Farm., Apt.

Dibiayai oleh DIPA Universita Airlangga, sesuai dengan Surat Keputusan Rektor Tentang Kegiatan Penelitian Strategis Nasional dan Penelitian Multi Tahun Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2010 Nomor: 5553/H3/KR/2010, Tanggal 11 Maret 2010

Universitas Airlangga
Oktober 2010

HALAMAN PENGESAHAN

1. **JUDUL** : Uji Daya Hambat *Mycobacterium tuberculosis* dari Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* Hall)

2. **Ketua Peneliti**
   a. Nama lengkap : Dr. Mangestuti Agil, Apt., MS
   b. Jenis kelamin : ~~Laki-laki~~/Perempuan
   c. NIP : 19500422 198001 2001
   d. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala
   e. Jabatan Struktural : Ketua Humas Unair
   f. Bidang Keahlian : Kefarmasian, Farmakognosi & Fitokimia
   g. Fakultas/Jurusan : Farmasi
   h. Perguruan tinggi : Universitas Airlangga

Tim Peneliti

No	Nama Peneliti	Bidang Keahlian	Fakultas/ Jurusan	Perguruan Tinggi
1.	Dr. Mangestuti Agil, Apt., MS	Kefarmasian, Farmakognosi, Fitokimia	Farmasi	Universitas Airlangga
2.	Dr. Noor Erma Sugianto, Apt. MS	Kefarmasian, Mikrobiologi	Farmasi	Universitas Airlangga
3.	Rr. Retno Widyowati, S.Si., Apt., M.Pharm	Kefarmasian, Farmakognosi, Fitokimia	Farmasi	Universitas Airlangga
4.	Neny Purwitasari, S. Farm., Apt.	Kefarmasian, Farmakognosi, Fitokimia	Farmasi	Universitas Airlangga

3. **Pendanaan dan jangka waktu penelitian**
   a. Jangka waktu penelitian yang diusulkan : 1 (satu) tahun
   b. Biaya yang diusulkan : Rp. 100.000.000
   c. Biaya yang disetujui : Rp. 67.000.000

Surabaya, 15 November 2010
Ketua Peneliti,

Dr. Mangestuti Agil, Apt., MS
NIP 19500422 198001 2 001

Mengetahui
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Airlangga,

Dr. Hj. Umi Athijah, Apt., MS
NIP. 19560407 198103 2 001

Mengetahui
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat

Dr. Djoko Agus Purwanto, Apt., MSi
NIP.19590805 198701 1 001

A. LAPORAN HASIL PENELITIAN

RINGKASAN

Bidara upas yang mempunyai nama ilmiah *Merremia mammosa* Hall adalah tanaman yang tumbuh subur di Pulau Madura. Secara turun temurun penduduk di daerah tersebut menggunakan umbi bidara upas sebagai obat untuk penyakit infeksi tuberkulosis, yaitu dengan cara meminum air rebusan umbinya.

Untuk memberikan dukungan ilmiah pada pemakaian umbi bidara upas sebagai obat pada penyakit tersebut, maka dilakukan penelitian uji daya hambat ekstrak air, *n*-heksana dan metanol dari umbi bidara upas terhadap bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.

Ekstrak air, *n*-heksana dan metanol dari umbi bidara upas dibuat dengan cara perendaman (maserasi), dan selanjutnya dilakukan skrining fitokimia terhadap senyawa kandungan yang terdapat didalamnya. Hasil skrining tersebut menunjukkan, bahwa ekstrak air mengandung senyawa golongan polifenol, ekstrak *n*-heksana mengandung senyawa golongan triterpenoid dan terpenoid, sedangkan ekstrak metanol mengandung senyawa golongan polifenol dan flavonoid.

Uji daya hambat *Mycobacterium tuberculosis* menunjukkan, bahwa ekstrak air memberikan konsentrasi hambatan minimum (KHM) sebesar 400 µg/ml, ekstrak *n*-heksana 400 µg/ml, dan ekstrak metanol 500 µg/ml. Hasil tersebut diperkuat melalui uji Basil Tahan Asam (BTA) yang menggunakan pewarnaan Zielh-Neelsen dan uji niacin.

Hasil uji toksisitas akut dan sub kronik dari ekstrak *n*-heksana dan metanol umbi bidara upas menunjukkan gambaran bahwa kedua ekstrak tersebut relatif aman untuk digunakan, karena tidak menyebabkan kematian hewan percobaan mencit dan tikus yang digunakan, selain itu terdapat kesamaan parameter organ hati hewan pada kelompok perlakuan dan kontrol negatif.

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut guna melakukan fraksinasi dan isolasi, senyawa aktif dari ekstrak air, *n*-heksana dan metanol yang berkhasiat sebagai anti tuberkulosis.

ABSTRACT

Antibacterial effect of *n*-hexane, methanol, and water extracts of bidara upas tuber (*Merremia mammosa* Hall) against *Mycobacterium tuberculosis*

The antibacterial activity of *n*-hexane, methanol and water extracts of bidara upas tuber (*Merremia mammosa* Hall) against *Mycobacterium tuberculosis* has been studied using Agar Dilution Method at concentrations of 25 - 8000 µg/ml.

The results showed that the water, *n*-hexane and methanol extracts have anti-tuberculosis property with Minimal Inhibition Concentration (MIC) at 400, 400 and 500µg/ml, respectively. The results were supported by the coloring experiment with Ziehl-Neelsen.

The acut and sub chronic toxicity tests were also conducted. Results showed that all mice and rats in the experiments remain alive and were in good healthy status. Their liver organs are in good condition compare to the control group.

Keyword: antibacterial, water extract, *n*-hexane extract and methanol extract, *Merremia mammosa* Hall, *Mycobacterium tuberculosis*, acut and sub chronic toxicity test

PRAKATA

Puji syukur ke hadapan Tuhan Yang Maha Esa, bahwa atas berkat dan rahmatNya kami mendapatkan kesempatan untuk melakukan penelitian tanaman bidara upas, yang berjudul: **"Uji Daya Hambat *Mycobacterium tuberculosis* dari Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* Hall.)"**.

Penelitian tersebut diperlukan untuk memberikan landasan ilmiah pada pemakaian umbi bidara upas sebagai obat anti tuberkulosis yang sudah berlangsung secara turun temurun di kalangan masyarakat yang bermukim di Kepulauan Madura, Jawa Timur. Hasil yang diperoleh melalui penelitian ini diharapkan dapat memberikan jalan alternatif bagi pemberantasan penyakit infeksi tuberkulosis yang sampai saat ini masih menduduki angka penularan tinggi.

Oleh karena itu, maka bersama ini kami menyampaikan ucapan terima kasih atas kesempatan yang sudah kami peroleh kepada:

1. Pemerintah Republik Indonesia yang sudah memberikan kesempatan dan anggaran untuk melakukan penelitian tanaman obat.

2. Rektor Universitas Airlangga atas dorongan dan kesempatan yang diberikan bagi pengembangan ilmu.

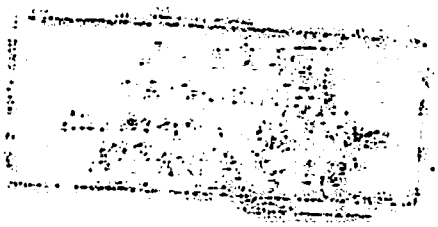
3. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang senantiasa memberikan kesempatan kepada para staf pengajar untuk melakukan penelitian.

4. Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Airlangga yang selalu memberikan kesempatan dan bimbingan bagi terselenggaranya penelitian bagi peneliti Universitas Airlangga.

Kami berharap, agar hasil penelitian ini bermanfaat bagi pengembangan dunia pengobatan untuk pemberantasan penyakit menular, yaitu tuberkulosis. Pemberantasan penyakit menular tersebut merupakan persyaratan yang harus dipenuhi bagi tercapainya cita-cita masyarakat Indonesia sehat jasmaniah dan rohaniah.

Terima kasih.

Ketua Peneliti



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL

DAFTAR GAMBAR

LAMPIRAN

BAB I
PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit menular yang langsung disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dan dapat menyerang paru-paru atau organ tubuh yang lainnya. Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* bersifat khusus, yaitu tahan terhadap asam pada pewarnaan sehingga disebut Basil Tahan Asam (BTA), cepat mati dengan sinar matahari langsung, tetapi dapat bertahan hidup beberapa jam di tempat yang gelap dan lembab. Di dalam jaringan tubuh bakteri ini dapat bersifat tidak aktif (*dormant*) (Anonim, 2002).

Menurut WHO terdapat 22 negara yang mempunyai angka prevalensi penderita penyakit tuberkulosis yang tinggi, 10 negara berada di Asia dengan prevalensi yang tertinggi diantaranya India, Cina dan Indonesia. Laporan WHO yang terbaru (2006), masih menempatkan Indonesia sebagai penyumbang tuberkulosis terbesar nomor 3 di dunia setelah India dan Cina dengan jumlah kasus baru yang mencapai sekitar 539.000, dan jumlah kematian sekitar 101.000 per tahun (Anonim, 2004). Masalah TB hampir terdapat di seluruh wilayah Indonesia. Dimana tingkat prevalensi tuberkulosis di DIY-Bali sebesar 64/100.000 orang, Jawa sebesar 107/100.000 orang, Sumatera sebesar 160/100.000 orang, dan wilayah Kawasan Timur Indonesia memiliki tingkat prevalensi yang lebih tinggi (210/100.000 orang) (Anonim, 2004).

Kasus tuberkulosis ini meningkat disebabkan karena tingginya angka resistensi terhadap obat tuberkulosis, baik resistensi primer maupun sekunder. Beberapa resistensi tuberkulosis ini disebabkan karena pemakaian obat anti-tuberkulosis (OAT) tunggal, kombinasi OAT yang tidak memadai dan pemakaian OAT yang tidak teratur (Mansyur, 2001). Ketidakpatuhan penderita TB dalam menjalani pengobatan terutama adalah kelalaian, berhenti sebelum akhir pengobatan, dan kambuhnya penyakit. Sementara itu, penanggulangan penyakit TB-paru pada penderita dengan kuman TB sensitif memerlukan waktu 6 bulan, sedangkan bagi penderita TB yang resisten (MDR-TB) harus menggunakkan OAT lini kedua. Selain mahal, toksik dan berefek samping, angka kesembuhan pengguna OAT lini ke dua tidak dapat dipastikan, serta membutuhkan waktu yang lama (Simon & Iyawoo, 2005).

Peningkatan angka prevalensi TB juga disebabkan karena penanggulangan TB-paru pada penderita dengan kuman TB sensitif yang memerlukan waktu pengobatan 6 bulan, sedangkan penderita TB yang resistensi (MDR-TB) harus menggunakan OAT lini kedua yang sangat mahal (Zulkarnain, 2004).

Berdasarkan alasan-alasan dan fakta tersebut di atas, maka dibutuhkan alternatif obat yang memanfaatkan penggunaan bahan alam. Pengobatan dengan cara seperti ini telah lama dilakukan oleh masyarakat, dimana hal ini didukung melalui data, bahwa sekitar 75-80% penduduk dunia tidak mendapatkan pengobatan klinik guna mengatasi penyakit yang dideritanya. Hal ini menunjukan pentingnya obat tradisional dalam peningkatan kesehatan masyarakat.

Beberapa keuntungan obat tradisional dibandingkan obat modern, antara lain berkhasiat nyata, mempunyai efek samping yang relatif rendah dan mengandung komponen senyawa yang bekerja secara saling mendukung. Selain itu, satu jenis tanaman dapat memiliki lebih dari satu efek farmakologi. Keunggulan penting lain dari obat bahan alam atau fitoterapi adalah ketersediaan bahan dalam jumlah yang cukup besar, terutama di negara berkembang (Wijisekera, 1991).

Salah satu tumbuhan yang belum banyak dikenal masyarakat Indonesia namun memiliki prospek sebagai salah satu sumber bahan pengobatan adalah umbi bidara upas dengan nama ilmiah *Merremia mammosa* Hall dari suku Convolvulaceae. Tanaman ini banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Sampang-Madura untuk mengobati tuberkulosis (Hembing dkk, 1996). Bagian yang sering digunakan sebagai obat tuberkulosis adalah umbinya (Anonim, 1980). Berdasarkan studi ethnobotani tersebut maka pemilihan tumbuhan ini dilakukan sebagai bahan penelitian.

Sebagai pendekatan untuk mengetahui aktivitas biologis pada tanaman ini, maka dilakukan uji daya anti-bakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis* secara *in vitro* dengan menggunakan metode dilusi agar. Kemudian etambutol digunakan sebagai kontrol positif. Uji daya hambat antibakteri ini akan dilakukan terhadap ekstrak air, *n*-heksana dan metanol dari umbi bidara upas dengan tujuan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum. Pada ekstrak yang memiliki KHM terendah, pada penelitian selanjutnya akan dilakukan fraksinasi lebih lanjut sehingga bisa diketahui komponen yang aktif sebagai anti-TB. Uji toksisitas akut dan sub kronik juga dilakukan pada penelitian dengan melihat parameter-parameter enzim seperti SGOT/SGPT dan histopatologi hepar pada hewan coba, sehingga akan diketahui keamanan atau toksisitas dari pemakaian umbi bidara upas dan terhadap tiap ekstrak juga dilaksanakan skrining fitokimia untuk mendapatkan informasi golongan senyawa kandungan.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Bidara Upas (*Merremia mammosa* Hall).

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Tumbuh-tumbuhan marga *Merremia* merupakan salah satu marga dari tumbuh-tumbuhan suku Convolvulaceae. Klasifikasi secara terperinci dari tumbuhan pada penelitian ini adalah sebagai berikut (Backer, 1965) :

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridae
Bangsa	: Convolvulales
Suku	: Convolvulaceae
Marga	: Merremia
Jenis	: *Merremia mammosa* (Lour.) Hall. F
Sinonim	: *Batatta mammosa*, Rumph.
	Convoivuius mammosa, Hall.
	Ipomoea mammosa, Chois.
Nama daerah	: Blamar, Widara upas, Haihale
Indonesia	: Bidara upas

2.1.2 Tempat Tumbuh (Anonim, 1980)

Merremia mammosa Hall mungkin didatangkan dari Philipina. Di Ambon dan Bali orang menyebutnya sebagai bengkuwang dan ditanam sebagai tanaman untuk dikonsumsi. Di kebun-kebun orang membiarkannya memanjat pohon-pohon melalui batang-batangnya yang bengkok, bulat dan ramping. Di Jawa tanaman ini ditanam di pekarangan dan di Madura kadang-kadang ditemukan tumbuh liar.

2.1.3 Morfologi Tanaman

Habitus	: tumbuhan memanjat
Batang	: melilit dengan batang-batangnya bengkok runcing, bulat dan ramping, dengan panjang batang 3-6 m
Daun	: tunggal, berseling, helai daun tak berbentuk perisai, pangkal daun berbentuk jantung atau bundar, ujung daun runcing, panjang daun 5-12 cm, lebar 4-15 cm.
Bunga	: berbentuk lonceng atau payung menggarpu, berbunga sampai 4; mahkota bunga puth, panjang 7-8 cm. Kelopak bunga 4 helai dan berbentuk bulat telur atau lonjong.
Umbi	: menyerupai kentang atau ubi jalar. Di tanah yang subur akan menjadi besar dibandingkan umbi biasa, dapat besar mencapai buah kelapa (Anonim, 1980).

2.1.4. Kandungan Tanaman

Tanaman bidara upas (*Merremia mammosa* Hall) mengandung suatu glikosida resin, zat pahit, amilum, tanin (Anonim, 1980). Dari hasil penelitian Kitagawa I. dkk antara tahun 1988-1996 juga dilaporkan bahwa terdapat senyawa golongan resin glikosida yaitu merremosida a, b, c, d, e, f, g, h1 dan h2 serta mammosida B, H1 dan band D (Kitagawa *et al.*, 1988; Kitagawa *et al.*, 1989; Kitagawa *et al.*, 1996).

2.1.5. Penggunaan Tanaman

Dari beberapa literatur diungkapkan bahwa tumbuhan *Merremia mammosa* Hall ini dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Bagian umbinya digunakan sebagai obat radang amandel, batuk rejan, bronkhitis, tuberkulosis dan batuk darah (Anonim, 1980).

2.2 Tinjauan Tentang Ekstrak

2.2.1 Definisi Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dari massa atau serbuk yang tersisa, dan diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.

Ekstrak cair adalah sediaan dari simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai pelarut atau sebagai pengawet. Jika tidak dinyatakan lain pada masing-masing monografi tiap ml ekstrak mengandung senyawa aktif dari 1 gram simplisia yang memenuhi syarat (Anonim, 2000).

2.2.2 Proses Pembuatan Ekstrak

a. Pembuatan serbuk simplisia

Proses awal pembuatan ekstrak adalah pembuatan serbuk simplisia kering dengan peralatan dan derajat kehalusan tertentu. Proses ini dapat mempengaruhi mutu ekstrak karena semakin halus serbuk simplisia proses ekstraksi akan semakin efektif dan efisien. Pelarut yang digunakan harus pelarut yang optimal untuk zat kandungan berkhasiat sehingga zat dapat dipisahkan dari bahan dan dari zat kandungan lain serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar zat kandungan yang diinginkan. Faktor utama untuk pemilihan cairan penyari adalah kemudahan dalam menarik zat kandungan yang berkhasiat, ekonomis, ramah lingkungan dan keamanan. Selanjutnya dilakukan separasi dan pemurnian untuk menghilangkan zat yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa dipengaruhi zat kandungan yang dikehendaki, termasuk juga pemisahan dari sisa pelarut yang tidak dikehendaki.

Pada proses selanjutnya dilakukan pemekatan ekstrak dan pengeringan ekstrak dimana pemekatan dilakukan untuk peningkatan jumlah atau konsentrasi zat terlarut, sedangkan pengeringan ekstrak dilakukan untuk megeringkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan serbuk, masa kering dan rapuh tergantung proses dan peralatan yang digunakkan (Anonim, 2000)

b. Cairan penyari

Pelarut yang optimal untuk zat kandungan berkhasiat sehingga zat dapat dipisahkan dari bahan dan dari zat kandungan lain serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar zat kandungan yang diinginkan.

Faktor utama pertimbangan untuk pemilihan cairan penyari adalah:

- Kemudahan proses dengan menggunakan cairan tersebut
- Ekonomis

- Ramah lingkungan
- keamanan

c. Separasi dan pemurnian

Untuk menghilangkan zat yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa dipengaruhi zat kandungan yang dikehendaki, termasuk juga pemisahan dari sisa pelarut yang tidak dikehendaki.

d. Pemekatan/penguapan

Pemekatan adalah peningkatan jumlah atau konsentrasi zat terlarut dengan cara menguapkan pelarut sampai menjadi kandungan kering sehingga ekstrak menjadi kental atau pekat.

e. Pengeringan ekstrak

Dilakukan dengan mengeringkan pelarut dari bahan sehingga menghasilkan serbuk, massa kering dan rapuh tergantung proses dan peralatan yang digunakan (Anonim, 2000).

2.2.3 Metode Pembuatan Ekstrak

a. Cara dingin
   - Maserasi
     Adalah proses pengekstrasian simplisia dengan menggunakan pelarut beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar)
   - Perkolasi
     Adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang pada umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Prosesnya terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak) terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

b. Cara panas
   - Refluks
     Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.
   - Soxhlet
     Ekstraksi yang dilakukan dengan alat khusus (ekstraktor soxhlet) sehingga terjadi ekstraksi berkelanjutan dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.
   - Digesti
     Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan berkelanjutan) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar) yaitu 40^0-50^0C.
   - Penyarian dengan pelarut air sampai pada suhu 90^0C
     Proses penyarian dengan pelarut air pada temperatur penangas air (90^0C) selama waktu 15-20 menit, menghasilkan ekstrak yang disebut infus.
   - Penyarian dengan pelarut air pada titik didih air (100^0C)
     Proses penyarian dengan pelarut air pada waktu yang lebih lama dari 20 menit dan temperatur sampai titik didih air (100^0C) menghasilkan ekstrak yang disebut dekok (Anonim, 2000).

2.3. Tinjauan Tentang Pembuatan Ekstrak Air

Cara pembuatan yaitu dengan mencampur simplisia degan derajat kehalusan yang sesuai dalam panci dengan air secukupnya, dipanaskan di atas penangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90^0C sampai sekali-sekali diaduk. Serkai selagi panas melalui kain flannel lalu di *frezee dry*.

2.4. Tinjauan Tentang Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah suatu penelitian pendahuluan fitokimia yang dilakukan dengan maksud untuk mendapatkan gambaran mengenai zat yang dikandung suatu tumbuhan dalam waktu singkat. Skrining fitokimia dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa cara yaitu reaksi warna, pengendapan, penggojokan atau kromatografi lapis tipis terhadap ekstrak umbi *Merremia mammosa* Hall, dengan tujuan untuk mengetahui golongan kandungan tanaman yang terlarut di dalamnya. Zat kandungan yang diteliti meliputi senyawa-senyawa golongan alkaloid, glikosida saponin, glukosida antrakinon, flavonoid, steroid dan triterpenoid (Harborne, 1987; Zaini & Indrayanto, 1987).

2.5. Tinjauan Tentang Bakteri Percobaan

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini yaitu: *Mycobacterium tuberculosis* H37RV ATCC 27294.

Gambar 2.1. Koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada media Lowenstein-Jenssen. (Jawetz *et. al.*, 1991).

2.5.1. Klasifikasi

Kingdom : Bacteria
Filum : Actinobacteria
Ordo : Actinomycetales
Famili : Mycobacteriaceae
Genus : *Mycobacterium*
Spesies : *Mycobacterium tuberculosis*
(Bonang & Koeswardono, 1982)

2.5.2. Morfologi Bakteri

Dalam jaringan binatang, basil tuberkel merupakan batang ramping lurus berukuran kira-kira 0,4 x 3 μm. Pada perbenihan buatan, terlihat bentuk kokus dan filament. Mikrobakteria tidak dapat diklasifikasikan sebagai gram-positif atau gram-negatif. Sekali diwarnai dengan zat warna basa, warna tersebut tidak dapat dihilangkan dengan alkohol, meskipun diberikan yodium. Basil tuberkel yang sebenarnya, ditandai oleh sifat tahan asam. Mikrobakteria kaya akan lipid kompleks, asam lemak, dan lilin (Jawetz *et. al.*, 1991).

2.5.3. Perbiakan

Mycobacterium tuberculosis tumbuh pada 3 jenis perbenihan yaitu perbenihan sintetik sederhana, perbenihan asam oleat albumin dan perbenihan kompleks organik. Tumbuh baik pada temperatur yang rendah (Jawetz *et. al.*, 1991).

2.5.4. Sifat-sifat Pertumbuhan

Dengan adanya kenaikan tekanan CO_2 dapat memperbesar pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis.* Bentuk saprofit cenderung tumbuh lebih cepat, berproliferasi dengan baik pada 22^0C, menghasilkan lebih banyak pigmen, dan kurang tahan asam daripada bentuk yang patogen (Jawetz *et. al.*, 1991).

Beberapa karakteristik yang membedakan *Mycobacterium tuberculosis* dengan mycobacteria yg lain, dan dari sebagian besar bakteri gram positif dan negatif umumnya adalah perbedaan sifat pada dinding selnya, yaitu Mycobacteria mempunyai lapisan peptidoglikan yang tidak memberikan warna pada pewarnaan dengan reagen, karena lapisan lipid yang ada disekitar peptidoglikan. Sebagian besar lipid itu disebut asam mikolat. Kandungan lipid pada mycobacteria cukup besar, yaitu 60 % dari berat selnya. Diketahui juga Mycobacteria tahan terhadap alkohol asam pada tahap penghilangan warna dan karenanya disebut basil tahan asam. Pewarnaan asam dengan menggunakan Ziehl-Neelsen. Suatu asam mikolat disebut faktor pengikat (*cord factor*) karena bertanggung jawab pada *serpentine cord* yang dihasilkan dari kultur mycobacteria (Boyd and Robert, 1995).

2.5.5. Epidemiologi Dan Etiologi

Sumber infeksi yang paling sering adalah manusia yang terinfeksi basil tuberkel dalam jumlah besar, terutama dari saluran pernapasan, kontak yang rapat (misal dalam keluarga) dan kontak secara masif (misalnya tenaga kesehatan) yang menyebabkan penularan melalui inti droplet yang kemungkinan sering terjadi. Cara untuk mencegah infeksi *Mycobacterium tuberculosis* yaitu dengan imunisasi BCG dan tes tuberkulin (Jawetz *et. al.*, 1991).

2.5.6. Patogenesis

Mycobacterium tuberculosis tidak menghasilkan toksin yang dikenal. Organisme dalam bentuk tetesan dari 1-5 μm terhirup dan mencapai alveoli. Penyakit akan timbul akibat menetapnya dan berpoliferasinya organisme virulen dan adanya interaksi dengan tuan rumah. Basil tidak virulen yang disuntikkan (BCG) hanya dapat hidup selama beberapa bulan atau tahun pada tuan rumah normal (Jawetz *et. al.*, 1991).

2.6. Tinjauan Tentang Antibiotik Untuk Tubekulosis

Antibiotika adalah zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama fungi yang dapat menghambat atau dapat membasmi mikroba jenis lain dalam jumlah kecil. Dewasa ini antibiotika dibuat secara semisintetik atau sintetik penuh.

Antibiotika harus bersifat toksisitas selektif setinggi mungkin, artinya obat tersebut harus bersifat sangat toksik untuk mikroba tetapi relatif tidak toksik terhadap inang. Kenyataanya obat yang bersifat toksisitas selektif belum atau tidak mungkin diperoleh. Berdasarkan sifat tersebut antibiotika dibagi menjadi dua, yaitu bersifat bakteriostatik dan bakteriosid. Bakteriostatik adalah antibiotika yang menghambat pertumbuhan mikroba, sedangkan bakteriosid adalah yang bersifat membunuh mikroba (Sulistia, 1995).

Aktifitas antibiotika satu dengan yang lainnya berbeda-beda. Ada yang aktif terhadap bakteri gram positif saja, gram negatif saja atau terhadap keduanya. Berdasarkan sifat-sifat tersebut antibiotika dibagi menjadi dua kelompok, yaitu berspektrum sempit (*narrow spectrum*) dan spektrum luas (*broad spectrum*).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibiotika dibagi dalam beberapa kelompok, yaitu antibakteri yang mengganggu metabolisme sel mikroba (contohnya: sulfonamide, Para-amino-salisilat, trimetoprim, etambutol). Mekanisme yang lain melalui hambatan sintesis dinding sel mikroba (contohnya: sefalosporin, penisilin), mengganggu permeabilitas membran sel mikroba (polimiksin), menghambat sintesis protein sel mikroba (aminoglikosid, linkomisin), menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel mikroba (contohnya: rifampisin, gol quinolon).

Efek lanjutan setelah pemakaian antibiotik adalah seringnya terjadi resistensi. Resistensi adalah suatu sifat tidak terganggunya kehidupan sel mikroba oleh antibakteri. Sifat ini merupakan suatu mekanisme alamiah untuk mempertahankan hidup, disamping itu ada efek samping yang ditimbulkan yang biasanya justru lebih merugikan.

Dalam penelitian ini digunakan antibiotika ethambutol sebagai kontrol positif untuk *Mycobacterium tuberculosis*. Etambutol mempunyai mekanisme kerja menghambat sintesis metabolit sel sehingga metabolisme sel terhambat dan sel mati. Etambutol merupakan serbuk hablur putih, sangat mudah larut dalam air, etanol dan metanol, sedikit larut dalam kloroform dan eter (Anonim, 1995).

Hampir semua galur *Mycobacterium tuberculosis* sensitif terhadap etambutol dan etambutol tidak efektif untuk kuman lain. Obat ini menekan pertumbuhan kuman tuberkulosis yang telah resisten terhadap isoniazid dan streptomisin (Sulistia, 1995).

2.7. Metode Penentuan Aktivitas Antibakteri

Ada tiga macam metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri, yaitu:

a. Metode penyebaran (*diffusion method*)
   - Metode cakram kertas (*paper disk method*)
   - Metode cairan dalam cincin (*ring diffusion method*)
   - Metode lubang (*hole plate method*)
b. Metode pengenceran (*dilution method*)
   - Metode pengenceran agar (*agar dilution method*)
   - Metode pengenceran tabung (*tube dilution method*)
c. Metode bioautografi (*bioautography method*)
   - Metode bioautografi kontak (*contact bioautography method*)
   - Metode bioautografi langsung (*direct bioautography method*)

- Metode bioautografi pencelupan (*immersion bioautography method*) (Bergne *et. al.*, 1988).

2.7.1. Metode Penyebaran

Metode ini menentukan efek antibakteri dengan jalan mengukur diameter zona hambatan dari antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri. Pada metode difusi, zat uji dapat diserapkan pada cakram kertas saring atau ditempatkan dalam sumur yang dibuat pada media dan zat uji dibiarkan melakukan kontak dengan kultur mikroba uji. Metode ini tidak membutuhkan dispersi yang homogen dari zat uji tetapi membutuhkan difusi dalam media berair, jadi metode ini memiliki kredibilitas rendah ketika sampel tidak memiliki kelarutan yang besar di dalam air seperti minyak atsiri atau beberapa ekstrak non polar. Keuntungan metode ini adalah sampel yang dibutuhkan berukuran kecil, bisa digunakan untuk skrining awal aktivitas antibakteri bahan murni (Rios, *et al.*, 1988).

2.7.2. Metode Pengenceran

Metode pengenceran dapat dilakukan dengan pengenceran dalam tabung reaksi, petri kecil dan dengan lempeng mikroliter dengan 96 lubang. Cara pengenceran dalam tabung dilakukan dengan pengenceran bahan uji dengan media cair menjadi kelipatan dua secara bertahap sehingga didapat beberapa konsentrasi dengan kelipatan setengahnya, sedangkan pada pengenceran agar menggunakan satu seri lempeng agar dengan kosentrasi bahan uji yang berbeda. Selanjutnya diinokulasi dengan suspensi bakteri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 36-37^{0}C. Kemudian diamati hambatan pertumbuhan kuman dengan membandingkan kekeruhan atau pertumbuhan dengan kontrol yang mengandung media. Konsentrasi hambat minimal didapat pada tabung yang jernih pada pengenceran tertinggi. Metode ini digunakan untuk mengetahui harga kadar hambatan minimal suatu bahan antibakteri. (Rios, *et al*, 1988).

2.7.3. Metode Bioautografi

Metode ini sangat berguna untuk mengetahui senyawa baru atau yang belum diketahui aktivitas antibakterinya. Bahan uji dipindahkan ke dalam cawan petri yang berisi agar dan bakteri diinokulasi melalui proses difusi. Bioautografi kontak menggunakan prinsip difusi senyawa yang terpisah dengan kromatografi lapis tipis atau kromatografi kertas.

Lempeng kromatografi ditempelkan pada media yang telah diinokulasi dengan mikroba. Setelah 15-30 menit lempeng dipindahkan, diinkubasi dan diamati senyawa antibakterinya akan berdifusi pada lapisan agar dan menghambat pertumbuhan bakteri. Pada bioautografi langsung zona hambatan diamati secara langsung pada lempeng kromatografi yang telah disemprot suspensi bakteri dalam media cair dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai. Sedangkan metode bioautografi pencelupan dilakukan dengan mencelupkan lempeng kromatografi ke dalam media yang telah diinokulasi bakteri, setelah media yang menempel pada lempeng kromatografi mengeras, diinkubasi dan dilakukan pengamatan daerah hambatan (Paxton, 1991).

2.8. Tinjauan Tentang Metode Yang Digunakan

Pada penentuan efek antimikroba dari ekstrak air, *n*-heksana dan metanol umbi bidara upas (*Merremia mammosa* Hall) digunakan metode dilusi agar. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dinyatakan dalam satuan µg/ml. Bahan antimikroba diuji dengan cara pengenceran dua kali secara berseri dan konsentrasi terendah yang

menghambat pertumbuhan yang terlihat secara kasat mata dari suatu mikroorganisme dicatat sebagai konsentrasi hambat minimum. Jangka konsentrasi uji dapat beragam tergantung bahan uji dan mikroorganisme uji yang digunakan (Sahm dan Washington II, 1991). Keuntungan metode ini adalah fleksibilitasnya, metode ini juga memungkinkan dapat digunakan dalam studi antimikroba bagi senyawa yang mudah larut dan tak mudah larut (Rios *et. al.*, 1988).

BAB III
TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1.Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk memberikan dasar ilmiah bagi pemakaian bahan obat alam tumbuhan dalam pencegahan dan pengobatan penyakit infeksi menular.

3.2. Tujuan Khusus

Penelitian ini bertujuan untuk

- melakukan uji daya hambat *Mycobacterium tuberculosis* ekstrak air, *n*-heksana dan metanol umbi bidara upas (*Merremia mammosa* Hall.)
- menetapkan konsetrasi hambat minimal ekstrak air, *n*-heksana dan metanol umbi bidara upas (*Merremia mammosa* Hall.)
- melakukan uji toksistas akut dan sub kronik ekstrak air, *n*-heksana dan metanol umbi bidara upas (*Merremia mammosa* Hall.)

3.3. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat membuka jalan bagi dilakukannya penelitian ilmiah lanjutan yang dapat memberikan dasar ilmiah bagi penggunaan umbi bidara upas sebagai obat anti tuberkulosis. Dengan demikian, hasil penelitian ini sekaligus dapat menyukseskan program pemerintah Indonesia Sehat 2010, termasuk pemberantasan penyakit tuberkulosis.

BAB IV
METODE PENELITIAN

4.1.Bahan

4.1.1. Bahan Tanaman

Bahan baku untuk penelitian adalah umbi bidara upas (*Merremia mammosa* Hall) yang diambil dari Sampang Madura, Jawa Timur dan dilakukan determinasi di Kebun Raya Purwodadi.

4.1.2. Bakteri Uji Dan Hewan Coba

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *Mycobacterium tuberculosis* H37RV ATCC 27294 yang diperoleh dari persediaan bakteri di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Hewan coba yang digunakan untuk uji toksisitas akut adalah mencit (*Mus musculus*) galur Balb-C berumur 3-4 bulan dengan berat badan 20-40 g. Sedangkan untuk uji toksisitas sub kronik digunakan tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar berumur 3-4 bulan dengan berat badan 200 g. Keduanya diperoleh dari Laboratorium Hewan Coba Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

4.1.3. Bahan Kimia

- *n*-Heksana
- Metanol
- Tween 80
- Dimetil Sulfoksida (DMSO)
- Middlebrook agar 7H9
- Middlebrook agar 7H10
- Ziehl- neelsen
- CMC-Na

4.2.Alat-alat

- Laminar Air Flow Cabinet
- Cawan petri
- Pinset
- Tabung reaksi tertutup
- Lemari pengeram
- Kapas penghapus steril
- Jarum ose
- Vortex
- Kit Aspartat Amino Trans aminase (AST) dari Merck
- Kit Alanin Amino Transaminase (ALT) dari Merck
- Venoject EDTA steril

4.3. Tahapan Kerja

4.3.1. Pembuatan Ekstrak

Dalam penelitian ini akan digunakan pelarut dengan kepolaran yang berbeda yaitu *n*-heksan untuk menarik senyawa kandungan yang bersifat non polar dan metanol untuk

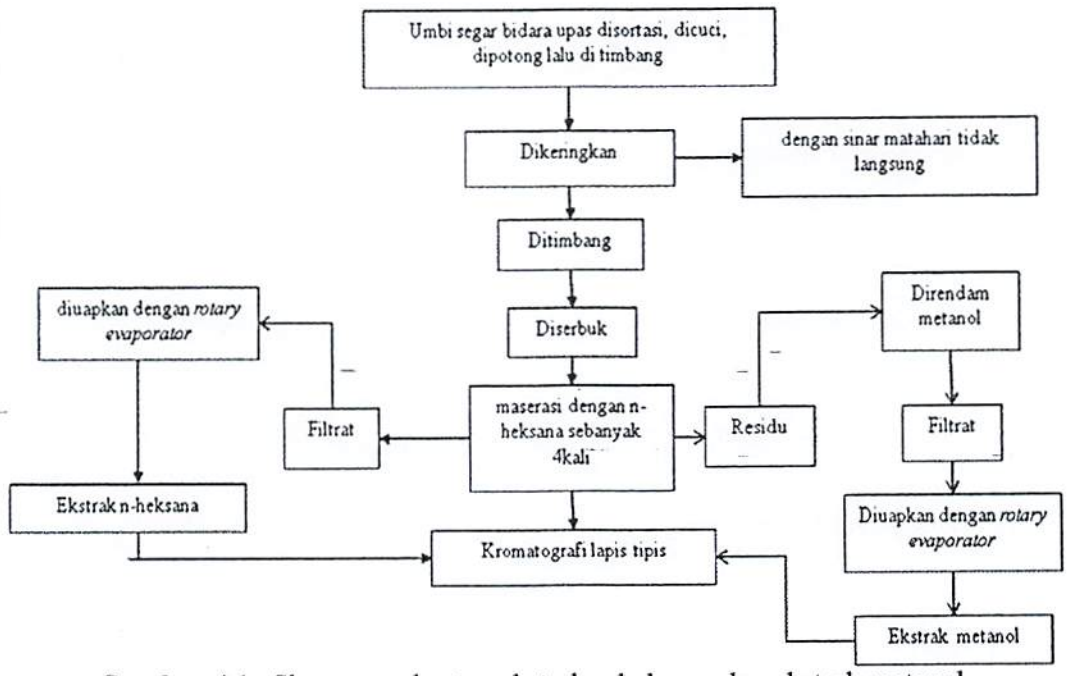
menarik senyawa yang bersifat polar. Ekstraksi dengan air juga digunakan karena secara empiris penggunaan umbi bidara upas untuk mengobati TB adalah dengan cara direbus.

Umbi yang masih segar dicuci dengan air bersih, ditiriskan sampai kering, kemudian diiris-iris melintang dengan ketebalan antara 6-10 mm dan diangin-anginkan di bawah sinar matahari secara tidak langsung sampai kering. Umbi yang sudah kering ditumbuk sampai halus, lalu diayak. Serbuk umbi yang telah halus ini selanjutnya dipakai sebagai bahan penelitian (Anonim, 1985).

Serbuk halus tersebut dibagi menjadi 2 bagian dimana 1 bagian diekstraksi dengan air dan 1 bagian lainnya dimaserasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana. Selanjutnya didiamkan selama 24 jam, setelah didiamkan rendaman tersebut disaring dengan corong buchner yang dihubungkan dengan pompa vakum untuk mendapatkan filtratnya. Proses maserasi ini dilakukan secara berulang-ulang seperti diatas selama 4-5 kali sampai noda terpenoid tidak muncul lagi. Selanjutnya filtrat diuapkan dengan rotavapor sampai didapatkan ekstrak kental dan diuapkan dalam oven selama 1 x 24 jam sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksana.

Residu dari hasil maserasi *n*-heksana dilakukan perendaman dengan metanol dalam bejana tertutup selama 1 x 24 jam, kemudian disaring dan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Kemudian filtrat diuapkan dengan menggunakan *vacum evaporator* pada suhu 50^0C sehingga didapat ekstrak metanol.

Ekstrak air diperoleh dari serbuk umbi bidara upas dengan konsentrasi 10%, kemudian hasilnya dikeringkan dengan *Freeze drying*. Cara pembuatannya adalah dengan menimbang 40 gram serbuk bahan yang dicampur dengan air suling 20 ml untuk membasahi serbuk. Kemudian ditambahkan air suling sampai 400 ml, dan dimasak dalam panci infus terhitung mulai suhu 90^0C selama 15 menit sambil diaduk. Setelah dingin diserkai dengan kain flannel sampai diperoleh volume 200 ml, dan dilakukan *Freeze drying* pada sediaan tersebut sehingga didapat sediaan kering (Sulistia, 1995)



Gambar 4.1. Skema pembuatan ekstrak *n*-heksana dan ekstrak metanol

4.3.2. Skrining Fitokimia

Skrining senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman ini dilakukan terhadap ekstrak air, *n*-heksana dan metanol dengan menggunakan reaksi warna, uji endapan serta kromatografi lapis tipis (KLT). Golongan kandungan kimia yang diperiksa adalah alkaloid, glikosida saponin, steroid dan triterpen, glikosida jantung, flavonoid, tanin dan senyawa polifenol, antrakuinon, dan glikosida sianohidrin. Identifikasi alkaloid dilakukan dengan reaksi pengendapan dan KLT, sedangkan identifikasi terpenoid/saponin dengan uji buih, Liebermann-Burchard, Salkowski, dan KLT. Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan uji Bate Smith dan Metcalfe, Wilstatter, dan deteksi dengan KLT. Identifikasi golongan tanin dilakukan dengan uji gelatin dan feriklorida, sedangkan identifikasi senyawa golongan antrakinon dengan uji Borntrager dan deteksi dengan KLT (Fong, 1973; Zaini & Indrayanto, 1978).

4.3.3. Penyiapan Media

4.3.3.1. Pembuatan Media Midllebrook 7H9

Pembuatan media Midllebrook 7H9 menurut BD dilakukan dengan cara ditimbang 4,7 gram media Midllebrook 7H9 kemudian ditambah gliserol dan dilarutkan dengan aquades steril 900 ml dan disterilisasi pada suhu 121^{0}C selama 15 menit. Selanjutnya didinginkan pada suhu 56^{0}C kemudian ditambah 10 ml OADC, media dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 4,5 ml kemudian dilakukan uji sterilisasi pada inkubator pada suhu 37^{0}C selama 24 jam.

4.3.3.2. Pembuatan Media Midllebrook 7H10

Pembuatan media Midllebrook 7H10 menurut BD dengan cara ditimbang 19 gram media Midllebrook 7H10, ditambah gliserol dan dilarutkan dengan aquades steril 900 ml, disterilisasi pada suhu 121^{0}C selama 15 menit. Selanjutnya didinginkan pada suhu 56^{0}C, ditambahkan 10 ml OADC dan dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 4,5 ml kemudian dilakukan uji sterilisasi pada inkubator suhu 37^{0}C selama 24 jam.

4.3.4. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji *Mycobacterium tuberculosis* H37RV ATCC 27294 Setara Dengan McFarland 1,0 (10^8 CFU/ml)

Satu ose penuh koloni *Mycobacterium tuberculosis* diambil dari biakan *Mycobcterium tuberculosis* pada medium Lowenstein-jenssen yang berumur 3 minggu kemudian dimasukkan dalam media cair Middlebrook 7H9, divortex ± 1 menit, disetarakan kekeruhannya dengan Mcfarland 1,0. Kekeruhan diukur dengan spektrofotometer *Bausch and Lomb Spectronic* pada λ 580 nm sampai diperoleh transmitan 25% dan dalam hal ini didapat suspensi yang mengandung 10^8 mikroba/ml. Larutan suspensi bakteri 10^8 diambil 0,5 ml dan ditambahkan dengan 4,5 ml Middlebrook 7H9 divortex, larutan tersebut diencerkan lagi dengan aquades steril sehingga diperoleh suspensi bakteri 10^5 mikroba/ml.

4.3.5. Pembuatan Kontrol Positif

Kontrol positif digunakan etambutol dengan kadar 10µg/ml (Bailey and Scott's, 1994). Caranya, membuat larutan baku induk etambutol 100 µg/ml dengan menimbang 20 mg etambutol, ditambahkan DMSO 36 ml, 4 ml Tween 80 dan aquades sampai 200 ml dalam labu ukur.

Dari larutan tersebut diambil 0,5 ml, dimasukkan ke dalam tabung dan ditambahkan 4,5 ml media dan dihomogenkan, kemudian dimasukkan ke dalam cawan

petri dan dibiarkan pada suhu kamar sampai memadat. Selanjutnya dipipet 0,5 ml suspensi mikroba uji dan diteteskan pada permukaan media kemudian diinkubasi pada suhu 37^{0}C selama 2 minggu, kemudian diamati pertumbuhan koloni karakteristik yaitu kasar, kering, putih dan bentuk granul.

4.3.6. Pembuatan Kontrol negatif

Kontrol negatif dibuat dengan mencampur 0,5 ml larutan pengencer dengan 4,5 ml media, dihomogenkan dan dimasukkan kedalam cawan petri. Selanjutnya dibiarkan pada suhu kamar sampai memadat sehingga konsentrasi akhir (Tween 80 dan DMSO) dalam media adalah 2%. Dipipet 0,5 ml suspensi mikroba uji dan diteteskan pada permukaan media, kemudian di inkubasi pada suhu 37^{0}C selama 2 minggu, kemudian diamati pertumbuhan koloninya.

4.3.7. Pembuatan Larutan Uji

Sampel ekstrak *n*-heksana, metanol dan air perlu ditambahkan Tween 80 untuk mendispersikan bahan yang bersifat non polar (Rios *et al.*, 1988). Pada penelitian ini pelarut yang digunakan adalah DMSO dan Tween 80. Larutan induk 80.000 µg/ml dibuat dengan cara ekstrak ditimbang 800 mg ditambah 400 µl DMSO dan 200 µl tween 80 selanjutnya ditambah dengan aquades steril sampai tepat 10,0 ml. Dibuat pelarut pengencer yang dalam 100 ml mengandung 2 ml Tween 80, 18 ml DMSO, dan 80 ml air steril.

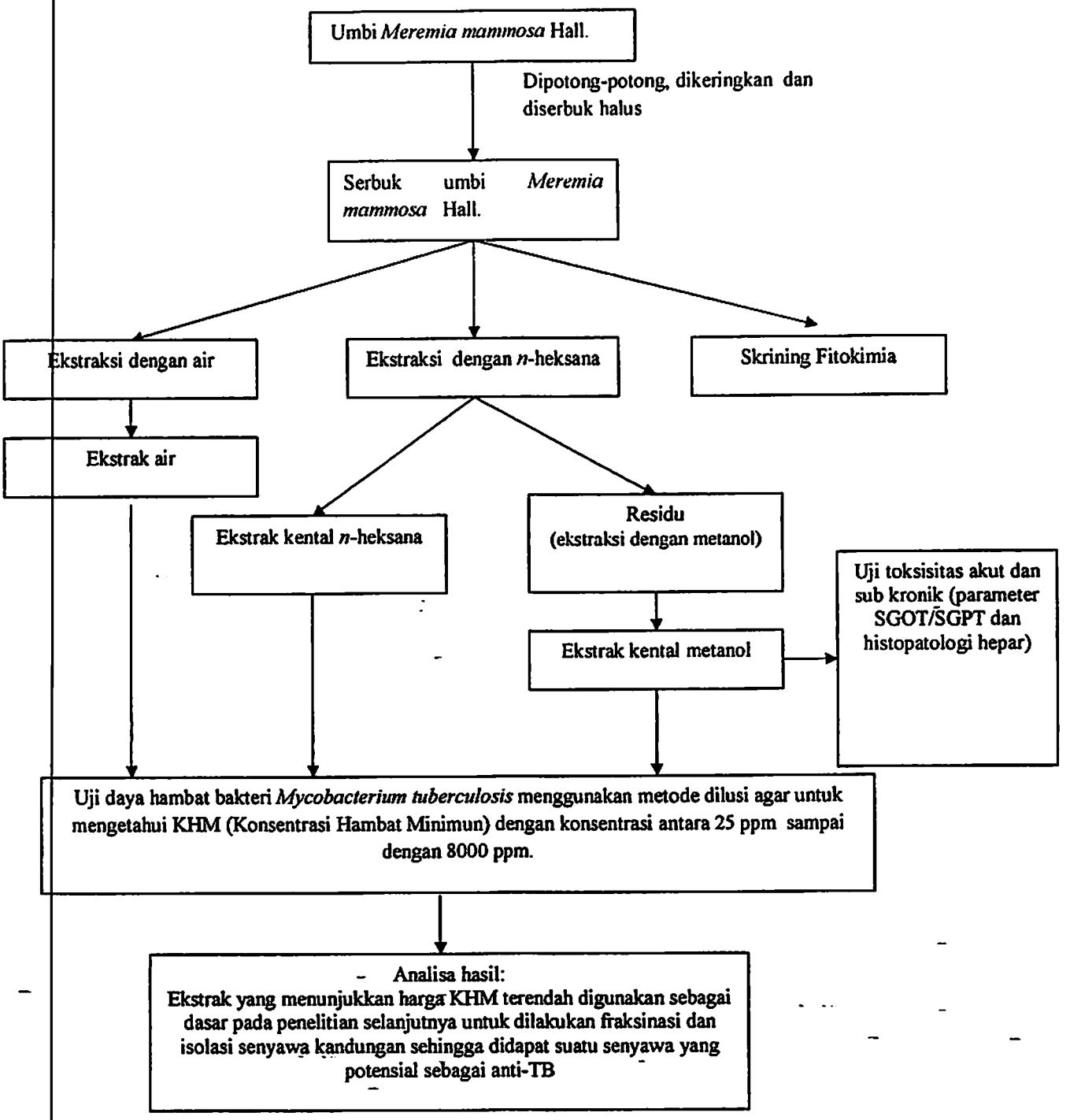
Larutan induk 80.000 µg/ml diencerkan lagi dengan aquades steril sehingga diperoleh konsentrasi 40.000 µg/ml, 20.000 µg/ml, 10.00 µg/ml, 5000 µg/ml, 4000 µg/ml, 3000 µg/ml, 2000 µg/ml, 1000 µg/ml, 500 µg/ml dan 250 µg/ml. Kemudian dari masing-masing larutan tersebut dipipet 0,5 ml ditambah 4,5 ml media sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 8000 µg/ml, 4000 µg/ml, 2000 µg/ml, 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 400 µg/ml, 300 µg/ml, 200 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml dan 25 µg/ml. Selanjutnya suspensi mikroba uji dipipet 0,5 ml dan diteteskan pada permukaan media kemudian di inkubasi pada suhu 37^{0}C selama 2 minggu, dan diamati pertumbuhan koloninya. Dilakukan subkultur, dari masing-masing tabung uji diambil 100 µl, disubkulturkan pada media padat Midllebrook 7H10 dan Lowenstein – Jenssen, diinkubasi pada suhu 37^{0}C (CO_2 inkubator) selama 2-8 minggu dengan replikasi masing-masing dua.

Pada pertumbuhan koloni yang positif dilakukan uji mikroskopis BTA dan uji niasin untuk uji identifikasi *Mycobacterium tuberculosis.* Media yang tidak memberikan pertumbuhan dicatat sebagai adanya hambatan pertumbuhan kuman (bakterisidal). Tabung dengan konsentrasi terendah yang masih ada hambatan dinyatakan sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM).

4.3.8. Uji Identifikasi Standar Koloni *Mycobacterium tuberculosis* dari Ekstrak Air, *n*-Heksana dan Metanol Umbi Bidara Upas (Uji BTA Zielh-Nelseen)

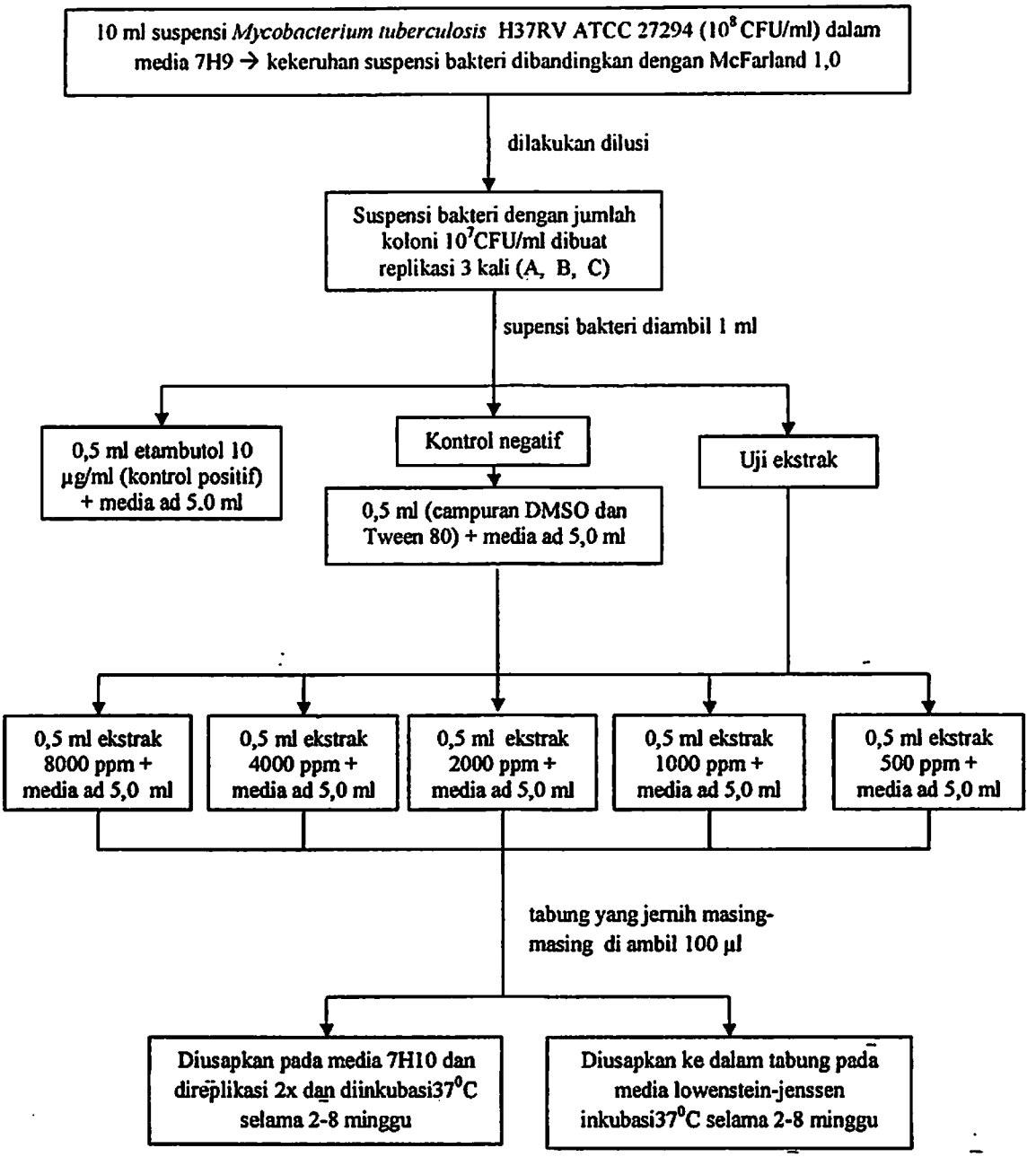
Untuk mengidentifikasi koloni *Mycobacterium tuberculosis* digunakan metode uji BTA Zielh-Neelsen dengan cara, diambil 1 ose koloni kuman dari media midlle brook 7H10 dan digesekkan pada objek glass. Campuran tersebut ditetesi dengan reagen carbol fuchsin 0,3 %, dipanaskan diatas api bunsen, didiamkan selama 15 menit dan dibersihkan dengan air. Setelah itu ditetesi dengan reagen alkohol-asam, didiamkan 5 menit dan dibersihkan dengan air. Kemudian ditetesi dengan methylen blue 0,3 %, didiamkan 5 menit, dibersihkan dengan air dan diamati dibawah mikroskop.

4.4. Skema Kerja



Gambar 4.2. Skema kerja

4.5. Tahapan Kerja Uji Daya Hambat Anti-bakteri Dari Ekstrak Air, *n*-Heksana Dan Metanol



Gambar 4.3. Tahapan kerja uji daya hambat *Mycobacterium tuberculosis* dari ekstrak air, *n*-heksana dan metanol (replikasi sebanyak 3 kali)

4.6. Analisa Data

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) ekstrak air, *n*-heksana dan metanol umbi bidara upas dilakukan dengan pengamatan secara visual adanya hambatan pertumbuhan mikroba uji. Bila terjadi hambatan pertumbuhan mikroba uji diberi tanda positif (+), sedangkan bila terjadi pertumbuhan koloni mikroba uji diberi tanda negatif (-).

4.7. Metode Uji Toksisitas Akut Dan Sub Kronik

4.7.1 Uji Toksisitas Akut

Hewan coba mencit (*Mus muculus*) diberi ekstrak *n*-heksana dan metanol yang disuspensikan dalam CMC-Na dengan dosis yang relatif tidak berbahaya, yaitu 21 g/kgBB (Derelanko & Holinger, 1995). Untuk perhitungan LD_{50} dilakukan dengan mengamati jumlah mencit yang mati selama 24 jam setelah pemberian ekstrak.

4.7.1.1. Penetapan Dosis

Dosis uji toksisitas akut diperoleh hasil penelitian Raharsih, dimana dosis efektif yang mampu menimbulkan efek penurunan kadar glukosa adalah 20 ml/kgBB perasan umbi 100% yaitu 100 gram umbi bidara upas dalam 100 ml air. Untuk ekstrak yang digunakan penelitian ini diperkirakan 10% dari perasan umbi bidara upas 100% b/v sehingga untuk uji toksisitas akut diperlukan kadar 2 g/kgBB (Raharsih, 1987).

Karena hewan yang digunakan untuk uji toksisitas akut adalah mencit, maka perlu dikonversikan dari tikus ke mencit. Konversi perhitungan dosis dari tikus ke mencit adalah 0,14 sehingga diperoleh dosis 0,28 g/kgBB atau 0,28 mg/gBB mencit. Berat mencit yang dipakai adalah 20 mg. Jadi dosis yang digunakan adalah 5,6 mg/20gBB mencit atau 0.0056 g/20g BB mencit (Gosh, 1971).

Selain itu diperoleh informasi bahwa LD_{50} tikus adalah 15g/kgBB dan mencit 21 g/kgBB (Loomis, 1978). Bila 21 g/kgBB sama dengan 21 g/1000gBB, maka dosis yang akan diberikan pada mencit adalah 1/50 x 21 g yaitu 0,4 g/20gBB. Berdasarkan perhitungan dosis diatas, maka pada uji toksisitas akut ini akan dilakukan pengelompokkan dosis sebagai berikut:

- Kelompok 1 : aman 0,001 g/20gBB mencit
- Kelompok 2 : mendekati 0,4 g/20gBB (0,1 g/20g BB mencit)
- Kelompok 3 : naik 20 kalinya (0.2g/20g BB mencit)

4.7.1.2. Pelaksanaan Uji

Adapun metode pelaksanaan uji sebagai berikut:

1. Penentuan dosis ekstrak: ditentukan 3 macam dosis, yaitu 0,01 g/ml; 0,1 g/ml dan 0,2 g/ml
2. Penentuan jumlah sampel (mencit): terdapat 7 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor mencit
   a. Kelompok I : kontrol, mencit diberi placebo (larutan CMC-Na)
   b. Kelompok II : mencit diberi suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 0,01 g/ml
   c. Kelompok III : mencit diberi suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 0,1 g/ml
   d. Kelompok IV : mencit diberi suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 0,2 g/ml
   e. Kelompok V : mencit diberi suspensi ekstrak metanol dosis 0,01 g/ml
   f. Kelompok VI : mencit diberi suspensi ekstrak metanol dosis 0,1 g/ml
   g. Kelompok VII : mencit diberi suspensi ekstrak metanol dosis 0,2 g/ml

4.7.2 Uji Toksisitas Sub Kronik

Pada penelitian ini dilakukan pemberian ekstrak selama 2 – 3 bulan dengan dosis lazim yang diberikan kepada manusia yang dikonversikan pada tikus.

4.7.2.1. Penetapan dosis

Penetapan dosis uji pada mulanya adalah dengan mempertimbangkan pemakaian larutan 10% bidara upas pada orang dewasa. Namun karena ternyata dosis tersebut terlalu kecil dan tidak menimbulkan toksisitas pada mencit, maka ditetapkan dosis uji toksisitas sub kronik:

- Kelompok I : 0,001 g/200gBB tikus
- Kelompok II : 0,1 g/200gBB tikus
- Kelompok III : 0,2 g/200gBB tikus

4.7.2.2. Pelaksanaan uji

Adapun metode pelaksanaannya adalah sebagai berikut:

1. Penentuan dosis ekstrak: digunakan 3 macam dosis, yaitu 0,01 g/ml; 0,1 g/ml dan 0,2 g/ml
2. Penentuan jumlah sampel (tikus): terdapat 7 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri atas 6 tikus jantan dan 6 betina.
   a. Kelompok I : kontrol, tikus diberi plasebo (larutan CMC-Na)
   b. Kelompok II : tikus diberi suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 0,01 g/ml
   c. Kelompok III: tikus diberi suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 0,1 g/ml
   d. Kelompok IV: tikus diberi suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 0,2 g/ml
   e. Kelompok V : tikus diberi suspensi ekstrak metanol dosis 0,01 g/ml
   f. Kelompok VI: tikus diberi suspensi ekstrak metanol dosis 0,1 g/ml
   g. Kelompok VII: tikus diberi suspensi ekstrak metanol dosis 0,2 g/ml

BAB V
HASIL DAN PEMBAHASAN

5. 1. Ektraksi Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* Hall)

Umbi bidara upas (*Merremia mammosa* Hall) diperoleh dari Sumenep-Madura Jawa Timur. Determinasi tanaman dilakukan di Kebun Raya Purwodadi. Umbi segar yang sudah terkumpul disortasi, dicuci, di potong tipis kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa sinar matahari langsung. Selanjutnya umbi kering diserbuk dan ditimbang. Hasil terdapat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1. Hasil pembuatan ekstrak umbi bidara upas (*Merremia mammosa* Hall)

Ekstrak	Berat Serbuk	Hasil
Air	40 g	7,177 g
n-heksana	2050 g	12, 455 g
Metanol	2050 g	217,704 g

5.2. Skrining Fitokimia Ekstrak Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* Hall)

Hasil skrining fitokimia dari ekstrak air mengandung senyawa golongan polifenol, ekstrak *n*-heksana mengandung senyawa golongan triterpenoid dan terpenoid sedangkan ekstrak metanol mengandung senyawa golongan polifenol dan flavonoid (tabel 5.2)

Tabel 5.2. Hasil skrining fitokimia umbi bidara upas

Ekstrak	Rf	Gambar	Keterangan
Air	0,48		KLT dengan menggunakan fase diam Kiesel gel GF 254, fase gerak kloroform: etil asetat: asam formiat (0,5:9:0,5) dan penampak noda $FeCl_3$ memberikan hasil yang positif dengan ditandai noda warna hitam →Polifenol
Air	-		Reaksi warna pada uji ferriklorida menunjukan hasil yang positif dengan ditandai perubahan warna hijau biru hingga hitam → Polifenol

Ekstrak	Rf	Gambar	Keterangan
n-Heksana	0,35		KLT ekstrak setelah dilakukan hidrolisis dengan menggunakan fase diam Kiesel gel GF254, fase gerak *n*-heksana : etil asetat (4:1) dan penampak noda anisaldehid asam sulfat diperoleh hasil yang positif dengan ditandai noda berwarna merah ungu → Triterpenoid
n-Heksana	0,46		KLT dengan menggunakan fase diam Kiesel gel GF254, fase gerak *n*-heksana : etil asetat (4:1) dan penampak noda anisaldehid asam sulfat diperoleh hasil yang positif dengan ditandai noda berwarna merah ungu → Terpenoid
Metanol			Reaksi warna pada uji ferriklorida menunjukan hasil yang positif dengan ditandai perubahan warna hijau biru hingga hitam → Polifenol
Metanol	0,56		KLT dengan menggunakan fase diam Kiesel gel GF 254, fase gerak kloroform: etil asetat: asam formiat (0,5:9:0,5) dan penampak noda $FeCl_3$ memberikan hasil yang positif dengan ditandai noda warna hitam →Polifenol
Metanol	0,76		KLT dengan menggunakan fase diam Kiesel gel GF 254, fase gerak butanol : asam asetat : air (4:1:5) dan penampak noda seri (IV) sulfat diperoleh hasil yang positif dengan ditandai noda berwarna kuning → Flavonoid

5.3. Hasil Uji Daya Hambat Pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* H37RV Dari Ekstrak Air, *n*-Heksana Dan Metanol

5.3.1 Ekstrak Air Umbi Bidara Upas

Hasil uji ekstrak air umbi bidara upas terhadap *Mycobacterium tuberculosis* menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) sebesar 400 µg/ml (tabel 5.3).

Tabel 5.3. Hasil uji anti-bakteri dari ekstrak air umbi bidara upas terhadap *Mycobacterium tuberculosis*

Bahan Uji	Konsentrasi (µg/ml)	Hasil	
		Replikasi 1	Replikasi 2
Ekstrak air	8000	+	+
	4000	+	+
	2000	+	+
	1000	+	+
	500	+	+
	400	+	+
	300	-	-
	200	-	-
	100	-	-
	50	-	-
	25	-	-
Kontrol positif (etambutol)	10	+	
Kontrol negatif	-	-	

Keterangan :

- Tanda (+) : ada hambatan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*
- Tanda (-) : tidak ada hambatan pertumbuhan bakteri
- Kontrol (+) : etambutol 10 µg/ml
- Kontrol (-) : media ditambah dengan DMSO dan Tween 80

5.3.2 Ekstrak *n*-Heksana Umbi Bidara Upas

Hasil uji ekstrak *n*-heksana umbi bidara upas terhadap *Mycobacterium tuberculosis* menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) sebesar 400 µg/ml (tabel 5.4).

5.3.3 Ekstrak Metanol Dari Umbi Bidara Upas

Hasil uji aktivitas anti-mikroba menggunakan ekstrak metanol umbi bidara upas terhadap *Mycobacterium tuberculosis* menunjukkan hasil yang positif yaitu ekstrak tersebut mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi antara 8000-25 µg/ml dengan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) sebesar 500 µg/ml (tabel 5.5.).

Tabel 5.4. Hasil uji antibakteri dari ekstrak *n*-heksana umbi bidara upas terhadap *Mycobacterium tuberculosis*

Bahan uji	Konsentrasi (µg/ml)	Hasil	
		Replikasi 1	Replikasi 2
Ekstrak *n*-heksana	8000	+	+
	4000	+	+
	2000	+	+
	1000	+	+
	500	+	+
	400	+	+
	300	-	-
	200	-	-
	100	-	-
	50	-	-
	25	-	-
Kontrol positif (etambutol)	10	+	
Kontrol negatif	-	-	

Tabel 5.5. Hasil uji antibakteri dari ekstrak metanol umbi bidara upas terhadap *Mycobacterium tuberculosis*

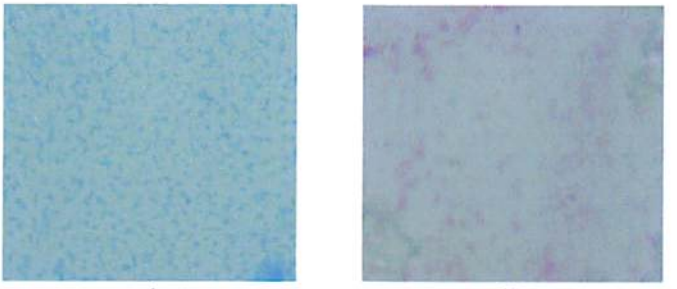
Bahan uji	Konsentrasi (µg/ml)	Hasil	
		Replikasi 1	Replikasi 2
Ekstrak metanol	8000	+	+
	4000	+	+
	2000	+	+
	1000	+	+
	500	+	+
	400	-	-
	300	-	-
	200	-	-
	100	-	-
	50	-	-
	-25	-	-
Kontrol positif (etambutol)	10	+	
Kontrol negatif	-	-	

Keterangan :

- Tanda (+) : ada hambatan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*
- Tanda (-) : tidak ada hambatan pertumbuhan bakteri
- Kontrol (+) : etambutol 10 µg/ml
- Kontrol (-) : campuran media antara DMSO dan Tween 80

5.4. Uji Identifikasi Standar Koloni *Mycobacterium tuberculosis* Ekstrak Air, *n*-Heksana Dan Metanol Secara Mikroskopi

Hasil uji aktivitas anti-mikroba menggunakan ekstrak air dan *n*-heksana umbi bidara upas (*Merremia mammosa* Hall) secara mikroskopis pada Basil Tahan Asam (BTA) menunjukan hasil positif dengan terbentuknya warna merah (Gambar 5.1.B) dengan konsentrasi 300-25 µg/ml, sedangkan ekstrak metanol sebesar 400-25 µg/ml. Selain itu memberikan hasil negatif dengan terbentuknya warna biru (Gambar 5.1.A) pada konsentrasi 8000-400 µg/ml untuk ekstrak air dan *n*-heksana, dan konsentrasi 8000-500 µg/ml untuk ekstrak metanol.



A B

Gambar 5.1. Hasil mikroskopis terhadap media pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*: (A) BTA negatif menandakan tidak terdapatnya pertumbuhan, (B) BTA positif menandakan adanya pertumbuhan

5.5. Hasil Uji Toksisitas Akut

Hasil uji toksisitas akut ekstrak *n*-heksana dan metanol umbi bidara upas menunjukkan tidak terdapatnya kematian mencit uji (tabel 5.6).

Tabel 5.6. Hasil uji toksisitas akut ekstrak *n*-heksana dan metanol dari umbi bidara upas pada hewan coba mencit jantan

Kelompok	Jumlah Mencit	
	Hidup	Mati
I	6	0
II	6	0
III	6	0
IV	6	0
V	6	0
VI	6	0
VII	6	0

Keterangan:

a. Kelompok I : kontrol, mencit diberi plasebo (larutan CMC-Na)
b. Kelompok II : mencit diberi suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 0,01 g/ml
c. Kelompok III : mencit diberi suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 0,1 g/ml
d. Kelompok IV : mencit diberi suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 0,2 g/ml
e. Kelompok V : mencit diberi suspensi ekstrak metanol dosis 0,01 g/ml
f. Kelompok VI : mencit diberi suspensi ekstrak metanol dosis 0,1 g/ml
g. Kelompok VII : mencit diberi suspensi ekstrak metanol dosis 0,2 g/ml

5.6. Hasil Uji Toksisitas Sub Kronik

Hasil uji toksisitas sub kronik ekstrak *n*-heksana dan metanol umbi bidara upas yang berlangsung selama 1,5 bulan pada tikus jantan dan betina menunjukkan tidak terdapatnya kematian tikus uji (tabel 5.7).

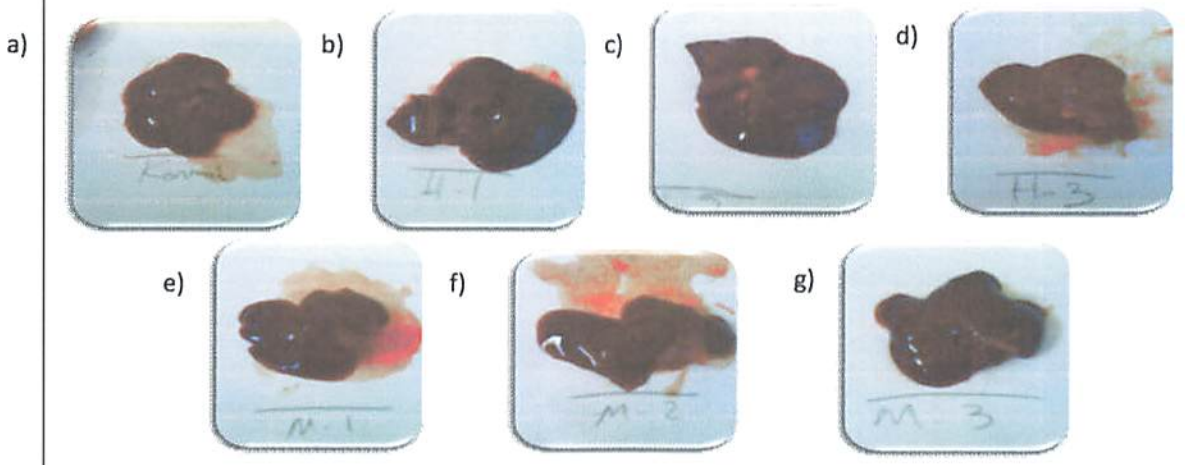
Tabel 5.7. Hasil Uji Toksisitas Sub Kronik Ekstrak n-heksana dan metanol Umbi Bidara Upas Pada Hewan Percobaan Tikus Jantan dan Betina

Kelompok	Jumlah Tikus	
	Hidup	Mati
I	12	0
II	12	0
III	12	0
IV	12	0
V	12	0
VI	12	0
VII	12	0

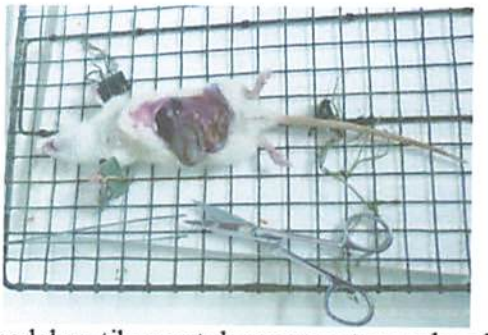
Keterangan:

a. Kelompok I : kontrol, tikus diberi plasebo (Larutan CMC-Na)
b. Kelompok II : tikus diberi suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 0.01 g/ml
c. Kelompok III : tikus diberi suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 0.1 g/ml
d. Kelompok IV : tikus diberi suspensi ekstrak *n*-heksana dosis 0.2 g/ml
e. Kelompok V : tikus diberi suspensi ekstrak metanol dosis 0.01 g/ml
f. Kelompok VI : tikus diberi suspensi ekstrak metanol dosis 0.1 g/ml
g. Kelompok VII : tikus diberi suspensi ekstrak metanol dosis 0.2 g/ml

Pengamatan makroskopik organ tikus setelah proses pembedahan pada bagian hepar menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna kondisi hepar kelompok I (kontrol) dibandingkan dengan kelompok uji yang lainnya (gambar 5.2). Baik kelompok kontrol maupun kelompok uji menunjukkan hepar dalam kondisi baik dan berwarna merah tua.



Gambar 5.2. Pengamatan makroskopik organ tikus setelah proses pembedahan pada akhir uji toksisitas sub kronik a) kelompok I (Kontrol), b) kelompok II, c) kelompok III, d) kelompok IV, e) kelompok V, f) kelompok VI dan g) kelompok VII



Gambar 5.3. Pembedahan tikus untuk pengamatan makroskopik organ hepar

Pembahasan

Pada penelitian ini telah dilakukan uji daya hambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan ekstrak umbi bidara upas yang secara empiris umbi bidara upas diketahui digunakan untuk tuberkulosis oleh masyarakat Madura. Ekstrak umbi bidara upas diperoleh dengan cara maserasi bertahap menggunakan pelarut *n*-heksana dilanjutkan dengan metanol untuk memastikan bahwa proses ekstraksi dengan *n*-heksana sudah sempurna dilakukan KLT dengan penampak noda anisaldehida asam sulfat sampai tidak didapatkan noda jingga-ungu (Harborne, 1987). Ekstrak air umbi bidara upas diperoleh dengan membuat infus dari 40 gram serbuk umbi bidara upas, di keringkan dengan cara *freeze drying* pada suhu -36 ^{0}C selama 24 jam. Pengujian ekstrak air, dimaksudkan untuk membuktikan kebenaran empiris yang mana masyarakat Sumenep Madura menggunakan rebusan air dari umbi bidara upas untuk obat tuberkulosis.

Pada penelitian ini dilakukan juga uji skrining fitokimia. Ekstrak *n*-heksana mengandung senyawa triterpenoid dan terpenoid yang ditunjukan dengan adanya warna merah ungu pada pelat KLT dengan penampak noda anisaldehid–asam sulfat (Harborne, 1987). Ekstrak metanol dan air mengandung senyawa polifenol yang ditunjukkan adanya perubahan warna hijau biru setelah penambahan pereaksi $FeCl_3$ (Harborne, 1987).

Metode uji aktivitas daya hambat kuman *Mycobacterium tuberculosis* digunakan dilusi agar, dalam hal ini aktivitas antimikroba dapat dilihat secara langsung yaitu ada atau tidaknya hambatan pertumbuhan mikroba (Rios, *et al*, 1998). Keuntungan metode dilusi agar adalah fleksibilitasnya karena dapat digunakan untuk semua bahan yang bersifat polar maupun non polar dan ekstrak tidak harus steril (Sham and Washington, 1991). Metode ini juga memungkinkan untuk digunakan dalam studi mikrobiologi bagi senyawa mudah larut atau tidak mudah larut (Rios, *et al*, 1998). Konsentrasi ekstrak umbi bidara upas yang digunakan adalah 8000 - 25 µg/ml, dengan pertimbangan pemilihan konsentrasi tersebut didasarkan pada beberapa literatur yang mengatakan bahwa Minimum Inhibition Consentration (MIC) ekstrak *n*-heksana untuk *Mycobacterium tuberculosis* >500 µg/ml (Pereira, 2003) untuk ekstrak metanol MIC 78 and 1250 µg/ml (Mann *et al.*, 2008) sedangkan ekstrak air MIC 500 µg/ml (Mansour, 2009). Ekstrak *n*-heksana dan metanol agar terdispersi baik dalam air dapat ditambah tween 80 atau DMSO dengan kadar < 2%, selain itu tween 80 juga digunakan untuk menjaga stabilitas dari ekstrak (Rios, *et al*, 1998).

Mikroba uji yang digunakan adalah *Mycobacterium tuberculosis* yang dinding selnya kaya akan lipid, sehingga sulit ditembus ekstrak yang didispersikan dalam air sehingga perlu dibantu tween 80 atau DMSO. Pada penyiapan media terjadi kesulitan

dalam menghomogenkan *Mycobacterium tuberculosis* dengan media midllebrook 7H9, sehingga diberi *glass beads* lalu di vortex supaya lebih homogen. Inokulum mikroba uji yang digunakan dibandingkan dengan standar Mc Farland 1,0 kemudian diencerkan sehingga mempunyai jumlah koloni kuman 10^5 CFU/ml. Hal ini bertujuan jika koloni kuman yang digunakan di bawah 10^5 menyebabkan pertumbuhan mikroba tidak terlihat jelas, sedangkan jika koloni kuman diatas 10^5 terlalu banyak, menyebabkan daya hambat ekstrak tidak dapat diamati dengan jelas. Kontrol positif digunakan etambutol.

Etambutol, merupakan bakteriostatik yang bekerja menghambat metabolisme sel sehingga sel tidak dapat memperbanyak diri dan mati. Etambutol hanya aktif terhadap galur *Mycobacterium tuberculosis* yang sensitif namun tidak efektif untuk kuman lain, jamur ataupun virus (Sulistia, 1995). Penggunaan etambutol secara tunggal ditujukan untuk menghindari fenomena" addition syndrome" yaitu suatu obat ditambahkan dalam paduan pengobatan yang tidak berhasil, bila kegagalan itu terjadi karena kuman TB telah resisten pada paduan yang pertama, maka "penambahan" (addition) satu macam obat hanya akan menambah panjangnya daftar obat yang resisten (Crofton, 1987).

Kontrol negatif terdiri dari larutan Tween 80, DMSO dan *Mycobacterium tuberculosis* tanpa ekstrak, dibuat untuk mengetahui apakah bahan tersebut dapat mempengaruhi *Mycobacterium tuberculosis* atau tidak (Rios, *et al.*, 1998).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa KHM / MIC untuk ekstrak *n*-heksana 400 µg/ml, ekstrak metanol 500 µg/ml, sedangkan ekstrak air 400 µg/ml. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak umbi bidara upas dapat menghambat pertumbuhan kuman *Mycobacterium tuberculosis.* Ekstrak *n*-heksana memiliki MIC 400 µg/ml, sesuai dengan sifat dinding sel dari *Mycobacterium tuberculosis* yang kaya lipid sehingga ekstrak *n*-heksana yang bersifat non polar diprediksi mudah menembus dinding sel *Mycobacterium tuberculosis*, dapat menghambat perkembang biakan kuman. Ekstrak air sesuai penggunaannya oleh masyarakat Madura, ternyata juga terbukti memiliki daya hambat terhadap *Mycobacterium tuberculosis.* Hal tersebut didasarkan pada fakta secara visual dan mikroskopi dengan pewarnaan Zielh-Neelsen bahwa tidak terdapat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* pada konsentrasi ekstrak diatas KHM/MIC.

Mengkaji hasil uji fitokimia yang dikaitkan dengan uji aktivitas antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis*, ada beberapa golongan senyawa yang ditengarai terdapat pada ekstrak umbi bidara upas antara lain polifenol, flavonoid, terpenoid dan triterpenoid yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis.* Hal ini sejalan dengan beberapa hasil peneliti terdahulu yang telah melaporkan bahwa senyawa golongan polifenol benzenoid dari *Ardisia japonica* (Huang *et a.l*, 1980), terpenoid secokauranes dari *Croton kogensis* (Euphorbiaceae) (Thongtan *et al.*, 2003), triterpen dari *Calceolaria pinnifolia* (Scholpulariaceae) (Woldemichael *et al.*, 2003) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis.*

Dalam hal ini telah terbukti bahwa ekstrak air, *n*-heksana dan metanol umbi bidara upas bisa menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis.* Langkah lanjutan diperlukan untuk melakukan fraksinasi dan isolasi senyawa aktif pada masing-masing ekstrak yang memiliki daya anti tuberkulosis, untuk dapat dikembangkan sebagai obat baru terhadap tuberkulosis dengan memperhatikan aspek keamanan dan efektifitasnya. Memperhatikan aspek keamanan, berdasarkan hasil penelitian uji toksisitas akut dan sub kronis ekstrak *n*-heksana dan metanol umbi bidara upas dapat dikategorikan relatif tidak toksik.

BAB VI
KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Ekstrak air umbi bidara upas mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) sebesar 400 µg/ml
2. Ekstrak *n*-heksana umbi bidara upas mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) sebesar 400 µg/ml
3. Ekstrak metanol umbi bidara upas mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) sebesar 500 µg/ml
4. Berdasarkan uji toksisitas akut dan sub kronik, ekstrak *n*-heksana dan metanol dari umbi bidara upas dapat dikategorikan relatif tidak toksik

6.2. Saran

Perlunya dilakukan penelitian lanjutan tentang:

1. Pemisahan dan isolasi senyawa kandungan dari ekstrak *n*-heksana dan metanol umbi bidara upas
2. Uji daya hambat terhadap *Mycobacterium tuberculosis* fraksi dan isolat dari ekstrak *n*-heksana dan metanol umbi bidara upas

Penelitian lanjutan itu diharapkan akan menghasilkan isolat yang berkhasiat sebagai anti-tuberkulosis yang dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan penyakit tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim. 1980. **Materia Medika Indonesia** III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.hal. 29-30

Anonim, 1985. **Cara Pembuatan Simplisia**, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, hal. 29-30

Anonim, 1995. **Farmakope Indonesia** IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, hal. 61-62

Anonim, 2000. **Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat**. Cetakan pertama, Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, hal. 18-23, 26-29

Anonim, 2002. **Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulosis**, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hal 1–13

Anonim, 2004. **Penyakit Tuberkulosis**, Ditjen PPM dan Departemen Kesehatan Republik Indonesia http://www.penyakitmenular.info/pm/detil.aspm=0&I=273

Backer, C.A. and Bakhuizen R.C., 1965. **Flora of Java** II, N.V.P. Noordhoff, Groningen, The Netherlands, p. 157-158.

Bergne, D.A., Vanden, A.J. and Vlietinck, 1988. **Screening Methods for Antibacterial and Antiviral Agent from Higher Plants in Methods Plant Biochemistry**, Editor by K. Hostettmann, London, Hacourt Brace Jovanovich Publ. vol. 6, p. 46-47.

Bonang, G. dan Koeswardono E.S., 1982. **Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium Klinik**, PT. Gramedia, Jakarta, hal. 19-20, 77, 116, 133.

Boyd and Robert, F., 1995. **Basic Medical Microbiology**.5th Edition, Little Brown Company, New York, p. 465–495.

Crofton J., 1987. **The prevention and management of drug resistant tuberculosis. Bulletin of the International Union forTuberculosis** 62, 6–11.

Dorelanko, M.J. and Hollinger, M.A., 1995. **CRC Handbook of Toxicology**, CRC Press, New York.

Fong. 1973. **Phytochemical Screening**, Department of Pharmacognosy and Pharmacology, College of Pharmacy, University of Illinois at Medical Center, Chicago, p.30-70.

Ghosh, M.N., 1971. **Fundamental of Experimental Pharmacology**, Scientific Book Agency, Calcutta, p. 84-90.

Harborne, J.B., 1987. **Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan** edisi II, ITB Bandung.

Hembing, W.H.M., Wirian, A.S., Yaputro, T., Dalimartina, S., dan Wibowo, B., 1996. **Tanaman Berkhasiat Obat Indonesia**, Cetakan 4, hal. 92-93.

Huang, P.H., Chen, W.S., Hu, Y., 1980. Studies on antituberculosis constituents from *Ardisia japonica*. **Yaoxue Tongbao** 15, p. 39.

Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A, Brooks, G.E., Butel, J.S. and Ornston, 1991. **Medical Microbiology** 19th edition, Prectice Hall International Inc., London, p. 272.

Kitagawa, I., Baek, N.I., Oshashi, K., Yoshikawa, M. and Shibuya, H., 1989. Mammosides B dan HI, new inophoric resin glycosides from the tuber of *Merremia mammosa* folk medicine, **Chem. Pharm. Bull.** 4, p. 1131-1133.

Kitagawa, I., Baek, N.I., Kawashima, K., Yokokawa, Y., Yoshikawa, M., Ohashi, K. and Shibuya, H., 1996. Indonesian medicinal plants XV, Chemical structures of five new resin-glycosides, Merremosides a, b, c, d and e from the tuber of *Merremia mammosa* (Convolvulaceae), **Chem. Pharm. Bull.** 44, p. 1680-1692.

Kitagawa, I., Baek, N.I., Kawashima, K., Yokokawa, Y., Yoshikawa, M., Ohashi, K. and Shibuya, H., 1996. Indonesian medicinal plants XVI, Chemical structures of four new resin-glycosides, Merremosides f, g, h_1 and h_2 from the tuber of *Merremia mammosa* (Convolvulaceae), **Chem. Pharm. Bull.** 44, p. 1669-1693.

Kitagawa, I., Shibuya, H., Yokokawa, Y., Baek, N.I., Oshashi, K., Yoshikawa, M., Nitta, A. and Wiriadinata, H., 1988. Structure of momorsides band D, New antiseretonic resin glycosides from the tuber of *Merremia mammosa,* an Indonesia folk medicine, **Chem. Pharm. Bull.** 4, p. 1618-1621.

Loomis, T.A., 1978. **Toksikologi Dasar** III, Semarang, IKIP Semarang Press

Mann, 2008. Evaluation of in vitro Antimicrobacterial Activity of Nigerian Plants Used for Treatment of Respiratory Disease, Nigeria, **J. Phytomed. Therap.** 12: 1-12

Mansour, 2009. **Uji Akitivitas Ekstrak Beberapa Tumbuhan terhadap *Mycobacterium tuberculosis* yang Sensitif dan Resisten terhadap Obat Antituberkulosis**, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta

Mansyur, 2001. **Masalah Tuberkulosis Paru dan Penanggulangannya**, Universitas Indonesia, Jakarta

Paxton, J.D., 1991. **Assay for Antifungal Activity, Methods in Plant Biochemistry** Vol. 6, London, Hacourt Brace Jovanovich Publ., p. 33-36.

Pereira I., 2003, **SFE of Pharmacological Compounds from *Tabernaemontana Catharinensis*: Analysis of The Antioxidant and Antimycobacterial Activities.** Instituto Adolfo Lutz, Laboratório de Ribeirão Preto, Rua Minas

Raharsih, 1987. **Pengaruh Perasan Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* L. Hallier F) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan**, Yogyakarta, Fakultas Farmasi UGM

Rios, J.L., Recio, M.C. and Villar, A., 1988. Screening method for nature product with antimicrobial activity: A review of literature, **J. of Etnopharm.** 23, p. 127-149.

Sahm, D.F and Washington II, J.A., 1991. Antibacterial Susceptibility Tests: Dilution Method, dalam: Ballow, A (Editor), **Manual of Clinical Microbiology**, 5nd edition, America Sociaety for Microbiology, Washington D.C, P. 1105 - 1115

Simon, K.G. and Iyawoo, K., 2005. Management issue in tuberculosis in the Asia-Pasific region. Medical progress. **CMP Medica** 32:10, p. 486–90.

Sulistia, G, 1995. **Farmakologi dan Terapi** edisi 4, Jakarta, Gaya Baru , hal. 602.

Thongtan, J., Kittakoop, P., Ruangrungsi, N., Saenboonrueng, J., & Thebtaranonth,Y. (2003). **New antimycobacterial and antimalarial 8,9-secokaurane diterpenes from Croton kongensis.** J Nat Prod 66, 868–870.

Wijisekera, R.O.B., 1991. **The Medicinal Plant Industri**, London : CRC Press LLC, p. 1-6, 237-38.

Woldemichael, 2003. Antibacterial Diterpenes from *Calceolaria pinifolia*, New York, pp 242–246.

Zaini, C.N. and Indrayanto G., 1978. **Cara-cara Skrining Fitokimia**, Disajikan pada acara kursus penyegar dalam rangka peringatan lustrum ke III Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.

Zulkarnain, 2004. **Analisis Drug Resistence dan Multi Drug Resistence**, Universitas Sumatera Utara.

LAMPIRAN 1
KOMPOSISI MEDIA

1. **Komposisi Media Middllebrook 7H10**

Media middle brook 7H10 dibuat dengan mencampur:

Amonium sulfat	0,5	gram
Monopotasium phospat	1,5	gram
Disodium phosphat	1,5	gram
Sodium citrat	0,4	gram
Magnesium sulfat	0,025	gram
Calsium chlorid	0,0005	gram
Zink sulfat	0,001	gram
Copper sulfat	0,001	gram
L.Glutamic acid	0,5	gram
Fenic ammonium citrat	0,004	gram
Pyridoxine hydroclorid	0,001	gram
Biotin	0,0005	gram
Malachite green	0,00025	gram
Agar	15,0	gram
Gliserol	5,0	ml
OADC	100,0	ml

2. **Komposisi Media Middlebrook 7H9**

Media middle brook 7H9 dibuat dengan mencampur:

Amonium sulfat	0,5	gram
Monopotasium phospat	1,0	gram
Disodium phosphat	1,5	gram
Sodium citrat	0,1	gram
Magnesium sulfat	0,05	gram
Calsium chlorid	0,0005	gram
Zink sulfat	0,001	gram
Copper sulfat	0,001	gram
L.Glutamic acid	0,5	gram
Feri ammonium citrate	0,04	gram
Pyridoxine hydroclorid	0,001	gram
Biotin	0,0005	gram
Malachite green	0,00025	gram
Glicerol	2,0	ml
OADC	100,0	ml

3. **Komposisi Standard Mc Farland 1,0**

Larutan Mc. Farland 1,0 dibuat dengan mencampur :

Larutan $BaCl_2$ 1%	1 ml
Larutan H_2SO_4 1%	9 ml

Larutan Mc. Farland 1,0 digunakan sebagai pembanding dalam menentukan kekeruhan suspensi kuman sehingga perkiraan jumlah kuman adalah 10^8 kuman/ ml (Scott and Bayle, 1994).

LAMPIRAN 2
PERSONALIA PENELITI

1. BIODATA PENELITI UTAMA

IDENTITAS DIRI

Nama	: Dr. Mangestuti Agil, Apt., MS
NIP/NIK	: 19500422 198002 2001
Tempat dan Tanggal Lahir	: Jakarta, 22 April 1950
Jenis Kelamin	: □ Laki-laki v□ Perempuan
Status Perkawinan	: □ Kawin □ Belum Kawin □v Duda/Janda
Agama	: Islam
Golongan / Pangkat	: Pembina (IV/a)
Jabatan Fungsional Akademik	: Lektor Kepala
Perguruan Tinggi	: Universitas Airlangga
Alamat	: Jl. Dharmawangsa Dalam, Surabaya 60286
Telp./Faks.	: 031- 5033710
Alamat Rumah	: Kendangsari Blok F-13, Surabaya 60292
Telp./Faks.	: 031 - 8498171
Alamat e-mail	: mmangestuti@yahoo.com, mangestuti@unair.ac.id

RIWAYAT PENDIDIKAN PERGURUAN TINGGI

Tahun Lulus	Jenjang	Perguruan Tinggi	Jurusan/ Bidang Studi
1976	S 1	Universitas Airlangga	Farmasi Umum
1987	S 2	Universitas Airlangga	Ilmu Kedokteran Dasar
2000	S 3	Universitas Airlangga	MIPA

PELATIHAN PROFESIONAL

Tahun	Pelatihan	Penyelenggara
2004-2005	Training of the Trainers for Traditional Chinese Medicine	Pokja BATTRA Unair- PT Hwato Traditional Health Center
1994	Penataran Bimbingan dan Konseling Bagi Tenaga Pengajar Fakultas Farmasi Universitas Airlangga	Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
1990	Penataran Peningkatan Kompetensi Mengajar – Applied Approach	Universitas Airlangga
1988	Penataran Administrasi Akademik dan Kemahasiswaan	Dirjen Dikti Depdiknas
1985	Seminar Pembinaan Peran Sistim Kefarmasian guna menampung pelaksanaan Sistem Kesehatan Nasional	Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

1983	Penataran Tenaga Akademis dalam rangka usaha perbaikan dan peningkatan proses belajar mengajar di Perguruan tinggi	Universitas Airlangga
1982	Penataran Metodologi dan Penilaian Pengukuran Pendidikan	Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
1982	Penataran Pembinaan Profesi Apoteker Pengelola Apotik	Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

PENGALAMAN JABATAN

Jabatan	Institusi	Tahun ... s.d. ...
Sekretaris Jurusan Biologi Farmasi	Fakultas Farmasi Universitas Airlangga	1987-1990
Kabid Humas dan Protokol	Universitas Airlangga	2007-2010

PENGALAMAN MENGAJAR

Mata Kuliah	Jenjang	Institusi/Jurusan/Program	Tahun ... s.d. ...
Botani Farmasi	S 1	Farmakognosi-Fitokimia	1987- sekarang
Farmakognosi	S 1	Farmakognosi - Fitokimia	1987- sekarang
Obat Tradisional	S 1	Farmakognosi-Fitokimia	1992-sekarang
Farmakognosi	S 2	Farmakognosi-Fitokimia	
Fitoterapi	S 2	Farmakognosi-Fitokimia	
Formulasi Obat Tradisional	D 3	Farmakognosi-Fitokimia	2006-sekarang
Farmakognosi	D 3	Farmakognosi-Fitokimia	2006-sekarang
Botani Farmasi	D 3	Farmakognosi-Fitokimia	2006-sekarang
Intervensi Fisik	D 3	D 3 Batra Fakultas Kedokteran	2007-sekarang

PENGALAMAN MEMBIMBING MAHASISWA

Tahun	Pembimbingan/Pembinaan
1993-sekarang	Penasehat akademik mahasiswa Fakultas farmasi
	Praktek Kerja Lapangan mahasiswa untuk mata kuliah Botani Farmasi II
1984-1987	Penataran P-4 Pola Pendukung 100 jam bagi mahasiswa baru
1983-sekarang	Pembimbingan skripsi S 1 mahasiswa
2007-2008	Pembimbingan tesis mahasiswa S 2
2007-2008	Pembimbingan disertasi mahasiswa S 3

PENGALAMAN PENELITIAN

Tahun	Judul Penelitian	Jabatan	Sumber Dana
2010	Uji daya hambat *Mycobacterium tuberculosis* dari umbi bidara upas (*Merremia mammosa* Hall)	Ketua Peneliti	Stranas-DP2M Dikti
2008-sekarang	Penentuan marker senyawa aktif daun katu (Sauropus androgynus (L) Merr. yang berkhasiat laktagogum	Ketua Peneliti	NATURA Food and Nutraceutical Company
2007	Empowering rural communities through community organizations and traditional medicinal plant development	Peneliti	Asian Public Intelectual the Nippon Foundation
2006-2007	" Study for standardization of Indonesian Traditional Crude Drugs, Toyama, Japan, pada bulan September 2006	Peneliti	Toyama University
2003	Prospect of Traditional Medicines of the Philippines and Indonesia for Complementary and Alternative Therapy in the era of Globalization	Peneliti	Asian Public Intelectual the Nippon Foundation
2000	Isolasi zat kandungan ekstrak eter minyak tanah daun Sauropus androgynus (L.) Merr.	Ketua Peneliti	Lembaga Penelitian Unair
2000	Pengaruh pemberian ekstrak petroleum eter bunga Sesbania grandiflora Pers terhadap proliferasi kelenjar susu mencit betina menyusui	Ketua Peneliti	Lembaga Penelitian Unair
2000	Pengaruh pemberian isolat ekstrak eter minyak tanah daun Sauropus androgynus (L) Merr. Terhadap proliferasi sel alveolus kelenjar susu tikus menyusui		Lembaga Penelitian Unair
1997	Efek pemberian ekstrak daun katu pada tikus menyusui terhadap kadar prolaktin dan estrogen dalam darah	Ketua Peneliti	Proyek JPD Ditbinlitabmas Dirjen Dikti, Depdikbud

KARYA TULIS ILMIAH

A. Buku/Bab/Jurnal

Tahun	Judul	Penerbit/Jurnal
2007	" Traditional medicine of Madura Island in Indonesia" (author)	Journal of Traditional Medicine 24 (3), 90-103, 2007
2007	Women's health and beauty care in	Annual Report of Institute of

	Indonesian traditional medicine : empowerment through enablement "	Natural Medicine, University of Toyama volume 34
2009	Kandungan Minyak Atsiri dan Aktivitas Antimikroba Rimpang Jahe Gajah berasal dari Indonesia (author)	Jurnal Bahan Alam Indonesia Vol 6 No.6, 213 – 216, 2009

B. Makalah/Poster

Tahun	Judul	Penyelenggara
2009	Macroscopic and Microscopic Studies, and Phytochemical Screening of Anredera cordifolia (Ten.) Steenis Leaves	The International Conference on Pharmacy and Pharmaceutical Science
2009	Identification of Components of Essential Oil from Cananga odorata which Penetrated into the Rat Skin (Wistar Strain) in the Practice of Timung (Development of Timung as Alternative Healing)	The International Conference on Pharmacy and Pharmaceutical Science
2009	Antimicrobial Activity and Volatile Components of Essential Oil from *Cymbopogon nardus*	Second Collaborative Conference Airlangga University-USM
2009	Kandungan kimia dan aktivitas antijerawat 3 kultivar jahe	Second Collaborative Conference Airlangga University-USM
2009	Identification of Components of Essential Oil from *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle which Penetrated into the Rat Skin (Wistar Strain) in the practice of Timung (Develpment of Timung as Alternative Healing)	Second Collaborative Conference Airlangga University-USM
2009	Anatomy, morphology and phytochemical screening of *Marsilea crenata* Presl	Hasanuddin University
2008	Antibacterial activity and Spectra profiles of Essential oil from three ginger cultivar rhizomes	Bogor Agricultural University
2007	Traditional medicine for health care of married women of the royal family in Kapanjin District, Sumenep Regency, Madura Island in Indonesia	Perhipba

2004	Aromatherapy in the management of sexual dysfunction at Seminar on Impotency	Lembaga Penelitian Universitas Airlangga
2004	Prospect of Traditional Medicines of the Philippines and Indonesia for Complementar and Alternative Therapy in the era of Globalization	Asian Public Intellectuals (API) Workshop, Fukuoka Japan
1992	Manfaat cabe puyang sebagai pemeliharaan kesehatan	Fakultas Farmasi Universitas Pancasila
1991	Pemakaian sirih dalam ramuan obat tradisional untuk wanita	Pusat Penelitian Obat Tradisional UGM
1987	Macroscopic and microscopic evaluation of crude drugs	WHO
1983	Usaha penanggulangan pencemaran aflatoksin pada beberapa simplisia nabati	

PESERTA KONFERENSI/SEMINAR/LOKAKARYA/SIMPOSIUM

Tahun	Judul Kegiatan	Penyelenggara
2009	The International Conference on Pharmacy and Advanced Pharmaceutical Sciences	Gajah Mada University
2009	1st International Conference on ASEAN Traditional Medicine	The Nippon Foundation
2009	Second Collaborative Conference Unair-USM	Universitas Airlangga
2009	Makassar International Symposium on Pharmaceutical Science	Universitas Hasanuddin
2008	The First International Symposium on Temulawak	Bogor Agricultural University
2008	Lokakarya Pemberdayaan Media Lokal	Komnas FBPI Kelompok Kerja Regional IV Jawa Timur
2007	Materi Pemanfaatan Tanaman Empon-Empon Sebagai Tanaman Obat Ditinjau dari Sisi Farmasi	Dinas Kehutanan dan Perkebunan Kabupaten Sumenep
2005	Temu Ilmiah Afrodisiaka dan Fungsi Seksual	Universitas Airlangga
2004	Seminar Nasional Peran Universitas Airlangga dalam Pengembangan Pengobatan Tradisional Berwawasan Budaya Bangsa	Universitas Airlangga

2002	Pelatihan Iptek Pembuatan Simplisia Nabati Kualitas Ekspor	KBPK-LPKM Unair
1995	Penelitian tumbuhan obat Indonesia	Lembaga Penelitian Universitas Airlangga
1993	Kongres Nasional XIV dan Kongres Ilmiah IX ISFI	Ikatan Sarjana Farmasi Indonesia
1992	Seminar Pegagan dan Cabe Jawa 1992	Fakultas Farmasi Universitas Pancasila
1992	Simposium pengembangan penelitian obat tradisional dan fitofarmaka	Lembaga Penelitian Universitas Airlangga
1992	Simposium Fitoterapi dan Pengobatan Alternatif	Univversitas Airlangga
1990	The International Congress on Traditional Medicine and Medicinal Plants	Universitas Airlangga
1987	Standardization, Quality Control and Utilization of Herbal Medicines in Asean Countries (WHO Program)	WHO
1987	Unesco Sub-Regional Seminar/Workshop on Transformation and Synthesis Related to Natural Products	UNESCO
1987	Simposium Kosmetika dan Obat Tradisional I	Fakultas Farmasi Universitas Pancasila
1984	International Congress Asian Traditional Medicine (ICTAM II)	
1980	Regional Workshop on Extraction and Purification Technique	Seoul National University, Seoul, Korea
1986	Simposium Penelitian tumbuhan obat V	PERHIPBA

KEGIATAN PROFESIONAL/PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

Tahun	Kegiatan
1991-sekarang	Praktek Kerja Lapangan mata kuliah Botani Farmasi
1981-sekarang	Penyuluhan Obat dan bahaya Obat, Obat tradisional
1986-1993	Pelaksana Ujian Negara Terdaftar tingkat Sarjana Lengkap bagi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Surabaya dan Universitas Katolik Widya Mandala

PENGHARGAAN/PIAGAM

Tahun	Bentuk Penghargaan	Pemberi
1991	Dosen Teladan Tingkat Fakultas	Universitas Airlangga
1991	Dosen Teladan tingkat universitas	Universitas Airlangga

ORGANISASI PROFESI/ILMIAH

Tahun	Organisasi	Jabatan
1980-sekarang	Ikatan Sarjana Farmasi Jawa Timur	anggota
2006-sekarang	Ikatan Sarjana Farmasi Jawa Timur	Sie Publikasi
2004-sekarang	Sentra Pengembangan dan Penerapan Pengobatan Tradisional Prop. Jatim	Sekretaris
1990-sekarang	Perhimpunan Peneliti Bahan Obat Alam	anggota

II. BIODATA ANGGOTA I

Nama : Dr. Noor Erma Sugijanto, Apt., MS
NIP : 130 809 075
Tempat, tgl. lahir : Surabaya, 28 Nopember 1952
Pangkat/gol./Jabatan : IVc/Pembina Utama Muda/Lektor Kepala
Bidang Keahlian : Mikrobiologi
Unit kerja : Fak. Farmasi Univ. Airlangga
Alamat rumah : Jl. Semolowaru Selatan XI/2, Surabaya.
Telepon /Fax : 031- 5996925, 031- 5949033
085731212309.

Pendidikan

No.	Tempat pendidikan	Gelar	Tahun lulus	Bidang studi
1.	Fakultas Farmasi Unair	Dra	1979	Farmasi
2.	Fakultas Farmasi Unair	Apoteker	1980	Apoteker
3.	Pasca Sarjana UNAIR	MS	1990	Farmasi
4.	Doktor-Pasca Sarjana UNAIR	Dr	2008	MIPA

Pengalaman Mengajar

No.	Mata Kuliah	Jenjang	Institusi/Jurusan	Tahun
1.	Analisis Farmasi I	S1	Kimia Farmasi	
2.	Kimia Analisis	S1	Kimia Farmasi	
3.	Kimia Dasar	S1	Kimia Farmasi	
4.	Analisis Mikrobiologi	S1	Kimia Farmasi	
5.	Foods Safety & Quality	S1	Kimia Farmasi	

Pelatihan Profesional

No.	Pelatihan	Penyelenggara	Tahun
1.	Hands-on Biolog Microbial Identification, School of Biological Sciences	Universiti Sains Malaysia -	2008
2.	Tropical Fungal Diversity Workshop, School of Biological Sciences	Universiti Sains Malaysia, -	2005 -
3.	Pelatihan Metode Eksplorasi DNA	Jurusan Kimia - Fakultas MIPA Univ.Airlangga	2005
4.	The 3 rd Asean-Uninet-Mycotoxin Training Course	UGM-University of Veterinary Medicine – Vienna, Yogyakarta	2000
5.	Kursus Kromatografi Cair Kinerja	Fakultas Farmasi	2000

	Tinggi	Universitas Airlangga, Surabaya	
6.	Private Enterprise Participation (PEP) Project Operating a Pharmacy	CIDA-KADIN-ISFI	1998

Penghargaan/Piagam

No.	Bentuk Penghargaan	Pemberi	Tahun
1.	Wisudawan Terbaik, Program sarjana Fakultas farmasi Universitas Airlangga	Universitas Airlangga, Surabaya	1979
2.	Wisudawan Terbaik pada Penggelaran Program magister sains, Pascasarjana Universitas Airlangga	Universitas Airlangga, Surabaya	1990
3.	Penyaji Terbaik, pada Seminar Nasional Hasil Pengembangan Budaya Kewirausahaan di Perguruan Tinggi	Ditbinlitabmas Dikti Depdiknas	2001
4.	Lulus S3 Program Studi MIPA pada Program Pascasarjana UNAIR dengan predikat cumlaude	Universitas Airlangga, Surabaya	2008

Pengalaman Riset

No.	Judul Riset	Tahun
1.	Budidaya jamur shiitake menggunakan limbah industri PCC sebagai komponen media produksi **(Program Semi Que Unair)**	2000
2.	Isolasi dan determinasi jamur endofit dari *Aglaia eusideroxylon*, Aglaia odorata dan *Alyxia reindwartii* **(Laporan Penelitian, Lemlit Unair)**	2005 –2006
3.	Paradigma baru produksi bahan obat sitotoksik menggunakan jamur endofit dari tanaman *Alyxia reinwardtii* **(Laporan Penelitian Hibah Bersaing)**	2001
4.	Paradigma baru produksi antibiotika menggunakan jamur endofit dari tanaman *Alyxia reinwardtii* **(Laporan Penelitian Hibah Bersaing)**	2007
5.	Uji daya hambat *Mycobacterium tuberculosis* dari umbi bidara upas (*Merremia mammosa* Hall) **(Penelitian Stranas-DP2M Dikti)**	2010

Pengalaman Riset

No.	Karya Ilmiah	Tahun
1.	Noor Erma Sugijanto, Lukas Budi Pramana, A. Totok Poernomo, Soebahagiana, Elok Mustafida, Optimasi media tanam jamur shiitake. **Majalah Farmasi Airlangga** 2 (2), 64-67.	2002
2.	Noor Erma Sugijanto, A. Totok Poernomo, M. Yuwono, Jong Dauw, Uji Cemaran Bakteri dalam daging keong sawah (*Pila scuttata*), **Majalah Farmasi Airlangga** ISSN 0852-1050, 2 (3), 118-120	2002.
3.	Noor Erma Sugijanto, Arie Ika Susanty, Tri Sundari, Dwi Riani, Djoko Agus Purwanto, Optimasi media cair jamur Shiitake (*Lentinus edodes*) dan produk asam amino yang dihasilkan, **Berkala Penelitian Hayati** ISSN 0852-6834, 8 (2), 67-73	2003
4.	Noor Erma Sugijanto, Dwi Riani, Arie Ika Susanty, Tri Sundari, M. Yuwono, Analisa Pertumbuhan dan Skrining fitokimia Miselia Jamur Shiitake (*Lentinus edodes*), **Majalah Farmasi Airlangga** ISSN 0852-1050, 4 (1), 27-30	2004
5.	Noor Erma Sugijanto, Analisis pertumbuhan dan skrining fitokimia miselia jamur Shiitake (*Lentinus edodes*), **Majalah Farmasi Airlangga** 4 (1)	2004
6.	Riesta Primaharinastiti, A. Totok Poernomo, Noor Erma Sugijanto, Bioakumulasi Logam Berat Cu oleh Bacillus sp., **Berkala Penelitian Hayati (Journal of Biological Researches)** ISSN: 08522-6834, 10, (1), 19-24	2004
7.	Noor Erma Sugijanto, Tri Sundari Arie Ika Susanty, Dwi Riani, Octavia Palupi, Isnaeni, Sukardiman, Kajian Pendahuluan Uji Toksiisitas Ekstrak Air Miselia dan Tubuh Buah jamur Shiitake dengan metode Brine Shrimp Lethality Test, **Berkala Penelitian Hayati** ISSN: 08522-6834, 10 (1), 13-18	2004
8.	Noor Erma Sugijanto, Gunawan Indrayanto, Noor Cholies, Endophytic fungi a potensial source of biologically active compounds, **First Collaborative Conference Biotechnology and Pharmaceuticals: Enhancing the Quality of Life, USM-Unair, Penang – Malaysia**	2007
9.	Noor Erma Sugijanto, Gunawan Indrayanto, Noor Cholies, Isolation of endophytic fungi from *Alyxia reinwardtii*, **Second Collaborative Conference Universitas Airlangga–Universiti Sains Malaysia**: Life Sciences Synergy for	2009

	Enhancement the Quality of Life, Surabaya	
10.	Febrina P., Nabila A., Noor Erma S., Noor Cholies, Antimicrobial activity of endophytic fungi Lecythophora sp. strain 30.1 and 30.5 of *Alyxia reinwardtii* BL (pulasari), **Second Collaborative Conference Universitas Airlangga–Universiti Sains Malaysia**: Life Sciences Synergy for Enhancement the Quality of Life, Surabaya	2009
11.	Ina M., Noor Erma S., Noor Cholies, Antimicrobial activity of endophytic fungi *Kabatiella caulivora* var A isolated from *Alyxia reinwardtii* BL (pulasari), **Second Collaborative Conference Universitas Airlangga–Universiti Sains Malaysia**: Life Sciences Synergy for Enhancement the Quality of Life, Surabaya	2009
12.	Noor Erma S., Istivaiyatus S., Noor Cholies Z, Isolation and Antimicrobial activity of endophytic fungi *Cladosporium oxysporum* isolated from *Alyxia reinwardtii* BL (pulasari), **Makassar International Symposium on Pharmaceutical Science** , di Makassar	2009

Pengalaman Pengabdian Kepada Masyarakay

No.	Judul Kegiatan	Tahun
1.	Bahaya Penggunaan Bahan Tambahan Makanan , Bakti Sosial Desa Tiris , Probolinggo (**IKASFI- Rotary Internt.**)	2008 -
2.	Pelatihan Cara Pembuatan Pangan Yang Baik, Higienis dan Halal Bagi Usaha Kecil, Surabaya (**DIPA- PNBP Unair**)	2007
3.	Konsultasi Bisnis dan Penempatan Tenaga Kerja Univ. Airlangga, Surabaya (**Ditbinlintamas- Dikti DepdikNas.**)	2001- 2003
4.	Upaya Menumbuh-kembangkan Jiwa Kewirausahaan Mahasiswa FFUA dalam upaya menciptakan wirausahawan handal dan mandiri, Surabaya (**Ditbinlintamas-Dikti DepdikNas.**)	2001
5.	Magang Kewirausaha-an Mahasiswa FFUA di Apotek, Surabaya (**Ditbinlintamas-Dikti DepdikNas.**)	2000, 2001
6.	Usaha- Budidaya Jamur Shiitake Untuk Pemberdayaan Pengusaha Kecil dan Menengah (**LIPI – IPTEKDA III**)	2000

III. BIODATA ANGGOTA II

Nama : Rr. Retno Widyowati, S.Si, Apt, M.Pharm
NIP : 132 300 854
Tempat tanggal lahir : Tuban, 5 Januari 1977
Pangkat/Gol/Jabatan : IIIb/Asisten Ahli
Bidang keahlian : Fitokimia
Unit Kerja : Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya
Alamat Rumah : Sukolilo Park Regency F-11, SUrabaya
No. Telp. : 085732958284

Pendidikan

No.	Tempat pendidikan	Gelar	Tahun lulus	Bidang studi
1.	Fakultas Farmasi Unair	S.Si	2001	Farmasi
2.	Fakultas Farmasi Unair	Apoteker	2002	Apoteker
3.	S-2 University of Toyama, Jepang	M.Pharm	2009	Farmasi

Pengalaman Riset

No.	Judul Riset	Tahun
1.	Uji Aktivitas Antimalaria Senyawa Diterpen Lakton *Andrografis paniculata* pada Stadium Gametosit *in vitro* terhadap Kultur *Plasmodium falsciparum* **(Skripsi)**	2000
2.	Studi Optimasi Fraksinasi Amonium Sulfat pada Percobaan Isolasi PABA *Glukosil transferase* dari Kultur Suspensi Sel *Solanum laciatum* **(Penelitian Dasar, Ketua Peneliti)**	2004
3.	Pembentukan Glikosida OABA melalui Reaksi Enzimatis OABA *Glukosil transferase* yang Diisolasi dari Kultur Suspensi Sel *Solanum laciniatum* **(Penelitian Dosen Muda, Anggota Peneliti)**	2004
4.	Studi Fitoremediasi dan Respon Kultur Pucuk *Solanum laciniatum* dan *Solanum mammosum* terhadap Cu^{2+} **(Penelitian Hibah Bersaing, Anggota Peneliti)**	2004
5.	Pelatihan Cara Pembuatan Salep Lengkuas (*Alpinia galanga . L. Swartz*) sebagai Antijamur pada Home Industri Obat Tradisional di Surabaya **(Penelitian DIPA Unair, Ketua Peneliti)**	2006
6.	Teknologi Pembuatan Salep Lengkuas (*Alpinia galanga.L. Swartz*) sebagai Antijamur pada Home Industri Obat Tradisional Di Surabaya **(Penelitian IPTEK, Ketua Peneliti)**	2006
7.	Skrining Fitokimia dan Uji Daya Anti Mikroba Ekstrak Tanaman *Garcinia celebica* terhadap *Staphylococcus aureus, Shigella dysenteriae* dan *Candida albicans* **(Penelitian DIPA Unair, Ketua**	2006

	Peneliti)	
8.	The Depressive Effects of n–9 Eicosatrienoic Acid on Osteoblasts **(Open Research Center, Kinjogakuin University, and Polyene Project, 285 Ltd, jepang, Anggota Peneliti)**	2008
9.	Chemical Constituents of *Barleria lupulina* and Their Alkaline Phosphatase Stimulatory Activity **(Monbukagakusho, Jepang, Ketua Peneliti)**	2009
10.	Uji Aktivitas Alkaline Phosphatase dari Fraksi *Graptophyllum pictum* dan *Sphilanthes acmella* terhadap Sel MC3T3-E1 sebagai Marker Diferensiasi Sel Osteoblast **(Penelitian Dosen Muda Unair, Ketua Peneliti)**	2009
11.	Pemberian Ekstrak Etanol 70% *Barleria lupulina* Disertai Latihan Fisik pada Mencit untuk Menghambat Peningkatan Ketidakseimbangan Remodeling Tulang **(Penelitian Dosen Muda Unair, Ketua Peneliti)**	2010
12.	Uji daya hambat *Mycobacterium tuberculosis* dari umbi bidara upas (*Merremia mammosa* Hall) **(Penelitian Stranas-DP2M Dikti, Anggota)**	2010

Publikasi

No.	Karya Ilmiah	Tahun
1.	Uji *in vitro* Aktivitas Antimalaria Isolat dari *Andrografis paniculata* terhadap *Plasmodium falciparum* pada Stadium Gametosit, **Majalah Farmasi UNAIR, author**	2003
2.	Mefenamic acid Compenhensive Profil, Profil of Drug Substances, **Excipient and Related Methodology vol 3 , Elsevier Academic Press, Co-author**	2006
3.	The Depressive Effects of n–9 Eicosatrienoic Acid on Osteoblasts, **Lipids, Co-author**	2008
4.	Alkaline Phosphatase (ALP) Stimulatory Constituents of *Barleria lupulina*, **Journal of Traditional Medicines 26, p-061, author**	2009
5.	Kandungan Kimia dan Aktivitas Antimikroba Ekstrak *Garcinia celebica* terhadap *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae* dan *Candida albicans*. **Jurnal Bahan Alam Indonesia, author** (Submitted)	2010
6.	Alkaline Phosphatase Activity of *Graptophyllum pictum* and *Sphilanthes acmella* Fractions againts MC3T3-E1 Cells as Marker of Osteoblast Differentiation Cells. - **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Author** (Accepted)	2010

Seminar

No.	Karya Ilmiah	Tahun
1.	Chemical Constituents from Water Fraction of *Barleria lupulina* and Their Alkaline Phosphatase Stimulatory Activity, **Bandung International Conferences on Medicinal Chemistry, Oral Presentation**	2009
2.	New Iridoid Glucosides from *Barleria Lupulina* and Their Alkaline Phosphatase Stimulatory Activity, **Seminar Nasional Kimia Bahan Alam, Oral Presentasi**	2009
3.	Chemical Constituents from Water Fraction of *Barleria lupulina* and Their Alkaline Phosphatase Stimulatory Activity, **Bandung International Conferences on Medicinal Chemistry, ITB Bandung, Oral Presentation**	2009
4.	New Iridoid Glucosides from *Barleria Lupulina* and Their Alkaline Phosphatase Stimulatory Activity, **Seminar Nasional Kimia Bahan Alam, Semarang, Oral Presentation**	2009
5.	Alkaline Phosphatase Activity of *Graptophyllum pictum* and *Sphilanthes acmella* Fractions againts MC3T3-E1 Cells as Marker of Osteoblast Differentiation Cells. **International Conference and Exhibition on Pharmaceutical, Nutraceutical and Cosmeceutical Technology: Formulation and Applictions – PharmaTech 2010, Kuala Lumpur, Malaysia, Oral Presentation**	2010

IV. BIODATA ANGGOTA III

Nama : Neny Purwitasari, S.Farm, Apt
NIP : 132 318 587
Pangkat/Gol/Jabatan : IIIb/Asisten Ahli
Tempat tanggal lahir : Trenggalek, 19 April 1980
Bidang keahlian : Fitokimia
Alamat kantor : Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya

Pendidikan

No.	Tempat pendidikan	Gelar	Tahun lulus	Bidang studi
1.	Fakultas Farmasi Unair	S.Farm	2004	Farmasi
2.	Fakultas Farmasi Unair	Apoteker	2005	Apoteker

Pengalaman Riset

No.	Judul Riset	Tahun
1.	Uji Aktivitas Antimikroba Minyak Atsiri Rimpang Jahe Gajah, Jahe Emprit dan Jahe Merah terhadap *Staphylococcus aureus, Eschericia coli, Candida albicans* dan *Tricophyton ajelloi* **(Skripsi)**	2004
2.	Isolasi Senyawa Marker Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) **(Badan POM, Anggota Peneliti)**	2006
3.	Skrining Fitokimia Kandungan Daun Semanggi (*Marcilea crenata* Presl.) **(LitbangProp Jatim, Anggota Peneliti)**	2007
4.	Bioaktivitas dan Kandungan Senyawa tanaman Binahong (Anredera cordifolia) **(Research Grant FFUA, Ketua)**	2009
5.	Prospek tanaman Semanggi (Marcilea crenata) sebagai fitofarmaka pencegah osteoporosis. **(Research Grant FFUA, Anggota)**	2009
6.	Aktivitas Penghambatan reverse transcriptase type 1 HIV Tanaman Obat *Justicia gandarussa* **(Riset Strategis Nasional DIKTI, anggota)**	2009
7.	Uji Aktivitas Alkaline Phosphatase dari Fraksi *Graptophyllum pictum* dan *Sphilanthes acmella* terhadap Sel MC3T3-E1 sebagai Marker Diferensiasi Sel Osteoblast **(Penelitian Dosen Muda Unair, Anggota Peneliti)**	2009
8.	Uji daya hambat *Mycobacterium tuberculosis* dari umbi bidara upas (*Merremia mammosa* Hall) **(Penelitian Stranas-DP2M Dikti, Anggota)**	2010

Publikasi

No.	Karya Ilmiah	Tahun
1.	Kandungan Kimia dan Aktivitas Antijamur Minyak Atsiri Rimpang Jahe Gajah yang berasal dari Indonesia (**Jurnal Bahan Alam Indonesia, Co-Author**)	2009
2.	Chemical constituent and antibacterial activity of essential oil from three ginger cultivars (**Second Joint Conference Unair-USM, Author**)	2009
3.	Antibacterial activity and volatile components of essential oil from *Cymbopogon nardus* (**Second Joint Conference Unair-USM, Author**)	2009

LAMPIRAN 1
DRAFT ARTIKEL ILMIAH

Uji Daya Hambat *Mycobacterium tuberculosis* dari Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* Hall)

Mangestuti Agil*[a], Noor Erma Sugianto[b], Retno Widyowati[a], Neny Purwitasari[a]
[a]Departemen Farmakognosi dan Fitokimia, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
[b]Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farms Universitas Airlangga
Jl. Dharmawangsa Dalam, Surabaya, Indonesia

Abstract

The antibacterial activity on Mycobacterium tuberculosis of n-hexane, methanol and water extract of bidara upas tuber had been studied using Agar Dilution Method at concentration 25-8000 µg/ml. The result showed that the water, n-hexane and methanol extract has antituberculosis property with Minimal Inhibition Concentration (MIC) at 400µg/ml, 400µg/ml and 500µg/ml, respectively. The result was supported by the coloring experiment with Zielh-nelseen

Keywords: *antibacterial, n-hexane extract, methanol extract, water extract, Merremia mammosa Hall, Mycobacterium tuberculosis.*

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit menular yang langsung disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dan dapat menyerang paru-paru atau organ tubuh yang lainnya. Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* bersifat khusus, yaitu tahan terhadap asam pada pewarnaan sehingga disebut Basil Tahan Asam (BTA), cepat mati dengan sinar matahari langsung, tetapi dapat bertahan hidup beberapa jam di tempat yang gelap dan lembab. Di dalam jaringan tubuh bakteri ini dapat bersifat tidak aktif (*dormant*) [1].

Menurut WHO terdapat 22 negara yang mempunyai angka prevalensi penderita penyakit tuberkulosis yang tinggi, 10 negara berada di Asia dengan prevalensi yang tertinggi diantaranya India, Cina dan Indonesia. Laporan WHO yang terbaru (2006), masih menempatkan Indonesia sebagai penyumbang tuberkulosis terbesar nomor 3 di dunia setelah India dan Cina dengan jumlah kasus baru yang mencapai sekitar 539.000, dan jumlah kematian sekitar 101.000 per tahun [2]. Masalah TB hampir terdapat di seluruh wilayah Indonesia. Dimana tingkat prevalensi tuberkulosis di DIY-Bali sebesar 64/100.000 orang, Jawa sebesar 107/100.000 orang, Sumatera sebesar 160/100.000 orang, dan wilayah Kawasan Timur Indonesia memiliki tingkat prevalensi yang lebih tinggi (210/100.000 orang) (Anonim, 2004) [2].

Kasus tuberkulosis ini meningkat disebabkan karena tingginya angka resistensi terhadap obat tuberkulosis, baik resistensi primer maupun sekunder. Beberapa resistensi tuberkulosis ini disebabkan karena pemakaian obat anti-tuberkulosis (OAT) tunggal, kombinasi OAT yang tidak memadai dan pemakaian OAT yang tidak teratur [3]. Ketidakpatuhan penderita TB dalam menjalani pengobatan terutama adalah kelalaian, berhenti sebelum akhir pengobatan, dan kambuhnya penyakit. Sementara itu,

penanggulangan penyakit TB-paru pada penderita dengan kuman TB sensitif memerlukan waktu 6 bulan, sedangkan bagi penderita TB yang resisten (MDR-TB) harus menggunakkan OAT lini kedua. Selain mahal, toksik dan berefek samping, angka kesembuhan pengguna OAT lini ke dua tidak dapat dipastikan, serta membutuhkan waktu yang lama [4].

Salah satu tumbuhan yang belum banyak dikenal masyarakat Indonesia namun memiliki prospek sebagai salah satu sumber bahan pengobatan adalah umbi bidara upas dengan nama ilmiah *Merremia mammosa* Hall dari suku Convolvulaceae. Tanaman ini banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Sampang-Madura untuk mengobati tuberculosis [5]. Dari beberapa literatur diungkapkan bahwa tumbuhan *Merremia mammosa* Hall ini dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Bagian dari umbi digunakkan sebagai obat tuberkulosis [6]. Hal itulah yang mendasari pemilihan tumbuhan ini sebagai bahan penelitian.

Sebagai pendekatan untuk mengetahui aktivitas biologis pada tanaman ini, maka dilakukan uji daya anti-bakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis* secara *in vitro* dengan menggunakan metode dilusi agar. Kemudian ethambutol digunakan sebagai kontrol positif. Uji daya hambat antibakteri ini akan dilakukan terhadap ekstrak air, *n*-heksana dan metanol dari umbi bidara upas dengan tujuan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum. Pada ekstrak yang memiliki KHM terendah, pada penelitian selanjutnya akan dilakukan fraksinasi lebih lanjut sehingga bisa diketahui komponen yang aktif sebagai anti-TB. Uji toksisitas akut dan sub kronik juga dilakukan pada penelitian dengan melihat parameter-parameter enzim seperti SGOT/SGPT dan histopatologi hepar pada hewan coba, sehingga akan diketahui keamanan atau toksisitas dari pemakaian umbi bidara upas dan terhadap tiap ekstrak juga dilaksanakan skrining fitokimia untuk mendapatkan informasi golongan senyawa kandungan.

METODE

Bahan

Bahan baku untuk percobaan berupa umbi *Merremia mammosa* Hall yang diambil dari Sampang Madura, JATIM. Umbi dicuci dengan air bersih, ditiriskan sampai kering, kemudian diiris-iris melintang dengan ketebalan antara 6-10 mm. kemudian di keringkan di sinar matahari langsung sampai kering. umbi yang sudah kering ditumbuk sampai halus, lalu diayak. Serbuk umbi yang telah halus ini selanjutnya dipakai sebagai bahan penelitian. Dalam penelitian ini akan digunakan pelarut dengan kepolaran yang berbeda yaitu n-heksan untuk menarik senyawa kandungan yang bersifat non polar dan metanol untuk menarik senyawa yang bersifat polar. Ekstraksi dengan air juga digunakan karena secara empiris penggunaan umbi bidara upas untuk mengobati TB adalah dengan cara direbus [7].

Identifikasi Senyawa

Identifikasi senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman ini dengan menggunakan reaksi warna, uji endapan serta kromatografi lapis tipis (KLT). Golongan kandungan kimia yang akan diperiksa adalah: alkaloid, glikosida saponin, steroid dan triterpen, glikosida jantung, flavonoid, tanin dan senyawa polifenol, antraquinon, dan glikosida sianohidrin. Pada identifikasi alkaloid meliputi reaksi pengendapan dan KLT, identifikasi terpenoid/saponin meliputi uji buih, Liebermann-Burchard, Salkowski, dan KLT, identifikasi senyawa flavonoid meliputi uji Bate Smith dan Metcalfe, Wilstatter,

dan deteksi dengan KLT, identifikasi tanin meliputi uji gelatin dan feriklorida, identifikasi antrakinon meliputi uji Borntrager dan deteksi dengan KLT [8,9].

Uji Aktivitas Antituberkolusis

Media yang digunakan untuk uji antimikroba adalah Midllebrook 7H9 dan Midllebrook 7H10. Konsentrasi larutan uji yang digunakan untuk uji antimikroba 8000, 4000, 2000, 1000, 500, 400, 300, 200, 100, 50 dan 25 µl. Uji mikroba ini dilakukan dengan metode dilusi agar (*Agar Dilution Method*), dengan cara: media agar steril yang masih cair berisi larutan uji, kontrol positif dan negatif dituang dalam cawan petri dan dibiarkan dingin sampai memadat [10,11,12,13].

Mikroba dibiakkan terlebih dahulu menggunakan media yang sesuai diinkubasi selama 24 jam. Pembuatan suspensi mikroba yang akan digunakan pada penelitian dengan cara 1 ose penuh koloni *Mycobacterium tuberculosis* diambil dari biakan *Mycobcterium tuberculosis* pada medium Lowenstein-jenssen yang berumur 3 minggu kemudian dimasukkan dalam media cair Middlebrook 7H9, divortex ± 1 menit, disetarakan kekeruhanya dengan Mcfarland 1,0. Kekeruhannya diukur dengan spektrofotometer *Bausch and Lomb Spectronic* pada panjang gelombang 580 nm, sampai diperoleh transmitan 25%, dan diperoleh suspensi yag mengandung 10^8 mikroba/ml lalu diencerkan hingga diperoleh 10^5 mikroba/ml Selanjutnya 0,5 ul suspensi mikroba diteteskan pada cawan petri yang berisi media bercampur larutan uji. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan cara mengamati secara visual pertumbuhan mikroba pada konsentrasi terkecil yang masih mampu menghambat pertumbuhan mikroba. Sebagai kontrol positif digunakan antibiotika ethambutol untuk antituberkulosis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Identifikasi senyawa

Hasil identifikasi senyawa kimia dari umbi bidara upas terdapat pada tabel 1. Ekstrak air memberikan reaksi yang positif pada senyawa polifenol, ekstrak *n*-heksana memberikan reaksi positif pada senyawa terpenoid dan triterpenoid sedangkan ekstrak metanol tanaman ini memberikan reaksi yang positif pada identifikasi senyawa flavonoid dan polifenol.

Tabel 1. Hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak air, *n*-heksana dan metanol umbi bidara upas.

Skrining Fitokimia	Ekstrak air (Rf)	Ekstrak *n*-heksana (Rf)	Ekstrak metanol (Rf)
Alkaloid	-	-	-
Tanin	-	-	-
Flavonoid	-	-	+ (0,76)
Terpenoid	-	+ (0.35)	-
Triterpenoid	-	+ (0,46)	-
Antrakinon	-	-	-
Polifenol	+ (0,48)	-	+ (0,56)

Selain itu dilakukan identifikasi senyawa kimia dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Pada identifikasi polifenol menggunakan fase gerak kloroform : etil asetat : asam formiat (0,5:9:0,5) dan penampak noda $FeCl_3$ diperoleh noda berwarna hitam dengan Rf = 0,48 untuk ekstrak air dan Rf = 0,56 untuk ekstrak metanol, sedangkan ekstrak heksana tidak memberikan noda hitam. Pada identifikasi terpenoid dan triterpenoid menggunakan fase gerak kloroform : asetat (4:1) dan

penampak noda anisaldehide, diperoleh noda warna merah muda-ungu dengan harga Rf = 0,46 dan Rf = 0,35 untuk ekstrak *n*-heksana. Sedanghkan pada identifikasi flavonoid menggunakan fase gerak butanol : asam asetat : air (4:1:5) dan penampak noda seri (IV) sulfat diperoleh noda kuning dengan harga Rf = 0,76 untuk ekstrak metanol.

Hasil Uji Aktivitas Antituberkolusis

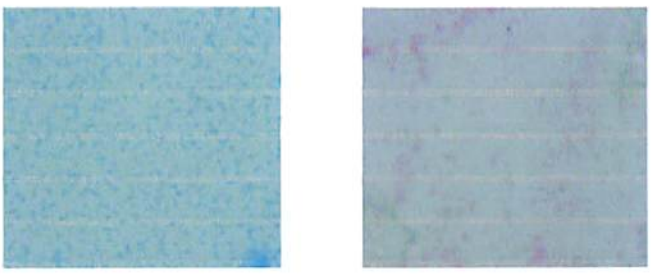
Hasil penelitian uji daya hambat *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan ekstrak air, *n*-heksana dan metanol umbi bidara upas (*Merremia mammosa* Hall) menunjukan hasil yang positif. Pada konsentrasi 8000-25 µg/ml mempunyai nilai Minimum Inhibition Concentration (MIC) sebesar 400 µg/ml untuk ekstrak air, 400 µg/ml untuk ekstrak *n*-heksana dan 500 µg/ml untuk ekstrak metanol (tabel 2).

Tabel 2. Hasil uji anti-bakteri dari ekstrak air umbi bidara upas terhadap *Mycobacterium tuberculosis*

Bahan Uji	Konsentrasi (µg/ml)	Hasil		
		Ekstrak air	Ekstrak n-heksana	Ekstrak metanol
Ekstrak	8000	+	+	+
	4000	+	+	+
	2000	+	+	+
	1000	+	+	+
	500	+	+	+
	400	+	+	-
	300	-	-	-
	200	-	-	-
	100	-	-	-
	50	-	-	-
	25	-	-	-
Kontrol positif (ethambutol)	10	+	+	+
Kontrol negatif	-	-	-	-

Uji Identifikasi Standar Koloni *Mycobacterium tuberculosis* Ekstrak Air, *n*-Heksana Dan Metanol Secara Mikroskopi

Hasil uji aktivitas anti-mikroba menggunakan ekstrak air dan *n*-heksana umbi bidara upas (*Merremia mammosa* Hall) secara mikroskopis pada Basil Tahan Asam (BTA) menunjukan hasil positif dengan terbentuknya warna merah (Gambar 1B) dengan konsentrasi 300-25 µg/ml, sedangkan ekstrak methanol sebesar 400-25 µg/ml. Selain itu memberikan hasil negatif dengan terbentuknya warna biru (Gambar 1A) pada konsentrasi 8000-400 µg/ml untuk ekstrak air dan *n*-heksana, dan konsentrasi 8000-500 µg/ml untuk ekstrak metanol.



A B

Gambar 1. Hasil mikroskopis terhadap media pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*: (A) BTA negatif menandakan tidak terdapatnya pertumbuhan, (B) BTA positif menandakan adanya pertumbuhan

PEMBAHASAN

Ekstrak umbi bidara upas diperoleh dengan cara maserasi bertahap menggunakan pelarut *n*-heksana dilanjutkan dengan metanol untuk memastikan bahwa proses ekstraksi sudah sempurna dilakukan KLT [9]. Ekstrak air umbi bidara upas diperoleh dengan membuat infus dari 40 gram serbuk umbi bidara upas, di keringkan dengan cara *freeze drying*. Pengujian ekstrak air, dimaksudkan untuk membuktikan kebenaran empiris yang mana masyarakat Sumenep-Madura menggunakan rebusan air dari umbi bidara upas untuk obat tuberkulosis.

Pada uji skrining fitokimia, ekstrak *n*-heksana mengandung senyawa triterpenoid dan terpenoid sedang ekstrak metanol dan ekstrak air didapatkan senyawa polifenol. Metode uji aktivitas daya hambat kuman *Mycobacterium tuberculosis* digunakan dilusi agar. Keuntungan metode dilusi agar adalah fleksibilitasnya karena dapat digunakan untuk semua bahan yang bersifat polar maupun non polar dan ekstrak tidak harus steril [14]. Metode ini juga memungkinkan untuk digunakan dalam studi mikrobiologi bagi senyawa mudah larut atau tidak mudah larut [13]. Konsentrasi ekstrak umbi bidara upas yang digunakan adalah 8000 - 25 µg/ml.

Mikroba uji yang digunakan adalah *Mycobacterium tuberculosis* yang dinding selnya kaya akan lipid, sehingga sulit ditembus ekstrak yang didispersikan dalam air. Didapatkan hasil bahwa ekstrak air, *n*-heksana dan metanol umbi bidara upas ternyata mempunyai daya hambat terhadap *Mycobacterium tuberculosis* maka perlu dilakukan isolasi terhadap senyawa yang terdapat pada masing-masing ekstrak dan dilakukan uji aktivitas terhadap isolat metabolit. Hasil penelitian didapatkan bahwa MIC untuk ekstrak *n*-heksana adalah 400 µg/ml, untuk ekstrak metanol 500 µg/ml, dan sedangkan untuk ekstrak air 400 µg/ml, membuktikan bahwa umbi bidara upas menghambat pertumbuhan kuman *Mycobacterium tuberculosis*. Ekstrak *n*-heksana memiliki MIC 400 µg/ml, cukup prospektif untuk dilanjutkan dan diisolasi kandungan bahan aktif yang terdapat didalamnya. Ekstrak *n*-heksana sesuai dengan sifat dinding sel dari *Mycobacterium tuberculosis* yang kaya lipid sehingga ekstrak *n*-heksana yang bersifat non polar dapat menembus dinding sel dari *Mycobacterium tuberculosis*, dan dapat menghambat perkembangbiakan kuman. Ekstrak air sesuai penggunaannya ternyata terbukti juga memiliki daya hambat terhadap *Mycobacterium tuberculosis*. Hal tersebut didasarkan pada fakta secara visual dan mikroskopi dengan pewarnaan pada pewarnaan Zielh-neelsen tidak terdapat *Mycobacterium tuberculosis* yang tumbuh.

Mengkaji hasil uji fitokimia dikaitkan dengan uji aktivitas antimikroba terhadap *Mycobacterium tuberculosis*, telah diketahui ada beberapa golongan senyawa yang terdapat pada umbi bidara upas antara lain polifenol, terpenoid dan triterpenoid yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis*. Hasil penelitian ini sejalan dengan beberapa peneliti terdahulu yang melaporkan bahwa senyawa golongan polifenol benzenoid dari *Ardisia japonica* [15] dan terpenoid secokauranes dari *Croton kogensis* (Euphorbiaceae) [16], triterpen dari *Calceolaria pinnifolia* (Scholpulariaceae) [17] yang mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Mycobacterium tuberculosis*.

Dalam kaitan ini sudah terbukti bahwa ekstrak umbi bidara upas bisa menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*, langkah lanjutan diperlukan untuk mengisolasi senyawa bahan aktif yang memiliki daya anti tuberkulosis tersebut, selanjutnya dapat dikembangkan sebagai obat baru terhadap tuberkulosis dengan memperhatikan aspek keamanan dan efektifitasnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak air, *n*-heksana, dan metanol dari umbi bidara upas dapat menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* H37RV dengan Minimum Inhibitor Concentration (MIC) masing-masing adalah 400, 400 dan 500 µg/ml.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada DP2M Dikti yang telah membiayai penelitian ini melalui Dana Penelitian Strategis Nasional Tahun 2010.

DAFTAR RUJUKAN

1. Anonim, 2002. **Pedoman Nasional Penanggulangan Tuberkulosis**, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hal 1–13
2. Anonim, 2004. **Penyakit Tuberkulosis**, Ditjen PPM dan Departemen Kesehatan Republik Indonesia http://www.penyakitmenular.info/pm/detil.aspm=0&I=273
3. Mansyur, 2001. **Masalah Tuberkulosis Paru dan Penanggulangannya**, Universitas Indonesia, Jakarta
4. Zulkarnain, 2004. **Analisis Drug Resistence dan Multi Drug Resistence**, Universitas Sumatera Utara
5. Hembing, W.H.M., Wirian, A.S., Yaputro, T., Dalimartina, S. dan Wibowo, B., 1996. **Tanaman Berkhasiat Obat Indonesia**, Cetakan 4, hal. 92-93
6. Anonim. 1980. **Materia Medika Indonesia** III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.hal. 29-30
7. Anonim, 1985. **Cara Pembuatan Simplisia**, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, hal. 29-30
8. Zaini, C.N. and Indrayanto G., 1978. **Skrining Fitokimia**, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya
9. Harborne, J.B., 1987. **Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan** edisi II, ITB Bandung
10. Bonang, G. dan Koeswardono E.S., 1982. **Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium Klinik**, PT. Gramedia, Jakarta, hal. 19-20, 77, 116, 133
11. Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A, Brooks, G.F., Butel, J.S. and Ornston, 1991. **Medical Microbiology** 19th edition, Prectice Hall International Inc., London, p. 272
12. Paxton, J.D., 1991. **Assay for Antifungal Activity, Methods in Plant Biochemistry** Vol. 6, London, Hacourt Brace Jovanovich Publ., p. 33-36
13. Rios, J.L., Recio, M.C. and Villar, A., 1988. Screening method for nature product with antimicrobial activity: A review of literature, **J. of Etnopharm.** 23, p. 127-149
14. Sahm, D.F and Washington II, J.A., 1991. Antibacterial Susceptibility Tests: Dilution Method, dalam: Ballow, A (Editor), **Manual of Clinical Microbiology**, 5nd edition, America Sociaety for Microbiology, Washington D.C, P. 1105 – 1115
15. Huang, P.H., Chen, W.S., Hu, Y., 1980. Studies on antituberculosis constituents from *Ardisia japonica*. **Yaoxue Tongbao** 15, p. 39.
16. Thongtan, J., Kittakoop, P., Ruangrungsi, N., Saenboonrueng, J., & Thebtaranonth,Y. (2003). **New antimycobacterial and antimalarial 8,9-secokaurane diterpenes from Croton kongensis.** J Nat Prod 66, 868–870.
17. Woldemichael, 2003. Antibacterial Diterpenes from *Calceolaria pinifolia*, New York, pp 242–246.

B. SINOPSIS PENELITIAN LANJUTAN

Judul: **Fraksinasi dan Uji Daya Hambat Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dari Ekstrak *n*-Heksana dan Metanol Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* Hall.)**

Indonesia adalah salah satu negara dengan prevalensi penyakit Tuberculosis (TBC) yang tinggi. Menurut WHO, Indonesia menjadi negara penyumbang penyakit TBC terbesar ketiga di Asia setelah India dan China dengan angka kematian yang cukup tinggi tiap tahunnya. Penyakit yang biasa menyerang paru-paru ini disebabkan oleh penularan langsung bakteri *Mycobacterium tuberculosis.*

Sanitasi yang buruk, kurangnya kesadaran akan kebersihan ditambah kurang berhasilnya Obat Anti Tuberculosis (OAT) yang ada sekarang menjadi penyebab sulitnya pemberantasan penyakit ini di Indonesia. Adanya resistensi dan efek samping yang sangat mengganggu dari OAT menjadi penyebab diperlukannya suatu penemuan atas obat antimikroba baru terutama dari bahan alam yang aman, efektif dan memiliki efek samping yang rendah.

Umbi Bidara Upas (*Merremia mammosa* Hall.) telah digunakan masyarakat Madura secara turun temurun dari generasi ke generasi sebagai obat anti tuberkulosis. Pemakaian tersebut belum memiliki bukti ilmiah mengenai efektifitas dan keamannya. Pada penelitian terdahulu, Mangestuti dkk (2010) membuktikan khasiat ekstrak air, *n*-heksana dan metanol dalam menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis.* Oleh sebab itu, dalam penelitian ini dilakukan pemisahan lebih lanjut terhadap ekstrak *n*-heksana dan metanol, dan terhadap fraksi yang mengandung senyawa yang terdeteksi melalui skrining fitokimia akan dilakukan uji aktifitas daya hambat terhadap bakteri yang sensitif TBC (*Mycobacterium tuberculosis*) dan bakteri resisten TBC dengan menggunakan metode Dilusi Agar untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimun (KHM). Selanjutnya fraksi yang memiliki daya hambat paling optimal akan disolasi lebih lanjut guna mendapatkan kandungan senyawa yang poten sebagai anti-TBC.

Keywords : Bidara Upas (*Merremia mammosa* Hall.), bakteri sensitif TBC (*Mycobacterium Tuberculosis*), bakteri resisten TBC, KHM, fraksinasi.