

SKRINING KOMPONEN KIMIA DAN UJI AKTIVITAS MUKOLITIK EKSTRAK RIMPANG BANGLE (*Zingiber purpureum* Roxb.) TERHADAP MUKOSA USUS SAPI SECARA *IN VITRO*

Gemini Alam¹, Mufidah¹, Nasrum Massi², Felix Kurnia RT¹, Abd. Rahim¹ dan Usmar¹

¹ Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Makassar

² Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar
Jl, Perintis Kemerdekaan, KM 10 Kampus Unhas Tamalanrea, Makassar
Email : daengta007@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian tentang skrining komponen kimia dan uji aktivitas mukolitik dari ekstrak rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.) telah dilakukan. Uji aktivitas mukolitik dilakukan berdasarkan atas penurunan nilai viskositas mukus yang diukur dengan viskometer Brookfield spindle nomor 3 menggunakan mukus usus sapi. Ekstraksi rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan dua pelarut yaitu hexan dan etanol 70 %. Kedua ekstrak diuji efek mukolitiknya dan didapatkan bahwa ekstrak yang paling aktif adalah ekstrak n-heksan. Selanjutnya ekstrak n-heksan difraksinasi dengan metode Kromatografi cair vakum (KCV) menghasilkan 3 fraksi gabungan dan diuji aktivitas mukolitiknya hingga diperoleh fraksi yang mengandung komponen aktif mukolitik. Fraksi I merupakan fraksi yang memiliki aktivitas mukolitik yang paling baik dengan efek mukolitik sebesar 88,56 % untuk konsentrasi 0,5 % b/v dan 93,46 % untuk konsentrasi 1 % b/v dibanding dengan kontrol positif asetilsistein dengan 50 mg/mL. fraksi I mengandung golongan senyawa terpenoid berdasarkan deteksi bercak menggunakan berbagai reagen semprot.

Kata kunci : skrining, mukolitik, rimpang bangle, usus sapi

PENDAHULUAN

Batuk merupakan refleksi fisiologis baik waktu sehat maupun sakit yang bermanfaat untuk mengeluarkan dan membersihkan saluran pernapasan dari dahak, zat-zat asing, dan unsur infeksi (1). Batuk disebabkan oleh iritasi mekanik dari respon sensorik di laring, di dinding posterior trachea dan di cabang atas bronkus. Batuk juga terjadi bila ada iritasi kimia pada reseptor sensorik di saluran terhalus pada saluran udara (2).

Batuk dapat diatasi dengan berbagai cara, antara lain dengan tanpa pemberian obat bagi penderita-penderita dengan batuk tanpa gangguan yang disebabkan oleh penyakit akut, batuk yang dialami akan sembuh sendiri, dan biasanya tidak perlu pengobatan. Yang kedua adalah dengan pengobatan yang secara spesifik ditujukan terhadap penyebab timbulnya batuk, dan yang ketiga adalah dengan pengobatan simptomatik, yang diberikan kepada penderita yang tidak ditentukan penyebab batuknya atau kepada penderita yang batuknya dapat menimbulkan komplikasi. Obat yang biasa digunakan untuk pengobatan simptomatik biasanya adalah jenis obat yang menurut kategori farmakologiknya seperti antitusif, ekspektoran, dan mukolitik.

Sedangkan antiasma selain menghambat spasme pada saluran nafas, antiinflamasi juga diperlukan pengencer dahak (mukolitik) sehingga saluran napas terbuka (3).

Mukolitik ialah obat yang dapat mengencerkan sekret saluran napas dengan jalan mencegah benang-benang mukoprotein dan mukopolisakarida dari sputum (3). Semua obat ini mengurangi kekentalan dahak, bekerja dengan merombak mukoproteinnya dengan ekspektoransi dengan mengencerkan dahak, sehingga pengeluarannya dipermudah serta meringankan sesak napas dan terutama berguna pada serangan asma hebat yang dapat mematikan bila sumbatan lendir sedemikian kental tidak dapat dikeluarkan. Asma juga merupakan penyakit yang membutuhkan bahan berefek mukolitik karena asma merupakan suatu penyakit peradangan-peradangan steril dan alergi kronis yang bercirikan serangan sesak napas akut secara berkala, mudah tersengal-sengal, disertai batuk dan hipersekresi dahak (1). Penyebab yang umum ialah hipersensivitas bronkiolus terhadap benda-benda asing di udara (4).

Salah satu jenis tanaman yang saat ini dikenal secara luas adalah rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.) yang berkhasiat menurunkan panas (antipiretik), meluruhkan kentut (karminatif), meluruhkan dahak (ekspektoran),

membersihkan darah, pencahar (laksatif), dan meluruhkan cacing dan usus (vermifuge) (5,6).

Selain itu terdapat pula kandungan kimia yang spesifik berkhasiat antiinflamasi dan anti-edema seperti (E)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)-butena dan (E)-1-(3,4-dimethoxyphenyl)-butadiena (DMPBD) yang dapat menghambat mediator nyeri, misalnya histamin ataupun bradikinin yang dapat menyebabkan edema lokal pada dinding bronkiolus kecil maupun sekresi mukus yang kental ke dalam lumen bronkiolus dan spasme otot polos bronkiolus yang dapat mengakibatkan tahanan saluran napas menjadi sangat meningkat (4,7).

Namun, selama ini belum pernah dilaporkan senyawa aktif dari *Z. purpureum* yang memiliki efek mukolitik, sehingga dengan demikian perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk menguji aktivitas mukolitik dari fraksi aktif *Z. purpureum* secara *in vitro* dengan metode penurunan viskositas mukus usus sapi (2).

METODE PENELITIAN

Penyiapan Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah bejana maserasi, kromatografi kolom vakum, lampu UV, magnetik stirer (*Nuova-II*), timbangan analitik (*Sartorius*), timbangan kilogram (*T.Nonaka*), termometer, viscometer (*Brookfield*), sentrifuse, dan penangas air (*Maspion S-301*).

Bahan-bahan yang digunakan adalah air suling, asam sulfat 10%, etanol 70%, etil asetat, n-heksan, kloroform, larutan dapar fosfat pH 7, lempeng KLT G-60 PF₂₅₄ (*E.Merck*), mukus usus sapi, rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.), silika gel 60 PF₂₅₄ (*E.Merck*), dan tween 80.

Pengelolaan Sampel

Sampel rimpang bangle diperoleh dari Desa Baras, Kecamatan Pasangkayu, Kabupaten Mamuju Utara. Sampel dibersihkan, lalu dirajang, kemudian dikeringkan dengan diangin-anginkan dan dibuat serbuk dengan derajat halus 10/18.

Determinasi Tanaman

Tanaman bangle dideterminasi di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Pembuatan dan Penyiapan Ekstrak

Bahan berupa serbuk sebanyak 500 g diekstraksi dengan pelarut n-heksan sebanyak 1500 ml selama 1 x 24 jam sebanyak 3 kali. Hasil maserasi diuapkan pelarutnya pada rotavapor hingga diperoleh ekstrak kental. Ampas hasil

ekstraksi n-heksan dikeringkan lagi dengan cara diangin-anginkan untuk kemudian dimaserasi kembali dengan etanol 70% sebanyak 1500 ml dan hasil maserasi kemudian diuapkan pelarutnya hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak hasil maserasi n-heksan dan etanol 70 % kemudian di KLT menggunakan n-heksan : Etil asetat (5 : 1) untuk melihat hasil pemisahan yang baik dan divisualisasi menggunakan H₂SO₄ 10 %. Hasil uji mukolitik yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol 70 %.

Skrining dan Fraksinasi

Ekstrak aktif n-heksan yang diperoleh lalu difraksinasi dengan kromatografi kolom cair vakum dengan fase diam silika gel dan fase gerak n-heksan : etilasetat dengan perbandingan (30:1), (25:1), (20:1), (15:1), (10:1), (10:1), (5:1), (5:1), (1:1), (1:5), etilasetat, etilasetat : Metanol (1:1) dan metanol. Empat belas fraksi yang diperoleh diuapkan lalu dianalisis KLT. Fraksi yang memiliki kesamaan profil KLT digabung dan diperoleh 3 fraksi yang selanjutnya diuji aktivitas mukoliktinya, kemudian dilanjutkan dengan KLT berbagai reagen semprot untuk mengetahui golongan senyawa yang merupakan senyawa aktif mukolitik.

Uji Mukolitik

Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Uji

Larutan stok ekstrak uji dibuat dari ekstrak uji yang ditimbang sesuai kadar yang diinginkan (1 % b/v dan 0,5 % b/v) dan dibasahi dengan tween 80 hingga konsentrasi tween 80 dalam larutan mencapai 1% dengan cara melarutkan tween sebanyak 1 g dengan 100 ml akua-dest, lalu diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam ekstrak uji dan dihomogenkan hingga terbentuk dispersi ekstrak.

Larutan Stok Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Larutan stok kontrol positif yang digunakan asetilsistein 50 mg/ml dengan tween 80 hingga konsentrasi tween 80 dalam larutan mencapai 1 %, sedangkan kontrol negatif adalah mukus sapi dalam larutan dapar fosfat pH 7.

Pembuatan Dapar Fosfat pH 7

Larutan dapar pH 7 dibuat dengan mencampurkan 125 ml kalium dihidrogen fosfat 0,2 M dengan 72,75 ml natrium hidroksida 0,2 N dan diencerkan dengan air bebas CO₂ hingga 500 ml.

Penyiapan Mukus

Mukus didapatkan dari mukosa usus sapi yang dicuci dengan air mengalir sampai bersih,

kemudian dibelah dan dikerok. Mukus ditampung pada gelas kimia. Mukus yang didapatkan berwarna putih kecoklatan sampai putih kekuningan.

Pengujian Aktivitas Mukolitik

Efek mukolitik diuji secara *in vitro* dengan mengukur perubahan viskositas mukus usus sapi. Hasil pengukuran dibandingkan dengan hasil pada kontrol positif dan kontrol negatif. Campuran mukus dibuat dalam larutan dapar fosfat pH 7 dengan perbandingan 70 : 30.

Pengukuran dilakukan dengan menghitung efek mukolitik menggunakan alat viscometer *Brookfield* spindle no. 3 dengan kecepatan 50 rpm. Sebelumnya, sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Pada saat pengukuran, sampel uji ditempatkan pada plat panas (*hot plate*) dan dijaga suhunya pada 37±0,5°C). Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali untuk masing-masing sampel uji.

Analisis Hasil

Hasil pengukuran viskositas sampel uji dengan faktor koreksi 20 dibandingkan dengan kontrol positif. Identifikasi senyawa utama dilakukan dengan melihat kromatogram di bawah sinar UV-254, UV-366, dan sinar tampak dengan visualisasi menggunakan pereaksi semprot, kemudian dibandingkan dengan pustaka. Rumus perhitungan efek viskositas sampel pada mukus adalah sebagai berikut :

$$\% \text{ efek mukolitik} = 100 - \frac{\text{viskositas sampel}}{\text{viskositas kontrol negatif}} \times 100\%$$

Identifikasi Komponen Kimia

Fraksi I yang paling aktif sebagai mukolitik diidentifikasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dengan fase gerak heksan : etilasetat (5:1), (10:1), dan (15:1) kemudian divisualisasi dengan pereaksi Libermann, AlCl_3 , Sitroborat, dan Dragendroff. Dilakukan pula pengamatan di bawah lampu UV 254 dan 366 nm. Hasil KLT diamati dengan ketentuan berikut :

1. Pereaksi AlCl_3 , positif flavonoid jika terjadi perubahan warna fluoresensi kuning pada lempeng KLT yang divisualisasi pada lampu UV 366 nm.
2. Pereaksi Sitroborat, positif flavonoid jika terjadi perubahan warna fluoresensi hijau kuning pada lempeng KLT yang divisualisasi pada lampu UV 366 nm.
3. Pereaksi Dragendroff, positif alkaloid jika terjadi perubahan warna menjadi jingga pada lempeng KLT.
4. Pereaksi Libermann, positif terpenoid jika terjadi perubahan warna menjadi ungu kecoklatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah melakukan penelitian skrining komponen kimia senyawa dan uji aktivitas mukolitik ekstrak rimpang bangle (*Z. purpureum*) terhadap usus sapi secara *in vitro* maka data yang diperoleh disajikan sebagaimana pada tabel 1.

Tabel 1. Data hasil pengujian efek mukolitik ekstrak n-heksan *Z. purpureum* Roxb. pada fraksi I, II, dan III dengan kadar masing-masing 1 % b/v dan 0,5 % b/v serta asetilsistein 50 mg/mL dengan 3 kali pengukuran.

No.	Sampel uji	Kadar	Viskositas (cps) ± SD	Efek mukolitik (%)
1.	K (+) asetilsistein	50 mg/mL	70 ± 10,00	93,13
2.	K (-) mukus dalam dapar	-	1020 ± 20,00	00,00
3.	Fraksi I	1 %	66,66 ± 5,77	93,46
		0,5 %	116,66 ± 15,27	88,56
4.	Fraksi II	1 %	143,33 ± 5,77	85,94
		0,5 %	173,33 ± 11,54	83,00
5.	Fraksi III	1 %	253,33 ± 75,71	75,16
		0,5 %	286,66 ± 11,54	71,89

Pengobatan dengan menggunakan bahan alam telah banyak dikenal dan dimanfaatkan oleh masyarakat. Sehubungan dengan itu telah banyak penelitian-penelitian yang dilakukan untuk mengetahui khasiat farmakologi suatu bahan alam terutama tumbuhan untuk dimanfaatkan sebagai sumber bahan obat.

Telah dilakukan fraksinasi komponen aktif mukolitik dari ekstrak n-heksan *Z. purpureum* Roxb. untuk mengetahui komponen aktif mukolitik berdasarkan penurunan viskositas mukus usus sapi yang diukur dengan menggunakan viskometer *Brookfield*.

Tahap pertama dilakukan dengan proses ekstraksi metode dingin yaitu maserasi. Hasil maserasi kemudian diuapkan sehingga diperoleh ekstrak n-heksan. Selanjutnya kedua ekstrak tersebut dilihat profil KLT-nya dengan menggunakan eluen heksan : etilasetat = 5 : 1. Untuk mengetahui efek mukolitik dari ekstrak maka dilakukan pengujian aktivitas mukolitik terhadap penurunan viskositas mukus usus sapi dengan konsentrasi yang digunakan yaitu 1 % b/v, 3 % b/v, dan 5 % b/v untuk ekstrak n-heksan dengan 3 kali pengukuran.

Untuk memperoleh fraksi aktif mukolitik maka dilakukan pemisahan dengan metode kromatografi kolom cair vakum. Fraksinasi ini menggunakan silika gel halus sebagai fase diam dan beberapa perbandingan eluen n-heksan : etilasetat, yaitu (30:1), (25:1), (20:1), (15:1), (10:1), (10:1), (5:1), (5:1), (1:1), (1:5), etilasetat, etilasetat : metanol (1:1) dan metanol sebagai fase

gerakannya. Fraksinasi menghasilkan 14 fraksi yang akan dilihat profil KLT-nya dan diidentifikasi dengan eluen heksan : etilasetat (5:1) dan disemprot H₂SO₄ 10%. Hal ini bertujuan untuk melihat profil KLT noda yang mirip/sama kemudian digabung sehingga diperoleh tiga fraksi gabungan.

Tahap selanjutnya, ketiga fraksi gabungan yang diperoleh diuji aktivitas mukolitiknya pada konsentrasi yang diturunkan 1 % dan 0,5 % b/v. Hasil pengujian aktivitas mukolitik tersebut menunjukkan bahwa fraksi I memiliki aktivitas mukolitik yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi II dan III. Fraksi I pada konsentrasi 1 % b/v efek mukolitik sebesar 93,46% dan konsentrasi 0,5 % efek mukolitik sebesar 88,54 % sedangkan kontrol positif asetilsistein 50 mg/mL memiliki efek mukolitik 93,13 % sehingga diduga komponen aktif mukolitik berada pada fraksi I yang ditunjukkan dengan efek mukolitik dari fraksi I mendekati efek mukolitik dari kontrol positif.

Kontrol positif yang digunakan adalah asetilsistein, yang mekanisme kerjanya sebagai mukolitik memecah struktur mukoprotein yang terikat satu sama lain oleh rantai disulfida, ikatannya berupa ikatan kovalen –S–S–. Apabila ikatan ini diputuskan oleh aktivitas gugus sulfhidril bebas maka mukoprotein akan terurai, mukus akan lisis sehingga menurunkan viskositasnya.

Demikian pula dengan ekstrak n-heksan *Z. purpureum* Roxb. Berdasarkan pengujian aktivitas mukolitik ekstrak n-heksan *Z. purpureum* Roxb. juga memiliki potensi untuk menurunkan viskositas mukus karena mengandung komponen aktif yang diduga berefek mukolitik yang merupakan senyawa golongan terpenoid pada profil KLT dengan menggunakan pereaksi semprot Libermann.

KESIMPULAN

1. Ekstrak n-heksan *Zingiber purpureum* Roxb. memiliki efek mukolitik yang ditunjukkan dengan adanya penurunan viskositas campuran mukus dalam dapar pH 7.
2. Fraksi I ekstrak n-heksan *Z. purpureum* Roxb. menunjukkan efek mukolitik yang paling baik dengan efek mukolitik sebesar 93,46 % yang dibandingkan dengan efek mukolitik kontrol positif sebesar 93,13 %.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tan HT & Kirana R. 2002. *Obat-Obat Penting*, ed.5. Gramedia. Jakarta. Hal 600, 608, 619.
2. Kelompok Kerja Ilmiah Medica. 1993. *Penapisan Farmakologi Pengujian Fitokimia Pengujian Klinik*. Jakarta, 61.
3. Ganiswama, S.G.1995.*Farmakologi dan Terapi*, ed.4. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 517.

4. Guyton, A.C. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, ed.9. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 675.
5. Mursito,B.2007. *Ramuan Tradisional Untuk Pelembutan Tubuh*. Penebar Swadaya. Jakarta. 54
6. Dalimartha, S.2009.*Atlas Tumbuhan Indonesia*, jil. 6. Pustaka Bunda. Jakarta. 2.
7. Siriwan-ong-chay, Chotjumlong P, Kongtawerlet P, & Krisanaprakornit S. 2008. *Zingiber cassumunar* Roxb. Inhibits Hyaluronan Production In Human Oral Fibroblast. *Chiang Mai Med*. 28 Agustus 2008; 47(21). 185.
8. Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jil.1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Jakarta. 568
9. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 1, 10.
10. Sudjadi. 1990. *Metode Pemisahan*. ed.1. Kanisus. Yogyakarta. 60.
11. Mulja, M dan Suharman. 1995. *Analisis Instrumental*. Airlangga University Press. Surabaya.
12. Adnan, M. 1997. *Teknik Kromatografi untuk Analisis Bahan Makanan*. ed. 1. Penerbit ANDI. Yogyakarta. 9.
13. Stahl, E. 1990. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Terjemahan oleh Kosasih. Penerbit ITB. Bandung. 73.
14. Gritter, J.R. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Penerbit ITB. Bandung. 6.
15. Hostettmann, K., Hostettmann, M., dan Marston, A. *Cara Kromatografi Preparatif, Penggunaan Pada Isolasi Senyawa Alam*. Terjemahan oleh Suhardjono. Penerbit ITB. Bandung. 33-34
16. Yunus, F. 1993. Penatalaksanaan Batuk dalam Praktek Sehari-hari, *Cermin Dunia Kedokteran*. No. 84.
17. Radde, I.C. dan Stuart, M. 1994. *Farmakologi dan Terapi Pediatri*. ed. 2. Hipokrates. Jakarta. 337.
18. Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat, Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi*. Terjemahan oleh Mathilda B. Widiyanto, Anna S.R. Penerbit ITB. Bandung. 519, 520.
19. Fawcett, D.W. 1987. *Buku Ajar Histologi*. ed. 12. Terjemahan oleh Jan Tambayong. Penerbit EGC, Jakarta. 633 – 635.
20. Yatim, W. 1990. *Biologi Moderen, Histologi*. ed. 1. Penerbit Tarsito. Bandung.
21. Bagian Ilmu Faal. 1995. *Fisiologi Gastro Intestinal*, ed.1. Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Ujung Pandang. 2, 25, 27–28, 39.
22. Lachman, L., Lieberman., dan Kanig, J.L. 1994. *Teori dan Praktek Farmasi Industri*. ed.3. Terjemahan oleh Siti Suyatmi. Penerbit UI Press. 1013.
23. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 1995. *Farmakope Indonesia*. ed.3, Departemen Kesehatan, Republik Indonesia, 746.

24. Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, ed.2. Institut Teknologi Bandung, 8.