

Isolasi fraksi aktif afrodisiaka dari kayu sanrego (*Lunasia amara Blanco*)

Isolation of aphrodisiac active fraction from sanrego bark (*Lunasia amara Blanco*)

Arnida¹⁾, Imono A. Donatus²⁾, Subagus Wahyuono²⁾

¹⁾ Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Pancasakti, Makassar

²⁾ Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Abstrak

Kayu sanrego (*Lunasia amara Blanco*) secara tradisional digunakan untuk aprodisiaka walaupun secara ilmiah belum dibuktikan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk membuktikan aktivitasnya dengan hewan percobaan, menentukan jenis senyawa dan dosis aktivitas dari fraksi aktifnya.

Penelitian dimulai dengan ekstraksi kayu sanrego (600 g) dalam Soxhlet dengan metanol (MeOH), diperoleh ekstrak MeOH (**A**, 80 g). Kemudian ekstrak MeOH difraksinasi dengan *Etilasetat* (EtOAc) sehingga diperoleh fraksi EtOAc larut (**B**, relatif non-polar, 15,23 g) dan EtOAc tidak larut (**C**, relatif polar, 5,20 g).

Uji aprodisiaka menggunakan tikus (Wistar) yang dibagi menjadi 6 kelompok (a' 5 ekor) [**I**. Diberi Na-CMC 0,5%, 50 mg/kg BB; **II**, yohombina, 5 mg/kg BB; **III**, air suling , 2ml/200 g BB; **IV**, ekstrak **A**; **V** fraksi **B**; **VI** fraksi **C**], dan dosis uji yang diberikan pada kelompok **IV-V** sama (10,50,100 dan 200 mg/kg BB). Tingkah laku tikus jantan kepada tikus betina (*introduction, climbing and coitus*) diamati, dicatat dan dianalisa dengan taraf kepercayaan 95%, dan jenis senyawa yang ada dianalisis secara kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan berbagai penampak bercak.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa efek afrodisiaka terbesar terdapat pada fraksi **B**, diikuti dengan ekstrak **A** dan fraksi **C**. Fraksi **B** menunjukkan efek *Introduction* (84,2%), *climbing* (84,9%) dan *coitus* (85,2%); dan berdasarkan atas gambaran KLT fraksi **B** mengandung senyawa golongan alkaloida terpenoida sebagai komponen utamanya.

Kata kunci : sanrego, *Lunasia amara*, afrodisiaka, fraksi aktif.

Abstract

Sanrego (*Lunasia amara Blanco*) bark is traditionally utilized as an aphrodisiac although scientifically has yet been proven. Therefore, this study is aimed to prove aphrodisiac activity, determine the compounds and the dose of the active fraction.

Initially sanrego bark (600 g) was extracted in a Soxhlet apparatus with methanol (MeOH) to give MeOH extract (**A**, 80 g). The MeOH extract was fractionated by Ethylacetate (EtOAc) to give EtOAc soluble (**B**, relatively non-polar, 15.23 g) and EtOAc insoluble (**C**, relatively polar, 50.20 g). The aphrodisiac test was performed in male Wistar rats that were divided into 6 groups (5 rats each) [**I**, treated with Na-CMC 0.5%, 50 mg/kg BW; **II**, yohimbine, 5 mg/kg BW; **III**, distilled water , 2 ml/200 g BW; **IV**, extract **A**; **V**, fraction **B**; **VI**, fraction **C**], and the doses given to groups **IV-VI** were similar (10, 50, 100, and 200 mg/kg BW). The male's behaviors to female rats (*introduction, climbing and coitus*) were recorded and analysed at

$p = 0.5$. Determination of the active compounds were performed by thin layer chromatography (TLC) using various detection reagents.

The result indicated that the highest aphrodisiac effect was demonstrated by fraction **B**, followed by extract **A** and fraction **C**. Fraction **B** demonstrated introduction (84.2%), climbing (84.9%) and coitus (85.2%). TLC profile suggested that fraction **B** contain alkaloids and terpenoids as the main components.

Keywords: Sanrego bark, *Lunasia amara*, Aphrodisiac, Active fraction .

Pendahuluan

Kayu sanrego (*Lunasia amara* Blanco) adalah salah satu tanaman yang digunakan secara tradisional oleh masyarakat kecamatan Pallatae, kabupaten Bone, propinsi Sulawesi selatan sebagai aprodisiaka. Penggunaan kayu sanrego sebagai aprodisiaka saat ini telah meluas kedaerah lain, dan pada umumnya bagian yang digunakan adalah akar, batang dan akhir-akhir ini daun *L. amara* juga telah dimanfaatkan. Namun demikian bukti ilmiah tentang khasiat aprodisiaka dari kayu sanrego belum pernah dilaporkan. Sampai saat ini penelitian terhadap kayu sanrego masih terbatas pada penelitian fitokimia (Soekotjo, 1994; Dehmi, 1992; Subehan, 1999) dan skrining hippokratif kualitatif (Ilham dkk., 2002). De Padua dkk. (1978) menerangkan bahwa didalam tanaman genus *Lunasia* sp. terdapat alkaloida pirano-kuinolina yaitu lunakrina, lunakridina dan lunasina; sintesis senyawa tersebut telah dilakukan oleh Sekar dan Prasad (1998). Namun demikian, belum dilaporkan bahwa senyawa tersebut yang berperan pada aktivitas aprodisiaka. Oleh karena itu tujuan penelitian ini untuk membuktikan secara ilmiah secara *in vitro*, memisahkan fraksi yang berperan terhadap aktivitas afrodisiaka dan menentukan golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi aktif secara KLT dengan penampak bercak spesifik.

Metodologi

Bahan

Bagian batang dari kayu sanrego diambil dari dusun Sanrego, kecamatan Pallatae, kabupaten Bone, propinsi Sulawesi selatan pada tanggal 23 September 2003. Determinasi tanaman dilakukan oleh Lab. Farmokognosi, Bag. Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM. Tikus putih jantan galur Wistar (3-5 bulan, 150-250 g) dan tikus putih betina galur Wistar (2-4 bulan, 150-250 g, fase estrus) dari Lab. Farmakologi & Toksikologi Fak. Farmasi UGM digunakan sebagai binatang percobaan; dan makanan tikus diperoleh dari PPOM Badan POM.

Pelarut organik berderajat pa, Na-CMC derajat farmasetis (Daiichi), yohimbina (Kimia Farma), larutan NaCl 0.9% (Otsuka).

Alat

Rotavapor (Heidolph), alat Soxhlet

Cara Penelitian

- *Ekstraksi:* Serbuk kayu Sanrego (600 g) di ekstraksi dalam alat Soxhlet dengan MeOH (250 ml) sampai tuntas (jernih). Ekstrak MeOH kering (80 g, ekstrak **A**) yang diperoleh dipartisi dengan EtOAc sehingga diperoleh fraksi larut EtOAc (15,23 g, fraksi **B**) dan fraksi tidak larut EtOAc (50,20 g, fraksi **C**).
- *Uji aktivitas:* Tikus dibagi menjadi 6 kelompok **I**, Na-CMC 5%, dosis 50 mg/kg BB (kontrol negatif); kel. **II**, yohimbina, dosis 5 mg/kg BB (kontrol positif); kel. **III**, air suling, 2 ml/200 g BB (kontrol negatif); kel. **IV**, ekstrak **A** (MeOH); kel. **V**, fraksi **B** (Larut EtOAc); kel. **VI**, fraksi **C** (tidak larut EtOAc), dan dosis yang sama diberikan pada **A**, **B**, dan **C** (10, 50, 100, 200 mg/kg BB) secara per-oral pada tikus putih jantan. Setelah tikus putih jantan di-treatment, 5 menit kemudian tikus betina (fase estrus) dimasukan. Perilaku tikus jantan diamati *sebagai* introduksi (tikus jantan mendekati tikus betina), *climbing* (tikus jantan menaiki tikus betina) dan *coitus* (terjadi senggama antara tikus jantan dan betina). Jumlah introduksi, *climbing* dan *coitus* dihitung dalam kurun waktu 1 jam pada tiap dosis uji. Perbedaan efek (%) introduksi, *climbing*,

$$\text{Terhadap kontrol (-):} \quad \text{Efek (\%)} = \frac{\text{Rtl} - \text{Rkn}}{\text{Rtl}} \times 100\%$$

$$\text{Terhadap kontrol (+):} \quad \text{Efek (\%)} = \frac{\text{Rtl} - \text{Rkp}}{\text{Rkp}} \times 100\%$$

Keterangan:

Rtl : Rata-rata tingkah laku (*introduksi, climbing, coitus*)

Rkn : Rata-rata kontrol negatif

Rkp : Rata-rata kontrol positif

dan *coitus* pada setiap perlakuan dihitung dengan menggunakan nilai rata-rata dibandingkan dengan kontrol (-) dan kontrol (+) sehingga dapat dihitung dengan rumus diatas. Data efek (%) yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan tingkat kepercayaan 95%.

- Penentuan golongan senyawa: Kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan untuk memonitor keberhasilan fraksinasi dan penentuan golongan senyawa dalam fraksi aktif. Kromatografi lapis tipis [fasa diam: SiO₂, GF₂₅₄, E Merck; fasa gerak: n-heksana: EtOAc (3:1 v/v), n-heksana:EtOAc (1:3 v/v)] terhadap ekstrak **A**, fraksi **B** dan **C** dengan penampak bercak sinar UV_{254, 366}, Ce(IV) sulfat, uap NH₄OH, dan Dragendorf. Nilai Rf. bercak diukur dan perubahan warna yang terjadi diamati.

Hasil Dan Pembahasan

Metanol mampu menyari senyawa-senyawa polar yang sesuai dengan penggunaan dimasyarakat dan senyawa-senyawa non polar dalam jumlah terbatas. Hal ini terbukti dengan fraksinasi ekstrak Metano (**A**, 80 g) dengan Etilasetat yang mampu memisahkan senyawa relatif non polar (**B**, fraksi larut etilasetat, 15,23 g) dan senyawa relatif polar (**C**, fraksi tidak larut etilasetat, 50,20 g) dalam jumlah yang lebih besar (Gambar 1). Perbedaan kandungan senyawa dalam ekstrak dan fraksi memberikan hasil uji farmakologi yang berbeda juga baik dalam jumlah introduksi, *climbing* dan *coitus* (Tabel I - III).

Analisis jumlah introduksi, *climbing*, dan *coitus* yang diperoleh dilakukan dengan menggunakan *Kolmogorov-smirnov* untuk melihat kenormalan distribusi data sehingga dapat ditentukan analisis selanjutnya. Hasil analisis *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan bahwa jumlah introduksi, *climbing*, dan *coitus* terdistribusi normal ($p > 0,05$). Oleh karena itu dilakukan uji parametric untuk mengetahui efek dari masing-masing perlakuan dengan metoda analisis varian pola dua jalan yang terdiri dari variable bebas (dosis, ekstrak & fraksi) dan variable tergantung aktivitas afrodisiaka (efek). Dengan demikian pengaruh dosis terhadap aktivitas yang ditimbulkan dapat diketahui.

Nilai probabilitas yang dihasilkan dari analisis pola dua jalan adalah $p < 0,05$, yang berarti terdapat perbedaan yang nyata antara aktivitas yang ditimbulkan oleh dosis ekstrak (10, 50, 100, 200 mg/kg BB) dan efek yang ditimbulkan. Dari data tersebut diatas diketahui bahwa prosentase aktivitas terhadap kontrol (-) paling besar adalah fraksi **B** (fraksi larut EtOAc) dengan dosis 200 mg/kg BB (**i**, 84,2%; **c**, 84,9% dan **k**, 85,2%) (Tabel IV), demikian juga terhadap kontrol [(+), yohimbina, 5 mg/kg BB) pada dosis 200 mg/kg BB (**i**, 49,1%; **c**, 48,6%; **k**, 49,6%) fraksi **B** masih tertinggi dibandingkan dengan **A** dan **C** (Tabel V). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif aprodisiaka kayu sanrego terdapat pada fraksi **B**, dan senyawa tersebut larut baik dalam etilasetat.

Tabel I. Jumlah introduksi (**i**) tikus putih jantan terhadap tikus putih betina (n=5) setelah perlakuan

Kelompok	Dosis (mg/kg BB)	Jumlah <i>introduksi</i> ± SE
I. Suspensi Na-CMC 5%	50	5,2 ± 0,5
II. Yohimbina	5	16,8 ± 0,5
IV. Ekstrak A (MeOH)	10	10,6 ± 0,4
	50	16,6 ± 1,0
	100	25,4 ± 0,8
	200	31,2 ± 0,5
V. Fraksi B (larut EtOAc)	10	17,4 ± 0,3
	50	22,8 ± 0,8
	100	30,2 ± 0,5
	200	33,0 ± 0,3
VI. Fraksi C (tdk. Larut EtOAc)	10	6,0 ± 0,3
	50	10,2 ± 0,4
	100	16,6 ± 0,4
	200	23,0 ± 0,6

Tabel II. Jumlah *climbing* (c) tikus putih jantan terhadap tikus putih betina (n=5) setelah perlakuan

Kelompok	Dosis (mg/kg BB)	Jumlah <i>climbing</i> ± SE
I. Suspensi Na-CMC 5%	50	4,6 ± 0,4
II. Yohimbina	5	15,6 ± 0,4
IV. Ekstrak A (MeOH)	10	6,2 ± 0,4
	50	10,8 ± 0,6
	100	22,8 ± 1,3
	200	29,4 ± 0,3
V. Fraksi B (larut EtOAc)	10	16,2 ± 0,4
	50	20,8 ± 0,4
	100	25,6 ± 0,3
	200	30,4 ± 0,3
VI. Fraksi C (tidak larut EtOAc)	10	5,0 ± 0,3
	50	9,4 ± 0,3
	100	12,6 ± 0,4
	200	16 ± 0,3

Tabel III. Jumlah *coitus* (k) tikus putih jantan terhadap tikus putih betina (n=5) setelah perlakuan

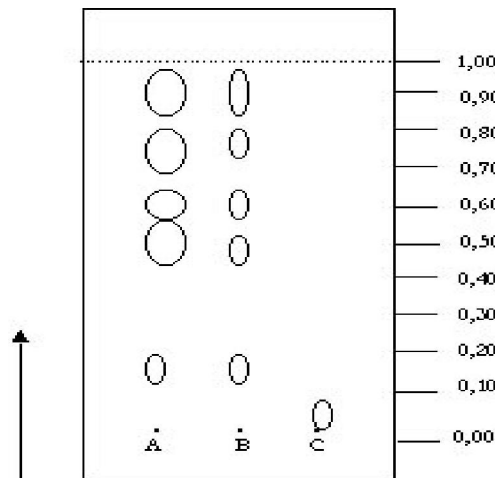
Kelompok	Dosis (mg/kg BB)	Jumlah <i>koitus</i> ± SE
I. Suspensi Na-CMC 5%	50	4,0 ± 0,3
II. Yohimbina	5	13,6 ± 0,2
IV. Ekst. A (MeOH)	10	5,2 ± 0,4
	50	8,8 ± 0,5
	100	17,4 ± 0,7
	200	24,6 ± 0,3
V. Fraksi B (larut EtOAc)	10	16,6 ± 0,5
	50	21,0 ± 0,6
	100	24,0 ± 0,5
	200	27,0 ± 0,5
VI. Fraksi C (tidak larut EtOAc)	10	4,0 ± 0,3
	50	5,6 ± 0,2
	100	8,0 ± 0,3
	200	11,6 ± 0,2

Tabel IV. Efek (%) introduksi, *climbing*, *coitus* dari ekstrak A, fraksi B-C terhadap kontrol (-)

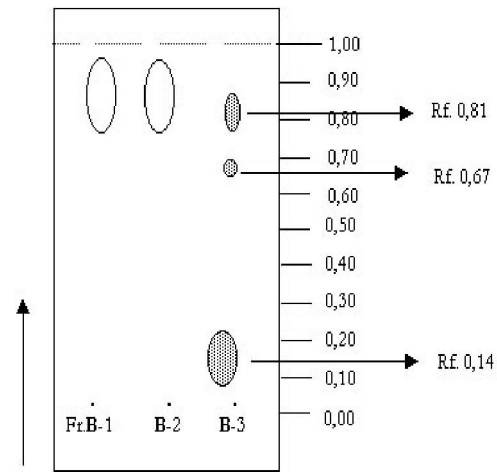
Sampel	Dosis (mg/Kg BB)	Efek introduksi	Efek <i>climbing</i>	Efek <i>coitus</i>
Ekstrak (A) MeOH	10	50,9	25,8	23,1
	50	68,7	57,4	54,6
	100	79,5	79,8	77,0
	200	83,3	84,4	83,7
Fraksi B (larut EtOAc)	10	70,1	71,6	75,9
	50	77,2	77,9	80,9
	100	82,8	82,0	83,3
	200	84,2	84,9	85,2
Fraksi C (tidak larut EtOAc)	10	13,3	8,0	0,0
	50	49,0	51,1	28,7
	100	68,7	63,5	50,0
	200	77,7	71,3	65,5

Tabel V. Efek (%) introduksi, *climbing*, *coitus* dari ekstrak **A**, fraksi **B-C** terhadap kontrol (+)

Sampel	Dosis (mg/kg BB)	Efek <i>introduksi</i>	Efek <i>climbing</i>	Efek <i>coitus</i>
Ekstrak A (MeOH)	10	0,0	0,0	0,0
	50	0,0	0,0	0,0
	100	3,4	31,6	21,8
	200	46,2	46,9	44,7
Fraksi B (larut EtOAc)	10	3,4	3,7	18,1
	50	26,3	25,0	35,2
	100	44,4	39,0	43,3
Fraksi C (tidak larut EtOAc)	10	0,0	0,0	0,0
	50	0,0	0,0	0,0
	100	0,0	0,0	0,0
	200	36,9	2,5	0,0



Gambar 1. Kromatogram KLT ekstrak **A**, fraksi **B** dan **C** [SiO₂, GF-254; n-heksana: etilasetat (6:2 v/v); penampak bercak: Ce(IV) sulfat]



Gambar 2. Kromatogram KLT fraksi aktif (**B**) [SiO₂, GF-254; n-heksana:etilasetat (2:6 v/v); penampak bercak uv-254 nm (**B-1**), Ce(IV) sulfat (**B-2**), Dragendorff (**B-3**)] bercak berwarna merah oranye.

Untuk menentukan golongan senyawa yang terdapat di dalam fraksi aktif (**B**) dilakukan KLT dengan berbagai penampak bercak (Gambar 2). Berdasarkan atas analisis gambaran KLT, maka diketahui bahwa terdapat senyawa terpenoida (Rf. 0,81) yang mempunyai kromofor nampak terjadi pemataman pada uv-254 dan alkaloid [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, flavonoida

(deteksi dengan uap ammonia) dalam fraksi **B** diragukan, atau kemungkinan jumlahnya terlalu kecil.

Kesimpulan

1. Efek aprodisiaka terbesar terdapat pada fraksi larut etilasetat (fraksi **B**), pada dosis 200 mg/kg BB menunjukkan efek *introduksi* 84,2%, *climbing* 84,9% dan *coitus* 85,2% terhadap kontrol negatif
2. Fraksi **B** mengandung senyawa alkaloida dan terpenoida.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih penulis (Arnida) haturkan kepada Rektor Universitas Pancasakti, Ujung Pandang dan Yayasan Al-Aqsa yang telah memberi kesempatan penulis

untuk mengikuti program studi M.Si. di Pasca Sarjana, Universitas Gadjah Mada; dan Direktorat Jendral DIKTI yang telah memberi beasiswa BPPS sampai selesainya program S-2.

Daftar Pustaka

- Dehmi, M., 1992, Isolasi dan identifikasi komponen kimia ekstrak n-butanol kayu sanrego (*Lumasia amara* Blanco) asal kabupaten Bone, *Skripsi*, Jurusan Farmasi F-MIPA, Universitas Hasanuddin, Ujung Pandang
- De Padua, L., Lugot, G., Pancho, J., 1978, *Handbook on Philippine Medicinal Plants* Vol. II, University of the Philippines, Los Banos, 43
- Ilham, Alam, G., Tobo, F., Sabu, E. F., 2002, *Efektif farmakologi ekstrak methanol daun kayu sanrego (Lumasia amara Blanco) pada mencit*, *Majalah Obat Tradisional*, vol. 7, no. 20, April-Juni, 7(20): 13-18
- Sekar, M., dan Prasad, K. J. R., 1998, Quinoline alkaloids: Synthesis of Pyrano [2,3-b] quinolines, khaplofoline, lunacrine, and demethoxylunacrine, *J. of Nat. Prod.*, 61(2) : 294-6
- Soekotjo, L., 1994, Isolasi dan identifikasi ekstrak dietil eter batang kayu sanrego (*Lumasia amara* Blanco) asal kabupaten Bone, *Skripsi*, Jurusan Farmasi F-MIPA Universitas Hasanuddin, Ujung Pandang, 3-7
- Subehan, 1999, Pemeriksaan farmakognostik dan usaha skrining komponen kimia secara kromatografi lapis tipis tumbuhan sanrego (*Lumasia amara* Blanco), *Skripsi*, Jurusan Farmasi F-MIPA, Universitas Hasanuddin, Ujung Pandang, 13-6