

DETEKSI KANDUNGAN KIMIA DAN EFEK OKSITOSIK FRAKSI TDAK LARUT ETANOL INFUSA DAUN *Kaempferia angustifolia* Roscoe TERHADAP UTERUS MARMUT TERPISAH

CHEMICAL CONSTITUENT DETECTION AND OXYTOXIC EFFECT OF INSOLUBLE ETHANOLIC FRACTION OF INFUSION OF *Kaempferia angustifolia* Roscoe LEAVES ON ISOLATED UTERUS OF GUINEA PIGS

Pramono S* dan Sumastuti R**

* Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi , Universitas Gadjah Mada

** Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada

Abstrak

Dalam rangka memberikan dasar ilmiah penggunaan kunci pepet (*Kaempferia angustifolia* Roscoe) sebagai obat tradisional sehabis bersalin, telah dilakukan uji aktivitas fraksi larut etanol dan fraksi tak larut etanol infusa daun tanaman tersebut terhadap kontraksi uterus marmut terpisah.

Daun kunci pepet diambil dari tanaman yang telah dideterminasi berupa *Kaempferia angustifolia* Roscoe , dibuat infusa dengan pelarut air, kemudian diuapkan sampai kental dan selanjutnya dilarutkan dalam etanol 95%. Fraksi larut etanol dipisahkan, sedangkan fraksi tak larut etanol dilarutkan kembali dalam akuades. Kedua fraksi diuji efeknya pada uterus marmut terpisah dengan cara setelah dimasukkan ke dalam *organ bath* ditambahkan 0,1 cc larutan oksitosin 10 IU/ml. Pengujian dilakukan terhadap masing-masing fraksi infusa daun kunci pepet pada kadar 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,12%. Fraksi yang aktif difraksinasi lebih lanjut dengan akuades dan diuji aktivitasnya. Deteksi kandungan kimia dilakukan terhadap masing-masing fraksi secara kromatografi lapis tipis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi tak larut etanol infusa daun kunci pepet mempunyai aktivitas meningkatkan kontraksi uterus marmut setelah pemberian oksitosin secara nyata berdasarkan analisis statistik anava ($p < 0,05$). Selanjutnya fraksi larut akuades dan residu fraksi aktif tersebut juga mempunyai aktivitas yang setara. Kandungan kimia dalam fraksi aktif yang terdeteksi adalah flavonoid, tanin dan pektin.

Kata kunci : *Kaempferia angustifolia*, oksitosik, flavonoid, tanin, pektin

Abstract

To establish the scientific base on the use of *Kaempferia angustifolia* leaves as Indonesian post partus traditional drug, an experiment was done on isolated uterus guinea pigs.

The infusion of *Kaempferia angustifolia* leaves was evaporated and the residu was then extracted with ethanol. The ethanolic fraction and the insoluble fraction were tested on isolated uterus guinea pig after addition of 1 ml of 10 IU/ml oxytocin. The active fraction was then dissolved in distilled water in order

to separate the aqueous solution and the residue after storage at low temperature. The chemical constituents of the active fraction were detected by thin layer chromatographic method.

The results showed that the insoluble ethanolic fraction of the infusion increased significantly the contraction of uterus after the addition of oxytocin ($p < 0.05$). Further more, the water soluble fraction and the residue of the active fraction had also similar activities.

Keywords : *Kaempferia angustifolia*, oxytocic effect, flavonoids, tanin, pectin

Pendahuluan

Kunci pepet (*Kaempferia angustifolia* Roscoe) sering dirancukan dengan *Kaempferia rotunda* Linn) atau temu kunci yang pada beberapa pustaka juga disebut sebagai kunci pepet. Tanaman ini mempunyai banyak kegunaan, salah satu diantaranya adalah sebagai penyusun ramuan jamu habis bersalin bagi para wanita pada masa nifas (Heyne, 1950). Dalam kaitannya dengan khasiat yang sedikit banyak berkaitan dengan organ reproduksi wanita tersebut perlu diteliti bagaimana efeknya pada otot uterus sehingga dapat memberikan gambaran dan landasan ilmiah mengapa nenek moyang menggunakannya secara turun temurun. Sesungguhnya yang banyak digunakan adalah rimpangnya, namun pada uji pendahuluan ternyata infusa daun tanaman ini juga mempunyai efek oksitosik bahkan lebih kuat dibandingkan rimpangnya. Oleh sebab itu perlu diteliti lebih lanjut, hasil fraksinasi dari infusa yang memiliki efek oksitosik sehingga selanjutnya dapat ditelusur kandungan kimia yang bertanggung jawab terhadap efeknya. Jika dilihat dari penerapannya baik di masyarakat maupun untuk tujuan industri, penggunaan daun lebih menguntungkan dibanding rimpang karena waktu panen menjadi lebih pendek dan jumlah bahan yang dipanen juga lebih banyak

Metodologi

Bahan penelitian berupa daun tanaman kunci pepet (*Kaempferia angustifolia* Roscoe) yang telah dideterminasi di bagian Biologi Farmasi Fk. Farmasi UGM dan dikumpulkan dari daerah kotamadya Yogyakarta pada bulan Juni. Infusa daun kunci pepet dibuat dengan memanaskan 1 bagian daun dalam 10 bagian akuades dalam panci infusa selama 15 menit. Berhubung pada deteksi pendahuluan tidak terdeteksi minyak atsiri maka cairan diserkai selagi panas. Infusa yang diperoleh

diuapkan sampai kental kemudian dilarutkan dalam etanol 95% sehingga diperoleh fraksi larut etanol dan fraksi tak larut etanol. Kedua fraksi diuapkan untuk menghilangkan etanol atau jejak-jejak etanol. Masing-masing fraksi sebanyak 1 bagian dilarutkan dalam 1 bagian akuades sehingga diperoleh kadar fraksi 50%. Selanjutnya dilakukan pengenceran secara bertahap sehingga diperoleh kadar 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,12% masing-masing siap digunakan sebagai larutan uji.

Uterus marmut betina dipisahkan dan dipreparasi pada *organ bath* menurut metode Magnus yang dimodifikasi. Setelah semua peralatan disiapkan dan uterus marmut telah terpasang, ditambahkan 0,1 ml larutan uji dan 0,1 ml oksitosin 10 IU/ml. Kontraksi uterus diukur dan direkam pada kertas angus (Turner, 1965). Hasil pengukuran kontraksi dengan replikasi 3 kali dianalisis secara statistik dengan menggunakan data perbedaan tinggi kontraksi yang disebabkan oleh oksitosin dan larutan uji, dengan anava satu jalan, dilanjutkan uji t.

Deteksi kandungan kimia fraksi aktif dilakukan secara kromatografi lapis tipis dengan fase diam silika gel atau selulose mikrokristalin dan fase gerak kloroform-etanol-air dalam berbagai perbandingan dan etanol 50%. Deteksi dilakukan dengan pereaksi semprot uap amoniak dan sinar UV 366nm untuk flavonoid, besi(III)klorida untuk tanin, KOH etanolis untuk kumarin dan antraknon, anisaldehyd-asam sulfat untuk terpenoid, dan kalium permanganat basa untuk pektin. Hasil deteksi dibandingkan dengan yang ada dalam pustaka.

Hasil Dan Pembahasan

Kunci pepet atau *Kaempferia angustifolia* Roscoe merupakan tanaman suku Zingiberaceae (Backer dan Van den Brink, 1965) yang rimpangnya mengandung minyak atsiri, akan tetapi ternyata daunnya tidak memiliki kandungan minyak atsiri atau kuantitasnya sangat kecil sehingga tidak terdeteksi dengan metode destilasi Stahl, sebagaimana telah disebutkan pada pendahuluan. Lebih dari pada itu tanaman asli

Indonesia ini belum banyak diteliti orang padahal secara tradisional tanaman ini banyak digunakan dan dikenal oleh masyarakat Jawa untuk ramuan jamu habis bersalin. Sehubungan dengan kecilnya kandungan minyak atsiri maka pada pembuatan infusa dilakukan penyerkaian pada waktu masih panas agar kandungan kimia yang terlarut dapat optimal. Berdasarkan perkiraan bahwa kandungan kimia yang tersari dalam infusa dapat bersifat semi polar dan polar maka dilakukan fraksinasi dengan pelarutan menggunakan etanol terhadap residu hasil penguapan infusa. Data hasil pengujian efek oksitosik fraksi etanol dan fraksi tak larut etanol infusa daun kunci pepet dapat dilihat pada tabel I.

Pada tabel II terlihat bahwa efek fraksi residu relatif lebih besar dibanding fraksi larut akuades tetapi secara statistik tidak bermakna sehingga dapat dikatakan bahwa kedua fraksi mempunyai efek oksitosik, dengan catatan masih harus dibuktikan lebih lanjut manakah diantara kedua fraksi tersebut yang memiliki efek lebih besar yaitu dengan memberikan dosis yang lebih kecil. Namun demikian, temuan pada penelitian ini bahwa kedua fraksi memiliki efek oksitosik memberikan makna bahwa kandungan kimia yang bertanggung jawab terhadap aktivitas oksitosik daun kunci pepet terdapat baik pada fraksi larut akuades maupun pada residu. Untuk itu perlu dilakukan deteksi kandungan kimia

Tabel I. Tinggi kontraksi uterus marmut terpisah (dalam cm) setelah pemberian 0,1ml fraksi larut etanol dan fraksi tak larut etanol infusa daun kunci pepet dan 0,1 ml oksitosin 10 IU/ml

	0,1 mL larutan Oksitosin	Persentase Fraksi Infusa Daun Kunci pepet				
		50 %	25%	12,5%	6,25%	3,125%
Fraksi larut	6,50	7,50	9,80	8,50	9,33	9,33
Etanol	± 1,50	± 2,00	± 2,70	± 3,10	± 2,60	± 2,50
Fraksi tak larut Etanol	6,66 ± 1,20	12,00 ± 3,00	11,33 ± 2,70	12,33 ± 1,51	10,50 ± 4,00	14,16 ± 6,00

Terlihat pada tabel I bahwa fraksi tak larut etanol mempunyai efek oksitosik jauh lebih tinggi dibanding fraksi larut etanol dan pada perhitungan statistik berbeda secara nyata ($p < 0,05$). Jika dilihat dari hubungan antara dosis dan efeknya, tidak ada korelasi yang teratur. Hal ini mungkin disebabkan karena dosis terkecil yang diberikan masaih terlalu tinggi. Oleh sebab itu disarankan untuk melakukan pengenceran pada penelitian berikutnya. Pada deteksi kromatografi, fraksi tak larut etanol ini masih mengandung berbagai jenis kandungan kimia sehingga perlu dipisahkan lebih lanjut. Setelah difraksinasi dengan metode pelarutan menggunakan akuades dingin dan diuji aktivitasnya, hasilnya dapat dilihat pada tabel II.

kedua fraksi tersebut sehingga strategi pemisahan setiap kandungan kimia dapat direncanakan secara tepat.

Deteksi kromatografi lapis tipis kedua fraksi aktif dilakukan dengan menggunakan dua jenis fase diam diikuti dengan fase gerak yang sesuai menurut metode yang tercantum pada buku acuan (Wagner dkk.,1984). Selain itu juga dilakukan deteksi kandungan fraksi-fraksi awal dari infusa yaitu fraksi larut etanol dan fraksi tak larut etanol, diikuti fraksi larut akuades dan fraksi residu dari fraksi tak larut etanol, guna memperoleh gambaran yang menyeluruh. Hasil deteksi dengan berbagai pereaksi warna (Jork, dkk., 1990) terhadap berbagai fraksi infusa daun kunci pepet tersebut dapat dilihat pada tabel III.

Tabel II. Tinggi kontraksi uterus marmut terpisah (dalam cm) setelah pemberian 0,1 ml fraksi larut akuades dan fraksi residu dari fraksi tak larut etanol infusa daun kunci pepet dan 0,1 ml oksitosin 10 IU/ml

	0,1 mL larutan Oksitosin	Persentase Fraksi Tak Larut Etanol Infusa Daun Kunci pepet				
		50 %	25%	12,5%	6,25%	3,125%
Fraksi larut	6,40	6,65	6,50	10,37	10,03	5,20
Akuades	±	±	±	±	±	±
	1,30	1,70	1,80	2,63	2,10	2,22
Fraksi	6,66	12,00	11,33	12,33	10,50	14,16
Residu	±	±	±	±	±	±
	1,40	1,80	2,00	2,45	3,00	3,85

Tabel III. Hasil deteksi kandungan kimia berbagai fraksi infusa daun kunci pepet

Fraksi Uji	Terpenoid	Kumarin	Antraknon	Flavonoid	Tanin	Pektin
Fraksi larut etanol	-	+	-	+	-	-
Fraksi tak larut etanol	-	-	-	+	+	+
Fraksi larut akuades dari fraksi larut etanol	-	-	-	+	+	-
Residu fraksi larut etanol	-	-	-	-	-	+

Terlihat pada tabel III bahwa kedua fraksi yang terakhir ditetapkan efek oksitosiknya yaitu fraksi larut akuades dan fraksi residu dari fraksi tak larut etanol infusa daun kunci pepet mengandung senyawa golongan flavonoid dan tanin untuk fraksi larut akuades, serta pektin untuk fraksi residu. Bagaimana struktur ketiga kandungan kimia tersebut harus dianalisis lebih lanjut dengan pemurnian, penentuan aktivitas dan analisis spektral baik UV-vis, merah infra, resonansi magnetik inti maupun spektrofotometri massa. Namun demikian perlu kiranya dilakukan pembahasan retrospektif terhadap ketiga

kandungan kimia daun kunci pepet tersebut dalam kaitannya dengan efek oksitosik. Flavonoid merupakan senyawa polifenol dengan struktur dasar C6-C3-C6, pada umumnya terdapat dalam bentuk glikosida sehingga bersifat polar dan larut dalam air. Salah satu aktivitas biologis flavonoid adalah meningkatkan resistensi dan mengurangi permeabilitas kapiler darah (Bruneton, 1992). Aktivitas lain sangat bervariasi tergantung strukturnya, namun tidak ada yang dapat dikaitkan langsung dengan efek oksitosik. Kandungan kimia yang kedua yaitu tanin juga merupakan senyawa polifenol yang memiliki sifat

astringen , membentuk ikatan dengan protein, anti oksidan dan berbagai aktivitas biologis lain (Bruneton, 1992) namun tidak langsung berkaitan dengan efek oksitosik. Oleh sebab itu sangat menarik jika pada penelitian selanjutnya dapat dicari mekanisme kerja kedua senyawa tersebut untuk menjawab pertanyaan mengapa keduanya dapat memiliki efek oksitosik. Senyawa ketiga yang merupakan kandungan kimia dominan pada residu fraksi tak larut etanol dari infusa daun kunci pepet adalah pektin. Golongan senyawa ini merupakan polimer karbohidrat dengan struktur dasar alfa glukuronat yang berikatan dengan arabinan dan galaktan. Pektin memiliki sifat

menyerap air dan digunakan sebagai regulasi transit gastrointestinal (Bruneton, 1992). Apakah sifat ini ada kaitannya dengan aktivitas oksitosik, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Kesimpulan

Fraksi larut akuades yang mengandung senyawa flavonoid dan tanin serta fraksi residu dari fraksi tak larut etanol infusa daun kunci pepet (*Kaempferia angustifolia* Roscoe) yang mengandung pektin memiliki aktivitas oksitosik pada uterus marmot terpisah.

Daftar Pustaka

- Backer, C.A. dan Van den Brink, R.C.B., 1965, *Flora of Java*, NVP. Noordhoff, Groningen, The Netherlands. 122-123
- Bruneton, J., 1992, *Pharmacognosie, Phytochimie Plantes Medicinales*, deuxieme edition, Lavoisier, Paris, p. 106-108, 266-280.
- Heyne, K., 1950, *De Nuttige Planten van Indonesie*, terjemahan oleh Badan Litbang Kehutanan, 1987, Jakarta, p.529-530.
- Jork, H., Funk, W., Fischer, W., Wimmer, H., 1990, *Thin Layer Chromatography, Reagents and Detection Methods*, Volume 1, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, p. 44, 288, 299.
- Turner, R.A., 1965, *Screening Methods in Pharmacology*, Academic Opress, New York, p. 98-99.
- Wagner, H., Bladt, S., Zgainski, E.M., 1984, *Plant Drug Analysis*, Springer Verlag, Berlin, p. 291-295.