LAPORAN AKHIR

POTENSI SENYAWA ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBAT SIKLOOKSIGENASE-1 (COX-1) YANG DIISOLASI DARI KLIKA ONGKEA (*Mezzetia parviflora* Becc.) SEBAGAI ANTIAGREGASI PLATELET

PROGRAM INSENTIF DASAR
KEMENTERIAN NEGARA RISET DAN TEKNOLOGI

LEMBAGA PENELITIAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR

JL. PERINTIS KEMERDEKAAN KM. 11 90245 TAMALANREA MAKASSAR

TELP. 0411 584 024, FAX 0411 584 024

TAHUN 2007

Keterangan Umum

Judul Penelitian : Potensi Senyawa Antioksidan dan Penghambat Siklooksigenase-1 yang Diisolasi dari Klika Ongkea (*Mezzettia Parviflora* Becc.) Sebagai Antiagregasi Platelet

Fokus Bidang Penelitian : Teknologi Kesehatan dan Obat-Obatan

Lokasi Penelitian : Universitas Hasanuddin

Keterangan Lembaga Pelaksana/ Pengelola Penelitian	
A. Lembaga Pelaksana Penelitian	
Nama Koordinator/ Peneliti Utama	Mufidah, S.Si., M.Si., Apt.
Nama Lembaga/ Institusi	Universitas Hasanuddin
Unit Organisasi	Lembaga Penelitian
Alamat	Perintis Kemerdekaan KM. 10 Makassar
Telepon/Faksimile/e-mail	(0411) 588556
B. Lembaga lain yang terlibat	
Nama Koordinator	Alamsyah, S.Si.
Nama Lembaga	Laboratorium Klinik Prodia
Unit Organisasi	Bagian Penunjang Penelitian
Alamat	Jl. Gunung Batu Putih No. 2, Makassar
Telepon/Faksimile/e-mail	(0411) 873110

Rekapitulasi BiayaTAHUN I: (dalam ribuan)

No.	Uraian	Jumlah (Rp)
1	Gaji dan Upah	36.300
2	Bahan Habispakai	92.330
3	Peralatan	2.500
4	Perjalanan	2.100
5	Lain-lain	16.000
	Jumlah Biaya	153.230 (Seratus lima puluh tiga juta dua ratus tiga puluh ribu rupiah)

Makassar, 6 November 2007

Mengetahui,
Ketua Lembaga Penelitian
Universitas Hasanuddin

Koordinator Kegiatan

Prof. DR.H.Abd.Rauf Patong
NIP. 130 520 667

Mufidah, S.Si., M.Si., Apt.
NIP 132 240 180

1. RANGKUMAN EKSEKUTIF

Bahan aktif antioksidan khususnya antiradikal bebas bermanfaat untuk melindungi sel dari berbagai keadaan patologik. Klika Ongkea (*Mezzetia parviflova* Becc.) adalah salah satu tanaman obat tradisional yang digunakan untuk mengobati penyakit degeneratif di Kabupaten Buton. Aktivitas biologi tersebut, antara lain adalah antikolesterol, antidiabetes, antitumor, dan lain-lain, diduga disebabkan oleh kemampuan senyawa antiradikal bebas dalam jumlah cukup tinggi di dalamnya.

Merujuk pada dugaan tersebut maka dilakukan skrining dengan metode evaluasi antiradical bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Persentase DPPH yang tereduksi oleh sample dihitung berdasarkan penurunan absorbansi pada 517 nm setelah penambahan sample dan aktivitas dinyatakan sebagai IC_{50}, yaitu konsentrasi sample yang dibutuhkan untuk mereduksi 50% dari radikal bebas DPPH.

Nilai IC_{50} ekstrak methanol, ekstrak latut etilasetat dan ekstrak tidak larut etilasetat masing-masing sebesar 63.99 ppm, 53.48 ppm, dan 45.57 ppm. Nilai ini menunjukkan bahwa fraksi polar potensial sebagai antiradical bebas, meskipun efek ini lebih rendah dibandingkan dengan asam askorbat (IC_{50} = 32.383 ppm). Selanjutnya hasil uji penghambatan aktivitas enzim cox-1 menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak metanol, ekstrak larut etilasetat dan ekstrak tidak larut etilasetat secara berurutan adalah 59,039; 72,062 dan 23,524 ppm. Hasil ini membuktikan hipotesis awal bahwa semakin tinggi aktivitas antioksidan, semakin tinggi aktivitas penghambatannya terhadap enzim siklooksigenase-1, berdasarkan penghambatan reaksi oksidasi yang dikatalisis oleh aktivitas peroksidase cox-1.

Usaha untuk mendapatkan ekstrak dengan kadar polifenol yang tinggi dilanjutkan dengan melakukan ekstraksi secara maserasi menggunakan campuran pelarut aseton-air 70%. Hasil pengukuran kadar polifenol ekstrak dengan metode Folin Cio Calteau adalah 9,655% b/b. Ekstrak selanjutnya dipartisi menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu heksan, dietil eter dan aseton. Uji aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH menunjukkan bahwa fraksi sisa yang tidak tersari oleh ketiga pelarut tersebut

memiliki aktivitas yang paling baik dengan nilai IC_{50} 9,541 ppm. Fraksi sisa selanjutnya dipisahkan dengan metode kromatografi kolom menggunakan fase diam sephadex LH20 dan fase gerak etanol 80% dilanjutkan dengan aseton 80%. Hasilnya adalah 5 buah fraksi yaitu 2 buah fraksi terelusi oleh etanol 80% dan 3 buah fraksi terelusi oleh aseton 80%.

Uji aktivitas penangkapan radikal bebas DPPH menunjukkan bahwa fraksi ke-3 dan ke-4 memiliki aktivitas yang paling baik dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 7,31 dan 8,31 ppm.

Sedangkan penghambatan aktivitas siklooksigenase-1 oleh kedua fraksi adalah fraksi-3, fraksi 4 masing-masing memiliki nilai IC_{50} sebesar 4,759 ppm dan 6.98 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi-3 lebih poten dibandingkan dengan fraksi-4 maupun pembanding asetosal yang memiliki penghambatan 50% pada konsentrasi 6,98 ppm (sama dengan fraksi-4). Aktivitas penghambatan enzim Cox-1 menunjukkan bahwa fraksi dapat dilanjutkan sebagai bahan antiagregasi platelet.

2. Pendahuluan

Penyakit kardiovaskular merupakan penyebab utama kematian dan abnormalitas di dunia, sedangkan stroke merupakan penyebab kematian nomor tiga dan penyebab kelumpuhan nomor satu di Negara-negara maju, dan sekitar 500.000 kasus baru terjadi setiap tahunnya. Jenis stroke yang paling sering terjadi adalah stroke iskemik (85%) dan emboli (6,5%). Manifestasi klinik aterosklerosis berupa penyakit jantung koroner dan stroke terjadi akibat koyaknya plak ateroskelorosis karena stress hemodinamik (Benavente, 1998).

Aterosklerosis sebenarnya bukanlah keadaan yang berbahaya, tetapi apabila plak aterosklerosis telah koyak dan terjadi ketidakseimbangan antara faktor trombogenik dengan mekanisme proteksi maka dapat terjadi trombosis dengan manifestasi klinik sindrom koroner akut dan serangan otak iskemik. Oleh sebab itu penanganan trombosis menjadi semakin penting seiring dengan makin tingginya angka kematian akibat keadaan tersebut.

Trombosis mempunyai sebab yang multifaktoral. Penderita trombosis umumnya mengalami gejala-gejala kerusakan pembuluh darah; disfungsi sel platelet, leukosit dan endothelial; serta aktivasi koagulan yang berlebih dan/atau menurunnya aktivasi protein fibrinolitik (Schmaier, 2003).

Aktivitas antioksidan dan antiradikal bebas bermanfaat untuk melindungi sel dari berbagai keadaan patologik termasuk menghambat prokoagulasi platelet (Bucki *et al* , 2003). Ekstrak etanol klika ongkea telah diuji aktivitas penghambatannya terhadap radikal bebas DPPH dan diperoleh EC_{50} 100 μg (Mufidah, 2006). Selain itu, pada partisi pelarut menggunakan heksan (non polar) sangat sedikit komponen yang tertarik dan jika digunakan etilasetat yang tingkat kepolarannya lebih tinggi diperoleh rendamen ekstrak etilasetat 20% b/v dan sisanya adalah fraksi polar yang tidak larut dalam etil asetat sebesar 80%. Hal ini menunjukkan bahwa komponen utama klika ongkea adalah senyawa bersifat polar, hal ini sesuai dengan review oleh Hakim dkk. (2001) yang menyatakan bahwa Annonaceae dikenal memiliki keanekaragaman kimiawi antara lain mengandung senyawa-senyawa alkaloid benzilisokuinolin, asetogenin, diterpen serta senyawa C-benzil-flavonoid yang

memiliki aktivitas farmakologi antara lain antimikroba, antifungal, antitumor dan insektisida.

Penghambatan agregasi platelet dapat pula dilakukan dengan senyawa yang mampu menghambat kerja enzim COX-1 yang akan mengubah tromboksan (TXA2) dari asam arakidonat. Tetapi saat ini belum ada laporan mengenai efek *Mezzetia parviflora* Becc. terhadap COX-1.

Berdasarkan hal tersebut penelitian yang dilakukan ditujukan untuk:

Tahun I:

Melakukan ekstraksi, partisi dan fraksinasi senyawa dengan menggunakan uji pengikatan radikal bebas DPPH (metode KLT-autografi untuk menentukan spot aktif dan secara spektrofotometri untuk menentukan IC_{50}) serta penghambatan COX-1 sebagai pemandu. Diharapkan telah didapatkan fraksi aktif yang akan diuji aktivitas antiplateletnya.

Tahun II:

Melakukan isolasi senyawa aktif dan uji aktivitas antiplatelet dilanjutkan dengan karakterisasi struktur kimia senyawa dengan metode spektroskopi.

3. Tinjauan Pustaka

3.1 Uraian Tanaman *Mezzettia parviflora* Becc.

3.1.1 Klasifikasi Tanaman

Regnum	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Subkelas	: Dialypetalae
Ordo	: Ranales
Famili	: Annonaceae
Genus	: Mezzettia
Spesies	: *Mezzettia parviflora* Becc. (Keng, 1978)