

AKTIVITAS SITOTOKSIK DARI EKSTRAK DAN FRAKSI DAUN GAMBIR LIAR (*Uncaria Sp*)

Noveri Rahmawati^{1*}, Musyirna Rahmah, Suminiati

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau
Jalan Kamboja Simpang Baru Panam Pekanbaru
email: ira11001@gmail.com

Abstrak

Penelitian mengenai uji aktivitas sitotoksik dari ekstrak dan fraksi daun gambir liar (*Uncaria Sp*) telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik dengan menggunakan metoda *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Ekstrak etanol yang telah dikeringkan difraksinasi ke dalam fraksi non polar, semi polar dan polar, masing-masing dengan menggunakan heksan, etil asetat, dan butanol. Hasil Uji sitotoksik terhadap ekstrak etanol dan fraksi non polar, semi polar dan polar berturut-turut adalah 67,60 µg/mL, 177,82 µg/mL, 26,30 µg/mL dan 54,95 µg/mL. Aktivitas sitotoksik tertinggi diperoleh dari fraksi etil asetat dan dikategorikan memberikan aktivitas sangat kuat.

Kata kunci : Ekstrak, Gambir liar, Sitotoksik

PENDAHULUAN

Salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat adalah gambir (*Uncaria Sp*) famili Rubiaceae. Gambir memiliki khasiat secara tradisional yang dapat digunakan sebagai pelengkap makan sirih dan obat-obatan. Khasiat gambir itu disebabkan oleh sejumlah senyawa aktif yang dikandungnya, antara lain katekin, tannin, flouresin, kuersetin, lendir, lemak dan lilin (Nazir, 2000).

Tanaman gambir merupakan komoditas unggulan daerah Provinsi Sumatera Barat. Selain Sumatera Barat, tanaman gambir juga terdapat di Sumatera Utara dan Riau (Laksmono *dkk*, 2011). Penelitian tentang aktivitas tanaman gambir asal Riau belum banyak dilakukan terutama gambir yang tumbuh di kawasan Hutan Lindung Bukit Suligi Ujung Batu. Pada kawasan ini, gambir tumbuh secara liar berbeda dengan yang terdapat di daerah Sumatera Barat dan Sumatera Utara. Mengingat potensi yang luar biasa ini maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas dari tumbuhan gambir ini.

Beberapa penelitian telah melakukan publikasi terhadap manfaat senyawa polifenol dari gambir dan diketahui mempunyai aktivitas antioksidan. Hasil pengujian dengan menggunakan hewan uji, senyawa polifenol katekin yang ditemukan dalam genus

Uncaria dan teh hijau menunjukkan potensi sebagai antioksidan dan antikanker (Gumbira *dkk*, 2009).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk menguji aktivitas aktivitas sitotoksik terhadap larva *Artemia salina* Leach dengan menggunakan metoda BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dari ekstrak dan fraksi daun gambir (*Uncaria Sp*) yang terdapat di daerah Bukit Suligi Ujung Batu Rokan Hulu, dimana peneliti ingin mengangkat potensi tumbuhan gambir yang ada di hutan Bukit Suligi Ujung Batu Rokan Hulu.

BAHAN DAN METODA

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol berwarna gelap, *rotary evaporator* (Cylla[®]), alat destilasi, corong pisah, spatel, timbangan analitik, plat tetes, Spektrofotometer UV-Vis, wadah aquarium, aerator (pembentuk gelembung udara), pipet mikro, dan peralatan gelas lainnya.

Daun segar gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Rox), pelarut etanol, *n*-heksan, etil asetat dan butanol, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat, butanol, air laut, dimetil-sulfoksida, dan larva uji yang digunakan adalah *Artemia salina*

Ekstraksi sampel

Daun gambir dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan cara dicuci dengan air mengalir dan setelah bersih ditimbang kemudian dikeringkan. Setelah dikering-anginkan baru dirajang dan ditimbang berat kering daun gambir.

Sampel direndam atau dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama ± 5 hari dan diletakkan ditempat sejuk dan terlindung dari cahaya. Lakukan pengadukan secara berkala selama maserasi kemudian disaring dan sisa ampasnya direndam lagi dan dilakukan sebanyak 3 kali.

Ekstrak dikentalkan dengan alat *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental etanol daun gambir. Ekstrak kental yang diperoleh masih mengandung campuran beberapa senyawa sehingga perlu dilakukan pemisahan dengan cara fraksinasi.

Fraksinasi sampel

Hasil ekstrak kental etanol daun gambir yang diperoleh ditambahkan dengan akuades dan dihomogenkan, selanjutnya difraksinasi dengan menggunakan corong pisah. Fraksinasi dilakukan terhadap tiga pelarut berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda. Pertama difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan kemudian di kocok dan dibiarkan sehingga terbentuk dua lapisan yang terdiri dari fraksi *n*-heksan dan fraksi air. Hasil fraksi *n*-heksan diambil dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan fraksi kental *n*-heksan.

Fraksi air selanjutnya difraksinasi dengan pelarut etil asetat. Hasil fraksi etil asetat diambil dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan fraksi kental etil asetat.

Fraksi air selanjutnya difraksinasi dengan pelarut butanol. Hasil fraksi butanol diambil dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan fraksi kental butanol.

Uji fitokimia (Harbone, 1987)

Pemeriksaan kandungan kimia metabolit sekunder dilakukan terhadap ekstrak kental etanol dan beberapa fraksi daun gambir. Pengujian dilakukan dengan cara melarutkan sejumlah kecil ekstrak kental etanol daun gambir dalam air suling dan pelarut kloroform masing-masing 5 mL (1:1), kocok kuat dan biarkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan (lapisan air dan lapisan kloroform). Lapisan kloroform digunakan untuk pemeriksaan senyawa alkaloid, terpenoid dan steroid. Lapisan air digunakan

untuk pemeriksaan senyawa flavonoid, fenolik, dan saponin.

1. Alkaloid

Lapisan kloroform ditambah kloroform amoniak 0,05 N sama banyak, kemudian fraksi kloroform dipisah dan ditambahkan beberapa tetes H_2SO_4 2N. Lalu di kocok kuat dan diamkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan asam diambil lalu ditambah beberapa tetes pereaksi Meyer atau Dragendorff. Terbentuk endapan putih dengan Meyer dan warna jingga dengan Dragendorff menunjukkan adanya alkaloid.

2. Flavonoid

Beberapa tetes lapisan air dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan beberapa butir logam Mg dan beberapa tetes asam klorida pekat, terbentuk warna kuning sampai merah menunjukkan adanya flavonoid.

3. Pemeriksaan Senyawa Fenolik

Diambil beberapa tetes lapisan air dipindahkan ke dalam plat tetes yang bersih kemudian ditambahkan dua tetes pereaksi $FeCl_3$. Terbentuk warna biru gelap menunjukkan adanya senyawa fenolik.

4. Pemeriksaan Senyawa Saponin

Diambil 2 mL lapisan air dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tutup mulut tabung reaksi dengan penyumbat karet dan di kocok dengan kuat sehingga terbentuk busa. Terbentuknya busa yang tidak segera hilang apabila didiamkan (15 menit) menunjukkan adanya senyawa saponin.

5. Pemeriksaan Senyawa Terpenoid dan Steroid

Lapisan kloroform disaring dengan norit yang diletakkan ke dalam pipet tetes yang diberi kapas diujungnya, kemudian ditampung pada plat tetes, setelah kering ditambahkan pereaksi Lieberman-Bouchard (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat sama banyak), bila terbentuk warna merah menunjukkan adanya senyawa terpenoid dan warna biru-hijau-ungu menunjukkan adanya senyawa steroid.

Pemeriksaan aktivitas sitotoksik ekstrak dan fraksi

1. Persiapan Hewan Uji

Kista udang *Artemia salina* Leach ditetaskan dalam wadah pembiakan (aquarium) yang berisi air laut juga dilengkapi

dengan lampu dan aerator, digunakan setelah 48 jam setelah membentuk larva.

2. Uji Sitotoksik dengan Metoda *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Ekstrak dan fraksi ditimbang sebanyak 40 mg kemudian dilarutkan dalam 4 mL etanol maka didapat larutan induk ekstrak dengan konsentrasi 10.000 µg/mL, dari larutan induk tersebut dipipet sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan etanol sehingga 5 mL, dan didapatlah larutan dengan konsentrasi 1000 µg/mL. Dari larutan konsentrasi 1000 µg/mL, kemudian dipipet lagi sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan etanol hingga 5 mL maka didapat larutan dengan konsentrasi 100 µg/mL, dari konsentrasi 100 µg/mL tersebut dipipet lagi sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan etanol hingga 5 mL maka didapat pula larutan dengan konsentrasi 10 µg/mL (masing-masing dibuat dalam 3 vial).

Masing-masing vial uji dibiarkan etanolnya menguap, dilarutkan kembali senyawa uji dengan 50 µl DMSO, selanjutnya ditambahkan air laut hampir mencapai batas kalibrasi. Dimasukkan larva udang pada masing-masing vial sebanyak 10 ekor. Kemudian tambahkan air laut beberapa tetes hingga batas kalibrasi, kematian larva udang diamati setelah 24 jam. Dari data yang dihasilkan dihitung LC_{50} dengan metode kurva menggunakan tabel probit.

Untuk kontrol, 50 µl DMSO dipipet kedalam vial uji, ditambahkan air laut hampir mencapai batas kalibrasi, dimasukkan larva *Artemia salina* 10 ekor. Tambahkan lagi air laut beberapa tetes hingga mencapai kalibrasi.

Analisis data

Untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak dan masing-masing fraksi daun gambir terhadap kematian larva *Artemia salina* dilakukan perhitungan statistik dengan analisa probit. Perhitungan dilakukan dengan membandingkan antara jumlah larva yang mati terhadap jumlah larva keseluruhan sehingga diperoleh persen kematian, kemudian dilihat dalam tabel probit. Dari nilai tersebut diketahui nilai probit masukkan dalam persamaan regresi, sehingga dapat nilai LC_{50} . Persamaan regresi

$$Y = a + bx$$

$$LC_{50} = \text{Antilog } x$$

Keterangan :

- x : Log Konsentrasi
y : Nilai Probit
a : *Intercept* (garis potong)

b : *Slope* (kemiringan dari garis regresi linear)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun gambir (Gambar 1) sebanyak 2 kg diambil di Bukit Suligi, Ujung Batu, Rokan Hulu. Sampel yang diperoleh dilanjutkan dengan proses pembuatan simplisia, dimulai dengan sortasi basah, pencucian, pengeringan, perajangan dan sortasi kering.



Gambar 1. Daun Gambir Liar

Dari 2 kg sampel segar daun gambir (*Uncaria Sp*) didapat simplisia kering sebanyak 800 g. Dari maserasi diperoleh hasil rendemen ekstrak kental etanol 12,33%. Ekstrak etanol sebanyak 10 gram difraksinasi. Dari fraksinasi diperoleh hasil rendemen fraksi *n*-heksan 2,41%, fraksi etil asetat 24,33%, fraksi butanol 71,64% dan fraksi sisa 10,24%

Setelah diperoleh ekstrak dan fraksi maka dilakukan skrining fitokimia dan diperoleh hasil pada Tabel 1.

Tabel 1. Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi

Metabolit sekunder	EE	FH	FEA	FB
Alkaloid	+	+	+	+
Fenolik	+	-	+	+
Flavonoid	+	-	+	+
Saponin	-	-	-	-
Steroid	+	+	+	-
Terpenoid	-	-	-	-

Keterangan :

- EE : Ekstrak etanol
FH : Fraksi *n*- heksan
FEA : Fraksi etil asetat
FB : Fraksi butanol

Ekstrak etanol dan fraksi dilakukan uji aktivitas sitotoksik dengan menggunakan Metoda *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Metode ini dipilih karena selain mudah dilakukan, membutuhkan biaya sedikit, tekniknya mudah dikuasai dan hasilnya dapat dipercaya (Meyer *et al*, 1982).

Berdasarkan hasil penelitian aktivitas sitotoksik ini, diperoleh hasil uji LC₅₀ ekstrak etanol dan masing-masing fraksi terhadap larva *Artemia salina* yang diolah dengan metoda analisis probit. Adapun hasil yang diperoleh sebagai berikut :

Tabel II. Nilai LC₅₀ Ekstrak dan Fraksi

Sampel	LC ₅₀ (µg/mL)
Ekstrak Etanol	67,60
Fraksi <i>n</i> -heksan	177,82
Fraksi Etil Asetat	26,30
Fraksi Butanol	54,95

Dapat disimpulkan dari data yang diperoleh bahwa pada uji sitotoksik daun gambir terhadap *Artemia salina* pada fraksi etil asetat dengan LC₅₀ 26,30 µg/mL

menunjukkan efek toksik yang paling tinggi dalam membunuh larva *Artemia salina*. Dimana pada fraksi etil asetat dengan 3 variasi konsentrasi yaitu 1, 10, 100 µg/mL dengan 3 kali pengulangan. Pada konsentrasi 1 µg/mL terjadi penurunan kemampuan toksik mulai dari pengulangan 1 hingga 3 dengan persentase total kematian udang 13,3% dengan probit 3,887. Konsentrasi kematian 50% diperoleh pada konsentrasi 10 dan 100 µg/mL pada ke 3 pengulangan dengan nilai probit 5,000 dan 5,253 (Tabel II).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka diperoleh kesimpulan bahwa nilai LC₅₀ tertinggi adalah fraksi etil asetat sebesar 26,30 µg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Gumbira, S. E., Syamsu, K., Mardiyati, E., Herryandie, A., Evalia, NA., Rahayu, DL., Puspitarini, R., Ahyatudin, A., Hadiwijoyo, A. 2009, *Agro Industri dan Bisnis Gambir Indonesia*. IPB Press, Bogor
- Harborne, J. B., 1987, *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*, Edisi II, terjemahan Kosasih Padmawinata, ITB, Bandung
- Laksmono, Syahrul Aimin, Galuh Widiyarti, M., Hanafi, Agus Haryono, 2011, Proses ekstraksi pada skala pilot dan telaah keekonomian pabrik ekstraksi katekin dari gambir, Disampaikan Pada *Lokakarya Pembangunan Ekonomi Pedesaan Melalui Pengembangan Komoditas Unggulan Daerah dan Alsintan*, Kemenko Bidang Perekonomian dan Pemda Sumbar, Padang, 14-15.
- Meyer, B. N., Feerigni, N, R., Putnam, J. E., Jacobson, L, B., Nicholas, D, E., dan McLaughlin, J, L., 1982, Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents, *Plant Medical*, **45**, 31-34.
- Nazir, M., 2000, *Gambir : Budidaya, Pengolahan dan Prospek Diversifikasinya*. Yayasan Hutanku, Padang