

AKTIVITAS MUKOLITIK *IN VITRO* EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocotum* Ruiz dan Pav.) PADA MUKOSA USUS SAPI DAN IDENTIFIKASI KANDUNGAN KIMIANYA

Yulias Ninik Windriyati, Aqnes Budiarti, Igustin Azmi Syahida
Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang

ABSTRAK

Daun sirih merah (*Piper crocotum* Ruiz and Pav.) merupakan salah satu obat tradisional yang digunakan sebagai obat batuk. Dasar penggunaan tanaman tersebut sebagai mukolitik (pengencer dahak) belum banyak diteliti. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas mukolitik ekstrak etanol daun sirih merah terhadap mukosa usus sapi secara *in vitro* dan mengidentifikasi golongan senyawa aktifnya.

Ekstrak etanol daun sirih merah diperoleh dengan metode maserasi menggunakan penyari etanol 70%. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dibuat berbagai konsentrasi larutan uji yaitu 0,1%; 0,3%; 0,5%; 0,7% dan 0,9% dalam 80% mukus sapi. Viskositas larutan uji diukur dengan viskosimeter rion. Aktivitas mukolitik *in vitro* ditunjukkan oleh kadar ekstrak yang mampu menurunkan viskositas larutan mukus dan sebagai kontrol positif digunakan larutan 0,1% asetilsistein. Identifikasi golongan senyawa aktif dilakukan dengan kromatografi lapis tipis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas mukolitik ekstrak etanol daun sirih merah pada konsentrasi 0,3% setara dengan asetilsistein 0,1%. Ekstrak etanol daun sirih merah mengandung senyawa golongan alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol.

Kata kunci : Daun sirih merah, mukolitik, mukosa usus sapi

PENDAHULUAN

Batuk merupakan suatu mekanisme fisiologi yang bermanfaat untuk mengeluarkan dan membersihkan saluran pernapasan dari dahak, zat-zat perangsang asing, dan unsur infeksi. Dengan demikian batuk merupakan suatu mekanisme perlindungan. Batuk terutama disebabkan oleh infeksi virus, misalnya virus selesma (*common cold*), influenza, cacar air, dan juga oleh radang pada cabang dan hulu tenggorokan (*bronchitis, pharyngitis*). Virus-virus ini dapat merusak mukosa saluran pernapasan, sehingga menciptakan “pintu masuk” bagi infeksi kuman dan virus, misalnya *Pneumococci* dan *Haemophilus* (Tjay dan Rahardja, 2007). Untuk meringankan dan mengurangi frekuensi batuk diberikan terapi simptomatik dengan obat-obat pereda batuk. Salah satunya adalah mukolitik yang dapat membantu mengurangi kekentalan dahak sehingga mudah dikeluarkan.

Mukus diproduksi saluran pernapasan yang merupakan cairan kompleks berupa selaput gel mukoprotein dan mukopolisakarida. Komposisi mukus adalah 95% air dan 5% glikoprotein. Komposisi mukus intestinal mamalia adalah 97,5% air, 0,8% protein, 0,73% substansi organik lain, dan 0,88% garam organik (Frandsen, 1986).

Banyak tanaman obat yang tumbuh di Indonesia telah digunakan oleh masyarakat secara tradisional untuk meredakan batuk diantaranya daun sirih merah. Senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun sirih merah yakni alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid (Pkimunlam, 2008), sedangkan Sudewo (2005) menyebutkan bahwa daun sirih merah mengandung senyawa golongan flavonoid, alkaloid, polifenol, tannin.

Penelitian yang dilakukan oleh Mareta pada tahun 2006 menunjukkan bahwa terdapat aktivitas mukolitik pada ekstrak n-heksan dan etanol herba sirih merah (*Piper miniatum* Bl) terhadap mukosa usus sapi secara *in vitro* dan golongan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak etanol tersebut adalah senyawa golongan flavonoid, terpenoid dan saponin. Terdapat pula penelitian lain yang menyimpulkan bahwa minyak atsiri daun sirih (*Piper betle* L.) memiliki aktivitas mukolitik (Sulistiawati, 2003), dan ekstrak air daun sirih dapat mengencerkan dahak sehingga mudah dikeluarkan dari tenggorokan (Arifin, 2004). Penelitian ini membuktikan adanya aktivitas mukolitik ekstrak etanol daun sirih merah pada mukosa usus sapi secara *in vitro*.

METODOLOGI

Bahan Penelitian

Daun sirih merah diperoleh dari daerah Kopeng, Salatiga, Jawa Tengah, dipanen pada bulan Juni 2010. Sebagai cairan penyari etanol 70% *pharmaceutical grade* (Brataco). Bahan untuk uji mukolitik adalah mukus usus sapi, aquadestilata, kalium dihidrogen fosfat p.a (Merck), NaOH p.a (Merck), dan asetilsistein (kapsul flumucyl yang mengandung 200 mg asetilsistein). Bahan untuk identifikasi golongan senyawa aktif adalah asam formiat (p.a), asam asetat (p.a), aseton (p.a), aquadest, kloroform (p.a), metanol (p.a), amoniak (p.a), anisaldehyd asam sulfat (p.a), ferri chloride (p.a), dragendroff, rhodamine B, rutin, quillaja bark, quinine, tannin, metil stearat, lempeng KLT (sellulosa dan silika gel F254).

Alat Penelitian

Alat yang digunakan ayakan mesh 40, timbangan elektrik (Ohaus AR 3130), alat-alat gelas, kertas saring, *thermostatic waterbath* (Mommert), kompor listrik, kipas angin, thermometer, pH meter (Hanna HI 8014), viskosimeter (Rion VT-04F). Alat untuk identifikasi golongan senyawa aktif adalah bejana kromatografi, pipa kapiler, kertas penjunuh, penyemprot bercak, lampu UV 254 nm dan lampu UV 365 nm.

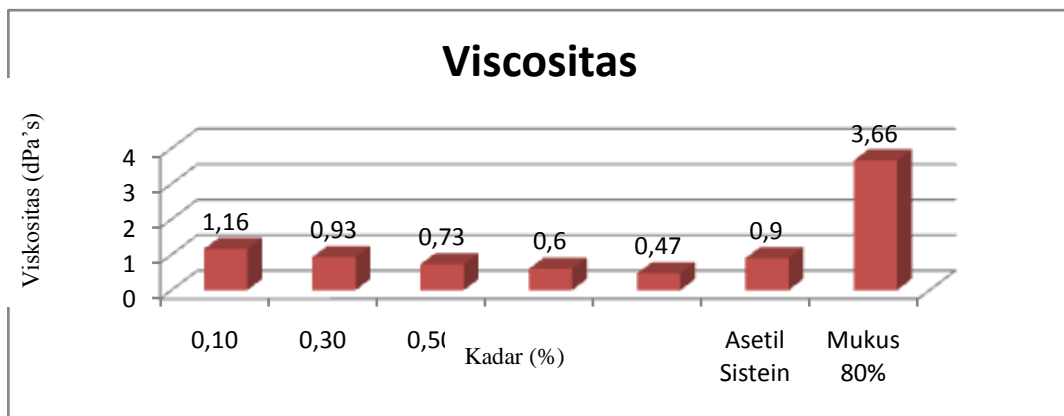
Cara Penelitian

Larutan mukus yang telah diencerkan dalam larutan dapar fosfat pH 7 sebanyak 80%, diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Pengadukan dilakukan sebanyak 5 kali, lalu dilakukan pengujian dengan menggunakan viskosimeter Rion. Larutan uji berupa ekstrak etanol daun sirih merah dibuat dalam berbagai konsentrasi, yaitu 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, dan 0.9%. dalam larutan mukus 80% serta larutan asetilsistein 0.1 % sebagai kontrol positif. Setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, dilakukan pengujian dengan menggunakan viskosimeter Rion. Data viskositas yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.

Identifikasi golongan senyawa aktif dilakukan dengan kromatografi lapis tipis untuk alkaloid, flavonoid, saponin, senyawa polifenolat dan tanin. Pengamatan kromatogram dilakukan di bawah sinar UV 254 nm, UV 256 nm dan visible. Analisis dilakukan dengan membandingkan bercak ekstrak etanol daun sirih merah dengan bercak senyawa pembanding untuk masing-masing golongan, kemudian dilakukan perhitungan Rf masing-masing bercak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Larutan mukus 80% dibuat dengan melarutkannya dalam larutan dapar fosfat pH 7 dengan maksud untuk menjaga agar komposisi dari mukus tidak berubah. Proses inkubasi dan pengujian dilakukan pada suhu 37°C agar didapat suatu kondisi reaksi antara larutan uji dengan mukus sesuai dengan kondisi fisiologis manusia. Saat pengujian berlangsung suhu dijaga agar tetap 37°C karena kekentalan akan menurun dengan naiknya suhu atau sebaliknya, sehingga pengukuran menjadi kurang tepat. Viskositas larutan uji dan larutan kontrol dapat dilihat pada gambar 1 di bawah ini.



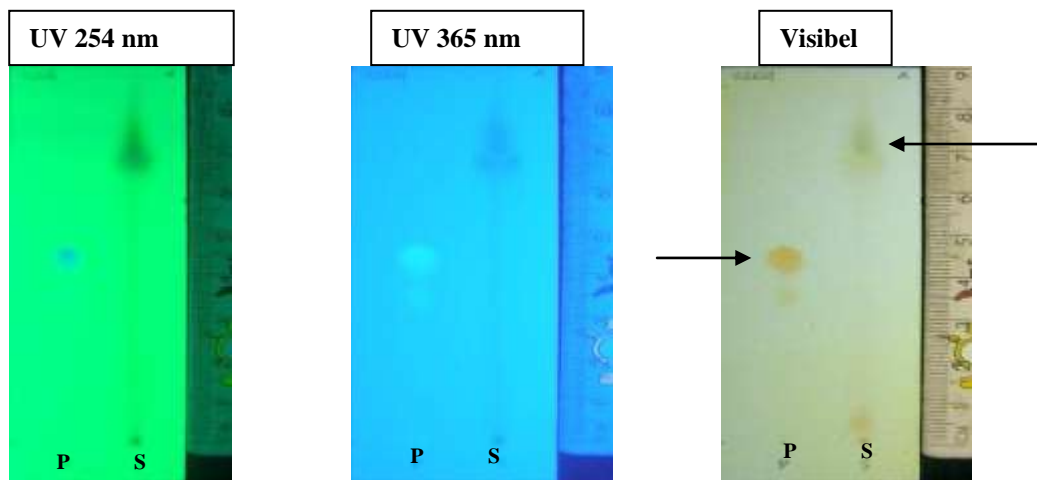
Gambar 1. Viskositas larutan uji ekstrak etanol daun sirih merah, kontrol positif (asetilsistein 0,1%), kontrol negatif (larutan mukus 80%).

Gambar 1 menunjukkan bahwa viskositas semua larutan uji lebih kecil dibandingkan kontrol negatif. Secara teoritis, larutan uji mempunyai efek mukolitik jika viskositasnya lebih kecil dari kontrol negatif, sehingga larutan uji ekstrak etanol daun sirih merah pada konsentrasi 0,1%; 0,3%; 0,5%; 0,7% dan 0,9% mempunyai aktivitas mukolitik. Data tersebut juga menunjukkan semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun sirih merah dalam larutan uji, semakin kecil viskositasnya. Hasil pengukuran viskositas juga menunjukkan bahwa viskositas larutan uji pada konsentrasi 0,3% sebanding dengan viskositas kontrol positif.

Hasil analisis statistik dengan uji *Mann Whitney* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok larutan uji sehingga perbedaan kadar larutan uji berpengaruh terhadap aktivitasnya sebagai mukolitik. Larutan uji dengan kadar ekstrak 0,3% setara dengan kontrol positif, yang ditunjukkan adanya hasil berbeda tidak bermakna, sehingga aktivitas mukolitik ekstrak etanol daun sirih merah yang setara dengan kontrol positif adalah kadar 0,3%.

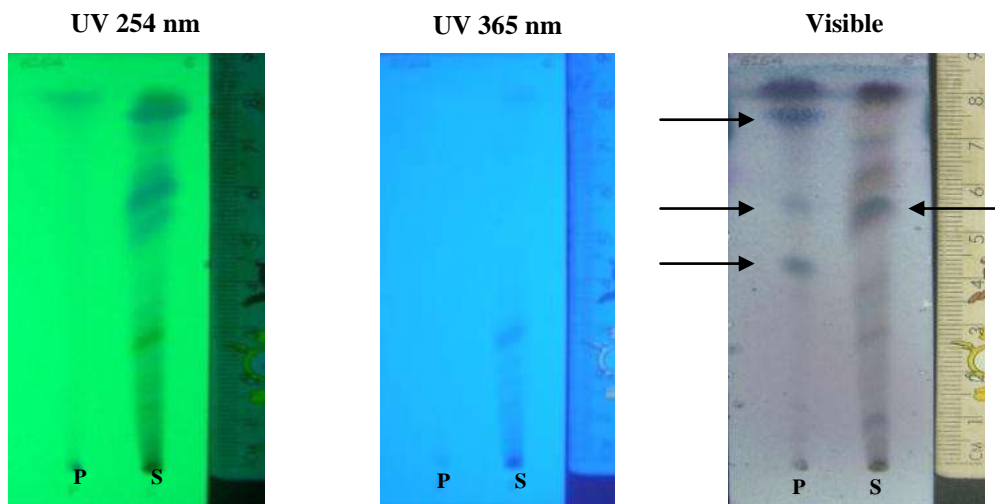
Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun sirih merah dilakukan secara kualitatif terhadap alkaloid, saponin, flavonoid, polifenolat dan tanin karena diduga senyawa-senyawa tersebut terdapat dalam ekstrak etanol daun sirih merah.

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan pembandingan quinine karena senyawa ini merupakan senyawa golongan alkaloid. Sampel positif mengandung alkaloid jika bercak berwarna jingga sampai merah coklat pada pengamatan sinar tampak. Pengamatan pada UV254 dan UV365 menghasilkan bercak berwarna biru dan meredam (Robinson, 1995). Pengamatan secara visibel terhadap bercak sampel maupun pembandingan menghasilkan warna kuning. Nilai *Rf* quinine sebesar 0,50 dan *Rf* sampel sebesar 0,73 (Gambar 2). Hal ini berarti sampel ekstrak etanol daun sirih merah mengandung alkaloid dengan polaritas lebih rendah dibandingkan dengan quinine.



Gambar 2. Kromatogram identifikasi alkaloid ekstrak etanol daun sirih merah
Fase Diam : Silika gel F254, Fase Gerak : Metanol : Amoniak (100 : 1,5)
P = Pembanding quinin, S = Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah

Kandungan saponin ditunjukkan dengan pengamatan secara visibel bercak sampel maupun pembanding yang berwarna biru. Robinson (1995) menyebutkan bahwa warna biru tersebut diakibatkan oleh adanya reaksi Liebermann-Burchard yaitu salah satu warna yang paling umum terjadi pada senyawa terpenoid tinggi dan steroid. Bila sterol beserta triterpena alkohol dicampur dengan anhidrat asetat dan setetes asam sulfat pekat akan dihasilkan warna biru.

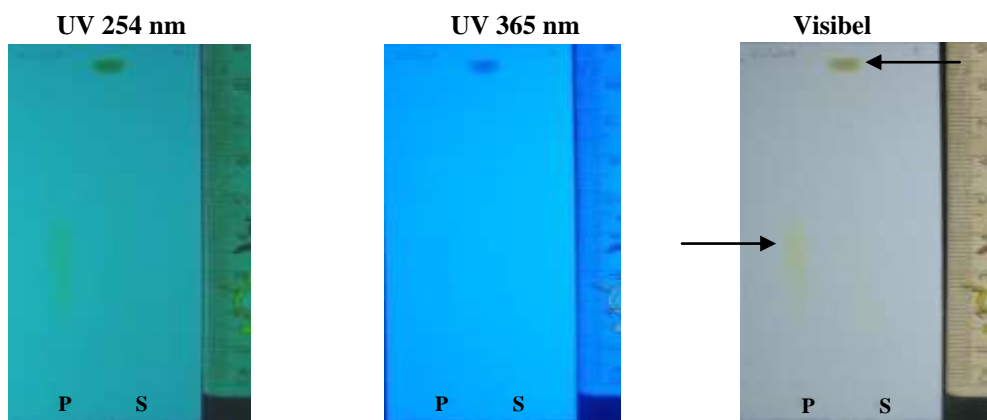


Gambar 3. Kromatogram identifikasi saponin pada ekstrak etanol daun sirih merah
Fase Diam : Silika Gel F254, Fase Gerak : Kloroform : Metanol (95 : 5)
P = Saponin dari quillaja bark, S = Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah

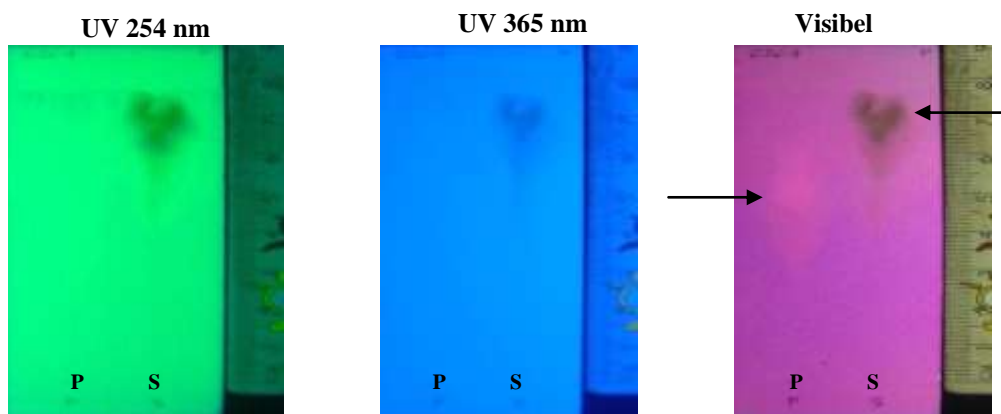
Gambar 3. Menunjukkan bercak sampel terlihat sangat jelas dan agak besar dibandingkan dengan senyawa pembandingnya sehingga hal ini berarti kadar senyawa aktif saponin dalam sampel cukup tinggi. Nilai R_f bercak dari ekstrak etanol daun sirih merah sebesar 0,65 sedangkan R_f senyawa pembanding sebesar 0,48; 0,61; 0,83.

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan senyawa pembanding rutin (kuersetin-3-rutinosida) yang merupakan glikosida flavonol karena merupakan jenis flavonoid yang paling sering dijumpai pada pemeriksaan flavonoid, banyak terdapat dalam tumbuhan dan

tersebar luas dalam pigmen tanaman (Harborne, 1987). Selulosa digunakan sebagai fase diam karena sangat cocok untuk isolasi flavonoid dan bersifat non polar. Penampak bercak yang digunakan adalah uap ammonia untuk memberikan suasana basa pada bercak agar dapat terdeteksi secara visible maupun di bawah sinar ultraviolet. Pada pengamatan secara visibel, bercak sampel maupun pembanding berwarna kuning. Hal ini menunjukkan bahwa sampel mengandung flavonoid. Robinson (1995) menyebutkan beberapa glikosida salah satunya flavonoid dalam larutan netral atau asam tidak berwarna, akan tetapi berwarna terang atau jingga dalam larutan atau suasana basa. Pada pengamatan di bawah sinar UV 254 bercak terlihat berwarna kuning sedangkan pada UV 365 nm bercak berwarna biru akibat adanya pepadaman. Wagner and Bladt (2001) menyebutkan bahwa flavonoid dapat berfluoresensi dan memberikan warna kuning, hijau, maupun biru. Nilai R_f bercak sampel ekstrak etanol daun sirih merah sebesar 0,94 sedangkan R_f pembanding rutin sebesar 0,44 (Gambar 4).



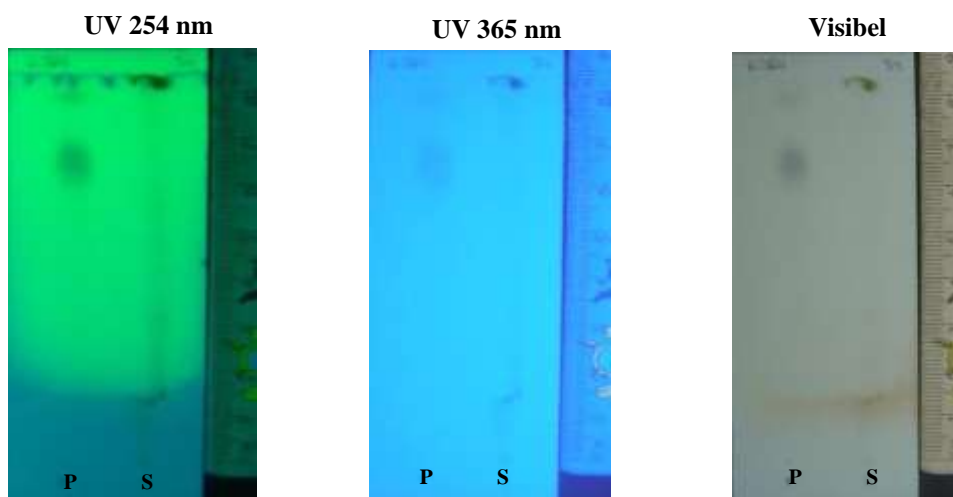
Gambar 4. Kromatogram identifikasi flavonoid pada ekstrak etanol daun sirih merah
Fase Diam : Selulosa, Fase Gerak :etil asetat-asam formiat-asam asetat-air
(100:11:11:27), P = Pembanding rutin, S = Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah



Gambar 5. Kromatogram identifikasi polifenol pada ekstrak etanol daun sirih merah
Fase Diam : Selulosa, Fase Gerak :asam asetat : aseton : air (40 :20 : 4)
P = Pembanding metil stearat, S = Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah

Kandungan polifenol ditunjukkan dengan bercak sampel pada kromatogram yang berwarna pink di atas latar belakang kemerahan. Nilai R_f bercak sampel sebesar 0,81 sedangkan R_f pembanding metil stearat sebesar 0,50, sebagaimana terlihat pada Gambar 5. Nilai R_f tersebut menunjukkan bahwa polaritas senyawa aktif polifenol yang terdeteksi menyerupai fase gerak yaitu semi polar.

Kromatogram identifikasi senyawa tanin menunjukkan warna hijau kelabu yang diakibatkan oleh reaksi antara larutan besi III klorida (FeCl_3) dengan tanin. Menurut Robinson (1995) ciri khas sebagian besar senyawa fenol adalah terbentuknya warna hijau kelabu ketika direaksikan dengan larutan FeCl_3 . Pada kromatogram (Gambar 6) terlihat bahwa tidak ada warna hijau kelabu dari bercak sampel. Hal ini menunjukkan bahwa dalam ekstrak etanol daun sirih merah tidak mengandung senyawa tannin.



Gambar 6. Kromatogram identifikasi tanin pada ekstrak etanol daun sirih merah Fase Diam : Silika Gel F254 , Fase Gerak :etil asetat-asam formiat-asam asetat-air (100:11:11:27), P = Pembanding tanin, S = Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah

Hasil uji kualitatif dengan KLT menunjukkan bahwa golongan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak etanol daun sirih merah adalah alkaloid, saponin, flavonoid, dan polifenol. Dengan demikian aktivitas mukolitik ekstrak etanol daun sirih merah diduga diakibatkan oleh kandungan keempat senyawa tersebut.

KESIMPULAN

1. Ekstrak etanol daun sirih merah pada konsentrasi 0,1%; 0,3%; 0,5%; 0,7% dan 0,9% dalam larutan mukus 80% mempunyai aktivitas mukolitik dengan cara menurunkan viskositas mukus. Ekstrak etanol daun sirih merah konsentrasi 0,3% mempunyai aktivitas mukolitik yang setara dengan asetilsistein 0,1%.
2. Kandungan senyawa aktif dalam ekstrak etanol daun sirih merah adalah alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenolat.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, H., 2004, Evaluasi Aktivitas Anti Batuk Ekstrak Air Daun Sirih, *Tesis*, ITB, Bandung.
- Frandsen, R. D., 1986, *Anatomy and Physiology of Farm Animal*, 4 th Edition, 560-562, Colorado State University Fort, Philadelphia Pennsylvania, United State Of America.
- Harborne, J.B., 1987, Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Soediro, 9, Penerbit ITB, Bandung.
- Maretta, A.P., 2006, Aktifitas Mukolitik Ekstrak n-Heksan Dan Etanol Herba *Piper Miniatum*, B1 Terhadap Mukosa Usus Sapi Secara *In Vitro* Dan Deteksi Golongan Senyawa Aktif Dengan Metode KLT, *Skripsi*, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Pkimunlam, 2008, Senyawa aktif Daun Sirih Merah, <http://www.pkimunlam.wordpress.com>

diakses April 2010.

- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, hal. 191-196, 209, ITB, Bandung.
- Sudewo, B., 2005, *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*, 35-45, Agro Media, Jakarta.
- Sulistiawati, 2003, Uji Aktivitas Mukolitik Minyak Atsiri Daun Sirih (*Piper betle* L.) Dan Deteksi Kandungan Kimianya Secara KLT Dan Kromatografi Gas-Spektrofotometri Massa, *Skripsi*, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Tjay, T.H., dan Raharja, K., 2007, *Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek sampingnya*, Edisi V, 659-664, PT. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta.