

Uji Aktivitas Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn) dan Scopoletin secara In-Vitro terhadap Bakteri Tuberkulosis

Estu Mahanani Dhilasari⁽¹⁾, Idha Kusumawati⁽²⁾, Riesta Primaharinastiti⁽²⁾

¹Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta

² Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya

E-mail: estu.maharani@uinjkt.ac.id

ABSTRAK

Penyakit tuberkulosis disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Secara tradisional mengkudu digunakan untuk pengobatan tuberkulosis. *Scopoletin* merupakan komponen utama dalam mengkudu, oleh karena itu *scopoletin* sering dijadikan marker dalam studi farmakokinetik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas anti-*Mycobacterium tuberculosis* (H37RV) ekstrak daun mengkudu dan *scopoletin* melalui penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Uji aktivitas antibakteri dan penentuan KHM dari ekstrak etanol 50% daun mengkudu dilakukan dengan metode dilusi agar dengan konsentrasi $1,0 \times 10^{-4}$ µg/ml – $5,1 \times 10^{-11}$ µg/ml. Uji aktivitas menunjukkan bahwa ekstrak etanol 50% daun mengkudu dapat menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dengan KHM $4,0 \times 10^{-6}$ µg/ml. Sedangkan *scopoletin* dengan konsentrasi yang setara dengan kandungan pada ekstrak tidak menunjukkan aktivitas anti-*Mycobacterium tuberculosis*nya.

Kata kunci: Mengkudu, Scopoletin, tuberkulosis

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is a disease caused by a bacterium, *Mycobacterium tuberculosis*. *Morinda citrifolia* Linn has been found to kill *Mycobacterium tuberculosis*. Scopoletin is a major component in *Morinda citrifolia* Linn, therefore scopoletin often used as markers in studies of pharmacokinetic. This research purpose to determine anti-*Mycobacterium tuberculosis* (strain H37RV) activity based on the value of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) used to ethanolic extracts from *Morinda citrifolia* Linn leaf and scopoletin. Experiment of anti-*Mycobacterium tuberculosis* activities tested by well dillution methods with a dose $1,0 \times 10^{-4}$ µg/ml – $5,1 \times 10^{-11}$ µg/ml . The results showed that ethanolic extract *Morinda citrifolia* Linn leaf were found to be active to *Mycobacterium tuberculosis* activity with MIC 4×10^{-6} µg/ml while scopoletin at the same concentration with extract had no anti- *Mycobacterium tuberculosis* activity.

Keywords: Noni, scopoletin, tuberculosi

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit menular langsung yang disebabkan oleh kuman TB (*M. tuberculosis*). Diperkirakan sekitar sepertiga penduduk dunia telah terinfeksi oleh *M. tuberculosis* (Depkes RI, 2007). Peneliti India melaporkan beberapa spesies tanaman yang mempunyai aktivitas antibakteri

Mycobacterium tuberculosis, salah satunya adalah mengkudu (Gautam et al., 2007). Secara tradisional mengkudu digunakan oleh Bangsa Polinesia untuk pengobatan tuberkulosis. Suatu konsentrasi tertentu dari ekstrak daun mengkudu dapat membunuh 89 bakteri dalam tes tube, hampir sama efektifnya dengan obat anti-TB terkemuka, rifampisin, yang memiliki tingkat

inhibisi 97% pada konsentrasi yang sama (Mathivanan et al., 2005). Aktivitas antibakteri yang ditunjukkan melalui nilai Konsentrasi Hambat Minimum dari ekstrak daun mengkudu yang diekstraksi dengan etanol adalah 100 µg/ml dimana memiliki tingkat inhibisi sebesar 89% dapat digunakan untuk tuberkulosis dan gangguan pernafasan (Gautam et al., 2007). Kandungan senyawa dalam ekstrak etanol daun mengkudu, antara lain stigmasta-4-en-3-one, stigmasta-4,22-dien,3-one, β-sitosterol, stigmasterol dan epidioxysterol (Okunade et al., 2004).

Scopoletin merupakan komponen utama dalam mengkudu, oleh karena itu *scopoletin* sering dijadikan marker dalam studi farmakokinetik (Zhu et al., 1995). Aktivitas yang ditunjukkan oleh *scopoletin*, antara lain sebagai antihipertensi, antiinflamatori, analgesik, dan antimikroba (Chan-Blanco et al., 2005). *Scopoletin* menunjukkan aktivitas dalam menghambat *E. coli*, atau umumnya terkait dengan wabah baru yang menghasilkan infeksi serius dan bahkan kematian (Mathivanan et al., 2005).

Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas ekstrak daun mengkudu dan *scopoletin* sebagai anti-*Mycobacterium tuberculosis* untuk dapat dikembangkan dalam penelitian lebih lanjut. Uji aktivitas dilakukan pada ekstrak etanol 50% daun mengkudu dan *scopoletin* sebagai anti-*Mycobacterium tuberculosis* H37RV ATCC 27294 melalui penentuan Konsentrasi Hambat Minimum dengan metode dilusi agar.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Daun mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn) diperoleh dari daerah Sukamulya, Jawa Barat. Identifikasi dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO), Bogor. Bakteri yang digunakan adalah *Mycobacterium tuberculosis* H37RV ATCC 27294, diperoleh

dari persediaan bakteri di Laboratorium *Institute Diseases Center* Universitas Airlangga Kampus C. Etanol 50%. Etambutol (p.a) (Sigma, Germany). Ziehl-Neelsen. Middlebrook agar 7H9. *Scopoletin* (Aldrich), Biosafety Cabinet 2B. Laminar Air Flow. KLT-densitometri (Camag TLC scanner 3, software WinCATS versi: 1.4.3.6336, Camag linomat, dan Camag AD 2).

Pembuatan Ekstrak

Penyiapan bahan dilakukan dengan mengekstraksi 200 gram serbuk simplisia ditambah dengan 800 ml etanol 50%, dilarutkan dengan sonikator selama 10 menit, saring dengan corong Buchner, diambil filtratnya. Residu I ditambah dengan 600 ml etanol 50%, larutkan dengan sonikator selama 10 menit, saring dengan corong Buchner, ambil filtratnya. Residu II ditambah dengan 600 ml etanol 50%, larutkan dengan sonikator selama 10 menit, saring dengan corong Buchner, ambil filtratnya. Filtrat I, II, III dicampur menjadi satu kemudian dipekatkan dengan rotavapor dan timbang hasil ekstrak yang didapat.

Penetapan kadar *scopoletin* dalam ekstrak

Penetapan kadar ekstrak dengan metode KLT-densitometri dilakukan dengan fase gerak : eter – toluene – asam asetat 10% (22: 18: 6) dan fase diam : silika gel GF₂₅₄. Pembuatan larutan standar *scopoletin* dengan menimbang 2,0 mg standar *scopoletin* dan dilarutkan dalam 4,0 ml methanol (larutan baku induk). Kemudian larutan baku induk diencerkan untuk mendapatkan larutan baku kerja sebesar 100 µg/ml. Pembuatan larutan sampel ekstrak daun mengkudu dengan menimbang 400,0 mg sampel ekstrak daun mengkudu. Sampel ekstrak dimasukkan ke dalam labu ukur dan ditambahkan metanol hingga tepat 5,0 ml (bila perlu disonikasi untuk melarutkan). Dilakukan replikasi tiga kali. Penotolan larutan dan penetapan kadar *scopoletin* :disiapkan plat KLT dengan ukuran disesuaikan jumlah penotolan.

Larutan standar ditotolkan sebanyak 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 μl , sedangkan sampel ditotolkan sebanyak 10 μl . Kemudian plat KLT diamati dibawah sinar UV dan dipayar dengan densitometri pada panjang gelombang 346 nm.

Pembuatan larutan uji ekstrak etanol 50% daun mengkudu

Timbang 10,0 mg ekstrak etanol 50% daun mengkudu, larutkan dalam aquadest steril 100,0 ml. Larutan induk tersebut diencerkan kembali dengan aquadest steril sehingga diperoleh konsentrasi 0,001 $\mu\text{g/ml}$; 2×10^{-4} $\mu\text{g/ml}$; 4×10^{-5} $\mu\text{g/ml}$; 8×10^{-6} $\mu\text{g/ml}$; $1,6 \times 10^{-6}$ $\mu\text{g/ml}$; $3,2 \times 10^{-7}$ $\mu\text{g/ml}$; $6,4 \times 10^{-8}$ $\mu\text{g/ml}$; $1,28 \times 10^{-8}$ $\mu\text{g/ml}$; $2,56 \times 10^{-9}$ $\mu\text{g/ml}$. Masing-masing larutan di vortex terlebih dahulu, kemudian dipipet 0,1 ml, kemudian ditambahkan ke media middlebrook 7H9 sampai 5 ml yang mengandung 0,5 ml suspensi bakteri sehingga diperoleh konsentrasi 2×10^{-5} $\mu\text{g/ml}$; 4×10^{-6} $\mu\text{g/ml}$; 8×10^{-7} $\mu\text{g/ml}$; $1,6 \times 10^{-7}$ $\mu\text{g/ml}$; $3,2 \times 10^{-8}$ $\mu\text{g/ml}$; $6,4 \times 10^{-9}$ $\mu\text{g/ml}$; $1,28 \times 10^{-9}$ $\mu\text{g/ml}$; $2,56 \times 10^{-10}$ $\mu\text{g/ml}$; $5,12 \times 10^{-11}$ $\mu\text{g/ml}$ untuk uji aktivitas bakteri.

Pembuatan larutan uji scopoletin

Berdasar Konsentrasi Hambat Minimum yang didapat dari ekstrak etanol 50% daun mengkudu, ditimbang *scopoletin* sesuai dengan kadar yang terdapat dalam ekstrak etanol 50% daun mengkudu. Larutkan dalam aquadest steril sesuai dengan kadar Konsentrasi Hambat Minimum ekstrak etanol 50% daun mengkudu. Larutan *scopoletin* tersebut diencerkan dengan aquadest steril sampai 2-3 kali pengenceran. Dari masing-masing larutan di vortex terlebih dahulu, kemudian dipipet 0,1 ml, kemudian ditambahkan ke media middlebrook 7H9 sampai 5 ml untuk uji aktivitas antibakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn) dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, 25,2 gram daun mengkudu dimaserasi dengan etanol

50% dan didapat berat ekstrak sebanyak 6,7368 gram, randemen ekstrak 26,73%. Pemakaian etanol 50% karena pada konsentrasi tersebut didapatkan jumlah senyawa marker scopoletin yang terbanyak dibandingkan dengan konsentrasi yang lain. Ekstraksi dengan metode maserasi diharapkan dengan metode ini semua kandungan zat aktif dapat tertarik semua. Selain itu, metode ini praktis, relatif cepat, dan dapat dilaksanakan pada suhu kamar, sehingga pengaruh temperatur tinggi karena pemanasan dapat dihindari (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Penetapan kadar *scopoletin* dalam ekstrak daun mengkudu dengan metode KLT-Densitometri karena metode ini memiliki kelebihan yaitu selektivitas tinggi, dapat dipercaya, pengerjaannya relatif mudah dan cepat, biaya pengoperasian relatif mudah, polaritas pelarut atau pelarut campuran dapat diubah dalam waktu singkat, jumlah pelarut yang digunakan lebih sedikit dan dapat digunakan untuk uji kualitatif maupun kuantitatif (Touchstone dan Dobbin, 1983). Pada penetapan kadar *scopoletin* digunakan eluen campuran eter : toluen : asam asetat 10% = 22 : 18 : 6 tetes, dimana dengan komposisi eluen tersebut mampu memisahkan *scopoletin* dengan senyawa lain yang terdapat dalam sampel ekstrak daun mengkudu. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum menunjukkan adanya serapan maksimum pada panjang gelombang 346 nm.

Hasil penelitian uji aktivitas anti-*Mycobacterium tuberculosis* menggunakan ekstrak etanol 50% daun mengkudu menunjukkan hasil positif dengan menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* pada konsentrasi $1,0 \times 10^{-4}$ $\mu\text{g/ml}$ – $5,1 \times 10^{-11}$ $\mu\text{g/ml}$ dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum $4,0 \times 10^{-6}$ $\mu\text{g/ml}$.

Metode ini menggunakan antimikroba dengan konsentrasi yang diencerkan secara serial, baik dengan media cair atau padat. Kemudian bakteri uji diinokulasi pada media

dan diinkubasi. Melalui pemeriksaan cara dilusi ini dapat diperoleh konsentrasi hambat minimum yaitu konsentrasi terkecil yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Batas akhir yang diambil adalah kadar dimana antimikroba terlarut menghambat atau membunuh bakteri dengan kadar terendah.

Tabel 1. Luas area larutan baku standar *scopoletin* dalam berbagai konsentrasi dengan KLT-densitometri

Kadar	Luas Area
0,11 µg/ 1µl	4031,78
0,22 µg/ 2µl	6105,32
0,33 µg/ 3µl	9225,77
0,44 µg/ 4µl	10317,47
0,55 µg/ 5µl	12194,83
0,67 µg/ 6µl	13320,97

Persamaan regresi : $y = 2618,7414 + 16,9691x$
 $r = 0,98712$

Tabel 2. Penetapan kadar *scopoletin* dalam ekstrak daun mengkudu dengan KLT-densitometri

Replikasi	Berat sampel (mg)	Luas area	Sampel (mg/10,0µl)	Sampel (mg/5,0ml)	Kadar (%b/b)
1	400,0	6587,33	$23,4 \times 10^{-5}$	0,117	0,029
2	400,0	6271,38	$21,5 \times 10^{-5}$	0,108	0,027
3	400,0	6611,62	$23,5 \times 10^{-5}$	0,118	0,029
Kadar rata-rata					$0,028 \pm 0,0012$

Uji sensitivitas dengan cara dilusi agar memerlukan waktu pengerjaan yang lama dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja (Prasetyo, 2009). Kontrol positif yang

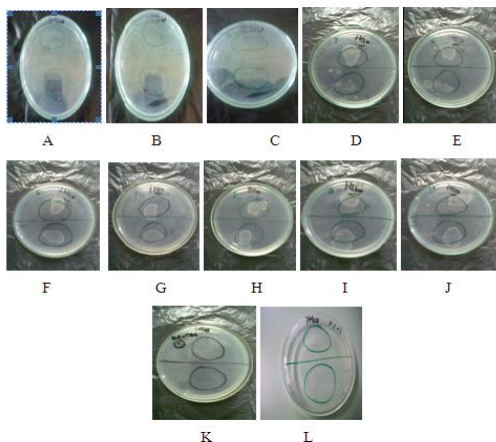
digunakan adalah etambutol dengan konsentrasi kadar 10µg/ml, karena strain ini sensitif terhadap etambutol (Garmana, *et al.*, 2011).

Uji aktivitas anti-*Mycobacterium tuberculosis scopoletin* dengan metode dilusi agar dilihat dari kadar KHM ekstrak daun mengkudu sebesar $4,0 \times 10^{-6}$ µg/ml dan kadar rata-rata *scopoletin* dalam ekstrak $2,8 \times 10^{-2}$ %. Sehingga konsentrasi *scopoletin* yang digunakan untuk uji aktivitas sebesar $1,1 \times 10^{-9}$ µg/ml diperoleh dari hasil kadar *scopoletin* dalam ekstrak dikalikan KHM ekstrak daun mengkudu.

Tabel 3. Hasil Uji Anti-*Mycobacterium tuberculosis* Ekstrak Etanol 50% Daun Mengkudu

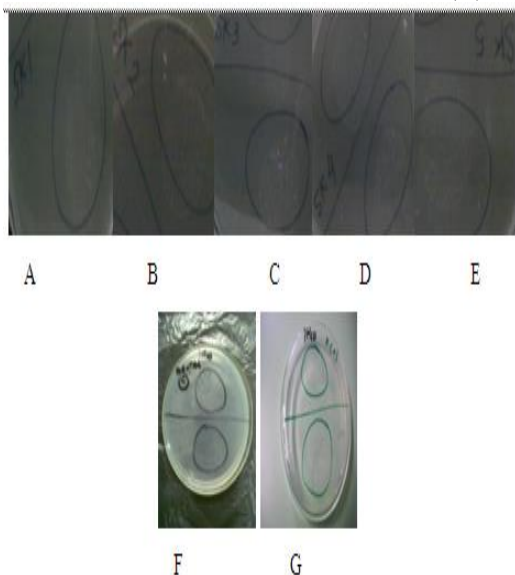
Nama bahan / ekstrak	Konsentrasi (µg/ml)	Hasil
Ekstrak etanol	$1,0 \times 10^{-4}$	S
50% daun mengkudu	$2,0 \times 10^{-5}$	S
	$4,0 \times 10^{-6}$	S
	$8,0 \times 10^{-7}$	R
	$1,6 \times 10^{-7}$	R
	$3,2 \times 10^{-8}$	R
	$6,4 \times 10^{-9}$	R
	$1,3 \times 10^{-9}$	R
	$2,6 \times 10^{-10}$	R
	$5,1 \times 10^{-11}$	R
Kontrol negatif	Campuran suspensi bakteri dalam media midllebrook 7H9	R
Kontrol positif	Etambutol 10µg/ml	S

Keterangan : (S) Terdapat hambatan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*; (R) Tidak ada hambatan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*; kontrol (+) Etambutol 10µg/ml; kontrol (-) Campuran suspensi bakteri dalam media midllebrook 7H9.



Gambar 1. Hasil Uji Anti-*Mycobacterium tuberculosis* Ekstrak Etanol 50% Daun Mengkudu

Keterangan : ekstrak etanol 50% daun mengkudu konsentrasi $1,0 \times 10^{-4}$ $\mu\text{g/ml}$ (A); $2,0 \times 10^{-5}$ $\mu\text{g/ml}$ (B); $4,0 \times 10^{-6}$ $\mu\text{g/ml}$ (C); $8,0 \times 10^{-7}$ $\mu\text{g/ml}$ (D); $1,6 \times 10^{-7}$ $\mu\text{g/ml}$ (E); $3,2 \times 10^{-8}$ $\mu\text{g/ml}$ (F); $6,4 \times 10^{-9}$ $\mu\text{g/ml}$ (G); $1,3 \times 10^{-9}$ $\mu\text{g/ml}$ (H); $2,6 \times 10^{-10}$ $\mu\text{g/ml}$ (I); $5,1 \times 10^{-11}$ $\mu\text{g/ml}$ (J); kontrol positif mengandung etambutol 10 $\mu\text{g/ml}$ (K); kontrol negatif mengandung campuran suspensi bakteri dalam media middlebrook 7H9 (L).



Gambar 2. Hasil Uji Anti-*Mycobacterium tuberculosis* Scopoletin

Keterangan : *scopoletin* konsentrasi $1,1 \times 10^{-9}$ $\mu\text{g/ml}$ (A); $2,2 \times 10^{-10}$ $\mu\text{g/ml}$ (B); $4,4 \times 10^{-11}$ $\mu\text{g/ml}$ (C); $8,7 \times 10^{-12}$ $\mu\text{g/ml}$ (D); $1,7 \times 10^{-12}$ $\mu\text{g/ml}$ (E); kontrol positif mengandung etambutol 10 $\mu\text{g/ml}$ (F); kontrol negatif mengandung campuran suspensi bakteri dalam media middlebrook 7H9 (G).

Tabel 4. Hasil Uji Anti-*Mycobacterium tuberculosis* Scopoletin

Nama bahan	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Hasil
<i>scopoletin</i>	$1,1 \times 10^{-9}$	R
	$2,2 \times 10^{-10}$	R
	$4,4 \times 10^{-11}$	R
	$8,7 \times 10^{-12}$	R
	$1,7 \times 10^{-12}$	R
Kontrol negatif	Campuran suspensi bakteri dalam media middlebrook 7H9	R
Kontrol positif	Etambutol 10 $\mu\text{g/ml}$	S

Keterangan : (S) Terdapat hambatan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*; (R) Tidak ada hambatan pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*; Kontrol (+) Etambutol 10 $\mu\text{g/ml}$; Kontrol (-) Campuran suspensi bakteri dalam media middlebrook 7H9/.

Hasil penelitian didapatkan KHM dari ekstrak daun mengkudu sebesar $4,0 \times 10^{-6}$ $\mu\text{g/ml}$ sedangkan *scopoletin* dengan jumlah sama yang dikandung pada ekstrak tidak menunjukkan aktivitas anti-*Mycobacterium tuberculosis*-nya. Hal ini dapat disebabkan didalam ekstrak daun mengkudu terkandung berbagai macam komponen yang memberikan efek saling mendukung atau sinergisme yang mampu membunuh *Mycobacterium tuberculosis* tidak hanya berasal dari *scopoletin*.

sScopoletin yang diketahui sebagai komponen utama di dalam mengkudu tidak



dapat dijadikan sebagai senyawa marker aktif dari ekstrak daun mengkudu terhadap aktivitas anti-*Mycobacterium tuberculosis*. Sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dari ekstrak etanol 50% daun mengkudu untuk menentukan senyawa marker yang aktif dari ekstrak etanol 50% daun mengkudu sebagai anti-*Mycobacterium tuberculosis* yang nantinya dapat dijadikan sebagai parameter penentuan dosis ekstrak etanol 50% daun mengkudu.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol 50% daun mengkudu menunjukkan aktivitas anti-*Mycobacterium tuberculosis* H37RV ATCC 27294 dengan nilai KHM sebesar $4,0 \times 10^{-6}$ µg/ml. Sedangkan konsentrasi *scopoletin* yang sama dengan yang dikandung dalam KHM ekstrak etanol 50% daun mengkudu tidak menunjukkan aktivitas anti-*Mycobacterium tuberculosis* H37RV ATCC 27294.

SARAN

Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap aktivitas anti-*Mycobacterium tuberculosis* ekstrak etanol 50% daun mengkudu secara *in-vivo* dan mencari senyawa marker aktif dari ekstrak etanol 50% daun mengkudu.

DAFTAR PUSTAKA

Chan-Blanco, Y., *et al.*, (2005) 'The Noni Fruit (*Morinda citrifolia* L.): A Review of Agricultural Research, Nutritional and Therapeutic Properties', *Journal of Food Composition and Analysis*, 19 (2006), pp.645–654. doi:10.1016/j.jfca.2005.10.001

Departemen Kesehatan RI (2000) *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Hal 5-12

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

Garmana A. N., *et al.* (2011) Uji Aktivitas Ekstrak beberapa Tumbuhan terhadap *Mycobacterium tuberculosis* Galur Sensitif dan Resisten. *Acta Pharmaceutica Indonesia*, Vol. XXXVI, No. 3&4, p. 35-39

Gautam, R., *et al.* (2007) Indian Medicinal Plants as a Source of Antimycobacterial Agents. *Journal of Ethnopharmacology*, 110(2007), p.200-234 doi:10.1016/j.jep.2006.12.031

Mathivanan, N., *et al.* (2005) Review on the current scenario of Noni research: Taxonomy, distribution, chemistry, medicinal and therapeutic values of *Morinda citrifolia*. *International Journal of Noni Research*, 1(1), 1-16

Okunade, A. L., *et al.* (2004) Natural Antimycobacterial Metabolites: Current Status. *Phytochemistry*, 65(2004), p.1017-1032. doi:10.1016/j.phytochem.2004.02.013

Prasetyo, T., 2009. Pola Resistensi Bakteri Dalam Darah terhadap Kloramfenikol. *Skripsi*. Universitas Indonesia Jakarta

Touchstone, J. C., and Dobbins, M. F. (1983) *Practice of Thin Layer Chromatography*, 2nd ed. New York: John Willey & Sons inc

Zhu, Y. P. and Woerdenbag, H. J. (1995) Traditional Chinese Herbal Medicine. *Pharm World Sci*, 17(4), p. 103-1