

DIK RUTIN



LAPORAN KEGIATAN

**JUDUL PENELITIAN :**  
**AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI METANOL KAYU**  
**ANGIN (*Usnea misaminensis* (Vain) Not) TERHADAP**  
***Mycobacterium Tuberculosis* H37Rv**

Oleh :  
drh. Dwi Sutiningsih, MKes  
Dra. Sulistyani, MKes

---

Dibiayai dengan dana DIPA Universitas Diponegoro Nomor : 061.0/23-4.0/XIII/2005 Kode 5584-0036 MAK 521114, sesuai dengan Perjanjian Tugas Pelaksanaan Penelitian Para Dosen Universitas Diponegoro, Nomor : 07A/J07.11/PG/2005, tanggal 10 Mei 2005

**FAKULTAS KESEHATAN MASYARAKAT**  
**UNIVERSITAS DIPONEGORO**  
**OKTOBER 2005**

UPT-PUSTAK-UNDIP
No. Daft: 070/KI/FKM/0
Tgl. 2-5-06

**IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR  
PENELITIAN DIK RUTIN**

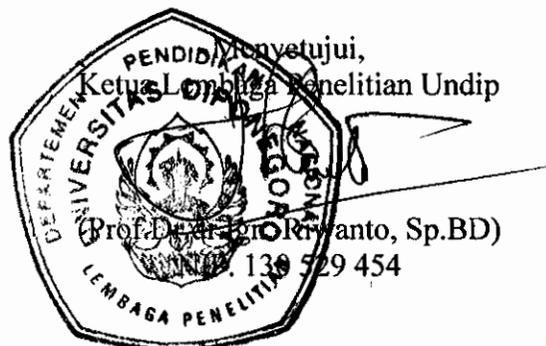
- 1.a. Judul Penelitian : Aktivitas antibakteri fraksi metanol kayu angin (*Usnea misaminensis* (Vain) Not) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv
- b. Bidang Ilmu : Kesehatan
- c. Kategori Penelitian : penerapan Iptek
2. Ketua Peneliti :
- a. Nama Lengkap & Gelar : drh. Dwi Sutningsih, MKes
- b. Jenis Kelamin : perempuan
- c. Pangkat/Golongan/NIP : Penata Muda Tk I/IIIb/ 132 205 000
- d. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
- e. Fakultas : Kesehatan masyarakat
- f. Universitas : Diponegoro
- g. Bidang Ilmu yang Diteliti : Kesehatan
3. Jumlah Tim Peneliti : 2 orang
4. Lokasi Penelitian : Semarang
5. Kerja sama dengan instansi lain : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 6 ( enam ) bulan
7. Biaya yang Diperlukan : Rp. 3.000.000,-  
(Tiga juta rupiah)



Semarang, 10 Oktober 2005

Ketua Peneliti,

(drh. Dwi Sutningsih, MKes)  
NIP. 132 205 000



## RINGKASAN

### **AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI METANOL KAYU ANGIN ( *Usnea misaminensis* (Vain.) Not) TERHADAP *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv**

**Dwi Sutiningsih, Sulistyani  
Tahun 2005**

Tuberkulosis (TB) di negara-negara berkembang, termasuk Indonesia merupakan salah satu masalah kesehatan yang utama. Meskipun sudah lebih dari 100 tahun penemuan mikroorganisme penyebab TB, TB masih merupakan masalah kesehatan di dunia. Diperkirakan sepertiga penduduk dunia telah terinfeksi *M. tuberculosis*, dan sekitar 3 juta kematian terjadi disebabkan oleh TB. TB menjadi penyebab kematian utama di dunia (Raviglione dkk., 1995 ). Akhir-akhir ini jumlah kasus TB di dunia meningkat karena adanya epidemi infeksi HIV / AIDS dan karena problema sosial lainnya, termasuk malnutrisi. Angka penderita infeksi TB juga cenderung meningkat sejalan dengan pesatnya laju pertumbuhan penduduk disertai kemiskinan yang tinggi (Tjai & Rahardja, 1986). Menurut Moeloeck (1999), tuberkulosis merupakan penyebab kematian urutan ketiga di Indonesia setelah penyakit jantung dan saluran pernafasan. Di Indonesia diperkirakan terjadi 175.000 kematian per tahun oleh karena TB (Depkes, 1995).

Kayu angin (*U. misaminensis*) merupakan tanaman yang telah dikenal di Asia tenggara untuk mengobati penyakit TB. Sebagian besar masyarakat Indoneisa menggunakan kayu angin sebagai obat untuk melarutkan lemak yang berlebihan, obat penyakit TB, memperbaiki pencernaan, obat sakit perut, bisul, borok, disentri dan sariawan (Taryono, 2000). Namun sampai sekarang belum diketahui senyawa apa yang terkandung dalam kayu angin yang mempunyai efek antibakteri terhadap tuberkulosis.

Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji aktivitas antibakteri fraksi metanol kayu angin terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, sekaligus menentukan golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi tersebut yang menunjukkan aktivitas antibakteri.

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan alat Soxhlet. Serbuk kayu angin kurang lebih 35 gram dimasukkan dalam Soxhlet, kemudian disari dengan kloroform (senyawa non polar) hingga warna bening. Sari kloroform (ekstrak) disimpan sedangkan ampas serbuk dikeringkan, selanjutnya disari kembali dengan menggunakan metanol sehingga warna pelarut bening, hasil penyarian ini disebut sari atau fraksi metanol kayu angin. Kemudian diuapkan diatas penangas air hingga hampir kering dan tak berbau metanol. Pada akhirnya fraksi tersebut dievaporasi di dalam *freeze dryer vaccum* hingga diperoleh fraksi kering. Selanjutnya fraksi metanol kayu angin diujikan pada *M. tuberculosis* H37Rv. Pada uji ini dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama, dengan kadar yang relatif besar yakni 1,25; 2,5 dan 5% b/v larutan sari/fraksi metanol kayu angin. Dengan memakai dua kontrol yakni media LJ ditambah pelarut dan media LJ tanpa penambahan pelarut (metanol). Setelah inkubasi selama 3 minggu pada temperatur 37 °C, kemudian dilihat hasilnya berapa kadar sampel terkecil yang dapat membunuh bakteri dan berapa jumlah pelarut (metanol) terbesar yang tidak merusak media maupun membunuh bakteri. Pada tahap kedua, fraksi metanol kayu angin kurang lebih 100 µl dilarutkan dalam 1 ml metanol, dibuat 5 seri kadar yaitu 1,25; 1,0; 0,5; 0,25 dan 0,125% b/v dengan volume setiap tabung 125 µl, kemudian ditambahkan media LJ hingga volumenya sampai 5 ml. Kemudian masing-masing tabung ditambahkan 100 µl suspensi kuman. Dua tabung kontrol diperlakukan sama yakni tabung berisi media saja tanpa pelarut metanol dan tabung berisi media ditambah pelarut metanol. Tabung-tabung tersebut diinkubasi selama 3 minggu pada temperatur 37 °C. Setelah 3 minggu diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri. Untuk menentukan golongan senyawa dalam fraksi aktif digunakan Kromatografi lapis tipis (KLT) dengan penampak bercak sinar UV 254. Nilai Rf bercak diukur dan perubahan warna yang terjadi diamati.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rerata persentase kematian *M. tuberculosis* pada uji tahap I dan II dari fraksi metanol kayu angin pada berbagai konsentrasi menunjukkan hasil yang berbeda. Kemampuan maksimal fraksi metanol kayu angin dalam mematikan *M. tuberculosis* pada uji tahap I dan II mencapai 95% baik terhadap kontrol tanpa pelarut dan dengan pelarut metanol, dan dicapai pada konsentrasi tertinggi yaitu 5 % b/v dan 1,25 % b/v. Penggunaan pelarut metanol dalam uji ini tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan *M. tuberculosis*. Pada percobaan uji aktivitas

antibakteri ini ditentukan parameter nilai  $LC_{50}$  yakni konsentrasi yang mampu menghasilkan kematian sel hingga 50%. Rerata nilai  $LC_{50}$  fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dari uji tahap II terhadap *M. tuberculosis* H37Rv lebih kecil ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan uji tahap I ( $LC_{50}$  sebesar 0,09 % b/V). Hal ini menunjukkan efek antibakteri fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dari uji tahap II cukup tinggi terhadap *M. tuberculosis* H37Rv. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif antibakteri terdapat pada fraksi metanol kayu angin dan senyawa tersebut larut baik dalam pelarut metanol.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) mempunyai efek antibakteri terhadap kultur *M. tuberculosis* H37Rv dan dicapai pada konsentrasi 0,09 % b/v. Fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) mengandung senyawa terpenoid, flavonoid dan golongan antrakinon yang berperan sebagai antibakteri. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui toksisitas akut dan sub akut pada hewan coba untuk mengkaji lebih jauh keamanan penggunaan tanaman tersebut sebagai antibakteri dalam pengobatan terhadap *M. tuberculosis*.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah s.w.t., karena atas karuniaNya, penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan tesis ini.

Dalam penelitian dan penulisan ini, penulis banyak memperoleh bantuan dari berbagi pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Lembaga Penelitian Universitas Diponegoro, yang telah memfasilitasi dan memberikan dukungan dalam penyusunan proposal hingga pelaksanaan penelitian ini.
2. dr. Ludfi Santoso, MSC, DTM & H, selaku Dekan Fakultas Kesehatan Masyarakat UNDIP, yang telah memberikan ijin untuk melaksanakan penelitian.
3. Segenap staf laboratorium Pusat Pengembangan Obat Tradisional (PPOT) Yogyakarta yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.
4. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang telah membantu pelaksanaan penelitian sampai selesainya penulis tesis ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan naskah ini masih banyak kekurangan. Oleh sebab itu penulis akan sangat berterimakasih atas segala saran dan kritik yang membangun dari pembaca untuk perbaikan dan penyempurnaan tesis ini. Akhir kata, semoga tesis ini dapat bermanfaat.

Yogyakarta, Oktober 2005

Ttd

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN.....	ii
RINGKASAN DAN <i>SUMMARY</i> .....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	vii
I.    PENDAHULUAN.....	1
II.   TINJAUAN PUSTAKA.....	2
III.  TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	5
IV.  METODE PENELITIAN.....	6
V.   HASIL DAN PEMBAHASAN.....	10
VI.  KESIMPULAN DAN SARAN.....	15
DAFTAR PUSTAKA .....	16
LAMPIRAN.....	18

## DAFTAR TABEL

- Tabel 1. Rerata persentase kematian (%) *M. tuberculosis* pada uji tahap I setelah pemberian fraksi metanol metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dibandingkan kontrol tanpa pelarut pada inkubasi 3 minggu, temperatur 37C .
- Tabel 2. Rerata persentase kematian (%) *M. tuberculosis* pada uji tahap I setelah pemberian fraksi metanol metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dibandingkan kontrol tanpa pelarut pada inkubasi 3 minggu, temperatur 37C .
- Tabel 3. Rerata persentase kematian (%) *M. tuberculosis* pada uji tahap II setelah pemberian fraksi metanol metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dibandingkan kontrol tanpa pelarut pada inkubasi 3 minggu, temperatur 37C
- Tabel 4. Rerata persentase kematian (%) *M. tuberculosis* pada uji tahap II setelah pemberian fraksi metanol metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dibandingkan kontrol dengan pelarut pada inkubasi 3 minggu, temperatur 37C .
- Tabel 5. Harga *Letal Concentration* 50 (LC<sub>50</sub>) fraksi metanol kayu angin pada kultur *M. tuberculosis* H37Rv (% b/v

## DAFTAR GAMBAR

- Gambar 1. Skema kerangka konsep aktivitas antibakteri fraksi metanol kayu angin terhadap kultur *M. tuberculosis* H37Rv
- Gambar 2. Kurva profil pertumbuhan *M. tuberculosis* tanpa perlakuan (kontrol negatif) dan dengan kontrol media yang mengandung pelarut metanol pada uji tahap I
- Gambar 3. Kurva profil pertumbuhan *M. tuberculosis* tanpa perlakuan (kontrol negatif) dan dengan kontrol media yang mengandung pelarut metanol pada uji tahap II
- Gambar 4. Grafik hubungan antara konsentrasi dan persentase kematian *M. tuberculosis* setelah pemberian fraksi metanol kayu angin pada berbagai konsentrasi pada uji tahap I
- Gambar 5. Grafik hubungan antara konsentrasi dan persentase kematian *M. tuberculosis* setelah pemberian fraksi metanol kayu angin pada berbagai konsentrasi pada uji tahap II

## DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Rata-rata jumlah sel bakteri *M. tuberculosis* H37Rv yang hidup setelah pemberian fraksi metanol kayu angin pada berbagai konsentrasi selama 3 minggu dibandingkan kontrol tanpa pelarut dan dengan pelarut pada uji tahap I dan II
- Lampiran 2. Penghitungan Nilai *Letal Concentration* 50 (LC<sub>50</sub>) fraksi metanol kayu angin pada uji tahap I Dengan Analisis Probit
- Lampiran 3. Penghitungan Nilai *Letal Concentration* 50 (LC<sub>50</sub>) fraksi metanol kayu angin pada uji tahap II Dengan Analisis Probit
- Lampiran 4. Hasil analisis statistik dengan Anava pada *M. tuberculosis* H37Rv setelah pemberian fraksi metanol kayu angin pada berbagai konsentrasi pada uji tahap I
- Lampiran 5. Hasil analisis statistik dengan Anava pada *M. tuberculosis* H37Rv setelah pemberian fraksi metanol kayu angin pada berbagai konsentrasi pada uji tahap II
- Lampiran 6. Personalia penelitian

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Tuberkulosis (TB) di negara-negara berkembang, termasuk Indonesia merupakan salah satu masalah kesehatan yang utama. Meskipun sudah lebih dari 100 tahun penemuan mikroorganisme penyebab TB, TB masih merupakan masalah kesehatan di dunia. Diperkirakan sepertiga penduduk dunia telah terinfeksi *M. tuberculosis*, dan sekitar 3 juta kematian terjadi disebabkan oleh TB. TB menjadi penyebab kematian utama di dunia (Raviglione dkk., 1995). Akhir-akhir ini jumlah kasus TB di dunia meningkat karena adanya epidemi infeksi HIV / AIDS dan karena problema sosial lainnya, termasuk malnutrisi. Angka penderita infeksi TB juga cenderung meningkat sejalan dengan pesatnya laju pertumbuhan penduduk disertai kemiskinan yang tinggi (Tjai & Rahardja, 1986). Menurut Moeloek (1999), tuberkulosis merupakan penyebab kematian urutan ketiga di Indonesia setelah penyakit jantung dan saluran pernafasan. Di Indonesia diperkirakan terjadi 175.000 kematian per tahun oleh karena TB (Depkes, 1995).

*Mycobacterium tuberculosis* masuk ke dalam tubuh manusia melalui udara ke pernafasan dalam paru, kemudian menyebar ke bagian tubuh lain melalui peredaran darah (Sukana dkk, 2000). Bakteri ini mempunyai sifat yang berbeda dengan kuman lain yaitu sifat pertumbuhannya yang lambat dan kandungan lipid yang tinggi dalam dinding sel sehingga sulit ditembus oleh zat kimia (Mutchler, 1991). Selain itu kuman TB tergolong kuman tahan asam, sehingga merupakan problem di dalam pengobatannya dan tantangan untuk bidang kemoterapi (Gan dkk, 1887). Di samping itu, pengobatan TB memerlukan jangka waktu yang cukup lama, sehingga diperlukan biaya yang besar, juga dapat menimbulkan efek samping. Oleh karena itu diperlukan suatu obat yang lebih murah dan mengurangi resistensi yang dapat menghambat atau membunuh bakteri TB, salah satunya melalui penelitian terhadap tanaman obat. Dari aspek farmakologi salah satu upaya yang sudah dirintis sejak jaman dulu adalah pemanfaatan fitofarmaka, menggali kandungan zat/unsur kimiawi dalam tumbuh-tumbuhan yang potensial dapat dipakai sebagai obat.

Kayu angin (*U. misaminensis*) merupakan tanaman yang telah dikenal di Asia tenggara untuk mengobati penyakit TB. Sebagian besar masyarakat Indoneisa

menggunakan kayu angin sebagai obat untuk melarutkan lemak yang berlebihan, obat penyakit TB, memperbaiki pencernaan, obat sakit perut, bisul, borok, disentri dan sariawan (Taryono, 2000). Namun sampai sekarang belum diketahui senyawa apa yang terkandung dalam kayu angin yang mempunyai efek antibakteri terhadap tuberkulosis.

Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji aktivitas antibakteri fraksi metanol kayu angin terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, sekaligus menentukan golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi tersebut yang menunjukkan aktivitas antibakteri.

## **B. Perumusan Masalah**

Melihat kenyataan tersebut diatas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *M. tuberculosis* H37Rv ?
2. Jika memiliki aktivitas antibakteri, seberapa besarkah nilai konsentrasi kematiannya ( $LC_{50}$ ) ?
3. Golongan senyawa manakah yang terkandung dalam fraksi tersebut yang menunjukkan aktivitas antibakteri ?

## **II..TINJAUAN PUSTAKA**

### **A. Tuberculosis**

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit kronis progresif yang disebabkan oleh infeksi *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis* dan atau *M. africanum*. Penyakit ini sebenarnya merupakan penyakit yang sudah lama diketahui masyarakat. Dulu disebut sebagai 'phtysis' atau dengan terminology 'wasting' yang artinya bahwa penderita sepertinya digerogeti oleh penyakitnya. Pada tahun 1882, Robert Koch, mengumumkan hasil temuannya berupa basil penyebab tuberkulosis yang disebut sebagai *Mycobacterium tuberculosis* (Kauffman, 2001).

Meskipun sudah lebih dari 100 tahun penemuan mikroorganisme penyebab TB, TB masih merupakan masalah kesehatan di dunia. Diperkirakan sepertiga penduduk

dunia telah terinfeksi *M. tuberculosis*, dan sekitar 3 juta kematian terjadi disebabkan oleh TB. TB menjadi penyebab kematian utama di dunia (Raviglione dkk., 1995). Akhir-akhir ini jumlah kasus TB di dunia meningkat karena adanya epidemi infeksi HIV / AIDS dan karena problema sosial lainnya, termasuk malnutrisi. Di Indonesia diperkirakan terjadi 175.000 kematian per tahun oleh karena TB (Depkes, 1995).

Masalah klinis pada TB masih banyak dijumpai, baik dalam hal diagnosis maupun terapi. Diagnosis pasti pada TB adalah penemuan mikobakterium pada spesimen dari penderita, akan tetapi hal ini sering sukar didapatkan. Apusan sputum untuk BTA (bakteri tahan asam) sering negatif, hanya didapatkan pada 12,2% dari selueuh kasus tersangka (WHO, 2000). Kultur mikobakterium pada media Lowenstein-Jensen memerlukan waktu 6-8 minggu hingga bisa terbentuk koloni yang dapat dilihat, sedangkan dengan metode amplifikasi dengan PCR *M. tb* dan Bactec menghadapi kendala biaya. Dalam hal pengobatan, TB menghadapi masalah lamanya pengobatan yang sering menyebabkan 'drop out' dari penderita. Obat-obat yang digunakan standar pada TB belum ada yang baru, penemuan terakhir adalah Rifampicin pada tahun 1964.

Perkembangan ilmu biomedis, terutama imunologi, selama 10-20 tahun terakhir ini membawa dampak pada perkembangan pengetahuan dan aplikasi klinis untuk TB. Dalam hal diagnosis, sekarang dikenal dengan istilah imunodiagnosis, sedangkan pada pengobatan dikenal istilah imunoterapi. Keduanya memerlukan sedikit pengetahuan tentang imunologi pada TB.

Tuberkulosis merupakan penyakit menular yang menyebar melalui batuk dan dahak ( Crofton J., 1999). Gejala-gejala tuberkulosis antara lain : batuk lebih dari 3 minggu, batuk berdarah, sakit di dada selama lebih dari 3 minggu dan demam selama lebih dari 3 minggu. Gejala-gejala akan segera menghilang tetapi pengobatan harus diteruskan dengan teratur sesuai seluruh kurun waktu pengobatan yang disarankan. Kalau tidak, tuberkulosis akan kembali dan jangka waktu pengobatan harus dimulai dari awal lagi. BCG adalah perlindungan yang baik terhadap tuberkulosis pada anak-anak, khususnya terhadap bentuk tuberkulossi yang fatal, yakni meningitis tuberkulosis dan tuberkulosis milier.

Makin lama makin banyak negara berprevalensi tinggi sekarang sudah memiliki program penanggulangan tuberkulosis yang disetujui secara nasional (Harun M., dkk,

2001). Pada sejumlah negara program tersebut dikombinasi dengan program penanggulangan kusta. Hal-hal yang esensial dalam program penanggulangan tuberkulosis adalah : kesepakatan nasional dan lokal terhadap program, pendidikan kesehatan nasional dan lokal mengenai TB, penemuan kasus, pengobatan standar yang diobservasi, cara-cara pengembalian penderita yang lalai, pencatatan standar/pemantauan, pelatihan berulang yang teratur, vaksinasi BCG untuk bayi baru lahir, dan pemeriksaan kontak keluarga (Crofton J., 1999).

### **B. Kayu Angin (*Usnea misaminensis* (Vain.) Not)**

Kayu angin merupakan dua organisme yang terdiri atas cendawan dan ganggang *Protococcus* yang bersimbiosis membentuk suatu kesatuan individu. Keseluruhan tumbuhan pada umumnya berwarna hijau pucat kebiruan, tumbuh tegak atau berjumbal, dan panjangnya sampai 30 cm atau lebih. Cabang-cabangnya pejal atau kosong, membentuk talus berupa benang atau ranting, bentuknya bulat memanjang, cabang bervariasi, seringkali kasar, berwarna hijau kelabu atau hijau kekuningan (Dalimarta, 2003).

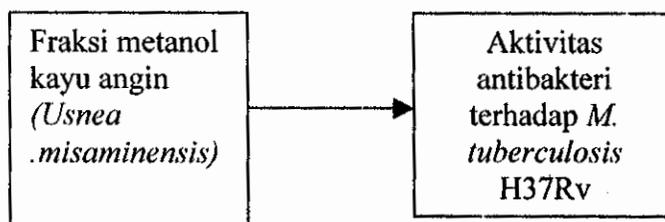
Sebagai epifit kayu angin hidup menempel pada cabang atau kulit pepohonan di daerah pegunungan, keberadaannya sangat bergantung pada tumbuhan inang serta lingkungan yang menjadi tempat tumbuhnya. Kayu angin merupakan obat yang sangat penting dan banyak digunakan dalam berbagai ramuan obat tradisional. Tumbuhan ini digunakan sebagai obat untuk melarutkan lemak yang berlebihan, pengobatan penyakit TB, dan untuk memperbaiki pencernaan. Batangnya dapat digunakan sebagai obat sakit perut, obat bisul, borok, disentri dan sariawan. Di Indonesia terutama dijumpai di daerah pegunungan, namun dapat pula dijumpai di dataran rendah dengan kelembaban udara cukup tinggi. Kayu angin tumbuh sebagai epifit di dahan kayu yang tinggi sebab cahaya dan kelembaban tinggi merupakan faktor yang mutlak bagi perkembangannya. Kandungan kimia kayu angin adalah asam usnat dan senyawa-senyawa despida seperti asam barbatolat, asam barbatat, terdapat zat pahit, hidrat arang, likuin, flavonoid, terpen dan golongan antrakinin (Taryono, 2000).

### C. Landasan Teori

Tanaman kayu angin (*U. misaminensis*) telah banyak digunakan secara tradisional oleh masyarakat di Indonesia untuk menghentikan batuk darah pada penderita penyakit TB. Tanaman tersebut terbukti mengandung golongan senyawa aktif seperti flavonoid, terpen dan golongan antrakinon, asam usnat, asam barbatolat, asam barbatat yang diduga bersifat antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis*.

### D. Kerangka Konsep

Dari teoritis diatas maka dapat dibuat skema kerangka konsep sebagai berikut :



Gambar 1. Skema kerangka konsep aktivitas antibakteri fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv

## III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

### A. Tujuan Penelitian

#### 1. Tujuan Umum :

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji aktivitas antibakteri fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv.

#### 2. Tujuan Khusus :

- Menentukan besarnya nilai konsentrasi kematian 50% (LC<sub>50</sub>) fraksi metanol kayu angin terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv.
- Menentukan golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi metanol kayu angin yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv.

## **B. Manfaat Penelitian**

Dari penelitian ini diharapkan memberikan bukti ilmiah mengenai efek antibakteri kayu angin (*U. misaminensis*) sebagai dasar ilmiah dalam penggunaan tanaman tersebut untuk pengobatan penyakit TB oleh masyarakat, dan sebagai dasar ilmiah untuk mengkaji lebih lanjut senyawa aktif antibakteri dari tanaman tersebut.

Lebih jauh diharapkan hasil penelitian ini dapat bermanfaat terhadap usaha pengembangan obat penyakit TB yang poten, selektif dengan efek samping yang kecil. Disamping itu dapat mendukung program pemanfaatan sumber daya alam di Indonesia.

## **IV. METODE PENELITIAN**

### **1. Jenis Variabel Penelitian**

#### **a. Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah : kadar fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*).

#### **b. Variabel Tergantung :**

Variabel tergantung yang diteliti adalah : aktivitas antibakteri terhadap *M. tuberculosis* H37Rv.

### **2. Hipotesis Penelitian**

Atas dasar landasan teori diatas dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut :

1. Fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *M. tuberculosis* H37Rv.
2. Ada golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) yang menunjukkan aktivitas antibakteri.

### **3. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan salah satu penelitian eksperimental yang dilakukan di laboratorium dengan pendekatan *post test with control group design*.

#### 4. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah bakteri *Mycobacterium tuberculosis* penyebab penyakit TB. Sedangkan sampel dalam penelitian ini adalah *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv.

#### 5. Definisi Operasional

Definisi operasional variabel-variabel di atas adalah sebagai berikut :

- a. Fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) adalah sari/fraksi kering kayu angin yang diperoleh dengan mengekstraksi menggunakan alat Soxhlet. Serbuk kayu angin disari dengan pelarut kloroform ( senyawa non polar) hingga warna bening, kemudian dikeringkan dan disari kembali dengan menggunakan metanol sampai warna pelarut bening. Kemudian diuapkan diatas penangas air hingga kering dan tak berbau metanol.
- b. Aktivitas antibakteri adalah kematian bakteri *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv yang terjadi akibat pemberian fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) pada berbagai kadar. Aktivitas antibakteri ditetapkan sebagai  $LC_{50}$  yaitu konsentrasi yang dibutuhkan fraksi metanol kayu angin untuk membunuh bakteri *M. tuberculosis* hingga 50%. Uji aktivitas antibakteri terhadap fraksi metanol kayu angin dilakukan dengan metode dilusi menggunakan media *Lowenstein-Jensen* (LJ).

#### 6. Jenis Data dan Cara Mendapatkan

Seluruh data dalam penelitian ini merupakan data primer yang diperoleh dari pengujian-pengujian yang dilakukan di laboratorium.

#### 7. Prosedur Penelitian.

##### a. Bahan dan Alat Penelitian.

##### a1. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kayu angin (*U. misaminensis*), yang diperoleh dari PPOT Yogyakarta dan diidentifikasi di Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM . Kloroform dan metanol, media *Lowenstein-Jensen* (LJ), kalium bifosfat, magnesium sulfat, asparagin, gliserin, larutan hijau malakit dan air, bakteri

*Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, gel GF254, etil asetat, asam asetat glasial, vanilin, asam sulfat, amonia, KOH.

## **a2. Alat Penelitian**

Alat-alat yang diperlukan seperangkat alat ekstraksi yang meliputi alat-alat gelas, alat Soxlet, *rotaevaporator* (Heidolph), dan *freeze dryer* (Mitamura Riken Kogyo Inc.), Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

## **b. Jalannya Penelitian**

### **b1. Pembuatan Fraksi Metanol Kayu Angin**

Bahan uji yang diperoleh dibersihkan, kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari tidak langsung. Dari hasil pengeringan ini dilanjutkan dengan pengeringan di oven. kemudian diserbuk dengan blender dan diayak untuk memperoleh serbuk tanaman uji.

Pembuatan ekstrak ini dilakukan menggunakan alat ekstraksi Soxhlet. Serbuk kayu angin kurang lebih 35 gram dimasukkan dalam Soxhlet, kemudian disari dengan kloroform (senyawa non polar) hingga warna bening. Sari kloroform (ekstrak) disimpan sedangkan ampas serbuk dikeringkan, selanjutnya disari kembali dengan menggunakan metanol sehingga warna pelarut bening, hasil penyarian ini disebut sari atau fraksi metanol kayu angin. Kemudian diuapkan diatas penangas air hingga hampir kering dan tak berbau metanol. Pada akhirnya fraksi tersebut dievaporasi di dalam *freeze dryer vaccum* hingga diperoleh fraksi kering. Selanjutnya disimpan di lemari es suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### **b2. Uji Aktivitas Antibakteri**

Pada uji ini dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama, dengan kadar yang relatif besar yakni 1,25; 2,5 dan 5% b/v larutan sari/fraksi metanol kayu angin. Dengan memakai dua kontrol yakni media LJ ditambah pelarut dan media LJ tanpa penambahan pelarut (metanol). Setelah inkubasi selama 3 minggu pada temperatur  $37^{\circ}\text{C}$ , kemudian dilihat hasilnya berapa kadar sampel terkecil yang dapat membunuh bakteri dan berapa jumlah pelarut (metanol) terbesar yang tidak merusak media maupun membunuh bakteri.

Pada tahap kedua, fraksi metanol kayu angin kurang lebih 100 µl dilarutkan dalam 1 ml metanol, dibuat 5 seri kadar yaitu 1,25; 1,0; 0,5; 0,25 dan 0,125% b/v dengan volume setiap tabung 125 µl, kemudian ditambahkan media LJ hingga volumenya sampai 5 ml. Kemudian masing-masing tabung ditambahkan 100 µl suspensi kuman. Dua tabung kontrol diperlakukan sama yakni tabung berisi media saja tanpa pelarut metanol dan tabung berisi media ditambah pelarut metanol. Tabung-tabung tersebut diinkubasi selama 3 minggu pada temperatur 37 °C. Setelah 3 minggu diamati ada tidaknya pertumbuhan bakteri.

### **b3. Analisis dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) digunakan untuk memonitor keberhasilan fraksinasi dan penentuan golongan senyawa dalam fraksi aktif. Larutan dari hasil isolasi kayu angin dapat diperiksa dengan kromatografi lapis tipis, memakai sinar tampak dan UV kemudian diuapi amonia dan disemprot dengan berbagai reagen, akan dapat diketahui pula golongan senyawa dalam fraksi tersebut. Dengan memakai fase diam silika gel GF254, dicari fase gerak yang memberi pemisahan optimal terhadap sampel. Kemudian bercak disemprot dengan pereaksi warna vanilin-asam sulfat, uap amonia dan larutan KOH-etanolisi 5%. Nilai Rf bercak diukur dan perubahan warna yang terjadi diamati.

### **8. Analisa Data**

Analisis antibakteri dilakukan dengan menggunakan analisis probit dan ditentukan nilai  $LC_{50}$  dari ekstrak uji yaitu kadar yang dibutuhkan untuk membunuh *M. tuberculosis H37Rv* hingga 50%. Selanjutnya nilai  $LC_{50}$  masing-masing ekstrak dianalisis dengan *Anova Oneway*.

## V. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan media LJ dengan bahan utama telur sebagai sumber protein yang utama. Kebutuhan nitrogen pada media diatasi dengan penambahan asparagin. Aktivitas antibakteri dinyatakan sebagai  $LC_{50}$  yaitu kadar yang diperlukan untuk membunuh *M. tuberculosis H37Rv* hingga 50%. Rerata persentase kematian *M. tuberculosis* pada uji tahap I setelah pemberian fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) pada berbagai konsentrasi setelah inkubasi 3 minggu pada temperatur 37C berturut-turut disajikan pada Tabel 1 dan 2, sedangkan pada uji tahap II dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4. Kurva profil pertumbuhan pada kontrol tanpa pelarut dan dengan pelarut pada uji tahap I dan II berturut-turut dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3.

Tabel 1. Rerata persentase kematian (%) *M. tuberculosis* pada uji tahap I setelah pemberian fraksi metanol metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dibandingkan kontrol tanpa pelarut pada inkubasi 3 minggu, temperatur 37C .

Kons (% b/v)	Fraksi metanol kayu angin				Kontrol tanpa pelarut				Persentase kematian (%)
	Ulangan			Rata-rata	Ulangan			Rata-rata	
	1	2	3		1	2	3		
5	3	3	1.5	2.5	45	45	54	48	94.79
2.5	4.5	7.5	4.5	5.5	39	38	40.5	39	85.9
1.25	13.5	11	12	12	30	35	31.5	31	62.5

Tabel 2. Rerata persentase kematian (%) *M. tuberculosis* pada uji tahap I setelah pemberian fraksi metanol metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dibandingkan kontrol tanpa pelarut pada inkubasi 3 minggu, temperatur 37C .

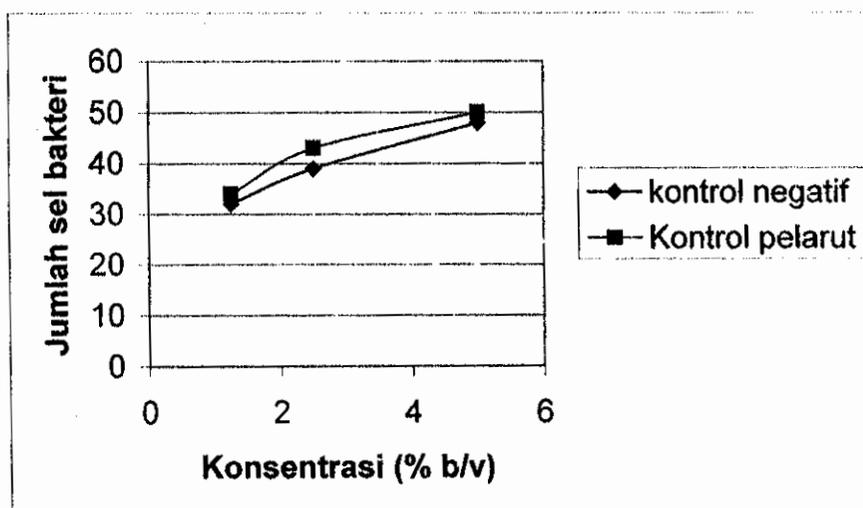
Kons (% b/v)	Fraksi metanol kayu angin				Kontrol tanpa pelarut				Persentase kematian (%)
	Ulangan			Rata-rata	Ulangan			Rata-rata	
	1	2	3		1	2	3		
5	3	3	1.5	2.5	50	48	52.5	50	95
2.5	4.5	7.5	4.5	5.5	44	38	48	43	87.21
1.25	13.5	11	12	12	36	35	34	34	64.71

Tabel 3. Rerata persentase kematian (%) *M. tuberculosis* pada uji tahap II setelah pemberian fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dibandingkan kontrol tanpa pelarut pada inkubasi 3 minggu, temperatur 37C .

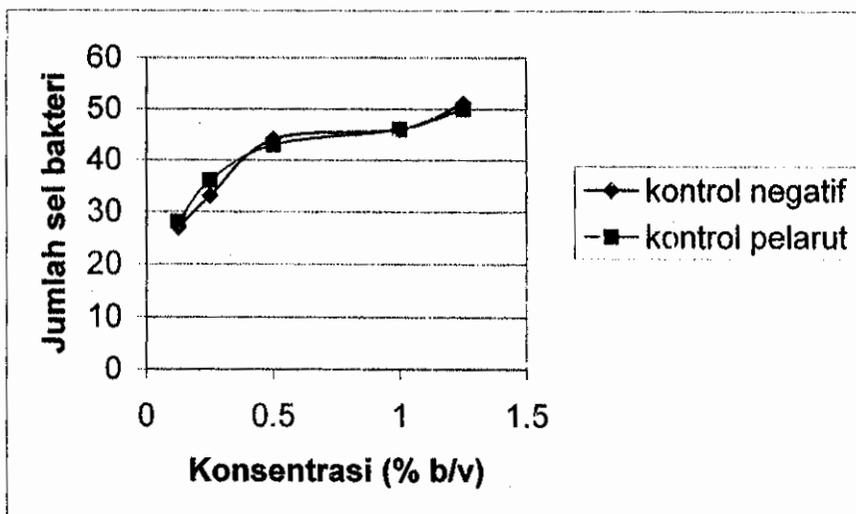
Kons (% b/v)	Fraksi metanol kayu angin				Kontrol tanpa pelarut				Persentase kematian (%)
	Ulangan			Rata-rata	Ulangan			Rata-rata	
	1	2	3		1	2	3		
1.25	3	1.5	1.5	2	48	51	54	51	96.09
1	4.5	4.5	4.5	4.5	53	41	45	46	90.22
0.5	7.5	11	7.5	8.5	47	44	42	44	80.68
0.25	9	14	14	12	38	35	27	33	63.64
0.125	15	21	23	19.5	30	29	22.5	27	60.2

Tabel 4. Rerata persentase kematian (%) *M. tuberculosis* pada uji tahap II setelah pemberian fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dibandingkan kontrol dengan pelarut pada inkubasi 3 minggu, temperatur 37C .

Kons (% b/v)	Fraksi metanol kayu angin				Kontrol dengan pelarut				Persentase kematian (%)
	Ulangan			Rata-rata	Ulangan			Rata-rata	
	1	2	3		1	2	3		
1.25	3	1.5	1.5	2	47	53	51	50	96
1	4.5	4.5	4.5	4.5	48	45	45	46	90.22
0.5	7.5	11	7.5	8.5	45	43	40.5	43	80.23
0.25	9	14	14	12	41	38	30	36	66.67
0.125	15	21	23	19.5	27	29	28.5	28.5	30.36



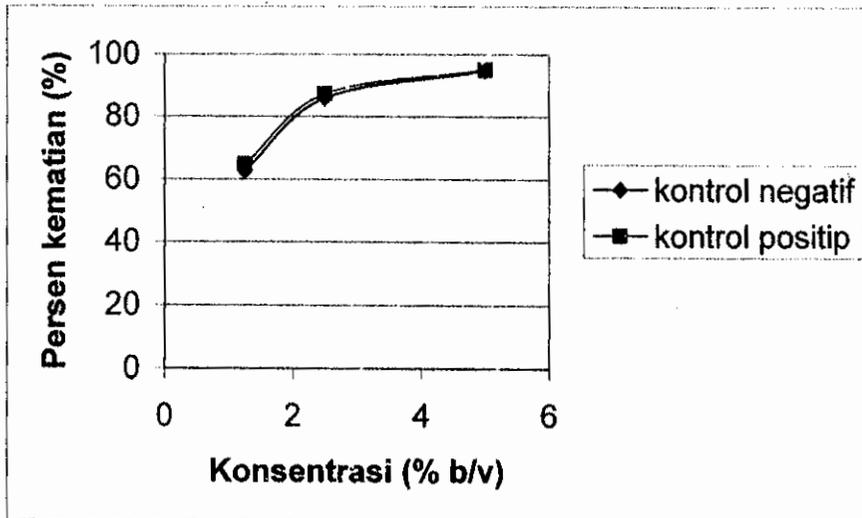
Gambar 2. Kurva profil pertumbuhan *M. tuberculosis* tanpa perlakuan (kontrol negatif) dan dengan kontrol media yang mengandung pelarut metanol pada uji tahap I



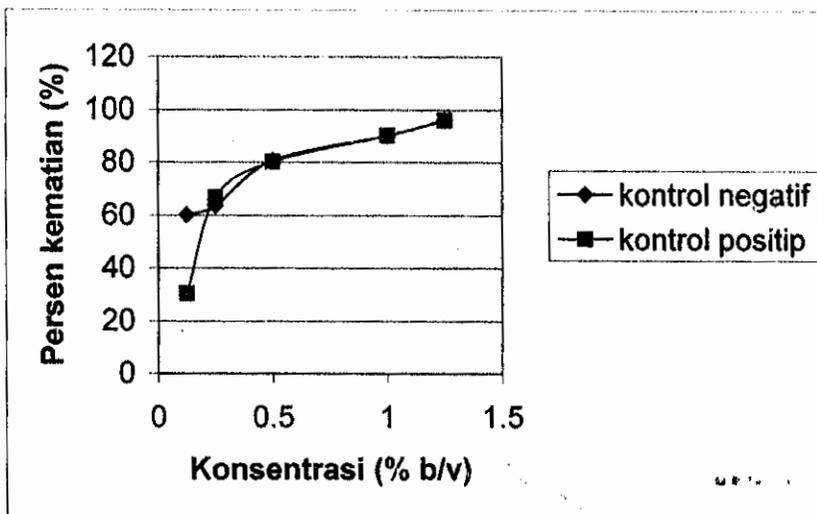
Gambar 3. Kurva profil pertumbuhan *M. tuberculosis* tanpa perlakuan (kontrol negatif) dan dengan kontrol media yang mengandung pelarut metanol pada uji tahap II

Rerata persentase kematian *M. tuberculosis* pada uji tahap I dan II dari fraksi metanol kayu angin pada berbagai konsentrasi menunjukkan hasil yang berbeda. Kemampuan maksimal fraksi metanol kayu angin dalam mematikan *M. tuberculosis* pada uji tahap I mencapai 95% baik terhadap kontrol tanpa pelarut dan dengan pelarut metanol, dan dicapai pada konsentrasi tertinggi yaitu 5 % b/v. Begitu juga pada uji tahap II, kemampuan maksimal juga dicapai pada konsentrasi tertinggi yaitu 1,25% b/v. Berdasarkan hasil uji ini, menunjukkan bahwa besarnya konsentrasi fraksi metanol kayu angin mempengaruhi jumlah kematian *M. tuberculosis* ( $p < 0,05$ ). Penggunaan pelarut metanol dalam uji ini tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan *M. tuberculosis* (Gambar 1 dan 2), hal ini terlihat dari dari kurva profil pertumbuhan *M. tuberculosis* tanpa pelarut dan dengan pelarut metanol menunjukkan profil pertumbuhan yang relatif sama.

Berdasarkan data persentase kematian pada berbagai konsentrasi pada Tabel 1,2,3 dan 4, selanjutnya dibuat grafik hubungan persentase kematian dan konsentrasi fraksi metanol kayu angin pada uji tahap I dan II berturut-turut seperti disajikan pada Gambar 4 dan 5.



Gambar 4. Grafik hubungan antara konsentrasi dan persentase kematian *M. tuberculosis* setelah pemberian fraksi metanol kayu angin pada berbagai konsentrasi pada uji tahap I



Gambar 5. Grafik hubungan antara konsentrasi dan persentase kematian *M. tuberculosis* setelah pemberian fraksi metanol kayu angin pada berbagai konsentrasi pada uji tahap II

Dari grafik hubungan persentase kematian dan konsentrasi fraksi ini semakin jelas bahwa semakin tinggi konsentrasi fraksi metanol kayu angin, semakin besar persentase kematian *M. tuberculosis* (Gambar 4 dan 5), hal ini didukung secara statistik bahwa

kematian *M. tuberculosis* pada masing-masing konsentrasi fraksi metanol kayu angin menunjukkan perbedaan secara signifikan ( $p > 0,05$ ) (lampiran 4 dan 5).

Pada percobaan uji aktivitas antibakteri ini ditentukan parameter nilai  $LC_{50}$  yakni konsentrasi yang mampu menghasilkan kematian sel hingga 50%. Nilai  $LC_{50}$  menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap *M. tuberculosis*. Semakin kecil nilai  $LC_{50}$  berarti senyawa semakin toksik. Potensi antibakteri fraksi metanol kayu angin terhadap *M. tuberculosis* ditunjukkan pada data Tabel 5 (data lengkap dapat dilihat lampiran 2 dan 3).

Tabel 5. Harga *Letal Concentration* 50 ( $LC_{50}$ ) fraksi metanol kayu angin pada kultur *M. tuberculosis* H37Rv (% b/v)

---

---

Harga $LC_{50}$ fraksi metanol kayu angin pada kultur <i>M. tuberculosis</i> H37Rv	
Uji Tahap I	: 0,39 % b/v
Uji Tahap II	: 0,09 % b/v

---

---

Rerata nilai  $LC_{50}$  fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dari uji tahap II terhadap *M. tuberculosis* H37Rv lebih kecil ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan uji tahap I ( $LC_{50}$  sebesar 0,09 % b/v). Hal ini menunjukkan efek antibakteri fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) dari uji tahap II cukup tinggi terhadap *M. tuberculosis* H37Rv.. Sehingga dapat dikatakan bahwa fraksi metanol kayu angin dapat mematikan *M. tuberculosis* H37Rv hingga 50% pada konsentrasi 0,09 % b/v . Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif antibakteri terdapat pada fraksi metanol kayu angin dan senyawa tersebut larut baik dalam pelarut metanol. Metanol mampu menyari senyawa-senyawa polar yang sesuai dengan penggunaan di masyarakat dan senyawa-senyawa non polar dalam jumlah terbatas (Arnida *et al.*, 2003).

Kayu angin (*U. misaminensis*) sering dimanfaatkan secara tradisional sebagai obat tuberculosis. Kandungan kimia kayu angin adalah asam usnat dan senyawa-senyawa despida seperti asam barbatolat, asam barbatat, terdapat zat pahit, hidrat arang, likuin , flavonoid, terpen dan golongan antrakinin (Taryono, 2000).

Untuk menentukan golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi metanol kayu angin dilakukan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan berbagai penampak bercak. Berdasarkan data analisis gambaran KLT, diketahui bahwa terdapat senyawa terpenoid (Rf 0,83) yang mempunyai kromofor nampak terjadi pemataman pada UV 254 dan flavonoid (Rf. 0,15), antrakinin (Rf. 0,14) (utama; 0,67; 0,81)) yang nampak dari warna merah jingga dengan penampak bercak dragendorff. Keberadaan senyawa fenolik seperti polifenol (deteksi dengan pereaksi besi (III) klorida), dalam fraksi metanol kayu angin diragukan, atau kemungkinan jumlahnya terlalu kecil.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan :

1. Fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) mempunyai efek antibakteri terhadap kultur *M. tuberculosis* H37Rv
2. Aktivitas antibakteri terbesar fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) terhadap kultur *M. tuberculosis* H37Rv dicapai pada konsentrasi 0,09 % b/v
3. Fraksi metanol kayu angin (*U. misaminensis*) mengandung senyawa terpenoid, flavonoid dan golongan antrakinin yang berperan sebagai antibakteri.

### B. Saran

1. Perlu penelitian lanjutan untuk mengisolasi senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi metanol kayu angin yang mempunyai aktivitas antibakteri.
2. Perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui toksisitas akut dan sub akut pada hewan coba untuk mengkaji lebih jauh keamanan penggunaan tanaman tersebut sebagai antibakteri dalam pengobatan terhadap *M. tuberculosis*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, A., Halimi E.S., Djafar, Z.R. & Kamaluddin, M.T., 2000, Studi pengobatan dan jenis ramuan tanaman obat di Propinsi Sumatera Selatan, *Majalah Kedokteran Sriwijaya* (MKS). 32(1): 1-5
- Crofton, J., 1999, *Clinical Tuberculosis.*, MacMillan Education Ltd., London, Oxford
- Dalimarta S., 2003, *Ramuan Obat Tradisional*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI, 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia 1*. Pusat Penelitian Dan Pengembangan Farmasi, Badan Litbangkes Depkes RI, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 1995, *Survei Kesehatan Rumah tangga*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Desjardins, M. 1995. Biogenesis of phagolysosomes: the 'kiss and run' hypothesis. *Trends. Cell. Bio.* 5:183-186
- Gan , Raharja T., Wahid P., 1887, Kendala Pengobatan Tuberculosis di Indonesia, *Medika*, 34(3): 34-40
- Harun, M., Sutiono, E., Citraningtyas, T., Cho, P., Noviani, D., Abidin, N., 2001, *Tuberkulosis Klinis*, Penerbit Widya Medika, Jakarta.
- Hopewell, P.C. 1994. *Overview of clinical tuberculosis*. Dalam Bloom B.R. (ed) *Tuberculosis: Pathogenesis, Protection and Control*. Washington DC. ASM Press. pp. 25-36
- Kaufmann, S.H.E. 2001. Koch's dilemma revisited. *Scand. J. Infect. Dis.* 33:5-8
- Moeloek, 1999, *Pathologic Basis of Diseases*, Ed. 6, WB. Saunders Company, Philadelphia
- Mutchler, 1991, *Virology and Bacteriology*, WB. Saunders Company, Philadelphia
- Onwubalili, J.K., G.M. Scott, dan J.A. Robinson. 1985. Deficient immune interferon production in tuberculosis. *Clin. Exp. Immunol.* 59:405-413
- Raviglione, M.C., D.E. Snider Jr., dan A. Kochi., 1995., Global epidemiology of tuberculosis; morbidity and mortality of a worldwide epidemic., *JAMA* 273(3):220-226
- Sukana , Bermawie, Nurliana, 2000, *Program Penanggulangan Tuberculosis*, Gramedia , Jakarta

- Supriyadi, Nurliani, Yusron, M., Hadad E., 2001, *Tumbuhan Obat Indonesia*, Pustaka Populer Obor, Jakarta
- Taryono., 1999, *Khasiat dan Penggunaan Kayu Angin (Usnea misaminensis (Vain.) Not)*, Gramedia, Jakarta
- Tjai & Rahardja, 1986, *Tuberculosis .*, MacMillan Education Ltd., London, Oxford
- World Health Organization., 2000. *Global tuberculosis control*. WHO Report 2000, WHO, Geneva