

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kelopak Bunga Rosella Terenkapsulasi Maltodekstrin dan Sinergitasnya dengan Isoniazid dan Rifampisin Terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37rv

(Antibacterial Activity of Rosella Calyx Extract Encapsulated by Maltodextrin and Its Synergy with Isoniazid and Rifampicin Against Mycobacterium tuberculosis H37rv)

Nana Juniarti N. Djide, M.Natsir Djide, Muhammad Nur Amir, Sartini*

Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia, 90245.

Article Info:

Received: 22 June 2019

in revised form: 22 July 2019

Accepted: 18 September 2019

Available Online: 2 October 2019

Keywords:

Hibiscus sabdariffa L.

Mycobacterium tuberculosis

INH

Rifampicin.

Corresponding Author:

Sartini

Fakultas Farmasi

Universitas Hasanuddin

Makassar

Indonesia

Email : sardj@farmasi.unhas.ac.id

ABSTRACT

First-line drugs (Isoniazid and Rifampicin) for the treatment of tuberculosis are known to have experienced resistance to *Mycobacterium tuberculosis*. The aim of this study was to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) of maltodextrin encapsulated rosella calyx extract and its ability to provide a synergistic effect with Isoniazid (INH) and Rifampicin (RIF) on *M. tuberculosis* R37rv. Rosella calyxes were macerated using 50% ethanol and encapsulated using maltodextrin. Antibacterial activity was carried out by determining MIC value using Microscopic Observation and Direct Susceptibility (MODS) method. The synergistic effect was carried out by calculating the Fractional Inhibition Concentration Index (FICI). The results showed that this extract was able to inhibit *M. tuberculosis* H37rv with MIC of 10 mg/ ml. The FICI value of the combination of extract with INH and rifampicin was obtained 1.25. This showed that rosella calyx extract is not synergistic with INH and rifampicin, might be due to rosella calyx extract has an antibacterial effect with a different mechanism with INH and Rifampicin.

Copyright © 2019 JFG-UNTAD

This open access article is distributed under a Creative Commons Attribution (CC-BY-NC-SA) 4.0 International license.

How to cite (APA 6th Style):

Djide, N. J. N., Djide, M. N., Amir, M. N., & Sartini. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kelopak Bunga Rosella Terenkapsulasi Maltodekstrin dan Sinergitasnya dengan Isoniazid dan Rifampisin Terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37rv. *Jurnal Farmasi Galenika :Galenika Journal of Pharmacy*, 5(2),117-123. doi:10.22487/j24428744.2019.v5.i2.12946

ABSTRAK

Obat lini pertama (Isoniazid dan Rifampicin) untuk pengobatan tuberkulosis diketahui telah mengalami resistensi terhadap *Mycobacterium tuberculosis*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kadar hambat minimal ((KHM) ekstrak kelopak bunga rosella terenkapsulasi maltodekstrin dan kemampuannya memberikan efek sinergis dengan Isoniazid (INH) dan Rifampicin (RIF) terhadap *M. tuberculosis* R37rv. Kelopak bunga rosella dimaserasi menggunakan etanol 50 % dandienkapsulasi meggunakan maltodekstrin. Aktivitas antibakteri dilakukan dengan menentukan KHM menggunakan metode *Microscopic Observation and Direct Susceptibility* (MODS). Efek sinergitas dilakukan dengan menghitung *Fractional Inhibition Concentration Index* (FICI). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak ini mampu menghambat *M. tuberculosis* H37rv dengan nilai KHM 10 mg/ml. Nilai FICI kombinasi ekstrak dengan INH maupun rifampisin diperoleh 1.25. Ini menunjukkan bahwa ekstrak kelopak bunga rosella tidak sinergis dengan INH dan rifampisin, kemungkinan karena ekstrak kelopak rosella memiliki efek antibakteri dengan mekanisme berbeda dengan INH dan Rifampisin.

Kata kunci: *Hibiscus sabdariffa* L., *Mycobacterium tuberculosis*, INH, Rifampisin.

PENDAHULUAN

Menurut laporan WHO (2018), perkembangan penderita tuberkulosis (TB) di dunia sekitar 10 milyar orang, dan Indonesia menempati posisi ke tiga setelah India dan Cina. Data tahun 2017, sekitar 558.000 penderita di dunia telah resisten dengan obat anti tuberkulosis (OAT) lini pertama, rifampisin. Hasil penelitian Gülbay *et al.*, (2006), dari 95 pasien yang mendapatkan pengobatan obat antituberkulosis (OAT) selama 9 bulan mengalami efek samping gangguan fungsi hati sekitar 4,9 %, hepatoksisitas 2,4 %, hiperuresemia 2,6 %, dan beberapa efek samping lainnya.

Saat ini banyak penelitian-penelitian pencarian bahan aktif tanaman sebagai antibakteri untuk menghambat pertumbuhan *M.tuberculosis* dan sinergitasnya dengan OAT untuk meningkatkan sensitivitas OAT yang sudah mengalami resistensi terhadap *M. tuberculosis*. Nguta *et al.*, (2016) mendapatkan bahwa ekstrak etanol dari daun *Solanum torvum*, rimpang *Zingiber officinale*, daun *Aloe vera* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *M. tuberculosis*. Bioaktif tanaman yang memiliki aktivitas anti bakteri terhadap *Mycobacterium spp*, antara lain : alkaloid, fenolik, terpenoid, dan asam-asam lemak (Santhosh & Suriyanarayanan, 2014).

Hasil penelitian Aro *et al.*, (2015) mendapatkan bahwa beberapa spesies dari famili Rubiaceae bersifat sinergis, utamanya *Cremaspora triflora* dengan nilai FICI 0,08. Flavonoid Myricetin dan kuersetin juga bersifat sinergis dengan INH (Lechner *et al.*, 2008).

Tanaman rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.), terutama bagian kelopak bunganya diketahui mengandung polifenol, asam-asam organik dan polisakarida (Riaz & Chopra, 2018). Polifenol dalam kelopak bunga rosella, antara lain: antosianin (*dephinidin 3-sambubioside*, *cyanidin 3-sambubioside*, *delphinidin 3-glucoside and cyanidin 3-glucoside*), asam protokatekuat, dan gossepetin (Borrás-Linares *et al.*, 2015).

Aktivitas antibakteri dari kelopak bunga rosella telah banyak dilakukan. Muhammad *et al.*, (2018) mendapatkan bahwa ekstrak etanol kelopak bunga rosella mampu menghambat *Staphylococcus aureus* melalui mekanisme induksi sistem imun pada hewan uji *Drosophyla melanogaster*. Alshami & Alharbi (2014) mendapatkan bahwa ekstrak kelopak bunga rosella mampu menghambat bakteri penyebab infeksi saluran kemih dengan nilai KHM 0,5 – 4 mg/ml. Ekstrak kelopak bunga rosella 10 mg/disc juga mampu menghambat pertumbuhan *Acinetobacter baumannii* dengan

diameter zona hambat 11.3 ± 0.3 mm s/d 13.6 ± 0.3 mm (Abdallah, 2016). Rostinawati (2009) mendapatkan bahwa ekstrak etanol dan ekstrak air kelopak bunga rosella mempunyai aktivitas terhadap *M. tuberculosis* galur H37rv dan *M. tuberculosis* galur Labkes-026 (*multi-drug resisten*).

Berdasarkan latar belakang tersebut, dilakukan penelitian uji in vitro aktivitas antibakteri dari ekstrak kelopak bunga rosella dalam menghambat *M.tuberculosis* H37rv dan sinergitasnya dengan INH atau Rifampisin..

METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu pengering buah, bejana maserasi, *Well plate*-48 steril, *biosafety cabinet* 2, inkubator (Mettler), oven sterilisator (Mettler), *Elisa Reader*, Mikroskop, alat-alat gelas.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu kelopak bunga rosella, etanol 50 %, maltodekstrin, Media Middlebrook 7H9, Glycerol, Tween 80, *Oxalic Acid Albumin-Dextrose-Catalase* (OADC 10%), aquadest, *M. tuberculosis* H37rv koleksi *Hasanuddin University Microbiology Research Center*.

Prosedur Penelitian

Penyiapan Simplisia Kelopak bunga rosella

Kelopak bunga rosella disortasi basah, kemudian dikeringkan menggunakan pengering buah (*fruit dehydrator*) kurang lebih 6 – 8 jam, selanjutnya diayak dengan ayakan no.18.

Ekstraksi Kelopak Bunga Rosella Dan Enkapsulasi Menggunakan Maltodekstrin

Ekstraksi kelopak bunga rosella dilakukan dengan metode maserasi, yaitu serbuk kasar 100 g dibasahi dan direndam dengan etanol 50 % (1:10) selama 3 hari, disaring dan ditambahkan maltodekstrin 10 g dan dihomogenkan sampai maltodekstrin larut, selanjutnya dikeringkan menggunakan *spray drier*.

Penentuan KadarAntosianin

Penentuan kadar total antosianin dilakukan menggunakan metode spektrofotometri berdasarkan perbedaan pH menurut Giusti & Wrolstad (2001) dengan sedikit modifikasi . Larutan uji diukur absorbansinya pada panjang gelombang (λ) 510 nm dan 700 nm dengan pH 1,0 dan pH 4,5 dan dihitung sebagai sianidin-3-glikosida dengan persamaan :

$$\text{Total antosianin (mg/L)} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon \times L}$$

dimana ϵ adalah absorptivitas molar sianidin-3-glukosida sebesar 26900 L/(mol.cm), L adalah lebar kuvet yaitu 1 cm, MW adalah bobot molekul sianidin-3- glukosida sebesar 449,2 g/mol, DF adalah faktor pengenceran, V adalah volume akhir atau volume ekstrak (l), dan Wt adalah bobot ekstrak (g).

Penentuan nilai kadar hambat minimal dari ekstrak bunga rosella, INH dan Rifampicin dengan MODS (*Microscopic Observation Drug Susceptibility*)

Penentuan nilai KHM dilakukan dengan metode MODS menurut Muhammad *et al.*, (2017) dengan sedikit modifikasi. Disiapkan suspensi bakteri yang kekeruhannya setara dengan Mc Farland 0,5. Disiapkan lempeng steril dengan 48 sumuran. Masing-masing sumuran diisi dengan 940 μ l Media cair Middle brook 7H9 yang telah ditambahkan larutan OADC dan 10 μ l bakteri uji dan 50 μ l larutan uji, sehingga konsentrasi dalam sumuran untuk masing-masing sampel uji , yaitu : ekstrak 20 mg/ml, 10 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml dan 1,25 mg/ml; INH 0,8 μ g/ml, 0,4 μ g/ml, 0,2 μ g/ml, dan 0,1 μ g/ml; Rifampisin 8 μ g/ml, 4 μ g/ml, 2 μ g/ml, dan 1 μ g/ml. Dilakukan juga kombinasi ekstrak dan INH serta ekstrak dan Rifampisin. Setelah itu diinkubasi selama 7 – 14 hari pada suhu 37° C. Setelah inkubasi media tsb dilihat di bawah mikroskop. Adanya pertumbuhan bakteri ditandai terlihatnya bentuk *cord* dari *M.tuberculosis*. Konsentrasi terendah dari sampel uji yang memperlihatkan tidak adanya bentuk *cord* menunjukkan KHM dari sampel uji. Replikasi dilakukan 2 kali

Efek sinergitas Antibakteri Ekstrak dengan INH dan Rifampisin

Efek sinergitas ekstrak dengan INH maupun Rifampisin dihitung berdasarkan rumus *Fraction Inhibitory Concentration Index (FICI)*, sbb:

$$FICI = FIC_{\text{ekstrak}} + FIC_{\text{OAT}}$$

$$= \frac{KHM \text{ ekstrak oleh adanya OAT}}{KHM \text{ ekstrak}} + \frac{KHM \text{ OAT oleh adanya ekstrak}}{KHM \text{ OAT}}$$

Dimana, $FICI \leq 0.5$ sinergis; $FICI > 0.5-4.0$ tidak ada interaksi ; $FICI > 4$ antagonis

OAT = Rifampisin atau INH.

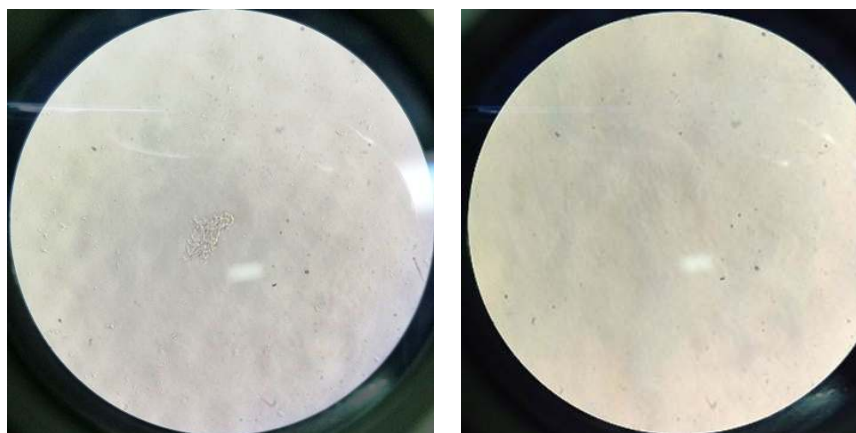
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelopak bunga rosella diekstraksi secara maserasi dengan etanol 50 %, karena diharapkan komponen utama yang terekstraksi adalah antosianin yang merupakan senyawa polar yang mudah larut dalam pelarut polar seperti air dan hidroalkohol. Stabilitas antosianin dalam penyimpanan tergantung dari temperatur, cahaya, oksigen, dan aktivitas air (Aw). Salah satu metode untuk mempertahankan kestabilan antosianin adalah dengan dienkapsulasi menggunakan maltodekstrin tunggal atau campuran dengan gom arab (Idham *et al.*, 2012). Dalam penelitian ini sebelum pelarutnya diuapkan ditambahkan maltodekstrin dan dikeringkan dengan *spray drier*. Hasil pengukuran kadar total antosianin diperoleh (2.59 ± 0.03) g /100 g ekstrak. Hasil uji aktivitas anti mycobacterium dari ekstrak kelopak bunga rosella terenkapsulasi maltodekstrin dengan metode *MODS* diperoleh hasil seperti terlihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak kelopak bunga rosella terhadap *M.tuberculosis*

Konsentrasi Ekstrak (mg/ml)										Media + M.tb	Media + Ekstrak 10 mg/ml
20		10		5		2,5		1,25			
1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
-	-	-	-	+	+	+	++	++	++	++	-

Keterangan : (-) = tidak ada pertumbuhan bakteri (+) = ada pertumbuhan bakteri Replikasi 2 kali



Gambar 1. Hasil pengamatan mikroskopik bentuk *cord* dari *M.tuberculosis* H37rv setelah inkubasi 7 hari pada media yang berisi ekstrak rosella 5 mg/ml. (a) Bentuk *cord* dari *M. tuberculosis*

Dalam tabel 1 terlihat pada konsentrasi 10 mg/ml dan 20 mg/ml tidak ada pertumbuhan bakteri setelah inkubasi selama 7 hari, tetapi pada konsentrasi 5 mg/ml sudah ada pertumbuhan bakteri *M.tuberculosis* yang ditandai adanya koloni bentuk *cord* (gambar 1) yang merupakan ciri khas koloni *M. tuberculosis* dalam media Middlebrook 7H9. Hal ini menunjukkan bahwa KHM ekstrak rosella terhadap *M.tuberculosis* H37rv adalah 10 mg/ml. Menurut Fauziyah et al., (2017) ekstrak etanol kelopak bunga

rosella 1mg/ml mampu menurunkan jumlah koloni *M.tuberculosis* resisten Isoniazid-Etambutol sekitar 86,11 %.

Untuk mengetahui apakah ekstrak kelopak bunga rosella ini aktivitas antibakteri terhadap *M. tuberculosis* sinergis dengan INH dan Rifampicin, maka dilakukan uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak dengan INH dan Rifampisin. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak rosella dan kombinasinya dengan INH terhadap *M.tuberculosis* H37rv

Konsentrasi Ekstrak (mg/ml)	Konsentrasi INH (μ g/ml)					
	0,8	0,4	0,2	0,1	0,05	0,125
20	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-
5	-	+	+	+	+	+
0	-	+	+	+	+	+

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasinya ekstrak dengan Rifampisin terhadap *M. tuberculosis* H37rv.

Konsentrasi Ekstrak (mg/ml)	Konsentrasi Obat (μ g/ml)					
	8	4	2	1	0,5	0,125
20	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-
5	-	+	+	+	+	+
0	-	+	+	+	+	+

Hasil dari pengujian pada tabel 2. terlihat bahwa KHM ekstrak rosella tanpa INH terhadap *M.tuberculosis* H37rv 10 mg/ml dan KHM ekstrak oleh adanya INH 0,8 μ g/ml adalah 5 mg/ml, terjadi penurunan KHM ekstrak 2 kalinya. KHM INH adalah 0,8 μ g/ml, sedangkan KHM INH oleh adanya 5 mg/ml ekstrak tetap 0,8 μ g/ml. Ini menunjukkan bahwa adanya ekstrak rosella tidak mempengaruhi

KHM INH. Hasil perhitungan diperoleh nilai FICI kombinasi INH dan ekstrak adalah 1,5. Ini menunjukkan kombinasi ekstrak dengan INH tidak bersifat sinergis, tapi keduanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *M.tuberculosis* dengan kemungkinan mekanisme berbeda.

Hal yang sama juga terlihat pada kombinasi rifampisin dengan ekstrak rosella. Hasil pengujian terhadap kombinasi ekstrak dengan Rifampicin diperoleh KHM ekstrak oleh adanya 8 µg/ml Rifampisin adalah 5 mg/ml, KHM Rifampisin oleh adanya 5 mg/ml ekstrak tetap 8 µg/ml. Hasil perhitungan diperoleh nilai FICI kombinasi INH dan ekstrak maupun Rifampisin dengan ekstra adalah 1,5. Ini menunjukkan bahwa baik ekstrak maupun INH dan Rifampisin mampu menghambat *M.tuberculosis* tetapi dengan mekanisme berbeda, sehingga tidak bersifat sinergis.

Jadi ekstrak rosella hanya dapat digunakan sebagai terapi alternatif, tapi tidak dapat digunakan sebagai terapi supportif untuk mencegah resistensi obat INH dan Rifampisin terhadap *M.tuberculosis*.

KESIMPULAN

1. Ekstrak kelopak bunga rosella terenkapsulasi maltodekstrin memiliki aktivitas antibakteri terhadap *M. tuberculosis* H37rv dengan nilai KHM 10 mg/ml.
2. Ekstrak kelopak bunga rosella terenkapsulasi maltodekstrin tidak memiliki efek sinergis dengan INH ataupun Rifampisin dalam menghambat pertumbuhan *M.tuberculosis* H37rv.

UCAPAN TERIMA KASIH

Artikel ini merupakan bagian dari penelitian riset unggulan unhas dengan no. kontrak 15167/UN.3.2/LK.23/2017. Terimakasih kepada LP2M Universitas Hasanuddin yang telah memfasilitasi sehingga penelitian ini dapat didanai.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdallah, E. M. (2016). Antibacterial activity of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces against hospital isolates of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Acute Disease*, 5(6), 512-516.
- Alshami, I., & Alharbi, A. E. (2014). Antimicrobial activity of *Hibiscus sabdariffa* extract against uropathogenic strains isolated from recurrent urinary tract infections. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(4), 317-322.

Aro, A. O., Dzoyem, J. P., Hlokwe, T. M., Madoroba, E., Eloff, J. N., & McGaw, L. J. (2015). Some South African Rubiaceae Tree Leaf Extracts Have Antimycobacterial Activity Against Pathogenic and Non-pathogenic *Mycobacterium* Species. *Phytotherapy Research*, 29(7), 1004-1010.

Borrás-Linares, I., Fernández-Arroyo, S., Arráez-Roman, D., Palmeros-Suárez, P. A., Del Val-Díaz, R., Andrade-González, I., ... & Segura-Carretero, A. (2015). Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (*Hibiscus sabdariffa*). *Industrial Crops and Products*, 69, 385-394.

Fauziyah, P. N., Sukandar, E. Y., & Ayuningtyas, D. K. (2017). Combination effect of antituberculosis drugs and ethanolic extract of selected medicinal plants against multi-drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *Scientia pharmaceutica*, 85(1), 14.

Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*, (1), F1-2.

Gülbay, B. E., Gürkan, Ö. U., Yıldız, Ö. A., Önen, Z. P., Erkekol, F. Ö., Baççioğlu, A., & Acıcan, T. (2006). Side effects due to primary antituberculosis drugs during the initial phase of therapy in 1149 hospitalized patients for tuberculosis. *Respiratory medicine*, 100(10), 1834-1842.

Idham, Z., Muhamad, I. I., & Sarmidi, M. R. (2012). Degradation kinetics and color stability of spray-dried encapsulated anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. *Journal of Food Process Engineering*, 35(4), 522-542.

Lechner, D., Gibbons, S., & Bucar, F. (2008). Modulation of isoniazid susceptibility by

flavonoids in Mycobacterium. *Phytochemistry Letters*, 1(2), 71-75.

Muhammad, A., Alvin Valentino, G., Sartini, S., Elly, W., & Firzan, N. (2019). In vivo anti-staphylococcal activity of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) calyx extract in Drosophila model of infection. *Journal of Herbmед Pharmacology*, 8(1).

Nguta, J. M., Appiah-Opong, R., Nyarko, A. K., Yeboah-Manu, D., Addo, P. G., Otchere, I., & Kissi-Twum, A. (2016). Antimycobacterial and cytotoxic activity of selected medicinal plant extracts. *Journal of ethnopharmacology*, 182, 10-15.

Riaz, G., & Chopra, R. (2018). A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 102, 575-586.

Rostinawati, T. (2009). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar. Penelitian Mandiri Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran. Bandung.

Santhosh, R. S., & Suriyanarayanan, B. (2014). Plants: a source for new antimycobacterial drugs. *Planta medica*, 80(01), 9-21.

World Health Organization. (2018). *Global tuberculosis report 2018*. World Health Organization.