

Uji mutagenisitas ekstrak kloroform daun ambre (*Geranium radula*) terhadap bakteri *Salmonella typhimurium* serta profil kandungan kimia bagian teraktif

Mutagenic test of chloroform extract partition result of ambre leaves (*Geranium radula*) to *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 and TA 1535 and profile of the most active part of chemical compound

MITA MUTIA RAHMAN, ARTINI PANGASTUTI, RITA RAKHMAWATI

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta 57126, Jawa Tengah.

Manuscript received: 14 Mei 2013. Revision accepted: 5 Oktober 2013.

Abstract. Rahman MM, A Pangastuti, R Rakhmawati. 2011. Mutagenic test of chloroform extract partition result of ambre leaves (*Geranium radula*) to *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 and TA 1535 and profile of the most active part of chemical compound. *Biofarmasi* 12: 1-10. The purpose of the research was to know the mutagenic effect of partition chloroform extract of Ambre leaves to the tested bacteria *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 and TA 1535 and profile of the most active part of bioactive showing the biggest mutagenic characteristic. The research used Ames method with mutated bacteria *S. typhimurium* TA98 as frameshift mutation indicator and *S. typhimurium* 100 and 1535 as substitution mutation of base pair indicator. Tested sample was the result of partition chloroform extract of Ambre leaves of the dissolved and non dissolved part in wash-benzene at concentration of 10, 100, 500, and 1000 µg/ml. Mutagenic test result showed chloroform extract of Ambre leaves of the dissolved part in wash-benzene used *S. typhimurium* TA100 and 1535 could cause substitution mutation of base pair in concentration 100 µg/mL and 500 µg/mL and used *S. typhimurium* TA98 could cause frameshift mutation in concentration 10 µg/mL. Mutagenic test result showed chloroform extract of Ambre leaves of non dissolved part in wash-benzene used *S. typhimurium* TA100 and 1535 couldn't cause substitution mutation of base pair and used *S. typhimurium* TA98 could cause frameshift mutation in concentration 10 µg/mL. Result of detection on result compound of partition chloroform extract of Ambre leaves of dissolved part in wash-benzene on KLT plat with various detection of sprayed compound showed a positive result for detection of terpinoid used vanillin-H₂SO₄ and flavonoid used FeCl₃. Terpenoid and flavonoid presumed as compound that causing mutation.

Keywords:: *Geranium radula*, Ames method, frameshift mutation, substitution mutation of base pair, partition

PENDAHULUAN

Penyakit kanker merupakan salah satu penyakit penyebab kematian terbesar di dunia terutama di negara-negara maju (Pato 2003). Kanker merupakan penyakit sel yang ditandai dengan adanya perubahan (transformasi) pada sel sehingga bentuk, sifat dan kinetiknya berubah. Sel tumbuh menjadi autonom, liar, tidak terkendali, terlepas dari koordinasi pertumbuhan normal, dan bersifat ganas (Aulia et al. 2002; Maliya 2004). Kejadian dan jenis penyakit kanker erat hubungannya dengan berbagai faktor antara lain adalah jenis kelamin, usia, ras dan paparan terhadap beberapa zat yang bersifat karsinogenik (Katzung 1994). Zat yang bersifat karsinogenik dapat berupa zat kimia organik maupun anorganik. Selain itu, virus dan radiasi sinar dapat pula menyebabkan kanker (Dalimartha 2004).

Dalam pengobatan kanker dibutuhkan pendekatan sistemik melalui kemoterapi kanker, disamping pembedahan, radiasi, dan kemoterapi ajuvan (Nafrialdi dan Gan 1995). Tumbuh-tumbuhan merupakan salah satu sumber obat-obatan kemoterapi yang potensial sehingga

pencarian obat-obatan kemoterapi dari tumbuh-tumbuhan masih terus dilakukan (Sukardiman et al. 2006). Berdasarkan penelitian skrining toksisitas beberapa tanaman di kawasan Tawangmangu Surakarta dengan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) menunjukkan bahwa ekstrak kloroform dari daun ambre (*Geranium radula* Cavan.) memiliki aktivitas toksisitas dengan nilai LC₅₀ sebesar 40,63 µg/mL (Wahyuni dan Rakhmawati 2008). Suatu ekstrak berpotensi sebagai kandidat antikanker berdasarkan metode BST jika harga LC₅₀ kurang dari 1000 µg/mL dan hasil uji toksisitas menggunakan metode BST ini dapat diasosiasikan dengan sifat sitotoksik yang digunakan sebagai prasyarat antikanker (Erma et al. 2004).

Berdasarkan penelitian, Ames (1973a,b) telah membuktikan bahwa 90% senyawa yang bersifat mutagenik juga bersifat karsinogenik. Disisi lain banyak teori yang menyebutkan bahwa mekanisme kerja dari beberapa senyawa yang digunakan sebagai obat antikanker mirip dengan mekanisme kerja senyawa karsinogen terhadap protein, DNA atau sel normal (Foye 1996). Ini membuktikan bahwa senyawa antikanker dapat pula

menyebabkan mutasi. Hal ini dapat dimengerti mengingat ada beberapa obat antikanker yang berasal dari tanaman dapat secara langsung menghambat perkembangan siklus sel kanker dan menyebabkan terjadinya kerusakan DNA (Katzung 1994). Berdasarkan hal tersebut, maka perlu adanya penelitian untuk melihat efek mutagenik dari daun ambre dengan melakukan uji mutagenisitas terhadap hasil partisi dari ekstrak kloroform daun ambre menggunakan metode Ames. Pada uji mutagenisitas ini digunakan bakteri *S. typhimurium* TA98, 100 dan 1535. Daun ambre diperiksa untuk melihat efek mutagenik dengan melakukan pengamatan terhadap ada tidaknya pertumbuhan bakteri dalam media. Selanjutnya dicari profil kandungan senyawa kimia teraktif dari hasil partisi yang menunjukkan sifat mutagenik terbesar.

Tujuan penelitian ini adalah: (i) Mengetahui efek mutagenik dari hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre terhadap bakteri *Salmonella typhimurium* TA98, 100 dan 1535. (ii) Mengetahui profil kandungan kimia teraktif dari hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre yang menunjukkan sifat mutagenik terbesar.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pusat MIPA, Universitas Sebelas Maret, Surakarta selama bulan Juli-Desember 2009.

Alat dan bahan penelitian

Bahan utama untuk pemisahan adalah simplisia kering daun ambre (*Geranium radula* Cavan.), kloroform (untuk maserasi), pelarut *wash-benzene* untuk partisi, plat silika gel 60 GF254 sebagai fase diam dan fase gerak yang digunakan yaitu kloroform.

Bakteri *Salmonella typhimurium* TA98, 100 dan 1535 beserta *growth medium* yang diperoleh dari *Enviromental Bio-Detection Products inc.* (EBPI) California. Media yang digunakan adalah media Luria Bertani (LB), media histidin-biotin, dan media minimal yang ditambah glukosa. Bahan kimia yang digunakan adalah d-biotin, l-histidin, amonium sulfat, dextrose, dipotasium fosfat, magnesium fosfat, monopotassium fosfat, sodium sitrat, *sodium azide* (EBPI), *2-nitrofluorene* (EBPI) dan *Dimethyl sulfoxide* (DMSO). Plat silika gel 60 GF254, kloroform, pereaksi kimia $\text{Ce(IV)(SO}_4)_2$, FeCl_3 , vanilin H_2SO_4 , dan Lieberman-Burchard.

Cara kerja

Pengambilan sampel

Sampel berupa simplisia kering daun ambre sebanyak 290 gram dan telah dideterminasi yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) pada bulan Mei tahun 2009.

Pemisahan komponen bioaktif

Ekstraksi. Serbuk daun ambre dimaserasi menggunakan kloroform selama 24 jam disertai pengadukan, maserasi

dilakukan hingga 3 kali. Setelah 24 jam, rendaman disaring dengan corong *buchner*, ampasnya dipisahkan dan filtrat I yang diperoleh diuapkan dengan bantuan *rotary evaporator* sehingga didapat ekstrak kloroform yang kemudian dikeringkan dengan bantuan kipas angin dan disimpan di eksikator. Ampas dimaserasi kembali dengan kloroform seperti cara diatas sehingga diperoleh filtrat II dan III lalu diuapkan menggunakan *rotary evaporator*, ekstrak yang didapat digabung dengan ekstrak kloroform yang pertama. Profil hasil senyawa pada ekstrak dimonitor dengan kromatografi lapis tipis.

Partisi. Ekstrak kloroform daun ambre dipartisi dengan cara partisi padat-cair dengan pelarut *wash-benzene* menggunakan *sentrifuge* sehingga dihasilkan dua bagian yaitu bagian larut dan tidak larut *wash-benzene* untuk kemudian pelarut diuapkan. Kedua bagian yang telah diuapkan dimonitor hasil pemisahannya dengan kromatografi lapis tipis, apabila hasil pemisahan tidak tumpang tindih antara keduanya, maka dilakukan uji mutagenisitas dengan uji Ames.

Uji Mutagenisitas. Uji mutagenisitas dilakukan dengan menggunakan uji Ames tanpa aktivator metabolik S-9 mix.

Penanganan bakteri uji. Masing-masing bakteri yang akan diuji disimpan pada *frezer* -4°C dan *growth media* disimpan pada lemari pendingin 4°C .

Pembuatan biakan semalam. Bakteri yang disimpan pada *frezer* -40°C kemudian dihidrasi dengan menambahkan *growth media* kedalam tempat yang berisi bakteri, divortex dan diinkubasi selama 16-18 jam. Sebanyak 50-100 μL bakteri tersebut diinokulasi pada media LB dan diinkubasi selama 16-18 jam. Dalam proses pengujian kondisi harus dalam keadaan *fresh* yaitu antara jam ke 16-18 setelah proses inokulasi, karena pada periode jam tersebut bakteri berada pada fase eksponensial sampai awal fase stasioner, lewat dari itu bakteri tidak boleh digunakan.

Uji mutagenesitas larutan uji. Sebanyak 3 mL medium yang mengandung histidin-biotin ditambahkan 50 μL biakan semalam bakteri uji dan larutan uji sesuai konsentrasi, medium tersebut dituangkan pada cawan petri yang berisi media minimal yang ditambah glukosa. Setelah medium yang mengandung histidin-biotin memadat, diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam. Selanjutnya dihitung jumlah koloni yang tumbuh.

Uji kontrol positif. Sebanyak 3 mL medium yang mengandung histidin-biotin ditambahkan 50 μL biakan semalam bakteri uji dan masing-masing sebanyak 17,1 μL *sodium azide* untuk *S. typhimurium* TA100 dan 1535 dan *2-nitrofluorene* untuk *S. typhimurium* TA98 sebagai kontrol positif. *Sodium azide* dan *2-nitrofluorene* sebagai kontrol positif karena keduanya telah digunakan sebagai mutagen standar untuk masing-masing bakteri. Medium histidin-biotin tersebut dituangkan ke dalam cawan petri berisi media minimal yang ditambah glukosa. Setelah medium histidin-biotin memadat, diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam. Selanjutnya dihitung jumlah koloni yang tumbuh.

Uji kontrol negatif. Sebanyak 3 mL medium yang mengandung histidin-biotin ditambahkan 50 μL biakan semalam bakteri uji dan sebanyak 100 μL DMSO sebagai kontrol negatif. Medium tersebut dituang ke dalam cawan

petri berisi media minimal yang ditambah glukosa. Setelah medium histidin-biotin memadat, diinkubasi pada suhu 37°C selama 72 jam. Selanjutnya dihitung jumlah koloni yang tumbuh.

Larutan uji. Konsentrasi larutan uji yang digunakan 1000, 500, 100, dan 10 µg/mL. Larutan uji dibuat dengan menimbang sebanyak 50 mg sampel hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre, dilarutkan dengan 100 µL DMSO dan air suling steril hingga volumenya 5 mL. Selanjutnya larutan uji disaring dengan penyaring bakteri. Data hasil uji mutagenisitas diperoleh dengan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh dari setiap bakteri uji pada masing-masing cawan petri

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Penentuan Profil Kandungan Senyawa Kimia

Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Proses pemisahan pada tahap ekstraksi dan partisi dimonitor profil kandungan senyawa kimianya dengan kromatografi lapis tipis. Hasil setiap tahapan tersebut dilarutkan di pelarut kemudian ditotolkan pada lempeng KLT yaitu silika gel 60 GF254 menggunakan pipa kapiler. Pengembangan dilakukan dalam bejana pengembang menggunakan fase gerak kloroform. Hasil KLT dideteksi dengan sinar UV254 nm, UV366 nm dan disemprot dengan serum (IV) sulfat untuk mendeteksi keberadaan senyawa organik secara umum dengan hasil positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi coklat.

Penentuan profil kandungan senyawa kimia. Penentuan golongan senyawa dilakukan setelah diketahui bagian teraktif dari hasil partisi yang telah dimonitor dengan kromatografi lapis tipis dan uji mutagenisitas dengan uji Ames. Profil kandungan kimia teraktif yang menunjukkan sifat mutagenik kemudian ditentukan dengan menggunakan pereaksi semprot khusus yaitu FeCl₃ untuk mendeteksi senyawa flavonoid dengan hasil positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi kuning. Vanilin H₂SO₄ untuk mendeteksi keberadaan senyawa terpenoid dengan hasil positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi biru sampai ungu setelah pemanasan pada suhu 110°C selama 10 menit. Lieberman-Burchard untuk mendeteksi keberadaan senyawa triterpenoid (steroid) dengan hasil positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi merah untuk triterpenoid dan biru untuk steroid setelah pemanasan pada suhu 110°C selama 10 menit.

Analisis Data

Data hasil uji mutagenisitas diperoleh secara kuantitatif dengan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh dari setiap bakteri uji pada konsentrasi yang diberikan. Analisis data uji mutagenisitas dilakukan dengan menghitung pertumbuhan koloni bakteri dimana jumlah koloni yang tumbuh dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri pada kontrol negatif. Apabila hasilnya: 1,8-2 kali atau lebih dari kelompok kontrol negatif maka sampel yang di uji bersifat sangat mutagen, 1,6 – 1,7 kali dari kelompok kontrol negatif maka sampel yang di uji kemungkinan bersifat mutagen dan 1 < -1,5 kali dianggap tidak mutagen. Batas suatu bahan uji dikatakan bersifat mutagen jika konsentrasi sampel yang memberikan hasil positif kurang dari 10.000 µg/mL (Radji 2004; Suprastiwi 2009).

Profil kandungan kimia teraktif yang menunjukkan sifat mutagenik terbesar dimonitor kromatografi lapis tipis dengan fase gerak dan fase diam yang sesuai serta pereaksi semprot yang spesifik. Profil kromatografi lapis tipis hasil deteksi semprot spesifik dianalisis secara kualitatif dengan analisis deskriptif berdasarkan bercak warna yang terbentuk dan nilai R_f yang ditentukan dengan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak perambatan bercak dari titik awal}}{\text{Jarak perambatan fase gerak dari titik awal}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek mutagenik dari hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre terhadap bakteri *S. typhimurium* TA98, 100 dan 1535 beserta profil kandungan kimia teraktif dari hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre yang menunjukkan sifat mutagenik terbesar. Uji mutagenisitas dilakukan dengan menggunakan metode Ames.

Ekstraksi dan partisi

Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Maserasi adalah proses ekstraksi zat aktif yang dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut yang sesuai selama periode waktu tertentu pada suhu ruang dan terlindung dari cahaya matahari, tujuannya adalah mencegah terjadinya reaksi yang dikatalis oleh cahaya atau mencegah terjadinya perubahan warna.

Metode maserasi dipilih dalam penelitian ini karena proses pengerjaannya mudah dan peralatan yang digunakan sederhana, selain itu karena metode maserasi termasuk metode ekstraksi tanpa pemanasan sehingga senyawa yang diharapkan tidak menjadi rusak akibat pemanasan. Dalam penelitian ini pelarut yang digunakan adalah kloroform untuk menarik senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar sampai semi polar (Ristiningsih 2009). Selain alasan tersebut, penggunaan kloroform sebagai pelarut dalam proses ekstraksi mengacu pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Wahyuni dan Rakhmawati (2008) yang menunjukkan bahwa ekstrak kloroform daun ambre memiliki aktivitas toksisitas pada uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Berat ekstrak yang diperoleh adalah 11 gram dari 290 gram serbuk daun ambre yang diekstraksi.

Proses pemisahan pada tahap ekstraksi dimonitor profil kandungan senyawa kimianya dengan kromatografi lapis tipis, kemudian dilakukan deteksi terhadap keberadaan senyawa kimia organik secara umum yang ada di dalamnya menggunakan pereaksi semprot serum (IV) sulfat dengan bercak yang terbentuk berwarna coklat setelah pemanasan. Warna coklat terbentuk disebabkan karena dalam serum (IV) sulfat terdapat H₂SO₄ 10% yang bersifat reduktor dalam merusak gugus kromofor dari zat aktif simplisia sehingga serapan panjang gelombangnya akan bergeser ke arah yang lebih panjang (UV menjadi VIS) dan noda menjadi tampak oleh mata. Deteksi UV digunakan untuk

mengetahui senyawa yang tidak terlihat atau dengan sinar tampak (Tim Pengajar Teknik Laboratorium 2009).

Profil senyawa pada ekstrak kloroform daun ambre hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 5. Deteksi hasil KLT menggunakan sinar tampak, UV254, UV366, dan serum (IV) sulfat menunjukkan adanya beberapa bercak yang terlihat pada masing-masing deteksi. Deteksi kromatogram dengan sinar tampak (Gambar 5.A) memperlihatkan bercak berwarna hijau tua dan kuning. Deteksi kromatogram dengan sinar UV254 (Gambar 5.B) memperlihatkan terjadinya peredaman yang ditandai dengan adanya beberapa bercak yang berwarna gelap pada latar belakang yang berflouoresensi hijau yang menunjukkan adanya senyawa.

Deteksi dengan sinar UV366 (Gambar 5.C) memperlihatkan bercak yang berpendar menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang panjang sehingga dapat berpendar pada penyinaran UV gelombang panjang. Deteksi dengan pereaksi serum (IV) sulfat (Gambar 5.D) memperlihatkan beberapa bercak berwarna coklat gelap. Hal ini menunjukkan bahwa pada ekstrak kloroform daun ambre tersebut terdapat senyawa organik.

Partisi

Tahapan partisi yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan pelarut *wash-benzene*. Partisi bertujuan untuk memisahkan ekstrak kloroform daun ambre menjadi dua bagian yaitu bagian non polar dan bagian polar. *Wash-benzene* bersifat non polar, sehingga berdasarkan prinsip *like dissolve like* (Harbone 1987) bagian non polar akan larut *wash-benzene*, sedangkan bagian yang polar tidak larut *wash-benzene*. Berat hasil partisi ekstrak kloroform bagian larut *wash-benzene* yang diperoleh adalah 5,9 gram dan hasil partisi ekstrak kloroform bagian tidak larut *wash-benzene* adalah 3,6 gram.

Analisis profil kandungan kimia pada hasil partisi dilakukan untuk mengetahui kesempurnaan pemisahan senyawa dengan partisi. Hasil dari KLT partisi ekstrak kloroform daun ambre dilihat pada Gambar 6.

Deteksi hasil KLT menggunakan sinar tampak, UV254, UV366, dan serum (IV) sulfat terlihat adanya bercak-bercak pada posisi yang berbeda antara bercak yang terdapat pada hasil partisi ekstrak kloroform bagian larut *wash-benzene* dengan bercak yang terdapat pada hasil partisi ekstrak kloroform bagian tidak larut *wash-benzene*. Hal ini menunjukkan bahwa partisi yang dilakukan dapat memisahkan senyawa-senyawa yang terdapat ekstrak kloroform daun ambre.

Uji mutagenisitas

Uji mutagenisitas dilakukan untuk mengetahui apakah suatu senyawa bersifat mutagenik atau tidak. Uji mutagenisitas dapat dilakukan dengan berbagai metode salah satunya dengan menggunakan bakteri yang dikenal dengan uji Ames seperti yang dilakukan dalam penelitian ini. Prinsipnya bakteri yang digunakan sudah dimutasi sehingga tidak mampu mensintesis salah satu jenis asam amino esensial misalnya histidin untuk pertumbuhannya, oleh karena itu bakteri butuh media yang mengandung histidin agar bisa tumbuh normal. Bila bahan uji yang

diperiksa bersifat mutagen, maka bakteri uji akan mengalami mutasi balik ke fungsinya yang semula. Dengan demikian gen *his* yang termutasi akan mengalami mutasi balik, gen *his* tersebut kembali normal sehingga bakteri uji dapat mensintesis sendiri histidin yang dibutuhkan dalam pertumbuhannya, ditunjukkan dengan pertumbuhan bakteri di dalam media yang kekurangan histidin (Radji et al. 2004)

Bahan uji berupa hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre yaitu bagian larut dan bagian tidak larut *wash-benzene*, masing-masing dilarutkan dengan DMSO dan aquades. Tujuan penambahan DMSO adalah untuk mempermudah proses pelarutan sampel uji. Pemberian DMSO tidak boleh melebihi 2% total pelarut, karena DMSO dapat merusak senyawa jika terlalu banyak diberikan. Selain itu DMSO bersifat tidak membunuh bakteri sehingga cocok digunakan sebagai pelarut sampel.

Pengujian dilakukan menggunakan 3 bakteri uji dengan 4 seri konsentrasi bahan uji dengan 3 ulangan. Bakteri dan bahan uji dimasukkan pada media yang mengandung histidin-biotin. Medium yang mengandung histidin-biotin sangat dibutuhkan oleh bakteri karena bakteri uji kehilangan kemampuan dalam mensintesis histidin dan biotin sehingga bakteri membutuhkan histidin dan biotin dari luar untuk pertumbuhannya (Radji et al. 2004). Medium yang mengandung histidin-biotin tersebut dituang pada cawan petri berisi media minimum yang ditambahkan glukosa, diinkubasi selama 72 jam dan dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Bakteri dihitung dengan prinsip satu bakteri akan membentuk satu koloni tanpa memperdulikan besar kecilnya koloni yang terbentuk.

Sebagai kontrol positif digunakan *sodium azide* untuk *S. typhimurium* TA100 dan 1535 serta *2-nitrofluorene* untuk *S. typhimurium* TA98. *Sodium azide* dan *2-nitrofluorene* adalah mutagen standar untuk masing-masing bakteri. *Sodium azide* dapat menyebabkan terjadinya mutasi pasangan basa, sedangkan *2-nitrofluorene* dapat menyebabkan terjadinya *frameshift mutation*. Kontrol positif bertujuan untuk melihat kemampuan mutagenisitas bakteri uji (Suprastiwi 2009). Sebagai kontrol negatif digunakan DMSO untuk melihat bahwa mutasi yang terjadi bukan disebabkan karena pengaruh DMSO, melainkan dari sampel yang diuji.

Rata-rata hasil uji mutagenisitas partisi ekstrak kloroform daun ambre dengan menggunakan tiga bakteri uji *S. typhimurium* TA98, TA100 dan TA 1535 dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2. Berdasarkan hasil uji mutagenisitas hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre menggunakan bakteri *S. typhimurium* TA100 dan *S. typhimurium* TA 1535, terlihat bahwa bagian larut *wash-benzene* relatif lebih bersifat mutagenik dibandingkan bagian yang tidak larut *wash-benzene*. Hal ini dapat dilihat dari rata-rata hasil uji yang menunjukkan bahwa jumlah koloni yang tumbuh pada cawan petri yang berisi sampel bagian larut *wash-benzene* lebih banyak bila dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada kontrol negatif dan jumlahnya rata-rata melebihi 1,8 kali jumlah bakteri yang tumbuh pada kontrol negatif. Ini menunjukkan pada bagian larut *wash-benzene* terdapat senyawa mutagenik karena mampu membalikkan mutasi substitusi

pasangan basa pada bakteri *S. typhimurium* TA100 dan *S. typhimurium* TA 1535. Senyawa mutagenik tersebut bersifat non polar karena dapat larut dalam pelarut *wash-benzene*.

Pada bagian tidak larut *wash-benzene* dengan menggunakan *S. typhimurium* TA 1535 sebagai bakteri ujinya, terdapat jumlah koloni bakteri yang tumbuh lebih banyak bila dibandingkan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada kontrol negatif yaitu 1,9 kali jumlah koloni bakteri pada kontrol negatif. Hal ini terjadi karena pada bagian tidak larut *wash-benzene* terdapat senyawa yang bersifat mutagenik, namun tidak begitu kuat sehingga senyawa tersebut bisa bersifat mutagenik pada konsentrasi tinggi. Ini dapat dilihat dari hasil uji yang menunjukkan bahwa hanya pada konsentrasi 1000 µg/mL bagian tidak larut *wash-benzene* yang menunjukkan sifat mutagenik. Senyawa mutagenik tersebut bersifat polar karena tidak dapat larut dalam pelarut *wash-benzene*.

Pada pengujian sampel dengan menggunakan bakteri *S. typhimurium* TA98 menunjukkan bagian larut *wash-benzene* maupun tidak larut *wash-benzene* bersifat mutagenik. Keduanya menunjukkan jumlah pertumbuhan koloni bakteri yang lebih banyak bila dibandingkan dengan kontrol negatif yaitu rata-rata jumlahnya melebihi 1,8 kali jumlah bakteri pada kontrol negatif. Hasil uji ini menunjukkan bahwa terdapat senyawa non polar pada bagian larut *wash-benzene* dan senyawa polar pada bagian tidak larut *wash-benzene* hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre yang mampu membalikkan *frameshift mutation* pada bakteri *S. typhimurium* TA98.

Dilihat jumlah koloni bakteri yang tumbuh, senyawa atau zat aktif yang terdapat pada bagian larut *wash-benzene* dapat menyebabkan mutasi substitusi pasangan basa dan *frameshift mutation* karena bakteri *S. typhimurium* TA100 dan *S. typhimurium* TA 1535 merupakan indikator jenis mutasi substitusi pasangan basa, sedangkan *S. typhimurium* TA98 yang merupakan indikator jenis mutasi *frameshift mutation* dapat tumbuh pada pengujian ini. Berbeda dengan hasil uji bagian larut *wash-benzene*, untuk bagian tidak larut *wash-benzene* hanya dapat menyebabkan terjadinya mutasi *frameshift* saja, hal ini terbukti dengan banyaknya bakteri *S. typhimurium* TA98 yang tumbuh.

Sifat mutagenik yang terdapat pada bagian larut *wash-benzene* yang dapat menyebabkan *frameshift mutation* lebih kuat bila dibandingkan sifat mutagenik yang menyebabkan substitusi pasangan basa, karena pada konsentrasi 10 µg/mL sudah mampu membalikkan *frameshift mutation* pada bakteri *S. typhimurium* TA98. Sementara itu, hasil partisi bagian larut *wash-benzene* yang diuji dengan menggunakan bakteri *S. typhimurium* TA100 sudah mampu membalikkan mutasi pasangan basa pada konsentrasi 100 µg/mL dan galur TA 1535 pada konsentrasi 500 µg/mL.

Perbedaan hasil antara galur TA100 dan TA 1535 disebabkan karena galur TA 1535 tidak memiliki plasmid pKM101. Gen *his46* yang dimiliki oleh galur TA100 bekerjasama dengan plasmid pKM101 dalam mengkodekan gen *mucAB* yang analog dengan gen *umuDC* pada *E.coli* K-12 yang berperan dalam SOS-repair, sehingga galur TA100 secara umum lebih sensitif bila

dibandingkan dengan TA 1535 (Little et al. 1989; Prival dan Zeiger 1998). Ini dapat dilihat dari jumlah bakteri yang tumbuh pada galur TA100 jumlah bakteri tidak terhingga muncul pada sampel dengan konsentrasi 100 µg/mL dan pada galur TA 1535 muncul pada konsentrasi 500 µg/mL.

Mutagen adalah segala sesuatu yang dapat menyebabkan mutasi, baik berasal dari alam maupun sintetik. Mutasi adalah perubahan dalam materi genetik, dapat diturunkan dan mencakup mikrolesi dan makrolesi. Mikrolesi adalah perubahan pada struktur DNA (*point of mutation*), sedangkan makrolesi adalah perubahan kromosom atau aberasi kromosom (Isnawati dan Alegantina 2004). Mutasi bisa bersifat merugikan bisa juga bersifat menguntungkan. Menurut Ames menyatakan bahwa 90% senyawa yang menyebabkan mutasi dapat pula bersifat karsinogenik (Lehninger 1982). Namun tidak semua senyawa yang menyebabkan mutasi dapat menyebabkan kanker, bahkan sebaliknya dapat menghentikan aktivitas sel kanker dengan mekanisme tertentu.

Mutasi yang dapat menyebabkan kanker adalah mutasi yang menyebabkan kelainan fungsi genetik yang merupakan akibat dari peristiwa-peristiwa mutasional berganda. Mutasi-mutasi tersebut mengubah fungsi normal suatu sel sehingga sel itu memiliki ciri-ciri berikut: (i) gangguan diferensiasi dari sel dan jaringan akibat sel yang menjadi *immortal*, (ii) sel menjadi independen dari kontrol-kontrol selular normal yang membatasi pertumbuhan dan pembelahan sel, (iii) sel menjadi invasif dengan menyebar ke jaringan-jaringan lain dalam sebuah proses yang disebut metastasis, (iv) dan adanya pergeseran metabolisme ke arah pembentukan makromolekul dari nukleosida dan asam amino serta peningkatan katabolisme karbohidrat untuk energi sel (Nafrialdi dan Gan 1995; Elrod dan Stansfield 2002). Selain itu, senyawa mutagen yang dapat menyebabkan kanker harus memiliki kemampuan menyebabkan mutasi pada sel yang mengarahkan pada pertumbuhan kanker. Diperlukan 5-10 mutasi genetik, untuk menjadi sel kanker (Zakaria 2001). Ada dua tipe mutasi yang berbeda yang bisa mengarah pada pertumbuhan kanker. Tipe pertama adalah mutasi “pemerolehan fungsi” atau “*gain of function*”. Pada sebuah gen yang dalam keadaan normal berfungsi dalam pertumbuhan dan pembelahan sel. Pembelahan sel adalah suatu proses yang amat rumit dan kemungkinan besar dikontrol oleh banyak gen berbeda (sebagian merangsang, sebagian menghambat). Interferensi pada waktu gen-gen tersebut bekerja, pada jumlah produk gen yang dihasilkan, atau pada aktivitas produk gen, bisa mengarah pada kanker (Elrod dan Stansfield 2002).

Kebanyakan sel dalam tubuh telah terdiferensiasi dan tidak membelah secara aktif, dengan demikian gen-gen pembelahan sel biasanya dimatikan. Jika gen-gen itu teraktivasi secara tidak benar, bisa mengakibatkan pembelahan sel yang tidak terkendali, Gen tersebut diantaranya adalah onkogen, yang aktif akibat mutasi akan memicu pertumbuhan sel yang mengarah pada terjadinya kanker (Elrod dan Stansfield 2002; Sofyan 2005).

Tipe mutasi kedua adalah mutasi “hilangnya fungsi” atau “*loss-of-function*” dalam gen supresor tumor. Peran

normal gen supresor tumor adalah sebagai supresor pertumbuhan dan pembelahan sel. Gen supresor tumor diaktifkan dalam sel-sel normal. Jika gen tersebut dinonaktifkan secara tidak benar, sel bisa memasuki siklus sel dan membelah (Elrod dan Stansfield 2002; Sofyan 2005).

Sebaliknya senyawa mutagen juga bisa bersifat sebagai antikanker bisa dilihat dari mekanisme kerja beberapa obat antikanker yang berpengaruh langsung terhadap asam nukleat sebagai target sarannya. Adanya gangguan replikasi DNA, transkripsi, translasi, dan sebagai zat pengalkil merupakan beberapa mekanisme yang dapat menyebabkan gangguan fungsi dalam sel kanker yang sedang berlipat ganda dengan cepat (Katzung 1994; Myek et al. 1997; Nogrady 1992).

Berdasarkan hasil yang diperoleh, terlihat bahwa bagian larut *wash-benzene* memiliki sifat mutagenik terbesar dibandingkan bagian tidak larut *wash-benzene* dengan kemampuan dapat menyebabkan mutasi substitusi pasangan basa dan *frameshift mutation*.

Mutasi substitusi pasangan basa terdiri dari transisi dan transversi. Mutasi ini mengakibatkan terjadinya pergantian asam amino oleh asam amino lain pada urutan polipeptida yang disandi oleh suatu gen. Pada kasus tertentu residu asam amino yang digantikan dapat bersifat kritis dan menyebabkan protein sama sekali tidak dapat melakukan fungsi biologis normalnya. Mutasi tersebut seringkali mematikan sel (Lehninger 1982; Roberts 2000).

Frameshift mutation merupakan peristiwa pergeseran bingkai pembacaan yang disebabkan oleh adanya delesi atau insersi dari satu atau beberapa nukleotida (Elrod dan Stansfield 2002). *Frameshift mutation* dapat menyebabkan perubahan yang ekstensif pada produk gen sehingga produk gen menjadi tidak aktif, terjadi kerusakan kolinearitas diantara kodon-kodon pada urutan DNA dan urutan asam amino polipeptida (Lehninger 1982 ; Roberts 2000).

Senyawa yang dapat menyebabkan *frameshift mutation* memiliki kemampuan melakukan interkalasi atau penyisipan (Lehninger 1982; Roberts 2000). Sifat inilah yang dapat dimanfaatkan sebagai agen antikanker dengan mekanisme yang sama yang dilakukan oleh beberapa obat antikanker. Beberapa obat antikanker yang melakukan mekanisme tersebut adalah daktinomisin yang dikenal dengan aktinomisin D, doksorubisin, adriamisin, dan daunorubisin (Nogrady 1992; Foye 1996; Myek et al. 1997). Mekanisme yang dilakukan oleh daktinomisin adalah dengan cara melakukan interkalasi pada celah kecil heliks rangkap antara pasangan basa DNA guanin dan sitosin, membentuk suatu kompleks daktinomisin-DNA. Kompleks ini mengganggu polimerase RNA dan pada dosis tinggi mampu menghambat sintesis DNA dan menstabilkan kompleks DNA-topoisomerase II (Myek et al. 1997).

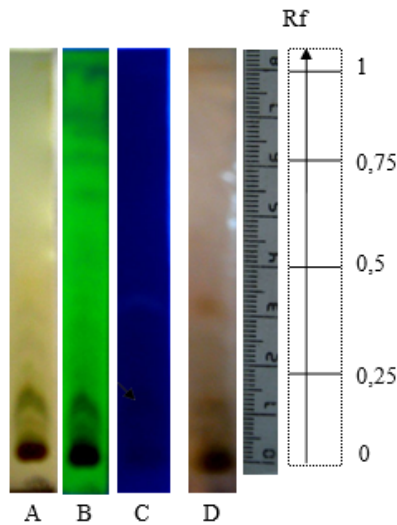
Doksorubisin dan daunorubisin yang maksimal bekerja pada fase S dan G2 melakukan interkalasi pada pasangan

basa yang berdekatan dan mengikat ruas fosfat-gula DNA sampai melingkar, sehingga menghambat sintesis DNA dan RNA. Interkalasi ini dapat mengganggu reaksi lepas sambung pilah DNA yang dikatalisasi oleh topoisomerase II sehingga pecah dan tidak dapat diperbaiki (Myek et al. 1997).

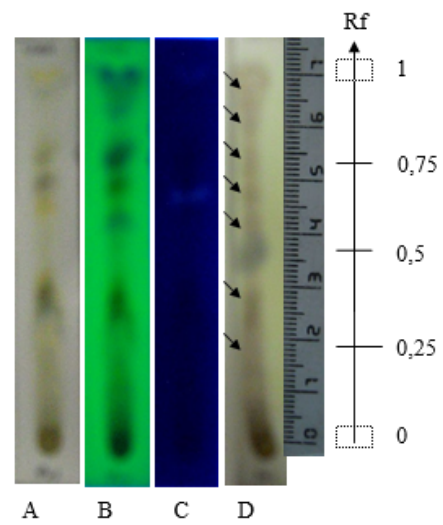
Enzim DNA topoisomerase II mempunyai fungsi yang penting dalam proses intraseluler, yaitu berperan dalam proses replikasi, transkripsi, rekombinasi DNA, dan proses proliferasi dari sel kanker. Adanya interkalasi yang dilakukan suatu senyawa dapat mengganggu reaksi lepas sambung DNA yang dikatalisasi oleh enzim topoisomerase II. Hal ini disebabkan karena ikatan antara enzim dengan DNA sel kanker menjadi semakin lama. Akibatnya akan terbentuk *Protein Linked DNA Breaks* (PLDB), dan terjadi fragmentasi atau kerusakan DNA sel kanker dan selanjutnya berpengaruh terhadap proses di dalam sel khususnya proses replikasi sel yang diakhiri dengan kematian sel kanker secara apoptosis (Cumming dan Smyth 1993; Myek et al. 1997; Sukardiman et al. 2005; Yuwono 2005).

Contoh obat antikanker lain yang melakukan mutasi dalam membunuh sel kanker adalah cisplatin (cis-diamindikloroplatinum [II]). Cisplatin merupakan obat kemoterapi yang cukup efektif karena dapat membunuh sel kanker pada setiap siklus sel dengan menghambat biosintesis DNA, mengikat DNA melalui pembentukan "*interstrand cross-links*". Tempat ikatan utama adalah pada N7 guanin, tetapi interaksi kovalen dengan adenin dan sitosin juga terjadi (Katzung 1994; Savitri et al. 2008).

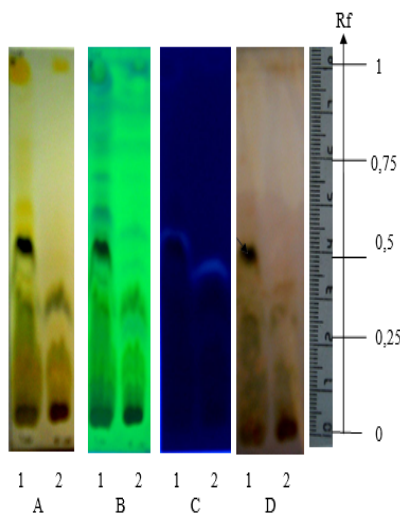
Selain itu terdapat beberapa obat antikanker yang berasal dari tanaman yang saat ini banyak digunakan, salah satunya adalah paclitaxel. Paclitaxel atau yang dikenal dengan nama dagang taxol, merupakan senyawa diterpenoid. Senyawa ini umumnya diproduksi oleh endofit *Pestalotiopsis microspora*, yang diisolasi dari tanaman *Taxus andreaeanae*, *T. brevifolia* dan *T. wallichiana* yang efektif untuk mengatasi kanker rahim, kanker payudara stadium lanjut, kanker paru-paru, dan sarcoma karposi. Molekul taxol di dalam tubuh akan berinteraksi dengan tubulin. Tubulin merupakan komponen dominan dalam mikrotubulus, berbentuk seperti silinder dan merupakan bagian dari sistem kerangka sel. Interaksi taxol dengan tubulin akan membentuk ikatan taksol-tubulin sehingga menciptakan sel yang stabil yang berakibat terhalangnya perubahan formasi protein. Taxol juga disebut sebagai penstabil mitosis, karena jika taxol membentuk ikatan dengan tubulin maka protein akan kehilangan fleksibilitasnya dan mikrotubulus tidak akan bisa dirombak lebih lanjut. Studi lain memperlihatkan bahwa taxol hanya berikatan dengan tubulin yang telah terpolimerisasi dalam suatu rantai protofilamen yang biasa terdapat pada sel kanker, bukan dengan protein bebas (Katzung 1994; BPOM RI 2003; Strobel dan Daisy 2003; Radji 2005).



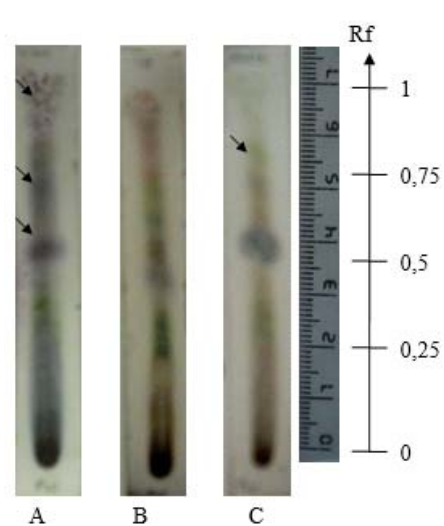
Gambar 5. Kromatogram hasil KLT ekstrak kloroform daun ambre deteksi dengan (A) sinar tampak (B) UV254, (C) UV366 (D) serum (IV) sulfat. Fase diam: Silika Gel GF254. Fase gerak: Kloroform (CHCl₃) Jarak pengembangan: 8 cm



Gambar 7. Profil KLT hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre larut wash-benzene deteksi dengan (A) sinar tampak (B) UV254 (C) UV366 (D) serum (IV) sulfat. Fase diam: Silika Gel GF254. Fase gerak: Kloroform (CHCl₃) Jarak Pengembangan: 7 cm



Gambar 6. Kromatogram hasil KLT hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre deteksi dengan (A) sinar tampak (B) UV254, (C) UV366 (D) serum (IV) sulfat. Fase diam: Silika Gel GF254. Fase gerak: Kloroform (CHCl₃) Jarak pengembangan: 8 cm. Keterangan: 1. Larut wash-benzene; 2. Tidak larut wash-benzene



Gambar 8. Profil KLT hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre larut wash-benzene deteksi dengan (A) Vanilin-H₂SO₄, (B) Liebermann-burchard (C) FeCl₃. Fase diam: Silika Gel GF254. Fase gerak: Kloroform (CHCl₃) . Jarak Pengembangan: 7 cm

Tabel 1. Rata-rata hasil uji mutagenisitas partisi ekstrak kloroform daun ambre

Strain bakteri uji	Sampel uji	Jumlah rata-rata pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi sampel uji (µg/mL)			
		1000	500	100	10
<i>S. typhimurium</i> TA98	A	102	99,3	84,3	115
	B	96,7	93,3	76	79,3
<i>S. typhimurium</i> TA100	A	Tidak terhingga	Tidak terhingga	Tidak terhingga	119
	B	81	56	55	50
<i>S. typhimurium</i> TA 1535	A	Tidak terhingga	Tidak terhingga	64	41
	B	79,7	28,7	26,7	41

Keterangan: A. Bagian larut wash-benzene ekstrak kloroform daun ambre, B. Bagian tidak larut wash-benzene ekstrak kloroform daun ambre

Tabel 2. Rata-rata hasil uji mutagenisitas kontrol

Strain bakteri uji	Kontrol	Jumlah rata-rata pertumbuhan koloni bakteri
<i>S. typhimurium</i> TA98	DMSO (-)	40
	2-nitroflourene (+)	99
<i>S. typhimurium</i> TA100	DMSO (-)	99,7
	Sodium azide (+)	173
<i>S. typhimurium</i> TA 1535	DMSO (-)	41,3
	Sodium azide (+)	93,7

Tabel 3. Perbandingan jumlah bakteri yang tumbuh tiap konsentrasi dengan kelompok kontrol negatif

Strain bakteri uji	Sampel uji	Perbandingan jumlah koloni bakteri yang tumbuh tiap konsentrasi dengan kelompok kontrol negatif ($\mu\text{g/mL}$)			
		1000	500	100	10
<i>S. typhimurium</i> TA98	A	2,5	2,5	2,1	2,9
	B	2,4	2,3	1,9	2
<i>S. typhimurium</i> TA100	A	Tidak terhingga	Tidak terhingga	Tidak terhingga	1,2
	B	0,8	0,6	0,5	0,5
<i>S. typhimurium</i> TA 1535	A	Tidak terhingga	Tidak terhingga	1,5	1
	B	1,9	0,7	0,6	1

Keterangan:

A. Bagian larut *wash-benzene* ekstrak kloroform daun ambreB. Bagian tidak larut *wash-benzene* ekstrak kloroform daun ambre**Tabel 4.** Hasil KLT hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre larut *wash-benzene* dengan deteksi sinar tampak, sinar UV dan dengan pereaksi sempnot spesifik

Rf	Penampakan bercak						
	visibel	UV254	UV366	SS	VA	LB	FeCl ₃
0,24	Kuning	Peredaman	-	Coklat	Coklat	-	Coklat
0,39	Hijau gelap	Peredaman	-	Coklat	Hijau tua	Hijau	Ungu
0,63	Kuning	Peredaman	-	Coklat	Ungu	Ungu	Ungu
0,69	Hijau gelap	Peredaman	Putih	Coklat	Ungu	coklat	Ungu
0,77	Coklat	Peredaman	-	Coklat	-	Hijau	Kuning
0,84	-	Peredaman	-	Coklat	Coklat	Hijau	-
0,97	Kuning	Peredaman	Putih	Coklat	Ungu	Ungu	-

Keterangan: SS = Serum (IV) sulfat; VA = Vanilin –asam sulfat; LB = Lieberman-Burchard

Berdasarkan beberapa contoh obat antikanker tersebut, sifat mutagenik yang dimiliki suatu senyawa dapat dimanfaatkan sebagai antikanker. Selain itu, senyawa mutagenik dapat juga mencegah terjadinya mutasi. Kaleeswaran et al. (2009) melaporkan hasil penelitiannya tentang senyawa silymarin yang diisolasi dari tanaman *Silybum marianum*. Senyawa ini memiliki sifat mutagenik, dan dapat berfungsi sebagai antimutagenik. Sifat mutagenik yang dimiliki oleh senyawa ini efektif meningkatkan sintesis MGMT (*O6-methylguanine-DNA methyltransferase levels*). MGMT merupakan suatu enzim yang berfungsi dalam proses perbaikan protein DNA, melindungi sel dan oncogen yang dapat aktif jika terkena induksi oleh senyawa mutagenik pengalkil baik yang berasal dari dalam sel (*endogenous alkylating agent*) atau yang berasal dari luar sel (*exogenous alkylating agent*) (Niture et al. 2007).

Deteksi golongan senyawa partisi teraktif

Setelah melakukan uji mutagenisitas dengan menggunakan 3 bakteri uji, diperoleh hasil bahwa hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre bagian larut *wash-benzene* menunjukkan sifat mutagenik yang lebih besar bila dibandingkan bagian yang tidak larut *wash-benzene*, sehingga bagian larut *wash-benzene* dideteksi golongan senyawanya dengan metode KLT dan beberapa pereaksi sempnot.

Profil KLT hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre larut *wash-benzene* dengan berbagai deteksi penampak bercak dapat dilihat pada Gambar 7. Deteksi hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre larut *wash-benzene* dengan sinar tampak (visibel) (Gambar 7.A) memperlihatkan beberapa bercak berwarna kuning, hijau dan coklat. Deteksi dengan sinar UV254 (Gambar 7.B) memperlihatkan terjadinya peredaman yang ditandai

dengan adanya beberapa bercak yang berwarna gelap berlatar belakang fluoresensi hijau. Peredaman yang terjadi pada UV254 ini menunjukkan adanya suatu senyawa. Deteksi dengan sinar UV366 (Gambar 7.C) memperlihatkan beberapa bercak yang berfluoresensi. Ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang panjang sehingga dapat berpendar pada penyinaran dengan UV gelombang panjang. Deteksi untuk senyawa organik secara umum dilakukan penyemprotan dengan pereaksi semprot serum (IV) sulfat yang memperlihatkan bercak berwarna coklat (Gambar 7. D) dengan nilai R_f 0,24, 0,39, 0,63, 0,69, 0,77, 0,84 dan 0,79.

Deteksi dilanjutkan dengan menggunakan berbagai pereaksi semprot yang spesifik untuk mengetahui jenis golongan senyawa yang terdapat pada hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre bagian larut *wash-benzene*. Pereaksi semprot yang digunakan diantaranya FeCl_3 untuk mendeteksi senyawa flavonoid dengan respon positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi kuning (Ristiningsih 2009). Vanilin H_2SO_4 untuk mendeteksi keberadaan senyawa terpenoid dengan respon positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi biru sampai ungu (Sulistijowati dan Gunawan 2001). Lieberman-Burchard untuk mendeteksi keberadaan senyawa triterpenoid (steroid) dengan respon positif menunjukkan adanya perubahan warna menjadi merah untuk triterpenoid atau biru untuk steroid (Ristiningsih 2009).

Hasil KLT hasil partisi ekstrak kloroform daun ambre larut *wash-benzene* dengan deteksi sinar tampak, sinar UV dan dengan pereaksi semprot spesifik disajikan pada Tabel 4.

Berdasarkan data yang diperoleh hasil positif ditunjukkan oleh deteksi dengan vanilin- H_2SO_4 dan FeCl_3 . Hasil positif untuk vanilin- H_2SO_4 ditunjukkan dengan bercak berwarna ungu yang menunjukkan adanya senyawa terpenoid dengan nilai R_f 0,63, 0,69 dan 0,97. Hasil positif untuk FeCl_3 ditunjukkan dengan adanya bercak berwarna kuning yang menunjukkan adanya senyawa flavonoid dengan nilai R_f 0,77. Senyawa terpenoid dan flavonoid ini diduga merupakan senyawa yang menyebabkan mutasi.

Senyawa terpenoid golongan diterpenoid dan senyawa flavonoid dari beberapa tanaman telah diketahui memiliki aktivitas antimutagenik dan antikanker dengan berbagai metode penelitian. Sotto et al. (2009) melaporkan, senyawa diterpenoid *secoisopimarane* dari tanaman *Salvia cinnabarina* yang diteliti dengan uji mutagenisitas, memiliki aktivitas sebagai antimutagenik dengan menghambat senyawa mutagen. Senyawa diterpenoid andrografolida dari tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees), senyawa clerocidin dari jamur dan senyawa kuinon salvicina mampu membunuh sel kanker dengan mekanisme apoptosis (Sukardiman et al. 2005; Jamora et al. 2001; Miao et al. 2003).

Senyawa silymarin yang merupakan salah satu jenis flavonoida dari tanaman *Silybum marianum* dilaporkan memiliki aktivitas antimutagenik terhadap beberapa mutagen dengan uji mutagenisitas (Kaleeswaran 2009). Isolat flavonoid dari herba benalu mangga (*Dendrothoe*

petandra) mampu menghambat pertumbuhan kanker pada mencit yang diinduksi dengan benzopirena (Sukardiman et al. 1999).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa daun ambre mengandung senyawa terpenoid dan flavonoid yang berpotensi sebagai antikanker dengan sifat mutasi yang dimilikinya. Diperlukan penelitian yang lebih lanjut untuk mengetahui apakah sifat mutasi yang dimiliki daun ambre benar-benar bersifat selektif atau tidak, sehingga dapat dimanfaatkan untuk kepentingan manusia khususnya dalam mengobati penyakit kanker.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa: Bagian larut *wash-benzene* ekstrak kloroform daun ambre yang diuji dengan menggunakan bakteri *S. typhimurium* TA98 dapat menyebabkan *frameshift mutation* pada konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$ dan yang diuji dengan menggunakan bakteri *S. typhimurium* TA100 dan galur TA 1535 dapat menyebabkan mutasi substitusi pasangan basa pada konsentrasi 100 $\mu\text{g/mL}$ dan 500 $\mu\text{g/L}$, sedangkan bagian tidak larut *wash-benzene* hanya dapat menyebabkan *frameshift mutation* pada konsentrasi 10 $\mu\text{g/mL}$. Pada bagian larut *wash-benzene* ekstrak kloroform daun ambre ditemukan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ames BN, Lee FD, Durston WE. 1973a. An Improved Bacterial Test System for the Detection and Classification of Mutagens and Carcinogens. *Proc Nat Acad Sci USA* 70 (3): 782-786.1
- Ames BN, Durston WE, Yamasaki E, Lee FD. 1973b. Carcinogens are Mutagens: A Simple Test System Combining Liver Homogenates for Activation and Bacteria for Detection. *Proc Nat Acad Sci USA* 70 (8): 2281-2285.2
- Aulia Y, Sugiyanto J, Aida Y. 2002. Efek klorambusil terhadap perkembangan fetus tikus putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague-Dowley. *Biota* 7 (3): 101-108.
- BPOM RI. 2003. Beberapa Tanaman yang Berkhasiat Sebagai Antikanker. InfoPOM. Vol. 6. BPOM RI, Jakarta
- Cumming J, Smyth JF. 1993. DNA topoisomerase I and II as target of rational design of new anticancer drugs. *Ann Oncology* 3(7): 533-534.
- Dalimartha S. 2004. Deteksi Dini Kanker dan Simplotis Antikanker. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Erma NNS, Sundari T, Susanty AI, Palupi DRO, Isnaeni, Sukardiman. 2004. Kajian pendahuluan uji toksisitas ekstrak air miselia dan tubuh buah jamur shiitake (*Lentinus edodes*) dengan metode Brine Shrimp Lethality Test (BST). *Berk Penel Hayati* 10: 13-18.
- Erold SL, Stansfield WD. 2002. Genetika. edisi keempat. Erlangga, Jakarta.
- Foye W. 1996. Prinsip-prinsip Kimia Medisinal Edisi II. UGM Press, Yogyakarta.
- Harbone J.B. 1987. Metode Fitokimia. ITB, Bandung.
- Isnawati A, Alegantina S. 2004. Efek mutagenik ekstrak etanol daun kajibeling (*Strobilantus crispus*). *Bul Penel Kesehatan* 32 (3): 112-118.
- Jamora C, Theodoraki MA, Malhotra V, Theodorakis EA. 2001. Investigation of the Biological Mode of Action of Clerocidin Using Whole Cells Assay. *Bioorgan Med Chem* 9: 1365-1370.
- Kaleeswaran S, Sriram P, Prabhu D, Vijayakumar C, Mathuram LN. 2009. Anti-and pro-mutagenic effects of silymarin in the ames bacterial reverse mutation assay. *Phytother Res* 23: 1378-1384.

- Katzung BG. 1994. Basic and Clinical Pharmacology, 6th ed. Prentice Hall International Inc, London.
- Lehninger AL. 1982. Dasar-dasar Biokimia Jilid 3. Erlangga, Jakarta
- Little CA, Tweats DJ, Pinney RJ. 1989. Relevance of plasmid pKM101-mediated mutagenicity in bacteria to genotoxicity in mammalian cells. *Mutagenesis* 4 (5): 371-376.
- Maliya A. 2004. Perubahan sel menjadi kanker dari sudut pandang biologi molekuler. *Infokes* 8 (1): 22-26.
- Miao ZH, Tao T, Xiang ZY, Sheng ZJ, Jian D. 2003. Cytotoxicity, Apoptosis Induction and Downregulation of MDR-1 Expression by the Anti-Topoisomerase II Agent, Salvicine, in Multidrug-Resistant Tumor Cells. *Intl J Cancer* 106 (1): 108-115.
- Myek MJ, Harvey RA, Champe PC, Fisher BD. 1997. Farmakologi Ulasan Bergambar Edisi 2. Widya Medika, Jakarta.
- Nafrialdi, Gan S. 1995. Farmakologi dan Terapi. Fakultas Kedokteran UI, Depok.
- Niture SK, Velu CS, Smith QR, Bhat GJ, Srivenugopa KS. 2007. Increased expression of the MGMT repair protein mediated by cysteine prodrugs and chemopreventative natural products in human lymphocytes and tumor cell lines. *Carcinogenesis* 28 (2): 378-389.
- Nograpy T. 1992. Kimia Medisinal Pendekatan secara Biokimia. ITB, Bandung.
- Pato U. 2003. Potensi bakteri asam laktat yang diisolasi dari dadih untuk menurunkan resiko penyakit kanker. *Jurnal Natur Indonesia* 5 (2): 162-166.
- Prival MJ, Zeiger E. 1998. Chemicals mutagenic in *Salmonella typhimurium* Strain TA1535 but not in TA100. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. Vol. 412. Elsevier, New York.
- Radji M, Sumiaty A, Indani N. 2004. Uji mutagenisitas dan anti kanker ekstrak aseton dan n-heksana dari kulit batang sesoot (*Garcinia picrorrhiza* Miq.). *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1(2): 69-78.
- Radji M. 2005. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2 (3): 113-126.
- Ristiningsih T. 2009. Uji Antibakteri Komponen Bioaktif Daun Lobak (*Raphanus sativus* L var. *hortensis* Back.) terhadap *Staphylococcus aureus* Rosenbach. dan Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Roberts G. 2000. Bacterial Genetics. University of Wisconsin, Madison. <http://lecturer.ukdw.ac.id/dhira/BactGenetics/TOC.html> [1 Januari 2010].
- Savitri E, Eryadi D, Nur Q. 2008. Audiology figures for nasopharynx carcinoma patients from Wahidin Sudirohusodo Hospital, Makassar before and after treatment with cisplatin. *Indon J Med Sci* 1 (1): 17-21.
- Sofyan R. 2005. Terapi Kanker pada Tingkat Molekuler. *Cermin Dunia Kedokteran* 127: 5-10.
- Sotto AD, Mastrangelo S, Romussi G, Bisio A, Mazzanti G. 2009. Antimutagenic activity of a secoisopimarane diterpenoid from *Salvia cinnabarina* M. Martens et Galeotti in the bacterial reverse mutation assay. *Food Chem Toxicol* 47: 2092-2096.
- Sukardiman, Santa IGP, Rahmadhany. 1999. Efek antikanker isolat flavonoid dari herba benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*). *Cermin Dunia Kedokteran* 122: 5-8.
- Sukardiman, Rahman A, Ekasari W, Sisimandari. 2005. Induksi apoptosis senyawa andrografolida dari sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap kultur sel kanker. *Media Kedokteran Hewan* 21 (3): 105-110.
- Sukardiman, Ekasari W, Hapsari PP. 2006. Aktivitas antikanker dan induksi apoptosis fraksi kloroform daun pepaya (*Carica papaya* L) terhadap kultur sel kanker mieloma. *Media Kedokteran* 22 (2): 104-111.
- Sulistijowati A, Gunawan D. 2001. Efek ekstrak daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap *Candida albicans* serta profil kromatografinya. *Cermin Dunia Kedokteran* 130: 32-36.
- Suprastiwi E. 2009. Analisis Mutagenisitas Tiga Jenis Semen Ionomer Kaca (SIK). Departement of Conservative Dentistry, Faculty of Dentistry, Universitas Indonesia, Jakarta.
- Suzuki M, Matsui K, Yamada M, Kasai H, Sofuni T, Nohmi T. 1997. Construction of mutants of *Salmonella typhimurium* deficient in 8-hydroxyguanine DNA glycosylase and their sensitivities to oxidative mutagens and nitro compounds. *Mut Res* 393 (3): 233-246.
- Strobel G, Daisy B. 2003. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol Mol Biol Rev* 67 (4): 491-502.
- Tim Pengajar Teknik Laboratorium. 2009. Mata Kuliah Teknik Laboratorium. Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Wahyuni DSC, Rakhmawati R. 2008. Skrining Toksisitas Beberapa Tanaman di Kawasan Tawangmangu Surakarta dan Profil Kandungan Kimianya. Laporan Penelitian LPPM, Universitas Sebelas Maret.
- Yuwono T. 2005. Biologi Molekuler. Erlangga, Jakarta.
- Zakaria FR. 2001. Pangan dan pencegahan kanker. *Jurnal Teknologi & Industri Pangan*. 12 (2): 171-177.