

ISOLASI, KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS PENCEGAHAN ANTIKALKULI LUTEOLIN 7-O-GLUKOSIDA DARI DAUN *Sonchus arvensis* L., PADA TIKUS DENGAN METODE MATRIKS-ASAM GLIKOLAT

Diah Dhianawaty^{*)}, Kosasih Padmawinata^{**)}, Iwang Soediro^{**)},
Andreas A., Soemardji^{**)}
Fakultas Kedokteran-Unpad^{*)}, Fakultas MIPA – ITB^{**)}

ABSTRAK

Banyak tumbuhan yang digunakan untuk mengobati penyakit batu kandung kemih dalam pengobatan tradisional Indonesia. Diantaranya: *Orthosiphon aristatus* (Bl.)Miq., *Sonchus arvensis* L., *Phyllanthus niruri* L., *Strobilanthus crispus* L. dan *Imperata cylindrica* L., *Sonchus arvensis* L. telah diteliti efek antikalkulinnya terhadap batu oksalat kandung kemih eksperimental pada tikus jantan. Kandungan kimia yang telah diketahui yaitu asam fenolat dan turunannya, flavonoid (antara lain luteolin 7-O-glukosida), terpena, kumarin, lipid dan minyak atsiri. Senyawa luteolin 7-O-glukosida telah diisolasi dari ekstrak etanol dan dikarakterisasi dengan spektrofotometri ultraviolet, inframerah, massa dan resonansi magnet inti. Uji aktivitas antikalkuli luteolin 7-O-glukosida dilakukan dengan metode matriks-asam glikolat. Bobot batu kandung kemih yang terjadi digunakan sebagai parameter untuk mengevaluasi aktivitas antibatu kandung kemih. Dari penelitian diperoleh, luteolin 7-O-glukosida aktif sebagai antikalkuli pada dosis 0,15 mg/kg bb tikus: pada upaya pencegahan berkhasiat 51,62% ($P \leq 0,05$) dan pada upaya pengobatan, terjadi penekanan 3,77% walaupun secara statistik tidak bermakna.

Kata kunci : Luteolin 7-O-glukosida, Antikalkuli, *Sonchus arvensis* L.

ISOLATION, CHARACTERIZATION, AND PREVENTIVE ANTICALCULI ACTIVITY TEST OF LUTEOLIN 7-O-GLUCOSIDE FROM *Sonchus arvensis* L. LEAVES WITH MATRIX-GLYCOLIC ACID METHOD ON RATS

ABSTRACT

Many plants are used for urolithiasis in Indonesian traditional medicine (e.i. *Orthosiphon aristatus* (Bl.) Miq., *Sonchus arvensis* L., *Phyllanthus niruri* L., *Strobilanthus crispus* L. and *Imperata cylindrica* L.). *Sonchus arvensis* L. leaves was tested for its anticalculi activity on experimentation oxalate urolithiasis. Their chemical constituents were known, i.e. phenolic acids and their derivatives, flavonoid (apigenin 7-O-glucoside), terpene, coumarin, lipid and volatile oil. Luteolin 7-O-glucoside compound was isolated from ethanol extract, and was

characterized by ultraviolet-, infrared spectrophotometry, mass-, and nuclear magnetic resonance spectrometry. Anticalculi activity test of luteolin 7-*O*-glucoside was done by matrix-glycolic acid bladder stone induction method on rat. The weight of the bladder stone was used as a parameter for evaluating anticalculi activity. Significant decrease in the weight of stone was observed after treatment with luteolin 7-*O*-glucoside 0.15 mg/kg body weight of rat: gave preventive activity 51.62% ($P \leq 0,05$), and curative activity 3.77%, although it is not significant.

Keywords : Luteolin 7-*O*-glucoside, Anticalculi, *Sonchus arvensis* L.

PENDAHULUAN

Pada masyarakat Indonesia terdapat kebiasaan mengobati penyakit dengan ramuan obat tradisional yang diwariskan secara turun temurun dari orang tuanya dan masyarakat lingkungannya. Batu ginjal dan batu kandung kemih merupakan salah satu penyakit yang pendekatan pengobatannya yang paling efektif adalah dengan cara pembedahan. Tetapi banyak juga yang memilih mengobati dengan ramuan tradisional yang berasal dari tumbuhan. Komposisi batu ginjal sebagian besar adalah kalsium oksalat. Jenis yang lainnya adalah kalsium mono hidrogen fosfat, asam urat dan magnesium amonium fosfat.

Telah dikenal luas beragam jenis tumbuhan obat yang berkhasiat meluruhkan batu ginjal dan batu kandung kemih, antara lain yaitu *Sonchus arvensis* L., dengan nama daerah tempuyung.

Kandungan komponen kimia *Sonchus arvensis* L. yang telah diketahui adalah (1) asam fenolat dan turunannya yaitu asam kafeat (Bramwell and Dakshini, 1971), asam kafeat dalam bentuk glikosida dan esternya, asam p-kumarat dalam bentuk glikosidanya, asam vanilat dalam bentuk glikosida dan esternya, asam p-hidroksi benzoat dalam bentuk glikosidanya (Paramita dkk., 1993) (2) flavonoid: luteolin dan glikosidanya luteolin-7-glukosida (Bramwell and Dakshini, 1971). Glikosida apigenin (7-glukuronida, 7-rutinosida), glikosida luteolin (7-glukosida, 7-glukuronida, 7-rutinosida dan 7-glukosil-glukuronida). Kemferol (Bramwell and Dakshini, 1971, Mansour *et al*, 1983); (3) terpena: α -amirin, β -amirin, lupeol, pseudo-taraksasterol dan taraksasterol (Hooper *et al*, 1982); (4) kumarin: sikoriin (Bramwell and Dakshini, 1971), eskuletin (Bramwell and Dakshini, 1971, Mansour *et al*, 1983), skopoletin (Bramwell and Dakshini, 1971, Mansour *et al*, 1983); (5) lipid: monoasil-galaktosilgliserol yaitu 1,2-dilinenil-3-*O*- β -D-galaktopiranosil-*sn*-gliserol, 1,2-dilinenil-3-*O*- α -D-galaktopiranosil-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -D-galaktopiranosil-*sn*-gliserol dan 1-linolenil-3-*O*- β -D-galaktopiranosil-*sn*-gliserol (Baruah *et al*, 1983); (6) Minyak atsiri (Palupi *et al*, 1993); (7) Inositol (Pramono dkk., 1993).

Efek farmakologi yang telah diteliti adalah dekok satu persen daunnya memperbesar kelarutan kalsium karbonat dan batu marmer secara *in vitro* dan

Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Pencegahan Antikalkuli Luteolin 7-O- Glukosida dari Daun *Sonchus arvensis* L., pada Tikus dengan Metode Matriks-Asam Glikolat (Diah Dhianawaty dkk.)

juga diujikan langsung kepada 18 kasus penderita batu ginjal/kandung kemih (Sardjito dkk., 1966), ekstrak air daunnya, secara *in vitro* dapat memperbesar kelarutan dan kecepatan pelarutan kalsium oksalat, mekanisme pelarutan kalsium oksalat dalam dapar ftalat dan ekstrak daun *Sonchus arvensis* L., mengikuti mekanisme hambatan permukaan (Sjuib dan Sumintapura, 1989). Glikosida dari apigenin dan luteolin yang didapat dari fraksi air daunnya dapat melarutkan batu ginjal berkalsium dengan cara merendamnya pada 37°C selama empat jam (Pramono dkk., 1993). Sediaan infus daun (0,50%) pada dosis 8 ml/kg bb memberikan efek diuretik 29,60% pada kelinci jantan (Paramita dkk., 1993). Menurut B. Wahjoedi infus daun *Sonchus arvensis* L., 10% dengan dosis 10 x dosis lazim orang yang diberikan per oral selama tujuh hari terus-menerus pada tikus putih galur LMR, hanya menunjukkan penghambatan pembetukan batu kandung kemih buatan yang terbentuk secara *in vivo*. Infus daun *Sonchus arvensis* L., 10% mempunyai harga LD₅₀ 23,82 (21,08 – 26,91) mg/10 g bb mencit, bahan diberikan secara intraperitoneal, sehingga digolongkan dalam bahan yang tidak beracun (Paramita dkk., 1993).

Manfaat tumbuhan sebagai obat berkaitan erat dengan kandungan kimianya, dan telah umum diketahui bahwa satu tumbuhan dapat mengandung beragam senyawa kimia, dan mungkin belum seluruh senyawa kimia tersebut diuji aktivitas farmakologinya. Karena itu untuk menunjang pemakaian dan mengetahui kebenaran manfaat tumbuhan sebagai obat, perlu dilakukan uji aktivitas senyawa kimia yang dikandungnya, baik dengan uji *in vitro* maupun *in vivo*. Dengan demikian pemakaian tumbuhan sebagai obat dapat dipertanggungjawabkan.

BAHAN DAN METODE

Bahan :

1. Hewan percobaan : 24 ekor tikus putih galur Wistar (170-200 g)
2. Simplisia daun *Sonchus arvensis* L., (tumbuhan liar dari Kecamatan Soreang, Kabupaten Bandung, diambil pada bulan Agustus 1997 dengan ukuran panjang daun 20 to 30 cm).
3. Asam glikolat p.a. (E.Merck), benang bedah sutera hitam (B. Braun), catgut (Ethicon), eter (E. Merck), etanol 95% dan aquades.

Metode :

Penelitian terdiri dari dua tahap:

Isolasi, ekstraksi dan karakterisasi (Agrawal, 1989) dan (Markham, 1982)

Serbuk daun *Sonchus arvensis* L. diekstraksi dengan etanol 95%, kemudian diekstraksi cair-cair dengan pelarut n-heksana, diklorometana dan etil asetat. Terhadap fraksi etil asetat dilakukan pemisahan dengan kromatografi cair vakum dan pemurnian dengan kromatografi kertas menggunakan kertas. Isolat

dikarakterisasi dengan spektrofotometri ultraviolet, inframerah, massa dan resonansi magnet inti.

Uji aktivitas antikalkuli

Uji aktivitas antikalkuli dibagi dalam dua upaya perlakuan : kelompok upaya perlakuan pencegahan dan kelompok upaya perlakuan pengobatan. Masing-masing upaya perlakuan terdiri dari dua kelompok yaitu kelompok kontrol (+) dan kelompok uji. Aktivitas antikalkuli dilakukan dengan metode induksi batu kandung kemih tikus melalui penanaman matriks benang bedah sutera hitam ke dalam kandung kemih tikus dan pemberian oral asam glikolat dengan dosis 500 mg/kg bb. Kemampuan pencegahan terhadap perkembangan batu kandung kemih dari bahan uji, dilakukan dengan pemberian sediaan uji sehari sesudah perlakuan induksi batu selama delapan hari. Kemampuan pengobatan dari bahan uji dilakukan dengan pemberian bahan uji pada hari kedelapan setelah induksi batu (batu telah terbentuk). Evaluasi kemampuan pencegahan dan pengobatan dilakukan dengan membandingkan bobot batu kandung kemih kelompok uji dengan kelompok kontrol (+) (Soemardji dan Dhianawaty, 1999).

Data-data hasil pengamatan dievaluasi dengan uji Student t, untuk menentukan kemaknaan aktivitas bahan uji sebagai antikalkuli.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari pemisahan dengan kromatografi cair vakum diperoleh subfraksi etil asetat, yang dimurnikan lagi dengan kromatografi kertas menggunakan fase diam kertas Whatman no.1 dan pengembang asam asetat 2% dan 35%. Sebagai penampak bercak digunakan sinar ultraviolet pada panjang gelombang 366 nm dan pereaksi aluminium klorida lima persen dalam metanol. Diperoleh tiga bercak. Dua bercak yang memberikan warna violet tua dengan sinar ultraviolet dan memberikan fluoresensi kuning setelah disemprot dengan aluminium klorida. Kedua bercak selanjutnya disebut FEC-7A₁ mempunyai harga Rf = 0,44 dan FEC-7A₂ mempunyai harga Rf = 0,56.

Penelitian dilanjutkan terhadap bercak FEC-7A₁. Titik lebur FEC-7A₁ 250-253°C. Hasil karakterisasi FEC-7A₁ dengan metode spektrofotometri ultraviolet dalam pelarut metanol dan dengan pereaksi geser flavonoid menunjukkan puncak-puncak serapan pada panjang gelombang: UV (MeOH) [$\log \epsilon$ (1%, 1 cm) : 4,6, 4,5, 4,5] λ_{\max} (A) 255 nm (0,90); 265 (0,89); 348 (0,82). UV (AlCl₃) λ_{\max} (A) 273 nm (0,91); 297 (bh); 413 (0,81). UV (AlCl₃/HCl) λ_{\max} (A) 266 nm (0,84); 273 (0,85); 296 (bh); 354 (0,60); 384 (0,58). UV (NaOAc) λ_{\max} (A) 257 nm (0,90); 265 (0,91); 376 (0,68). UV (NaOAc- 5') λ_{\max} (A) 257 nm (0,90); 265 (0,91); 374 (0,69). UV (NaOAc/H₃BO₃) λ_{\max} (A) 259 nm (1,10); 263 (1,10); 373 (0,88).

Dengan metode spektrometri inframerah dalam pelet KBr, menunjukkan puncak-puncak serapan pada bilangan gelombang ν_{\max} 3480; 2920,0; 2852,2;

Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Pencegahan Antikalkuli Luteolin 7-O- Glukosida dari Daun *Sonchus arvensis* L., pada Tikus dengan Metode Matriks-Asam Glikolat (Diah Dhianawaty dkk.)

1741,6; 1664,5; 1502,4; 1454,2; 1400,2; 1350,1; 1305,7; 1261,4; 1215,1; 1180,4; 1099,3; 1045,3; 916,1; 717,5 cm^{-1} .

Dengan metode spektrometri massa dilakukan dengan metode ionisasi tumbukan elektron, menunjukkan puncak pada m/z 448, 412, 383, 355, 299, 286 (100%), 268 (2,5%), 258 (23,4%), 229 (6,7%), 184 (1%), 153 (6,7%).

Dengan metode spektrometri resonansi magnet inti proton, karbon-13 dan APT, dalam pelarut piridin- d_5 : spektrum resonansi magnet inti proton menunjukkan geser kimia (δ) pada 7,024; 6,991; 6,953; 6,787; 6,766; 6,616; 6,595; 6,537; 6,176; 6,034, 5,995; 4,847; 4,829; 3,745; 3,727; 3,710; 3,692; 3,618; 3,588; 3,561, 3,549; 3,525; 3,432; 3,411; 3,390; 3,332; 3,313 bpj.

Spektrum resonansi magnet inti karbon-13 menunjukkan geser kimia (δ) pada 184,057; 166,937; 164,736; 158,764; 152,154; 140,300; 127,771; 121,617; 118,270; 115,273; 107,373; 104,618; 102,006; 97,030 78,119; 75,151; 73,945; 71,941; 71,736; 62,805 bpj.

Spektrum resonansi magnet inti APT menunjukkan geser kimia (δ): Atas: 182,650; 165,145; 163,757; 162,322; 157,648; 151,738; 147,595; 122,411; 106,356; 62,135. Bawah: 119,513; 116,713; 114,566; 114,399; 103,935; 103,753; 101,575; 100,513; 100,293; 95,247; 95,086; 78,228; 74,594; 73,858 bpj.

Dari spektrum ultraviolet diperoleh data yang menyatakan kedudukan 7-OH tersulih. Spektrum inframerah menunjukkan regang O-H, karbonil C=O, C=C dan C-H aromatic. Spektrum massa menunjukkan bobot molekul dan pola pecah gugus fungsional aglikon dan glikosida sama dengan luteolin. Spektrum resonansi magnet inti proton menyatakan adanya gugus glukosa, dan spektrum APT dan spektrum resonansi magnet inti karbon menyatakan geser kimia yang sesuai dengan luteolin 7-O-glukosida. Berdasarkan data-data tersebut di atas maka disimpulkan isolat FEC-7A₁ adalah luteolin 7-O-glukosida.

Analisis batu kandung kemih hasil induksi dikerjakan di Laboratorium Klinik BioTes, ternyata mengandung senyawa kalsium hidrogen fosfat, magnesium amonium fosfat, kalsium oksalat dan trikalsium oksalat. Keempat senyawa tersebut merupakan komponen pembentuk batu kandung kemih yang umum terjadi secara klinis pada manusia.

Hasil uji aktivitas antikalkuli luteolin 7-O glukosida

Tabel 1 Hasil uji aktivitas antibatu kandung kemih luteolin 7-O glukosida dengan dosis 0,15 mg /kg bb pada tikus putih jantan

Upaya perlakuan	Awal perlakuan Kelompok awal (X ₀)	Bobot batu (mg/100 g bb), rata-rata (n=6)	
		Kelompok kontrol (+) (X _a)	Akhir perlakuan Kelompok uji
I. Pencegahan	0,0000	0,9625 ± 0,3329	0,4656 ± 0,1996 (-51,62% dari X _a , P≤0,05)
II. Pengobatan	0,9625 ± 0,3329	1,6484 ± 0,3605 (+71,27% dari X ₀ , P≤0,05)	1,5862 ± 0,3764 (-3,77% dari X _a)

Keterangan :

- a. X₀: Bobot batu kandung kemih rata-rata yang terbentuk pada awal upaya pencegahan batu belum terbentuk (X₀ = 0) dan upaya pengobatan batu sudah terbentuk
- X_a: Bobot batu kandung kemih rata-rata yang terbentuk pada kelompok kontrol (+) tanpa pengobatan setelah 7 hari induksi batu pada upaya pencegahan, sama dengan X₀ bagi upaya pengobatan
- b. Pada upaya pengobatan X_a adalah bobot rata-rata batu setelah 15 hari tanpa pengobatan
- c. Angka dalam kurung menyatakan % perubahan bobot batu kandung kemih terhadap kelompok kontrol (+) (X_a), atau terhadap bobot batu yang sudah terbentuk (X₀)

Hasil uji antibatu luteolin 7-O glukosida dengan dosis 0,15 mg /kg bb tikus, menunjukkan pada upaya pencegahan, tampak mencegah perkembangan bobot batu sebesar 51,62%. (P ≤ 0,05), dan pada upaya pengobatan, tampak terjadi penekanan perkembangan bobot batu yang telah ada sebesar 3,77% walaupun tidak bermakna. Sedangkan pada keadaan tanpa upaya pengobatan keadaan makin parah (P ≤ 0,05).

KESIMPULAN

Senyawa luteolin 7-O-glukosida dalam daun *Sonchus arvensis* L. dapat diisolasi dan dimurnikan menggunakan fase diam kertas Whatman no.1 dengan pengembang asam asetat 2% dan 35%. Karakterisasi dapat dilakukan dengan menguklur spectrum ultraviolet, inframerah, massa, dan resonansi magnet inti. Hasil penelitian ini mendukung penggunaan luteolin 7-O-glukosida, sebagai antikalkuli dalam rangka terapi pencegahan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, P.K. (1989), *Carbon-13 NMR of Flavonoids*, Elsevier Science Publ.Co. Inc. New York, 320 – 321.
- Baruah, P., N.C. Baruah, R.P. Sharma, J.N. Baruah, P. Kulanthaivel, W. Herz (1983), A Monoacyl Galactosylglycerol from of *Sonchus arvensis*, *Phytochemistry*, **22**, 1741 – 1744.
- Bramwell, D., and K.M.M. Dakshini (1971), Luteolin 7-glucoside and Hydroxy coumarins in Canary Islands *Sonchus* Species, *Phytochemistry*, **10**, 2245 – 2246.
- Hooper, S.N., R.F. Chandler, E. Lewis, W.D. Jamieson (1982), Simultaneous determination of *Sonchus arvensis* L., Triterpenes by Gas Chromatography-Mass Spectrometry, *Lipids*, **17**, 60 – 63.
- Mansour, R.M.A.,N.A.M.Saleh, L. Boulos (1983), A Chemosystematic Study of The Phenolics of *Sonchus*, *Phytochemistry*, **22**, 484 – 492.
- Markham, K.R. (1982), *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, terjemahan Kosasih P., Penerbit ITB, Bandung, 1 – 98.
- Palupi, S., S. Soejani, Soedjito (1993), Skrining Kualitas Kandungan Kimia Anorganik dan Organik dalam Tempuyung, *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, **2**, 18.
- Paramita, D.I., L. Widowati, B. Nuratmi (1993), Informasi Khasiat Keamanan dan Fitokimia Tanaman Tempuyung (*Sonchus arvensis* Linn.), *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, **2**, 21 – 22.
- Pramono, S., Sumarno, S. Wahyono (1993), Flavonoid Daun *Sonchus arvensis* L., Senyawa Aktif Pembentuk Kompleks dengan Batu Ginjal Berkalsium, *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, **2**, 5.
- Sardjito, H.M. Ismadi, Sudibjo, M.Baried Ishom, D. Ma'rivin Husin (1966), Seminar Nasional Penggalan Sumber Alam Indonesia Untuk Farmasi, *Bulletin Obat-obat Asli Indonesia*, No.1, 37 – 80.
- Sjuib, F., Y.C., dan Sumintapura (1989), Pengaruh pH dan Ekstrak Daun *Sonchus arvensis* terhadap Kelarutan dan Kecepatan Melarut Kalsium Oksalat, *Kongres Ilmiah VII, ISFI*, Surabaya, 5 – 7.
- Soemardji, A.A., dan D. Dhianawaty D. (1999), Studi antikalkuli Buah *Annona muricata* L., pada Tikus, *Jurnal Sains Dan Teknologi Indonesia*, **1**, 77-80.

Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Pencegahan Antikalkuli Luteolin 7-O- Glukosida dari Daun *Sonchus arvensis* L., pada Tikus dengan Metode Matriks-Asam Glikolat (Diah Dhianawaty dkk.)

Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Pencegahan Antikalkuli Luteolin 7-O- Glukosida dari Daun *Sonchus arvensis* L., pada Tikus dengan Metode Matriks-Asam Glikolat (Diah Dhianawaty dkk.)

Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Pencegahan Antikalkuli Luteolin 7-O- Glukosida dari Daun *Sonchus arvensis* L., pada Tikus dengan Metode Matriks-Asam Glikolat (Diah Dhianawaty dkk.)
