

**Potensi Flavonoid Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus*)
Sebagai Senyawa Anti *Mycobacterium tuberculosis* Strain H37rv Dan Mdr
Dengan Microscopy Observation Drug Susceptibility (Mods)**

Anita, Dewi Arisanti, Andi Fatmawati

*Akademi Analis Kesehatan Makassar
email: anitadinar1983@gmail.com*

Abstrak

Terjadi peningkatan resistensi pada obat Rifampisin dan Isoniazid yang merupakan obat lini pertama antituberkulosis yang dikenal sebagai Multi-drug resistant (MDR). Di Makassar, Sulawesi Selatan ditemukan sekitar 19,2 % kasus MDR-TB pada pasien TB baru dimana sekitar 13,5 % kasus resisten terhadap obat anti-TB lini pertama (STR,INH,RIF,ETH) dan 19,2 % resisten terhadap >2 obat anti-TB lini kedua (OFL,KAN,AMK)..Pengobatan tuberkulosis saat ini ternyata tidak memberikan efektivitas yang tinggi karena munculnya strain MDR *Mycobacterium tuberculosis*. Oleh karena itu WHO merekomendasikan penggunaan obat tradisional termasuk herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan berbagai penyakit. Survei (2013) menunjukkan sejumlah 85.71% masyarakat Toraja di Sulawesi Selatan penderita tuberkulosis yang menggunakan obat tradisional dengan memilih daun miana (*Coleus atropurpureus*) sebagai komplemen dalam pengobatan tuberkulosis. Dari hasil penelitian uji kualitatif pada ekstrak etanol 96 % daun miana (*Coleus atropurpureus*) menggunakan metode sianida (HCl-Mg) ditemukan adanya kandungan flavonoid setelah diamati adanya perubahan warna dari merah kehitaman menjadi merah atau jingga. Sedangkan hasil uji kualitatif pada ekstrak etanol 96 % daun miana (*Coleus atropurpureus*) dengan Spektrofotometer UV-Vis diperoleh kandungan total flavonid rata-rata sebesar 8,59 mgRE/gram ekstrak.. Ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) pada konsentrasi 10%, 20%, 40 % dan 60 %, 80 % dan 100% efektif menghambat pertumbuhan isolat *Mycobacterium tuberculosis* strain H37RV. Akan tetapi ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) pada konsentrasi 10%, 20%, 40 % dan 60 % tidak efektif menghambat pertumbuhan isolat MDR *Mycobacterium tuberculosis*, tetapi efektif menghambat pada konsentrasi 80% dan 100%.

Kata kunci: Daun miana (Coleus atropurpureus), Flavonoid, MODS

**Potentially Of Flavonoid Miana (*Coleus Atropurpereus*) Leaves Extract
As Anti Mycobacterium Tuberculosis H37rv Strain And Mdr With
Microscopy Observation Drug Susceptibility (Mods)**

Abstract

There is high resistance cases for Isoniazid and Rifampin and more famous with Multi-drug resistant tuberculosis (MDR-TB). From data in Makassar, South Sulawesi showed 19,2 MDR-TB cases from new TB patient, and more 13,5% resistance cases for firstline-TB drugs (STR, INH, RIF, and ETH), and >2 resistance for secondline-TB drugs (OFL, KAN, AMK). Treatment for tuberculosis mostly not effective because Multi-drug resistant tuberculosis (MDR-TB) cases is very high. WHO recommended traditional medicine for improvement of healthy in community, preventive and pharmaceutical preparation for all diseases. Research in 2013 showed 85,71% that Torajas TB patient in South Sulawesi used traditional medicine such as Miana (*Coleus atropurpereus*) leaves extract as complement for TB drugs. Our study showed flavonoid component from qualitative method used sianida (HCl-Mg) from ethanol 96% Miana (*Coleus atropurpereus*) leaves extract. Qualitative method using Spektrofotometer UV-V showed the total of flavonoid component from ethanol 96% miana (*Coleus atropurpereus*) leaves extract is 8,59 mgRE/gram ekstrak. The result showed were at concentrations (10%, 20%, 40%, 60%, 80% and 100%) ethanol 96% miana (*Coleus atropurpereus*) leaves extract were effectively inhibit Mycobacterium tuberculosis H37RV strain. Were at concentration (10%, 20%, 40% dan 60%) ethanol 96% miana (*Coleus atropurpereus*) leaves extract were not effectively inhibit MDR-TB but effectively were at concentration (80% and 100%).

Keywords: Miana Leave, Coleus atropurpereus, Flavonoid, MODS

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) adalah penyakit infeksi kronik yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Organ tubuh yang pertama kali terserang biasanya paru-paru karena penyebarannya melalui udara. Selain menyerang paru-paru, penyakit tuberkulosis juga dapat menyerang organ tubuh lainnya seperti tulang, kelenjar limfa, otak dan kadang-kadang kulit (Entjang I. 2003, Chin, 2006). Tahun 2011 diperkirakan terdapat 8,7 juta kasus tuberkulosis di dunia dan Indonesia menduduki urutan ketiga jumlah kasus tuberkulosis terbanyak di dunia (DEPKES/WHO, 2011). Resiko kejadian tuberkulosis secara signifikan meningkat dengan adanya pandemi HIV/AIDS (WHO, 2012a).

Makassar merupakan salah satu Propinsi Sulawesi Selatan di Indonesia, yang memiliki populasi sekitar 1,5 juta orang. Strategi DOTS diperkenalkan di Makassar pada tahun 2006 oleh Dinas Kesehatan Propinsi Sulawesi Selatan sehingga pada tahun 2008 sekitar 1962 kasus TB baru yang di treatment dengan strategi tersebut. Dengan program DOTS telah berhasil ditemukan 1936 kasus smear positif, akan tetapi pola pengobatan TB di Makassar belum sepenuhnya diketahui (Massi., dkk, 2008). Peningkatan resistensi terhadap obat anti-TB telah menjadi salah satu masalah utama seluruh dunia. Terjadinya resistensi pada obat Rifampisin dan Isoniazid yang merupakan obat lini pertama dikenal sebagai *Multi-drug resistant* (MDR) (Girum, 2007). Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Massi, dkk, pada tahun 2008 ditemukan bahwa di Makassar ditemukan sekitar 19,2 % kasus MDR-TB pada pasien TB baru. Hal yang sama diperoleh sekitar 13,5 % kasus resisten terhadap 4 jenis obat anti-TB pada pasien TB baru dan 19,2 % resisten terhadap >2 obat anti-TB pada pasien TB baru.

Sangat dibutuhkan metode yang cepat dan murah, untuk mendeteksi secara akurat *Mycobacterium tuberculosis* pada spesimen klinik. Smear sputum mikroskopik hanya dapat mendeteksi setengah dari seluruh kasus kultur positif pulmonary TB. Kultur mikobakterium lebih sensitif jika dibandingkan dengan smear mikroskopik, tetapi pada media padat Lowenstein Jensen (LJ) membutuhkan waktu yang lama untuk pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*. Metode kultur yang cepat pada media cair telah dikembangkan, akan tetapi membutuhkan biaya yang mahal untuk digunakan secara rutin bagi laboratorium klinik yang memiliki keterbatasan sumber biaya (David, 2004). Metode molekular genetik juga sangat cepat tetapi biaya mahal dan membutuhkan keahlian khusus (Ejigu, 2008).

Microscopy Observation Drug Susceptibility (MODS) adalah metode kultur cair diperkaya yakni Middlebrook 7H9, relatif sederhana dan murah untuk mendeteksi pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* dan resistensi terhadap obat antituberkulosis lini pertama dan lini kedua selama kurang lebih 7 hari pengamatan (Mayra, 2007). Di Lima, Peru (Martha, 2008) MODS dikembangkan untuk menunjukkan karakteristik *Mycobacterium tuberculosis*, dimana basil TB mudah tumbuh pada media cair jika dibandingkan media padat dengan susunan serpentine bakteri yang disebut 'CORD' yang dapat diamati hanya dengan menggunakan mikroskop. Microscopy Observation Drug Susceptibility merupakan (MODS) merupakan metode kultur dan DST TB nonkomersial yang direkomendasikan oleh WHO. Di Makassar, Sulawesi Selatan (Anita, dkk., 2014) menemukan sensitifitas MODS sekitar 94,6 % dan spesifitas sekitar 68,4 % dalam mendeteksi MDR-TB dari 56 isolat klinis *Mycobacterium tuberculosis*. Selain itu dari penelitian ini ditemukan bahwa MODS dapat mendeteksi MDR-TB pada konsentrasi obat INH dan RIM yang rendah. Oleh karena itu MODS dapat dioperasionalkan secara aman pada laboratorium yang memiliki kelengkapan yang sederhana.

Pengobatan tuberkulosis saat ini dilakukan terutama dengan kombinasi obat Rifampisin dan INH (WHO, 2012b). Terapi ini ternyata tidak memberikan efektivitas yang tinggi saat ini karena munculnya strain MDR bakteri *Mycobacterium tuberculosis* sehingga diperlukan kombinasi lagi dengan obat-obatan tuberkulosis lain untuk terapi (Zhang, 2005). WHO merekomendasi penggunaan obat tradisional termasuk herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit, terutama untuk penyakit kronis, penyakit degeneratif dan kanker. WHO juga mendukung upaya-upaya dalam peningkatan keamanan dan khasiat dari obat tradisional (WHO, 2008).

Salah satu sumber obat TB yang potensial adalah tanaman Miana (*Coleus atropurpureus*). Miana (*Coleus atropurpureus*) merupakan tanaman asli dari Asia Tenggara (Ridwan, 2010). Namun saat ini miana (*Coleus atropurpureus*) telah tersebar luas dan dapat ditemukan di seluruh dunia. Miana dikenal didunia dengan nama Painted Nettle atau Rainbow Plaint. Nama Miana pada beberapa negara diantaranya Tzai Ye Cao (Cina); Mayana, Maliana (Tagalog); Daun Ati-Ati, Ati-Ati Merah, Ati-Ati Besar (Malaysia); Jeune, Okavu (Papua New Guinea); Ruuse Phasom Laeo dan Waan Lueat Haeng di Thailand (Nadia, 2008). Di Indonesia dikenal dengan nama yang berbeda-beda tergantung daerah yang ditemukannya (Nadia, 2008). Di Sumatra dikenal dengan Gresing (Batak), Adong-Adong (Palembang), Miana, Pilado (Sumatra Barat). Di daerah Jawa dikenal dengan Jawer Kotok; Jengger Ayam (Sunda), Iler (Jawa Tengah), Kentangan (Jawa Timur). Di Nusa Tenggara dikenal Janggar Siap, Ndae Ana Sina di Bali, dan Bunak Manu Larit di Timur. Di Sulawesi dikenal dengan Mayana (Manado), At-Ati (Bugis); Bunga Lali Manu (Makassar) (Ridwan et al, 2010).

Masyarakat Toraja di Sulawesi Selatan untuk pengobatan tuberkulosis adalah miana (*Coleus atropurpureus*). Survei (2013) menunjukkan sejumlah 85.71% dari penderita yang menggunakan obat tradisional memilih daun miana (*Coleus atropurpureus*) sebagai komplemen dalam pengobatan tuberkulosis. Secara in vitro ekstrak daun miana telah terbukti sebagai antibakteri. Meskipun telah digunakan secara empiris oleh suku Toraja untuk pengobatan tuberkulosis tetapi pembuktian ilmiah secara in vivo belum ada. Sehingga daun miana (*Coleus atropurpureus*) sangat potensial untuk diteliti dan dikembangkan mengingat kasus tuberkulosis di Indonesia masih sangat tinggi (Pakadang, 2014). Miana (*Coleus atropurpureus*) memiliki batang herba, tegak atau berbaring pada pangkal dan merayap tinggi sekitar 30-150 cm, mempunyai penampang batang berbentuk segiempat. Daunnya berbentuk segitiga atau bentuk bulat telur yang warnanya sangat bervariasi dari hijau hingga merah keunguan. Bunga berbentuk untaian bersusun dipucuk tangkai dengan variasi warna merah atau putih, ungu atau kuning (Setiawati, 2008).

Miana (*Coleus atropurpureus*) merupakan salah satu tanaman yang termasuk ke dalam daftar 66 komoditas tanaman biofarmaka berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian Nomor 511/Kpts/PD.310/9/2006 (Ridwan et al, 2010). Daunnya dimanfaatkan oleh masyarakat dalam bidang kesehatan seperti ramuan untuk mengobati optahalmia dan dyspepsia, racikan untuk mengurangi bengkak pada luka (inflamator), sakit kepala, asma, batuk, melancarkan siklus menstruasi, penambah nafsu makan, mempercepat pematangan bisul, diare dan obat cacing (Tag 2006; Ridwan et al, 2010).

Telah diketahui beberapa studi tentang senyawa aktif antimikrobia daun miana (*Coleus atropurpureus*) yaitu berupa flavonoid, saponin, steroid, tanin, minyak atsiri, eugenol, senyawa polifenol, alkaloid, etil salisilat, kalsium oksalat, senyawa rosmarinic acid (RA) (Ridwan, 2005; Nugroho 2009; Rahmawati 2008). Oleh karena itulah peneliti tertarik untuk mengkaji lebih dalam tentang aktifitas antimikrobia dari ekstrak etanol 96% daun miana (*Coleus atropurpureus*) yang dapat menghambat pertumbuhan Multi Drug Resistant (MDR) *Mycobacterium tuberculosis* dengan menggunakan metode Microscopy Observation Drug Susceptibility (MODS).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini berlangsung pada bulan Maret-Agustus 2018. Lokasi penelitian ini bertempat di Laboratorium Kimia Akademi Analis Kesehatan Muhammadiyah Makassar, Laboratorium Mikrobiologi Akademi Analis Kesehatan Muhammadiyah Makassar dan Laboratorium Fitofarmaka, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia. Jenis penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium..

Alat

Labu ukur 50 ml, labu ukur 25 ml, timbangan, rotavapor (IKA, RV 10 basic), timbangan analitik, wadah maserasi (toples kaca), pipet tetes, Oven, desikator, sendok tanduk, gelas ukur, gelas kimia, corong pisah, erlenmeyer, Spektrofotometer Uv-1601 Shimadzu (Kyoto Japan), mikroskop fluorescens gantung, kuvet, pipet kapiler, Falcon tube steril, Effendorf, Fiter pipet tips, plastic ziplok.

Bahan

Sampel daun miana (*Coleus atropurpureus*), etanol 96%, metanol, asam asetat glasial, $AlCl_3$, aquabidest, aquabidestilasi, HCl, kalium asetat 1 M, propylen glycol, serbuk Magnesium, PANTA, OADC, Middlebrook 7H9, antibiotik KAN, antibiotik OFL, antibiotik ETH, DMSO.

Preparasi sampel daun miana (*Coleus atropurpereus*)

Daun miana (*Coleus atropurpereus*) yang telah dikumpulkan dibersihkan dari pengotor, selanjutnya dicuci di bawah air mengalir sampai bersih, ditiriskan, kemudian dikeringkan anginkan selama 2 hari. Daun miana (*Coleus atropurpereus*) yang telah kering sebagian dibuat menjadi serbuk dengan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk yang halus dan seragam.

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak Daun miana (*Coleus atropurpereus*) dibuat dengan cara maserasi. Sebanyak 600 gram serbuk simplisia Daun miana (*Coleus atropurpereus*) dimasukkan ke dalam toples steril, kemudian direndam dengan larutan etanol 96% p.a sebanyak 2000 ml, ditutup dengan aluminium foil dan dibiarkan selama 10 hari sambil sesekali diaduk. Setelah 10 hari, sampel yang direndam tersebut disaring menggunakan kertas saring menghasilkan filtrat, lalu dievaporasi menggunakan rotary evaporator, sehingga diperoleh ekstrak kental daun miana. Ekstrak kental yang dihasilkan dibiarkan pada suhu ruangan hingga seluruh pelarut etanol menguap. Ekstrak ditimbang dan disimpan dalam wadah gelas tertutup sebelum digunakan untuk pengujian.

Preparasi isolat *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv dan MDR *Mycobacterium tuberculosis*

Untuk pengujian mikrobiologis digunakan 30 isolat MDR *Mycobacterium tuberculosis*. yaitu strain yang resisten terhadap rifampisin dan isoniazid. Isolat *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv merupakan isolat kontrol positif yang merupakan strain yang masih sensitive terhadap obat-obatan tuberkulosis lini pertama maupun lini kedua.

Identifikasi Kualitatif Flavonoid Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpereus*) dengan Metode Sianida (HCL-Mg)

Sejumlah lebih kurang 1 g serbuk dididihkan dalam 100 mL air panas selama 5 menit kemudian disaring. Terhadap 5 mL filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 2 mL etanol 70% kemudian ditambahkan 1 g serbuk Mg, 1 mL HCl pekat dan kemudian dikocok kuat, dibiarkan memisah. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

Identifikasi Kuantitatif Flavonoid Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpereus*) dengan Spektrofotometer UV-Vis

Setelah dilakukan uji kualitatif flavonoid menggunakan metode sianida (HCl-Mg). kemudian dilanjutkan dengan penentuan total flavonoid yang diperiksa menggunakan Spektrofotometri (UV-Vis). Kadar flavonoid dari ekstrak daun miana (*Coleus atropurpereus*) dihitung berdasarkan kurva baku yang Perhitungan konsentrasi total flavonoid :

$$\text{Total flavonoid} = \frac{\text{V. sampel} \times \text{konsentrasi awal (X)} \times \text{fp}}{\text{Berat sampel}}$$

Pengujian Anti *Mycobacterium tuberculosis* Strain H37Rv Dan MDR Metode Miscroscopy Observation Drug Susceptibility (MODS)

Sebanyak 30 isolat MDR-TB diremajakan terlebih dahulu pada media middlebrook 7H9 selama kurang lebih 2 minggu dilanjutkan dengan uji obat lini kedua (OFL, KAN, ETH) dengan metode MODS. Konsentrasi obat yang digunakan yaitu OFL: 2 µg/ml dan 4 µg/ml, KAN: 2,5 µg/ml dan 5 µg/ml, ETH : 2 µg/ml dan 5 µg/ml. Untuk ekstrak etanol daun Miana (*Coleus atropurpereus*) diuji dengan MODS menggunakan isolat MDR-TB dengan konsentrasi 100 µg/ml, 80 µg/ml, 60 µg/ml, 40 µg/ml, 20 µg/ml dan 10 µg/ml. Untuk pengamatan MODS dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop flouresence perbesaran 40x pada hari ke 5 sampai hari ke 21. Media MODS yang positif diidentifikasi dengan melihat “CORD Formation” yang merupakan karakteristik dari *Mycobacterium tuberculosis* dengan menggunakan mikroskop flourescens. Jika 2 atau lebih koloni (>2 cfu) yang tumbuh pada 2 well maka hasilnya dinyatakan positif. Jika pada hari ke 5 masih negatif, maka pengamatan dilakukan setiap hari hingga ditemukan pertumbuhan 2 atau lebih koloni (>2 cfu) pada 2 well. Jika pada hari ke 15 belum ada pertumbuhan koloni, maka pengamatan dilanjutkan pada hari ke 18 dan hari ke 21. Jika pada hari ke 21 tidak terdapat pertumbuhan maka hasilnya dinyatakan negatif.

HASIL

Ekstraksi

Hasil maserasi berupa filtrat berwarna hijau sebanyak 2000 ml. Kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 5,37 gram berwarna hijau kehitaman. Ekstrak ini akan digunakan untuk identifikasi kuantitatif flavonoid dengan Spektrofotometer UV-Vis dan pengujian anti *Mycobacterium tuberculosis* Strain H37Rv Dan MDR metode Miscroscopy Observation Drug Susceptibility (MODS).

Identifikasi Kualitatif Flavonoid Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpereus*) dengan Metode Sianida (HCL-Mg)

Hasil identifikasi flavonoid dari serbuk daun miana (*Coleus atropurpereus*) secara kualitatif menggunakan metode sianida (HCl-Mg) menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid yang diamati setelah terlihat perubahan warna dari merah kehitaman ke merah atau jingga.

Analisis Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpereus*) dengan Spektrofotometer UV-Vis

Analisis kadar flavonoid daun miana (*Coleus atropurpereus*) dengan spektrofotometer UV-Vis dilakukan dengan membuat kurva kalibrasi antara absorbansi dengan konsentrasi larutan baku flavonoid, dan dihitung kadar dengan persamaan garis regresi kurva kalibrasi. Hasil analisis kadar flavonoid daun miana ditunjukkan pada Tabel 1 berikut ini:

Tabel .1. Hasil pemeriksaan kadar total flavonoid daun miana (*Coleus atropurpereus*) dengan Spektrofotometer UV-Vis

Kode Sampel	Pengujian Dengan Spektrofotometer Uv-Vis
Replikasi 1	8,56 mg RE/gram ekstrak
Replikasi 2	8,86 mgRE/gram ekstrak
Replikasi 3	8,36 mgRE/gram ekstrak
Rata-rata	8,59 mgRE/gram ekstrak

Berdasarkan hasil pengujian kuantitatif kadar flavonoid daun miana (*Coleus atropurpereus*) dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. menunjukkan bahwa ditemukan adanya total flavonoid rata-rata sebesar 8,59 mgRE/gram ekstrak.

Pengujian anti *Mycobacterium tuberculosis* Strain H37Rv dan MDR dengan metode Microscopy Observation Drug Susceptibility (MODS)

Untuk hasil pengujian Microscopic Observation Drug Susceptibility Assay (MODS) dengan menggunakan obat lini kedua (OFL, KAN, ETH) terhadap pertumbuhan Multi Drug Resistant (MDR) *Mycobacterium tuberculosis* seperti pada tabel 2 di bawah ini :

Tabel 2 . Hasil pengujian Microscopic Observation Drug Susceptibility Assay (MODS) dengan menggunakan obat lini kedua (OFL, KAN, ETH) terhadap pertumbuhan Multi Drug Resistant (MDR) *Mycobacterium tuberculosis*

No	Hasil Kepekaan Isolat MDR Terhadap Obat Lini Pertama	Hasil Uji Kepekaan Isolat Terhadap Obat Lini Kedua											
		OFL				KAN				ETH			
		2 µg/ml		4 µg/ml		2,5 µg/ml		5 µg/ml		2 µg/ml		5 µg/ml	
		S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
1	Resisten I	0	15	8	7	5	10	6	9	11	4	15	0
2	Resisten R	0	15	6	9	3	12	2	13	3	12	1	14
	Total	0	30	14	16	8	22	8	12	14	16	16	14

Hasil pengujian ekstrak daun miana (*Coleus atropurpereus*) sebagai anti *Mycobacterium tuberculosis* Strain H37Rv dengan metode Microscopy Observation Drug Susceptibility (MODS) seperti tabel 3 di bawah ini:

Tabel 3. Hasil pengujian ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) sebagai anti *Mycobacterium tuberculosis* Strain H37Rv dengan metode Miscroscoy Observation Drug Susceptibility (MODS)

No	Hasil Uji Kepekaan Isolat	Konsentrasi Ekstrak Daun Miana (<i>Coleus atropurpureus</i>)											
		10%		20%		40%		60%		80%		100%	
		S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
1	H37RV	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0
	Total	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0	30	0

Hasil pengujian ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) sebagai anti MDR (Multi Drug Resistant) *Mycobacterium tuberculosis* dengan metode Miscroscoy Observation Drug Susceptibility (MODS) seperti tabel 4 di bawah ini:

Tabel 4. Hasil pengujian ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) sebagai anti MDR (Multi Drug Resistant) *Mycobacterium tuberculosis* dengan metode Miscroscoy Observation Drug Susceptibility (MODS)

No	Hasil Kepekaan Isolat Terhadap Obat Lini Pertama	Konsentrasi Ekstrak Daun Miana (<i>Coleus atropurpureus</i>)											
		10%		20%		40%		60%		80%		100%	
		S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
1	Resisten I	0	15	0	15	0	15	0	15	8	7	13	2
2	Resisten R	0	15	0	15	0	15	0	15	5	10	5	10
	Total	0	30	0	30	0	30	0	30	15	15	18	12

PEMBAHASAN

Tanaman Miana (*Coleus atropurpureus*) merupakan sebuah tanaman hias yang unik karena memiliki varietas yang sangat banyak dan dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Perbedaan varietas tersebut dapat dilihat dari perbedaan warna daun yang sangat beragam. Warna-warni daun ini disebabkan oleh pigmen yang dimilikinya. Formasi pigmen didalam daun ditentukan secara genetik dan juga dipengaruhi faktor lingkungan seperti cahaya dan lingkungan. Perbedaan warna daun antar varietas miana ditentukan oleh kandungan pigmen yang termasuk kedalam golongan flavonoid. Flavonoid merupakan kelompok fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Corak, bentuk dan warna miana beranekaragam, tetapi yang berkhasiat obat adalah daun yang berwarna merah kecoklatan (Dalimartha, 2007). Dari hasil studi tentang senyawa aktif antimikrobal daun miana (*Coleus atropurpureus*) yaitu berupa flavonoid, saponin, steroid, tanin, minyak atsiri, eugenol, senyawa polifenol, alkaloid, etil salisilat, kalsium oksalat, senyawa rosmarinic acid (RA) (Ridwan, 2005; Nugroho 2009; Rahmawati 2008).

Dalam penelitian ini, daun miana (*Coleus atropurpureus*) yang telah dikumpulkan dibersihkan dari pengotor, selanjutnya dicuci di bawah air mengalir sampai bersih, ditiriskan, kemudian dikering anginkan selama 2 hari. Pengeringan sampel dilakukan secara alami yaitu dikeringkan dengan diangin-anginkan pada udara terbuka dengan tidak dikenai sinar matahari langsung, kira-kira pada

suhu kamar yaitu 25-30°C selama 2 hari untuk menghilangkan air dan mencegah terjadinya perubahan kimia (daun cepat busuk sehingga dapat menghasilkan mikroorganisme yang dapat merubah senyawa kimia yang terkandung di daun tersebut). Setelah kering sebagian daun miana (*Coleus atropurpureus*) dibuat menjadi serbuk dengan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk yang halus dan seragam yang dipergunakan untuk uji kualitatif.

Uji kualitatif untuk mengetahui kandungan flavonoid terhadap serbuk daun miana dilakukan dengan metode Sianida (HCL-Mg). Hasil identifikasi flavonoid dari serbuk daun miana (*Coleus atropurpureus*) secara kualitatif menggunakan metode sianida (HCL-Mg) menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid yang diamati setelah terlihat perubahan warna dari merah kehitaman ke merah atau jingga. Bobot simplisia yang telah kering yang dipergunakan untuk maserasi adalah 600 gram yang kemudian diblender untuk memperluas permukaan serta membantu pemecahan dinding dan membran sel, sehingga lebih mudah memaksimalkan proses ekstraksi.

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaannya terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda (Rahayu, 2009). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Maserasi adalah salah satu metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan. Proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang mengalir ke dalam sel dapat menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan larut sesuai dengan kelarutannya (Lenny, 2006). Semakin lama waktu ekstraksi, kesempatan untuk bersentuhan makin besar sehingga hasilnya juga bertambah sampai titikjenuh larutan. Kontak antara sampel dan pelarut dapat ditingkatkan apabila dibantu dengan pengocokan agar kontak antara sampel dan pelarut semakin sering terjadi, sehingga proses ekstraksi lebih sempurna. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini untuk proses maserasi daun miana (*Coleus atropurpureus*) adalah etanol 96% p.a sebanyak 2000 ml selama 10 hari. Pemilihan pelarut ini karena senyawa flavonoid yang ada dalam daun miana (*Coleus atropurpureus*) merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga harus dilarutkan dengan pelarut yang bersifat polar. Suatu molekul bersifat polar apabila tersusun atas atom - atom yang berbeda dan molekul yang tersusun atas atom - atom yang sama. Vacum yang dipakai dalam proses maserasi berfungsi untuk mempermudah proses penguapan pelarut dengan memperkecil tekanan dalam vacum daripada di luar ruangan, sehingga temperatur di bawah titik didih dan pelarut dapat menguap.

Hasil maserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residunya. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Penggunaan *rotary evaporator* karena didalamnya terdapat sebuah vakum yang berfungsi memudahkan proses pelarut sehingga akan menghasilkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh adalah 5,37 gram berwarna hijau kehitaman. Warna hijau kehitaman pada filtrat terbentuk karena pelarut yang digunakan tidak hanya mengekstraksi senyawa flavonoid melainkan juga mengekstraksi klorofil yang ada dalam tumbuhan. Uji kuantitatif terhadap ekstrak kental daun miana (*Coleus atropurpureus*) untuk menentukan kadar flavonoid total menggunakan metode spektrofotometer. Spektrofotometer UV-Vis merupakan suatu metode yang digunakan untuk identifikasi struktur dari suatu senyawa salah satunya yaitu senyawa flavonoid. Flavonoid mengandung sistem aromatis yang

terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis. Oleh karena itu metode tersebut cocok digunakan untuk melakukan uji secara kuantitatif untuk menentukan jumlah flavonoid total yang terdapat dalam sampel (Carborano,2005). Analisis metode penetapan kadar flavonoid total dilakukan berdasarkan metode Chang et al (2002), dimana metode ini telah divalidasi oleh Mujahid (2011) yang menyatakan metode terpilih untuk analisis flavonoid secara spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 410 nm serta menggunakan senyawa rutin baku pembanding. Pemakaian kuersetin dalam Spektrofotometer UV-Vis sebagai pembanding rutin dikarenakan kuersetin merupakan senyawa yang paling luas penyebarannya dan 25% terdapat pada tumbuhan.

Berdasarkan Tabel 1 hasil pengujian kuantitatif diperoleh kandungan flavonoid total pada ekstrak etanol 96% daun miana (*Coleus atropurpureus*) sebesar rata-rata 8,59 mgRE/gram. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Yusuf *et al*, 2007 yang menyatakan bahwa daun Miana (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) mengandung golongan senyawa flavonoid yang memberi andil dalam penampakan warna daun dan juga diduga senyawa golongan flavonoid dapat bersifat antibakteri. Pada penelitian ini metode yang digunakan untuk pengujian obat lini kedua (OFL, KAN, ETH) yaitu Microscopic Observation Drug Susceptibility Assay (MODS). Metode ini merupakan uji nonkomersial untuk kultur dan uji kepekaan antibiotik yang telah direkomendasikan oleh World Health Organization (WHO) (Moore *et al* 2004; Bwanga *et al*, 2009). Microscopic Observation Drug Susceptibility Assay (MODS) lebih murah,mudah dan hanya membutuhkan waktu pengamatan lebih pendek dibandingkan dengan metode standar yaitu media Lowenstein Jensen (LJ) (Moore *et al*,2006).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Caviedes, *et al* 2000; Moore, *et al*,2006; Arias *et al*,2007) menunjukkan bahwa MODS memiliki sensitifitas 92%-97,5 % untuk uji kepekaan dengan lama pengamatan hanya membutuhkan waktu 1-2 minggu sehingga metode ini mudah dan murah untuk dipergunakan untuk diagnostik TB di negara-negara yang sedang berkembang (Shiferaw , *et al* 2007; Limaye , *et al*, 2010; Boonchai , *et al*, 2012). Untuk hasil pengujian Microscopic Observation Drug Susceptibility Assay (MODS) dengan menggunakan obat lini kedua (OFL, KAN, ETH) terhadap pertumbuhan Multi Drug Resistant (MDR) *Mycobacterium tuberculosis* seperti pada Tabel 2 menunjukkan bahwa 30 isolat MDR tersebut masih sensitif digunakan untuk menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*. Pada OFL konsentrasi 2 µg/ml tidak dapat menghambat pertumbuhan isolat MDR *Mycobacterium tuberculosis*, sedangkan OFL konsentrasi 4 µg/ml , 8 isolat masih sensitif terhadap obat Isoniazid dan 7 isolat yang resisten terhadap obat Isoniazid, akan tetapi 6 isolat yang sensitif terhadap obat Rifampisin dan 9 isolat yang resisten terhadap obat Rifampisin.

Pada KAN konsentrasi 2,5 µg/ml ml , 5 isolat masih sensitif terhadap obat Isoniazid dan 10 isolat yang resisten terhadap obat Isoniazid, akan tetapi 3 isolat yang sensitif terhadap obat Rifampisin dan 12 isolat yang resisten terhadap obat Rifampisin. Pada KAN konsentrasi 5 µg/ml ml , 6 isolat masih sensitif terhadap obat Isoniazid dan 9 isolat yang resisten terhadap obat Isoniazid, akan tetapi 2 isolat yang sensitif terhadap obat Rifampisin dan 13 isolat yang resisten terhadap obat Rifampisin. Pada ETH konsentrasi 2 µg/ml ml , 11 isolat masih sensitif terhadap obat Isoniazid dan 4 isolat yang resisten terhadap obat Isoniazid, akan tetapi 3 isolat yang sensitif terhadap obat Rifampisin dan 12 isolat yang resisten terhadap obat Rifampisin. Pada KAN konsentrasi 5 µg/ml ml , 15 isolat masih sensitif terhadap obat Isoniazid dan 0 isolat yang resisten terhadap obat Isoniazid, akan tetapi 1 isolat yang sensitif terhadap obat Rifampisin dan 14 isolat yang resisten terhadap obat Rifampisin.

Pada Tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) pada konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% efektif sebagai anti *Mycobacterium tuberculosis* Strain H37Rv dengan metode Microscopy Observation Drug Susceptibility (MODS) . Pada Tabel 4 menunjukkan bahwa ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) pada konsentrasi 10%, 20% ,40 % dan 60 % tidak dapat menghambat pertumbuhan isolat MDR *Mycobacterium tuberculosis*. Akan tetapi ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) pada konsentrasi 80% efektif menghambat 8 isolat yang resisten terhadap obat Isoniazid tetapi tidak efektif menghambat 7 isolat yang resisten terhadap obat Isoniazid. Ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) pada konsentrasi 80% efektif menghambat 5 isolat yang resisten terhadap obat Rifampisin tetapi tidak efektif menghambat 10 isolat yang resisten terhadap obat Rifampisin.

Ekstrak daun miana pada konsentrasi 100 % , efektif menghambat 13 isolat yang resisten obat Isoniazid dan tidak efektif menghambat 2 isolat yang resisten terhadap obat Isoniazid, akan tetapi efektif menghambat 5 isolat yang resisten terhadap obat Rifampisin dan tidak efektif menghambat 10 isolat yang resisten terhadap obat Rifampisin. Aktivitas antibakteri daun miana (*Coleus atropurpureus*) diduga karena adanya kandungan senyawa –senyawa berkhasiat, seperti flavonoid, polifenol ,saponin,alkaloid dan minyak atsiri. Flavonoid merupakan kelompok fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Fenol bersifat germisidal karena dalam konsentrasi tinggi menyebabkan koagulasi dan presipitasi protein sedangkan dalam konsentrasi rendah menyebabkan denaturasi protein tanpa koagulasi.

Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun ,akar ,kayu ,bunga ,buah,kulit tepung sari, nektar dan biji. Flavonoid ini diketahui memiliki sifat sebagai penangkap radikal bebas, penghambat enzim hidrolisis dan oksidatif dan bekerja sebagai antiinflamasi. Jadi dapat disimpulkan bahwa flavonoid dapat bekerja sebagai antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang melindungi sel melawan kerusakan akibat oksigen reaktif. Efek antioksidan dari senyawa ini disebabkan oleh penangkapan radikal bebas melalui donor atom hidrogen dari gugus hidroksil flavonoid. Beberapa penyakit seperti kanker, diabetes, parkinson , alzheimer dan penurunan kekebalan tubuh termasuk tuberkulosis telah diketahui dipengaruhi oleh radikal bebas dalam tubuh manusia. Salah satu mekanisme imunitas dari tubuh terhadap penyakit tuberkulosis adalah fagositosis oleh makrofag. Aktivasi makrofag berfungsi meningkatkan fagositosis, meningkatkan destruksi mikroorganisma, meningkatkan kemotaksis, berperan sebagai antigen presenting cell, meningkatkan sekresi enzim dan substansi biologis. Peningkatan kapasitas fagositosis oleh sel-sel fagosit dan aktivitas fagositosis oleh makrofag, antara lain dipengaruhi oleh sitokin seperti interferon (IFN) dan tumor necrosis factor (TNF). Peningkatan imunitas bagi penderita tuberkulosis sangat penting, sehingga penderita tuberkulosis yang sedang menjalani pengobatan dengan strategi DOTS juga diberikan obat atau sediaan farmasi yang bersifat imunostimulan. Zat aktif yang terkandung dalam tanaman seperti flavonoid dan minyak atsiri merupakan komponen penting dalam menunjang imunitas tubuh karena dapat meningkatkan proliferasi limfosit.

Salah satu tanaman yang digunakan oleh masyarakat Toraja di Sulawesi Selatan untuk pengobatan tuberkulosis adalah miana (*Coleus scutellarioides*). Survei (2013) menunjukkan sejumlah 85.71% dari penderita yang menggunakan obat tradisional memilih daun miana sebagai komplemen dalam pengobatan tuberkulosis. Hal ini sesuai juga penelitian oleh Sesilia Rante Pakadang yang menghasilkan beberapa konsep baru yaitu: (1). Ekstrak Daun miana M (*C. scutellarioides*(L) Benth)

terbukti berpotensi sebagai imunomodulator pada pencegahan dan pengobatan penyakit tuberkulosis melalui mekanisme imunostimulan dengan meningkatkan proliferasi limfosit-T, jumlah sel-T CD4, peningkatan kadar IFN- γ dan kadar TNF- α sehingga menurunkan jumlah koloni bakteri M. tb. (2). Ekstrak Daun miana (*C. Scutellarioides* (L) Benth) sebagai komplemen rifampisin dalam pengobatan tuberkulosis memberikan kesembuhan pada tikus yang terbukti dengan tidak adanya pertumbuhan koloni *Mycobacterium tuberculosis* pada hasil kultur paru tikus.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol 96% daun Miana (*Coleus atropurpureus*) memiliki kandungan flavonoid yang cukup tinggi yaitu rata-rata 8,59 mgRE/gram.
2. Ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) pada konsentrasi 10%, 20%, 40% dan 60%, 80% dan 100% efektif menghambat pertumbuhan isolat *Mycobacterium tuberculosis* strain H37RV akan tetapi ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus*) pada konsentrasi 10%, 20%, 40% dan 60% tidak efektif menghambat pertumbuhan isolat MDR *Mycobacterium tuberculosis*, tetapi efektif menghambat pada konsentrasi 80% dan 100%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan apresiasi terdalam kepada DIKTI yang telah mendanai penelitian ini melalui program Penelitian Dosen Pemula DRPM 2018.

DAFTAR PUSTAKA

- Anita, dkk, 2014, *Evaluation of the Microscopic-Observation Drug Susceptibility Assay Drugs Concentration for Detection of Multidrug Resistant Tuberculosis*. International Journal of Medical, Pharmaceutical Science and Engineering.
- Bwanga F, Hoffner S, Haile M, Joloba M. 2009, *Direct susceptibility testing for multi drug resistant tuberculosis: a meta-analysis*. BMC Infect Dis. 2009;9:67
- Caviedes L, Lee TS, Gilman RH, et al. 200, *Rapid, efficient detection and drug susceptibility testing of Mycobacterium tuberculosis in sputum by microscopic observation of broth cultures*. The Tuberculosis Working Group in Peru. J Clin Microbiol 2000; 38:1203–8.
- Ejigu, et all, 2008, *Microscopic-observation drug susceptibility assay provides rapid and reliable identification of MDR-TB*, INT J TUBERC LUNG DIS 12(3):332–337
- Entjang I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi*. PT. Citra Aditya Bakti. Bandung. Hal 131, 191-197
- Girum Shiferaw, et all, 2007, *Evaluation of Microscopic Observation Drug Susceptibility Assay for Detection of Multi-drug Resistant of Mycobacterium tuberculosis*, Journal of Clinical Microbiology, 1093-1097
- Limaye K, Kanade S, Nataraj G, Mehta P. 2010. *Utility of microscopic observation of drug susceptibility (MODS) assay for Mycobacterium tuberculosis in resource constrained settings*. Indian J Tuberc. 2010; 57(4):207–212.

- Martha H. Roper, *et al*, 2008., *The Microscopic Obervation Drug Susceptibility Assay for Rapid , Sensitive, and Inexpensive Diagnosis of TB and MDR TB*, The HIV/AIDS Newsletter
- Mayra Arias, *et all*, 2007, *Clinical Evaluation of the Microscopic-Observation Drug-Susceptibility Assay for Detection of Tuberculosis*, University of Alabama at Birmingham, Birmingham;
- Massi, dkk, 2008, *Drug resistance among tuberculosis patients attending diagnostic and treatment centres in Makassar, Indonesia*, INT J TUBERC LUNG DIS, 15(4)/489–495/2011.
- Moore DA, Mendoza D, Gilman RH, *et al*. 2004, *Microscopic observation drug susceptibility assay, a rapid, reliable diagnostic test for multidrug resistant tuberculosis suitable for use in resource-poor settings*. J Clin Microbiol. 2004;42(10):4432–4437.
- Moore DA, Evans CA, Gilman RH, *et al*. 2006, *Microscopic-observation drug-susceptibility assay for the diagnosis of TB*. N Engl J Med 2006; 355:1539–50.
- Nadia, Husna, 2008, *Efektifitas Ekstrak Etanol Daun Miana (Coleus blumei) Terhadap Infeksi Hymenolaps microstoma pada mencit* . Skripsi . FKH IPB.
- Pakadang, Seilia, 2014, *Potensi Ekstrak Daun Miana (Coleus scutellarioides (L) Benth) Sebagai Imunomodulator Pada Tikus Model Yang Terinfeksi Mycobacterium tuberculosis*, ADLN Perpustakaan Universitas Airlangga.
- Rahmawati Fri, 2008, *Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri Ekstrak Daun Miana (Coleus stecullariodes (L) Benth)*. Tesis. Sekolah PascaSarjana IPB.
- Ridwan , 2005, *Kandungan Kimia Berbagai Ekstrak Daun Miana (Coleus blumei Benth) dan Efek Anthelmintiknya Terhadap Cacing Pita Pada Ayam*. J.II.Per.Indon. Volume II (2).
- Ridwan ,*et all*, 2010, *Efektifitas Anticestoda Ekstrak Daun Miana (Coleus blumei Bent) terhadap Cacing Hymenolapis microstoma pada Mencit*. Media Peternakan Vol .33. No.1, hlm 6-11.
- Shiferaw G, Woldeamanuel Y, Gebeyehu M, Girmachew F, Demessie D, Lemma E, 2007, *Evaluation of microscopic observation drug susceptibility assay for detection of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol. 2007; 45(4):1093–1097.
- Tag, Hiu, *et all*, 2006, *Anti-inflammatory Plant Used by The Khanti Tribe Of Lokit District in Eastern Aranchal Pradesh, India*, Natural Product Radiance, Vol 6 (4), 2007, pp 334-340.
- Todar, 2005, *Tuberculosis, Todar's Online Textbook of Bacteriology*. Tersedia pada www.textbookofbacteriology.net
- Utji dan Harun, 1994. *Mikrobiologi Kedokteran*. Binarupa Aksara. Jakarta. Hal : 192-197.
- World Health Organization. 2012a. *Global Tuberculosis Report 2012*. France: WorldHealth Organization. P.iv 3, 11, 20, 71.
- World Health Organization, 2012b. *Multidrugresistant Tuberculosis (MDR-TB) 2012 Update*. (serial online), (cited 2012 Des, 17). Available from: <http://www.who.int/entity/tb/publications/MDRFactSheet2012.pdf>