A PRELIMINARY STUDY ON ACUTE TOXICITY EFFECTS OF CRUDE EXTRACT ALKALOID ISOLATED FROM TUBER OF AKA BAGUAK (*Stephania hernandifolia* Walp. : MENISPERMACEAE)

(Studi Pendahuluan Terhadap Efek Toksisitas Akut Ekstrak Kasar Alkaloid Umbi Aka Baguak *Stephania hernandifolia* Walp.: Menispermaceae)

Putra Santoso*, Nilla Djuwita Abbas, Warneti Munir
Biology Department, Faculty of Mathematic and Natural Science Andalas University Padang
Kampus Unand Limau Manis Padang 25163
***medisant_smart@yahoo.com**

ABSTRACT

Medicinal plant called Aka Baguak (*Stephania hernandifolia* Walp.: Menispermaceae) is one of the important sources of alkaloid found in its wholeorgan. A crude extract alkaloid ethyl-3 isolated from tuber indicated some positive pharmacological effects but its toxicity effects is less known. A preliminary study on its acute toxicity effect on albino mouse (*Mus musculus* L) was conducted by using experimental method with completely randomized design in factorial pattern. Male albino mice were treated with several dose levels of alkaloid (0, 25, 50, and 75 mg/kg of body weight or bw) for 24, 48, and 72 hours of exposure periods. Blood samples were collected at the end of treatment then analyzed for its erytrhorcye and leucocyte counts and total protein plasm concentration. It was found that the substance caused acute toxicity effect on albino mice indicated by significantly decline in erythrocyte count at the dosages 50 mg/kg bw for 72 hours of exposure period and at 75 mg/kg bw for 24, 48, 72 hours of exposure periods. Leucocyte count showed significantly increasing only at the dosage 75 mg/kg bw for 24 hours of exposure period and total protein plasm concentration significantly decreased at 50 and 75 mg/kg bw for 24 and 72 hours of exposure periods. Based on safety category, it belong to very toxic to very higly toxic substance.

Key Words : *alkaloid, Stephania hernandifolia, acute toxicity*

PENDAHULUAN

"Aka Baguak" atau Akar Kalempuyang (*Stephania hernandifolia* Walp.) adalah spesies tumbuhan dari famili Menispermaceae yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan obat–obatan. Secara tradisional, tumbuhan tersebut sering dipakai untuk mengobati penyakit astma, tuberkulosis, gangguan saluran urin (Tomita and Ueda, 1959), demam dan pencegah kehamilan (Maiti *et al.*, 1999). Sedangkan dalam pengobatan modern, banyak pula digunakan sebagai antihipertensi (Ogino *et al.*, 1990), antidiabetes (Nahr *et al.*, 1994), obat gangguan usus (Yakida and Sukegawa, 1996), antimalaria (Ono and Kosuke, 1998), dan pencegah aktivitas karsinogenik (Angerhoper *et al.*, 1999) serta obat penyakit maltitis (Jhonson and Wyatt, 2004).

**Makalah disampaikan pada SEMIRATA BKS-PTN Wilayah Barat Ke-21, Pekanbaru 10-11 Mei 2010*

Sebagai tumbuhan berkhasiat obat, *S. hernandifolia* Walp. ternyata memiliki kandungan alkaloid yang sangat bervariasi. Kupchan *et al.*(1968) berhasil mengisolasi menyatakan alkaloid 4–dimetil hasubanon dari daunnya. Sedangkan Kariyone (1979) menemukan senyawa hernandin dan hernandifolin pada daun dan kulit batang. Pada bagian umbi juga didapatkan senyawa suhkodianine, palmatin (Sari, 2000), aportin (Zain, 2000), dan dihydrocrebanin. Emrizal (2001) telah mengisolasi ekstrak kasar alkaloid dari umbinya yang disebut alkaloida etil-3 *S. hernandifolia* Walp. (Emrizal, 2001).

Beberapa penelitian terdahulu mengindikasikan adanya efek farmakologis dari ekstrak kasar alkaloida etil-3 *S. hernandifolia* Walp. Diantaranya adalah potensi antikarsinogenik (Emrizal, 2001), anti hamil karena mereduksi kuantitas ovari (Silvia, 2003) dan menyebabkan gangguan perkembangan embrio (Purnama, 2003; Sari, 2003). Sebagai salah satu langkah validasi efek fisiologis laainnya, diperlukan uji toksisitas dari senyawa ini sehingga dapat dijadikan bahan pertimbangan dalam memformulasikan potensinya sebagai sediaan obat di masa mendatang. Uji toksisitas akut adalah bagian penting yang harus dilakukan terutama terhadap parameter nilai darah karena dapat memberikan deskripsi gangguan fisiologis secara lebih representatif.

METODE DAN BAHAN

Senyawa ekstrak kasar alkaloida etil-3 *S. hernandifolia* diperoleh dari Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang. Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimen memakai rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial dengan dua faktor perlakuan dan empat kali ulangan. Adapun faktor perlakuannya adalah dosis alkaloid yang dilambangkan dengan faktor A (A1, A2, A3, dan A4 untuk dosis 0, 25, 50, and 75 mg/kg berat badan atau bb) dan faktor lama pendedahan yang dilambangkan dengan B (B1, B2, B3 untuk pendedahan 24, 48, dan 72 jam). Senyawa alkaloid dilarutkan dalam CMC 5% sebelum diinjeksikan kepada mencit putih jantan. Sampel darah dikoleksi setiap akhir periode perlakuan dengan menggunakan jarum sedot darah yang telah dibilas dengan EDTA 10%. Selanjutnya dilakukan penghitungan kuantitas eritrosit dan leukosit dengan menggunakan hemositometer *Improved Neubauer* dengan menggunakan larutan Hayem dan Turk (Mengacu kepada Simmon, 1980). Untuk menghitung konsentrasi protein plasma darah total, sampel darah disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm kemudian diambil sampel plasmanya dan diukur kadar protein

plasma darah menggunakan refraktometer jenis Atago SPRN tipe VC. 1,00 – 1,050 (Brown, 1980). Data hasil penelitian dianalisis dengan analisis varian dan uji Duncant (DNMRT) pada taraf kesalahan 5%.

HASIL DAN DISKUSI

Pemberian ekstrak kasar alkaloida etil-3 *S. hernandifolia* Walp. kepada mencit putih jantan ternyata dapat menimbulkan efek toksisitas akut terhadap darah. Hal tersebut diindikasikan dengan adanya perubahan pada beberapa parameter nilai darah yaitu penurunan kuantitas eritrosit, peningkatan kuantitas leukosit total dan penurunan kadar protein plasma darah. Perubahan masing-masingnya dapat dilihat pada Tabel berikut :

Tabel 1. Kuantitas Eritrosit Rata-Rata (sel/mm^3) Mencit yang Diperlakukan dengan Ekstrak Kasar Alkaloida Etil-3 *S. hernandifolia* Walp.

Dosis Alkaloid	Lama Pendedahan (Jam)		
(mg/kg BB)	B1 (24)	B2 (48)	B3 (72)
A1 (0)	5.937.500 a	5.817.500 a	5.845.000 a
A2 (25)	4.870.000 ab	4.657.500 a	5.620.000 a
A3 (50)	4.152.500 ab	4.085.000 a	3.826.000 b
A4 (75)	3.831.250 b	2.580.000 b	3.050.000 b

Ket : Angka-angka yang tidak diikuti oleh huruf kecil yang sama pada kolom yang sama, berbeda nyata pada uji DNMRT 5% untuk faktor dosis (A)

Tabel 2. Kuantitas Leukosit Rata-Rata (sel/mm^3) Mencit yang Diperlakukan dengan Ekstrak Kasar Alkaloida Etil-3 *S. hernandifolia* Walp.

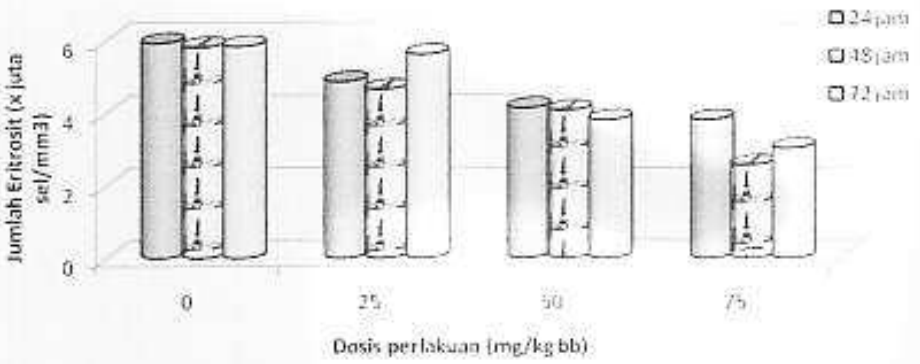
Dosis Alkaloid	Lama Pendedahan (Jam)		
(mg/kg BB)	B1 (24)	B2 (48)	B3 (72)
A1 (0)	7.250 A	7.225 A	7.225 A
A2 (25)	8.963 A	9.313 A	7.600 A
A3 (50)	9.875 A	7.928 A	7.550 A
A4 (75)	14.386 B	7.750 A	6.813 A

Ket : Angka-angka yang tidak diikuti oleh huruf kapital yang sama pada kolom yang sama, berbeda nyata pada uji DNMRT 5% untuk faktor lama pendedahan (B)

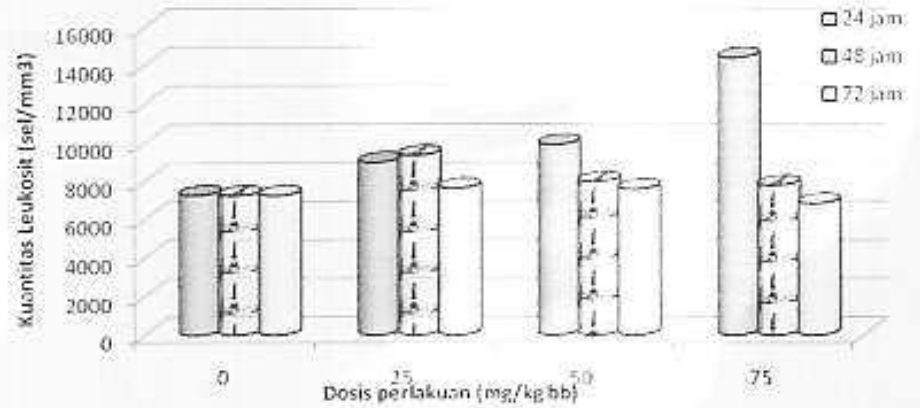
Tabel 3. Kadar Protein Plasma Total (g/dl) Darah Mencit yang Diperlakukan dengan Alkaloida etil 3 *S. hernandifolia* Walp.

Dosis Alkaloid	Lama Pendedahan (Jam)		
(mg/kg BB)	B1 (24)	B2 (48)	B3 (72)
A1 (0)	5,40 a	5,35 a	5,38 a
A2 (25)	5,00 a	4,98 a	4,82 ab
A3 (50)	3,70 b	4,36 a	4,05 b
A4 (75)	3,72 b	5,15 a	4,40 ab

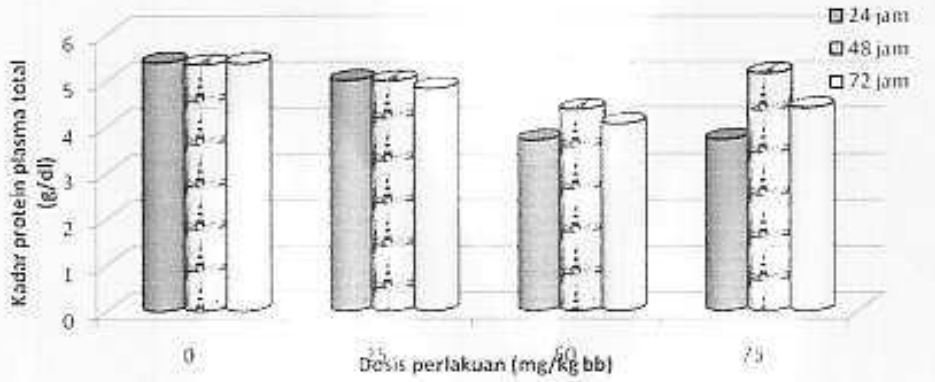
Ket : Angka-angka yang tidak diikuti oleh huruf kecil yang sama pada kolom yang sama, berbeda nyata pada uji DNMRT 5% untuk faktor dosis (A).



Grafik 1. Pola perubahan kuantitas eritrosit mencit putih jantan yang diperlakukan dengan ekstrak kasar alkaloida etil-3 S. hernandifolia Walp.



Grafik 2. Pola perubahan kuantitas leukosit mencit putih jantan yang diperlakukan dengan ekstrak kasar alkaloida etil-3 S. hernandifolia Walp.



Grafik 3. Pola perubahan kadar protein plasma total mencit putih jantan yang diperlakukan dengan ekstrak kasar alkaloida etil-3 *S. hernandifolia* Walp.

Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa kuantitas eritrosit terendah terdapat pada perlakuan A4B2 (dosis 75 mg/kg BB; 48 jam), sedangkan yang tertinggi terdapat pada kontrol A1B1 (0 mg/kg BB; 24 jam). Dari analisa sidik ragam ternyata faktor dosis memberikan efek utama terhadap kuantitas eritrosit, sedangkan faktor lama pendedahan tidak berpengaruh nyata. Kuantitas eritrosit cenderung menurun selaras dengan peningkatan dosis alkaloid yang diberikan (Grafik 1). Dari uji lanjut faktor dosis diketahui bahwa penurunan kuantitas eritrosit yang signifikan terdapat pada perlakuan A3B3 (50 mg/kg BB; 72 jam), dan A4B1, A4B2, A4B3 (dosis 75 mg/kg bb ; 24, 48, 72 jam). Efek toksisitas akut alkaloid terhadap eritrosit yang signifikan muncul pada dosis menegah (50 mg/kg BB) dan dosis tinggi (75 mg/ kg BB).

Kuantitas leukosit tertinggi terdapat pada perlakuan A4B1 (75 mg/kg BB; 24 jam) dan terendah terdapat pada perlakuan A4B3 (75 mg/kg BB; 72 jam) (Tabel 2). Peningkatan kuantitas leukosit yang signifikan hanya terdapat pada perlakuan A4B1 (75 mg/kg BB; 24 jam). Setelah dianalisa sidik ragamnya ternyata hanya faktor lama pendedahan yang memberikan efek utama terhadap kuantitas leukosit. Kuantitas leukosit cenderung meningkat pada lama pendedahan 24 jam selaras dengan pertambahan dosis alkaloid yang diberikan. Namun pada lama pendedahan 48 dan 72 jam, kuantitasnya cenderung stabil. Pola kecenderungan tersebut dapat dilihat pada Grafik 2.

Berdasarkan Tabel 3 terlihat bahwa kadar protein plasma total darah mengalami penurunan setelah diperlakukan dengan alkaloid jika dibandingkan dengan kontrol. Kadar protein plasma total terendah terdapat pada perlakuan A3B1 (50 mg/kg BB; 24 jam) dan tertinggi terdapat pada kontrol A1B1 (0 mg/kg BB; 24 jam). Penurunan kadar protein plasma total yang signifikan terdapat pada perlakuan A3B1, A3B3 (50 mg/kg BB; 24 dan 72 jam) dan perlakuan A4B1 (75 mg/kg BB; 24 jam). Dari analisa sidik ragam ternyata faktor dosis memberikan efek utama terhadap kadar protein plasma total darah, sedangkan faktor lama pendedahan tidak berpengaruh secara signifikan. Penurunan kadar protein plasma total darah tersebut selaras dengan peningkatan dosis alkaloid yang diberikan (kecuali pada perlakuan dengan dosis alkaloid 75 mg/kg BB) (Grafik 3).

Perubahan yang terjadi pada eritrosit mencit merupakan ekspresi dari efek toksisitas akut alkaloida etil-3 *S. hernandifolia* Walp. Terjadinya penurunan kuantitas

eritrosit dimungkinkan oleh adanya proses hemolisis. Bain (2006) menyatakan bahwa senyawa alkaloid dari group isoquinolin memang berpotensi untuk menimbulkan hemolisis pada sel-sel darah sehingga kuantitasnya menurun secara drastis. Mekanisme hemolisis ini menurut Takamura (1998), terjadi sebagai manifestasi ketidakseimbangan osmolaritas ion intra dan ekstraseluler karena alkaloid tersebut menghambat mobilisasi ion melalui membran sel. Penurunan kuantitas eritrosit juga dapat disebabkan oleh gangguan pada sintesis eritrosit di sum-sum tulang. Proses sintesis yang lamban tidak dapat mengimbangi laju destruksi yang cepat akibat hemolisis sehingga kuantitas eritrosit menurun. Likhitwitayawuid *et al.* (1993) melaporkan bahwa alkaloid aporpin dari *S. tertandra* sangat berpotensi untuk menekan laju mitosis hemositoblast (bakal eritrosit) di sum-sum tulang secara cepat sehingga sintesis eritrosit terhambat.

Terjadinya peningkatan kuantitas leukosit mencit dimungkinkan oleh adanya reaksi imunologis tubuh terhadap senyawa alkaloid yang diberikan karena leukosit merupakan salah satu komponen pertahan tubuh. Menurut Nerurkail *et al.* (2004), alkaloid seringkali bertindak sebagai penginduksi imunitas semu dimana substansi tersebut menginduksi terbentuknya reaksi imunologis tubuh secara singkat, namun akan bersifat netral (tanpa efek) dalam kurun waktu lebih lama. Keberadaan senyawa alklaoid di dalam darah akan dideteksi sebagai antigen sehingga tubuh akan meresponnya dengan meningkatkan kuantitas leukosit.

Penurunan kadar protein plasma total darah dimungkinkan oleh adanya gangguan pada metabolisme protein dan sintesis plasma di hati. Dharmananda (1994) melaporkan bahwa senyawa tetrahidropalmatin dari *S. tertandra* dapat menghambat produksi plasma darah di hati dalam kurun waktu relatif singkat. San *et al.* (2003) juga menyatakan bahwa alkaloid berpotensi untuk menghambat proses metabolisme protein sehingga prekursor pembentuk protein plasma darah berkurang.

Perubahan-perubahan yang terjadi pada parameter nilai darah (eritrosit, leukosit dan protein plasma) merupakan indikator kuat adanya bioaktivitas hemotoksik dari ekstrak kasar (crude extract) alkaloid yang diberikan. Sebagian besar efek toksisitas akut yang

muncul terjadi pada dosis menengah (50 mg/kg bb) dan dosis tinggi (75 mg/kg bb). Mengacu kepada kriteria toksisitas yang dikemukakan oleh Lu (1995) maka dapat dinyatakan bahwa senyawa alkaloid tersebut termasuk kedalam kategori sangat beracun. Dengan demikian diperlukan analisis-analisis aspek biologi dan farmakologis lainnya secara komprehensif.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan tentang efek toksisitas akut ekstrak kasar alkaloida etil-3 *S. hernandifolia* walp. terhadap darah mencit putih jantan dapat disimpulkan bahwa senyawa tersebut bersifat hemotoksik terhadap mencit putih yang diindikasikan oleh penurunan kuantitas eritrosit dan kadar protein total plasma serta peningkatan kuantitas leukosit. Efek hemotoksisitas akut yang muncul dominan pada dosis menengah dan dosis tinggi (50 mg/kg bb dan 75 mg/kg bb) dan termasuk kategori senyawa sangat beracun.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih yang dalam kami haturkan kepada Dr. Dedi Prima Putra, M.Sc. dari Fakultas Farmasi UNAND atas kerjasamanya dalam penyediaan zat alkaloid dari umbi aka baguak, dan kepada Dra. Dewi Imelda Roesma, Dr.phil.nat. Nurmiati, serta Dra. Netty Marusin yang telah memberikan koreksi dan saran terhadap hasil penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Angerhofer, CK, Gunaudeau H, Wongpanich V, Pezzute JM and Cordell GA.(1999). Antiplasmodial and Cytotoxic Activity of Natural Bisbenzylisoquinoline Alkaloids. *J. Net. Prod.* 62 (1), 59-66.

Bain, B.J. 2006. *Blood Cells : A Pratical Guide, Fourth Edition.* Massachussete : Balckwell Publishing Company.

Emrizal. (2001). *Isolasi Alkaloid dan Uji Brine Shrimp dari Umbi Tumbuhan Stephania hernandifolia Walp.*Universitas Andalas. Padang.

Jhonson, T, R Wyatt. (2004). *Stephania hernandifolia Walp. utilization.* http//: www. herbage.info/tej/files/1955.htm. 5 Januari 2008.

Kariyone, T. (1979). *Annual Index of the Repport on Plant Chemistry in 1971.* Hirokawa Publishing Comp. Inc. Tokyo.

Katzung, B. G. (1995). *Farmakologi Dasar dan Klinik.* EGC. Jakarta.

Kupchan, SM., M. I. Suffines MI, White DNJ, Mephil AT and Sim GA. (1968). The Isolation and Structural of 4-Dimetthylhasubanone, A New Alkaloid from *Stephania hernandifolia*. *J. Org. Chem.* 33 (12), 4529-4531.

Likhitwitayawuid, K. Angerhofer CK. Chan H. Pezzuto JM, Cordell GA and Rungrungsi N. (1993). Cytotoxic and Antimalarial Alkaloids from the Tubers of *Stephania pierrei*. *J. Nat. prod.* 56 (9),1468-1478.

Liu, QY. E Karpinski and PK Kang. (1992). *Tertandrine Inhibits Both T and l Calcium Channel Currents in Ventricular Cells*. Department Physiology University of Alberta. Edmonton.

Machin, D., S.Day, and S. Green. (2006). *Textbook of Clinical Trials, Second Edition*. Jhon Wiley & Sons, Ltd. : Philadelphia.

Maiti, R., S. Choudbury, U.B. Das, S. Chattopadhyay., D. Ghosh. (1999). Evaluation of Effect of Leaves Extract of *Stephania hernandifolia* as Female Contraceptive Agent in Mature Albino Rats. *J. Bio. Sci.* (4) : 13-6.

Nahr, N., L. Ali, B. Rokeya, A.K. Khan, M. Nur-E-Alam, R.P. Nandi. (1994). Hypoglicemic Effect of Three Plants from Eastern Himalayan belt. *Diab. Res.* Vol. 26. 127 – 38.

Ogino, T., S. Sato, M. Chin, K. Kawashima. (1990). *Antihypertensives Containing New Alkaloid*. Tsumara and Co. Japan.

Ono, M., H. Kosuke. (1998). Alkaloid of Stephania Species (Manispermaceae) as Chloroquine Resistance-Overcoming Agents, and antimalarial Agents Containing them. *Nat. Med.* 98-311919.

Purnama, IZ. (2003). *Uji Pengaruh Pemberian Alkaloida Etil-3 Stephania hernandifolia Walp. terhadap Perkembangan Awal Embrio Mencit (Mus musculus L.) Putih*.Universitas Andalas. Padang.

Sari, YE. (2003). *Uji Efek Teratogenitas Alkaloida Etil-3 Stephania hernandifolia Walp. Terhadap Embrio Mencit (Mus musculus L.) Putih*.Universitas Andalas. Padang.

Sari, Y. O. (2000). *Isolasi Senyawa Aktif Brine Shrimp Dari Fraksi Polar Ekstrak Methanol Akar Stephania hernandifolia Walp*. Skripsi Sarjana Farmasi FMIPA Universitas Andalas. Padang.

Silvia, N. (2003). *Pengaruh pemberian Alkaloida etil-3 Stephania hernandifolia Walp. terhadap perkembangan Ovari Mencit (Mus musculus L.) Putih*.Universitas Andalas. Padang.

Simmons, A. (1980). *Technical Hematology 3th Edition*. JB. Lippincott company. Philadelphia.

Takamura, H. (1998). *Effect of Tertandhrine on Calcium Mobilization in Non-Excitables cells*. http ://www. memaster.ca/ inabis98/ kwan/ takamura.0224/ indext. html.15 Februari 2008.

Tomita, M., S. Ueda. (1959). Alkaloid of Manispermaceae Plants CLXXIIIV, Alkaloid of Indian Drugs Which Originates from *Stephania hernandifolia*. *Chem. Abs.* 53. 220421.

Yakida, A., and Y. Sukegawa. (1996). Alkaloids *from manispermaceae for Treatment of Intestinal Diseases*. Kaken Drug Japan. Kokai Co. Tokyo.

Zain, U. (2000). *Isolasi Alkaloid Dari Batang Stephania hernandifolia Walp*. Skrisi Sarjana farmasi FMIPA Universitas Andalas. Padang.