



AKTIVITAS ANTITUBERKULOSIS PIPER NIGRUM SECARA IN-VITRO TERHADAP *Mycobacterium tuberculosis* MULTI DRUG RESISTEN

Zulfahmi Hamka

Farmakognosi dan Fitokimia, , Akademi Farmasi Yamasi Makassar

Email: fahmihamka13@gmail.com

Artikel info

Artikel history:

Received; 06-6-2022

Revised; 01- 07-2022

Accepted; 25-07-2022

Abstract

Tuberculosis (TB) as a disease that poses a global threat, it is estimated that almost one third of the world's population has been infected and has become the leading cause of death in the world. As many as 95% of tuberculosis cases and 98% of deaths from tuberculosis in the world, occur in developing countries. Black pepper extract containing piperine is very good to be recommended as adjunctive or supportive therapy in the treatment of tuberculosis. Antituberculosis activity testing uses MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube) method with a concentration ratio of 1000, 500, 250 µg / ml. the process is carried out in a negative pressure laboratory and with a liquid medium with an observation time of up to 14 days. the results obtained extract at a concentration of 1000 µg / ml can inhibit the growth of Mycobacterium tuberculosis MDR

Abstrak

Tuberkulosis (TBC) sebagai salah satu penyakit yang menjadi ancaman global, diperkirakan hampir sepertiga penduduk dunia telah terinfeksi dan telah menjadi penyebab kematian utama di dunia. Sebanyak 95% kasus tuberculosis dan 98% kematian akibat tuberculosis di dunia, terjadi pada Negara-negara berkembang. Ekstrak buah lada hitam yang mengandung piperin sangat baik untuk direkomendasikan sebagai terapi tambahan atau supportif dalam pengobatan Tuberkulosis. Pengujian

aktivitas antituberkulosis menggunakan metode MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube) Dengan perbandingan konsentrasi 1000, 500, 250 µg/ml. prosesnya dilakukan pada laboratorium bertekanan negatif dan dengan medium cair dengan waktu pengamatan sampai 14 hari. hasil yang diperoleh ekstrak pada konsentrasi 1000 µg/ml dapat menghambat pertumbuhan Mycobacterium tuberculosis MDR

Keywords:

*Antituberculosis
activity
Mycobacterium
tuberculosis
MGIT
MDR
Piper nigrum*

Corresponden author:

Email: fahmihamka13@gmail.com

PENDAHULUAN

Tuberkulosis merupakan penyebab kematian nomor satu diantara penyakit menular dan merupakan peringkat ke tiga dari 10 penyakit pembunuh tertinggi di Indonesia yang menyebabkan 100.000 kematian tiap tahunnya, penderita HIV menyumbang 11% penderita TB baru dan diperkirakan telah terjadi resistensi terhadap obat-obat antituberkulosis yang telah digunakan dalam pengobatan tuberkulosis yaitu INH, Rifampicin, Etambutol, Pirazinamid, dll. Untuk memformulasi obat dengan spesifikasi dan jenis yang baru perlu waktu yang cukup lama dan menghabiskan biaya yang sangat banyak. Salah satu solusi dari dampak resistensi obat-obat antituberkulosis ini yaitu dengan pemanfaatan bahan alam yang telah terstandarisasi dan teruji keamanannya melalui pembuktian secara turun-temurun dan hasil penelitian. Saat ini telah banyak berkembang metode dalam penanganan obat-obat yang mengalami resistensi, salah satunya dengan menggunakan bahan alam yang memiliki aktivitas yang sinergis atau memodulasi dari obat-obat antituberkulosis yang kemudian diujikan pada *M. tuberculosis* MDR atau *M. tuberculosis* XDR sehingga menjadikan OAT (Obat Anti Tuberkulosis) yang sensitif.

Aktivitas antibakteri piperin terhadap *Mycobacterium tuberculosis* galur H37Rv lemah tetapi memberikan aktivitas yang signifikan *M. tuberculosis* MDR, pada konsentrasi 100µg/ml ekstrak acetone, telah dilakukan oleh sivaraj (2015). Didukung oleh penelitian Bhat et al (2016) mendapatkan bahwa *Piper nigrum* memiliki aktivitas terhadap *M. tuberculosis* pada kondisi aerobik, microaerifilik dan anaerobic yang menunjukkan adanya berbagai komponen yang bekerja pada tingkat yang berbeda pada *M. tuberculosis*. Ekstrak buah lada hitam yang mengandung piperin sangat baik untuk direkomendasikan sebagai terapi tambahan atau supportif dalam pengobatan Tuberkulosis (Hegeto, 2018).

Piperin berbentuk Kristal berwarna putih kekuningan dan merupakan alkaloid dari golongan piperidin yang memiliki sifat hampir tidak larut dalam air (40 mg/L pada suhu 18°C), namun mudah larut dalam alcohol (1 g/15 mL) dan eter (1g/1,7mL) (Vasavirama

dan Upender, 2014). Piperin memiliki khasiat sebagai antiinflamasi, antimalarial, menurunkan berat badan, menurunkan demam, menetralkan racun bisa ular, antiepilepsi, membantu meningkatkan penyerapan vitamin. Piperin memiliki aktivitas sebagai analgesik dan antipiretik pada tikus dan menunjukkan hasil yang sebanding dengan indometasin sebagai obat standar (Sabina et al., 2013).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, metode yang paling baik digunakan untuk mengisolasi piperin dari tanaman lada hitam adalah ekstraksi dengan alat sokhlet jika dibandingkan dengan metode ekstraksi yang lain dan telah dilakukan analisis dengan menggunakan metode KLT-densitometri, hasil yang diperoleh kadar piperin tertinggi diperoleh dari ekstrak buah lada hitam menggunakan pelarut etanol 60% sebagai pengestraksi dengan kadar $52,81 \pm 4,66$ (%b/v) (Hikmawati dkk., 2016). Penelitian Hegeto et al (2018) piperin yang dikombinasi dengan rifampicin dan streptomycin memberikan efek yang sinergis dalam terapi *Mycobacterium tuberculosis* H37RV.

METODE

Pembuatan ekstrak

Masukkan Serbuk buah lada hitam (*Piper nigrum* L.) sebanyak 500 g ke dalam wadah Sokhletasi kemudian dibasahi dengan etanol 70% sebanyak 50 mL lalu dicukupkan sampai 500 mL dan dilakukan ekstraksi sampai terjadi 20-25 siklus. Filtrat disaring dan ampas direndam lagi dengan pelarut yang sama. Hal ini dilakukan sebanyak 3 kali. Filtrat dikumpulkan dan diuapkan pada rotavapor hingga diperoleh ekstrak etanol kental.

Pembuatan Suspensi Bakteri

M. tuberculosis Strain H37Rv dan MDR diperoleh koleksi Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Wahidin Sudirohusodo. Semua kultur akan ditumbuhkan pada media cair Middlebrook 7H9 (Difco Laboratories, Detroit, KHMh) dengan kompleks asam oleat-bovine serum albumin dextrose catalase (OADC) (Difco) pada suhu 37 °C, dan diagitasi kuat sekali sehari selama 2 minggu. Untuk inoculum dibuat suspensi *M. tuberculosis* dalam larutan PBS (Phosphate Buffer Solution) pada turbiditas standar No. 0.5 McFarland. Suspensi 0.5 McFarland dibuat dengan perbandingan PBS : Inokulum = 4 : 1 (1 mL Inokulum : 4 mL PBS)

Uji Aktivitas Antituberculosis

500 µl larutan botol H2 dipindahkan ke dalam tabung MGIT berlabel obat yang telah dipersiapkan dan 500 µl suspensi bakteri dari botol L dipindahkan ke dalam tabung MGIT berlabel kontrol yang telah dipersiapkan. Tabung MGIT kontrol dan tabung yang berisi obat ditempatkan dalam rak khusus dan dimasukkan ke dalam mesin MGIT. Hasil pemeriksaan didapatkan dari mesin setelah inkubasi 5-19 hari. Mesin MGIT akan mengeluarkan sinyal merah (positif) bila Growth Unit (GU) dalam tabung 400. Hasil uji kepekaan dengan media BACTEC MGIT 960 dibandingkan dengan uji kepekaan menggunakan media Lowenstein Jensen (gold standard).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Pengujian aktivitas antituberculosis dari ekstrak *Piper nigrum* L. dapat dilihat pada table 1.

Tabel 1. Hasil pengamatan (BACTEC MGIT 960)

Konsentrasi	Growth unit	Status
DMSO	400	Resisten
250	400	Resisten
500	400	Resisten
1000	0	Sensitif
GC	400	Resisten

Pembahasan

Dari penelitian ini dapat dilihat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 1000 mikroliter memiliki aktivitas dibandingkan dengan konsentrasi lainnya. Dari hasil tersebut dapat dianggap bahwa lada hitam dapat memberikan aktivitas antituberculosis. Pertumbuhan bakteri diamati dengan menggunakan incubator BACTEC 960 dengan waktu pertumbuhan maksimal selama 14 hari untuk mendapatkan hasil pengamatan yang baik. Pada penelitian ini digunakan kontrol pertumbuhan dan kontrol DMSO untuk mencegah faktor kesalahan dan faktor kontaminasi dari hasil percobaan.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Hasil pengujian menggunakan ekstrak *Piper nigrum* L dengan metode BACTEC 960 meningkatkan sensitivitas anti tuberculosis pada konsentrasi 1000 ppm.

Saran

Diharapkan peneliti berikutnya melanjutkan pengujian pada beberapa konsentrasi dan metode pengujian lanjutan.

DAFTAR RUJUKAN

- Hegeto, L. A., Caleffi-Ferracioli, K. R., Nakamura-Vasconcelos, S. S., de Almeida, A. L., Baldin, V. P., Nakamura, C. V., & Cardoso, R. F. (2018). In vitro combinatory activity of piperine and anti-tuberculosis drugs in *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis*, 111, 35-40.
- Houghton PJ dan Raman A. 1998. *Laboratory handbook for Fractionation of natural extracts*. Chapman and Hall. London. [3] Sabina, E.P., Nasreen, A., Vedi, M.,

- and Rasool, M., 2013, Analgesic, Antipyretic and Ulcerogenic Effects of Piperine: An Active Ingredient of Pepper, *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5 (10): 203-206.
- Sivaraj, B., Leo, N.A., 2016. Could Siddha Medicine Be A Solution To 'Poor People's Disease', *The Tuberculosis, European Journal Of Pharmaceutical and Medical Research*. 2016,3(2), 171-176.
- World Health Organization. (2016). *Global tuberculosis report 2016*.
- Vasavirama, K.and Upender, M., 2014, Piperine: A Valuable Alkaloid from Piper Species, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6 (4): 34-38.
- Hikmawati, N.P.E., Haryanti, Aulia, C., Viransa, V.P, 2016, kandungan piperin dalam ekstrak buah lada hitam dan buah lada putih (*Piper nigrum L.*) yang diekstraksi dengan variasi konsentrasi etanol menggunakan metode KLT-Densitometri, [2] *Media Farmasi Vol.13 No. 2 september 2016*; 173-185.