

6/KIM  
2003  
068

Scm 04/08/03 207

**EKSTRAK KASAR SAPONIN DARI AKAR KUNING SEBAGAI  
HEPATOPROTEKTOR**

**SARASWATI PURBO KAYUN**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2003**

## RINGKASAN

SARASWATI PURBO KAYUN. Ekstraksi Kasar Saponin dari Akar Kuning sebagai Hepatoprotektor (Crude Extract Saponin from *Arcangelisia flava* as a Hepatoprotector). Dibimbing oleh ARYETTI dan SULISTIYANI.

Tanaman akar kuning merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional dan dipercaya dapat menyembuhkan penyakit kuning. Tanaman ini banyak mengandung alkaloid dan saponin. Dari penelitian terdahulu, alkaloid tidak terbukti memiliki khasiat hayati sebagai hepatoprotektor, maka penelitian ini bertujuan membuktikan apakah saponin yang memiliki khasiat itu.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode refluks. Bobot ekstrak yang diperoleh dari etanol (EKE), metanol (EKM), dan metanol-diklorometana dengan nisbah 1:1 dan 2:1 (EKMD 11 dan EKMD 21) adalah 80, 40,62; 41,04; dan 40,69 %. Hasil ekstraksi menunjukkan bahwa ekstrak etanol paling besar, hal ini mungkin disebabkan adanya esterifikasi aglikon saponin oleh etanol mengakibatkan berat ekstrak bertambah dan berubahnya struktur saponin sehingga pengukuran tegangan permukaan tidak dilakukan pada ekstrak ini. Ekstrak metanol-diklorometana 2:1 (EKMD 21) paling banyak melarutkan saponin karena tegangan permukaannya paling rendah dibandingkan dengan ekstrak lain.

Hasil pengujian khasiat hayati menunjukkan EkMD 21 memiliki khasiat hepatoprotektor karena dapat menghambat 50% kenaikan aktivitas serum aspartat transaminase dan alanin transaminasi akibat kerusakan hati oleh parasetamol 500 mg/kg bobot badan pada tikus *sprague dawley*.

**EKSTRAK KASAR SAPONIN DARI AKAR KUNING SEBAGAI  
HEPATOPROTEKTOR**

**SARASWATI PURBO KAYUN**


Skripsi  
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains pada  
Program Studi Kimia


**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2003**

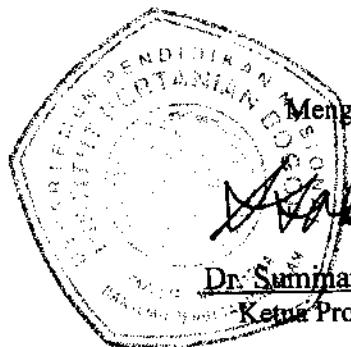
Judul : Ekstrak Kasar Saponin dari Akar kuning Sebagai Hepatoprotektor.  
Nama : Saraswati Purbo Kayun  
NIM : G01 498045

Menyetujui,

  
Dra. Aryetti, MS.  
Pembimbing I

  
drh. Sulstiyani, M.Sc., Ph.D.  
Pembimbing II

  
Dr. Suminar S. Achmadi  
Ketua Program Studi



Tanggal Lulus:

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Jakarta, 15 Juli 1980 sebagai anak pertama dari dua bersaudara, anak pasangan S. Supanto dan Endang Indonasehati.

Tahun 1998 penulis lulus dari SMUN 46 Jakarta dan pada tahun yang sama diterima di IPB melalui jalur USMI di Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Selama mengikuti perkuliahan penulis pernah menjadi asisten praktikum Kimia Dasar I, Kimia Dasar II, Kimia Analitik, Kimia Organik I, Teknik Laboratorium Kimia Organik, Kimia Bahan Alam dan Kimia Organik TPB. Selain itu penulis juga aktif di Ikatan Mahasiswa Kimia IPB, dan pernah melakukan Praktek Kerja Lapangan di Pusat Pendidikan dan Latihan Badan Tenaga Nuklir Nasional dari bulan Juli sampai Agustus 2001.

## PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena dengan rahmat dan karunia-Nya karya ilmiah ini dapat diselesaikan dengan baik. Tema yang dipilih dalam penelitian ini berjudul Ekstraksi Kasar Saponin dari Akar Kuning Sebagai Hepatoprotektor dan dilaksanakan sejak bulan Juli 2002 sampai Juli 2003 di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Ibu Dra. Aryetti, MS dan Ibu drh. Sulistiyani, MSc., Ph. D. selaku pembimbing yang telah memberikan arahan serta saran sehingga penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik. Di samping itu penulis memberikan penghargaan kepada Ibu Latifah atas saran dan kritiknya, Ibu Suminar S. Achmadi atas saran dan bantuan bahan kimia selama penelitian melalui Penelitian Hibah Bersaing dari Pusat Studi Biofarmaka Lembaga Penelitian IPB, serta Ibu Irmanida atas saran dan bantuannya. Kepada Bapak Sabur, Ibu Yenni, Mas Toni, dan Ibu Robiah penulis mengucapkan terima kasih atas bantuannya selama penelitian.

Kepada (alm) Febtiana penulis ucapkan terima kasih atas perhatian, dukungan, dan sarannya. Kepada rekan-rekan kimia angkatan 35, rekan-rekan seperjuangan di Laboratorium Kimia Organik dan teman-teman di Jl. Bangka No. 15, dan para sahabat, terima kasih atas bantuan dan kebersamaannya. Tak lupa pula penulis haturkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak dan Ibu serta adik Martha atas bantuan materil, semangat, pengertian, doa dan kasih sayangnya.

Semoga karya ilmiah ini dapat bermanfaat.

Bogor, Agustus 2003

*Saraswati Purbo Kayun*

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
DAFTAR TABEL.....	ii
DAFTAR GAMBAR.....	ii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ii
PENDAHULUAN.....	1
TINJAUAN PUSTAKA.....	1
Akar kuning.....	1
Hati.....	2
Saponin.....	3
Parasetamol.....	3
BAHAN DAN METODE.....	4
Bahan dan Alat.....	4
Metode Penelitian.....	4
Persiapan Ekstrak Kasar Saponin.....	4
Uji Khasiat Hayati.....	6
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	7
Kadar Air dan Uji Fitokimia.....	7
Ekstraksi Saponin Menggunakan 4 Macam Pelarut.....	7
Uji Khasiat Hayati.....	9
SIMPULAN DAN SARAN.....	11
Simpulan.....	11
Saran.....	11
DAFTAR PUSTAKA.....	12
LAMPIRAN.....	13

## DAFTAR TABEL

		<b>Halaman</b>
1.	Kandungan reagen analisis AST dan ALT.....	6
2.	Hasil uji fitokimia serbuk batang akar kuning .....	7
3.	Bobot ekstrak kasar dari 3 macam pelarut .....	8
4.	Bobot glikosida dari ketiga jenis ekstrak .....	8
5.	Uji fitokimia glikosida .....	8
6.	Hasil pengukuran tegangan permukaan glikosida dan standar Quilaja .....	9
7.	Konsentrasi saponin dari 3 jenis ekstrak.....	9

## DAFTAR GAMBAR

		<b>Halaman</b>
1.	Contoh saponin .....	4
2.	Struktur kimia parasetamol .....	4
3.	Diagram alir ekstraksi saponin.....	5
4.	Kurva standar saponin.....	9
5.	Kurva perbedaan aktivitas serum ALT selama percobaan .....	10
6.	Grafik persentase aktivitas serum ALT .....	11
7.	Kurva perbedaan aktivitas serum AST selama percobaan .....	11
8.	Grafik persentase aktivitas serum AST .....	11

## DAFTAR LAMPIRAN

		<b>Halaman</b>
1.	Pembuatan larutan parasetamol dan saponin.....	14
2.	Daftar bobot tikus .....	14
3.	Contoh perhitungan aktivitas AST dan ALT.....	15
4.	Tabel perubahan aktivitas AST dan ALT selama percobaan .....	15



## PENDAHULUAN

Hepatitis atau populer disebut penyakit hati, lever atau penyakit kuning, merupakan proses peradangan atau pembengkakan pada jaringan hati. Penyakit ini dapat disebabkan oleh keracunan obat-obatan, virus atau bakteri, dan alkohol. Di Indonesia, hepatitis yang paling banyak ditemukan adalah hepatitis yang disebabkan oleh virus. Penyakit ini menempati urutan ketiga penyebab kematian setelah penyakit infeksi dan paru (Kompas 2001).

Salah satu kendala yang dihadapi masyarakat pada saat ini adalah, harga obat hepatitis yang relatif mahal sedangkan efeknya hanya dapat mencegah dan meredakan gejala-gejala penyakit ini. Obat tradisional yang telah digunakan sejak lama oleh masyarakat dan dipercaya dapat menyembuhkan penyakit hati, menjadi alternatif bagi para penderita meskipun khasiat dari obat-obatan tersebut belum teruji secara ilmiah. Hal ini tentunya memacu penelitian tumbuhan obat.

Penelitian terhadap tumbuhan obat yang memiliki aktivitas sebagai hepatoprotektor yaitu senyawa yang mempunyai aktivitas melindungi sel-sel hati dan bahkan dapat memperbaiki jaringan hati, telah dimulai sejak lama. Chang *et al.* misalnya, pada tahun 1983 telah melakukan pencirian terhadap 78 jenis tumbuhan tradisional yang biasa digunakan rakyat Korea untuk pengobatan hepatitis, 21 jenis di antaranya terbukti berfungsi sebagai hepatoprotektor (Hadi 1997).

Salah satu tanaman yang telah dipergunakan secara tradisional dalam pengobatan penyakit hati, adalah akar kuning (*Arcangelisia flava*). Menurut Burkil (1935) dan Heyne (1987), tanaman ini dapat digunakan untuk mengobati penyakit kuning atau hepatitis. Masyarakat Kubu (Jambi) menggunakan bagian akar atau batangnya untuk mengobati gejala penyakit kuning. Batang dari tanaman akar kuning ini, tidak hanya mengandung alkaloid tetapi juga mengandung saponin (Suparto *et al.*, 2000). Pengujian ekstrak alkaloid akar kuning secara *in vitro* (Suparto *et al.* 2000) menunjukkan bahwa ekstrak alkaloid akar kuning mempunyai efek dalam meregenerasi hati yang dirusak oleh parasetamol, meskipun belum dapat dikatakan sebagai hepatoprotektor yang memadai. Pengujian secara *in vivo* (Meistiani 2001) juga tidak menunjukkan hasil yang memuaskan. Data ini menguatkan dugaan bahwa mungkin saja yang menjadi senyawa aktif sebagai hepatoprotektor adalah saponin. Maka

sangatlah perlu diadakan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan dugaan tersebut.

Saponin merupakan senyawa polar, yang mudah larut dalam metanol, etanol dan butanol. Terjadinya esterifikasi pada saponin ketika mengekstraknya dengan alkohol, merupakan masalah yang sering terjadi. Penggunaan pelarut yang tepat diperlukan untuk ekstraksi ekstrak kasar saponin, sehingga dapat menghindari terjadinya esterifikasi serta hidrolisis pada saponin.

Penelitian ini bertujuan mengekstraksi saponin menggunakan etanol, serta metanol dan diklorometana dengan perbandingan 1:1 dan 2:1, dan menguji aktivitas biologi dari ekstrak yang paling banyak mengandung saponin, untuk mengetahui apakah ekstrak tersebut memiliki aktivitas hepatoprotektor.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang aktivitas saponin dalam akar kuning sebagai hepatoprotektor, dan kemungkinan pemanfaatan akar kuning sebagai obat hepatoprotektor yang memadai.

## TINJAUAN PUSTAKA

### Akar Kuning (*Arcangelisia flava*)

Akar kuning diklasifikasikan ke dalam divisi Spermatophyta, sub divisi: Angiospermae; kelas: Dicotyledonae, sub kelas: Dyalypalae, bangsa: Ranunculales, suku: Menispermaceae, marga: *Arcangelisia*, dan spesies: *Arcangelisia flava* (L) Merr (Tjitosoepomo 1994).

Nama lain dari *A. flava* ini adalah *A. lemniscata* BECC dan dikenal sebagai aruey ki koneng di daerah sunda, sedangkan di Jawa lebih dikenal dengan sebutan Oyod sirawanan, peron kebo, peron sapi, sirawan susu, atau sirawan tai (Heyne 1987). Di Sulawesi Tengah, tanaman ini disebut Kayu kuning atau akar kuning (Nuryanti 1993).

Akar kuning merupakan tumbuhan asli Asia Tenggara yang tumbuh di hutan-hutan tropis, antara lain di Sulawesi Tengah, semenanjung Malaya dan pulau Jawa. Di Jawa, tumbuhan ini tumbuh di dataran rendah sampai 800 meter dari permukaan air laut dan terdapat sebagai tanaman menjalar dengan batang yang bulat, kulitnya kasar dan berdiameter 2-7 cm, membelit pada pohon yang tinggi sehingga panjangnya dapat mencapai 20 meter (Heyne 1987). Daunnya yang

hanya sepanjang 15 cm bisa bermacam-macam bentuknya. Ada yang bulat dan ada yang mirip jantung (Soeseno dan Siregar 1989). Warna daun, hijau muda ketika muda dan hijau tua pada waktu tua (Nuryanti, 1993). Pada batangnya terdapat buah yang bergerombol dan menggantung berwarna kuning (Heyne 1987).

Akar kuning memiliki berbagai manfaat diantaranya adalah untuk pengobatan penyakit kuning, sebagai obat cacing, obat sariawan, dan di Ambon digunakan sebagai plester pada penyakit cacar (Heyne 1987). Batang tumbuhan ini umumnya digunakan untuk pengobatan penyakit malaria, kencing manis, dan kencing batu di daerah Sulawesi Tengah dan Selatan (Nuryanti 1993). Selain itu daun dan buahnya yang masih segar dapat dipergunakan sebagai obat sariawan.

Akar dari tanaman *A. Flava* mengandung senyawa berberin, 8-hidroksiberberin, jatrorrhizina, limasina, pinarrhina, dan thalifendia, yang semuanya termasuk senyawa alkaloid (Nuryanti 1993). Pada batangnya menurut Kunii dan Kagei (1985) mengandung fibraurin, 6-hidroksifibraurin, fibleucin, 6-hidroksiarangelisin, 2-dehidroksiarangelisinol, tinophylol, dan 6-hidroksifibleucin.

Bagian akar kuning yang berbeda memberi hasil uji kualitatif fitokimia yang berbeda. Akar gantung, yaitu akar yang menggantung dari akar kuning mengandung alkaloid tetapi tidak mengandung saponin (Meistiani 2001), sedangkan akar atau batang yang berada di tanah tidak hanya mengandung alkaloid tetapi juga mengandung saponin (Suparto *et al*, 2000)

### Hati

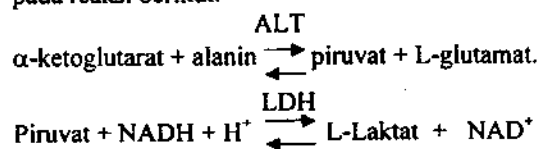
Objek dari penelitian ini adalah hati. Hati merupakan organ terbesar dan kompleks di dalam tubuh dan berfungsi untuk mengatur keseimbangan cairan dan elektrolit karena seluruh cairan garam akan melewati hati sebelum ke jaringan ekstraseluler lainnya. Selain itu hati juga merupakan pusat metabolisme dari semua bahan makanan, tempat menyimpan makanan, tempat detoksifikasi berbagai macam zat toksik, dan sebagai alat penyaring serta alat sekresi (Williamson *et al* 1996).

Beberapa penyakit hati yang umum antara lain adalah sirosis hati, hepatitis virus, dan kanker hati. Menurut Lu (1995), penyakit hati disebabkan oleh beberapa faktor yaitu: alkohol, virus seperti hepatitis B dan C, obat-obatan dan bahan kimia seperti parasetamol, CCl<sub>4</sub>, dan aspi-

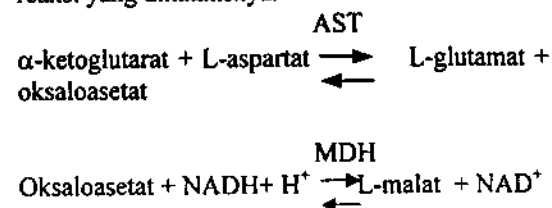
rin serta aflatoksin yang dihasilkan oleh jamur tertentu.

Kerusakan hati yang disebabkan oleh parasetamol pada penelitian ini, diketahui dengan cara mengukur kadar enzim-enzim pada sel hati. Sel hati mengandung enzim-enzim dalam jumlah besar... seperti ALT (Alanin Transaminase), AST (Aspartat Transaminase), GGT (Gamma-glutamiltransferase), LD (Laktat dehidrogenase), alkali fosfatase dan 5'-Nukleotidase (Anderson & Cockayne 1993). Bila sel-sel hati rusak atau mengalami nekrosis, maka enzim-enzim tersebut keluar dari sel hati sehingga kadarnya dalam darah akan meningkat (Girindra 1989). Menurut Amin (1995) AST dan ALT merupakan indikator yang lebih baik untuk kerusakan hati karena peningkatan kedua enzim terjadi lebih awal dan umumnya peningkatan lebih drastis daripada enzim lainnya.

Enzim Alanin Transaminase (ALT) akan memindahkan gugus amino pada alanin ke gugus keto dari  $\alpha$ -ketoglutarat membentuk glutamat dan piruvat. Selanjutnya piruvat dirubah menjadi laktat. Reaksi tersebut dikatalis oleh enzim laktat dehidrogenase (LDH) yang membutuhkan NADH dalam reaksi yang dikatalisisnya. Persamaan reaksi dari aktivitas ALT dan LDH terlihat pada reaksi berikut:



Enzim Aspartat Transaminase (AST) mengkatalisis pemindahan gugus amino pada aspartat ke gugus keto dari  $\alpha$ -ketoglutarat membentuk glutamat dan oksaloasetat dan selanjutnya oksaloasetat diubah menjadi malat. Reaksi tersebut dikatalis oleh enzim malat dehidrogenase (MDH) yang membutuhkan NADH dalam reaksi yang dikatalisisnya.



## Saponin

Nama saponin diambil dari kata latin *sapo* (sabun) yang menggambarkan penggunaan tumbuhan yang mengandung saponin seperti *Saponaria officinalis* (Caryophyllaceae) untuk detergen (Harborne 1991). Robinson T. (1995) mendefinisikan saponin sebagai senyawa aktif permukaan yang kuat dan menimbulkan busa bila dikocok dalam air dan pada konsentrasi rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah, sehingga dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya membentuk busa dan menghemolisis darah (Harborne 1996).

Saponin merupakan senyawa glikosida yang berfungsi sebagai detergen alami. Secara kimia saponin merupakan steroid (C-27) atau triterpena glikosida (C-20). Salah satu contoh saponin dapat dilihat pada Gambar 1. Biasanya saponin memiliki satu atau lebih karbohidrat dan banyak terdistribusi dalam tanaman dan hewan laut (Rao 1996). Saponin terdiri dari tiga kelas yaitu: glikosida steroid, glikosida triterpena, dan glikosida alkaloid steroid (Harborne 1991). Golongan yang paling banyak ditemukan di dalam tumbuhan dan beberapa hewan laut adalah glikosida triterpena (Harborne 1991).

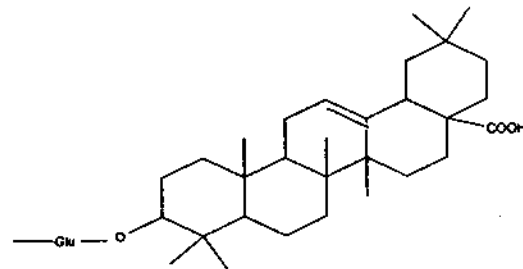
Saponin disintesis oleh lebih dari 500 spesies tumbuhan dari 90 famili (Harborne 1991). Menurut Harborne (1991) invertebrata laut pada filum *Achinodermata* adalah satu-satunya hewan yang memproduksi saponin). Penyebaran saponin tergantung kepada jenis saponin. Beberapa saponin steroid paling banyak ditemukan dalam keluarga *Liliaceae*, *Amaryllidaceae*, dan *Dioscoreaceae* (Robinson T 1995). Triterpen glikosida paling banyak ditemukan pada *Magnoliatae*, dengan famili: *Araliaceae*, *Caryophyllaceae*, *Leguminosae*, *Polygalaceae*, *Primulaceae*, *Sapindaceae* dan *Sapotaceae* (Harborne 1991).

Semua kelas dari saponin memiliki satu atau lebih rantai gula yang terikat pada aglikonnya, yang disebut genin atau sapogenin (Harborne 1991). Saponin monodesmosidat memiliki satu rantai gula yang terikat pada karbon 3. Saponin bidesmosidat memiliki dua rantai gula yaitu, 1 gula terikat pada ikatan eter pada karbon 3 dan satu gula terikat pada ikatan ester karbon 28 (saponin triterpena) atau pada karbon 26 (saponin steroidal) (Harborne 1991). Rantai yang ada dapat berbentuk jenuh atau bercabang, dan jumlah monosakarida terbanyak ditemukan pada glikosida triterpena yaitu tujuh (Harborne 1991).

Kelas terakhir dari saponin, yaitu glikosida alkaloid steroid, merupakan alkaloid steroid yang dimodifikasi dan biasanya terdapat sebagai glikosida C-3 atau ester. Strukturnya menyerupai saponin, dan kadang-kadang dipaparkan sebagai saponin yang mengandung nitrogen (Robinson 1995).

Kemampuan saponin untuk meracuni ikan dan menyebabkan terjadinya hemolisis pada darah, tidak berdampak racun pada tubuh manusia ketika saponin masuk secara oral ke dalam tubuh dari makanan. Beberapa tumbuhan mengandung saponin yang dijadikan bahan makanan seperti kedelai, bayam dan gandum tidak berbahaya untuk dimakan (Harborne 1991).

Keberadaan saponin dalam tumbuhan dapat juga dimanfaatkan sebagai obat bagi manusia. Menurut Lacaille Dubois dan Wagner (1996) aktivitas spesifik saponin termasuk aktivitas yang berhubungan dengan kanker seperti sitotoksik, antitumor, antiperadangan, antialergenik, antivirus, antihepatotoksi, antidiabetes, dan antifungal.



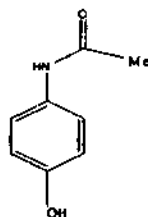
Gambar 1. Salah satu contoh saponin

## Parasetamol

Parasetamol mempunyai beberapa nama generik antara lain Acetaminofen, N-Hidroxyacetanilida, N-Acetil-P-Aminofenol. Struktur kimia parasetamol dapat dilihat pada Gambar 2.

Parasetamol merupakan derivat fenasetin dengan hidrolisa gugus etil sehingga terbentuklah suatu gugus hidroksil yang menggantikan gugus etil tersebut. Parasetamol berupa serbuk kristal berwarna putih, tidak berbau, rasanya pahit, peka terhadap udara dan cahaya, dan mempunyai pH 5,3 - 6,5 (Martindale 1989 diacu dalam A. Halimanto 1990).





Gambar 2. Struktur kimia parasetamol.

Kerusakan hati merupakan akibat yang merugikan dari pemakaian parasetamol, hal ini terjadi karena penggunaan parasetamol pada dosis besar atau penggunaan dalam jangka waktu lama. Sri (1999) telah melakukan penelitian pada tikus *Rattus norvegicus* yang diberi parasetamol dengan dosis 500 mg/kg BB secara oral selama 7 hari, hasil pemeriksaan histopatologis ditemukan adanya kerusakan hati. Pemberian parasetamol dosis 500 mg/kg BB dan 1000 mg/kg BB juga mengakibatkan kerusakan hati, ditunjukkan dengan adanya peningkatan serum ALT dan AST (Venkathesa *et al.* 2000).

Biotransformasi parasetamol akan terjadi di dalam hati. Sebagian besar akan terkonjugasi dengan asam glukoronat dan asam sulfat, sedangkan sisanya akan dioksidasi oleh sistem sitokrom P-450 mikrosomal sehingga terbentuk metabolit N-asetil-p-benzokinonimia (NAPKI) (Testa, 1981).

Jaringan hati dapat mendetoksifikasi NAPKI dengan jalan mengkonjugasikannya dengan glutathion, sehingga NAPKI tidak bersifat toksik lagi bagi sel, karena gugus radikal oksigennya yang reaktif telah diikat oleh glutathion (Testa 1976). Pemberian parasetamol dengan dosis tinggi atau dalam jangka waktu yang lama menyebabkan pengosongan glutathion hati sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel hati akibat adanya NAPKI yang toksik menurut hasil penelitian Dixon *et al.* (1971) dan Zhou *et al.* (1997) diacu dalam Vankatesha *et al.* (2000).

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang akar kuning dari Jambi, metanol, diklorometana, heksana, etil

asetat, kloroform, etanol, aseton, dan reagen Bergmeyer.

Alat-alat yang digunakan ialah, seperangkat alat refluks, alat-alat kaca, pengering putar, pengaduk magnet, dan spektrofotometer UV 340 nm.

### Metode Penelitian

Beberapa tahapan yang akan dilakukan dalam penelitian ini terdiri atas (1) persiapan ekstrak kasar saponin (2) uji khasiat hayati saponin.

#### Persiapan ekstrak kasar saponin

Persiapan ekstrak kasar saponin terdiri atas (1) penentuan kadar air, (2) uji fitokimia, (3) ekstraksi saponin (Gambar 2), (4) pengukuran tegangan permukaan.

**Penentuan Kadar Air** (Harborne 1987). Sebanyak 2 g serbuk akar kuning ditimbang dan dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 3 jam lalu ditimbang. Pemanasan dan penimbangan dilakukan berulang-ulang sampai didapat bobot tetap.

**Uji Fitokimia** (Harborne 1987). Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji flavonoid, uji alkaloid, uji tanin, uji steroid, uji terpenoid dan uji saponin.

**Uji Flavonoid.** Sebanyak 0.1 g contoh dimasukkan ke dalam 100 ml air panas kemudian dididihkan selama 5 menit. Sebanyak 5 ml filtratnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0.1 mg Mg, 1 ml HCl pekat dan 1 ml amil alkohol kemudian dikocok, apabila terjadi warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid.

**Uji Alkaloid.** Sebanyak 0.3 g contoh dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml kloroform-amoniak kemudian ditambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 M beberapa tetes dan dikocok sehingga terbentuk dua lapisan, lapisan asam (lapisan tak berwarna) dipipet ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan reagen Meyer. Terjadinya endapan putih menunjukkan bahwa contoh mengandung alkaloid.

**Uji Tanin.** Sebanyak 0.1 g contoh dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml metanol setelah itu ditambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Terjadinya warna biru, hijau atau ungu menunjukkan adanya tanin.

**Uji Saponin.** Sebanyak 1 g contoh dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 ml aquades selanjutnya dididihkan selama 5 menit setelah itu dikocok hingga berbusa. Adanya busa yang mantap selama 15 menit menunjukkan adanya saponin

**Uji Steroid dan Terpenoid.** Sebanyak 1 g contoh diekstraksi dengan 125 ml etanol panas kemudian ekstrak dikeringkan di dalam piringan porselen. Residu yang diperoleh dilarutkan dalam eter. Ekstrak yang larut dalam eter diuji dengan Lieberman Burchard. Residu yang tidak larut dalam eter, dihidrolisis dengan larutan  $\text{HCl}$  2 N. Residu yang didapat dilarutkan kembali dalam eter dan diuji dengan Lieberman Buchard. Terbentuknya warna biru atau hijau menunjukkan adanya steroid dan warna merah atau ungu menunjukkan adanya senyawa terpenoid.

**Ekstraksi.** Metode ekstrak yang dipakai adalah metode refluks menurut Beutler JA (1997). Alur kerja ekstraksi saponin dapat dilihat pada Gambar 3. Sebanyak 5 g batang akar kuning yang telah digiling, diekstraksi secara refluks dengan menggunakan etanol, metanol, atau larutan campuran antara metanol dan diklorometana dengan perbandingan 1:1 dan 1:2 sebanyak 25 ml selama 30 menit, dan dilakukan tiga kali pengulangan untuk mengekstrak senyawa polar yang berada dalam akar kuning. Ekstrak kasar metanol-diklorometana (EKMD) ini, kemudian dikeringkan menggunakan pengering berputar.

Hasil dari pengeringan EKMD selanjutnya direfluks lagi dengan heksana sebanyak 25 ml selama 30 menit, hal ini dilakukan tiga kali ulangan untuk menghilangkan lemak dan senyawa non polar. Setelah itu, EKMD yang sudah bebas lemak, diangin-anginkan selama 1 jam untuk menghilangkan sisa heksana.

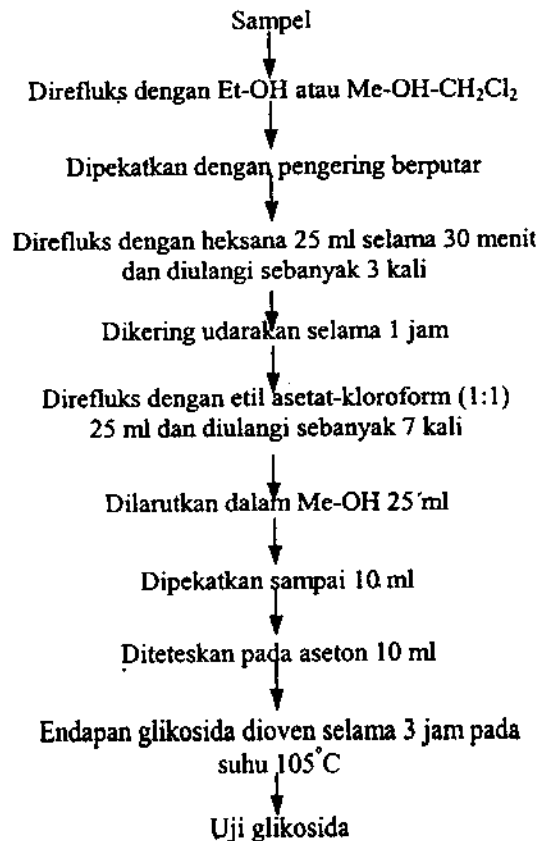
Selanjutnya, EKMD direfluks menggunakan larutan campuran antara etil asetat dan kloroform dengan perbandingan 1:1, sebanyak 25 ml dan dilakukan tujuh kali ulangan. Tujuan direfluks dengan larutan ini adalah menghilangkan senyawa-senyawa seperti flavonoid, alkaloid dan senyawa selain saponin.

Langkah berikutnya adalah mengendapkan glikosida dalam EKMD. EKMD dilarutkan dalam etanol sebanyak 25 ml, kemudian dipe-

katkan sampai volume etanol 10 ml. Larutan yang telah pekat ini lalu diteteskan ke dalam aseton 25 ml dan diaduk menggunakan batang pengaduk magnet, sampai semua glikosida mengendap.

Endapan glikosida yang terdapat dalam aseton, selanjutnya disaring dan dikeringkan dalam oven bersuhu  $105^\circ\text{C}$  sampai diperoleh bobot tetap.

**Uji Glikosida (Harborne 1987).** Sampel glikosida sebanyak 1 g dilarutkan ke dalam 5 ml aquadestilata dan ditambahkan  $\text{HCl}$  0,1 N sebanyak 1 ml. Selanjutnya larutan dipanaskan sampai mendidih dan dibiarkan selama 30 menit. Setelah itu, sebanyak 1 ml larutan diambil dan diberi  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat 0,5 ml dan larutan Molisch 1 ml, bila di dalam larutan terbentuk cincin coklat maka hal itu membuktikan adanya senyawa gula hasil hidrolisis saponin.



Gambar 3. Diagram alir ekstraksi saponin

**Pengukuran Tegangan Permukaan** (Rosen MJ 1987). Endapan glikosida dari masing-masing ekstrak atau standar saponin, dilarutkan ke dalam air kemudian diukur tegangan permukaannya. Tegangan permukaan larutan diukur menggunakan pipa kapiler. Larutan glikosida sebanyak 50 ml dimasukkan ke dalam tabung, setelah itu pipa kapiler dimasukkan ke dalam tabung. Tabung ditiup agar permukaan air pada pipa kapiler naik, dan dibiarkan selama 1 jam sampai permukaan air pada pipa kapiler tidak turun lagi. Perbedaan tinggi permukaan air pada tabung dan pipa kapiler diukur. Tegangan permukaan air dihitung dengan persamaan:  $\gamma = \rho \times g \times h \times \frac{1}{2} r$ . Keterangan  $\rho$ : densitas air;  $g$ : kecepatan gravitasi;  $h$ : perbedaan tinggi air di dalam tabung dan pipa kapiler;  $r$ : diameter pipa kapiler.

#### Uji Khasiat Hayati

Ekstrak yang paling banyak mengandung saponin, diberikan kepada hewan percobaan secara oral untuk melindungi hatinya. Sebagai model kerusakan hati, digunakan hewan coba tikus yang diberi parasetamol dengan dosis 500 mg/Kg bobot badan. Cara pembuatan larutan parasetamol dan larutan saponin dapat dilihat pada Lampiran 1. Selanjutnya dilakukan penentuan aktivitas serum AST dan ALT, setelah perlakuan.

**Hewan Percobaan.** Hewan percobaan yang dipakai dalam penelitian ini adalah tikus jantan dengan galur *sprague dawley* yang berumur 2 bulan dan memiliki bobot rata-rata 150 – 200 kg (Lampiran 2 ). Sebelum diberi perlakuan, tikus dipelihara dan diadaptasi selama 1 bulan di dalam kandang sampai umur dan bobotnya memenuhi syarat serta untuk mengurangi tingkat kecemasan.

Hewan percobaan dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol, kelompok hepatotoksik dan kelompok perlakuan. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.

Kelompok kontrol hanya diberi pakan standar, dan kelompok hepatotoksik diberi parasetamol tanpa diberi saponin selama 14 hari, dimulai pada hari ke-8 sampai hari ke-21. Kelompok perlakuan diberi saponin selama 7 hari, dimulai dari hari ke-0 sampai hari ke-7 selanjutnya diberi parasetamol selama 14 hari, dimulai pada hari ke-8, sampai hari ke-21.

**Pengukuran Aktivitas ALT dan AST.** Aktivitas saponin sebagai hepatoprotektor

diketahui dengan cara mengukur kadar enzim AST (aspartat transaminase) dan ALT (alanin transaminase) dalam darah tikus. Pengukuran dilakukan pada hari ke-0, -7, -14, dan -21.

Aktivitas AST dan ALT dalam darah tikus menggunakan metode Bergmeyer. Aktivitas AST diukur dengan cara: sampel serum darah tikus diambil sebanyak 0,2 ml lalu dicampur dengan reagens Bergmeyer 1,0 ml dan diinkubasi pada suhu 25°C selama satu menit. Pembacaan absorbansi dilakukan pada menit pertama, kedua dan ketiga dan ke-empat pada panjang gelombang 340 nm. Sedangkan untuk aktivitas ALT, sampel serum darah tikus diambil sebanyak 0.1 ml dan dicampur dengan reagen sebanyak 1 ml lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 menit. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 340 nm, pada setelah inkubasi kemudian diulangi pada menit 1,2 dan 3 setelah pembacaan pertama.

Perbedaan suhu inkubasi pada pengukuran AST dan ALT disebabkan karena aktivitas AST pada tikus lebih besar dari ALT, sehingga suhu inkubasi pada AST diturunkan menjadi 25°C, agar aktivitas dapat terhitung.

Perbedaan kandungan reagen untuk analisis AST dan ALT dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. kandungan reagen analisis AST dan ALT

Reagen untuk:	AST	ALT
	Bufer Tris	Bufer Tris
	L-Aspartat	L-Alanin
	LDH	LDH
	2-oksoglutarat	2-oksoglutarat
	NADH	NADH
	MDH	

Selanjutnya kadar AST atau ALT dihitung menggunakan persamaan dibawah ini:

kadar ALT =  $1745 \times \Delta A_{340 \text{ nm}} / \text{menit}$

kadar AST =  $952 \times \Delta A_{340 \text{ nm}} / \text{menit}$

Keterangan:  $\Delta A$ : rata-rata absorbansi pada menit pertama, kedua dan ketiga.

Contoh perhitungan terdapat pada Lampiran 3.

**Dosis Ekstrak Akar Kuning.** Manusia dengan bobot rata-rata 60 kg, umumnya menggunakan akar kuning sepanjang 1 jengkal dengan bobot rata-rata 45,2000 g lalu direbus dengan 2 gelas air sampai tinggal 1 gelas air. Lima gram serbuk akar kuning, mengandung ekstrak glikosida saponin seberat 0,1800 g.

sehingga berat saponin dalam 1 jengkal akar kuning seberat 45,2000 g yaitu:

$$\frac{0,1800g}{5,0000 g} = \frac{X}{45,2000 g}$$

$$X = 1,6272 g$$

1,6272 g adalah dosis yang diminum oleh manusia sehingga untuk tikus yang memiliki bobot rata-rata 200 g dibutuhkan saponin sebanyak:

$$\frac{1,6272 g}{60000g} = \frac{Y g}{200 g}$$

$$Y = 5,4240 mg$$

Sebanyak 5,4240 mg ekstrak glikosida saponin dilarutkan dalam 0,5 ml aquadestilata untuk diberikan kepada tikus. Pembuatan larutan glikosida saponin yang dibutuhkan selama perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 1.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kadar Air dan Uji Fitokimia

Pemeriksaan pendahuluan meliputi kadar air dan pemeriksaan adanya senyawa metabolit sekunder. Kadar air serbuk batang akar kuning yang diperoleh adalah 4.47%. Hasil uji fitokimia meliputi senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, terpenoid dan saponin disajikan pada Tabel 2. Hasil uji fitokimia, menunjukkan bahwa kandungan senyawa yang terdeteksi dalam akar kuning bukan hanya saponin, tetapi juga flavonoid dan alkaloid.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Serbuk Batang Akar Kuning

Uji	Hasil
Flavonoid	+
Alkaloid	+
Saponin	+++
Steroid	-
Terpenoid	-
Tanin	-

Keterangan: tanda +++: konsentrasi sangat banyak.

Saponin dalam akar kuning akan diekstrak menggunakan 4 macam pelarut yaitu: etanol, serta campuran metanol dan diklorometana pada nisbah 1:1 dan 2:1. Senyawa selain saponin

dalam ekstrak kasar dari 4 macam pelarut, akan dihilangkan dengan cara merefluks ekstrak kasar menggunakan campuran etil asetat-kloroform (1:1), dan mengendapkan glikosida dalam aseton. Glikosida mengendap di dalam aseton, demikian juga saponin, karena saponin merupakan salah satu jenis dari glikosida (Robinson 1991).

### Ekstraksi Saponin Menggunakan 4 Macam Pelarut

Pelarut yang digunakan adalah etanol, metanol dan campuran metanol-diklorometana dengan perbandingan 1:1 dan 2:1. Indeks polaritas dari keempat jenis pelarut adalah 4,3; 5,1; 4,1; 4,4 (Snyder 1978). Meningkatnya konsentrasi diklorometana dalam campuran, menurunkan indeks polaritas sehingga kepolaran campuran semakin menurun.

Bobot ekstrak kasar dari keempat jenis pelarut disajikan pada Tabel 3. bobot ekstrak kasar dari metanol dan campuran metanol-diklorometana adalah 40,62; 41,04; dan 40,69% dari 5 g sampel. Perbedaan polaritas dari metanol dan campuran metanol-diklorometana, tidak berpengaruh nyata pada bobot ekstrak yang didapat. Sedangkan bobot ekstrak yang didapat oleh etanol paling besar yaitu 80% dari 5 g sampel. Saponin dalam akar kuning lebih banyak larut dalam etanol, hal ini sesuai dengan pernyataan Robinson (1991), bahwa jenis pelarut yang cocok untuk mengekstraksi saponin adalah air dan etanol. Selain itu kemungkinan terjadi esterifikasi saponin oleh etanol. Menurut Dey (1991), esterifikasi saponin dapat terjadi sewaktu ekstraksi menggunakan alkohol. Esterifikasi saponin terjadi pada aglikon, dan menyebabkan perubahan pada struktur kimia saponin, karena etanol berikatan dengan aglikon. Selain itu juga akan menimbulkan kesalahan positif karena terjadinya penambahan bobot ekstrak kasar yang didapat.

Tabel 3. Persentase Bobot Ekstrak Kasar dari Empat Macam pelarut

Jenis ekstrak kasar	Bobot ekstrak kasar (%)
EKE (ekstrak kasar etanol)	80
EKM (ekstrak kasar metanol)	40,62
EKMD 11 (ekstrak kasar metanol- diklorometana 1:1)	41,04
EKMD 21 (ekstrak kasar metanol- diklorometana 2:1)	40,69

Senyawa metabolit sekunder selain saponin, dihilangkan dari ekstrak kasar dengan cara merefluknya menggunakan campuran etil asetat-kloroform (1:1), dan mengendapkan glikosida dalam aseton. Sebagai bukti bahwa yang mengendap adalah senyawa glikosida maka dilakukan uji terhadap gula yang terikat pada saponin, dengan menggunakan uji molisch dan hasilnya menunjukkan terbentuknya cincin coklat. Hal ini menunjukkan adanya senyawa gula pada glikosida. Bobot glikosida yang didapat dari ketiga jenis ekstrak, dapat dilihat pada Tabel 4. Glikosida yang berasal dari EKE memiliki bobot sebesar 0,2112 g, bobot ini paling besar diantara keempat jenis glikosida. Penyebab besarnya bobot glikosida EKE, mungkin karena terjadinya esterifikasi saponin oleh etanol pada ekstrak kasar, sehingga bobot glikosida yang mengendap bertambah. Sedangkan glikosida dari EKM, EKMD 11 dan EKMD 21, yang memiliki bobot terbesar adalah glikosida EKM. Perbedaan polaritas dari metanol dan campuran metanol-diklorometana, berpengaruh terhadap bobot glikosida yang didapat. Semakin besar kepolaran pelarut maka semakin banyak endapan glikosida yang didapat, karena semakin banyak pula jenis glikosida yang terlarut. Hal ini sesuai dengan sifat glikosida yang bersifat polar (Dey 1991).

Tabel 4. Bobot Glikosida dari Keempat Jenis Ekstrak

Jenis Ekstrak	Bobot glikosida (g)
EKE (1,0002 g)	0,2112
EKM (1,0000 g)	0,1075
EKMD 11 (1,0001 g)	0,0734
EKMD 21 (1,0002 g)	0,0738

Pengujian fitokimia kembali dilakukan pada glikosida, data hasil pengujian disajikan pada Tabel 5. Hasil pengujian menunjukkan, bahwa di dalam glikosida tidak lagi terdapat flavonoid, namun masih terdapat alkaloid sedikit. Flavonoid larut dalam etil asetat-kloroform (Robinson 1991). Semua jenis glikosida mengendap di dalam aseton (Dey 1991). Adanya alkaloid dalam endapan glikosida dari ekstrak kasar kemungkinan karena alkaloid juga terdapat dalam bentuk glikosida (Robinson 1991), sehingga ikut mengendap di dalam aseton.

Tabel 5. Uji fitokimia glikosida

Uji	glikosida			
	1	2	3	4
Flavonoid	-	-	-	-
Alkaloid	+	+	+	+
Saponin	+++	+++	+++	+++
Terpenoid	-	-	-	-
Steroid	-	-	-	-

Glikosida 1: berasal dari EKE

Glikosida 2: berasal dari EKM

Glikosida 3: berasal dari EKMD 21

Glikosida 4: berasal dari EKMD 11

+++; konsentrasi lebih banyak

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan (Dey 1991), sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan air yang melarutkannya. Konsentrasi saponin pada glikosida dapat diketahui dengan mengukur penurunan tegangan permukaan air. Glikosida dari ekstrak etanol tidak diukur karena glikosida yang didapat sudah dalam bentuk teresterifikasi, sedangkan yang ingin diketahui adalah penurunan tegangan permukaan air oleh glikosida yang belum mengalami perubahan struktur. Sebelum dilakukan pengukuran tegangan permukaan air yang dicampur dengan glikosida pada konsentrasi 1000 ppm, terlebih dahulu dilakukan pengukuran penurunan tegangan permukaan air yang

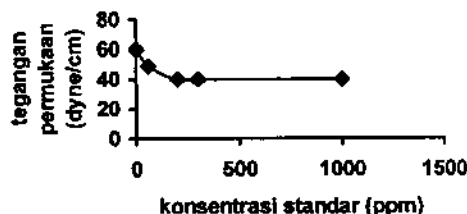


dicampur dengan standar saponin yang berasal dari kulit Quilaja. Saponin dari kulit quilaja sudah umum digunakan sebagai standar karena saponin murni yang sudah berhasil diekstrak adalah saponin dari kulit quilaja serta sudah diuji kemurniannya (Martin RS dan Briones R 2000). Standar dibuat dengan konsentrasi 0, 60 dan 200 ppm, sedangkan sampel glikosida dari ketiga jenis ekstrak dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm. Hasil pengukuran tegangan permukaan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil pengukuran tegangan permukaan larutan standar saponin Quilaja dan sampel glikosida

Konsentrasi standar (ppm)	Tegangan permukaan (dyne/cm)
0	60
60	48,8
200	39,8
300	39,8
1000	39,8
glikosida EKM (1000 ppm)	43,93
glikosida EKMD11 (1000 ppm)	42,8
glikosida EKMD 21 (1000 ppm)	40,1

Tegangan permukaan larutan pada konsentrasi 0 ppm sebesar 60 dyne/cm, merupakan tegangan permukaan aquadestilata. Tegangan permukaan larutan turun menjadi 48,8 dyne/cm setelah konsentrasi saponin menjadi 60 ppm, begitu juga untuk konsentrasi saponin 200 ppm, tegangan permukaan larutan turun menjadi 39,8 dyne/cm (Gambar 3). Namun, penurunan tegangan permukaan tidak terjadi jika konsentrasi ditingkatkan menjadi 300 ppm begitu juga untuk 1000 ppm. Hal ini kemungkinan dikarenakan telah terjadinya pembentukan misel kritis saponin. Pembentukan misel kritis adalah suatu keadaan ketika misel yang dibentuk oleh saponin mencapai tingkat kejenuhan, sehingga kemampuan saponin menurunkan tegangan permukaan air tidak akan terjadi lagi.



Gambar 4. Kurva standar saponin dari Quilaja.

Persamaan garis yang didapat dari kurva standar adalah  $Y = 57.723 - 0,0945X$ . Konsentrasi saponin pada ketiga jenis glikosida dapat diketahui dengan cara memasukkan nilai tegangan permukaannya ke dalam persamaan ini.

Tabel 7. Konsentarsi saponin dalam tiga jenis ekstrak

Ekstrak (1000 ppm)	konsentrasi saponin	
	(ppm)	(%)
EKM	145,96	14,596
EKMD 11	157,92	15,792
EKMD 21	186,49	18,649

Hasil perhitungan konsentrasi saponin dari ketiga jenis ekstrak, disajikan pada Tabel 7, dari hasil yang diperoleh yaitu bahwa EKMD 21 memiliki konsentrasi terbesar, hal ini menunjukkan kandungan saponin lebih banyak di dalamnya. Menurut Robinson (1991), saponin mudah larut dalam etanol atau dalam metanol, karena polaritas metanol-diklorometana 2:1 hampir sama dengan polaritas etanol, hal ini kemungkinan menyebabkan kandungan saponin lebih banyak di dalam EKMD 21.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, jumlah saponin terbaik berasal dari EKMD 21, maka untuk menentukan dosis saponin yang diujikan pada hewan percobaan menggunakan EKMD 21.

#### Uji Khasiat Hayati

Saponin diberikan pada tikus, sebelum hatinya dirusak oleh parasetamol. Enzim dalam hati yang digunakan sebagai penunjuk adanya kerusakan hati setelah pemberian parasetamol adalah ALT dan AST. Sebelum dan sesudah dilakukan pemberian saponin dan parasetamol, dilakukan pengukuran aktivitas AST dan ALT (lampiran 4, Tabel 16 dan 17). Hasil pengukuran rata-rata AST tikus sebelum perlakuan adalah

53,3996 U/L, hal ini sesuai dengan kisaran aktivitas AST tikus normal menurut Girindra (1989) yaitu sebesar 45.7 U/L – 80.8 U/L. Sehingga dapat dikatakan bahwa tikus dalam keadaan sehat. Demikian juga dengan hasil pengukuran ALT rata-rata tikus sebelum perlakuan sebesar 19,1365 U/L, nilai ini masuk dalam kisaran ALT tikus normal menurut Girindra (1989) yaitu sebesar 17 U/L – 30.2 U/L.

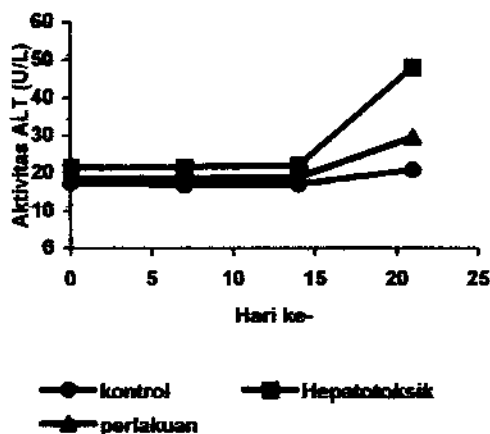
Pemberian saponin selama 7 hari pada kelompok perlakuan dilakukan sebelum pemberian parasetamol. Pemberian saponin tidak berpengaruh nyata pada perbedaan aktivitas serum ALT dan AST setelah dan sebelum pemberian (Gambar 5 dan 7). Aktivitas AST sebelum pemberian saponin adalah sebesar 59,4048 U/L dan setelah pemberian adalah 59,7094 U/L. Begitu juga dengan perbedaan yang terjadi pada aktivitas ALT sangatlah kecil. Aktivitas ALT sebelum pemberian adalah 18,5774 U/L dan aktivitas setelah pemberian adalah 18,4621 U/L (Gambar 5) Hal ini menunjukkan bahwa saponin tidak menyebabkan kerusakan hati, sehingga tidak mengakibatkan perbedaan aktivitas ALT dan AST.

Pemberian parasetamol pada kelompok hepatotoksik dan kelompok perlakuan, dilakukan selama 14 hari dimulai pada hari ke-8 sampai hari ke-21. Gambar 5 dan 7 menunjukkan bahwa pemberian parasetamol selama 7 hari belum memberikan pengaruh yang nyata terhadap kenaikan aktivitas AST dan ALT kelompok hepatotoksik. Aktivitas AST kelompok hepatotoksik sebelum perlakuan adalah 47,8856 U/L dan sesudah pemberian parasetamol hari ke-7 adalah 48,0189 U/L, sehingga kenaikan aktivitas yang terjadi sangat kecil (Gambar 7). Demikian juga dengan aktivitas ALT, sebelum pemberian adalah 21,6136 U/L dan sesudah pemberian parasetamol selama 7 hari adalah 22,0219 U/L. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian Herwiyanti (1999), yang menyatakan pemberian parasetamol dosis 500 mg/kg selama 7 hari menyebabkan kerusakan sebesar 6-25% pada sel hepar tikus *Ratus norvegicus*. Perbedaan hasil ini kemungkinan disebabkan karena tikus yang digunakan memiliki perbedaan galur, sehingga ketahanan tubuh tikus terhadap parasetamol juga berbeda.

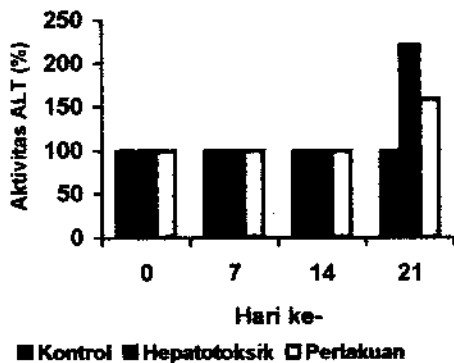
Perbedaan aktivitas serum AST dan ALT kelompok hepatotoksik menunjukkan perbedaan yang nyata setelah pemberian selama 14 hari, dapat dilihat pada Gambar 5 dan 6. Aktivitas ALT naik menjadi 48,0224 U/L atau meningkat sebesar 122,18% (Gambar 5) dibandingkan

aktivitas sebelum perlakuan, dan peningkatan untuk AST menjadi 109,8227 U/L, kenaikan yang terjadi sebesar 130,35% (Gambar 7).

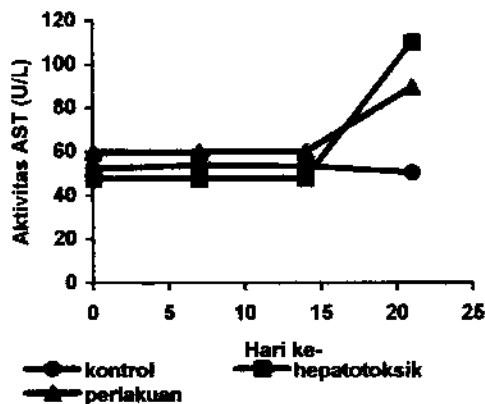
Perbedaan aktivitas AST dan ALT setelah pemberian parasetamol pada kelompok perlakuan, lebih kecil dibandingkan pada kelompok hepatotoksik. Gambar 5 menunjukkan aktivitas ALT sebelum perlakuan adalah 18,4621 U/L dan setelah pemberian parasetamol adalah 18,7413 U/L. Kenaikan aktivitas serum ALT kelompok perlakuan setelah 7 hari pemberian parasetamol sangat kecil sekali bahkan dapat dikatakan belum terjadi perubahan. Perubahan aktivitas serum AST (Gambar 7) setelah pemberian parasetamol 7 hari juga belum terlihat. Aktivitas ALT sebelum perlakuan adalah 59,7094 U/L dan setelah pemberian parasetamol 7 hari adalah 59,7666 U/L. Selanjutnya, kenaikan aktivitas serum AST dan ALT terlihat berbeda nyata setelah pemberian parasetamol selama 14 hari. Setelah pemberian parasetamol selama 14 hari, aktivitas ALT menjadi 29,3858 U/L, atau meningkat sebesar 59,17% (Gambar 5), sedangkan aktivitas AST menjadi 89,3738 U/L atau meningkat sebesar 49,68% (Gambar 8). Kenaikan aktivitas AST dan ALT pada kelompok perlakuan tidak sebesar kelompok hepatotoksik.



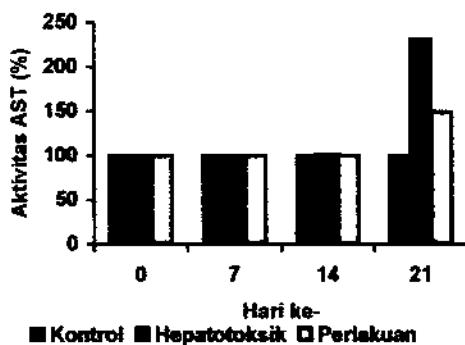
Gambar 5. Kurva perbedaan aktivitas serum ALT selama percobaan.



Gambar 6. Grafik persentase aktivitas ALT



Gambar 7. Kurva aktivitas serum AST selama percobaan.



Gambar 8. Grafik persentase aktivitas AST

Pemberian saponin sebelum pemberian parasetamol pada kelompok perlakuan memberikan pengaruh yang nyata pada kenaikan aktivitas serum AST dan ALT. Saponin mampu menghambat kenaikan aktivitas serum kenaikan sebesar 58% untuk serum AST dan 52% untuk serum ALT setelah pemberian saponin selama 14 hari. Hal ini menunjukkan bahwa saponin memiliki khasiat hayati sebagai hepatoprotektor. Mekanisme perlindungan hati oleh saponin diperkirakan karena saponin memiliki aktivitas biologi sebagai antioksidan (L. Dubois et al, 1996), sehingga mampu menghambat aktivitas sitokrom P-450. selain itu juga, aktivitas saponin sebagai antiperadangan (Harborne 1991), dapat menghambat kenaikan aktivitas serum AST dan ALT.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Pelarut yang efektif melarutkan saponin adalah campuran metanol dan diklorometana dengan perbandingan 2:1. Pereflikan dengan campuran etil asetat dan kloroform (1:1) pada suhu 70°C dan pengendapan glikosida pada ekstrak kasar, dapat mengurangi kandungan senyawa selain saponin sebelum proses pemurnian. Etanol tidak dapat digunakan sebagai pengekstrak saponin, karena kemungkinan dapat menyebabkan terjadinya esterifikasi pada aglikon glikosida.

Hasil uji aktivitas yang diperoleh, glikosida saponin memiliki aktivitas sebagai hepatoprotektor pada proses perusakan hati oleh parasetamol.

### Saran

Perlu dilakukan tahap pemurnian saponin lebih lanjut untuk memisahkan saponin dari glikosida lain yang ikut mengendap, sehingga dapat ditentukan jenis dan struktur saponin dalam akar kuning.

Efek hepatoprotektor dari akar kuning dapat ditingkatkan dengan cara mencari dosis efektif dan pengelompokan bobot tikus yang lebih beragam.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anderson SC, Cockayne S. 1993. *Clinical Chemistry Concepts and Applications*. Philadelphia: W. B. Saunders Company.
- Andrew HL. 1990. Efek ekstrak akar kayu manis terhadap kerusakan hati karena parasetamol dosis berlebih pada tikus [skripsi]. Jakarta: Universitas Indonesia, fakultas Pascasarjana Bidang Ilmu Kedokteran Dasar.
- [Anonim]. 24 Jan 2001. Indonesia Peringkat III Hepatitis B. *Kompas*.
- Amin I. 1995. Pengaruh pemberian seduhan rimpang kunyit (*Curcuma domestika*, VAL) terhadap aktivitas SGPT dan SGOT ayam [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Beutler JA, Kashman Y, Kardelliina JH, Alexander RMA, Balachak MS, Prather TS.. 1997. Isolation and Characterization of Novel Cytotoxic Saponin from *Archidendron ellipticum*. *Bioorg. Med. Chem.* 5:8. 1509-1517.
- Dey PM, Harborne JB. 1991. *Methods in Plant Biochemistry*. Volume-7. London: Academic Press.
- Dixon MF, Nimmo J, Prescott LF. 1971. Experimental paracetamol-induced hepatic necrosis; A histopathological study. *J. Pathol* 103:225-7.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Kosasih Padmawinata, penerjemah. Bandung: ITB.
- Herwiyanti S, Muhammad G. 1999. Gambaran histologi hepar tikus putih (*Ratus Novergicus*) setelah pemberian teh hijau dan parasetamol. *J Kedokteran Yarsi* 7(3):45-50.
- Hadi S. 1997. Aplikasi Tanaman Obat pada Penyakit Hati, hlm. 60-69. Bandung: Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia, 26-27 Juni 1997.
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia* Jilid IV. Jakarta: Balitbang Kehutanan.
- Girindra A. 1989. *Biokimia patologi hewan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor, Pusat Antar Universitas.
- Kunii T, Kagei K. 1985. *Indonesia Medicinal Plant. I. Furanoditerpenes from Arcangelisia flava Merr (L) [abstrak]*. Di dalam *Chem. Pharmaceutical Bul.* hlm 479-487
- Lacaille D, Wagner H. 1996. A review of the Biological and Pharmacological Activities of Saponins. *Phytomed* 2:363-386.
- Lipkin R. 1995. *Scientists Tout the Health Benefits of Saponins*. *Science New*. 148
- Lu FC. 1995. *Toksikologi Dasar: asas organ sasaran dan penilaian resiko*. Nugroho E, penerjemah. Jakarta: UI-Press.
- Martin RS dan Briones R. 2000. Quality control commercial quillaja (quillaja saponaria) extracts by reverse phase HPLC. *J. Sci. Food Agric.* 80: 2063-2068.
- Mesitiani Y. 2001. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkloid dari Akar Kuning [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Nuryanti S. 1993. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Batang Kayu Kuning [Tesis]. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Rao AV. 1996. Anticarcinogenic Properties of Plant Saponin. Di dalam: *Second International Symposium on Role of Soy in Preventing and Treating Chronic Disease*, September 1996. Belgium: Brussels.
- Robinson T. 1995. *Kandungan kimia organik tumbuhan tinggi*. Bandung: ITB.
- Rosen MJ. 1987. *Surfactants and interfacial phenomena*. New York: Wiley-Interscience.
- Suparto. 2000. Pengembangan Akar Kuning sebagai Obat Asli Indonesia Tahap II. Di dalam *Laporan Penelitian Kerjasama Pusat Studi Biofarmaka LP-IPB dan PT Indofarma*.
- Soeseno S, Siregar M. Mei 1989. Kayu Kuning Melawan Sakit Kuning. *Trubus* 234 Th. XX.

- Testa B, Kupfer JB. 1982. Drug metabolism; Chemical and biochemical aspect. New York: Marcel Dekker.
- Testa B, Jenner P. 1981. Inhibitor of cytochrome P-450 and their mechanism of action. *Drug. Metab. Rev.* 12:1-117.
- Tijosoepomo G. 1994. *Taksonomi Tumbuhan Obat*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Venkatesha U, Kulkarni KS, Rafiq Md, Gopumadhavan S, Venkataranganna MV, Mitra SK. 2000. Effect of HD-03 on level of various enzymes in paracetamol- induce liver damage in rat. *J Pharm.* 32:361-364.
- Williamson EM, Okpako DT, Evans FJ. 1996. *Selectin preparation and pharmacological evaluation of plant material*. P.47. New York: John Wiley and Sons.
- Zhou L, Erickson RR, Holtzman JL. 1997. Studies comparing the kinetics of cystein conjugation and protein binding of acetaminophen by hepatic microsome from male mice. *Biochem. Biophys. Acta* 1335:153-60.

## **LAMPIRAN**

### Lampiran 1. Pembuatan larutan parasetamol dan saponin

Dosis yang dipakai adalah 500 mg/kg BB tikus. Berat rata-rata tikus adalah 200 g. Parasetamol yang diperlukan 1 ekor tikus adalah:

$$\frac{500 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ g} = 100 \text{ mg}$$

100 mg dilarutkan dalam 0,5 ml untuk diberikan kepada tikus. Larutan parasetamol persediaan dibuat sebanyak 150 ml, untuk 10 ekor tikus selama 14 hari.

Pembuatan larutan persediaan:

Sebanyak 30 g parasetamol ditimbang, kemudian dilarutkan ke dalam 150 ml aquadestilata dan dilakukan sonifikasi untuk membuat larutan homogen. Larutan parasetamol disimpan di dalam botol gelap, dan dilakukan sonifikasi setiap akan diberikan ke tikus.

Dosis saponin yang diberikan ke tikus dengan berat 200 g adalah 5,4240 mg didalam 0,5 ml aquadestilata. larutan saponin persediaan dibuat sebanyak 100 ml untuk 5 ekor tikus selama 7 hari.

Pembuatan larutan persediaan:

Sebanyak 1,0848 g glikosida saponin ditimbang dan dilarutkan ke dalam 100 ml aquadestilata selanjutnya disonifikasi untuk membuat larutan homogen dan disimpan di dalam botol gelap.

### Lampiran 2. Daftar bobot tikus

#### Bobot tikus umur 1 bulan

Tikus ke-	<u>Bobot tikus (g) kelompok</u>		
	Kontrol	Hepatotoksik	Perlakuan
1	42	55	90
2	65	62	70
3	45	59	80
4	50	59	75
5	46	42	70

#### Bobot tikus umur 1 bulan 15 hari

Tikus ke	<u>Bobot tikus (g) kelompok</u>		
	Kontrol	Hepatotoksik	Perlakuan
1	90	120	170
2	100	140	140
3	100	130	175
4	100	120	168
5	100	100	150

## Bobot Tikus Umur 2 Bulan

Tikus ke-	Bobot tikus (g) kelompok		
	Kontrol	Hepatotoksik	Perlakuan
1	110	180	200
2	145	185	205
3	150	190	205
4	150	195	208
5	175	175	208

## Lampiran 3. Contoh perhitungan aktivitas AST dan ALT

Perhitungan aktivitas AST:

Aktivitas AST = 952 X  $\Delta A$  340 nm/menit

Dari hasil pengukuran absorbans didapat:  $A_1 = 1,2746$

$$A_2 = 1,1990$$

$$A_3 = 1,1294$$

$$A_4 = 1,0650$$

$$\Delta A = A_{(n)} - A_{(n+1)} \quad \Delta A/\text{menit} = (\Delta A_1 + \Delta A_2 + \Delta A_3) : 3$$

$$\Delta A_1 = 0,0756 \quad \Delta A_2 = 0,0696 \quad \Delta A_3 = 0,0644 \quad \Delta A/\text{menit} = 0,0698$$

$$\text{Aktivitas AST} = 952 \times 0,0698 = 66,4496 \text{ U/L}$$

Perhitungan aktivitas ALT:

Aktivitas ALT = 1745 X  $\Delta A$  340 nm/menit,

Dari hasil pengukuran absorbans didapat:  $A_1 = 0,7906$

$$A_2 = 0,7791$$

$$A_3 = 0,7679$$

$$A_4 = 0,7624$$

$$\Delta A_1 = 0,0115 \quad \Delta A_2 = 0,0112 \quad \Delta A_3 = 0,0055 \quad \Delta A/\text{menit} = 0,0094$$

$$\text{Aktivitas ALT} = 1745 \times 0,0094 = 16,403 \text{ U/L}$$

## Lampiran 4. Aktivitas serum AST dan ALT

Tabel 8. Aktivitas serum ALT hari ke-0

Kelompok	ALT tikus ke- (U/L)					Rata-rata (U/L)
	1	2	3	4	5	
Kontrol	12,5640	17,7990	23,6738	17,1010	16,0540	17.4384 $\pm$ 3.6000
Hepatotoksik	20,4747	26,5822	16,8102	25,2443	17,8572	21.3937 $\pm$ 3.9015
Perlakuan	21,1145	15,7632	18,0320	12,9712	25,0059	18.5774 $\pm$ 4.1811



Tabel 9. Aktivitas serum AST hari ke-0

Kelompok	AST tikus ke- (U/L)					Rata-rata (U/L)
	1	2	3	4	5	
Kontrol	80,6158	53,6928	40,3648	40,9360	48,9328	52.9084 ± 14.7296
Hepatotoksik	45,3152	53,6928	38,9368	61,9752	39,5080	47.8856 ± 8.8217
Perlakuan	23,0384	92,0584	66,8304	65,3072	49,7896	59.4048 ± 22.6769

Tabel 10. Aktivitas serum ALT hari ke-7

Kelompok	ALT tikus ke- (U/L)					Rata-rata (U/L)
	1	2	3	4	5	
Kontrol	13,1457	17,4500	23,6157	13,3202	16,0540	16.7171 ± 3.8174
Hepatotoksik	23,0067	22,3942	16,4030	28,3853	17,7990	21.6136 ± 4.2506
Perlakuan	20,5910	15,7632	17,9735	13,6692	24,3137	21.6136 ± 4.2506

Tabel 11. Aktivitas serum AST (U/L) hari ke-7

Kelompok	AST tikus ke- (U/L)					Rata-rata (U/L)
	1	2	3	4	5	
Kontrol	73,4944	56,3584	38,6512	48,3616	51,7888	16.9242 ± 3.2716
Hepatotoksik	48,5520	52,1696	36,9378	60,7376	39,9840	22.0219 ± 4.6724
Perlakuan	22,4672	92,3440	67,4016	66,4496	49,8848	18.7413 ± 3.5119

Tabel 12. Aktivitas serum ALT hari ke-14

Kelompok	ALT tikus ke- (U/L)					Rata-rata (U/L)
	1	2	3	4	5	
Kontrol	14,0124	17,6827	22,8595	14,0124	16,0540	16.9242 ± 3.2716
Hepatotoksik	23,7320	23,0340	16,0540	29,3160	17,9735	22.0219 ± 4.6724
Perlakuan	20,5910	15,8795	18,6715	14,3090	24,2555	18.7413 ± 3.5119

Kontrol	74,0656	58,3893	37,8896	43,1256	52,9312	53.2826 ± 12.6352
Hepatotoksik	49,9800	52,4552	36,7472	61,0232	39,8888	48.0189 ± 8.7839
Perlakuan	22,9432	91,6776	67,9728	66,2592	49,9800	59.7666 ± 22.7136

Tabel 14. Aktivitas ALT hari ke-21

Kelompok	ALT tikus ke- (U/L)					Rata-rata (U/L)
	1	2	3	4	5	
Kontrol	18,2062	25,3607	25,4770	17,0428	17,5663	20.7306 ± 3.8458
Hepatotoksik	50,1978	24,3718	58,2248	52,1173	55,3002	48.0224 ± 12.1364
Perlakuan	24,6045	31,4100	26,6403	37,3430	26,9312	29.3858 ± 4.5571

Tabel 15. Aktivitas AST hari ke-21

Kelompok	AST tikus ke- (U/L)					Rata-rata (U/L)
	1	2	3	4	5	
Kontrol	60,2298	68,5440	40,7456	45,3152	36,3664	50.2402 ± 22.6769
Hepatotoksik	144,5136	90,8208	124,5216	80,5392	108,7184	109.8227 ± 22.9753
Perlakuan	65,4976	104,3392	69,8768	153,4624	53,6928	89.3738 ± 36.2068

Tabel 16. Perubahan aktivitas rata-rata ALT

Hari	Aktivitas ALT Kelompok (U/L)		
	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Saponin
0	17.4384 ± 3.6000	21.3937 ± 3.9015	18.5774 ± 4.1811
7	16.7171 ± 3.8174	21.6136 ± 4.2506	21.6136 ± 4.2506
14	16.9242 ± 3.2716	22.0219 ± 4.6724	18.7413 ± 3.5119
21	20.7306 ± 3.8458	48.0224 ± 12.1364	29.3858 ± 4.5571

Tabel 17. Perubahan Aktivitas Rata-rata AST

Hari	Aktivitas AST Kelompok (U/L)		
	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Saponin
0	52.9084 ± 14.7296	47.8856 ± 8.8217	59.4048 ± 22.6769
7	53.7309 ± 11.4673	47.6762 ± 8.5562	59.7094 ± 23.0353
14	53.2826 ± 12.6352	48.0189 ± 8.7839	59.7666 ± 22.7136
21	50.2402 ± 22.6769	109.8227 ± 22.9753	89.3738 ± 36.2068