

# Penapisan Senyawa Bioaktif Sitotoksik Dari Berbagai Anggrek Liar Sumatera Barat

Deddi P. Putra\* dan Nurainas\*\*

\* Jur. Farmasi dan \*\* Jur Biologi FMIPA Unand.

## ABSTRAK

Telah diperoleh sebanyak 46 koleksi tumbuhan anggrek liar dari tiga lokasi (Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi Universitas Andalas, Cagar Alam Lembah Anai dan Hutan Lindung Panti Pasaman). Kandungan senyawa metabolit sekunder berupa yang terdeteksi diantaranya alkaloid (2 spesies), terpenoid (40 spesies), steroid (38 spesies), fenolik (42 spesies), flavonoid (26 spesies) dan tidak ada yang terdeteksi positif mengandung saponin. Pemeriksaan aktifitas sitotoksik dari ekstrak tumbuhan anggrek liar ini memberikan hasil 9 spesies aktif terhadap uji kematian larva anak udang ( $LC_{50} < 1000$  ppm).

**Key Word:** Orchidaceae, Brine Shrimp Lethality Assay (BSLA), Sitotoksik

## PENDAHULUAN

Tumbuhan anggrek di Indonesia selama ini hanya baru dikenal sebagai tanaman hias. Sebaliknya tumbuhan anggrek khususnya di Cina telah digunakan sebagai obat tradisional sejak ribuan tahun yang silam untuk mengobati berbagai jenis penyakit seperti tuberkulosis, demam, asma, aprodisiak atau obat kuat (Farnsworth, 1990; Kong, et al. 2003). Hutan tropis Indonesia sudah dikenal sangat kaya dengan plasma nutfah dan beberapa hasil kegiatan survey di Sumatera Barat sering dijumpai berbagai jenis anggrek dan sampai saat ini masih belum banyak diteliti (Putra, 1998; Arbain dkk., 1999; 2001; Bakhtiar, dkk., 2000).

Dewasa ini, tingkat kerusakan hutan makin meningkat terutama dengan adanya *illegal logging*. Disamping itu, perdagangan jenis-jenis anggrek di Indonesia belum begitu ketat sehingga cukup sulit membedakan kalau yang diperdagangkan tersebut adalah hasil budidaya atau diambil dari habitatnya di hutan. Dengan demikian kelestarian tumbuhan anggrek perlu menjadi perhatian.

Daerah Sumatera Barat termasuk daerah yang memiliki hutan yang kaya akan jenis-jenis anggrek. Hanya saja upaya pelestarian dan inventarisasi belum banyak dilakukan. Disamping itu pemahaman masyarakat terhadap tumbuhan ini, kecuali untuk tanaman hias, masih rendah. Padahal, sebagaimana tumbuhan lainnya, anggrek memiliki banyak kegunaan dan mengandung zat yang bermanfaat dan dapat dijadikan sebagai salah satu sumber 'lead compounds' yang dapat dikembangkan untuk berbagai keperluan seperti obat misalnya. Sebagai contoh, alkaloid yang berhasil diisolasi dari angrek *Dendrobium nobile* yang dibudidayakan di Eropah ternyata memiliki kemampuan membunuh sel kanker (Miyazawa et.al., 1997; Miyazawa, et.al., 1999).

Mengingat potensi tumbuhan anggrek dan belum tergalinya jenis-jenis yang ada di Sumatera Barat, perlu dilakukan upaya penelitian yang lebih sistimatis seperti kegiatan

inventory dan kajian-kajian pendahuluan metabolit sekunder serta aktifitas biologis yang terkandung didalamnya.

## BAHAN DAN METODA

*Bahan:* Sampel anggrek liar dikoleksi dari tiga lokasi yaitu Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi Universitas Andalas, Lembah Anai dan Sekitarnya dan Hutan Cagar Alam Panti Pasaman.

*Metoda survey etnobotani dan fitokimia:* Sampel dikoleksi langsung dilokasi tujuan dengan mengambil seluruh bagian tumbuhan; daun berikut batang dan akarnya. Sebagian digunakan untuk voucher specimen untuk disimpan di Herbarium Universitas Andalas, sisanya untuk diuji kandungan kimia serta diekstraksi untuk uji aktifitas sitotoksiknya. Seluruh sample dicatat dan diberi nomor urut sesuai dengan aturan batu pembuatan herbarium.

Pada konsidi yang dikhawatirkan terjadi kerusakan, sample disimpan dalam plastik dan diberi alcohol untuk mencegah rusaknya sample uji.

*Metoda Uji Kandungan Kimia:* 2-4 gram material uji digerus dengan sejumput pasir halus dan diberi klorofom 10 ml, setelah halus ditambahkan 10 ml kloroform amoniak dan diaduk sejenak. Pipet cairan kloroform dan masukkan ke dalam test tube. Tambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N sebanyak 10 tts, kocok perlahan dan diamkan sejenak. Albil lapisan asam dibagian atas dengan pipet bersih dan masukkan ke dalam tes tube kecil. Beri 1 tts reagen Mayer's dan terbentuknya endapan putih memberikan indikasi (+) adanya alkaloid.

*Pengujian kandungan flavonoid dilakukan sebagai berikut:* 2-4 gram sample dipotong halus dan direfluk dengan etanol 25 ml selama 15 menit dan disaring. Uapkan sari etanol hingga tinggal setengah volume. Ambil 1 ml dengan pipet dan masukkan ke dalam tabung reaksi kecil, tambahkan beberapa tetes HCL pekat dan beberapa butir logam Mg. Terbentuknya warna orange hingga merah menandakan adanya kandungan flavonoid.

*Pengujian kandungan terpen/steroid, saponin dan fenolik:* Sisa sari etanol untuk pengujian flavonoid diuapkan hingga kering. Tambahkan air suling dan eter (atau kloroform) masing-masing 5 ml dan dikocok perlahan. Biarkan kedua lapisan memisah sempurna, ambil lapisan air dan masukkan kedalam tabung reaksi. Kocok dengan kuat, apabila terbentuk busa yang konstan selama 15 menit dan tidak hilang oleh penambahan asam encer menunjukkan adanya senyawa saponin. Penetapan adanya kandungan fenolik dapat dikenal melalui terbentuknya warna hijau-biru apabila lapisan air ditetesi pereaksi FeCl<sub>3</sub> 1%. Penetapan senyawa terpen/steroid dilakukan dengan melewati sari eter/kloroform pada arang aktif, sari jernih yang keluar ditetaskan pada tiga lobang plat tetes dan biarkan masing-masingnya menguap hingga kering. Pada lobang yang mengandung ekstrak diberikan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (LB), sisanya asam asetat anhidrat dan asam sulfat saja. Terbentuknya warna hijau-ungu dengan pereaksi LB menunjukkan adanya senyawa steroid, apabila terbentuk warna merah menandakan adanya terpenoid.

*Uji kematian larva udang (Brine Shrimp Letality Assay):* Telur udang *Artemia salina* Leach dimasukkan ke dalam wadah berisi air laut, dalam 24 jam akan menetas dan digunakan setelah larva yang berumur 48 jam. Untuk tiap ekstrak disiapkan dengan menimbang sebanyak 20 mg dan dilarutkan dengan metanol 2 ml (Lar A). Buat

konsentrasi bertingkat dengan sebagai berikut: Pipet 500 µl dan masukkan ke dalam 3 vial. Ambil 200 µl larutan A dan cukupkan dengan methanol menjadi 2 ml (Lar B), kemudian pipet 500 µl dan masukkan ke dalam 3 vial. Ambil sisa larutan B 200 µl dan cukupkan dengan metanol hingga 2 ml dan pipet 500 µl ke dalam 3 vial. Siapkan 1 vial berisikan 500 µl metanol saja sebagai kontrol. Uapkan ke 10 vial tersebut hingga kering dan tambahkan 50 µl DMSO. Masukkan air laut 3 ml dan ambil anak udang (umur 48 jam) sebanyak 10 ekor dengan bantuan pipet Pasteur. Cukupkan volume air laut hingga 5 ml. Amati kematian larva setelah 24 jam dan hitung persentase kematian dan LC<sub>50</sub> dengan program Finney.

## HASIL DAN DISKUSI

Hasil survey etnobotani yang dilakukan di tiga lokasi eksplorasi diperoleh jenis-jenis anggrek seperti pada Tabel 1. Dari lokasi Hutan Pendidikan dan Penelitian Biologi Universitas Andalas didapatkan 18 jenis anggrek. Dari hutan sekitar Lembah Anai didapatkan 15 anggrek dan dari hutan Cagar Alam Panti Pasaman didapatkan 13 jenis anggrek.

Dari jenis-jenis yang didapatkan angrek yang terbanyak diperoleh pada pepohonan sebagai habitusnya. Hanya 5 jenis yang merupakan anggrek tanah. Pada umumnya jenis-jenis anggrek yang dijumpai belum dikenal oleh masyarakat kegunaannya di riga lokasi penelitian, tidak sebagaimana di luar negeri beberapa diantaranya cukup populer sebagai obat (Jenis *Dendrobium* misalnya).

No	No. Koleksi	Jenis	Ket /Habitus
<i>Lokasi Hutan Pendidikan dan Penelitian Unand</i>			
1	HPPB 06-01	<i>Dendrobium crumenatum</i>	Epifit
2	HPPB 06-02	<i>Arundina graminifolia</i>	Terestial
3	HPPB 06-03	<i>Dendrobium lacionosum</i>	Epifit
4	HPPB 06-04	<i>Agrostophyllum bicuspidatum</i>	Epifit
5	HPPB 06-05	<i>Appendiculata undulata</i>	Epifit
6	HPPB 06-06	<i>Bulbophyllum lasianthum</i>	Epifit
7	HPPB 06-07	<i>Appendiculata reflexa</i>	Epifit
8	HPPB 06-08	<i>Bulbophyllum medusae</i>	Epifit
9	HPPB 06-09	<i>Dendrobium carnosum</i>	Epifit
10	HPPB 06-10	<i>Cymbidium lancifolium</i>	Epifit
11	HPPB 06-11	<i>Dendrobium salaccense</i>	Epifit
12	HPPB 06-12	<i>Dendrobium sp</i>	Epifit
13	HPPB 06-13	<i>Liparis viridiflora</i>	Epifit
14	HPPB 06-14	<i>Nd</i>	Epifit
15	HPPB 06-15	<i>Claderia viridiflora</i>	Terestial
16	HPPB 06-16	<i>Spathoglottis plicata</i>	Terestial
17	HPPB 06-17	<i>Vanda tricolor</i>	Epifit
18	HPPB 06-23	<i>Coelogyne asperata</i>	Epifit
<i>Lembah Anai dan Sekitarnya</i>			
19	LA-INS 06-01	<i>Dendrobium subulatum</i>	Epifit

20	LA-INS 06-02	<i>Bulbophyllum sp</i>	Epifit
21	LA-INS 06-03	<i>Dendrobium truncatum</i>	Epifit
22	LA-INS 06-04	<i>Cymbidium finlaysonianum</i>	Epifit
23	LA-INS 06-05	<i>Bulbophyllum sp2</i>	Epifit
24	LA-INS 06-06	Nd	Epifit
25	LA-INS 06-07	<i>Thecostele sp</i>	Epifit
26	LA-INS 06-08	<i>Acriopsis javanica</i>	Epifit
27	LA-INS 06-09	<i>Dendrobium carnosum</i>	Epifit
28	LA-INS 06-10	<i>Dendrobium crumenatum</i>	Epifit
29	LA-INS 06-11	<i>Podochillus tenuis</i>	Epifit
30	LA-INS 06-12	<i>Dendrobium sp</i>	Epifit
31	LA-INS 06-13	Nd	Epifit
32	LA-INS 06-14	Nd	Epifit
33	LA-INS 06-15	Nd	Epifit
<i>Cagar Alam Panti Pasaman</i>			
34	Pnt-E 06-01	<i>Spathoglottis sp</i>	Terestial
35	Pnt-E 06-02	<i>Dendrobium sp</i>	Epifit
36	Pnt-E 06-03	<i>Dendrobium carnosum</i>	Epifit
37	Pnt-E 06-04	<i>Liparis sp</i>	Epifit
38	Pnt-E -6-05	<i>Thecostelesp</i>	Epifit
39	Pnt-E 06-07	<i>Dendrobium sp</i>	Epifit
40	Pnt-E 06-08	<i>Bulbophyllum sp</i>	Epifit
41	Pnt-E 06-09	<i>Vanda sp</i>	Epifit
42	Pnt-E 06-10	Nd	Epifit
43	Pnt-E 06-12	<i>Cymbidium sp</i>	Epifit
44	Pnt-E 06-13	Nd	Epifit
45	Pnt-E 06-14	<i>Cymbidium sp</i>	Epifit
46	Pnt-E 06-15	<i>Appendiculata sp</i>	Epifit

Tabel 1. Jenis-jenis anggrek yang berhasil dikoleksi di tiga lokasi eksplorasi.  
(Nd = belum teridentifikasi)

Pemeriksaan kandungan kimia dengan metoda Culvenos-Fitzgeral untuk mengetahui keberadaan senyawa golongan alkaloida dan Simes dkk untuk mengetahui keberadaan senyawa golongan flavonoid, terpenoid/ steroid, saponin dan fenolik ditampilkan pada Tabel 2.1.

Hasil pemeriksaan menunjukkan keberadaan senyawa alkaloid tidak terdeteksi, tidak sebagaimana hasil penelusuran literature bahwa jenis *Dendrobium* mengandung alkaloid. Kemungkinan kandungan alkaloid tidak terdeteksi karena keberadaannya sebagai senyawa minor. Pemeriksaan terhadap keberadaan kandungan flavonoid cukup besar (56 %) demikian juga dengan kandungan fenolik (91 %). Kandungan terpenoid (87 %) dan steroid (82 %) terlihat cukup tinggi apabila dibandingkan dengan rata-rata tumbuhan yang berbentuk pepohonan. Hanya 4% atau 2 spesies yang mengandung alkaloid dan jumlahnya diperkirakan amat kecil (1+) dan sebaliknya golongan saponin tidak terdeteksi.

No	No Col.	Kandungan Kimia						LC <sub>50</sub> (ppm)
		Alk	Flav	Terp	Ster	Fenlk.	Sap	
1	HPPB 06-01	+/-	+	+	+	+	-	2,0
2	HPPB 06-02	-	+	+	+	+	-	144
3	HPPB 06-03	-	-	-	+	+	-	>1000
4	HPPB 06-04	-	+	+	+	+	-	31,0
5	HPPB 06-05	-	-	+	+	+	-	>1000
6	HPPB 06-06	-	+	+	+	+	-	2,10
7	HPPB 06-07	-	+	-	-	+	-	>1000
8	HPPB 06-08	-	+	+	+	+	-	>1000
9	HPPB 06-09	-	+	+	+	+	-	24,0
10	HPPB 06-10	-	+	+	-	+	-	178,0
11	HPPB 06-11	-	-	+	+	+	-	>1000
12	HPPB 06-12	-	+	+	+	+	-	>1000
13	HPPB 06-13	-	+	+	-	+	-	72,0
14	HPPB 06-14	+/-	-	+	+	+	-	>1000
15	HPPB 06-15	-	+	+	+	+	-	>1000
16	HPPB 06-16	-	-	+	+	+	-	>1000
17	HPPB 06-17	-	-	+	+	+	-	>1000
18	HPPB 06-23	-	+	+	-	+	-	>1000
19	LA-INS 06-01	-	+	+	+	+	-	>1000
20	LA-INS 06-02	-	-	+	+	+	-	>1000
21	LA-INS 06-03	-	-	+	+	+	-	>1000
22	LA-INS 06-04	-	+	+	+	+	-	>1000
23	LA-INS 06-05	-	+	+	+	+	-	>1000
24	LA-INS 06-06	-	+	+	+	+	-	>1000
25	LA-INS 06-07	-	+	+	+	+	-	>1000
26	LA-INS 06-08	-	-	+	+	-	-	>1000
27	LA-INS 06-09	-	+	+	+	+	-	135,4
28	LA-INS 06-10	-	-	+	+	+	-	>1000
29	LA-INS 06-11	-	-	+	+	+	-	>1000
30	LA-INS 06-12	-	-	-	-	-	-	809,1
31	LA-INS 06-13	-	+	+	-	+	-	>1000
32	LA-INS 06-14	-	+	+	+	+	-	>1000
33	LA-INS 06-15	-	-	+	+	+	-	>1000
34	Pnt-E 06-01	-	-	+	+	+	-	>1000
35	Pnt-E 06-02	-	-	+	+	+	-	>1000
36	Pnt-E 06-03	-	+	+	+	+	-	>1000
37	Pnt-E 06-04	-	-	+	-	+	-	>1000
38	Pnt-E -6-05	-	+	+	+	+	-	>1000
39	Pnt-E 06-07	-	+	+	+	+	-	>1000
40	Pnt-E 06-08	-	-	+	+	+	-	>1000
41	Pnt-E 06-09	-	+	-	+	+	-	549,0
42	Pnt-E 06-10	-	+	+	+	+	-	>1000
43	Pnt-E 06-12	-	-	+	+	+	-	>1000
44	Pnt-E 06-13	-	+	+	+	+	-	>1000

45	Pnt-E 06-14	-	-	-	-	+	-	>1000
46	Pnt-E 06-15	-	-	-	+	+	-	>1000

Tabel 2. Hasil pemeriksaan kandungan kimia dan aktifitas sitotoksi tumbuhan anggrek hasil koleksi.

Hasil pemeriksaan aktifitas sitotoksik dengan menentukan tingkat kematian 50% larva udang ( $LC_{50}$ ) dengan *Brine Shrimp Lethality Assay* menunjukkan keberadaan senyawa aktif sitotoksik dan hasil pemeriksaan ditampilkan pada Tabel 2. Secara umum apabila  $LC_{50}$  bernilai kecil dari 1000 ppm maka pada ekstrak diduga mengandung senyawa aktif sitotoksik. Semakin kecil nilai  $LC_{50}$  dapat dikatakan semakin besar toksisitasnya.

Sampel No Col. HPPB 06-01 dan No Col LA-INS 06-09 dipilih untuk diteliti lebih lanjut atas dasar aktifitas sitotoksik yang dimilikinya. Hasil fraksinasi dengan penalar n-heksana, etil asetat dan butanol diperlukan untuk melacak dimana kemungkinan beradanya senyawa aktif sitotoksik berada. Pekerjaan isolasi dan pengujian lanjut terhadap senyawa hasil isolasi *in progress*.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penelitian terhadap jenis-jenis anggrek liar di Sumatera Barat cukup beragam dimana telah didapatkan 46 isolat anggrek dan pengujian aktifitas sitotoksik dan kandungan kimia menunjukkan adanya senyawa yang menarik untuk diteliti lebih lanjut. Penetapan senyawa aktif yang bertanggung jawab terhadap aktifitas sitotoksik memerlukan penelitian dengan melakukan isolasi, pemurnian dan karakterisasi senyawa hasil isolasi. Elusidasi struktur senyawa aktif hanya dimungkinkan dengan bantuan peralatan seperti NMR dan Mass spectrometer.

Diharapkan penelitian terhadap adanya aktifitas biologis lain seperti aktifitas antimikroba, antioksidan dan aktifitas farmakologis lainnya perlu ditindaklanjuti.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Arbain, D., D. P. Putra, M. H. Mukhtar dan R. Tamin, (1999), "Skrining Bioaktifitas Tumbuhan Taman Nasional Kerinci Seblat", PSTO Unand-KEHATI.
2. Arbain, D., R. Tamin, M.H. Mukhtar and D.P. Putra, (2001), "Chemical study of biologically active constituents of Sumatran plants", Report PPUPS-URGE.
3. Bakhtiar, A., D. Arbain, D. P. Putra, Dachriyanus, M.H. Mukhtar dan R. Tamin, (2000), "Inventory dan Skrining Bioaktifitas Tumbuhan Taman Nasional Siberut", Report PSTO Unand-TNS.
4. Burkill, I.H., "A Dictionary of the Economic Product of Malaypeninsula Vol. II", (1966), Government of Malaysia and Singapore by Ministry of Agriculture and Cooperatives, Kuala Lumpur, Malaysia.
5. Culvenor, C.C.J. and J.S. Fitzgerald, A Field Method for Alkaloid Screening of Plants, (1963), *J. Pharm. Sci.*, **52**, 303.

6. Farnsworth, NR., The Role of Ethnopharmacology in Drug Development, (1990), Ciba Foundation Symposium 154. Bioactive Compounds from Plants, Baffins Lane, Chichester (England), John Willey & Sons, p. 2-21.
7. J.L. Mc Laughlin, (1991), "Crown Gall Tumors on Potato Disk and Brine Shrimp Lethality: Two Simple Bioassays for Higher Plants Screening and Fractionation" in Methods in Plant biochemistry, Ed. K. Hornstedtman, Vol. 6, Academic Press, New York
8. Kong J-M, N-K Goh, L-S. Chia and T-F Chia, (2003), Recent Advance in Traditional Plant Drugs and Orchids, Acta Pharmacol Sin, Jan; 24 (1): 7-21.
9. Miyazawa M, H. Shimamura, S. Nakamura and H. Kameoka, (1997), Antimutagenic Activity of Gigantol from *Dendrobium nobile*. *J. Agric Food Chem*, 45:2849-53.
10. Miyazawa M, H. Shimamura, S. Nakamura, W. Sugiura , H. Kosaka and H. Kameoka, (1999), Moscatilin from *Dendrobium nobile*, a Naturally Occuring Bibenzyl Compound with Potential Antitumor Activity, *J. Agric Food Chem*, 47:2263-7.
11. Putra, D. P., (1998), "Skrining aktifitas antimikroba tumbuhan obat daerah Padang Pariaman dan Kerinci", Report SPP-DPP UNAND.
12. Simes, J.J.H., *et al.*, (1959), "Australian Phytochemical Survey III", Bulletin No. 281, CSIRO, Australia, Melbourne.
13. Yunaidi dan Naurainas, (2004), Jenis-Jenis Tumbuhan Anggrek di Taman Nasional Siberut, Balai TNS-Herbarium Unand.