

INTISARI

Tuberkulosis adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi *Mycobacterium tuberculosis* dan merupakan penyakit infeksi yang menyebabkan kematian tertinggi di dunia. Penemuan obat antituberkulosis baru dari bahan alam penting untuk dilakukan. Salah satu tanaman obat yang memiliki potensi sebagai antituberkulosis baru adalah Brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Hook.f & Thomson) dari suku Menispermaceae. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi senyawa dari batang Brotowali dan menguji aktivitasnya terhadap *Mycobacterium*.

Pada penelitian ini dilakukan pendekatan fitokimia tanaman Brotowali kemudian dilakukan uji aktivitas penghambatan terhadap *M. tuberculosis* H37Rv dan *M. marinum* secara *in vitro*. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi terhadap batang brotowali dengan pelarut etanol 96%. Isolasi dan pemurnian senyawa mayor dari ekstrak dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) dan *flash chromatography*. Isolat murni diidentifikasi struktur senyawanya dengan elusidasi struktur dengan spektrofotometri infra merah, ultraviolet, spektroskopi massa dan resonansi magnet inti. Ekstrak dan fraksi diuji aktivitas penghambatannya terhadap *M. tuberculosis* H37Rv dengan metode *Microplate Alamar Blue Assay* (MABA), *Mycobacteria Growth Indicator Tube* (MGIT), dan metode dilusi agar dengan media Lowenstein Jensen (LJ). Uji aktivitas penghambatan terhadap *M. marinum* secara *in vitro* dilakukan dengan metode *microbroth dilution*. Uji aktivitas penghambatan terhadap *M. marinum* juga dilakukan secara *in vivo* dengan model zebrafish tipe ABTL, Mpeg, dan GFP-LC3.

Sebanyak 2 isolat berhasil diisolasi dari batang Brotowali. Isolat pertama yang berhasil diidentifikasi adalah suatu senyawa glikosida fenolik bernama tinotuberida, sedangkan isolat kedua adalah suatu senyawa glikosida diterpen bernama borapetosida C. Ekstrak etanol batang Brotowali (EEB), fraksi tidak larut n-heksana (FTH), isolat A1 (tinotuberida), dan isolat B1 (borapetosida C) yang diperoleh dari batang Brotowali memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *M. marinum* dan *M. tuberculosis*. Isolat B1 menjadi isolat yang paling aktif terhadap *M. tuberculosis* dengan KHM sebesar 19,53 µg/mL, lebih kecil dibandingkan KHM rifampisin yaitu 31,25 µg/mL. Sedangkan isolat A1 menjadi isolat yang paling aktif terhadap *M. marinum* dengan KHM sebesar 2,43 µg/mL, lebih kecil dibandingkan dengan KHM rifampisin yaitu 23,07 µg/mL. EEB, FTH, isolat A1 (tinotuberida), dan isolat B1 (borapetosida C) memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *M. marinum* secara *in vivo* di dalam zebrafish tipe ABTL. Isolat A1 (tinotuberida) dan isolat B1 (borapetosida C) mampu meningkatkan kemampuan makrofag untuk mengatasi infeksi *M. marinum* dalam zebrafish melalui daya bunuh terhadap bakteri *M. marinum* dan induksi autofagi.

Kata kunci : Batang Brotowali, isolasi, elusidasi struktur, *M. tuberculosis*, *M. marinum*, zebrafish

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is caused by pathogenic bacteria, *Mycobacterium tuberculosis* and has become the major causes of death among all of infectious diseases. The increasing incidence of this disease has created a need to discover a new antituberculosis drug candidate from natural product. Brotowali (*Tinospora crispa*) is one of plants that has antituberculosis activity. The aim of this research are to isolate the major compounds from Brotowali's stem and to test the activity of them against *Mycobacterium*. This research is conducted by phytochemical approach and the compounds are tested against *M. tuberculosis* H37Rv and *M. marinum*.

T. crispa extract was prepared by maceration in ethanol (96%) and antituberculosis activity was carried out using MABA method. Isolation and purification of major compounds were done by thin layer chromatography and flash chromatography. Purified compounds were identified by structure elucidation using infrared spectroscopy, ultraviolet spectroscopy, mass spectroscopy, and magnetic nuclear resonance spectroscopy. Extract, fraction and isolated compounds were tested against *M. tuberculosis* H37Rv using Microplate Alamar Blue Assay (MABA), Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT), and agar dilution using Lowenstein Jensen (LJ) media. The in vitro assay of samples against *M. marinum* was conducted by microbroth dilution method while the in vivo assay was performed using zebrafish model.

Two compounds were isolated from Brotowali stem. The first identified compound was tinotuberide, a phenolic glycoside and the second one was borapetoside C, a diterpen glycoside. Ethanolic extract of Brotowali (EEB), n-hexane insoluble fraction (FTH), isolate A1 (tinotuberide), isolate B1 (borapetoside C) had inhibition activity against *M. marinum* dan *M. tuberculosis*. Isolate B1 (borapetoside C) was the most active compound against *M. tuberculosis* with MIC 19.53 µg/mL, lower than rifampicin with MIC 31.25 µg/mL. Isolate A1 (tinotuberide) was the most active compound against *M. marinum* with minimum inhibitory concentration (MIC) 2.43 µg/mL, lower than rifampicin with MIC 23.07 µg/mL. EEB, FTH, isolate A1 (tinotuberide), isolate B1 (borapetoside C) had in vivo inhibition activity against *M. marinum* in ABTL type of zebrafish. Isolate A1 (tinotuberide) and isolate B1 (borapetoside C) were able to improve the ability of infected macrophages to overcome *M. marinum* infection through autophagy activation.

Key words : Brotowali, isolation, structure elucidation, *M. tuberculosis*, *M. marinum*, zebrafish